

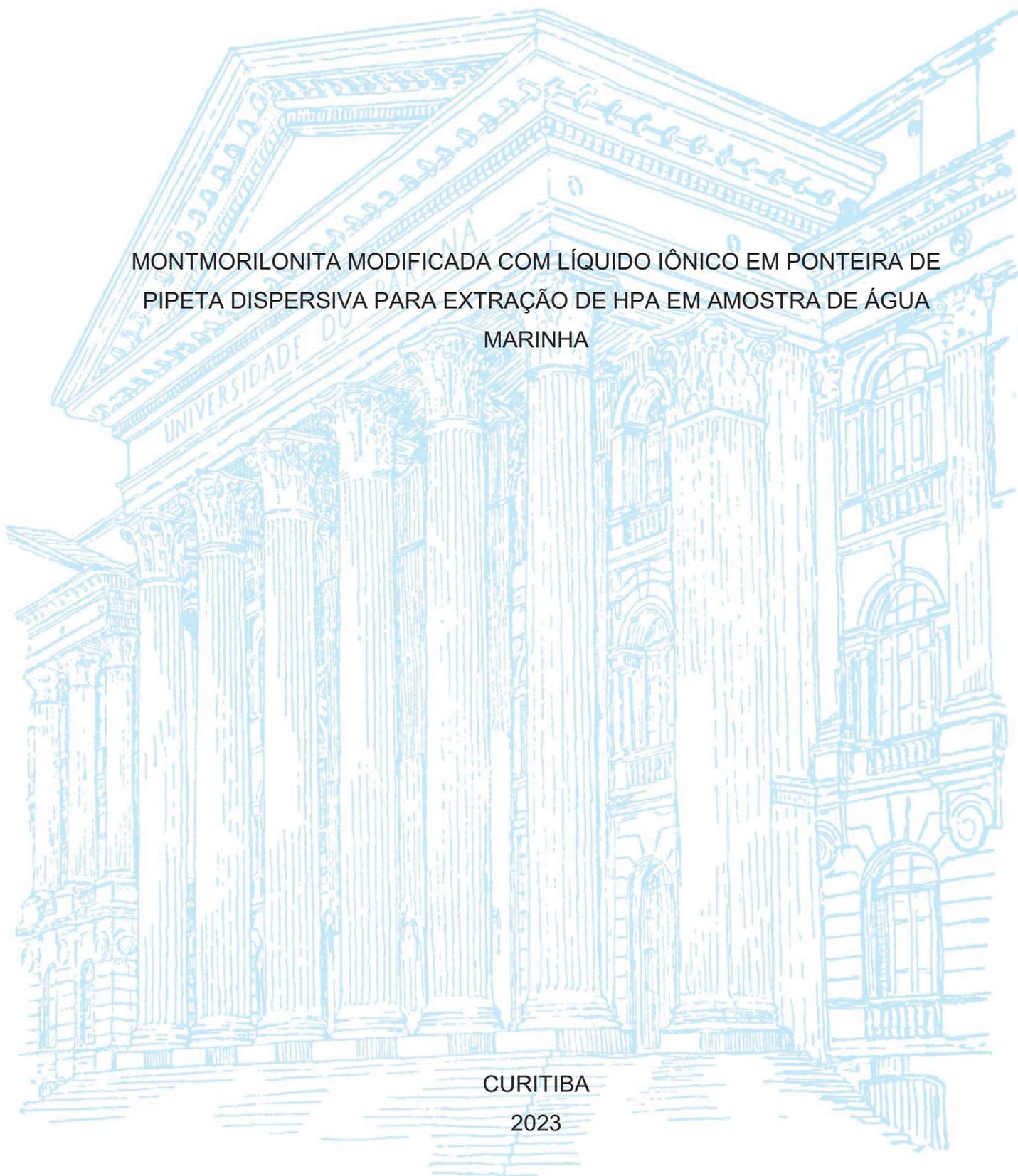
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

DÉBORA DE AZEVEDO DOMINGUES

MONTMORILONITA MODIFICADA COM LÍQUIDO IÔNICO EM PONTEIRA DE  
PIPETA DISPERSIVA PARA EXTRAÇÃO DE HPA EM AMOSTRA DE ÁGUA  
MARINHA

CURITIBA

2023



DÉBORA DE AZEVEDO DOMINGUES

MONTMORILONITA MODIFICADA COM LÍQUIDO IÔNICO EM PONTEIRA DE  
PIPETA DISPERSIVA PARA EXTRAÇÃO DE HPA EM AMOSTRA DE ÁGUA  
MARINHA

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Química, Setor de Exatas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Marco Tadeu Grassi

Coorientador: Dr. Rafael Garrett Dolatto

CURITIBA

2023

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Domingues, Débora de Azevedo

Montmorilonita modificada com líquido iônico em ponteira de pipeta dispersiva para extração de HPA em amostra de água marinha. / Débora de Azevedo Domingues. – Curitiba, 2023.

1 recurso on-line : PDF.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química.

Orientador: Prof. Dr. Marco Tadeu Grass

Coorientador: Dr. Rafael Garrett Dolatto

1. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. 2. Água do mar. 3. Argilominerais (Montmorilonita). I. Grass, Marco Tadeu. II. Dolatto, Rafael Garrett. III. Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

Bibliotecária: Roseny Rivelini Morciani CRB-9/1585



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS EXATAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO QUÍMICA -  
40001016026P2

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação QUÍMICA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **DÉBORA DE AZEVEDO DOMINGUES** intitulada: **Montmorilonita modificada com líquido iônico em ponteira de pipeta dispersiva para extração de HPA em amostra de água marinha**, sob orientação do Prof. Dr. MARCO TADEU GRASSI, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 24 de Fevereiro de 2023.

Assinatura Eletrônica

14/04/2023 08:23:47.0

MARCO TADEU GRASSI

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

14/04/2023 10:24:19.0

LUIZ AUGUSTO DOS SANTOS MADUREIRA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA)

Assinatura Eletrônica

14/04/2023 09:03:18.0

BRUNO JOSÉ GONÇALVES DA SILVA

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

CENTRO POLITÉCNICO - CURITIBA - Paraná - Brasil

CEP 81531-990 - Tel: (41) 3361-3006 - E-mail: cpgquim@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 275095

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 275095

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço inicialmente a toda minha família, por fazerem de mim quem sou e por todo amor, dedicação, confiança e apoio em toda a minha jornada.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marco Tadeu Grassi e ao meu coorientador Dr. Rafael Garret Dolatto pela oportunidade da realização deste trabalho, por toda a paciência e ensinamentos durante os anos de mestrado.

Ao Prof. Dr. Frederico Luis Felipe Soares por toda ajuda na realização dos planejamentos fatoriais.

A todos os meus colegas do Grupo de Química Ambiental, por todos os momentos compartilhados, aprendizado, ajuda em diversos momentos e principalmente pela amizade que cultivamos.

A Universidade Federal de Paraná e ao Programa de Pós-Graduação em Química pelo espaço concedido e permitir este sonho ser real.

Aos órgãos de fomento a pesquisa, em especial ao CNPq pela concessão da bolsa que fez com que eu pudesse realizar o mestrado com dedicação exclusiva.

E por último, mas não menos importante, a todos os meus amigos que estavam presentes direta ou indiretamente comigo, sempre oferecendo gestos de apoio em qualquer situação. Vocês foram essenciais neste processo.

## RESUMO

Neste trabalho foi desenvolvido um método de extração miniaturizado, empregando a extração em ponteira de pipeta dispersiva (*Dispersive pipette extraction*, DPX). Foi utilizada montmorilonita modificada com líquido iônico (*ionic liquid intercalated in montmorillonite*, IL-MMT) como fase sorvente para a extração de 16 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) em amostras de água marinha, com posterior quantificação por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (*gas chromatography-mass spectrometry*, GC-MS). Para o desenvolvimento do protocolo foram otimizados seis variáveis de extração, massa de sorvente, volume de amostra, número de ciclos de extração, número de ciclos de dessorção e solvente de dessorção, por meio de um planejamento fatorial fracionário, seguido de um planejamento ortogonal composto central. Os parâmetros ótimos de extração obtidos pela combinação dos planejamentos fatoriais foram: massa de sorvente de 15 mg; volume de amostra de 2,6 mL; número de ciclos de extração igual a 13; número de ciclos de dessorção igual a 10 e hexano como solvente de dessorção. O método desenvolvido proporcionou limites de detecção (*limits of detection*, LOD) entre 0,03 e 0,15  $\mu\text{g L}^{-1}$  e limites de quantificação (*limits of quantification*, LOQ) entre 0,10 e 0,50  $\mu\text{g L}^{-1}$ . No estudo da linearidade foram determinados coeficientes de determinação entre 0,9749 e 0,9991. A exatidão e precisão do método foram avaliadas por meio de testes de recuperação e os valores variaram entre 71% e 114% para os seguintes HPAs: naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno e fluoranteno, com incertezas não maiores que 31%. De acordo com os parâmetros de desempenho, o método desenvolvido pode ser aplicado na extração e determinação de HPAs em matrizes aquosas. Além disso, apresentou diversas vantagens como a redução no uso de sorvente, volume de amostra e solventes orgânicos, número de etapas no preparo da amostra e utilização de um eco-material como fase sorvente. Por fim, o método desenvolvido foi aplicado em amostras de água marinha.

Palavras-chave: HPA; DPX; IL-MMT; Água marinha; Montmorilonita

## ABSTRACT

A miniaturized extraction method based on the Disposable Pipette Extraction (DPX) was developed in this work. For this purpose, an ionic liquid intercalated in montmorillonite (IL-MMT) was used as sorptive phase for the extraction of 16 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) from seawater. The determination was made by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). For the development of the analytical protocol, the following six extraction parameters were optimized: mass of sorbent, sample volume, extraction cycles, desorption cycles and desorption solvent, using a fractional factorial design, followed by central composite orthogonal design. The optimal extraction parameters were reached at: mass of sorbent of 15 mg; samples volume of 2.6 mL; 13 extraction cycles; 10 desorption cycles, and hexane as the desorption solvent. Limits of detection (LOD) between 0.03 and 0.15  $\mu\text{g L}^{-1}$  as well as limits of quantification (LOQ) between 0.10 and 0.50  $\mu\text{g L}^{-1}$  were achieved. Determination coefficients between 0.9749 and 0.9991 were found in the linearity study. The accuracy and precision of the method were evaluated by recoveries tests, indicating values from 71% to 114%, with uncertainties lower than 31%. According to the performance parameters, the developed protocol can be applied in the extraction and determination of PAHs from seawater samples. In addition, it presented several advantages such as the reduction of sorbent, sample volume and organic solvents, sample preparation steps, as well as the use of an eco-material as the sorbent phase. Finally, the developed method was applied to seawater sample.

Keywords: PAH; DPX; IL-MMT; Seawater; Montmorillonite.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPAS) PRIORITÁRIOS EM ESTUDOS AMBIENTAIS DE ACORDO COM A U.S. EPA, 1987.....	20
FIGURA 2 - INTEMPERISMO DE ÓLEOS EM AMBIENTE MARINHO. ....	24
FIGURA 3 – ESQUEMA DO DISPOSITIVO DE EXTRAÇÃO PARA DPX. ....	28
FIGURA 4 – I. PROCESSO DE ASPIRAÇÃO E DISPERSÃO NA DPX; II. ETAPAS DO PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO COM PONTEIRA DE PIPETA DISPERSIVA.....	30
FIGURA 5 – ESTRUTURA DA MONTMORILONITA. ....	33
FIGURA 6 – AUMENTO DO ESPAÇAMENTO BASAL NA MMT MODIFICADA COM LÍQUIDO IÔNICO.....	35
FIGURA 7 – BROMETO DE 1-HEXADECIL-3-METILIMIDAZÓLIO.....	37
FIGURA 8 – DISPOSITIVO PARA EXTRAÇÃO EM PONTEIRA DE PIPETA. ....	41
FIGURA 9 – DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DO PROTOCOLO EXTRAÇÃO EM PONTEIRA DE PIPETA. ....	42
FIGURA 10 – COMPARAÇÃO DO ESPECTRO DE IR DA MONTMORILONITA (CINZA) E MONTMORILONITA MODIFICADA COM BROMETO DE 1-HEXADECIL-3-METILIMIDAZÓLIO. ....	50
FIGURA 11 – ESPECTRO DE IR DA MONTMORILONITA MODIFICADA COM BROMETO DE 1-HEXADECIL-3-METILIMIDAZÓLIO. ....	51
FIGURA 12 – CROMATOGRAMA OBTIDO NA INJEÇÃO DOS 16 HPAS DEUTERADOS, 5 HPAS DEUTERADOS E P-TERFENIL-D4 NA CONCENTRAÇÃO 1 mg L <sup>-1</sup> NO MODO SIM.....	53
FIGURA 13 – COMPARAÇÃO CROMATOGRAMAS UM PADRÃO AQUOSO DE 1 µg L <sup>-1</sup> APÓS A EXTRAÇÃO (A) E UM PADRÃO DE MIX HPAS DE 2,5 µg L <sup>-1</sup> (B). ....	55
FIGURA 14 – ÁREA DE PICO DOS 16 HPAS UTILIZANDO IL-MMT E C18 COMO FASES SORVENTES. CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO: MASSA DE SORVENTE – 20 mg; VOLUME DE AMOSTRA – 10 mL; CICLOS DE EXTRAÇÃO – 10; CICLOS DE DESSORÇÃO – 3; SOLVENTE – HEXANO; VOLUME DE SOLVENTE - 500 µL.....	57

- FIGURA 16 – AVALIAÇÃO DA REPETIBILIDADE DA EXTRAÇÃO DE PADRÃO AQUOSO  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  HPAS POR DPX. CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO: MASSA DE SORVENTE – 20 mg; VOLUME DE AMOSTRA - 10 mL; CICLOS DE EXTRAÇÃO – 10; CICLOS DE DESSORÇÃO – 3; SOLVENTE – HEXANO; VOLUME DE SOLVENTE - 500  $\mu\text{L}$ .....58
- FIGURA 17 – EFEITO DA MASSA DE SORVENTE NA EXTRAÇÃO DE PADRÃO AQUOSO  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  HPAS POR DPX. CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO: VOLUME DE AMOSTRA - 10 mL; CICLOS DE EXTRAÇÃO – 10; CICLOS DE DESSORÇÃO – 3; SOLVENTE – HEXANO; VOLUME DE SOLVENTE - 500  $\mu\text{L}$ .....59
- FIGURA 18 – EFEITO DO TIPO DE SOLVENTE DE DESSORÇÃO NA EXTRAÇÃO DE PADRÃO AQUOSO  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  HPAS POR DPX. CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO: VOLUME DE AMOSTRA - 10 mL; CICLOS DE EXTRAÇÃO – 10; CICLOS DE DESSORÇÃO – 3; MASSA DE SORVENTE – 20 MG; VOLUME DE SOLVENTE - 500  $\mu\text{L}$ . .....61
- FIGURA 19 – EFEITO DO VOLUME DE SOLVENTE PARA EXTRAÇÃO DE PADRÃO AQUOSO  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  HPAS POR DPX. CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO: VOLUME DE AMOSTRA – 10mL; CICLOS DE EXTRAÇÃO – 10; CICLOS DE DESSORÇÃO – 3; MASSA DE SORVENTE – 20 mg; SOLVENTE - HEXANO. ....63
- FIGURA 20 – EFEITO DO NÚMERO DE CICLOS DE DESSORÇÃO NA EXTRAÇÃO DE PADRÃO AQUOSO  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  HPAS POR DPX. CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO: VOLUME DE AMOSTRA - 10 mL; CICLOS DE EXTRAÇÃO – 10; VOLUME DE SOLVENTE – 500  $\mu\text{L}$ ; MASSA DE SORVENTE – 20 mg; SOLVENTE - HEXANO.....64
- FIGURA 21 – EFEITO DO VOLUME DE AMOSTRA NA EXTRAÇÃO DE PADRÃO AQUOSO  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  HPAS POR DPX. CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO: CICLOS DE DESSORÇÃO - 15; CICLOS DE EXTRAÇÃO – 10; VOLUME DE SOLVENTE – 500  $\mu\text{L}$ ; MASSA DE SORVENTE – 20 mg; SOLVENTE - HEXANO.....66
- FIGURA 22 – EFEITO DO NÚMERO DE CICLOS DE EXTRAÇÃO NA EXTRAÇÃO DE PADRÃO AQUOSO  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  HPAS POR DPX. CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO: CICLOS DE DESSORÇÃO - 15; VOLUME DE

AMOSTRA – 2,5 mL; VOLUME DE SOLVENTE – 500 $\mu$ L; MASSA DE SORVENTE – 20 mg; SOLVENTE - HEXANO. ....	67
FIGURA 23 – ÁREA DE PICO OS 16 HPAS ESTUDADOS NA MELHOR CONDIÇÃO DO PROCEDIMENTO EXTRAÇÃO EM PONTEIRA DE PIPETA (n=3).....	68
FIGURA 24 – COEFICIENTES PARA A FUNÇÃO DESEJABILIDADE DO PLANEJAMENTO FATORIAL FRACIONÁRIO. ....	71
FIGURA 25 – DESEJABILIDADE PARA OS EXPERIMENTOS DO PLANEJAMENTO ORTOGONAL COMPOSTO CENTRAL.....	73
FIGURA 26 – COEFICIENTES PARA A FUNÇÃO DESEJABILIDADE DO PLANEJAMENTO COMPOSTO CENTRAL.....	74
FIGURA 27 – SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA O PLANEJAMENTO ORTOGONAL COMPOSTO CENTRAL.....	75
FIGURA 28 – EFEITO DA SALINIDADE NA EXTRAÇÃO DE HPAS UTILIZANDO ILMMT PARA DPX. CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO: MASSA DO SORVENTE – 15 mg; VOLUME DE AMOSTRA – 2,6 mL; NÚMERO DE CICLOS DE EXTRAÇÃO – 10; SOLVENTE – HEXANO; VOLUME DE SOLVENTE – 250 $\mu$ L E NÚMERO DE CICLOS DE DESSORÇÃO – 13.....	77
FIGURA 29 – CROMATOGRAMA DE CONCENTRAÇÃO (a) 0,1 e (b) 0,5 $\mu$ g L <sup>-1</sup> APÓS PROCEDIMENTO DPX.....	79
FIGURA 30 – CROMATOGRAMA DA AMOSTRA FORTIFICADA COM OS HPAs PRIORITÁRIOS EM CONCENTRAÇÃO DE 2,75 $\mu$ g L <sup>-1</sup> .....	80

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DOS HPAS.....	21
TABELA 2 - TRABALHOS NA LITETURA USANDO LLE E SPE NA EXTRAÇÃO DE HPAS DE AMOSTRAS DE ÁGUA .....	27
TABELA 3 – TRABALHOS NA LITERATURA USANDO DPX NA EXTRAÇÃO DE HPAs.....	31
TABELA 4 – CONCENTRAÇÕES E VOLUMES DE SOLUÇÕES UTILIZADAS NO PREPARO DAS CURVAS ANALÍTICAS. ....	40
TABELA 5 – CONDIÇÕES AVALIADAS PARA OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DE EXTRAÇÃO. ....	43
TABELA 6 – NÍVEIS E VARIÁVEIS DO PLANEJAMENTO FATORIAL FRACIONÁRIO. ....	44
TABELA 7 – COEFICIENTES DE CONTRASTE PARA O PLANEJAMENTO FATORIAL FRACIONÁRIO.....	45
TABELA 8 – VARIÁVEIS E FAIXA DE TRABALHO PARA O PLANEJAMENTO FATORIAL COMPOSTO CENTRAL.....	46
TABELA 9 – EXPERIMENTOS PARA O PLANEJAMENTO FATORIAL COMPLETO. ....	46
TABELA 10 – CURVA ANALÍTICA PARA AVALIAÇÃO DA LINEARIDADE, LOD E LOQ DO MÉTODO PROPOSTO. ....	48
TABELA 11 – COMPOSTOS, JANELA DE TEMPO DE RETENÇÃO E ÍONS (M/Z) PARA O MÉTODO SIM NO GC-MS. ....	52
TABELA 12 – INCLINAÇÃO, INTERCEPTO E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO PARA OS 16 HPAS ESTUDADOS. ....	54
TABELA 13 – COMPARAÇÃO ÁREA OBTIDAS PARA UM PADRÃO AQUOSO DE 1 $\mu\text{g L}^{-1}$ APÓS A EXTRAÇÃO E UM PADRÃO DE MIX HPAS DE 2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ .....	55
TABELA 14 – CONDIÇÕES DE COMPROMISSO DA EXTRAÇÃO DE HPAS POR DPX.....	68
TABELA 15 – VALOR DE DESEJABILIDADE OS EXPERIMENTOS DO PLANEJAMENTO FATORIAL FRACIONÁRIO. ....	71

TABELA 16 – MÉDIA, ESTIMATIVA DO DESVIO PADRÃO E RSD PARA A ÁREA DE PICO DO PONTO CENTRAL DO PLANEJAMENTO ORTOGONAL COMPOSTO CENTRAL.....	73
TABELA 17 – CONDIÇÕES DE COMPROMISSO OBTIDAS COM BASE EM PLANEJAMENTOS MULTIVARIADO E UNIVARIADO PARA EXTRAÇÃO DE HPAS POR DPX.....	76
TABELA 18 – INCLINAÇÃO, INTERCEPTO, R <sup>2</sup> , RSD DO PRIMEIRO NÍVEL DAS CURVAS ANALÍTICAS, LOD E LOQ PARA CADA UM DOS HPAS NO MÉTODO PROPOSTO.....	78
TABELA 19 – VALORES DE RECUPERAÇÃO E RSD PARA AVALIAÇÃO DA EXATIDÃO E PRECISÃO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO DE HPAS UTILIZANDO IL-MMT COMO SORVENTE PARA DPX.....	79
TABELA 20 – CONCENTRAÇÕES DE HPAS ENCONTRADAS NA AMOSTRA DE ÁGUA DO MAR ANALISADA.....	81

## LISTA DE EQUAÇÕES

EQUAÇÃO 1 – DESVIO PADRÃO RELATIVO. ....	43
EQUAÇÃO 2 – LIMITE DE DETECÇÃO (LOD). ....	48
EQUAÇÃO 3 – RECUPERAÇÃO.....	49

## LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

3D-IL-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-GO – Nanocompósito de óxido de grafeno funcionalizado com ferrita líquida iônica tridimensional

8-HQ-Pd – 8-hidroxiquinolina imobilizado com Pd<sup>II</sup>

Ace - Acenafteno

Ace[<sup>2</sup>H<sub>10</sub>] - Acenafteno-d10

ACN – Acetonitrila

Acy - Acenaftileno

Ant - Antraceno

BaA - Benz[a]antraceno

BaP - Benzo[a]pireno

BbF - Benzo[b]fluoranteno

BghiP - Benzo[ghi]antraceno

BkF - Benzo[k]fluoranteno

C18 – Octadecilsilano

CAMAR – Centro de Aquicultura Marinha e Repovoamento

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

Cris[<sup>2</sup>H<sub>12</sub>] - Criseno-d12

Crys - Criseno

DahA - Dibenzo[a,h]antraceno

DCM – Diclorometano

DPX – Extração em ponteira de pipeta dispersiva

Fla - Fluoranteno

Flu - Fluoreno

GC-ECD – Cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons

GC-FID – Cromatografia gasosa com detector e ionização em chama

HPLC-DAD – Cromatografia em fase Líquida de Alta Eficiência com detector de Arranjo de Diodos

HPLC-FLD – Cromatografia em fase Líquida de Alta Eficiência com detector de Fluorescência

HPLC-UV – Cromatografia líquida de alta eficiência com detector ultravioleta

IL – Líquido iônico

IL-MMT – Montmorilonita modificada com líquido iônico

Ind - Indeno[1,2,3-cd]pireno  
IR – Infravermelho  
LC-MS – Cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas  
LLE – Extração Líquido-Líquido  
LogK<sub>oa</sub> – Coeficiente de partição octanol/água  
m/z – Razão massa carga  
MeOH – Metanol  
MM – Massa molar  
MMT – Montmorilonita  
NaCl – Cloreto de sódio  
Nap - Naftaleno  
Nap[<sup>2</sup>H<sub>8</sub>] - Naftaleno-d8  
PCBs – Bisfenilas policloradas  
Per[<sup>2</sup>H<sub>12</sub>] - Perileno-d12  
Phe - Fenantreno  
Phe[<sup>2</sup>H<sub>10</sub>] - Fenantreno-d10  
PI – Padrão inteiro  
p-Ter[<sup>2</sup>H<sub>14</sub>] - p-Terfenil-d14  
PV – Pressão de vapor  
Pyr - Pireno  
R<sup>2</sup> - Coeficiente de determinação  
RDSE – Extração sortiva em disco rotativo  
S – Solubilidade  
SIM – Monitoramento seletivo de íons  
SPE – Extração em fase sólida  
SPME – Microextração por fase sólida  
U.S. EPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estados

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
1.1	OBJETIVOS .....	17
1.1.1	Objetivo geral .....	17
1.1.2	Objetivos específicos.....	17
<b>2.</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>19</b>
2.1	HIDROCARBONETOS POLICÍCLOS AROMÁTICOS .....	19
2.1.1	Fontes dos HPA .....	22
2.1.2	HPAs em água .....	23
2.2	TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA QUANTIFICAÇÃO DE HPAS.....	25
2.3	EXTRAÇÃO DE HPAS EM ÁGUA .....	25
2.4	EXTRAÇÃO EM PONTEIRAS DE PIPETA DISPERSIVA.....	28
2.5	MONTMORILONITA .....	32
2.5.1	Montmorilonita modificada com Líquidos iônicos .....	34
<b>3.</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>36</b>
3.1	MATERIAIS .....	36
3.1.1	Reagentes .....	36
3.1.2	Equipamentos .....	37
3.2	MÉTODOS .....	38
3.2.1	Condições cromatográficas .....	38
3.2.2	Preparo das soluções padrão.....	38
3.2.3	Curvas analíticas instrumentais.....	39
3.2.4	Preparo dos dispositivos de extração.....	40
3.2.5	Extração em ponteira de pipeta descartáveis.....	41
3.2.6	Avaliação da eficiência da IL-MMT como sorvente .....	42
3.2.7	Avaliação inicial da reprodutibilidade da extração.....	42
3.2.8	Seleção das condições de extração .....	43
3.2.9	Otimização multivariada do método de extração.....	44
3.2.9.1	Planejamento fatorial fracionário .....	44
3.2.9.2	Planejamento ortogonal composto central.....	45
3.2.10	Avaliação do efeito da salinidade na extração .....	46
3.2.11	Parâmetros analíticos de mérito.....	47
3.2.11.1	Linearidade, LOD e LOQ .....	47

3.2.11.2	Exatidão e precisão .....	48
3.2.12	Aplicação do método de extração em amostras ambientais .....	49
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>49</b>
4.1	CARACTERIZAÇÃO DA IL-MMT .....	49
4.2	ADEQUAÇÃO DO MÉTODO INSTRUMENTAL.....	52
4.3	CURVAS ANALÍTICAS INSTRUMENTAIS .....	53
4.4	AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA IL-MMT COMO SORVENTE .....	55
4.5	AVALIAÇÃO INICIAL DA REPETIBILIDADE DA EXTRAÇÃO.....	58
4.6	SELEÇÃO DAS CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO.....	59
4.6.1	Massa do sorvente .....	59
4.6.2	Solvente de dessorção.....	61
4.6.3	Volume de solvente.....	62
4.6.4	Número de ciclos de dessorção .....	64
4.6.5	Volume de amostra .....	65
4.6.6	Número de ciclos de extração .....	66
4.6.7	Melhor condição para a extração de HPAs por DPX definida através do planejamento univariado .....	68
4.7	OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA.....	69
4.7.1	Planejamento fatorial fracionário ( $2^{6-2}$ ) .....	70
4.7.2	Planejamento ortogonal composto central .....	72
4.7.3	Condição ótima da extração.....	75
4.8	AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SALIDADE NA EXTRAÇÃO.....	76
4.9	PARAMETROS ANALÍTICOS DE MÉRITO .....	78
4.9.1	LINEARIDADE, LOD E LOQ .....	78
4.9.2	EXATIDÃO E PRECISÃO .....	79
4.10	APLICAÇÃO EM AMOSTRAS DE ÁGUA MARINHA.....	81
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>82</b>
<b>6.</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>83</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A indústria do petróleo é uma das mais relevantes mundialmente, sendo o petróleo a principal fonte de combustível da humanidade. No mercado brasileiro o setor de gás e petróleo está entre as principais atividades econômicas e é um dos produtos mais exportados do país. Porém, apesar da importância econômica, nas últimas décadas se tem notado que a poluição causada pelo petróleo e seus derivados é um dos principais problemas relacionados ao meio ambiente. Um grande problema ligado a isso é o aporte de óleo em oceanos, que ocorre em quantidade significativa (PINHATI et al., 2014; AHMED e FAKHRUDDIN, 2018; DISNER; TORRES et al., 2020).

