

Jocinei Dognini

**MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA SEGUIDA DE GC-MS
PARA DETERMINAÇÃO DE DERIVADOS DE BENZENO EM
EXTRATOS LIXIVIADOS DE RESÍDUOS DA INDÚSTRIA DE
PETRÓLEO**

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em
Química da Universidade Federal de Santa Catarina
como requisito final para a obtenção do título de
Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Augusto dos Santos
Madureira

Florianópolis
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Dognini, Jocinei

Microextração em fase sólida seguida de GC-MS para determinação de derivados de benzeno em extratos lixiviados de resíduos da indústria de petróleo / Jocinei Dognini ; orientador, Luiz Augusto dos Santos Madureira, 2018.

98 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2018.

Inclui referências.


1. Química. 2. Classificação de resíduo. 3. Derivados clorobenzenos. 4. Extrato lixiviado. 5. Microextração em fase sólida. I. Madureira, Luiz Augusto dos Santos. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

Jocinei Dognini

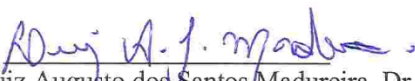
**MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA SEGUIDA DE GC-MS
PARA DETERMINAÇÃO DE DERIVADOS DE BENZENO EM
EXTRATOS LIXIVIADOS DE RESÍDUOS DA INDÚSTRIA DO
PETRÓLEO**


Esta tese foi julgada adequada para a obtenção do título de “Doutor em Química”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

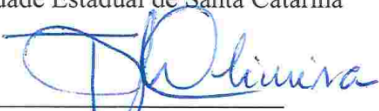
Florianópolis, 27 de julho de 2018



Prof. Vanderlei Gageiro Machado, Dr.
Coordenador da Pós Graduação

Banca Examinadora:


Prof. Luiz Augusto dos Santos Madureira, Dr.
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina


Prof. Edmar Martendal Dias de Souza, Dr.
Universidade Estadual de Santa Catarina


Prof. Fernando Jorge Santos de Oliveira, Dr.
Universidade Petrobras


Prof. Luciano Vitali, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

AGRADECIMENTOS

A minha noiva Franciele Hoefelmann, pelo incentivo, paciência e motivação nos momentos mais difíceis.

Aos meu pais Marildes Dognini e José Dognini, por todo apoio.

Ao SENAI, pela disponibilização da infraestrutura e subsídio.

Ao orientador Prof. Dr. Luiz Augusto dos Santos Madureira, por toda orientação e ensinamentos.

A disponibilidade dos membros da banca examinadora.

Muito obrigado!

RESUMO

Resíduos sólidos gerados pela indústria do petróleo são frequentemente classificados como perigosos, devido à falta de métodos analíticos adequados para sua caracterização, dada, em parte, sua natureza pastosa e altamente viscosa. Neste estudo foi desenvolvido um método alternativo ao descrito pela ABNT NBR 10.005. Substituiu-se a etapa empregando extrator sem *headspace* (ZHE) por uma preparação do extrato lixiviado *online* seguido de microextração em fase sólida e análise por cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (GC-MS), para a determinação de compostos orgânicos voláteis clorados e não clorados. A otimização do método de extração foi conduzida via planejamento experimental empregando superfície resposta, com modelo do composto central. Dessa forma, obteve-se uma condição ótima de trabalho de temperatura de extração 30 °C, tempo de exposição da fibra de 50 min e temperatura de desorção de 240 °C. O método foi validado segundo normas nacionais e internacionais, com faixa de trabalho de 2,00 a 90,00 µg L⁻¹ no extrato lixiviado e limite de detecção de 0,12 a 0,41 µg L⁻¹. A análise das amostras de borras de petróleo revelou níveis abaixo do LQ do método para os derivados de clorobenzeno e os compostos aromáticos não clorados <19,85 µg L⁻¹. A matriz fortificada foi analisada e as recuperações variaram de 80 a 98%. Uma vez que a filtração desses resíduos não pode ser efetuada devido à obstrução do papel filtro nas etapas de filtração necessárias para obtenção dos extratos lixiviados, o método proposto se demonstrou ser uma alternativa viável para substituição do ZHE na obtenção dos extratos lixiviados.

Palavras-chave: Classificação de resíduo. Derivados clorobenzenos. Extrato lixiviado. Microextração em fase sólida.