Um exemplo disso é o maior desastre ambiental provocado por vazamento de petróleo na história do Brasil, que ocorreu na costa brasileira, especialmente no Nordeste, em 2019. O acidente foi um dos mais extensos registrados no mundo e apresentou enorme proporção, atingindo 11 estados, 130 municípios e mais de 1000 localidades com manchas e resíduos de óleo. O prejuízo à fauna e as áreas de proteção, em especial aquelas mais sensíveis, como mangues e recifes de corais, calculou-se inestimável (DISNER et al., 2020; PENA et al., 2020).

O petróleo é composto em sua maioria por hidrocarbonetos lipossolúveis. Dentre estes compostos estão os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromático (HPAs), que são considerados poluentes orgânicos prioritários em estudos ambientais e os mais preocupantes compostos de petróleo para o ambiente aquático (MEIRE et al., 2007; SILVA et al., 2009; ANDRADE et al., 2010).

Os HPAs são compostos orgânicos formados por dois ou mais anéis aromáticos, possuindo exclusivamente carbono e hidrogênio. Ao entrar em contato com o ambiente aquático os HPAs podem existir em baixa concentração na forma dissolvida, devido à sua baixa solubilidade em água ou podem ser sorvidos pela matéria orgânica particulada sendo, conseqüentemente, depositados nos sedimentos ou permanecendo em suspensões presentes na água (LAWAL, 2017; MOJIRI et al., 2019).

De modo geral, a determinação de HPAs em água é um desafio, devida a ampla variedade de compostos com diferentes características físico-químicas e suas concentrações muito baixas. Assim, muitas vezes se faz necessária a pré-

concentração dos HPAs utilizando eficientes métodos de preparo de amostras. Dentre esses, é possível destacar a extração em ponteira de pipeta dispersiva (*Dispersive pipette extraction*, DPX). Ela é uma versão miniaturizada da extração em fase sólida (*Solid-phase extraction*, SPE) que possui diversos atrativos: reduzida massa de sorvente e baixos volumes de solventes e amostras, entre outros (ZHANG et al., 2018; SAJID et al., 2021; SUN et al., 2021; CARASEK et al., 2022).

Um fator muito importante para a boa eficiência da DPX na extração de HPA é a escolha da fase sortiva. Nesse sentido, a montmorilonita modificada com líquidos iônicos (*Ionic liquids intercalated in montmorillonite*, IL-MMT), um eco-material a base de argilominerais, vem se mostrando uma fase sorvente atrativa para a extração de compostos orgânicos baixa polaridade. O aumento do espaçamento basal da argila melhora a atração de analitos orgânicos no material, podendo assim ser aplicado na extração de analitos orgânicos (FISCAL-LADINO et al., 2017).

Baseado no potencial da DPX, utilizando a IL-MMT como sorvente para a extração de poluentes orgânicos de baixa polaridade em água, neste projeto realizou-se o desenvolvimento de um método analítico voltado para a extração e pré-concentração de hidrocarbonetos de petróleo em amostras de água do mar através da DPX utilizando IL-MMT como sorvente.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Este trabalho teve como objetivo desenvolver um método de extração de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em amostras de água marinha, por meio da técnica de preparo de amostras denominada extração em ponteira de pipeta dispersiva, utilizando montmorilonita modificada com líquido iônico como fase sortiva.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- i. Adaptação de um método instrumental baseado no emprego da GC-MS para quantificação de 16 HPAs;

- ii. Avaliação da montmorilonita modificada com líquido iônica na extração de HPA em matrizes aquosas;
- iii. Otimização do método de extração miniaturizado com a montmorilonita modificada com líquido iônico;
- iv. Avaliação do procedimento em amostras sintéticas;
- v. Aplicação do procedimento em amostras ambientais.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

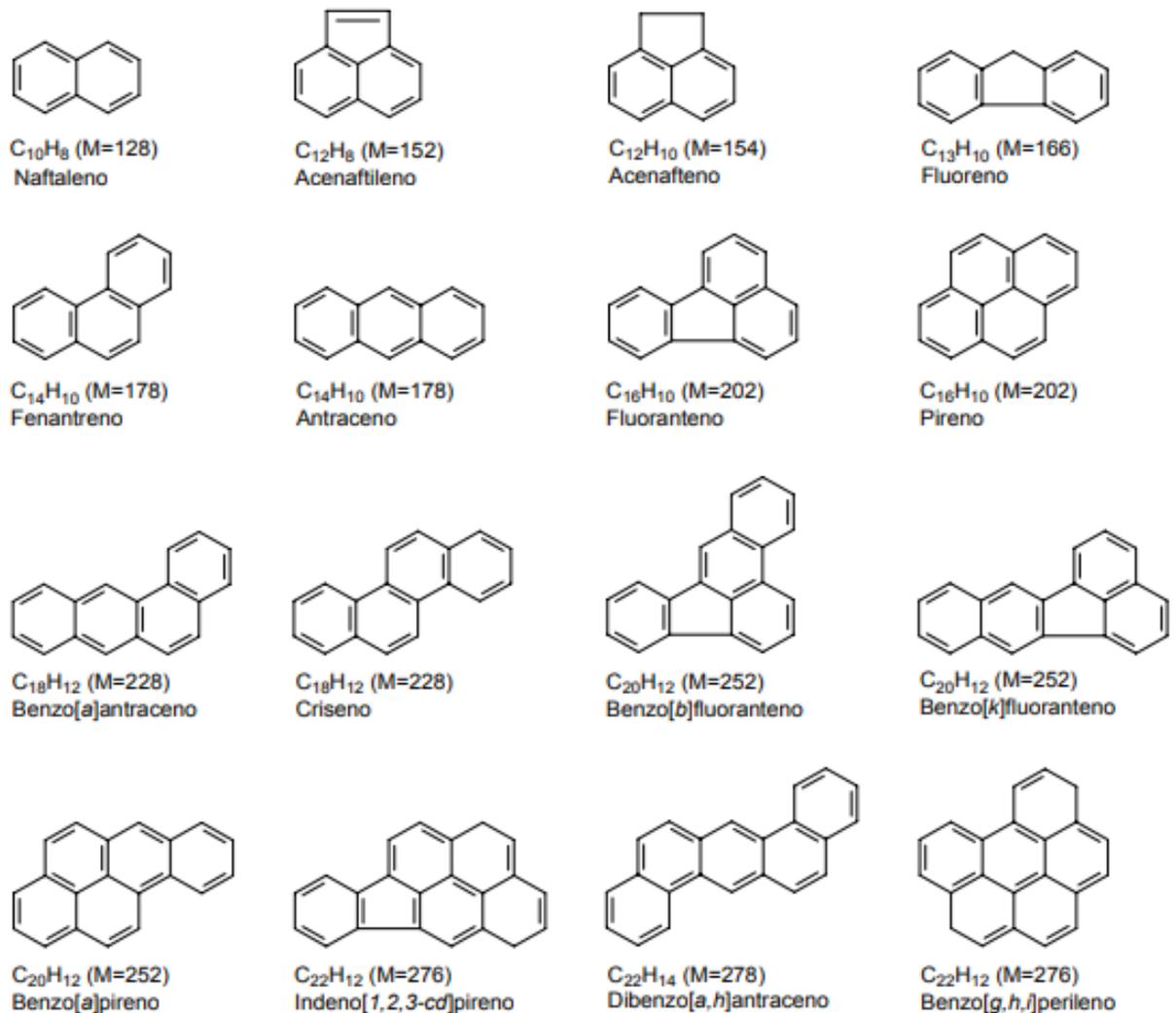
### 2.1 HIDROCARBONETOS POLICÍCLOS AROMÁTICOS

Os HPA são um grande grupo de produtos químicos com dois ou mais anéis aromáticos fundidos em várias configurações estruturais, formados exclusivamente por átomos de carbono e hidrogênio, ligados em uma estrutura de anéis simples a complexos. Seus arranjos dos anéis benzênicos apresentam uma ampla diversidade de características físicas, químicas e toxicológicas (MEIRE et al., 2007; KIM et al., 2013; LAWAL, 2017).

Os HPA podem ser divididos em duas categorias: compostos de baixa massa molar consistindo em menos de quatro anéis e outros de alta massa molar, que contêm quatro ou mais anéis (KIM et al., 2013). Os HPAs são poluentes orgânicos persistentes, sendo os HPAs mais pesados ainda mais prejudiciais ao meio ambiente e à saúde humana (LAWAL, 2017).

De acordo com a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (U.S. EPA – *U.S. Environmental Protection Agency*) 16 hidrocarbonetos poliaromáticos são considerados particularmente importantes no monitoramento ambiental de poluentes orgânicos (EPA, 1986). Esses compostos, mostrados na Figura 1, apresentam dois a seis anéis aromáticos fundidos entre si com massa molar entre 128 e 278 g/mol (MEIRE et al., 2007).

FIGURA 1 – HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPAS) PRIORITÁRIOS EM ESTUDOS AMBIENTAIS DE ACORDO COM A U.S. EPA, 1987.



FONTE: Leite (2008).

Alguns dos HPA prioritários são relatados como carcinógenos, mutagênicos e teratógenos e, portanto, representam uma séria ameaça à saúde humana. De acordo com a U.S. EPA, sete dos HPA prioritários são possivelmente carcinogênicos, incluindo: benz[a]antraceno, benzo[a]pireno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, criseno, dibenz[a,h]antraceno e indeno[1,2,3-cd]pireno. As ameaças à saúde podem estar associadas a diversos efeitos a curto prazo, como irritação nos olhos, náuseas, vômitos e diarreia e efeitos a longo prazo como redução no número de glóbulos vermelhos, danos ao fígado e rins e aumento do

risco de câncer de pele, pulmão, bexiga e intestino (KIM et al., 2013; AFSHAR-MOHAJER et al., 2016; GAO et al., 2018).

Características físico-químicas como solubilidade (S) e pressão de vapor (PV) são importantes, dado que governam a distribuição desses contaminantes entre as fases solúveis e particuladas em meio atmosférico, aquoso e biótico. A Tabela 1 apresenta as propriedades físico-químicas dos 16 HPA prioritários em estudos ambientais.

TABELA 1 – PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DOS HPAS.

HPA	Nº de anéis	MM g mol <sup>-1</sup>	S mg L <sup>-1</sup>	PV (Pa)	LogK <sub>ow</sub>
Naftaleno	2	128	32	10,4	3,37
Acenaftileno	3	152	16	0,89	4,07
Acenafteno	3	154	3,9	0,29	3,92
Fluoreno	3	166	2,0	9,0.10 <sup>-2</sup>	4,18
Fenantreno	3	178	1,3	1,6.10 <sup>-2</sup>	4,57
Antraceno	3	178	7,3.10 <sup>-2</sup>	8,0.10 <sup>-2</sup>	4,54
Fluoranteno	4	202	2,6.10 <sup>-1</sup>	1,2.10 <sup>-3</sup>	5,22
Pireno	4	202	1,3.10 <sup>-1</sup>	6,0.10 <sup>-4</sup>	5,18
Criseno	4	228	2,0.10 <sup>-3</sup>	8,4.10 <sup>-5</sup>	5,91
Benz[a]antraceno	5	228	1,4.10 <sup>-2</sup>	2,8.10 <sup>-5</sup>	5,61
Benzo[b]fluoranteno	5	255	1,2.10 <sup>-3</sup>	6,7.10 <sup>-5</sup>	6,12
Benzo[k]fluoranteno	5	252	7,6.10 <sup>-4</sup>	1,3.10 <sup>-8</sup>	6,84
Benzo[a]pireno	5	252	3,8.10 <sup>-3</sup>	7,3.10 <sup>-7</sup>	6,50
Indeno[1,2,3-cd]pireno	6	276	6,2.10 <sup>-2</sup>	1,3.10 <sup>-8</sup>	6,58
Dibenz[a,h]antraceno	5	278	2,6.10 <sup>-4</sup>	1,3.10 <sup>-8</sup>	6,50
Benzo[ghi]perileno	6	276	2,6.10 <sup>-4</sup>	1,4.10 <sup>-8</sup>	7,10

FONTE: adaptado de Behera et al., 2018.

LEGENDA: Número de anéis aromáticos; **MM**, massa molar (g mol<sup>-1</sup>); **S**, solubilidade em água (mg L<sup>-1</sup>); **PV**, pressão de vapor (Pa – Pascal) e **LogK<sub>ow</sub>**, coeficiente de partição (octanol-água).

Como pode ser verificado na Tabela 1, a massa molar está inversamente relacionada à solubilidade, que diminui com o aumento do número de anéis. Esses compostos apresentam características bastante distintas, variando entre altamente insolúveis e poucos solúveis em água. A volatilidade dos HPA varia de acordo com o número de anéis, transitando entre compostos altamente voláteis, como o naftaleno

e compostos relativamente pouco voláteis, como o dibenz[a,h]antraceno, sendo que os compostos de menor massa molar apresentam uma maior pressão de vapor e em consequência ampla dispersão ambiental.

Os HPAs podem ser considerados de moderadamente a altamente lipossolúveis, apresentando coeficientes de partição octanol-água ( $\log K_{ow}$ ) que variam entre 3,37 e 6,75. Os altos valores de partição entre solventes orgânicos e água mostram que eles podem passar por possível processos cumulativos em compartimentos, como sedimentos e solos (ricos em matéria orgânica adsorvida), assim como na bioacumulação em sistemas biológicos (MEIRE et al., 2007; BEHERA et al., 2018).

Os HPAs são amplamente distribuídos no ambiente e o seu transporte se dá principalmente por via atmosférica, associado ao material particulado fino. Uma vez depositados na atmosfera, os HPAs podem ser depositados sob a forma seca (vapor ou particulada) ou úmida (precipitação sob a forma dissolvida ou particulada) sobre sistemas aquáticos e terrestres (MEIRE et al., 2007).

### 2.1.1 Fontes dos HPA

Os HPA podem existir no meio ambiente a partir de fontes naturais ou relacionadas a atividades antrópicas. As fontes naturais são poucas e se limitam a queima espontânea de florestas e emissões vulcânicas. As fontes decorrentes de atividades humanas representam a fração mais significativa de origem dos compostos. De acordo com a origem do processo de formação os HPAs podem ser classificados entre petrogênicos, pirogênicos e biogênicos (SILVA, 2010; PURCARO; MORET; CONTE, 2013; KIM et al., 2013).

HPAs de origem petrogênica estão diretamente ligados ao petróleo e seus derivados, podendo chegar ao meio ambiente principalmente através de derramamentos de óleos. Os de origem pirolítica são resultado da combustão incompleta de matéria orgânica ou combustíveis fósseis, que tem como fonte as operações industriais, emissões veiculares, incineração, combustão doméstica de carvão e fumaça de tabaco. Já os de origem biogênica estão relacionados com processos biológicos naturais, como síntese por bactérias, plantas e fungos, além de processos de combustão (SILVA, 2010; KIM et al., 2013, LAWAL, 2017).

### 2.1.2 HPAs em água

Nas últimas décadas compostos orgânicos, incluindo os HPAs, têm sido comumente encontrados em ambientes aquáticos, como afluentes e efluentes de estações de tratamento de águas residuais, águas subterrâneas, águas superficiais continentais e marinhas. As principais fontes de contaminação de ambientes aquáticos por HPAs ocorrem por meio do solo, da descarga de resíduos industriais e domésticos e do derramamento de petróleo e seus derivados (MOJIRI et al., 2019).

A poluição causada pelo petróleo e seus derivados é um dos principais problemas relacionados ao meio ambiente. Dentro os danos ambientais causados pelo petróleo e seus derivados está o aporte do óleo no oceano, que ocorre em quantidade significativa no mundo todo (SILVA et al., 2009; ANDRADE et al., 2010; AHMED e FAKHRUDDIN, 2018; DISNER; TORRES et al., 2020).

Dentro os desastres ambientais causados pelo derramamento de óleo no mar, se destaca o maior desastre ambiental causado por vazamento de óleo do Brasil e um dos mais extensos registrados no mundo, que ocorreu especialmente no nordeste, em 2019. Esse acidente apresentou enorme proporção, atingindo 11 estados, 130 municípios e mais de 1000 localidades com manchas e resíduos de óleo. O prejuízo à fauna e as áreas de proteção, em especial aquelas mais sensíveis, como mangues e recifes de corais, calcula-se inestimável (DISNER et al., 2020; PENA et al., 2020).

De acordo com o IBAMA (2019), o óleo que atingiu a costa é pesado e muito intemperizado, o que significa que sofreu processos químicos, físicos e biológicos ao longo do tempo. Suas principais propriedades são alta viscosidade, densidade e baixa concentração de compostos voláteis. Com base nessas características, supôs-se que os comportamentos esperados do óleo no ambiente marinho seriam: persistência no meio ambiente; densidade próxima à da água do mar, podendo, portando, afundar ao encontrar águas salobras; baixos níveis de evaporação e baixo potencial de toxicidade para os organismos marinhos, embora com potencial para asfixia de organismos marinhos que entram em contato direto devido à alta viscosidade e densidade (DISNER et al., 2020).

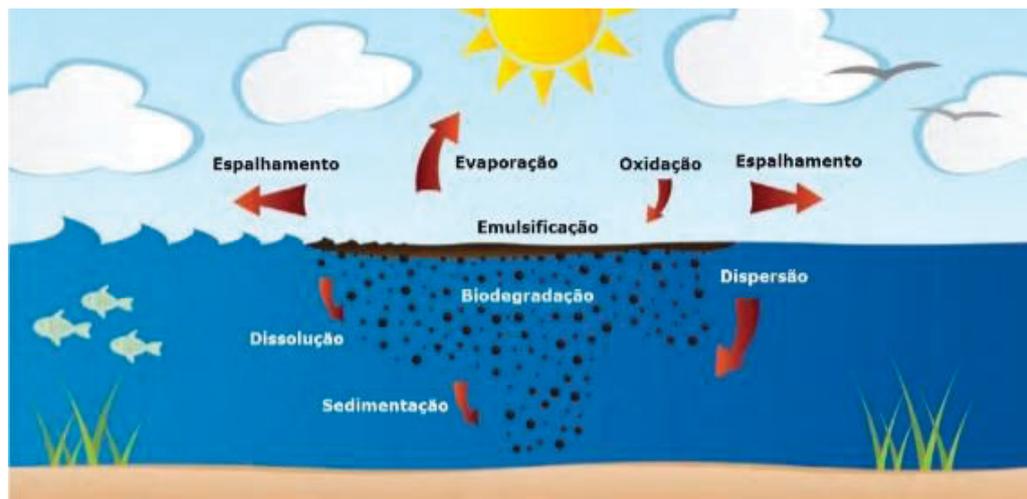
Em junho de 2021, quase dois anos após o acontecimento, ainda foram encontrados rastros do acidente. Foram encontradas manchas de óleo no litoral da

Bahia e especialistas do Instituto de Geociências da Universidade Federal da Bahia (UFBA) chegaram à conclusão de que é o mesmo material achado ao longo da costa do litoral do Nordeste, em 2019 (LISBOA, 2021).

A Polícia Federal, em dezembro de 2021, concluiu as investigações realizadas em parceria com diversos órgãos e instituições nacionais e internacionais sobre a origem do derramamento de óleo. A partir das provas e demais elementos de convicção produzidos concluiu-se que um navio petroleiro de bandeira grega foi o responsável pelo desastre ambiental (Coordenação-Geral de Comunicação Social, 2021).

O petróleo é composto em maior parte por hidrocarbonetos lipossolúveis, dentre eles estão os HPAs, contribuindo significativamente para o aporte de HPAs no meio aquático. Ao entrar em contato com ambientes aquáticos os HPAs, devida baixa solubilidade em água, podem ser adsorvidos na matéria orgânica sólida e conseqüentemente, depositados nos sedimentos ou particulados em suspensões presentes na água. Uma menor parte tende a se solubilizar, podendo então existir em baixas concentrações na forma dissolvida (Figura 2) (WIJAYARATNE E MEANS, 1984; LER; OLEJNIK, 2001; MOJIRI et al., 2019; ÂNGULO-CUERO et al., 2021).

FIGURA 2 - INTEMPERISMO DE ÓLEOS EM AMBIENTE MARINHO.



Fonte: Instituto de Estudos do Mar (2022).

No Brasil, o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) por meio da Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, estabelece os limites de concentração

para alguns HPAs em águas salinas (CONAMA, 2005). Para os compostos Benz[a]antraceno, Benzo[a]pireno, Benzo[b]fluoranteno, Benzo[k]fluoranteno, Criseno, Dibenzo[a,h]antraceno e Indeno [1,2,3-cd]pireno a concentração máxima em água salina destinada a recreação de contato primário, proteção das comunidades aquáticas, aquicultura e atividade de pesca é de  $0,018 \mu\text{g L}^{-1}$ .

## 2.2 TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA QUANTIFICAÇÃO DE HPAS

Estudos que visam determinar poluentes semivoláteis persistentes, como os HPAs, requerem métodos analíticos com elevada detectabilidade. As técnicas analíticas mais comumente utilizadas na quantificação de HPAs são técnicas cromatográficas acopladas a variados detectores. A cromatografia líquida de alta eficiência geralmente é utilizada acoplada a detectores por fluorescência (HPLC-FLD), ultravioleta (HPLC-UV) ou espectrometria de massas (LC-MS). Já a cromatografia gasosa é comumente acoplada a detectores por ionização em chama (GC-FID) ou espectrometria de massas (GC-MS) (LAWAL, 2017; SOURSOU; CAMPO E PICÓ 2023).

GC-MS é um método analítico bastante versátil, principalmente devido a características como à sua robustez, excelente capacidade de separação, seletividade, sensibilidade e reprodutibilidade. Uma grande vantagem do GC-MS é que ele apresenta a capacidade de fornecer informações sobre a identificação dos compostos. Por esses motivos, segundo estudos recentes, para a detecção de HPAs em amostras ambientais a melhor escolha entre os métodos analíticos disponíveis é o GC-MS (BEALE et al., 2018; SOURSOU; CAMPO E PICÓ 2023).

## 2.3 EXTRAÇÃO DE HPAs EM ÁGUA

A determinação de HPAs em água é um desafio, devido sua baixa solubilidade, o que implica em baixas concentrações que geralmente estão abaixo dos limites de detecção dos equipamentos utilizados. Dessa forma, a pré-concentração dos HPAs a partir das amostras, utilizando técnicas eficientes de extração, se faz necessária previamente à análise instrumental (SAJID et al., 2021; SOURSOU; CAMPO e PICÓ, 2023).

A etapa de preparo de amostras na determinação de HPAs apresenta uma grande importância. A extração líquido-líquido (*Liquid-liquid extraction*, LLE) é um método de extração que já foi amplamente utilizado na extração de HPAs em água, porém, está em desuso devido a desvantagens como necessidade de grandes volumes de amostra e amplo consumo de solventes orgânicos (JALILI; BARKHORDARI E GHIAVAND, 2020; SAJID et al., 2021; SOURSOU; CAMPO e PICÓ, 2023).

O uso de sorventes sólidos vem sendo bastante utilizado na extração de HPAs em amostras de água. Um exemplo é a extração em fase sólida (SPE, do inglês, *Solid Phase Extraction*), em que a extração e pré-concentração dos HPAs é feita usando octadecilsílica ou outros derivados de sílica e os compostos são eluídos da fase sólida com metanol (MeOH) ou diclorometano (DCM). O método apresenta elevadas recuperações, mas diversas desvantagens, principalmente devido ao número de etapas e uso de insumos (SAJID et al., 2021; SOURSOU; CAMPO e PICÓ, 2023).

A Tabela 2 apresenta alguns trabalhos utilizando LLE e SPE na extração de HPAs em água, bem como seus limites de quantificação (LOQ) e recuperações.