ABSTRACT

Solid waste generated by the petroleum industry is often classified as hazardous, in part due to the lack of adequate analytical methods for their characterization, given their gluey and highly viscous nature. In this study an alternative to the method described by ABNT NBR 10005, replacing the zero headspace extraction approach with solid-phase microextraction followed by analysis via gas chromatography mass spectrometry, for the determination of aromatic chlorinated and non-chlorinated volatile organic compounds was developed. The optimization of the extraction method was conducted by experimental design using surface response, with the central compound design. Obtaining an optimum working condition of extraction temperature 30 °C, fiber exposure time 50 min and desorption temperature 240 °C. The method was validated according to national and international regulations, with a working range of 2.00 to 90.00 $\mu\text{g L}^{-1}$ and detection limit of 0.12 to 0.41 $\mu\text{g L}^{-1}$. Spiked matrix was analyzed and the recoveries ranged from 80 to 98 %. Analysis of real samples revealed levels below the limit of quantification for chlorobenzene derivatives and for the non-chlorinated aromatic compounds $< 19.85 \mu\text{g L}^{-1}$. Since the filtration of these residues cannot be performed due to the obstruction of the filter paper in the filtration steps necessary to obtain the leached extracts, the proposed method is shown to be a viable alternative for the replacement of the ZHE in the extraction of the leached extracts.

Keywords: Waste classification. Chlorobenzene derivatives. Leached extract. Solid-phase microextraction,.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Extrator Zero Headspace Extractor	20
Figura 2 - Sistema de agitação do extrator <i>Zero Headspace Extractor</i>	21
Figura 3 - Exemplos de fases empregadas na técnica de micro extrações em fase sólida.....	23
Figura 4 - Esquema do sistema de SPME manual utilizando fibra.....	25
Figura 5 - Modos de extração empregando SPME. (a) DI-SPME, (b) HS-SPME, (c) proteção com membrana SPME.....	26
Figura 6 - Fatores que afetam o SPME.....	30
Figura 7 - Resíduos sólidos de borras oleosas avaliadas pelo método.....	47
Figura 8 - Cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas.....	49
Figura 9 - Esquema de modelo estatístico empregado.....	51
Figura 10 - Cromatograma do método usado como base para o desenvolvimento.....	60
Figura 11 - Cromatograma do método adaptado para aplicar ao estudo..	61
Figura 12 - Comparação das áreas obtidas usando fibra de PA e PDMS no experimento preliminar.....	62
Figura 13 - Médias geométrica e desvio padrão dos resultados normalizados das fibras.....	63
Figura 14 - Gráficos de valores observados por valores preditos de área do etilbenzeno.....	64
Figura 15 - Gráficos de valores observados por valores preditos de área do clorobenzeno.....	65
Figura 16 - Diagrama de Pareto obtido para o clorobenzeno.....	66
Figura 17 - Diagrama de Pareto obtido para o 1,2,3-triclorobenzeno.....	67
Figura 18 - Superfície resposta da área (contagens min 1) em relação ao tempo de extração e temperatura de extração do clorobenzeno.....	68
Figura 19 - Superfície resposta da área (contagens min 1) em relação ao tempo de extração e temperatura de extração do 1,2-Diclorobenzeno....	69
Figura 20 - Superfície resposta da área (contagens min 1) em relação ao tempo de extração e temperatura de extração do 1,2,3-Triclorobenzeno.....	70

Figura 21 -Comparativo da temperatura crítica de extração e o ponto de ebulição dos compostos.....	71
Figura 22 - Cromatograma obtido para a concentração de 90 µg L-1 dos analitos.....	72
Figura 23 - Curva de calibração obtida para validação do tolueno.....	73
Figura 24 - Curva de calibração obtida para validação do clorobenzeno.....	74
Figura 25 - Curva de calibração obtida para validação do 1,2,4-triclorobenzeno.....	75
Figura 26 - Histogramas de resíduos obtidos pelo tratamento estatístico da curva analítica, A: Tolueno; B: Clorobenzeno; C: 1,2,4-Triclorobenzeno.....	77
Figura 27 - Gráfico da ordem de coleta pelos resíduos padronizados para os compostos, A: Tolueno; B: Clorobenzeno; C: 1,2,4-Triclorobenzeno.....	78
Figura 28 - Cromatograma da soma dos íons extraídos de quantificação, de uma amostra isenta de analitos, para as razões massa/carga de quantificação dos analitos de interesse.....	80
Figura 29 - Cromatograma da amostra borra 2 obtido pelo método.....	87
Figura 30 - Comparativo entre cromatograma íons totais da amostra e de íon extraído da amostra (verde) e amostra fortificada (Laranja).....	87
Figura 31 - Etapa inicial de filtração do resíduo sólido.....	89