TABELA 2 - TRABALHOS NA LITETURA USANDO LLE E SPE NA EXTRAÇÃO DE HPAS DE AMOSTRAS DE ÁGUA

HPAs	Amostra aquosa	Método de extração	Técnica	LOQ	Recuperação (%)	Referência
48	Costeira e portuária	LLE (pentanoato de metila)	GC-MS	50 fg/ $\mu$ L	60-157	(DOHMANN, THIANER E ACHTEN, 2019)
14	Rio	LLE (230 mL de Hexano)	HPLC-FLD	0,11-0,43 ng/L	80-106	(BRUM, CASSELLA E NETTO, 2008)
6	Superficial	LLE (DCM)	HPLC-DAD <sup>a</sup>	0,5-4 $\mu$ g/L	91-97	(SHABEER et al., 2013)
15	Mar	SPE (dois cartuxos C18 <sup>b</sup> /DCM, hexano)	GC-MS/MS	1,214-289,929 pg/L	60-94	(ZHANG et al. 2021)
14	Mar	SPE (Disco de extração C18/DCM)	HPLC-FLD	0,22 ng/L	70-116	(MATSUNAKA et al., 2022)
6	Costeira, Rio e Chuva	SPE (sílica modificada com ciclodextrina/Hexano, MeOH, Acetonitrila)	HPLC-FL	0,09-2,4 $\mu$ g/L	50-160	(MAURI-AUCEJO et al. 2016)

a – HPLC-DAD: Cromatografia Líquida de Alta eficiência com detector de arranjo de diodos; b - C18: Octadecilsilano. LOQ...

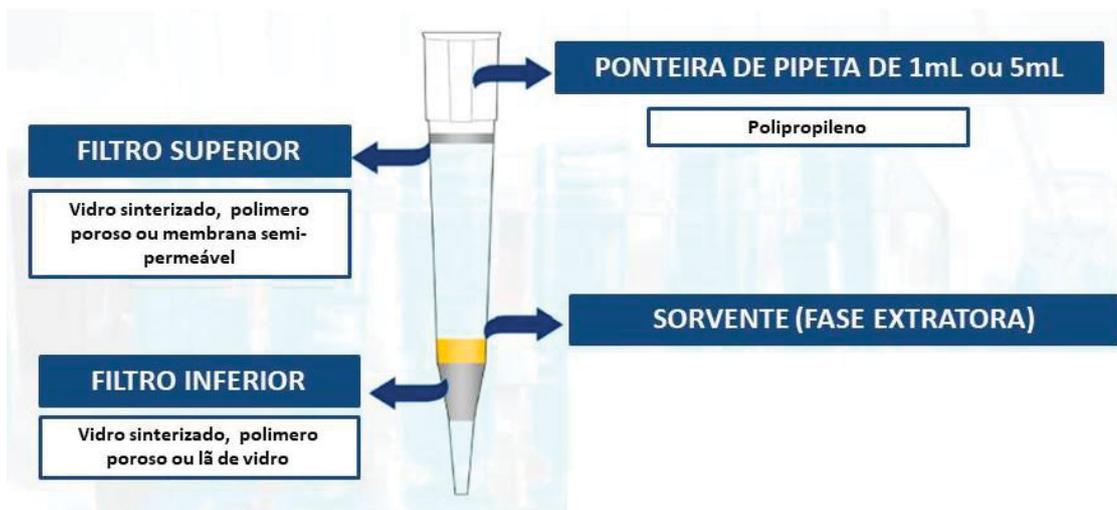
Apesar de apresentar elevadas recuperações, as técnicas LLE e SPE apresentam diversas desvantagens, devido ao elevado número de etapas, volumes bastante elevados de amostra e solventes orgânicos. Assim, permanece o interesse pelo desenvolvimento de novos métodos para a determinação de HPAs em água, preferencialmente que sejam mais rápidos, com menor número de etapas, que utilizem menores volumes de solventes e menores quantidades de sorventes (SAJID et al., 2021).

## 2.4 EXTRAÇÃO EM PONTEIRAS DE PIPETA DISPERSIVA

Visando aumentar a seletividade e eficiência dos métodos analíticos à luz da Química Analítica Verde, a miniaturização dos procedimentos analíticos vem sendo bastante explorada nos últimos anos. Uma versão miniaturizada da SPE, a DPX tem se destacado, se mostrando um protocolo eficaz e promissor na extração e pré-concentração de diversos analitos. Além das vantagens da SPE, a extração em ponteira de pipeta requer volumes menores de solventes e pequenas massas de sorventes, geralmente entre 5-20 mg, enquanto em cartuxos SPE são necessários, em grande parte dos casos, entre 100-1000 mg. Sendo assim, é uma técnica de extração versátil, compacto e portátil (ZHANG et al., 2018; SUN et al., 2021; CARASEK; MORÉS E HUELSMANN, 2022).

Os dispositivos DPX são bastante simples e geralmente consistem em uma ponteira de pipeta de 1 ou 5 mL em que o sorvente é colocado entre dois filtros, um colocado na extremidade inferior da ponteira e outro, que pode ser removido, na extremidade superior (Figura 3) (ZHANG et al., 2018; CARASEK; MORÉS E HUELSMANN, 2022).

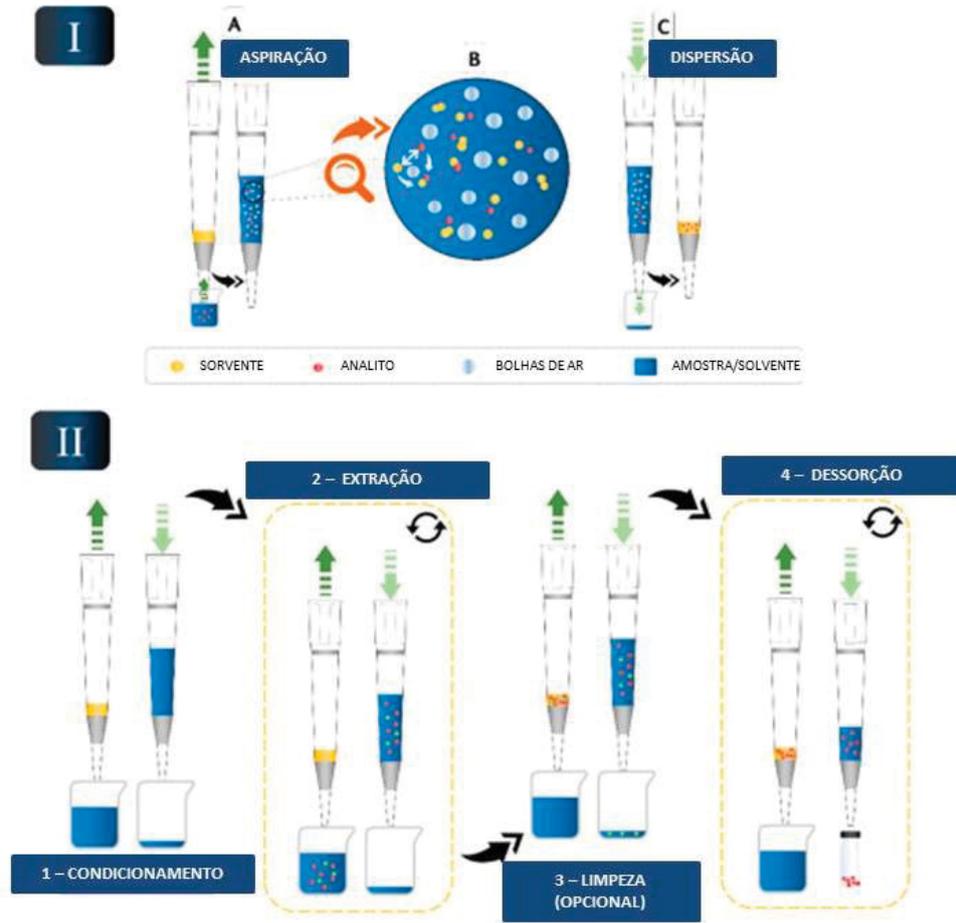
FIGURA 3 – ESQUEMA DO DISPOSITIVO DE EXTRAÇÃO PARA DPX.



Fonte: Adaptado de Carasek; Morés e Huelsmann (2022).

O procedimento da DPX é semelhante ao do SPE tradicional, com algumas modificações. A extração ocorre pela interação/afinidade dos analitos com o sorvente e a dessorção ocorre devido à interação/afinidade dos analitos com o solvente. Inicialmente, o dispositivo de extração é condicionado com a passagem de um solvente orgânico (ou uma mistura de solventes) adequado. Após o descarte deste solvente, se inicia a etapa de extração, em que a amostra é aspirada pelo dispositivo DPX e dispersada em consecutivos ciclos. Seguida da extração, pode ser aplicado um solvente para retirar as possíveis interferências que estavam presentes na matriz e foram extraídas pelo material (esta etapa de limpeza não é obrigatória). Finalmente, para etapa de dessorção, outro solvente orgânico é utilizado e o procedimento ocorre da mesma forma que a extração. O eluato é colocado em um frasco adequado para quantificação instrumental. Um esquema do procedimento está ilustrado na Figura 4 (ZHANG et al., 2018; CARASEK; MORÉS E HUELSMANN, 2022).

FIGURA 4 – I. PROCESSO DE ASPIRAÇÃO E DISPERSÃO NA DPX; II. ETAPAS DO PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO COM PONTEIRA DE PIPETA DISPERSIVA.



Fonte: Adaptado de Carasek; Morés e Huelsmann (2022).

Na DPX, cada uma das etapas pode ser otimizada, ou seja, os parâmetros podem ser avaliados para que se chegue às melhores condições para se alcançar resultados confiáveis, reproduzíveis e corretos. Os principais fatores que requerem otimização na DPX são: (1) material sorvente; (2) solvente de dessorção; (3) número de ciclos para extração/dessorção; (4) volumes de amostra e solvente; (5) pH das amostras; (6) efeito *salting-out*; (7) tempo de equilíbrio (CARASEK; MORÉS E HUELSMANN, 2022).

Na extração de HPAs em diferentes matrizes, a DPX vem sendo utilizada com uma grande variedade de materiais sorventes. A Tabela 3 mostra alguns trabalhos encontrados na literatura para extração de HPAs por DPX.

TABELA 3 – TRABALHOS NA LITERATURA USANDO DPX NA EXTRAÇÃO DE HPAs

HPAs	Matriz	Extrator	Amostra	Solvente	Técnica	REC (%)	LOQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Referência
4	Raiz de lotus	1 mL mistura acetona/ácido acético/água (8:1:1, v/v/v)	5 mL	3 mg de polímero poroso de flogucinol-urotropina	HPLC-FLD <sup>a</sup>	84,6 – 114,3	0,29 – 0,93	Zhai et al. (2022)
2	Microalgas	500 $\mu\text{L}$ de ACN <sup>b</sup>	1 mL	50 mg de C18	HPLC-UV	83 – 93	2,3 – 2,9	Llasera et al. (2021)
16	Sangue humano	100 $\mu\text{L}$ de tolueno	200 $\mu\text{L}$	10 mg de 3D-IL-Fe3O4-GO <sup>c</sup>	GC-MS	85 – 115	0,007 – 0,013	Zhang et al. (2018)
12	Água de rio	200 $\mu\text{L}$ mistura ACN/MeOH (50:50, v/v)	700 $\mu\text{L}$	5 mg de polipirrol	HPLC-DAD <sup>d</sup>	44 – 139	5,0 – 20	Turazzi et al. (2019)
16	Água e resíduos sólidos petroquímicos	200 $\mu\text{L}$ de MeOH	700 $\mu\text{L}$	20 mg de sílica gel 8-HQ-Pd <sup>e</sup>	GC-MS	72,7 – 131,2	0,2 – 2,7	Garcia et al. (2021)

Legenda: a – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector de Fluorescência; b – Acetonitrila; c - Nanocompósito de óxido de grafeno funcionalizado com ferrita líquida iônica tridimensional; d – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector de Arranjo de Diodos; e – Gel de sílica 8-hidroxiquinolina imobilizado com Pd<sup>II</sup>

Como se pode observar na Tabela 3, a DPX vem sendo utilizada para extração de HPAs em diferentes matrizes, utilizando diferentes sorventes. A técnica de preparo de amostras ainda foi pouco explorada na extração de HPAs em matrizes aquosas, não sendo encontrado nenhum trabalho em águas marinhas, porém apresenta grande potencial (SUN et al., 2021).

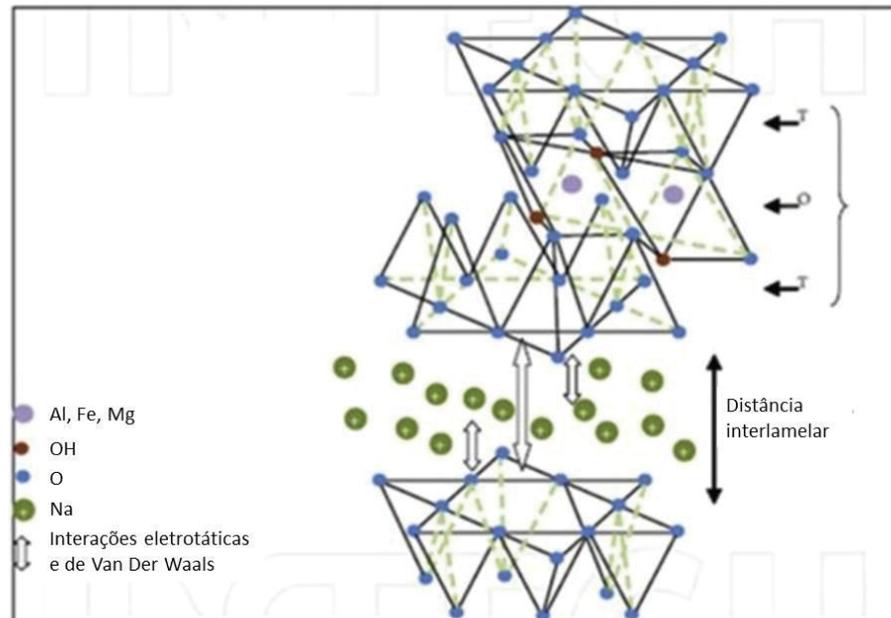
Assim como na SPE, para a DPX, a escolha do sorvente adequado tem uma grande importância na boa seletividade do método. Diferentes materiais vêm sendo testados como sorventes para a pré-concentração ou extração de HPAs em diversas matrizes, como: materiais a base de carbono, estruturas organometálicas, polímeros, líquidos iônicos, sílica e outros sorventes hidrofóbicos, entre outros (ZHANG et al., 2018; SAJID et al. 2021; SUN et al., 2021).

## 2.5 MONTMORILONITA

Pensando na necessidade de desenvolvimento de novos sorventes para técnicas de microextração, diferentes materiais à base de argilas têm sido propostos para a extração de poluentes ambientais, esses materiais apresentam um bom desempenho na retenção de espécies químicas (FISCAL-LADINO et al. 2017).

Dentre os materiais a base de argila proposto para a extração de poluentes ambientais se destaca a montmorilonita (MMT). A montmorilonita (Figura 5) é um argilomineral pertencente ao grupo das esmectitas, do tipo 2:1 que apresenta estrutura lamelar composta por duas folhas tetraédricas de silaxano fundidas que envolvem uma folha central octaédrica, que contém cargas negativas que são contrabalanceados por cátions inorgânicos. As lamelas apresentam capacidade de extração e dessa forma, o espaçamento interlamelar do material pode ser aumentado, o que aumenta sua reatividade (FISCAL-LADINO et al. 2017; BEE et al. 2018).

FIGURA 5 – ESTRUTURA DA MONTMORILONITA.



Fonte: Adaptado de Olad (2011).

Devido suas características estruturais a MMT é um eficiente sorvente para contaminantes catiônicos, como espécies metálicas, corantes, surfactantes e monômeros (FISCAL-LADINO et al. 2017).

No âmbito do Grupo de Química Ambiental – UFPR, Santos, Grassi e Abate (2015) utilizaram a MMT na sorção de Hg(II) em meio aquoso, o material apresentou eficiência na sorção da espécie metálica, apresentando valores de sorção >60%. Frois et al., (2011) utilizaram a MMT na pré-concentração de Cr(III) e análise de especiação de cromo, o processo de sorção apresentou valores próximos de 100%, o que mostra que a MMT é um bom material na pré-concentração do metal, e os valores de recuperação foram próximos de 89%. Anjos et al., (2014) avaliaram a utilização da MMT como adsorvente na separação e pré-concentração de As, Ba, Cu, Cd, Co, Cr, Mn, Ni, Pb, Sr, V e Zn, o material apresentou excelentes propriedades de sorção, com valores médios de dessorção de 82%. Anjos, Abate e Grassi (2016) utilizaram a MMT como fase ligante empregando difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT) para determinar a labilidade de elementos-traço em águas naturais, o argilomineral se mostrou eficiente apresentando recuperações entre 83 e 110%.

Apesar da grande eficiência na sorção de contaminantes catiônicos, a MMT não sorve compostos orgânicos. Pensando nisso, MMTs modificadas com diferentes materiais têm sido propostas como sorventes potenciais para sorção de poluentes orgânicos de baixa polaridade (FISCAL-LADINO et al. 2017).

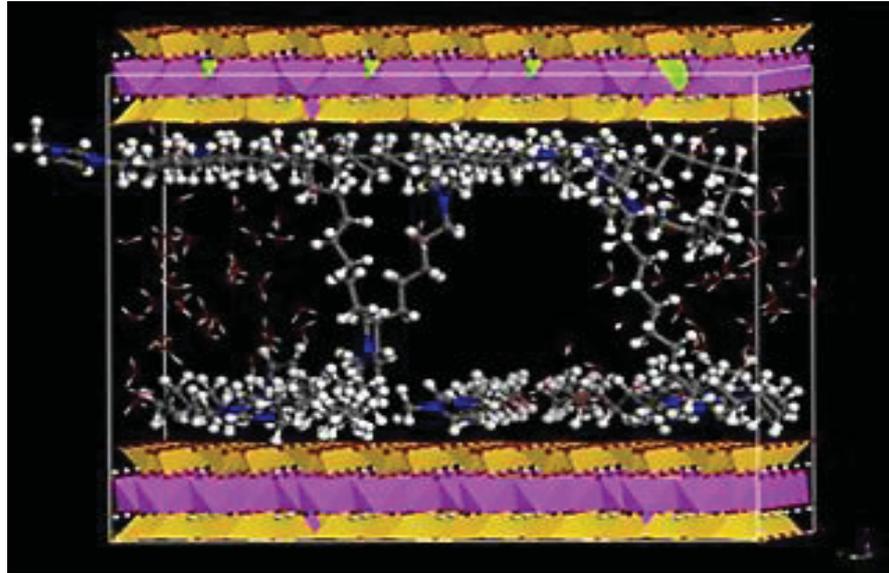
### 2.5.1 Montmorilonita modificada com líquidos iônicos

A força de ligação entre os cátions presentes na MMT e as camadas do argilomineral é relativamente fraca. Portanto, isso possibilita que esses cátions sejam substituídos por outros cátions (orgânicos ou inorgânicos). Quando a modificação das argilas é realizada com íons catiônicos orgânicos, o espaço interlamelar da MMT pode mudar de hidrofílico para hidrofóbico, o aumento do espaçamento basal da argila melhora a atração dos analitos orgânicos na argila, assim o material resultante se torna um eficiente sorvente para extração de contaminantes orgânicos hidrofóbicos (WU et al. 2014; FISCAL-LADINO et al. 2017).

Dentre os materiais utilizados na modificação de argilominerais, se destacam os líquidos iônicos (*ionic liquids*, IL). Os ILs são sais que são líquidos a temperatura ambiente, constituídos por cátions orgânicos e ânions inorgânicos. Devido suas características como: baixa volatilidade, não inflamabilidade, alta estabilidade térmica (até 400 °C), alta condutividade iônica e facilidade de síntese eles podem ser usados para diversas aplicações (ALEKSEEVA et al. 2019; SAJID et al., 2021).

Os ILs podem ser produzidos com uma variedade de cátions e ânions. Para a modificação da MMT a maioria dos usados é baseada em íons imidazólio, piridínio e pirrolidínio. A presença de ILs na estrutura da MMT aumenta a hidrofobicidade do material e torna possível a absorção de substâncias orgânicas na argila, a Figura 6 mostra a MMT modificada com ILs (ALEKSEEVA et al. 2019).

FIGURA 6 – AUMENTO DO ESPAÇAMENTO BASAL NA MMT MODIFICADA COM LÍQUIDO IÔNICO.



Fonte: Wu et al. (2014).

Fiscal-Ladino et al. (2017) propuseram um novo eco-material baseado em argilas montmorilonita modificadas com líquido iônico, no caso o brometo de 1-hexadecil-3-metilimidazólio para a extração de bifenilas policloradas (PCBs) em amostras de água residuais pela técnica de Microextração Sortiva de Disco Rotativo (*Rotating-disk sorptive extraction*, RDSE). A análise foi realizada por GC. A técnica apresentou um bom desempenho analítico, o que indica que pode ser aplicada para a extração de outros analitos orgânicos de baixa polaridade.

Sánchez-Duque et al. (2022) utilizaram a montmorilonita modificada com brometo de 1-hexadecil-3-metilimidazólio como sorvente na determinação de poluente organoclorados através de microextração por fase sólida (*Solid-phase microextraction*, SPME). As análises foram realizadas por Cromatografia Gasosa acoplada a detector de captura de elétrons (GC-ECD), apresentando limites quantificação menores que  $9,9 \text{ ng mL}^{-1}$  e  $\text{RSD} \leq 8\%$ .

Baseado no trabalho de Fiscal-Ladino et al. (2017) e Sánchez-Duque et al. (2022), a montmorilonita modificada com líquido iônico apresentou um bom desempenho na extração de compostos orgânicos de baixa polaridade. Dessa forma, a montmorilonita modificada com líquido iônico apresenta grande potencial para ser utilizada como sorvente para a extração de HPAs em água.

A DPX é uma metodologia de preparo de amostras que vem sendo amplamente utilizada na determinação de diversos analitos em diferentes amostras. Apesar de já ter sido usada na determinação de HPAs em amostras aquosas, nenhum trabalho encontrado na literatura utilizou a técnica para extração de HPAs em águas marinhas. Diversos materiais têm sido estudados como fase extratora na DPX, a IL-MMT é um eco-material que nunca foi explorado na extração em ponteira de pipetas e apresenta grande potencial na extração de analitos orgânicos de baixa polaridade. Assim, neste trabalho, tem-se como objetivo, pela primeira vez, utilizar a IL-MMT como fase sorvente para DPX na extração de HPAs em águas marinhas.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAIS

##### 3.1.1 Reagentes

Todos os solventes utilizados no preparo dos padrões e amostras (hexano, acetonitrila e acetona) foram de grau HPLC da marca J. T. Baker (Cidade do México, MÉXICO). A água (resistividade  $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ ) utilizada para a elaboração das soluções foi obtida em sistema de osmose reversa Permuton (Curitiba, BRASIL) seguida por purificação no sistema Milipore UV Simplicity (Molsheim, FRANÇA).

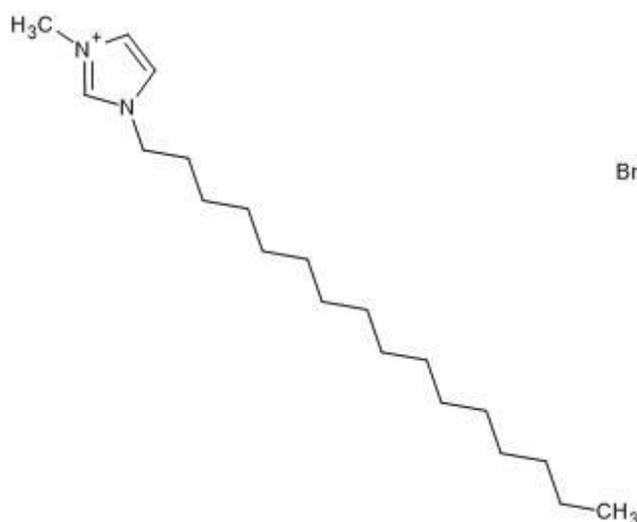
Os experimentos foram realizados a partir de padrões analíticos contendo a mistura dos 16 HPAs: Naftaleno (Naf), Acenaftileno (Acy), Acenafteno (Ace), Fluoreno (Flu), Fenantreno (Phe), Antraceno (Ant), Fluoranteno (Fla), Pireno (Pyr), Benz[a]antraceno (BaA), Criseno (Cris), Benzo[k]fluoranteno (BkF), Benzo[b]fluoranteno (BbF), Benzo[a]pireno (BaP), Indeno[1,2,3-cd]pireno (Ind), Benzo[ghi]antraceno (BghiP) e Dibenzo[a,h]antraceno (DahA); um padrão contendo 5 HPAs deuterados utilizados como sub-rogados: Naftaleno-d8 (Naf[ $^2\text{H}_8$ ]), Acenafteno-d10 (Ace[ $^2\text{H}_{10}$ ]), Fenantreno-d10 (Phe[ $^2\text{H}_{10}$ ]), Criseno-d12 (Cris[ $^2\text{H}_{12}$ ]) e Perileno-d12 (Per[ $^2\text{H}_{12}$ ]) e um padrão contendo p-Terfenil-d14 (p-Ter[ $^2\text{H}_{14}$ ]), utilizado como padrão interno, todos da marca Sigma-Aldrich preparados em hexano em concentração de  $80 \text{ mg L}^{-1}$ . Todas as soluções foram mantidas em freezer ( $-18 \text{ }^\circ\text{C}$ ).

A MMT foi previamente modificada de acordo com o trabalho de Fiscal-Ladino et al. (2017). Um grama do material foi disperso em 3,0 g de solução do

líquido iônico, o brometo de 1-hexadecil-3-metilimidazólio (Figura 7), em metanol 13% v/v, a dispersão foi rigorosamente agitada por 1 hora em temperatura ambiente. A mistura foi filtrada e o material sólido foi lavado 3 vezes com metanol (20 mL em cada lavagem) para remoção do excesso do líquido iônico e 3 vezes com água destilada. O sólido foi mantido em uma estufa à 105°C para secagem por 24 horas.

Para verificar a intercalação do líquido iônico foi realizada a análise de infravermelho do material utilizando um Espectrômetro de Infravermelhos (FTIR), modelo Vertex 70, Bruker (Billerica, EUA) na faixa espectral de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ .

FIGURA 7 – BROMETO DE 1-HEXADECIL-3-METILIMIDAZÓLIO.



Fonte: A autora (2022).

### 3.1.2 Equipamentos

As determinações dos HPAs foram realizadas em um cromatógrafo a gás Shimadzu QP2010 acoplado a um espectrômetro de massas TQ8040 (Kyoto, JAPÃO) e um amostrador automático CTC Combi Palm Shimadzu modelo AOC-5000 Plus. A coluna utilizada foi uma Phenomenex ZB-5ms (Torrence, EUA) com dimensões 30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ .

A pesagem do material foi feita em uma balança analítica ( $\pm 0,00001$  g) Mettler Toledo (São Bernardo do Campo, BRASIL).

## 3.2 MÉTODOS

### 3.2.1 Condições cromatográficas

As condições cromatográficas empregadas foram determinadas mediante adaptações de trabalhos pretéritos do Grupo de Química Ambiental da UFPR (ÂNGULO-CUERO et al., 2021; FERNÁNDEZ et al., 2022). Foram injetados 1  $\mu\text{L}$  dos padrões analíticos e amostras, modo *splitless*, com injetor à 270°C, sem pulso de pressão e tempo de amostragem de 4 minutos. A coluna cromatográfica foi inicialmente mantida à 40°C por 2 minutos, seguida de aquecimento de 50°C  $\text{min}^{-1}$  a 80°C, gradiente de 10°C  $\text{min}^{-1}$  a 240°C mantida por 2 minutos, aquecimento de 2°C  $\text{min}^{-1}$  a 260°C por 5 minutos e finalmente rampa de 20°C  $\text{min}^{-1}$  a 300°C, mantida por 5 minutos. A linha de transferência e a fonte de íons foram operadas a 280 e 230°C, respectivamente. O sistema GC-MS foi operado com Hélio analítico de alta pureza (99,999%) a uma vazão de 1,56  $\text{mL min}^{-1}$ . O software usado na aquisição dos dados foi o *LabSolutions*.

Para uma avaliação inicial da separação e identificação dos analitos inicialmente foi injetada no CG-MS uma solução contendo os 16 HPAs prioritários, p-Terfenil-d14 e os HPAs deuterados todos em concentração 1  $\text{mg L}^{-1}$ . O espectrômetro de massas foi operado no modo de varredura total (*Full Scan*), com uma faixa de aquisição dos íons variando entre uma razão massa-carga ( $m/z$ ) de 100 – 300. Com objetivo de aumentar a seletividade e detectabilidade do método, através do cromatograma obtido no modo *Full Scan*, foi estabelecido um método cromatográfico de monitoramento seletivo de íons (SIM).

### 3.2.2 Preparo das soluções padrão

O preparo das soluções intermediárias para realização dos experimentos foi feito a partir das soluções estoque de 80  $\text{mg L}^{-1}$ . Foram preparadas duas soluções intermediárias em meio de acetona: a primeira composta pelos 16 HPAs; a segunda contendo os 5 HPAs deuterados, ambos em concentrações de 5  $\text{mg L}^{-1}$  e uma solução intermediária em meio de hexano do padrão interno p-Terfenil-d14 em concentração de 1  $\text{mg L}^{-1}$ .

Para otimização do método de extração foi preparada uma solução aquosa em concentração  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  contendo o mix de 16 HPAs e os cinco HPAs deuterados. A solução foi preparada a partir da solução padrão de  $5 \text{ mg L}^{-1}$  do mix de HPAs e mix de HPAs deuterados e água ultrapura em um balão volumétrico de 100 mL.

### 3.2.3 Curvas analíticas instrumentais

A fim de avaliar a sensibilidade e repetibilidade do sistema cromatográfico e adequação do método instrumental foi preparada uma curva analítica em 9 níveis de concentração, em triplicata, utilizando hexano como solvente.

Para realização das curvas analíticas utilizou-se um padrão contendo um mix de 16 HPAs prioritários, um mix contendo 5 HPAs deuterados e uma solução contendo p-Terfenil-d14, todas as soluções estavam na concentração inicial de  $5 \text{ mg L}^{-1}$  e em meio de hexano. A partir das soluções  $5 \text{ mg L}^{-1}$  dos HPAs prioritários e deuterados foi preparado um padrão intermediário em hexano de concentração  $500 \mu\text{g L}^{-1}$  contendo todos os 22 compostos.

A faixa de concentração utilizada para construção da curva de foi de 2,5 a  $490 \mu\text{g L}^{-1}$  do mix de 16 HPAs e dos compostos deuterados. O p-Terfenil-d14 foi utilizado como padrão interno e em todos os pontos da curva estava na concentração de  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ . O parâmetro avaliado para uma boa linearidade da curva foi o coeficiente de determinação ( $R^2$ ). A Tabela 4 mostra o volume de cada padrão e solvente utilizado na curva analítica.

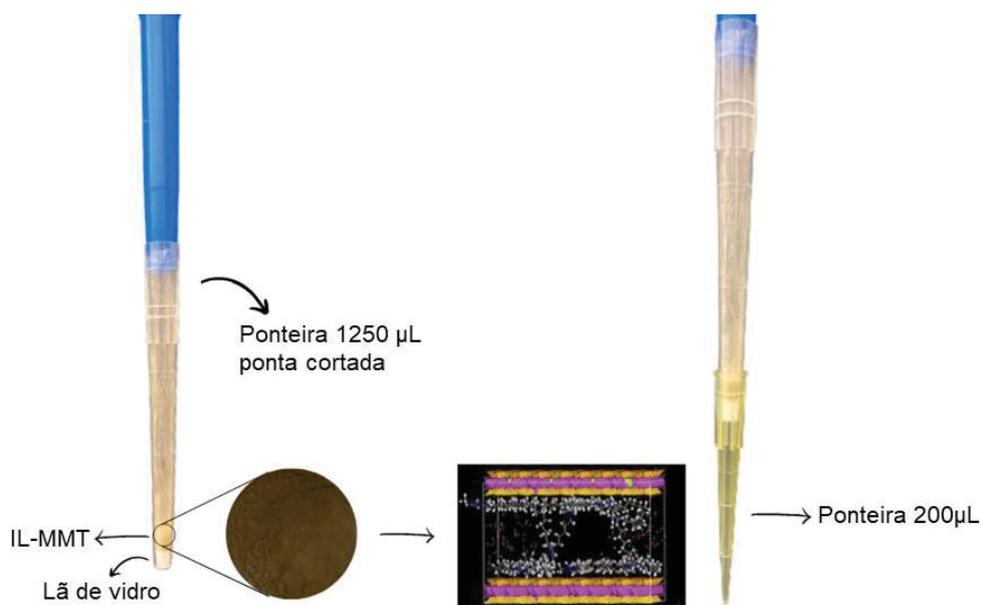
TABELA 4 – CONCENTRAÇÕES E VOLUMES DE SOLUÇÕES UTILIZADAS NO PREPARO DAS CURVAS ANALÍTICAS.

<b>Concentração (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>Mix HPAs + subrogados (<math>\mu\text{L}</math>)</b>	<b>Padrão interno (<math>\mu\text{L}</math>)</b>	<b>Hexano (<math>\mu\text{L}</math>)</b>
<b>2,5</b>	5	20	975
<b>5</b>	10	20	970
<b>10</b>	20	20	960
<b>25</b>	50	20	930
<b>50</b>	100	20	880
<b>75</b>	150	20	830
<b>125</b>	250	20	730
<b>250</b>	500	20	480
<b>490</b>	980	20	0

### 3.2.4 Preparo dos dispositivos de extração

O preparo do dispositivo de extração foi feito utilizando duas ponteiros de pipeta, com capacidades de 1250 e 200  $\mu\text{L}$  respectivamente, lã de vidro calcinada e a IL-MMT. Inicialmente, cortou-se 2 cm da parte inferior da ponteira de 1250  $\mu\text{L}$ , em seguida colocou-se 0,5 cm de lã de vidro na parte inferior da ponteira, em cima da lã foi colocado a IL-MMT, sendo a massa de sorvente um parâmetro a ser otimizado posteriormente, por último, acima do sorvente colocou-se 0,5 cm de lã de vidro. A ponteira de 200  $\mu\text{L}$  foi colocada na parte inferior da ponteira de 1250  $\mu\text{L}$  cortada. A Figura 7 mostra o dispositivo de extração.

FIGURA 8 – DISPOSITIVO PARA EXTRAÇÃO EM PONTEIRA DE PIPETA.



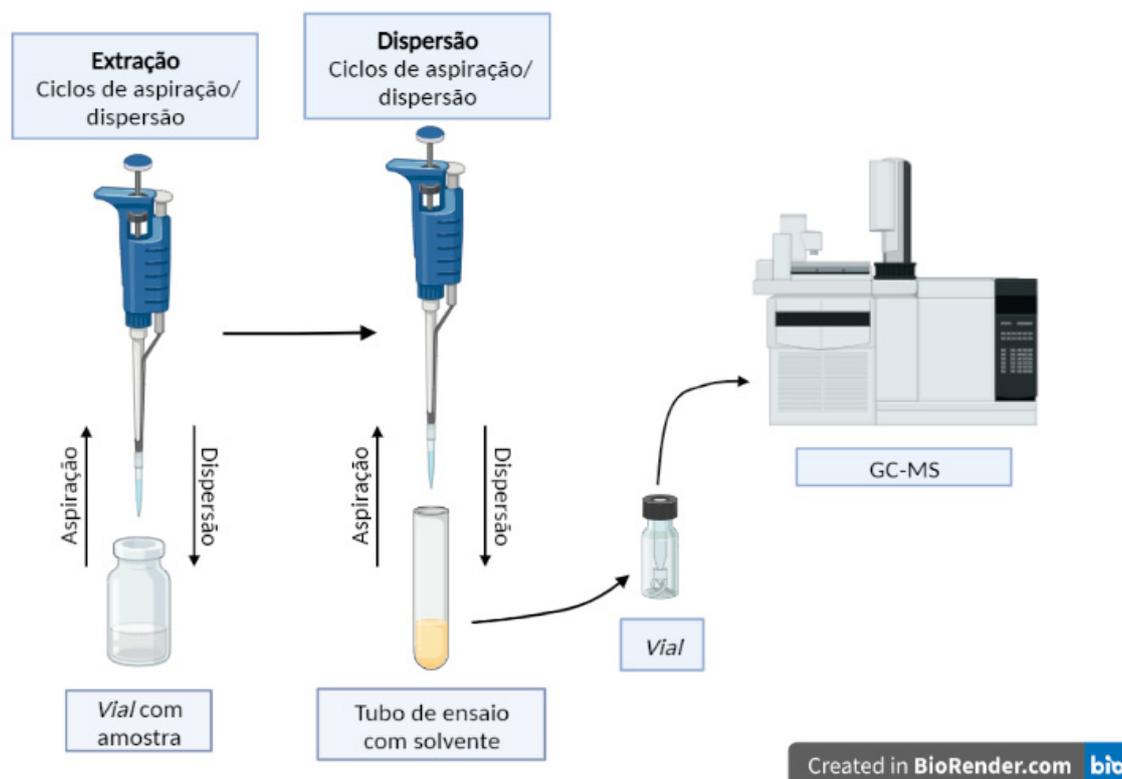
Fonte: A autora (2022).

### 3.2.5 Extração em ponteira de pipeta descartáveis

A extração dos 16 HPAs foi realizada empregando a DPX, utilizando montmorilonita modificada com líquido iônico como material sorvente.

Inicialmente o dispositivo de extração, descrito no item 3.2.4, foi condicionado aspirando e descartando 1 mL de solvente e 1 mL de água ultrapura. Em seguida foi realizada a extração em uma amostra aquosa (10 mL) contida em um *vial* de 20 mL. Essa solução, utilizando o dispositivo descrito no item 3.2.4 e uma micropipeta de 1 mL, foi submetida a consecutivos ciclos de aspiração/dispersão, em que a amostra era dispensada novamente no *vial* após aspiração, permitindo que os analitos sejam suficientemente sorvidos na IL-MMT. Os analitos sorvidos na IL-MMT foram repetidamente eluídos com solvente em consecutivos ciclos de aspiração/dispersão. Finalmente, 135 µL do extrato obtido foi levado a um *vial* com *insert* contendo 15 µL da solução 1 mg L<sup>-1</sup> do padrão interno e posteriormente quantificado por GC-MS. Um esquema do procedimento está ilustrado na Figura 9. Os dados foram tratados no *software* Excel e processados no *software* Origin 2021.

FIGURA 9 – DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DO PROTOCOLO EXTRAÇÃO EM PONTEIRA DE PIPETA.



Fonte: A autora (2022).

### 3.2.6 Avaliação da eficiência da IL-MMT como sorvente

Primeiramente, para avaliar a eficiência da IL-MMT na extração foram realizados dois ensaios em triplicata do método de extração utilizando IL-MMT e C18, retirado de cartuxos de SPE da marca Phenomenex (Torrance, EUA) como sorventes.

Para realização do teste foi utilizado condições fixas, baseadas no trabalho de Zhang et al., (2018). Utilizou-se 20 mg do sorvente, um volume de amostra de 10 mL, 10 ciclos de extração e 3 ciclos de dessorção com 500  $\mu$ L de hexano. A resposta analítica para o experimento foi a razão da área de pico pela área do padrão inteiro para cada um dos HPAs.

### 3.2.7 Avaliação inicial da reprodutibilidade da extração

Para avaliação inicial da reprodutibilidade do método de extração foram realizadas cinco réplicas da extração em ponteira de pipeta utilizando IL-MMT como sorvente, adaptados do trabalho de ZHANG et al., (2018). Utilizou-se 20 mg do sorvente, um volume de amostra de 10 mL, 10 ciclos de extração e 3 ciclos de dessorção com 500 µL de hexano. O desempenho foi avaliado por meio da estimativa de desvio padrão (s) e desvio padrão relativo (RSD %), calculado por meio da Equação 1, da razão da área de pico dos 16 HPAs estudados pelo padrão interno (PI).

EQUAÇÃO 1 – DESVIO PADRÃO RELATIVO.

$$RSD (\%) = \left( \frac{s}{\text{média área HPA/PI}} \right) \times 100$$

### 3.2.8 Seleção das condições de extração

Para a seleção das melhores condições do método de extração foi utilizada uma solução aquosa de concentração 1 µg L<sup>-1</sup> contendo os 16 HPAs e os compostos deuterados. Foram avaliadas de modo univariado as condições dos seguintes parâmetros de extração: massa de sorvente, solvente de dessorção, volume de solvente, número de ciclos de dessorção, volume de amostra e número de ciclos de extração. As condições avaliadas estão apresentadas na Tabela 5. Para os ensaios utilizando acetona e acetonitrila, volume solvente de 1000 µL e volumes de amostra 2,5 e 5 mL as amostras foram levadas ao evaporador rotativo a vácuo RVC 2-18 CDPlus, marca Martin Christ (Osterode am Harz, ALEMANHA) até completa evaporação do solvente e ressolubilizados em hexano. As condições avaliadas foram baseadas nos trabalhos de Zhang et al., (2018); Nascimento et al., (2019) e Llasera et al., (2021).

A resposta analítica em todos os experimentos foi a razão da área de pico dos 16 HPAs estudados pela área do PI. Todos os ensaios foram conduzidos em triplicata.

TABELA 5 – CONDIÇÕES AVALIADAS PARA OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DE EXTRAÇÃO.

Variável	Condições avaliadas
----------	---------------------

Massa de sorvente (mg)	5, 10, 15 e 20
Solvente	Acetona, hexano e acetonitrila
Volume de solvente ( $\mu\text{L}$ )	250, 500 e 1000
Número de ciclos de dessorção	1, 3, 10, 15 e 20
Volume de amostra (mL)	2,5; 5 e 10
Número de ciclos de extração	5, 10, 15 e 20

### 3.2.9 Otimização multivariada do método de extração

A condição ótima da extração foi estudada empregando planejamento fatorial de experimentos. Neste estudo foi utilizada uma solução aquosa contendo 16 HPAs e 5 compostos deuterados na concentração  $1 \mu\text{g L}^{-1}$ . Os parâmetros de extração avaliados na otimização foram: massa de sorvente, solvente, volume de solvente, número de ciclos de dessorção, volume de amostra e número de ciclos de extração.

#### 3.2.9.1 Planejamento fatorial fracionário

Os seis parâmetros de extração avaliados por meio do estudo univariado (massa de sorvente, solvente, volume de solvente, número de ciclos de dessorção, volume de amostra e número de ciclos de extração) foram estudados via planejamento fatorial fracionário  $2^{6-2}$  (níveis: +1 e -1). Todos os experimentos foram realizados em duplicata. As tabelas 6 e 7 mostram as variáveis e os coeficientes de contraste utilizados para o preparo dos ensaios, respectivamente. A resposta analítica em todos os experimentos foi a área de pico dos 16 HPAs estudados, a partir dela foi possível fazer o cálculo da desejabilidade para cada experimento, utilizando o *software* MODDE.

TABELA 6 – NÍVEIS E VARIÁVEIS DO PLANEJAMENTO FATORIAL FRACIONÁRIO.

Variável	-1	+1
Massa do sorvente (mg)	15	20
Solvente	Acetona	Hexano
Volume de solvente ( $\mu\text{L}$ )	250	500
Número de ciclos de dessorção	10	15
Volume de amostra (mL)	2,5	5
Número de ciclos de extração	10	15

TABELA 7 – COEFICIENTES DE CONTRASTE PARA O PLANEJAMENTO FATORIAL FRACIONÁRIO.

<b>Experimento</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5 = 234</b>	<b>6 = 1234</b>
<b>1</b>	-1	-1	-1	-1	-1	1
<b>2</b>	1	-1	-1	-1	-1	-1
<b>3</b>	-1	1	-1	-1	1	-1
<b>4</b>	1	1	-1	-1	1	1
<b>5</b>	-1	-1	1	-1	1	-1
<b>6</b>	1	-1	1	-1	1	1
<b>7</b>	-1	1	1	-1	-1	1
<b>8</b>	1	1	1	-1	-1	-1
<b>9</b>	-1	-1	-1	1	1	-1
<b>10</b>	1	-1	-1	1	1	1
<b>11</b>	-1	1	-1	1	-1	1
<b>12</b>	1	1	-1	1	-1	-1
<b>13</b>	-1	-1	1	1	-1	1
<b>14</b>	1	-1	1	1	-1	-1
<b>15</b>	-1	1	1	1	1	-1
<b>16</b>	1	1	1	1	1	1

### 3.2.9.2 Planejamento ortogonal composto central

Para determinação da melhor condição de extração foi utilizado um planejamento ortogonal composto central com dois fatores, cinco níveis ( $-\alpha$ , -1, 0, +1,  $+\alpha$ ) e ponto central em triplicata, com o total de 11 experimentos, as variáveis a

serem otimizadas foram: volume de amostra e ciclos de extração. As demais variáveis foram mantidas fixas nos seguintes valores: massa de sorvente – 15 mg; tipo de solvente – hexano; volume de solvente – 250 µL e número de ciclos de dessorção – 10. Este tipo de planejamento já foi relatado na literatura para a otimização de variáveis em extração de pesticidas (GONÇALVES et al., 2006; RIZZETTI et al., 2016). As variáveis e faixas de trabalho e experimentos para o planejamento ortogonal composto central estão nas Tabelas 8 e 9 respectivamente. Os dados foram tratados no *software* MODDE.

TABELA 8 – VARIÁVEIS E FAIXA DE TRABALHO PARA O PLANEJAMENTO FATORIAL COMPOSTO CENTRAL.

Variável	Faixa de trabalho
Volume de amostra (mL)	2,5 – 7,5
Ciclos de extração	12 – 18

TABELA 9 – EXPERIMENTOS PARA O PLANEJAMENTO FATORIAL COMPLETO.

Experimento	Ciclos de extração	Vol. Amostra (mL)
1	13	2,5
2	18	2,5
3	13	7,5
4	18	7,5
5	12	5
6	19	5
7	15	2,1
8	15	7,8
9	15	5
10	15	5
11	15	5

### 3.2.10 Avaliação do efeito da salinidade na extração

Para avaliar o efeito da salinidade na eficiência da extração se utilizou de soluções aquosas  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  contendo os 16 HPAs prioritários e 5 HPAs deuterados em que a concentração de cloreto de sódio (NaCl) foi variada entre os valores: 0%, 0,5%, 2% e 3,5% (m/v), em que o valor 3,5% é o valor de referência de sal na água

do mar (MILLERO et al., 2008). Para completa solubilização do sal na solução, as soluções foram levadas ao banho ultrassônico USO 2800, Unique por 30 segundos.

A extração foi realizada através do procedimento de extração em ponteira de pipeta utilizando as variáveis otimizadas através do planejamento fatorial (volume de amostra – 2,6 mL; solvente – hexano; volume de solvente – 250  $\mu$ L; número de ciclos de dessorção – 10; número de ciclos de extração – 14) e os experimentos foram conduzidos em triplicata. A resposta analítica para o experimento foi a razão da área de pico pela área do padrão inteiro para cada um dos HPAs.

### 3.2.11 Parâmetros analíticos de mérito

Os parâmetros analíticos de mérito avaliados foram linearidade, limites de determinação (*Limit of detection*, LOD), limite de quantificação (*Limit of quantification*, LOQ), exatidão e precisão.

Para a realização dos ensaios as amostras submetidas ao procedimento de extração com as condições ótimas previamente estabelecidas pelo planejamento fatorial (volume de amostra – 2,6 mL; solvente – hexano; volume de solvente – 250  $\mu$ L; número de ciclos de dessorção – 10; número de ciclos de extração – 14). Após a extração 117  $\mu$ L do extrato obtido foi levado a um *vial* com *insert* contendo 13  $\mu$ L de uma solução 1 mg L<sup>-1</sup> de p-terfenil-d14, para posterior análise do GC-MS. Todos os experimentos foram realizados em quintuplicata.

#### 3.2.11.1 Linearidade, LOD e LOQ

Para avaliação da linearidade, LOD e LOQ do método analítico otimizado foram construídas curvas analíticas utilizando o método DPX.

Inicialmente foi preparada uma solução aquosa de concentração 5  $\mu$ g L<sup>-1</sup> dos 16 HPAs prioritários e 5 HPAs deuterados a partir de soluções 5 mg L<sup>-1</sup> dos compostos em acetona e água ultrapura em um balão volumétrico de 100 mL.

A partir da solução intermediária de 5  $\mu$ g L<sup>-1</sup> foram preparadas soluções com concentrações entre 0,1 e 3,0  $\mu$ g L<sup>-1</sup> em balões volumétricos de 25 mL. Todas as soluções foram preparadas com 3,5% (m/v) de NaCl e levadas ao banho ultrassônico por 30 s. A Tabela 10 mostra os pontos utilizados na construção da

curva e volume de solução intermediária para cada um deles. Em todos os pontos da curva a concentração do PI foi de 100 µg L<sup>-1</sup>.

TABELA 10 – CURVA ANALÍTICA PARA AVALIAÇÃO DA LINEARIDADE, LOD E LOQ DO MÉTODO PROPOSTO.

Concentração µg L <sup>-1</sup>	Volume solução intermediária mL	Água mL	Massa de NaCl mg
0,1	0,5	24,5	87,5
0,5	2,5	22,5	87,5
1,0	5	20	87,5
1,5	7,5	17,5	87,5
2,0	10	15	87,5
2,5	12,5	12,5	87,5
3,0	15	10	87,5

Para avaliação da linearidade a resposta analítica foi o R<sup>2</sup> para cada uma das curvas. Os limites de quantificação (LOQs) foram determinados a partir do primeiro ponto da curva analítica, já os limites de determinação foram calculados a partir do LOQ, como mostra a Equação 2.

EQUAÇÃO 2 – LIMITE DE DETECÇÃO (LOD).

$$LOD = \frac{LOQ}{3,3}$$

### 3.2.11.2 Exatidão e precisão

A exatidão e precisão do método analítico foram avaliadas através de ensaios de recuperação. Para realização do ensaio uma amostra de água do mar foi fortificada com os 16 HPAs prioritários e os 5 HPAs deuterados em três níveis de concentração (0,50 µg L<sup>-1</sup>; 1,40 µg L<sup>-1</sup> e 2,75 µg L<sup>-1</sup>) e as amostras foram submetidas ao procedimento de extração. Todas as extrações foram realizadas em quintuplicatas.

Como pré-tratamento da amostra, a água do mar foi filtrada à vácuo em sistema de filtração em vidro utilizando uma membrana filtrante em nitrato de celulose com porosidade de 0,45 µm da marca Unifil e bomba de vácuo isenta de óleo TE-0581, da marca Tecnal (Piracicaba, BRASIL).

Para a avaliação da exatidão a resposta analítica foi a recuperação, calculada através da Equação 3. As incertezas foram obtidas com base nos valores de RSD.

EQUAÇÃO 3 – RECUPERAÇÃO.

$$\text{Recuperação (\%)} = \left( \frac{C_1}{C_2} \right) 100$$

Onde:  $c_1$  é a concentração do analito na amostra fortificada,  $c_2$  é concentração do analito adicionada na amostra.

### 3.2.12 Aplicação do método de extração em amostras ambientais

Para a aplicação do método proposto uma amostra de água do mar coletada pelo Centro de Aquicultura Marinha e Repovoamento (CAMAR, UFPR) em Praia de Leste, Pontal do Paraná – PR, foi submetida ao procedimento de extração otimizado e validado. Para avaliar a eficiência da extração a amostra foi fortificada com os 5 HPAs deuterados na concentração 1,5 µg L<sup>-1</sup>.

Como pré-tratamento da amostra, a água do mar foi filtrada à vácuo.

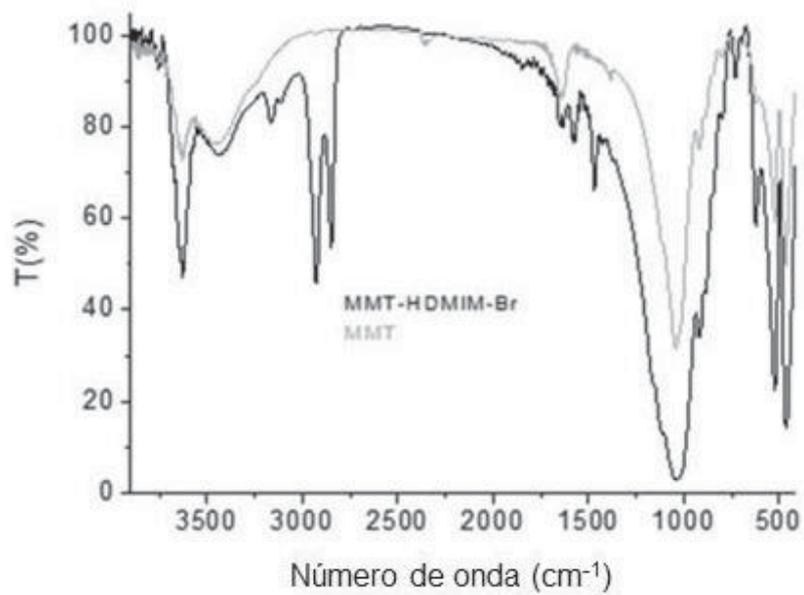
## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 CARACTERIZAÇÃO DA IL-MMT

A caracterização da montmorilonita modificada com o brometo de 1-hexadecil-3-metilimidazólio foi feita utilizando-se a técnica de espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), na faixa espectral de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>, de maneira semelhante ao realizado por Fiscal-Ladino e colaboradores (2017). A Figura 10 mostra a comparação do espectro de infravermelho (IR) da montmorilonita sem modificação (linha cinza) e com modificação (linha preta) feita no

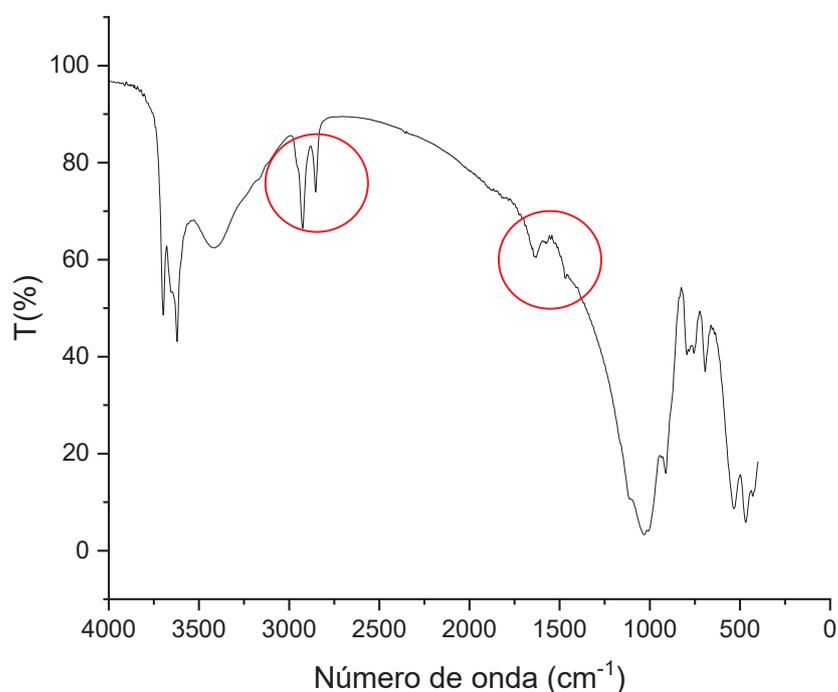
trabalho de Fiscal-Ladino et al. (2017) e a Figura 11 se refere ao espectro de IR realizado neste trabalho.

FIGURA 10 – COMPARAÇÃO DO ESPECTRO DE IR DA MONTMORILONITA (CINZA) E MONTMORILONITA MODIFICADA COM BROMETO DE 1-HEXADECIL-3-METILIMIDAZÓLIO.



Fonte: Adaptado de Fiscal-Ladino et al. (2017).

FIGURA 11 – ESPECTRO DE IR DA MONTMORILONITA MODIFICADA COM BROMETO DE 1-HEXADECIL-3-METILIMIDAZÓLIO.



Quando se compara o espectro da MMT modificada e sem modificação (Figura 10) observa-se que a modificada apresenta um sinal na região de  $3000\text{ cm}^{-1}$ . Esse sinal indica que provavelmente a argila foi modificada pelo líquido iônico, que intercalou na estrutura polar da MMT. As bandas podem ser atribuídas ao estiramento de CH presentes na longa cadeia carbônica do líquido iônico. Observa-se também sinais referentes ao grupo imidazol entre  $1000$  e  $1600\text{ cm}^{-1}$ ; os picos resultam da ocorrência de ligações carbono-carbono e carbono-nitrogênio (FISCAL-LADINO et al, 2017; KIM et al., 2006). Ao comparar os espectros da IL-MMT da literatura (Figura 10) e deste trabalho (Figura 11), observa-se que o comportamento é similar, em que estão presentes bandas na região de  $3000\text{ cm}^{-1}$ , referente ao

estiramento CH e sinais entre 1000 a 1600  $\text{cm}^{-1}$  resultante de ligações carbono-carbono e carbono-hidrogênio. O mesmo comportamento também havia sido observado no trabalho de Kim et al. (2006), quando a MMT foi modificada com os seguintes líquidos iônicos: brometo de 1-etil 3-metilimidazólio, cloreto de 1-hexil 3-metilimidazólio e tetrafluoroborato de N-etil piridínio.

Relacionando o espectro obtido neste trabalho (Figura 11), com trabalhos da literatura (KIM et al., 2006; FISCAL-LADINO et al., 2017) conclui-se que houve a intercalação do brometo de 1-hexadecil-3-metilimidazólio no argilomineral.

#### 4.2 ADEQUAÇÃO DO MÉTODO INSTRUMENTAL

Uma solução padrão contendo os 16 HPAs prioritários, 5 HPAs deuterados e p-Terfenil-d14 de concentração  $1\text{mg L}^{-1}$  foi injetada no GC-MS no modo *full scan* conforme o método descrito no item 3.2.1 a fim de se obter a janela de tempo de retenção e os íons de quantificação e confirmação de cada um dos compostos, que foram identificados com o auxílio da Biblioteca do Espectro de Massas da NIST (*National Institute of Standards and Technology – USA*) para a construção do método SIM, apresentados na Tabela 11.

TABELA 11 – COMPOSTOS, JANELA DE TEMPO DE RETENÇÃO E ÍONS (M/Z) PARA O MÉTODO SIM NO GC-MS.

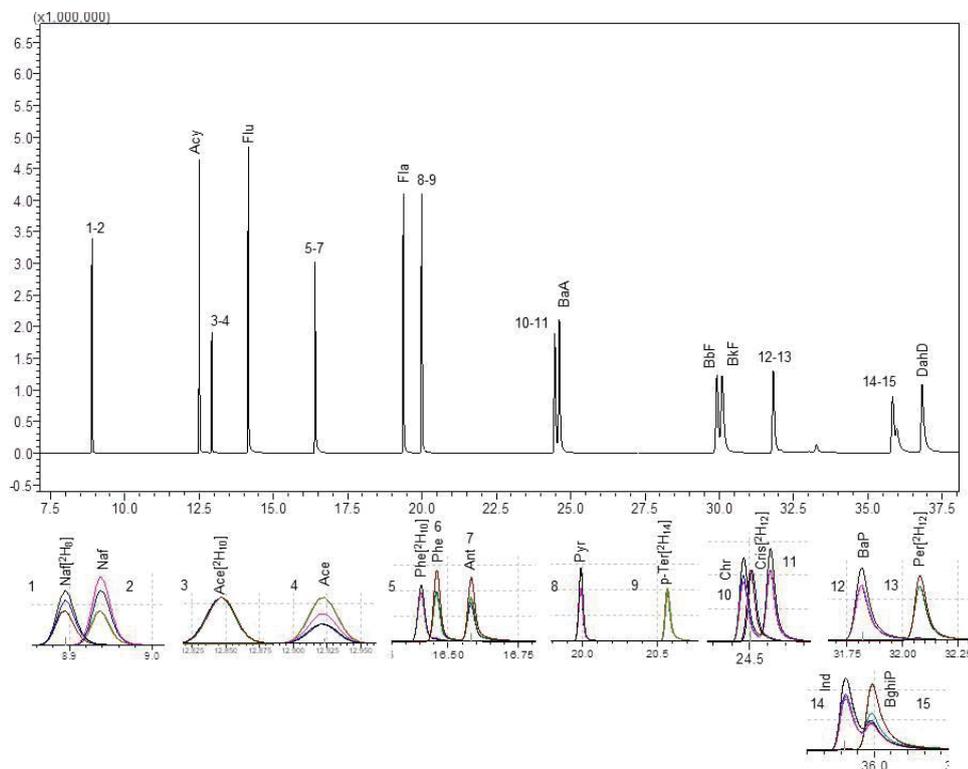
Composto	Janela tempo de retenção (min)	Ion (m/z)*
Naftaleno[ $^2\text{H}_8$ ]	6,50 – 10,78	136; 137; 108
Naftaleno	6,50 – 10,78	128; 127; 129
Acenaftileno	10,78 – 13,57	152; 151; 150
Acenafteno[ $^2\text{H}_{10}$ ]	10,78 – 13,57	162; 164; 160
Acenafteno	10,78 – 13,57	153; 154; 152
Fluoreno	13,57 – 15,29	166; 165; 164
Fenantreno[ $^2\text{H}_{10}$ ]	15,29 – 17,98	188; 187; 184
Fenantreno	15,29 – 17,98	178; 176; 152
Antraceno	15,29 – 17,98	178; 176; 179
Fluoranteno	17,98 – 22,52	202; 200; 203
Pireno	17,98 – 22,52	202; 200; 201
p-Terfenil[ $^2\text{H}_{14}$ ]	17,98 – 22,52	244; 243; 245
Benz[a]antraceno	22,52 – 27,52	228; 226; 241
Criseno[ $^2\text{H}_{12}$ ]	22,52 – 27,52	240; 236; 241
Criseno	22,52 – 27,52	228; 226; 229

Benzo[b]fluoranteno	27,25 – 30,93	252; 250; 253
Benzo[k]fluoranteno	27,25 – 30,93	252; 250; 253
Benzo[a]pireno	30,93 – 33,95	252; 250; 253
Perileno[ <sup>2</sup> H <sub>12</sub> ]	30,93 – 33,95	264; 260; 265
Indeno[1,2,3-cd]pireno	33,95 – 39,80	276; 277, 274
Dibenzo[a,h]antraceno	33,95 – 39,80	278; 279; 276
Benzo[ghi]perileno	33,95 – 39,80	276; 277; 274

\*m/z de quantificação em itálico.

Após a criação do método no modo SIM, o padrão de concentração 1 mg L<sup>-1</sup> contendo os compostos da Tabela 11, foi injetado novamente no GC-MS para avaliar se todos os compostos foram devidamente identificados no modo criado. O cromatograma obtido está apresentado na Figura 12, os picos correspondentes a cada um dos compostos estão identificados na mesma figura.

FIGURA 12 – CROMATOGRAMA OBTIDO NA INJEÇÃO DOS 16 HPAS DEUTERADOS, 5 HPAS DEUTERADOS E P-TERFENIL-D4 NA CONCENTRAÇÃO 1 mg L<sup>-1</sup> NO MODO SIM.



#### 4.3 CURVAS ANALÍTICAS INSTRUMENTAIS

A fim de avaliar a sensibilidade e repetibilidade do sistema cromatográfico e o empregando o método SIM foi construída uma curva analítica instrumental em 9 níveis, em triplicata. A faixa de trabalho utilizada na construção das curvas analíticas foi de 2,5 a 490  $\mu\text{g L}^{-1}$ . As inclinações, interceptos, e coeficientes de determinação ( $R^2$ ), RSD (%), limites de detecção (LOD) e limites de quantificação (LOQ) para cada um dos HPAs estão apresentados na Tabela 12.

TABELA 12 – INCLINAÇÃO, INTERCEPTO E COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO PARA OS 16 HPAS ESTUDADOS.

HPA	Inclinação	Intercepto	$R^2$	RSD (%)	LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
<b>Naftaleno</b>	0,0198	-0,0589	0,9991	12,60	6,92	20,97
<b>Acenaftileno</b>	0,0196	-0,0655	0,9992	15,47	6,60	20,02
<b>Acenafteno</b>	0,0142	-0,0584	0,9991	16,43	6,60	20,02
<b>Fluoreno</b>	0,0142	-0,0581	0,9990	16,80	7,56	22,92
<b>Fenantreno</b>	0,0199	-0,0877	0,9989	12,15	7,96	24,13
<b>Antraceno</b>	0,0196	-0,1062	0,9983	12,04	9,85	29,85
<b>Fluoranteno</b>	0,0182	-0,0741	0,9986	18,76	8,74	26,50
<b>Pireno</b>	0,0192	-0,0966	0,9981	15,44	8,74	26,50
<b>Criseno</b>	0,0152	-0,1044	0,9965	14,30	13,91	42,16
<b>Benz[a]antraceno</b>	0,0179	-0,1059	0,9979	23,01	10,86	32,91
<b>Benzo[b]fluoranteno</b>	0,0161	-0,1424	0,9945	12,53	17,52	53,11
<b>Benzo[k]fluoranteno</b>	0,0186	-0,1477	0,9962	17,02	14,48	43,90
<b>Benzo[a]pireno</b>	0,0157	-0,2846	0,9958	16,04	20,34	61,63
<b>Indeno[1,2,3-cd]pireno</b>	0,0117	-0,1396	0,9868	21,56	27,22	82,50
<b>Dibenz[a,h]antraceno</b>	0,0125	-0,1468	0,9907	25,71	22,78	69,03
<b>Benzo[ghi]perileno</b>	0,0167	-0,1694	0,9926	26,53	20,35	61,69

Por meio dos resultados obtidos (Tabela 12) observa-se que os  $R^2$  apresentaram valores entre 0,9868 e 0,9992, indicando linearidade em toda a faixa de trabalho para todos os analitos. Cabe ressaltar que as curvas analíticas foram empregadas nos estudos para avaliação das variáveis de extração do protocolo analítico.

#### 4.4 AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA IL-MMT COMO SORVENTE

Inicialmente foi investigada a viabilidade da IL-MMT como sorvente no método DPX. Para tal, o protocolo foi aplicado em um padrão aquoso dos analitos em concentração de  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  seguido de determinação via GC-MS. Para demonstrar o desempenho da DPX com IL-MMT o resultado foi comparado ao cromatograma obtido após a injeção direta de uma solução dos mesmos compostos em concentração de  $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$  e em meio de hexano. Os cromatogramas são apresentados na Figura 13 e na Tabela 13 os dados de áreas correspondentes.

FIGURA 13 – COMPARAÇÃO CROMATOGAMAS UM PADRÃO AQUOSO DE  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  APÓS A EXTRAÇÃO (A) E UM PADRÃO DE MIX HPAS DE  $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$  (B).

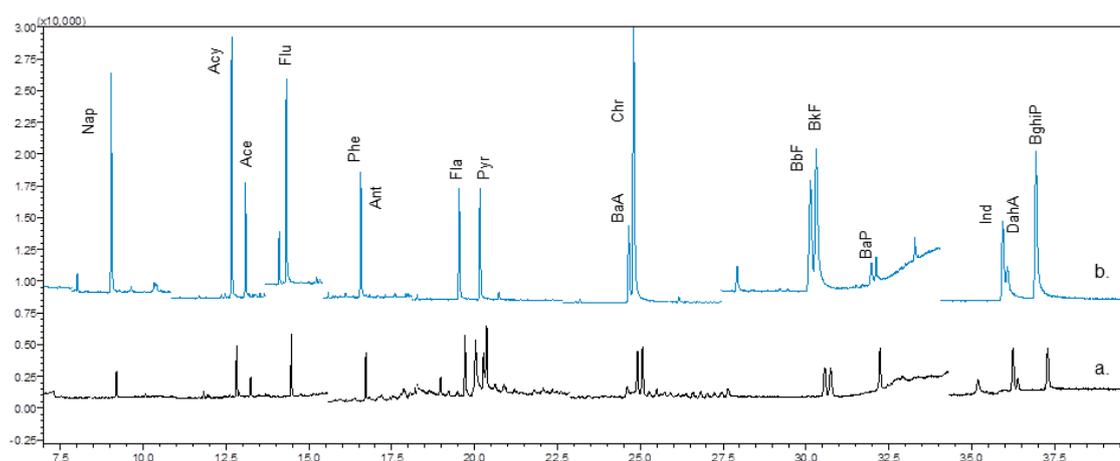


TABELA 13 – COMPARAÇÃO ÁREA OBTIDAS PARA UM PADRÃO AQUOSO DE  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  APÓS A EXTRAÇÃO E UM PADRÃO DE MIX HPAS DE  $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$ .

HPA	Área de pico (UA) <sup>a</sup>	
	Padrão $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$	Padrão $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ após extração
Naftaleno	5425	33776
Acenaftileno	5107	26744
Acenafteno	3484	21900
Fluoreno	4310	16467
Fenantreno	6249	18764
Antraceno	5901	13154
Fluoranteno	7030	15238
Pireno	7415	16462

Criseno	6585	12657
Benz[a]antraceno	8836	58391
Benzo[b]fluoranteno	7354	30195
Benzo[k]fluoranteno	7755	47953
Benzo[a]pireno	7135	4678
Indeno[1,2,3-cd]pireno	9028	19532
Dibenz[a,h]antraceno	8949	26433
Benzo[ghi]perileno	10091	42843

Legenda: a - UA, unidades de área.

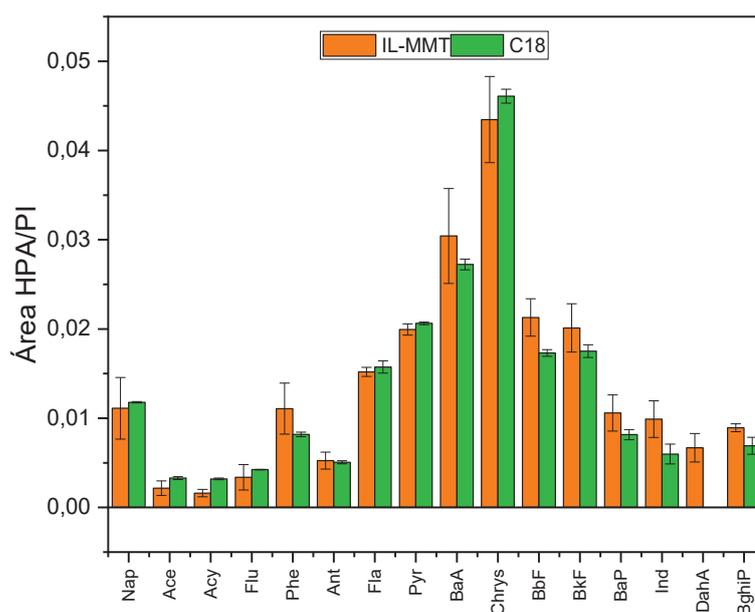
Observa-se a partir da Figura 13 e na Tabela 13 que o padrão de menor concentração submetido a DPX com IL-MMT apresentou áreas de pico mais intensas para a maioria dos analitos, frente ao padrão de  $2,5 \mu\text{L}^{-1}$ . Por meio destes resultados é possível concluir que o protocolo analítico utilizando IL-MMT como sorvente exibia potencial para extração de HPAs em água.

Os resultados obtidos neste trabalho correspondem com os encontrados na literatura, em que a IL-MMT já havia sido avaliada em outros estudos para a extração de compostos de baixa polaridade. Fiscal-Ladino et al. (2017) utilizaram a IL-MMT na extração de PCBs por RDSE, obtendo recuperações acima de 80%. Em outro trabalho utilizando IL-MMT como sorvente em RDSE Vieira et al. (2018) avaliaram a eficiência do material na extração de parabenos, as recuperações obtidas variaram entre 80-119,9%. Já no âmbito do nosso grupo de pesquisa a IL-MMT foi utilizada como fase sorvente em dois trabalhos visando a extração de HPAs, Camargo (2019) utilizou o material na extração de HPAs em tecido de peixe por Dispersão da Matriz em Fase Sólida e obteve recuperações entre 70 e 92% e  $\text{RSD} < 16\%$  para todos os compostos e Ângulo-Cuero et al. (2021) utilizou a IL-MTT para avaliar a presença dos contaminantes em sedimento e organismos aquáticos do tipo bivalves em manguezais da costa do pacífico Colombiano.

Adicionalmente, a eficiência da IL-MMT como sorvente na extração em ponteira de pipeta foi avaliada comparativamente a outra fase sortiva C18, amplamente utilizado na literatura na extração de HPAs (POJANA; MARCOMINI, 2007; Mić et al., 2020). Os ensaios foram realizados em triplicata e para os dois materiais as condições de extração utilizadas foram as mesmas: 20 mg do sorvente,

volume de amostra de 10 mL, 10 ciclos de extração e 3 ciclos de dessorção com 500  $\mu$ L de hexano. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 14.

FIGURA 14 – ÁREA DE PICO DOS 16 HPAS UTILIZANDO IL-MMT E C18 COMO FASES SORVENTES. CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO: MASSA DE SORVENTE – 20 mg; VOLUME DE AMOSTRA – 10 mL; CICLOS DE EXTRAÇÃO – 10; CICLOS DE DESSORÇÃO – 3; SOLVENTE – HEXANO; VOLUME DE SOLVENTE - 500  $\mu$ L.



Na Figura 14 é possível verificar que as áreas para a maioria dos HPAs estudados são similares para os dois sorventes avaliados, sendo que para alguns HPAs a IL-MMT, em média, apresenta áreas superiores a C18.

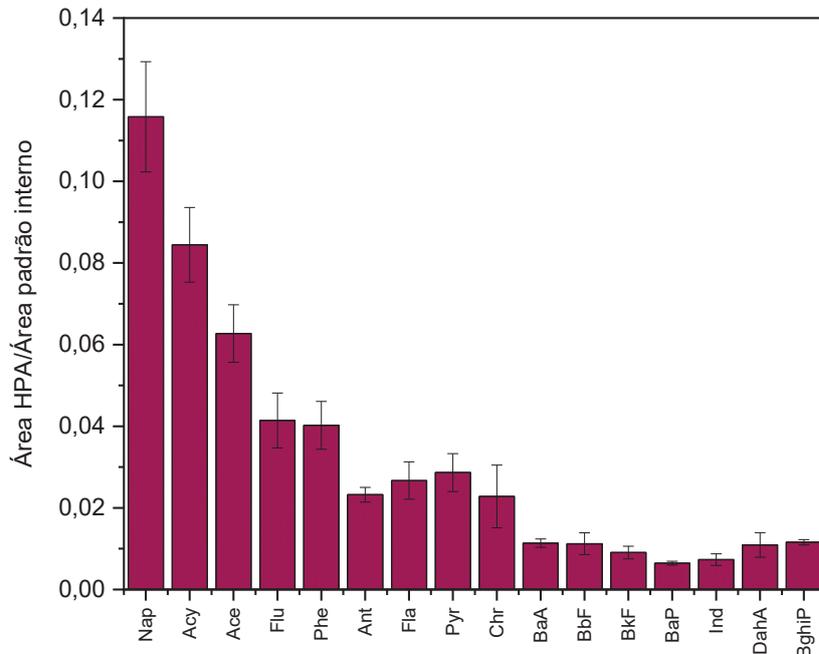
A montmorilonita modificada com brometo de 1-hexadecil-3-metilimidazólio se mostrou uma excelente fase sortiva para extração de HPAs por extração em ponteira de pipeta. A intercalação do brometo de 1-hexadecil-3-metilimidazólio no argilomineral faz com que haja um aumento no espaçamento basal, assim as longas

cadeias de carbono intercaladas na argila proporcionaram uma grande capacidade sortiva ao material. Os HPAs são principalmente dissolvidos no líquido iônico e a argila age apenas como um suporte para a fase extrativa. O material estudado apresenta grande capacidade de extração dos compostos de interesse, apresentando resultados comparáveis ao adsorvente comercial C18 (FISCAL-LADINO et al. 2017; VIEIRA et al. 2018).

#### 4.5 AVALIAÇÃO INICIAL DA REPETIBILIDADE DA EXTRAÇÃO

A repetibilidade e a eficiência do protocolo foram avaliadas utilizando um ensaio em quintuplicata utilizando um padrão aquoso de  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  e os resultados são apresentados na Figura 16.

FIGURA 15 – AVALIAÇÃO DA REPETIBILIDADE DA EXTRAÇÃO DE PADRÃO AQUOSO  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  HPAS POR DPX. CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO: MASSA DE SORVENTE – 20 mg; VOLUME DE AMOSTRA - 10 mL; CICLOS DE EXTRAÇÃO – 10; CICLOS DE DESSORÇÃO – 3; SOLVENTE – HEXANO; VOLUME DE SOLVENTE - 500  $\mu\text{L}$ .



As incertezas obtidas mediante o ensaio (Figura 16) se mostraram satisfatórias, com valores de RSD variando entre 5,6 – 33,6%.

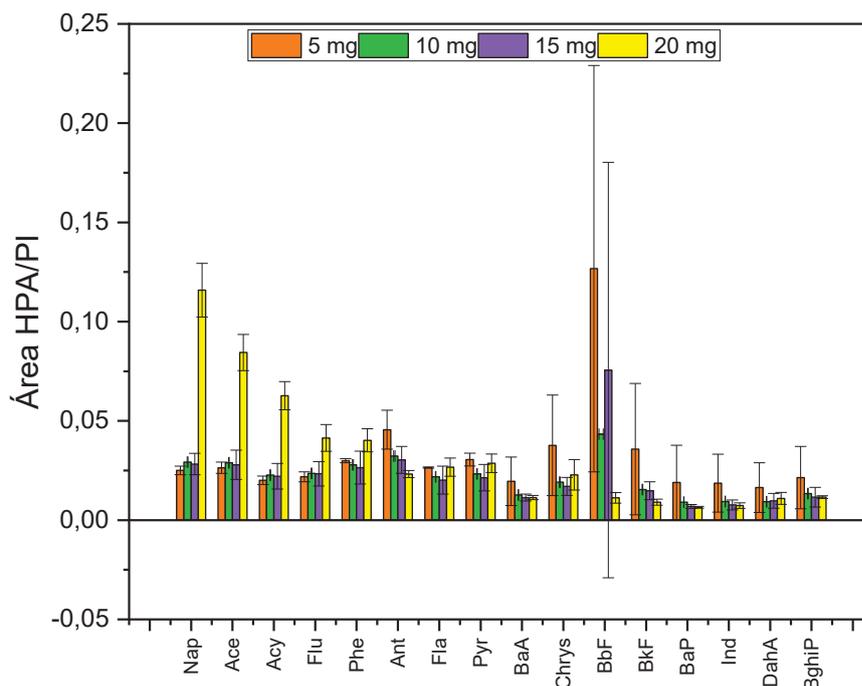
Segundo o INMETRO (2020), o valor de máximo aceito de RSD para uma amostra de concentração  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  é 30 %. O valor máximo de RSD apresentado foi 33,6% para o Criseno, acima do limite proposto pelo INMETRO. Se trata da extração de 16 compostos com comportamentos bastante distintos e apenas um deles apresentou um RSD (%) acima do indicado pelo INMETRO, dessa forma a repetitividade do método pode ser verificada.