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estruturas e propriedades dos derivados de benzenos.....	32
Tabela 2 - Critérios de aceitação sugeridos pela AOAC para recuperação.....	42
Tabela 3 - Sugestão de critérios de aceitação para a repetibilidade.....	43
Tabela 4 - Níveis de magnitudes selecionados na otimização.....	51
Tabela 5 - Experimentos para realização da otimização por análise multivariada.....	52
Tabela 6 - Lista de razões massa/carga empregadas como quantificadores.....	54
Tabela 7 - Construção da curva de calibração.....	56
Tabela 8 - Rampa de aquecimento usada como base para o desenvolvimento do método.....	59
Tabela 9 - Rampa de aquecimento desenvolvida para a separação dos compostos de interesse.....	60
Tabela 10 - Coeficientes de determinação e equação das curvas analíticas obtidas.....	76
Tabela 11 - Resultados obtidos para o teste de Shapiro-Wilk para cada os resíduos de cada composto.....	79
Tabela 12 - Resultados obtidos para repetitividade a 20 µg L-1.....	81
Tabela 13 - Resultados obtidos para repetitividade a 40 µg L-1.....	81
Tabela 14 - Resultados obtidos para repetitividade a 60 µg L-1.....	82
Tabela 15 - Resultados do estudo do limite de quantificação.....	83
Tabela 16 - Limites de quantificações determinados pela razão do sinal e ruído.....	84
Tabela 17 - Limite de detecção determinado para o método.....	85
Tabela 18 - Resultados das duplicatas das amostras ensaiadas.....	88
Tabela 19 - Resultados de recuperação obtidos para os analitos.....	90

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANOVA – *Analysis of variance* – Análise de variância
Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC – *Association of Official Analytical Chemist* - Associação Oficial de Química Analítica
CGCRE – Coordenação Geral de Acreditação do Inmetro
CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente
DI – Imersão Direta
DPR – Desvio Padrão Relativo
GC – Cromatógrafo a gás
HS – *Headspace*
Inmetro – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
IST – Instituto SENAI de Tecnologia
MRC – Material de Referência e Certificado
MS – Espectrômetro de massas
NBR – Norma Brasileira
NIST – Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia
ONU – Organização das Nações Unidas
PA – Poliacrilato
PDMS – Polidimetilsiloxano
POPs – Poluentes Orgânicos Persistentes
Ppt – Partes por trilhão
PVC – Policloreto de vinila
RBC – Rede Brasileira de Calibração
SENAI – Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial
SPME – Microextração em fase sida
USEPA – *United States Environmental Protection Agency* - Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos
ZHE – *Zero Headspace Extractor* - Extrator sem espaço livre

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	16
2. REVISÃO DE BIBLIOGRAFIA.....	18
2.1 CLASSIFICAÇÃO DE RESÍDUOS SÓLIDOS.....	18
2.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS.....	19
2.2.1 Extrato Lixiviado.....	19
2.2.2 Extrato Solubilizado	22
2.2 MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA.....	22
2.3.1 Equilíbrio de extração em SPME.....	27
2.3.2 Aspectos Cinéticos.....	28
2.3.3 Parâmetros na extração que afetam a SPME.....	29
2.3.3.1 <i>Temperatura.....</i>	30
2.3.3.2 <i>pH</i>	31
2.3.3.3 <i>Força Iônica</i>	31
2.4 DERIVADOS DE BENZENOS	32
2.5 VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO	37
2.5.1 Seletividade	37
2.5.2 Linearidade	38
2.5.3 Faixa de trabalho	38
2.5.4 Faixa linear de trabalho	38
2.5.5 Sensibilidade	39
2.5.6 Limite de detecção	40
2.5.7 Limite de quantificação	40
2.5.8 Tendência/Recuperação	41
2.5.9 Repetibilidade	42
2.5.10 Robustez	44
3. OBJETIVOS	45

3.1 OBJETIVO GERAL	45
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	45
4. PARTE EXPERIMENTAL	46
4.1 MATERIAIS E REAGENTES	46
4.2 EQUIPAMENTOS	47
4.2.1 pHmetro	47
4.2.2 Balança analítica	48
4.2.3 Estufa de secagem	48
4.2.4 Repipetador Automático	48
4.2.5 Autoamostrador CombiPal	48
4.2.6 Cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas.....	49
4.3 DESCONTAMINAÇÃO DOS RESÍDUOS SÓLIDOS	49
4.4 DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO POR SPME	50
4.5 DETERMINAÇÃO DOS ANALITOS	53
4.6 QUANTIFICAÇÃO DOS ANALITOS	54
4.7 VALIDAÇÃO DO MÉTODO	55
4.7.1 Seletividade	55
4.7.2 Linearidade, Faixa de trabalho, Faixa linear de trabalho e Sensibilidade	55
4.7.3 Repetibilidade	57
4.7.4 Limite de quantificação	57
4.7.5 Limite de detecção	58
4.7.6 Análise das amostras e verificação da exatidão	58
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
5.1 MÉTODO CROMATOGRÁFICO	59

5.2 OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO POR SPME ..	61
5.3 VALIDAÇÃO DO MÉTODO	72
5.3.1 Linearidade/Faixa de trabalho/Sensibilidade	72
5.3.2 Seletividade	80
5.3.3 Repetibilidade	81
5.3.4 Limite de quantificação	83
5.3.5 Limite de detecção	85
5.3.6 Aplicação do método e verificação da exatidão	86
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	91
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92

1. INTRODUÇÃO

As indústrias de petróleo e gás natural vêm se expandindo em todo o mundo e a preocupação com a poluição ambiental tem se tornado um fator de grande relevância. No Brasil, as atividades de exploração e produção de petróleo se tornaram ainda mais importantes após a descoberta dos campos do pré-sal, atingindo uma produção de aproximadamente 2,6 milhões de barris dia de janeiro a julho de 2018, segundo dados da ANP (ANP, 2018). Os diversos produtos da indústria petrolífera apresentam um relevante papel energético e um dos recursos minerais mais importantes e utilizados em todo o mundo.