## 4.6 SELEÇÃO DAS CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO

### 4.6.1 Massa do sorvente

A massa de IL-MMT é o primeiro dos fatores a serem avaliados na otimização do método. Foram testadas massas entre 5 e 20 mg, sendo 20 mg a maior massa que se consegue trabalhar no dispositivo. Ao adicionar massas superiores a 20 mg, a amostra e solvente não conseguem passar pela ponteira, pois a camada de sorvente é muito espessa, impedindo o líquido de percolar totalmente no sólido. Na Figura 17 são apresentados os resultados para estudo dessa variável.

FIGURA 16 – EFEITO DA MASSA DE SORVENTE NA EXTRAÇÃO DE PADRÃO AQUOSO  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  HPAS POR DPX. CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO: VOLUME DE AMOSTRA - 10 mL; CICLOS DE EXTRAÇÃO – 10; CICLOS DE DESSORÇÃO – 3; SOLVENTE – HEXANO; VOLUME DE SOLVENTE - 500  $\mu\text{L}$ .



De acordo com a Figura 17 é possível verificar que os experimentos realizados com 20 mg de IL-MMT, proporcionam em média aumento da extração dos HPAs mais leves (Nap – Phe). Por outro lado, para os HPAs mais pesados, a massa de 5 mg mostrou melhores resultados, porém com maiores incertezas. Esse comportamento já foi observado no trabalho de Zhang et al. (2018), que utilizou óxido de grafeno funcionalizado com ferrita líquida iônica tridimensional na extração de HPAs de amostras de sangue.

Esse fenômeno pode ser explicado pela combinação dos processos de extração e dessorção. Na etapa de extração, espera-se que o aumento da quantidade de sorvente gere um aumento na quantidade de analito retido na IL-MMT. Já na etapa de dessorção, quanto mais sorvente estiver envolvido na extração, maior a interação dos analitos com o material e dessa forma, maior a dificuldade de dessorção dos analitos pelo solvente. Observa-se a partir dos dados obtidos que para os HPAs mais pesados, quanto maior a massa utilizada, maior a interação entre o sorvente e os HPAs e conseqüentemente maior é a dificuldade de os compostos serem eluídos. Conforme relatado na literatura (FISCAL-LADINO et al. 2017), o material proposto para a extração possui grande afinidade com compostos de baixa polaridade. Já os HPAs mais leves, que apresentam uma maior polaridade,

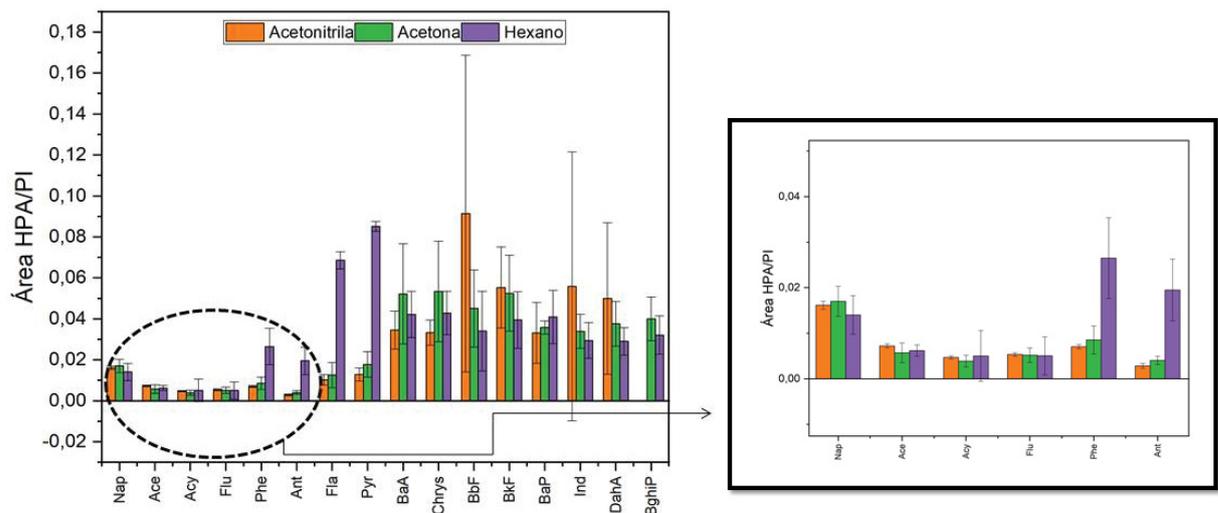
têm uma retenção relativamente mais fraca no material, sendo assim, mais facilmente eluídos pelo solvente (ZHENG et al., 2016; ZHANG et al., 2018).

Os HPAs mais leves (2 a 4 anéis) são mais solúveis em água e tem origem petrogênica, sendo, dessa forma, de maior importância para o estudo em questão. Ainda, ao analisar os resultados (Figura 17), observa-se que diferenças bastante significativas de área são obtidas para 20 mg nos primeiros HPAs. Já para os demais as áreas obtidas são similares, além disso, para menores massas foram constatadas maiores incertezas. Levando em consideração os fatores avaliados a massa de IL-MMT escolhida para dar continuidade aos estudos foi de 20 mg (FONTENELLE, 2018).

#### 4.6.2 Solvente de dessorção

A escolha do solvente de dessorção deve levar em consideração a afinidade dos compostos estudados com o solvente e a compatibilidade com a técnica analítica na detecção. O solvente a ser usado na dessorção deve apresentar polaridade necessária para a eluição dos analitos do sorvente. Nesse caso, como os analitos foram sorvidos em um material não polar (IL-MMT) eles podem ser dessorvidos com solventes orgânicos como acetonitrila, hexano, diclorometano, metanol, acetona, 2-propanol, acetato de etila e suas misturas (NASCIMENTO et al., 2019). A partir de estudos relatados na literatura os solventes escolhidos foram: hexano, acetona e acetonitrila. A acetonitrila não é compatível com GC-MS, mas que já demonstrou bons resultados na eluição de HPAs por DPX, dessa forma foi avaliada no estudo (ZHANG et al, 2018; LLASERA et al., 2021). Os solventes foram avaliados de acordo com o seu desempenho na eluição dos analitos. Na Figura 18 são apresentados resultados referentes ao efeito do tipo de solvente de dessorção.

FIGURA 17 – EFEITO DO TIPO DE SOLVENTE DE DESSORÇÃO NA EXTRAÇÃO DE PADRÃO AQUOSO  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  HPAs POR DPX. CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO: VOLUME DE AMOSTRA - 10 mL; CICLOS DE EXTRAÇÃO - 10; CICLOS DE DESSORÇÃO - 3; MASSA DE SORVENTE - 20 MG; VOLUME DE SOLVENTE - 500  $\mu\text{L}$ .



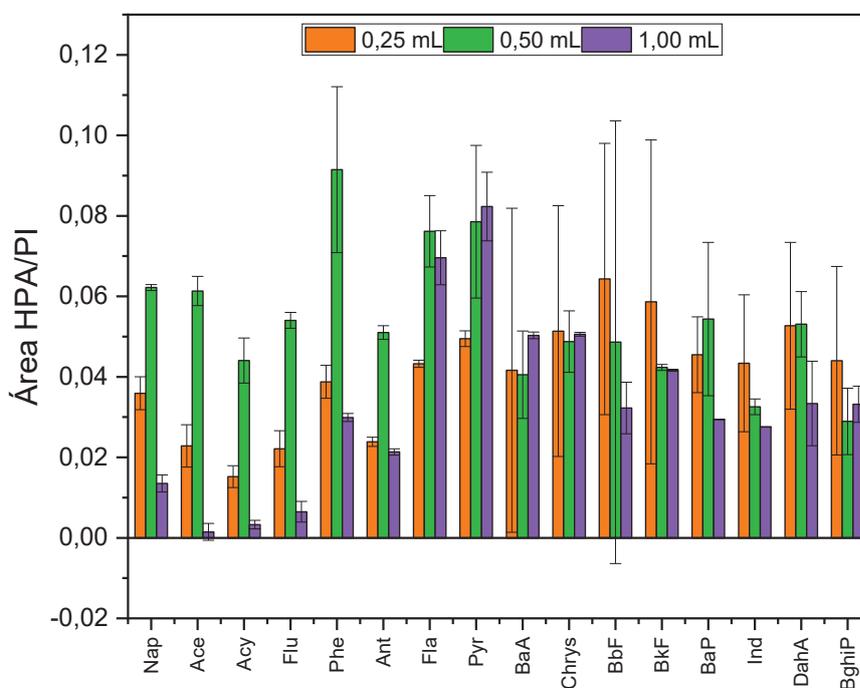
Para grande parte dos analitos as áreas médias são comparáveis, porém entre Phe-Chr o hexano apresentou um melhor desempenho na extração, já a acetonitrila para grande parte dos HPAs demonstrou maiores incertezas. Os resultados foram similares aos observados no trabalho de Zhang et al. (2018) que mostrou que para grande parte dos HPAs o hexano apresenta melhores resultados que a acetona na eluição.

A acetonitrila não é um solvente compatível com cromatografia gasosa, dessa forma, o seu uso incorre em uma etapa a mais no processo de extração, que é a evaporação da mesma no evaporador rotativo a vácuo. Essa etapa, além de tornar o procedimento mais longo, faz com que possa ocorrer perda por evaporação dos analitos, principalmente os mais voláteis. Para a acetona, outra dificuldade foi encontrada. Apesar de ser eficiente na eluição de HPAs, ela solubiliza a IL-MMT, havendo assim a necessidade da evaporação total do solvente e nova solubilização em hexano antes da injeção. Além de mostrar maior eficiência na eluição para a maioria dos HPAs, o hexano exclui a necessidade da etapa de evaporação, tornando o processo de extração mais simples e evitando a perda dos analitos por evaporação. Assim, o hexano foi selecionado como solvente de dessorção.

#### 4.6.3 Volume de solvente

Outro fator que deve ser avaliado para otimização do método de extração é o volume de solvente utilizado na dessorção dos analitos. Um dos objetivos da extração em ponteira de pipeta é a miniaturização dos protocolos analíticos e isso implica na redução do uso dos insumos, principalmente solventes orgânicos (SAJID et al., 2021). Por esse motivo e pela capacidade do dispositivo de extração, volumes entre 250 e 1000  $\mu\text{L}$  foram avaliados. A Figura 19 mostra os dados obtidos para a avaliação do volume do solvente.

FIGURA 18 – EFEITO DO VOLUME DE SOLVENTE PARA EXTRAÇÃO DE PADRÃO AQUOSO  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  HPAS POR DPX. CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO: VOLUME DE AMOSTRA – 10mL; CICLOS DE EXTRAÇÃO – 10; CICLOS DE DESSORÇÃO – 3; MASSA DE SORVENTE – 20 mg; SOLVENTE - HEXANO.



É possível constatar por meio da Figura 19 que para o Nap e entre Flu e BaP o volume de 500  $\mu\text{L}$  exibiu maiores valores de área, já para o restante dos HPAs os valores de 250 e 500  $\mu\text{L}$  apresentaram valores comparáveis, com exceção do Fla e Pyr, em que as áreas obtidas para 500  $\mu\text{L}$  e 1000  $\mu\text{L}$  foram similares.

O uso de 1000  $\mu\text{L}$  de hexano na eluição dos analitos implica na adição de uma etapa no processo de extração, a secagem total do solvente no evaporador rotativo e a ressolubilização com um volume menor de hexano. A etapa é necessária pois o uso de uma maior quantidade de solvente na eluição gera um extrato mais diluído, abaixo dos limites de detecção do método de análise. Pode-se observar

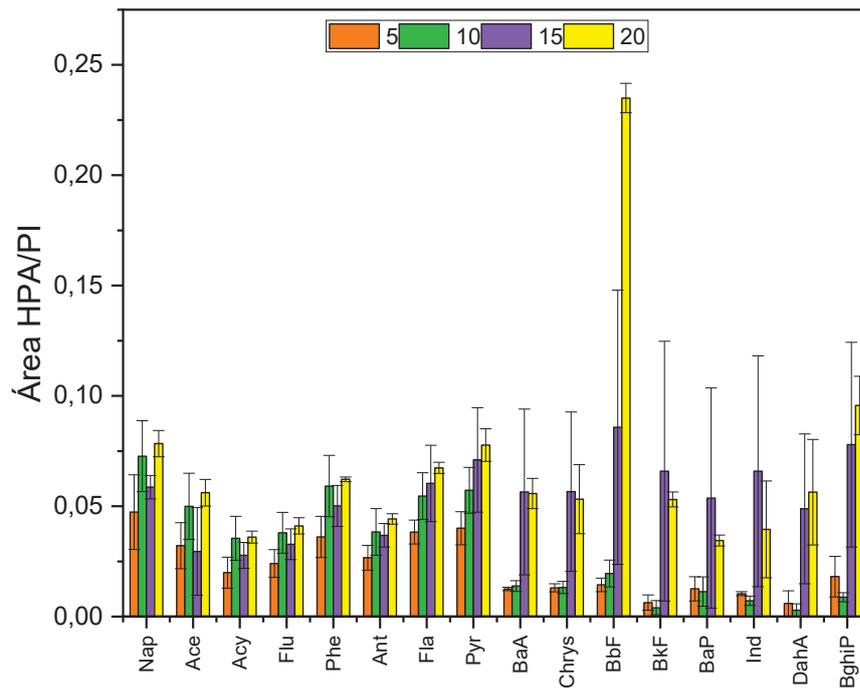
(Figura 19) que para esse volume ocorre uma perda bastante significativa dos analitos entre Nap-Flu, isso ocorre porque eles são mais voláteis e a adição da etapa de evaporação faz com que ocorra a perda desses analitos por volatilização.

Ao comparar os resultados obtidos para 250 e 500  $\mu\text{L}$  observa-se (Figura 19) que o volume de 500  $\mu\text{L}$  apresentou maiores valores de área para os analitos, principalmente quando se trata dos mais leves (Nap-Flu). Levando em consideração os resultados apresentados o volume de 500  $\mu\text{L}$  foi fixado para realização dos próximos estudos.

#### 4.6.4 Número de ciclos de dessorção

O número de vezes em que o solvente passa pelo material sorvente em que os analitos estão retidos pode influenciar diretamente na quantidade em que os analitos são dessorvidos na extração. Dessa forma, para o estudo do efeito dessa variável na extração foram realizados ensaios do número ideal de ciclos de dessorção. Os valores avaliados variaram entre 5 e 20 ciclos. A Figura 20 mostra os resultados obtidos para os 16 HPAs estudados.

FIGURA 19 – EFEITO DO NÚMERO DE CICLOS DE DESSORÇÃO NA EXTRAÇÃO DE PADRÃO AQUOSO  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  HPAS POR DPX. CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO: VOLUME DE AMOSTRA - 10 mL; CICLOS DE EXTRAÇÃO – 10; VOLUME DE SOLVENTE – 500  $\mu\text{L}$ ; MASSA DE SORVENTE – 20 mg; SOLVENTE - HEXANO.



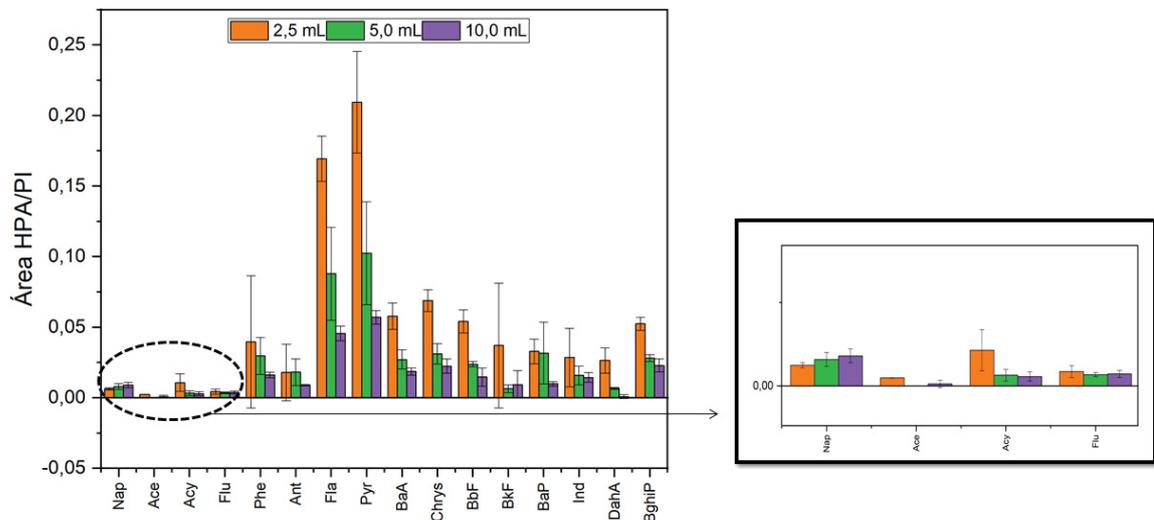
Observa-se que entre 10 e 20 ciclos as razões de áreas obtidas para os analitos de interesse são semelhantes, já a partir de 15 ciclos de dessorção, para alguns dos HPAs ocorre uma diminuição na área de pico. Esse comportamento já havia sido observado anteriormente por Zhang et al. (2018), onde o equilíbrio aparente foi alcançado entre 10 e 20 ciclos.

O equilíbrio de adsorção é um processo dependente do tempo e pode ser alcançado após certos ciclos de extração/dessorção (ZHANG et al., 2018). A dessorção alcançou aparentemente equilíbrio entre 10 e 20 ciclos, mostrando resultados melhores para alguns dos analitos em 20 ciclos, e após 15 ciclos diminuiu significativamente para alguns HPAs, a partir do BkF. Assim, visando o melhor desempenho da extração e menores incertezas, 20 ciclos de dessorção foram selecionados para dar continuidade aos estudos.

#### 4.6.5 Volume de amostra

O volume de amostra influencia no percentual de amostra que estará em contato com o material sorvente e dessa forma pode apresentar um grande efeito na eficiência da extração. Para avaliação dessa variável foram estudados os volumes de amostra de 2,5; 5 e 10 mL, sendo os resultados apresentados na Figura 21.

FIGURA 20 – EFEITO DO VOLUME DE AMOSTRA NA EXTRAÇÃO DE PADRÃO AQUOSO  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  HPAS POR DPX. CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO: CICLOS DE DESSORÇÃO - 15; CICLOS DE EXTRAÇÃO - 10; VOLUME DE SOLVENTE -  $500 \mu\text{L}$ ; MASSA DE SORVENTE - 20 mg; SOLVENTE - HEXANO.



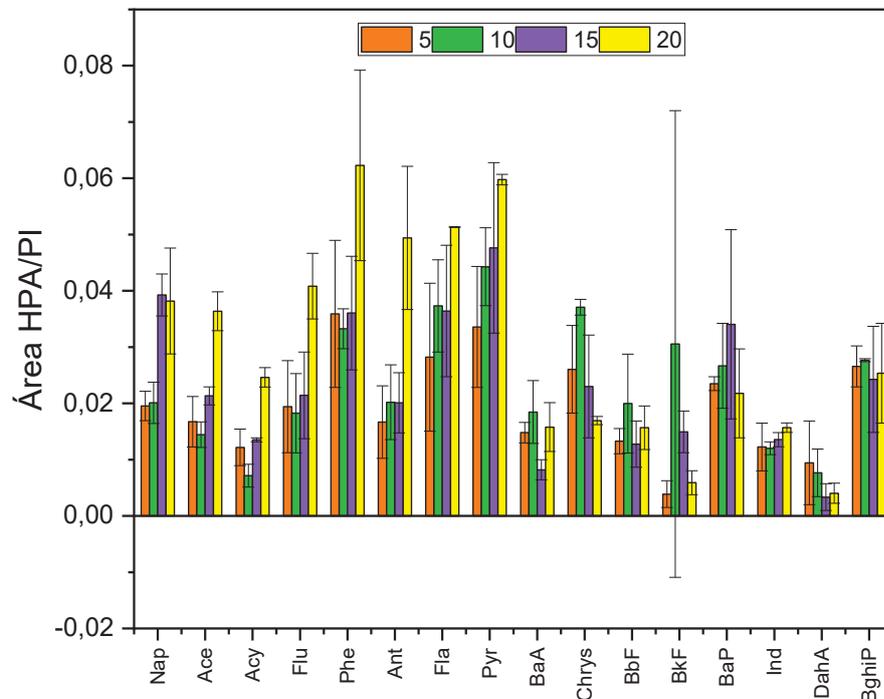
Por meio dos resultados obtidos (Figura 21) consegue-se avaliar que para grande parte dos HPAs (Phe-BghiP) menores volumes de amostra favorecem a extração dos analitos. Para a maior parte dos HPAs a área de pico aumenta com a diminuição do volume de amostra, apresentando menores valores para 10 mL, intermediários para 5 mL e maiores áreas para 2,5 mL.

Ao utilizar volume menores de amostra, uma maior parte da solução entra em contato com a fase extratora, aumentando assim o tempo de contato dos analitos com a fase, o que consequentemente aumenta a eficiência da extração. Mediante os fatores avaliados foi possível definir 2,5 mL como volume de amostra para dar continuidade aos estudos.

#### 4.6.6 Número de ciclos de extração

A última variável a ser avaliada foi o número de ciclos de extração, que assim como o número de ciclos de dessorção é uma variável que apresenta bastante importância na otimização do processo de extração, pois representa o número de vezes em que a amostra estará em contato com o material sorvente (Zhang et al., 2018). Nesse ensaio o tempo de equilíbrio de sorção foi testado, usando valores de ciclos de extração entre 5 – 20. O estudo do número de ciclos de extração é apresentado na Figura 22.

FIGURA 21 – EFEITO DO NÚMERO DE CICLOS DE EXTRAÇÃO NA EXTRAÇÃO DE PADRÃO AQUOSO  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  HPAS POR DPX. CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO: CICLOS DE DESSORÇÃO - 15; VOLUME DE AMOSTRA – 2,5 mL; VOLUME DE SOLVENTE – 500  $\mu\text{L}$ ; MASSA DE SORVENTE – 20 mg; SOLVENTE - HEXANO.



Por meio dos resultados obtidos (Figura 22) observa-se uma tendência de aumento da área de 5 até 20 ciclos, alcançando aparente equilíbrio entre 10-15 e um aumento nas áreas para 20 ciclos de extração.

De acordo com a literatura, assim como o número de ciclos de dessorção, o número de ciclos de extração também é um fator que repercute na eficiência da extração. O equilíbrio de sorção entre os analitos e o material sorvente depende do tempo de contato entre a amostra e a fase sortiva (ZHANG, et al. 2018). De acordo

com o que foi visto no estudo em questão, quanto maior o tempo de contato da amostra com o material sorvente, maior a eficiência da extração, ou seja, uma maior parte dos analitos são sorvidos na IL-MMT. Em vista das maiores áreas constatadas para 20 ciclos, esse valor foi a condição selecionada para os ensaios subsequentes.

#### 4.6.7 Melhor condição para a extração de HPAs por DPX definida através do planejamento univariado

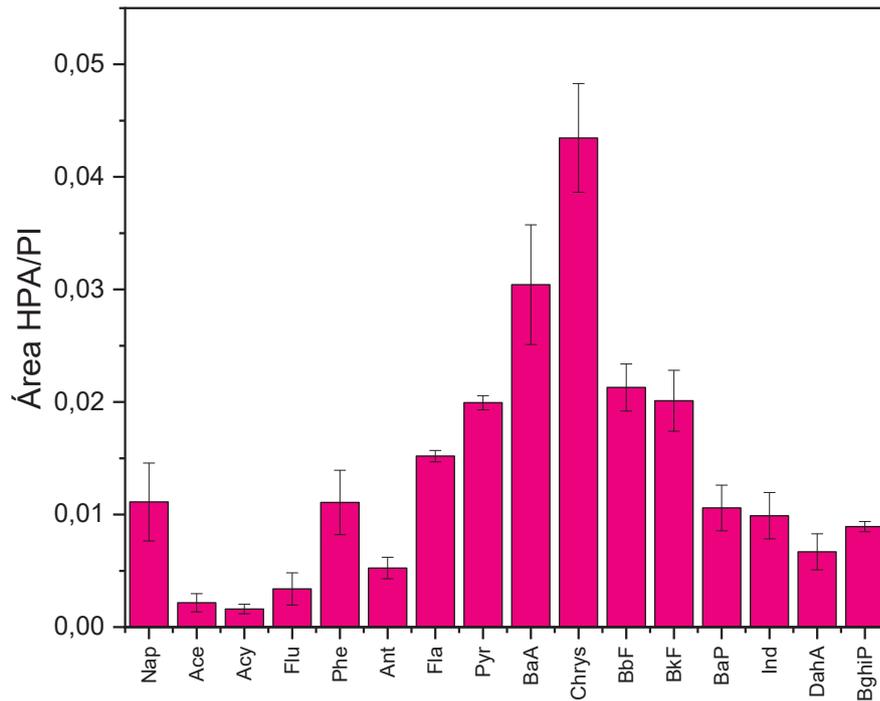
Mediante o estudo univariado foi possível estabelecer as melhores condições de extração para os 16 HPAs (Tabela 14).

TABELA 14 – CONDIÇÕES DE COMPROMISSO DA EXTRAÇÃO DE HPAS POR DPX.

<b>Variável</b>	<b>Valor definido</b>
Massa de sorvente	20 mg
Tipo de solvente	Hexano
Volume de solvente	500 µL
Número de ciclos de dessorção	20
Volume de amostra	2,5 mL
Número de ciclos de extração	20

De posse das condições da extração definidas na Tabela 14, foi realizado um ensaio em triplicada de uma solução  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  dos HPAs para avaliação dos resultados. A Figura 23 mostra as áreas obtidas para os 16 HPAs nas condições ótimas da extração definidas pela estratégia univariada.

FIGURA 22 – ÁREA DE PICO OS 16 HPAS ESTUDADOS NA MELHOR CONDIÇÃO DO PROCEDIMENTO EXTRAÇÃO EM PONTEIRA DE PIPETA (n=3).



#### 4.7 OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA

Ao realizar o planejamento univariado das variáveis de extração, alguns problemas foram encontrando, principalmente relacionado a diminuição de área de pico para alguns compostos ao longo da da otimização. Planejamentos multivariados são a melhor estratégia para identificar o efeito das variáveis individualmente e das interações entre as variáveis simultaneamente, realizando-se um número reduzido de experimentos, facilitando a coleta da grande quantidade de dados, economizando assim tempo e insumos (CANDIOTTI et al. 2014; EBRAHIMI-NAJAFABADI et al., 2014). Como alternativa para resolução dos problemas encontrados durante o estudo univariado das variáveis de extração optou-se por utilizar de estratégias multivariadas para otimização das variáveis para o método proposto.

Inicialmente foram definidas as variáveis a serem avaliadas no planejamento fatorial, com base nos experimentos feitos anteriormente, para em seguida escolher qual tipo de planejamento traria as melhores repostas na otimização do método de extração em ponteira de pipeta. Estas variáveis foram: (i) massa de sorvente; (ii) tipo de solvente; (iii) volume de solvente; (iv) número de ciclos de extração; (v) volume de amostra e (vi) número de ciclos de dessorção.

#### 4.7.1 Planejamento fatorial fracionário ( $2^{6-2}$ )

Primeiramente, foi realizada uma etapa de triagem dos parâmetros da extração, estudando todas as seis variáveis simultaneamente, para assim definir quais são as variáveis significativas para a extração. A realização de um planejamento fatorial completo para as seis variáveis avaliadas na presente etapa (planejamento  $2^6$ ) iria necessitar de 64 experimentos, que se fossem realizados em duplicata seriam 128. Para uma triagem inicial, esse é um número elevado de experimentos. Dessa forma, optou-se pela realização de um planejamento fatorial fracionário  $2^{6-2}$ , realizado em dois níveis (-1, +1), com 16 experimentos realizados em duplicata, tendo assim um total de 32 experimentos. variáveis faixa de trabalho para cada uma das variáveis foi escolhida com base nos estudos prévios, univariados. Na realização do experimento foram utilizadas diferentes volumes de amostra e solvente, assim, para que as respostas pudessem ser comparadas calculou-se quantas vezes a amostra foi concentrada até chegar ao extrato final. Esse valor foi multiplicado pela área de pico de cada um dos HPAs estudados, sendo assim, essa a resposta analítica do planejamento fatorial fracionário.

Como se trata de 16 analitos, cada um dos experimentos realizados teve 16 respostas e como os HPAs apresentam características físico-químicas bastante distintas entre si, as respostas entre eles foram bastante diversas.

Quando um processo de otimização envolve muitas respostas, não é possível encontrar a melhor condição individual, pois o número de soluções é igual às variáveis de estudo. Para contornar este problema, uma alternativa a isso é transformar as múltiplas respostas em apenas uma (CANDIOTI et al. 2014).

Nesse sentido, utilizando o *software* MODDE, calculou-se a função desejabilidade para cada um dos experimentos do planejamento fatorial fracionário. O objetivo da função é encontrar condições experimentais que garantam o cumprimento dos critérios de todas as respostas envolvidas e, ao mesmo tempo, proporcionar o melhor valor na resposta conjunta desejável. A desejabilidade sempre considera valores entre 0 e 1, em que 0 é uma resposta indesejável e 1 representa um valor completamente desejável, ou seja, a resposta ideal. Valores intermediários indicam uma resposta mais ou menos desejável, dependendo do

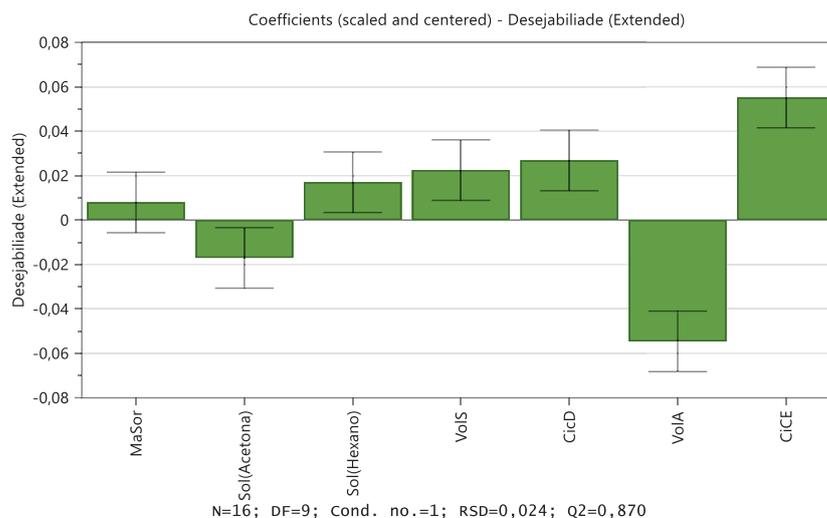
valor (CANDIOTTI et al. 2014). Na Tabela 15 são apresentados os valores de desejabilidade para os experimentos do planejamento fatorial fracionário.

TABELA 15 – VALOR DE DESEJABILIDADE OS EXPERIMENTOS DO PLANEJAMENTO FATORIAL FRACIONÁRIO.

<b>Experimento</b>	<b>Desejabilidade</b>
1	0,650330
2	0,558753
3	0,448275
4	0,608404
5	0,516838
6	0,623308
7	0,765594
8	0,665695
9	0,526748
10	0,635169
11	0,777510
12	0,666607
13	0,739950
14	0,664422
15	0,563070
16	0,692958

Mediante os valores de desejabilidade de cada um dos experimentos (Tabela 15) foi possível avaliar os dados do planejamento fatorial e definir quais são as variáveis mais significativas para a extração. Assim, utilizando os dados de desejabilidade obteve-se o gráfico de coeficientes (Figura 23).

FIGURA 23 – COEFICIENTES PARA A FUNÇÃO DESEJABILIDADE DO PLANEJAMENTO FATORIAL FRACIONÁRIO.



Por meio da Figura 23 foi possível decidir quais das variáveis seriam estudadas na etapa seguinte da otimização do método. Ao analisar o gráfico, observa-se que as variáveis que trouxeram uma maior variação da desejabilidade foram o volume de amostra (VoIA) e o número de ciclos de extração (CicE). As demais variáveis geram uma menor variação na desejabilidade, podendo ser mantidas fixas na etapa seguinte.

#### 4.7.2 Planejamento ortogonal composto central

Após serem determinadas as variáveis mais significativas da extração através dos resultados do planejamento fatorial fracionário, um novo planejamento com dois fatores,  $(-\alpha, -1, 0, +1, +\alpha)$  e ponto central em triplicata, com o total de 11 experimentos, foi construído a fim de otimizar as variáveis: volume de amostra e ciclos de extração. As demais variáveis foram mantidas fixas nos seguintes valores: massa de sorvente – 15 mg; tipo de solvente – hexano; volume de solvente – 250  $\mu\text{L}$  e número de ciclos de dessorção – 10. O tipo de planejamento escolhido para a realização desta etapa foi Planejamento ortogonal composto central.

Para avaliação do modelo foram calculados para as áreas de pico a média, desvio padrão e RSD (%) do ponto central realizado em triplicata, os resultados estão apresentados na Tabela 16.

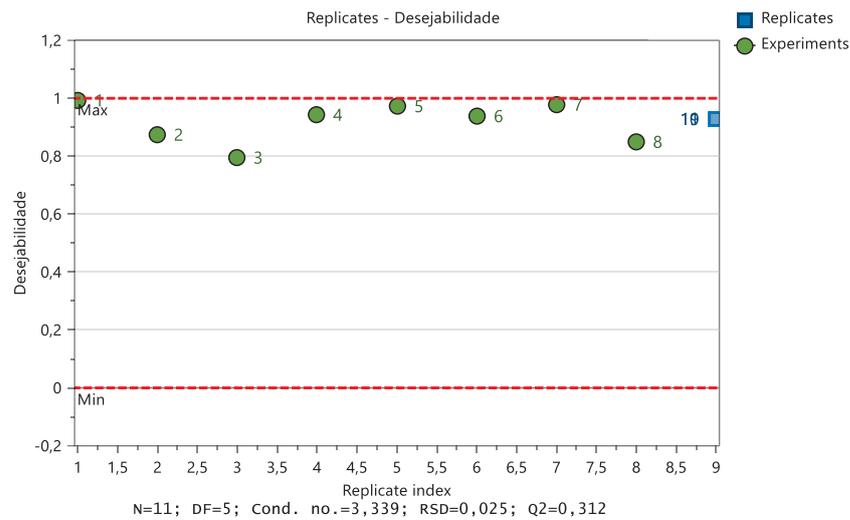
TABELA 16 – MÉDIA, ESTIMATIVA DO DESVIO PADRÃO E RSD PARA A ÁREA DE PICO DO PONTO CENTRAL DO PLANEJAMENTO ORTOGONAL COMPOSTO CENTRAL.

HPA	Média	Desvio padrão	RSD (%)
Naftaleno	48.39.439	484.729	10,2
Acenaftileno	3.033.096	43.691	1,4
Acenafteno	2.027.931	14.934	1,1
Fluoreno	2.001.082	17.527	1,2
Fenantreno	3.188.071	252.978	8,6
Antraceno	2.355.434	197.888	8,9
Fluoranteno	2.875.299	507.504	18,8
Pireno	3.391.653	574.732	17,2
Criseno	1.176.922	171.821	15,3
Benz[a]antraceno	1.308.620	126.695	10,3
Benzo[b]fluoranteno	1.031.163	29.687	3,0
Benzo[k]fluoranteno	1.504.783	85.690	6,7
Benzo[a]pireno	1.019.148	128.854	13,8
Indeno[1,2,3-cd]pireno	674.496	19.034	3,1
Dibenz[a,h]antraceno	1.228.560	12.991	1,0
Benzo[ghi]perileno	1.957.063	452.667	23,1

A partir dos resultados (Tabela 16) observa-se que os RSDs variaram entre 1% e 23%, estando acima de 20% apenas para um dos analitos, o benzo[ghi]perileno. Dessa forma, pode-se afirmar que o ponto central mostrou desvios satisfatórios.

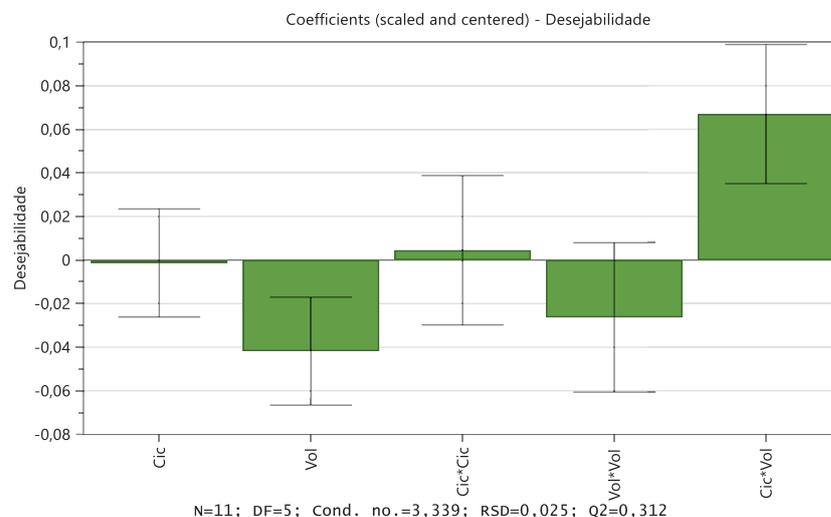
Por meio dos resultados obtidos nos experimentos do planejamento foi possível calcular novamente a função desejabilidade para cada um dos experimentos. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 24.

FIGURA 24 – DESEJABILIDADE PARA OS EXPERIMENTOS DO PLANEJAMENTO ORTOGONAL COMPOSTO CENTRAL.



A partir dos resultados (Figura 24) observa-se que os valores de desejabilidade variaram entre 0,8 e 1,0. Uma maior variação na desejabilidade apresentou um menor valor para o experimento 3, próximo de 0,80. Os experimentos 2 e 8 apresentaram valores entre 0,80 e 0,90. Já a triplicata do ponto central (9, 10 e 11) e os experimentos 4 e 6 apresentaram valores acima de 0,90. Para o restante dos experimentos (1, 5 e 7) os valores foram próximos de 1. Como já comentado anteriormente, os valores de desejabilidade próximos a 1 são almejavéis (CANDIOTTI et al. 2014). Desta forma, a partir dos dados obtidos, foi possível obter os gráficos da Figura 25 para avaliar a influência das variáveis na otimização.

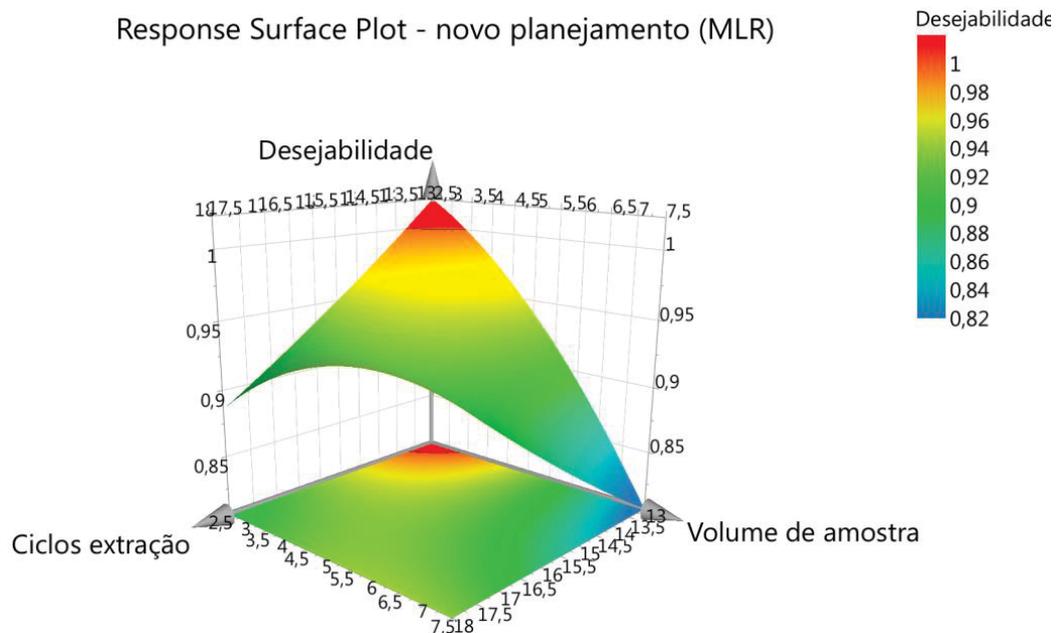
FIGURA 25 – COEFICIENTES PARA A FUNÇÃO DESEJABILIDADE DO PLANEJAMENTO COMPOSTO CENTRAL.



O gráfico de coeficientes (Figura 25) mostra quais são os fatores mais significativos na otimização da extração. Ao analisar os resultados observa-se que os fatores que mais influenciam a variação da desejabilidade são o volume de amostra (Vol) e a combinação dos fatores número de ciclos de extração e volume de amostra (Cic\*Vol).

Ainda fazendo uso dos valores obtidos para a desejabilidade foi possível gerar o gráfico de superfície de resposta (Figura 26) e dessa forma avaliar qual a melhor condição para a realização da extração.

FIGURA 26 – SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA O PLANEJAMENTO ORTOGONAL COMPOSTO CENTRAL.



Por meio da superfície de resposta (Figura 26) é possível definir a condição ótima para a extração. Observa-se que as desejabilidades variaram entre 0,82 e 1,0, sendo valores próximos a 1 os mais desejáveis para realização da extração. Para desejabilidades próximas de 1, valores de ciclos de extração de 13 e de volume de amostra de 2,6 mL são encontrados.

#### 4.7.3 Condição ótima da extração

A partir da condição dos dois planejamentos fatoriais (tópicos 3.4.1 e 3.4.2) foi possível definir a condição ótima para a extração de HPAs por extração em ponteira de pipeta utilizando IL-MMT como sorvente. Os valores definidos para cada uma das variáveis estão apresentados na Tabela 17.

TABELA 17 – CONDIÇÕES DE COMPROMISSO OBTIDAS COM BASE EM PLANEJAMENTOS MULTIVARIADO E UNIVARIADO PARA EXTRAÇÃO DE HPAS POR DPX.

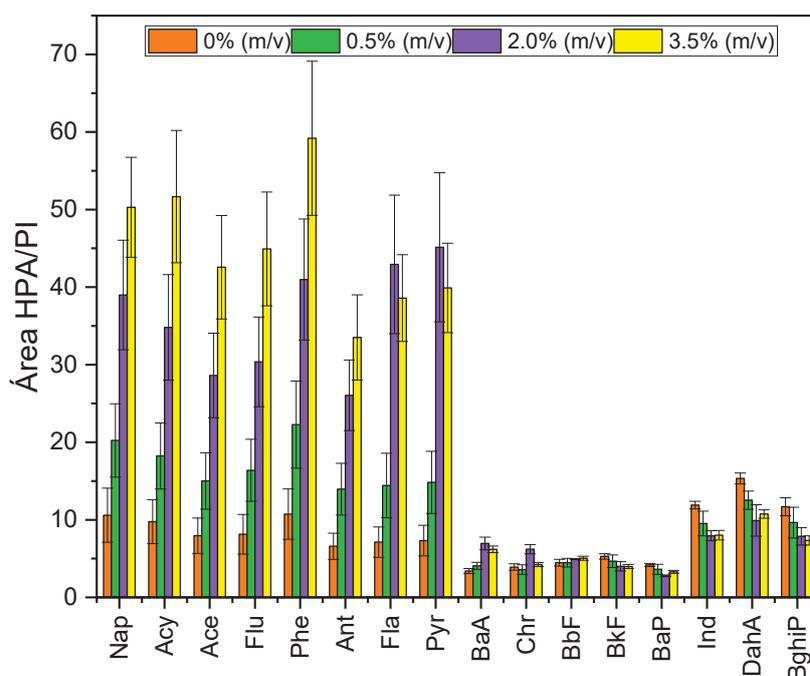
<b>Variável</b>	<b>Multivariado</b>	<b>Univariado</b>
Massa de sorvente	15 mg	20 mg
Tipo de solvente	Hexano	Hexano
Volume de solvente	250 µL	500 µL
Número de ciclos de dessorção	10	20
Volume de amostra	2,6 mL	2,5 mL
Número de ciclos de extração	13	20

#### 4.8 AVALIAÇÃO DO EFEITO DA SALIDADE NA EXTRAÇÃO

Depois de otimizados os parâmetros da extração, foi avaliado o efeito da salinidade na extração de HPAs utilizando IL-MMT por DPX. Avaliar o efeito da salinidade é de extrema importância no presente trabalho, pois as amostras reais a serem estudadas são amostras de água do mar. A água do mar possui diversos componentes em sua composição, entre eles estão os sais. A salinidade média da água do mar é de 3,5% (m/v) (FOFONOFF, 1985).

Para avaliar o efeito da salinidade na extração foram preparadas soluções aquosas contendo os 16 HPAs prioritários e 5 HPAs deuterados todos na concentração  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  e a concentração de NaCl foi variada em 0%; 0,5%; 2,0% e 3,5% (m/v). As soluções preparadas foram submetidas ao procedimento de extração em desenvolvimento. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 27.

FIGURA 27 – EFEITO DA SALINIDADE NA EXTRAÇÃO DE HPAS UTILIZANDO IL-MMT PARA DPX. CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO: MASSA DO SORVENTE – 15 mg; VOLUME DE AMOSTRA – 2,6 mL; NÚMERO DE CICLOS DE EXTRAÇÃO – 10; SOLVENTE – HEXANO; VOLUME DE SOLVENTE – 250  $\mu$ L E NÚMERO DE CICLOS DE DESSORÇÃO – 13.



Observa-se a partir da Figura 27 que entre o Nap-Pyr quanto maior a salinidade da solução, maior a razão área HPA/PI, já partir do BaA os resultados são comparáveis para todas as concentrações de sal.

Esse comportamento pode ser explicado devido ao efeito *salting out*. O aumento da salinidade afeta a solubilidade dos produtos químicos em água, portanto, o coeficiente de partição octanol-água. A maior concentração de sal resulta em uma menor solubilidade dos HPAs na amostra, promovendo a sua migração com mais facilidade para o material sorvente. O efeito se evidencia nos HPAs que

apresentam uma maior solubilidade, como pode ser observado na Figura 27 (OH et al., 2017; LÓPEZ-LÓPEZ et al., 2017).

#### 4.9 PARAMETROS ANALÍTICOS DE MÉRITO

##### 4.9.1 LINEARIDADE, LOD E LOQ

A linearidade, LOD e LOQ para o método proposto foram avaliados a partir da construção de curvas analíticas aplicando o método de extração otimizado. A faixa linear utilizada na curva analítica foi de  $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$  a  $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$  para os compostos naftaleno-d8, naftaleno, acenaftileno, acenafteno-d8, acenafteno, fluoreno, fenantreno-d8, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, criseno, criseno-d12, benzo[a]antraceno, benzo[a]pireno, perileno-d12, dibenz[a,h]antraceno, já para os compostos benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, indeno[1,2,3-cd]pireno e benzo[ghi]perileno foi de  $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$  a  $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$  e os ensaios foram realizados em quintuplicata. A inclinação, intercepto,  $R^2$ , RSD, LOD e LOQ estão apresentados na Tabela 18.

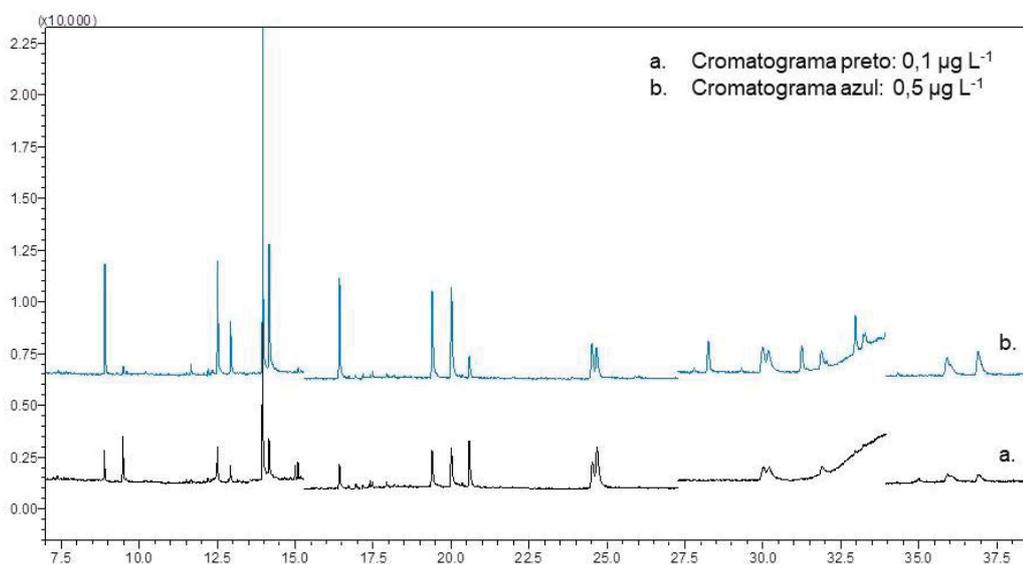
TABELA 18 – INCLINAÇÃO, INTERCEPTO,  $R^2$ , RSD DO PRIMEIRO NÍVEL DAS CURVAS ANALÍTICAS, LOD E LOQ PARA CADA UM DOS HPAS NO MÉTODO PROPOSTO.

HPA	Inclinação	Intercepto	$R^2$	RSD(%)	LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Naftaleno	0,0227	0,0057	0,9911	8,99	0,03	0,10
Acenaftileno	0,0283	-0,0018	0,9923	7,54	0,03	0,10
Acenafteno	0,0175	-0,0006	0,9955	10,00	0,03	0,10
Fluoreno	0,0209	-0,0011	0,9978	10,90	0,03	0,10
Fenantreno	0,0321	0,00007	0,9904	11,10	0,03	0,10
Antraceno	0,0279	-0,0021	0,9912	14,70	0,03	0,10
Fluoranteno	0,0347	-0,0017	0,9969	11,51	0,03	0,10
Pireno	0,0378	-0,0021	0,9967	8,71	0,03	0,10
Benz[a]antraceno	0,0094	0,0035	0,9840	10,16	0,03	0,10
Criseno	0,0095	0,0022	0,9919	2,64	0,03	0,10
Benzo[b]fluoranteno	0,0057	0,0016	0,9832	13,93	0,15	0,50
Benzo[k]fluoranteno	0,0071	-0,0003	0,9749	18,29	0,15	0,50
Benzo[a]pireno	0,0055	0,0010	0,9917	12,47	0,03	0,10
Indeno[1,2,3-cd]pireno	0,0011	0,0003	0,9986	21,33	0,15	0,50
Dibenz[a,h]antraceno	0,0021	0,0014	0,9825	18,20	0,03	0,10
Benzo[ghi]perileno	0,0040	0,0009	0,9865	17,39	0,15	0,50

Através dos resultados apresentados na Tabela 18 é possível observar que os  $R^2$  variaram entre 0,9749 e 0,9991. Grande parte dos compostos apresentou  $R^2$  próximo a 0,99, indicando correlação linear satisfatória na faixa estudada.

O LOQ para cada um dos compostos foi determinado a partir do primeiro nível da curva analítica, já o LOD foi calculado através do valor de LOQ/3,3. Para as concentrações de 0,1 e 0,5  $\mu\text{g L}^{-1}$  os picos dos HPAs foram obtidos com resolução e repetibilidade ( $n=5$ ) adequadas e seus cromatogramas são apresentados na Figura 28.

FIGURA 28 – CROMATOGRAMA DE CONCENTRAÇÃO (a) 0,1 e (b) 0,5  $\mu\text{g L}^{-1}$  APÓS PROCEDIMENTO DPX.



#### 4.9.2 EXATIDÃO E PRECISÃO

Os ensaios de exatidão e precisão foram feitos através da fortificação de amostras de água do mar em três níveis de concentração (0,6; 1,4 e 2,75  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). A exatidão foi avaliada através da recuperação relativa dos analitos, já a precisão através das incertezas. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 19.

TABELA 19 – VALORES DE RECUPERAÇÃO E RSD PARA AVALIAÇÃO DA EXATIDÃO E PRECISÃO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO DE HPAs UTILIZANDO IL-MMT COMO SORVENTE PARA DPX.