Diversos são os impactos ambientais associados ao setor de petróleo e gás natural, o qual gera uma quantidade significativa de resíduos desde a exploração até o refino, processamento e transporte. Independente da evolução tecnológica em energias mais limpas, a cultura ainda está muito ligada à utilização destas fontes fósseis de energia. Ter um bom gerenciamento de resíduos é algo essencial para se reduzir os impactos ambientais associados a esse setor produtivo (Elektorowicz & Habibi, 2005).

Em indústrias associadas à produção de petróleo e derivados, elevada quantidade de resíduo sólidos são gerados. Estes por sua vez, muitos são classificados como perigosos devido à grande variedade de compostos orgânicos de elevado potencial poluente como compostos fenólicos, hidrocarbonetos aromáticos, policíclicos aromáticos e clorados (ESTRADA-ARRIAGA, ZEPEDA-AVILES, & GARCÍA-SÁNCHEZ, 2016).

A I Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente realizada pela ONU em 1972 foi uma das primeiras ações da sociedade de grande importância para o início da formação da consciência ambiental nas indústrias. O evento teve como objetivo a criação de instrumentos institucionais e legais para prevenir e enfrentar problemas ambientais (Silva & Lima, 2013). No Brasil, pode-se considerar que somente após a Constituição de 1988 as indústrias precisariam legalmente se preocupar com o meio ambiente. Mas o marco do ambientalismo corporativo aconteceu somente em 1992 com a Conferência das Nações Unidas para o Meio Ambiente e Desenvolvimento, RIO 92. Desde lá a preocupação com o meio ambiente vem crescendo e sendo foco de muitas ações (Silva & Lima, 2013).

Entre os principais resíduos deste setor industrial se encontram as borras de petróleo, que apresentam grande complexidade por sua natureza, já que são constituídas por resíduos de substâncias oleosas, solos e metais pesados, podendo ter, ou não, elevada salinidade.

Estes tipos de resíduos pastosos não são possíveis de serem analisados pela série de métodos da Associação Brasileira de Normas Técnicas, ABNT NBR 10.004 a 10.007. Por se tratarem de resíduos que não são enquadrados em 100% sólidos, deveriam ser filtrados para remoção da parte líquida, impossibilitando, dessa forma, a execução do mesmo pela obstrução dos sistemas de filtração.

Diante dessa realidade há uma necessidade de métodos analíticos mais confiáveis para caracterizar e monitorar este tipo de resíduos, devido ao aumento da preocupação e das exigências legais. O rápido avanço da tecnologia permite desenvolver métodos que requerem menor trabalho manual e produzam resultados mais precisos e exatos.

2. REVISÃO DE BIBLIOGRAFIA

2.1 CLASSIFICAÇÃO DE RESÍDUOS SÓLIDOS

Após a revolução industrial, a urbanização se intensificou em todo o planeta, e, como consequência, o aumento dos resíduos gerados. A sociedade atual é marcada pelo desperdício, da qual uma parte tem acesso às mais altas tecnologias, enquanto parte da população se mantém à margem dos benefícios tecnológicos do desenvolvimento e em condições mínimas de subsistência (Schramm, 1992).

Diante de questões como essas, surgiu no Brasil em 29 de outubro de 2002 a resolução CONAMA nº 313 (CONAMA, Resolução nº 313 de 29 de outubro de 2002), a qual dispõe sobre o Inventário Nacional de Resíduos Sólidos Industriais, como parte do processo de licenciamento ambiental; esse inventário deve descrever desde a geração à destinação final. Em 02 de agosto de 2010 é instituída pela lei nº 12.305 a Política Nacional de Resíduos Sólidos (BRASIL, Lei n. 12.305 de 2 de agosto de 2010).

Para a ABNT NBR 10.004, 2004, p. 1, resíduo sólido pode ser definido por: Resíduo no estado sólido e semi-sólido, que resulta de origem industrial, doméstica, hospitalar, comercial, agrícola, de serviço e de varrição. Ficam incluídos nesta definição os lodos provenientes de sistemas de tratamento de água, aqueles gerados em equipamentos e instalações de controle de poluição, bem como determinados líquidos cujas particularidades tornam inviável o seu lançamento na rede pública de esgoto ou corpos de água, ou exijam para isso solução técnica e economicamente inviável em face à melhor tecnologia disponível.

Em cumprimento ao CONAMA nº 313, os resíduos sólidos devem ser classificados de acordo com sua periculosidade ao meio ambiente e à saúde pública, de modo a poderem ser transportados, armazenados e tratados de modo adequado (CONAMA, Resolução nº 313 de 29 de outubro de 2002).

Os resíduos sólidos no Brasil devem ser classificados empregando o método descrito pela ABNT 10.004 que é equivalente aos descritos pelo USEPA SW-846 para essa finalidade (ABNT, 2004a), podendo ser classificados entre uma das seguintes classes (ABNT, 2004a):

- Resíduos classe I - Perigoso: quando apresentam periculosidade ao meio ambiente ou à sociedade, ou serem inflamáveis, corrosivos, reativos, tóxicos ou patogênicos.

- Resíduos classe II - Não perigoso: quando não puderem ser classificados como perigosos, e apresentam a seguinte subclassificação:

- Resíduos Classe II A - Não Inerte: aqueles que possuem biodegradabilidade, combustibilidade ou solubilidade em água.

- Resíduos Classe II B - Inerte: Quando não tiverem nenhum de seus constituintes solubilizados a concentrações superiores às permitidas para água potável, com exceção de aspecto, cor, turbidez, dureza e sabor.

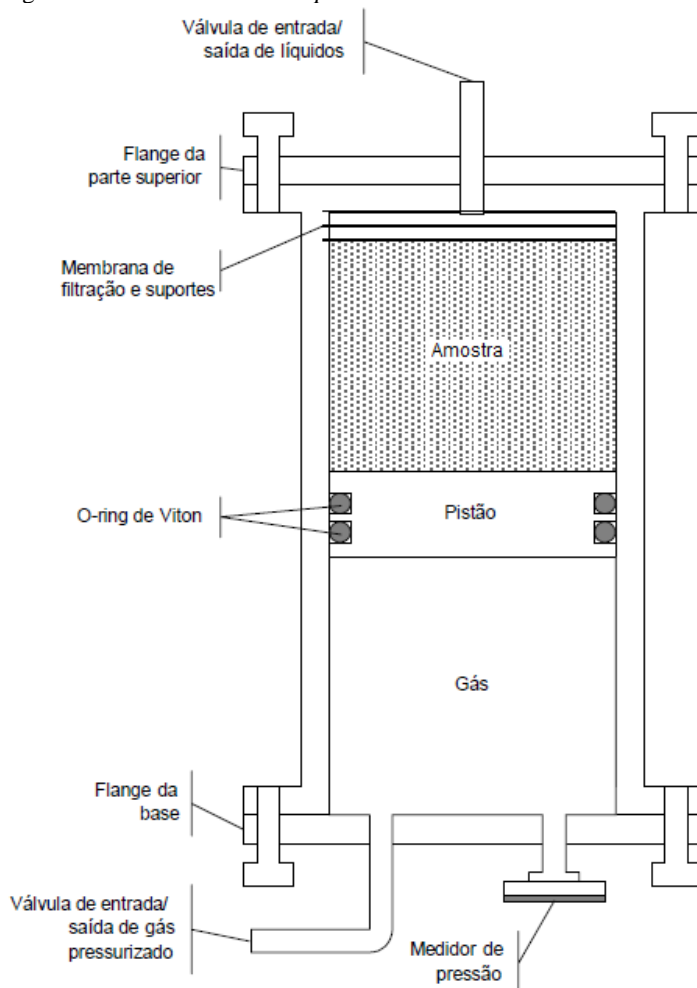
Para a classificação, deve-se realizar as determinações de inflamabilidade, corrosividade e reatividade no próprio resíduo sólido e toxicidade no extrato lixiviado. A diferenciação entre as classes II A e B é realizada por ensaios no extrato solubilizado. A ABNT descreve, ainda, como devem ser realizadas as amostragens dos resíduos, quais os valores máximos permitidos dos constituintes para classificação dos resíduos sólidos, bem como são obtidos os extratos lixiviado e solubilizado (ABNT, 2004a; ABNT, 2004b; ABNT, 2004c; ABNT, 2004d).

2.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

A obtenção dos extratos lixiviados e solubilizados deve ser realizada de acordo com as ABNT NBR 10.005 e 10.006 de 2004, respectivamente, pelo seguinte procedimento.

2.2.1 Extrato Lixiviado

Para a obtenção do extrato lixiviado se emprega a norma ABNT NBR 10.005 que é equivalente ao Método USEPA 1311 do SW-846. Para esse procedimento de extração de compostos orgânicos voláteis, a norma indica o extrator *Zero Headspace Extractor*, ZHE, Figura 1. Esse tipo de extrator é o recomendado para tal tipo de ensaio por minimizar as perdas de compostos orgânicos voláteis por volatilização, uma vez que durante o período de obtenção do extrato em questão a amostra fica acondicionada em um ambiente pressurizado isento de fase gasosa (ABNT, 2004b) (USEPA, 1992).