HPA	Recuperação (%)

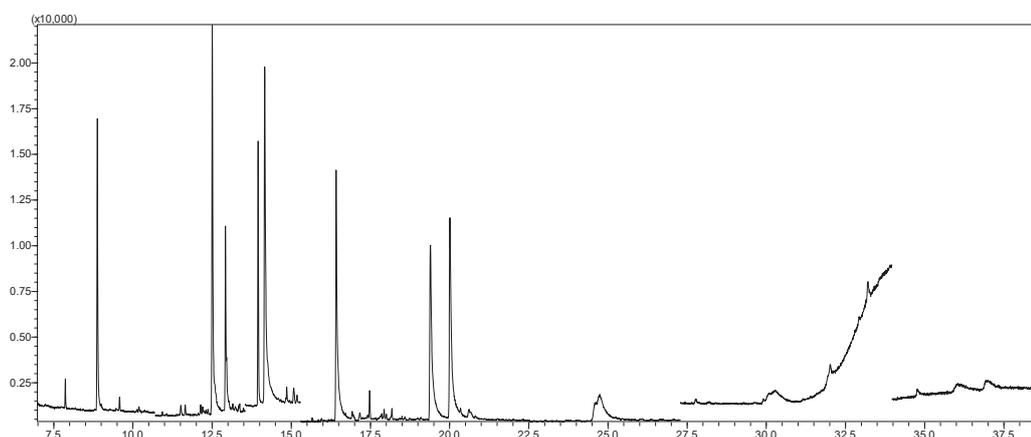
	0,6 $\mu\text{g L}^{-1}$	RSD	1,4 $\mu\text{g L}^{-1}$	RSD	2,75 $\mu\text{g L}^{-1}$	RSD
Naftaleno	78	14	123	3	101	18
Acenaftileno	91	31	103	18	91	9
Acenafteno	86	25	95	22	92	13
Fluoreno	100	21	110	26	95	13
Fenantreno	114	24	95	21	78	8
Antraceno	82	14	114	22	97	14
Fluoranteno	97	24	93	20	76	4
Pireno	108	13	85	24	71	8

Com base nos dados contidos na Tabela 19 pode-se observar que os valores de recuperação variaram entre 71% e 114%, que estão dentro do critério de aceitação do INMETRO (2020); para concentrações abaixo de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  a faixa de aceitação da recuperação é de 60% a 115%. As incertezas variaram entre 3% e 31%.

Por meio dos ensaios de recuperação não foi possível detectar os compostos: benz[a]antraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[a]pireno, indeno[1,2,3-cd]pireno, dibenzo[a,h]antraceno e benzo[ghi]perileno em todas as concentrações em que a amostra foi fortificada.

Os cromatogramas para os ensaios de recuperação se mostraram bastante ruidosos após o pico do padrão interno p-terfeil-d14, em aproximadamente 21 min, além de terem apresentado elevação da linha base (Figura 29), não sendo possível assim detectar os analitos.

FIGURA 29 – CROMATOGRAMA DA AMOSTRA FORTIFICADA COM OS HPAs PRIORITÁRIOS EM CONCENTRAÇÃO DE  $2,75 \mu\text{g L}^{-1}$



Este comportamento pode ser devido a dois fatores principais: queda de detectabilidade no equipamento de análise, por se tratar de concentrações bastante baixas, assim como do efeito de matriz, por se tratar de uma amostra de água do mar, em que há presença de matéria orgânica e alta concentração de sais. A presença de sal diminui significativamente a solubilidade dos HPAs de maiores massas molares, fazendo com que a eficiência da extração destes compostos diminua (FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ et al., 2007).

#### 4.10 APLICAÇÃO EM AMOSTRAS DE ÁGUA MARINHA

Por fim, o método validado foi aplicado em amostra de água do mar. A Tabela 20 mostra os HPAs encontrados na amostra de água do mar coletada pelo Centro de Aquicultura Marinha e Repovoamento (CAMAR, UFPR) em Praia de Leste, Pontal do Paraná – PR

TABELA 20 – CONCENTRAÇÕES DE HPAS ENCONTRADAS NA AMOSTRA DE ÁGUA DO MAR ANALISADA.

HPA	Concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Naftaleno	$0,31 \pm 0,04$
Acenafteno	$<0,10$
Fluoreno	$0,14 \pm 0,03$
Antraceno	$0,13 \pm 0,009$
Fluoranteno	$0,14 \pm 0,02$
Pireno	$0,16 \pm 0,01$

Como se pode observar na Tabela 20 a amostra de água do mar analisada evidenciou a presença de HPAs. O acenafteno apresentou picos com valores inferiores ao LOQ do método. Foi possível quantificar na amostra os compostos naftaleno, fluoreno, antraceno, fluoranteno e pireno, em concentrações que variaram de  $0,13 - 0,31 \mu\text{g L}^{-1}$ , todas acima do limite proposto pelo CONAMA em águas marinhas que é de  $0,018 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Para confirmação da extração, foi realizada a adição de uma concentração conhecida ( $1,50 \mu\text{g L}^{-1}$ ) dos HPAs deuterados. A recuperação para esses compostos variou entre  $89,7 - 119,7\%$ , apresentando valores aceitáveis.

## 5. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio dos estudos realizados pode-se concluir que a IL-MMT é um material eficiente na extração de HPAs em amostras de água do mar, mostrando-se uma fase sortiva adequada para a técnica de preparo de amostras quando se trabalha com a DPX.

Ao longo dos estudos univariados foi possível investigar os parâmetros de extração e a partir dos resultados obtidos, definir as faixas de trabalho para a realização dos estudos multivariados. O planejamento fatorial fracionário se mostrou uma ótima ferramenta para explorar as variáveis de extração e definir quais as mais significativas na extração, que no método desenvolvido foram: volume de amostra e número de ciclos de extração. Através do planejamento ortogonal composto central foi possível se obter uma superfície de resposta e otimizar as variáveis mais significativas da extração.

A linearidade, LOD e LOQ foram avaliadas através das curvas analíticas, e os coeficientes de determinação 0,9749 e 0,9991 sugerem linearidade do método proposto, já os LODs variaram entre 0,03 a 0,15  $\mu\text{g L}^{-1}$  e os LOQs entre 0,10 e 0,50  $\mu\text{g L}^{-1}$ . A exatidão e precisão foram avaliadas através de ensaios de recuperação, em amostra de água do mar, em que os valores de recuperação variaram entre 71 – 114% e as incertezas entre 3 – 32%.

O método proposto foi aplicado em amostras de água do mar, sendo determinados naftaleno, fluoreno, antraceno, fluoranteno e pireno, em concentrações que variaram entre 0,13 – 0,31  $\mu\text{g L}^{-1}$  e o acenafteno em concentração menor do que LOQ do método.

A DPX utilizando IL-MMT se mostrou uma alternativa atrativa para a determinação de HPAs em matrizes aquosas, apresentando diversas vantagens frente aos métodos tradicionais de preparo de amostras. Dentre elas podem ser destacadas o emprego de um eco-material em pequenas quantidades de (10 mg), baixos volumes de solventes orgânicos (250  $\mu\text{L}$ ) e amostra (2,5 mL). As extrações são realizadas somente em duas etapas que envolve os ciclos para extração e após a etapa de dessorção, não requerendo etapas adicionais de agitação, centrifugação e evaporação de solvente. De acordo com os resultados obtidos o método apresentou eficiência satisfatória na extração de HPAs. Ainda que, ao realizar ensaios de recuperação não foi possível a detecção de todos os 16 HPAs para qual

o método foi otimizado, possivelmente devido a queda de detectabilidade do equipamento cromatográfico e efeito de matriz. Apesar disso, o propocolo apresenta resultados comparáveis com outros protocolos similares na literatura, podendo ser considerado simples, rápido e eficiente.

## 6. REFERÊNCIAS

AFSHAR-MOHAJER, N.; WILSON, C.; WU, C. Y.; STORMER, J E. Source apportionment of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Palm Beach County, Florida. **Journal Of The Air & Waste Management Association**, v. 66, n. 4, p. 377-386, 2016.

AHMED, F.; FAKHRUDDIN, A. N. M. A Review on Environmental Contamination of Petroleum Hydrocarbons and its Biodegradation. **Int J Environ Sci Nat Res**. v. 11, n. 3, 2018.

ALEKSEEVA, O.; NOSKOV, A.; GRISHINA, E.; RAMENSKAYA, L.; KUDRYAKOVA, N.; IVANOV, V.; AGAFONOV, A. Structural and Thermal Properties of Montmorillonite/Ionic Liquid Composites. **Materials**, v. 12, n. 16, 2019.

ANDRADE, J. A.; AUGUSTO, F.; JARDIM, I. C. S. F. Biorremediação de solos contaminados por petróleo e seus derivados. **Eclética Química**, v. 35, n. 3, p. 17-43, 2010.

ANGULO-CUERO, J.; GRASSI, M. T.; DOLATTO, R. G.; PALACIO-CORTÉS, A. M.; ROSERO-MOREANO, M.; ARISTIZÁBAL, B. H.. Impact of polycyclic aromatic hydrocarbons in mangroves from the Colombian pacific coast: evaluation in sediments and bivalves. **Marine Pollution Bulletin**, v. 172, 2021.

ANJOS, V. E.; ABATE, G.; GRASSI, M. T.. Determination of labile species of As(V), Ba, Cd, Co, Cr(III), Cu, Mn, Ni, Pb, Sr, V(V), and Zn in natural waters using diffusive gradients in thin-film (DGT) devices modified with montmorillonite. **Analytical And Bioanalytical Chemistry**, v. 409, n. 7, p. 1963-1972, 2016.

ANJOS, V. E.; ROHWEDDER, J. R.; CADORE, S.; ABATE, G.; GRASSI, M. T.. Montmorillonite and vermiculite as solid phases for the preconcentration of trace elements in natural waters: adsorption and desorption studies of as, ba, cu, cd, co, cr, mn, ni, pb, sr, v, and zn. **Applied Clay Science**, v. 99, p. 289-296, 2014.

BEALE, D. J.; PINU, F. R.; KOUREMENOS, K. A.; POOJARY, M. M.; NARAYANA, V. K.; BOUGHTON, B. A.; KANOJIA, K.; DAYALAN, S.; JONES, O. A. H.; DIAS, D. A. Review of recent developments in GC-MS approaches to metabolomics-based research. **Metabolomics**, v. 14, n. 11, 2018.

BEE, S. L.; ABDULLAH, M.A.A.; BEE, S. T.; SIN, L. Tin; R., A.R.. Polymer nanocomposites based on silylated-montmorillonite: a review. **Progress In Polymer Science**, v. 85, p. 57-82, 2018.

BEHERA, B.K; DAS, A.; SARKAR, D. J.; WEERATHUNGE, P.; PARIDA, P. K.; DAS, B. K.; THAVAMANI, P.; RAMANATHAN, R.; BANSAL, V. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in inland aquatic ecosystems: perils and remedies through biosensors and bioremediation. **Environmental Pollution**, v. 241, p. 212-233, 2018.

BRUM, D. M.; CASSELLA, R. J.; NETTO, A. D. P.. Multivariate optimization of a liquid-liquid extraction of the EPA-PAHs from natural contaminated waters prior to determination by liquid chromatography with fluorescence detection. **Talanta**, v. 74, n. 5, p. 1392-1399, 2008.

CAMARGO, M. S. **Extração de hpa de tecido de peixe empregando montmorilonita modificada com líquido iônico e dispersão da matriz em fase sólida**. 2019. 76 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2019.

CANDIOTI, L. V.; ZAN, M. M.; CÂMARA, M. S.; GOICOECHEA, H. C. Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development. **Talanta**, v. 124, p. 123-138, 2014.

CARASEK, E.; MORÉS, L.; HUELSMANN, R. D. Disposable pipette extraction: a critical review of concepts, applications, and directions. **Analytica Chimica Acta**, v. 1192, 2022.

CONAMA - CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE, MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, Resolução CONAMA no 357, 2005.

Coordenação-Geral de Comunicação Social. "PF conclui investigações sobre a origem das manchas de óleo que atingiram o litoral brasileiro entre 2019 e 2020." **Gov.br**, 2021. Disponível em: <<https://www.gov.br/pf/pt-br/assuntos/noticias/2021/12/pf-conclui-investigacoes-sobre-a-origem-das-manchas-de-oleo-que-atingiram-o-litoral-brasileiro-entre-2019-e-2020>>. Acesso em: 01 jun. 2022.

DISNER, G. R.; TORRES, M. The environmental impacts of 2019 oil spill on the Brazilian coast: overview. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental e Sustentabilidade**, v. 7, n. 15, p. 241-255, 2020.

DOHMANN, J. F.; THIÄNER, J. B.; ACHTEN, C. Ultrasensitive detection of polycyclic aromatic hydrocarbons in coastal and harbor water using GC-APLI-MS. **Marine Pollution Bulletin**, v. 149, 2019.

EBRAHIMI-NAJAFABADI, H.; LEARDI, R.; JALALI-HERAVI, M. Experimental Design in Analytical Chemistry—Part I: theory. **Journal Of Aoac International**, v. 97, n. 1, p. 3-11, 2014.

FERNÁNDEZ, L. M. O.; ANTE, D. M. U.; GRASSI, M. T.; DOLATTO, R. G.; SÁNCHEZ, N. E. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons extracted from lichens by gas chromatography-mass spectrometry. **Methodsx**, v. 9, 2022.

FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, V.; CONCHA-GRAÑA, E.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; PRADA-RODRÍGUEZ, D.. Solid-phase microextraction-gas chromatographic-tandem mass spectrometric analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Journal Of Chromatography A**, v. 1176, n. 1-2, p. 48-56, 2007.

FISCAL-LADINO, J. A.; OBANDO-CEBALLOS, M.; ROSERO-MOREANO, M.; MONTAÑO, D. F.; CARDONA, W.; GIRALDO, L. F.; RICHTER, P.. Ionic liquids intercalated in montmorillonite as the sorptive phase for the extraction of low-polarity organic compounds from water by rotating-disk sorptive extraction. **Analytica Chimica Acta**, v. 953, p. 23-31, 2017.

FOFONOFF, N. P. Physical properties of seawater: A new salinity scale and equation of state for seawater, **J. Geophys. Res.**, v. 90, n. 2, p. 3332– 3342, 1985.

FONTENELLE, F. R. Estudo da biodisponibilidade de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos - HPAs na água do mar nos ecossistemas marinhos do Sistema Estuarino de Santo - São Vicente e do Sistema Estuarino - Lagunar de Cananéia - Iguape. 2018. 112 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Oceanografia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018. Disponível em: [https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/21/21137/tde-31012019-135643/publico/Dissertacao\\_Fontenelle\\_Fabiana\\_Corrigida.pdf](https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/21/21137/tde-31012019-135643/publico/Dissertacao_Fontenelle_Fabiana_Corrigida.pdf). Acesso em: 08 ago. 2022.

FROIS, S. R.; GRASSI, M. T.; FERNANDES, T. C.; BARRETO, R. A. S.; ABATE, G. Pré-concentração de Cr(III) e análise de especiação de cromo empregando montmorilonita saturada com íons potássio. **Química Nova**, v. 34, n. 3, p. 462-467, 2011.

GAO, P.; SILVA, E.; HOU, L.; DENSLOW, N. D.; XIANG, P.; MA, L. Q.. Human exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: metabolomics perspective. **Environment International**, v. 119, p. 466-477, 2018.

GARCIA, K.; FRENA, M.; BITTENCOURT, O.; MAGOSSO, H.; CARASEK, E.; MADUREIRA, L. A Green Procedure Using Disposable Pipette Extraction to Determine Polycyclic Aromatic Sulfur Heterocycles in Water Samples and Solid Petrochemical Residues. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**, v. 32, n. 2, 2021.

GONÇALVES, C.; CARVALHO, J.J.; AZENHA, M.A.; ALPENDURADA, M.F.. Optimization of supercritical fluid extraction of pesticide residues in soil by means of central composite design and analysis by gas chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal Of Chromatography A**, v. 1110, n. 1-2, p. 6-14, 2006.

Instituto de Estudos do Mar. “O que acontece quando um óleo alcança o mar?”. Disponível em: <https://www.marinha.mil.br/ieapm/content/o-que-acontece-quando-um-%C3%B3leo-%C3%A9-lan-%C3%A7ado-ao-mar>. Acesso: 08/02/2023.

Instituto Nacional de Metrologia, Coordenação Geral de Acreditação (INMETRO): Orientação sobre Validação de Método analíticos, DOQ-CGCRE-008, 2020.

JALILI, V.; BARKHORDARI, A.; GHIASVAND, A.. Solid-phase microextraction technique for sampling and preconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons: a review. **Microchemical Journal**, v. 157, n. 9, 2020.

KIM, K. H.; JAHAN, S. A.; KABIR, E.; BROWN, R. J.C.. A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects. **Environment International**, v. 60, p. 71-80, 2013.

KIM, N. H.; MALHOTRA, S. V.; XANTHOS, M.. Modification of cationic nanoclays with ionic liquids. **Microporous And Mesoporous Materials**, v. 96, n. 1-3, p. 29-35, 2006.

LAWAL, A. T. Polycyclic aromatic hydrocarbons. A review. **Cogent Environmental Science**, v. 3, n. 1, 2017.

LEITE, Natalicio Ferreira. **Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (hpas) e bifenilas policloradas (pcbs) em sedimentos: desenvolvimento analítico e diagnóstico ambiental**. 2008. 144 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

IMIĆ, I.; MENDAŁ, G.; PEHNEC, G. An optimized sample preparation and analysis method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in the atmospheric bulk deposition samples. **Journal Of Chromatography A**, v. 1633, p. 461599, 2020.

LISBOA, Luana. "Óleo encontrado em Itacimirim é o mesmo de 2019", diz especialista. **Correio**, 2021. Disponível em: <<https://www.correio24horas.com.br/noticia/nid/oleo-encontrado-em-itacimirim-e-o-mesmo-de-2019-diz-especialista/>>. Acesso em: 01 jun. 2022.

LLASERA, M. P. G.; CAMARILLO, M. H.; CICOUREL, A. R. G.; HERRERA, M. R. C. Semi-continuous monitoring of HMWPAH in microalgae cultures by PT-SPE/HPLC/FD-UV: estimation of the degradation constant. **Analytical Biochemistry**, v. 633, 2021.

LÓPEZ-LÓPEZ, J. A.; OGALLA-CHOZAS, E.; LARA-MARTÍN, P. A.; PINTADO-HERRERA, M. G.. Solvent bar micro-extraction (SBME) based determination of PAHs in seawater samples. **Science Of The Total Environment**, v. 598, p. 58-63, 2017.

MATSUNAKA, T.; NAGAO, S.; INOUE, M.; MUNDO, R.; TANAKA, S.; TANG, N.; YOSHIDA, M.; NISHIZAKI, M.; MORITA, M.; TAKIKAWA, T. Seasonal variations in marine polycyclic aromatic hydrocarbons off Oki Island, Sea of Japan, during 2015–2019. **Marine Pollution Bulletin**, v. 180, 2022.

MAURI-AUCEJO, A.; AMORÓS, P.; MORAGUES, A.; GUILLEM, C.; BELENGUER-SAPIÑA, C. Comparison of the solid-phase extraction efficiency of a bounded and an included cyclodextrin-silica microporous composite for polycyclic aromatic hydrocarbons determination in water samples. **Talanta**, v. 156-157, p. 95-103, 2016.

MEIRE, R. O.; AZEREDO, A.; TORRES, J. P. M. Aspectos ecotoxicológicos de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, n. 2, p. 188-201, 2007.

MILLER, J. s; OLEJNIK, D. Photolysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water. **Water Research**, v. 35, n. 1, p. 233-243, 2001.

MILLERO, F. J.; FEISTEL, R.; WRIGHT, D. G.; MCDUGALL, T. J.. The composition of Standard Seawater and the definition of the Reference-Composition Salinity Scale. **Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers**, v. 55, n. 1, p. 50-72, 2008.

MOJIRI, A.; ZHOU, J. L.; OHASHI, A.; OZAKI, N.; KINDAICHI, T. Comprehensive review of polycyclic aromatic hydrocarbons in water sources, their effects and treatments. **Science Of The Total Environment**, v. 696, 2019.

NASCIMENTO, M. M.; ROCHA, G. O.; ANDRADE, J. B. Simple and effective dispersive micro-solid phase extraction procedure for simultaneous determination of polycyclic aromatic compounds in fresh and marine waters. **Talanta**, v. 204, p. 776-791, 2019.

OH, S.; WANG, Q.; SHIN, W. S.; SONG, D. Effect of salting out on the desorption-resistance of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coastal sediment. **Chemical Engineering Journal**, v. 225, p. 84-92, 2013.

OIAD, A. Polymer/clay nanocomposites, in Reddy, B. (Ed.): *Advances in Diverse Industrial Applications of Nanocomposites*, InTech, Rijeka, pp.113–138, 2011.

PENA, P. G. L.; NORTHCROSS, A. L.; LIMA, M. A. G. ; RÊGO, R. C. F. Derramamento de óleo bruto na costa brasileira em 2019: emergência em saúde pública em questão. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 36, n. 2, 2020.

PINHATI, F. R.; AGUILA, E. M. I; TÔRRES, A. P. R.; SOUSA, M. P.; SANTIAGO, V. M. J.; SILVA, J. T.; PASCHOALIN, V. M. F.. Evaluation of the efficiency of deterioration of aromatic hydrocarbons by bacteria from wastewater treatment plant of oil refinery. **Química Nova**, p. 1269-1274, 2014.

POJANA, G.; MARCOMINI, A. Determination of monohydroxylated metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons (OH-PAHs) from wastewater-treatment plants. **International Journal Of Environmental Analytical Chemistry**, v. 87, n. 9, p. 627-636, 2007.

PURCARO, G.; MORET, S.; CONTE, L. S.. Overview on polycyclic aromatic hydrocarbons: occurrence, legislation and innovative determination in foods. **Talanta**, v. 105, p. 292-305, 2013.

RIZZETTI, T. M.; KEMMERICH, M.; MARTINS, M. L.; PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. Optimization of a QuEChERS based method by means of central composite design for pesticide multiresidue determination in orange juice by UHPLC–MS/MS. **Food Chemistry**, v. 196, n. 1, p. 25-33, 2016.

SAJID, M.; NAZAL, M. K.; IHSANULLAH, I. Novel materials for dispersive (micro) solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental water samples: a review. **Analytica Chimica Acta**, p. 1-2, 2021.

SÁNCHEZ-DUQUE, G.; LOZADA-CASTRO, J. J.; HARA, E. L. Y.; GRASSI, M. T.; ROSERO-MOREANO, M.; RÍOS-ACEVEDO, J. J. Alternative Ecosorbent for the Determination of Trihalomethanes in Aqueous Samples in SPME Mode. **Molecules**, v. 27, n. 24, 2022.

SANTOS, V. C. G.; GRASSI, M. T.; ABATE, G. Sorption of Hg(II) by modified K10 montmorillonite: influence of pH, ionic strength and the treatment with different cations. **Geoderma**, v. 237-238, p. 129-136, 2015.

SHABEER, T. P.; AJOY, S.; GAJBHIYE, V.T.; SUMAN, G. Optimization and validation of LLE/HPLC-DAD method to determine the residues of selected PAHs in surface water. **International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology**, v. 6, n. 2, p. 241-248, 2013.

SILVA, C.A.; RIBEIRO, C.A. Oliveira; KATSUMITI, A.; ARAĐJO, M.L.P.; ZANDONÁ, E.M.; SILVA, G.P. Costa; MASCHIO, J.; ROCHE, H.; ASSIS, H.C. Silva de. Evaluation of waterborne exposure to oil spill 5 years after an accident in Southern Brazil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, n. 2, p. 400-409, 2009.

SILVA, P. M. F. **Estudo dos principais fatores que influenciam na solubilização dos HPAs em águas**. 2010. 90 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2010.

SOURSOU, V.; CAMPO, J.; PICÓ Y. Revisiting the analytical determination of PAHs in environmental samples: An update on recent advances. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, *In Press*, Journal Pre-proof, Available online 6 January 2023.  
SUN, H.; FENG, J.; HAN, S.; JI, X.; LI, C.; FENG, J.; SUN, M. Recent advances in micro- and nanomaterial-based adsorbents for pipette-tip solid-phase extraction. **Microchimica Acta**, v. 188, n. 6, 2021.

TURAZZI, F. C.; MORÉS, L.; CARASEK, E.; MERIB, J.; BARRA, G. M. de O.. A rapid and environmentally friendly analytical method based on conductive polymer as extraction phase for disposable pipette extraction for the determination of hormones and polycyclic aromatic hydrocarbons in river water samples using high-performance liquid chromatography/diode array detection. **Journal Of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 3, p. 2019.

VIEIRA, C. M. S.; MAZURKIEVICZ, M.; CALVO, A. M. L.; DEBATIN, V.; MICKE, G. A.; RICHTER, P.; ROSERO-MOREANO, M.; ROCHA, E. C. Exploiting green sorbents in rotating-disk sorptive extraction for the determination of parabens by

high-performance liquid chromatography with tandem electrospray ionization triple quadrupole mass spectrometry. **Journal Of Separation Science**, v. 41, n. 21, p. 4047-4054, 2018.

WIJAYARATNE, R.D.; MEANS, J.C.. Sorption of Polycyclic aromatic hydrocarbons by natural estuarine colloids. **Marine Environmental Research**, v. 11, n. 2, p. 77-89, jan. 1984.

WU, L.; LIAO, L.; LV, G.; QIN, F.; LI, Z. Microstructure and process of intercalation of imidazolium ionic liquids into montmorillonite. **Chemical Engineering Journal**, [S.L.], v. 236, p. 306-313, jan. 2014.

ZHAI, C.; WANG, M.; LU, Y.; YAN, H. Green synthesis of phloroglucinol-urotropine porous polymer: ingenious miniaturized solid phase extraction for efficient purification and determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in lotus roots. **Food Chemistry**, v. 396, 2022.

ZHANG, L.; SUN, D.; ZHANG, L.; ZHOU, S. Spatial distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Philippine Sea, Western Pacific and the impact factors analysis. **Marine Pollution Bulletin**, v. 173, 2021.

ZHANG, Y.; ZHAO, Y. G.; CHEN, W. S.; CHENG, H. L.; ZENG, X. Q.; ZHU, Y. Three-dimensional ionic liquid-ferrite functionalized graphene oxide nanocomposite for pipette-tip solid phase extraction of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in human blood sample. **Journal of Chromatography A**, v. 1552, p. 1-9, 2018.

ZHENG, H. B.; DING, J.; ZHENG, S. J.; ZHU, G. T.; YUAN, B. F.; FENG, Y. Q. Facile synthesis of magnetic carbon nitride nanosheets and its application in magnetic solid phase extraction for polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oil samples. **Talanta**. v. 148, p. 46-53, 2016.