Figura 1 - Extrator *Zero Headspace Extractor*.

Fonte: ABNT, 2004b.

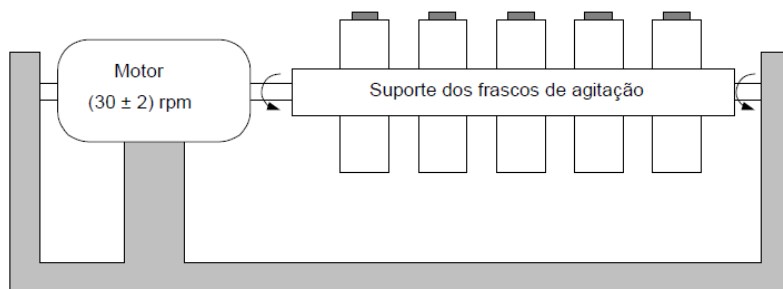
Considerando um resíduo com teor de sólidos igual a 100%, deve-se inicialmente pré-ajustar o pistão móvel do extrator de modo a deixar um volume aproximado ao necessário para 25 g de amostra e 500 mL de solução extratora, composta de ácido acético glacial e com pH ajustado para $4,93 \pm 0,05$, previamente refrigerada a 4 ± 2 °C (ABNT,

2004b). O ajuste do pH se deve para simular o chorume dos aterros sanitários.

Na sequência, é inserida uma membrana de filtração ($0,6 \mu\text{m}$ a $0,8 \mu\text{m}$) entre seus suportes na parte superior do extrator e é feita a vedação do mesmo. Posteriormente é pressurizado com a válvula de líquidos abertas de modo a mover o pistão e remover todo ar existente sobre a amostra. A válvula é fechada e aplicada uma pressão de 35 kPa a 70 kPa ao sistema (ABNT, 2004b).

O extrator é posto sob agitação rotatória conforme a Figura 2 por 18 ± 2 h a 30 ± 2 rpm a uma temperatura de 23 ± 2 °C (ABNT, 2004b).

Figura 2 - Sistema de agitação do extrator *Zero Headspace Extractor*.



Fonte: ABNT, 2004b

Ao fim deste período, a amostra é filtrada e removida pela válvula de saída de líquidos; este extrato é submetido aos métodos descritos pela USEPA para análise dos analitos de interesse, bem como pela técnica de HS-GC-MS para compostos voláteis. Para amostras com teor de sólidos diferentes de 100% este procedimento sofre pequenas alterações e a amostra deve ser submetida a uma filtração inicial antes de ser adicionada ao extrator ZHE (ABNT, 2004b).

Quando se tenta realizar este procedimento para resíduos sólidos pastosos, como por exemplo algumas borras oleosas, percebe-se que ao se filtrar essas amostras na obtenção dos extratos, o papel filtro é obstruído tanto na etapa inicial requerida para amostras com teor de sólidos diferente de 100%, quanto na etapa final após agitação, tornando, dessa forma, as metodologias da ABNT inadequadas para este tipo de resíduo (FRENA, MADUREIRA, & TONIETTO, 2013).

No procedimento de extração para compostos não voláteis, a utilização do ZHE não é necessária, assim como que, para esses analitos

a escolha da solução extratora é dependente do pH do resíduo. (ABNT, 2004a).

2.2.2 Extrato Solubilizado

Caso no extrato lixiviado não for detectado compostos com concentração acima do máximo permitido pela classificação, o que resulta em um resíduo tipo II, deve-se analisar o extrato solubilizado do resíduo para classificar em tipo II A ou II B (ABNT, 2004a).

Outro preparo de amostras para análise de resíduos sólidos é através do extrato solubilizado, no qual o procedimento é mais simples: pesa-se 250 g (base seca) de amostra triturada com partículas menores que 9,5 mm em um béquer de 1500 mL, adiciona-se 1000 mL de água e agita-se por 5 minutos, deixando-se em repouso por 7 dias a 25°C com o béquer tampado com filme de PVC. Após este período é filtrada a mistura em filtro 0,45 µm a fim de separar a amostra do extrato (ABNT, 2004c). O extrato é, então, submetido às vias clássicas de quantificação dos analitos, que neste extrato normalmente se quantifica os analitos não voláteis.

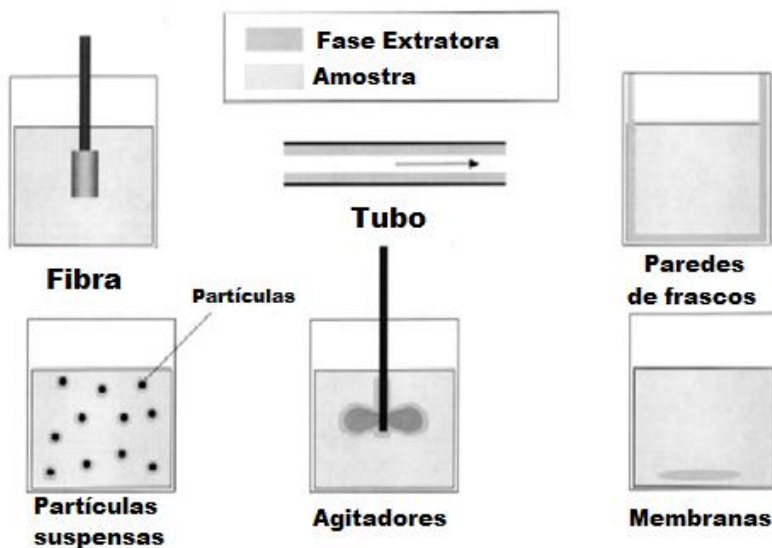
Algumas das mesmas dificuldades em realizar as filtrações do extrato obtido de resíduos sólidos pastosos também são encontradas na obtenção deste extrato, mas de maneira minimizada. Deste modo, a micro extração em fase sólida pode ser uma das possibilidades de contornar essas dificuldades de matrizes complexas.

2.3 MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA

A microextração em fase sólida foi desenvolvida para suprir a necessidade de preparos rápidos de amostras, necessitando pequenas quantidades de amostras. Baseia-se na partição dos analitos entre a matriz da amostra e um componente extrator que recobre uma superfície, podendo ser um polímero sólido ou líquido de elevada viscosidade. Dentre os tipos de microextração em fase sólida pode se destacar as extrações realizadas nas seguintes fases: fibras (Hashemi, Zohrabi, & Shamsipur, 2018), agitador (Marsol-Vall, Balcells, Eras, & Canela-

Garayoa, 2018), tubo (Laaks, Jochmann, Schilling, Molt, & Schmidt, 2014), disco (Janoschek, Grozdev, & Berensmeier, 2018), partículas em suspensão (Islas, Ibarra, Hernandez, Miranda, & Cepeda, 2017) e paredes de frasco (Lord & Pawliszyn, 2000), como representado na Figura 3.

Figura 3 - Exemplos de fases empregadas na técnica de micro extrações em fase sólida.



Fonte: Adaptado de LORD e PAWLISZYN, 2000.

Cada tipo de SPME é mais indicado para alguma aplicação. Os tubos de SPME, por exemplo, apresentam grande aplicação para amostragem de amostras gasosas, monitoramento de área contaminadas em solo, entre outras. Parede de frascos, membranas, agitadores e partículas suspensas, para amostras líquidas com analitos de interesses pouco voláteis. As fibras, por sua vez, apresentam vasta aplicação em amostras líquidas e sólidas, com elevadas concentrações ou traços de contaminantes.

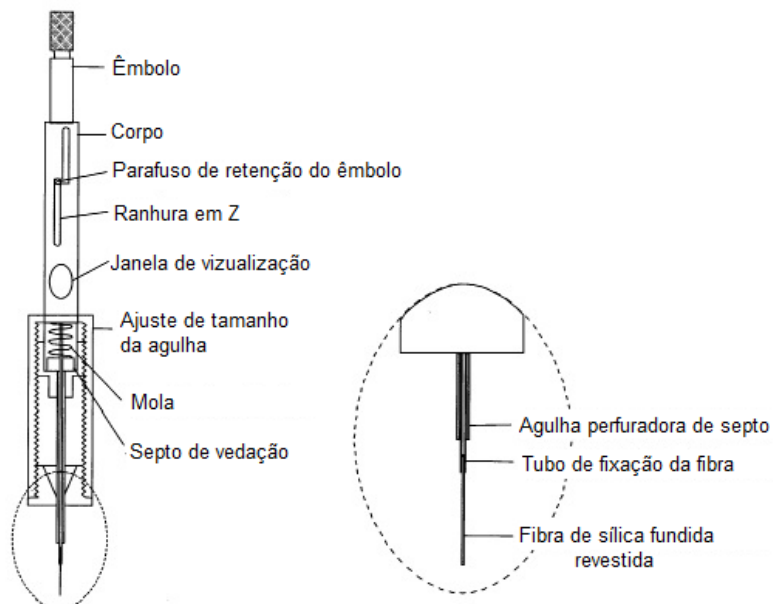
Em 1990 Arthur e Pawliszyn publicaram o primeiro artigo tratando da técnica de extração de SPME em fibras, no qual o componente extrator fica impregnado sobre a superfície de uma fibra de sílica fundida (Arthur & Pawliszyn, 1990). A SPME em fibras se torna interessante ao se comparar com as outras fases empregadas para extração, pois nas fibras se pode dessorver termicamente os analitos no próprio injetor de um

cromatógrafo a gás, simplificando o método de preparo (Zgola-Grzeškowiak & Grzeškowiak, 2011).

Esta técnica de extração apresenta vantagens sobre a extração em fase sólida por cartuchos (SPE), pois geralmente se emprega uma menor quantidade de amostra, as fases extratoras não são descartáveis e a dessorção térmica pode ser empregada diferentemente do SPE, onde deve ser realizada a dessorção com solventes, tornando o SPME uma técnica ambientalmente amigável (Zgola-Grzeškowiak & Grzeškowiak, 2011). Esta técnica é enquadrada nos parâmetros da química analítica verde, os quais envolvem métodos que o uso de solvente e a geração de resíduos sejam minimizadas (Koel & Kaljurand, 2006; Tobiszewsk & Namies, 2012).

O esquema de um sistema de SPME, representado na Figura 4, consiste em um suporte similar a uma seringa no qual é fixado a fibra recoberta com a fase extratora. Há opções para injeções manuais ou via autoamostradores de GC.

Figura 4 - Esquema do sistema de SPME manual utilizando fibra.



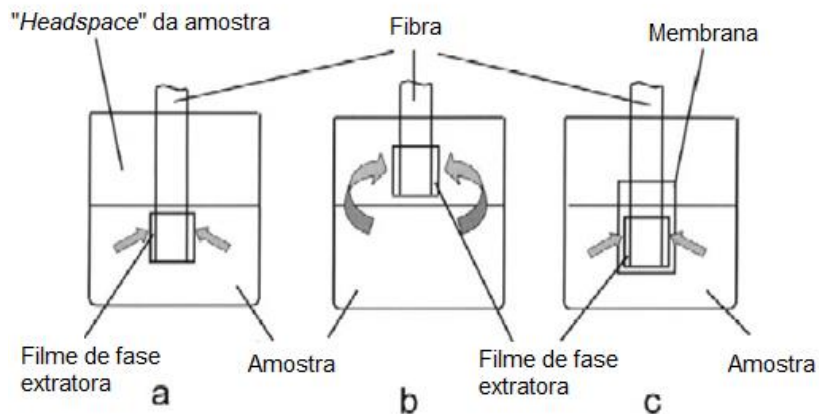
Fonte: Adaptado de LORD e PAWLISZYN, 2000.

Diversos são os modelos de fibras comerciais disponíveis, variando material dos suportes, espessura de filme de 7 μm a 100 μm , fase extratora que pode ser polar, apolar ou bipolares formadas por dois ou três revestimentos distintos. Sendo assim, apresentam aplicações distintas e cada modelo de fibra apresenta uma faixa operacional de temperatura e pH recomendadas pelo fabricante (Reyes-Garcés, Gionfriddo, Gómez-Ríos, & Alam, 2018).

O SPME pode ser classificado em três tipos, de acordo com o modo de extração: Imersão direta, DI (*Direct Immersion*), que consiste em deixar a fibra imersa na amostra, normalmente usados para extração de compostos de baixa volatilidade e matrizes com baixo teor de interferentes; HS (*Headspace*), na qual a fibra fica sobre a amostra extraíndo desta maneira compostos de alta volatilidade e com matrizes com elevado teor de interferentes; Proteção com membrana (*membrane-protected*), por sua vez, a fibra fica imersa na amostra mas sem contato direto, fazendo com que possibilite a extração de compostos de baixa volatilidade em amostras com elevado teor de interferentes não voláteis (Stenerson, Young, Shirey, Chen, & Sidisky, 2016), conforme Figura 5,

assim como com trabalhos empregando combinação de DI e HS em uma mesma extração (Merib, Yu, Carasek, & Anderson, 2016).

Figura 5 - Modos de extração empregando SPME. (a) DI-SPME, (b) HS-SPME, (c) proteção com membrana SPME



Fonte: Adaptado de LORD e PAWLISZYN, 2000.

Os métodos envolvendo SPME atualmente estão sendo aplicados em diversas áreas e finalidades, como na área farmacêutica (Raghani, 2002), na qual as fibras são utilizadas para análise de impurezas em produtos como solventes e pequenas moléculas, assim como na determinação de drogas de abuso (Degel, 1996) em análises toxicológicas. Além das mais diversas matrizes ambientais, também para análise de compostos orgânicos voláteis, entre eles os clorobenzenos (Ouyang & Jiang, Solid Phase Microextraction, 2017; Moodley, Chetty, Ramphal, & Gericke, 2013).

As fibras de SPME apresentam potencial em ensaios de produtos naturais, alimentos, bebidas e nas mais diversas matrizes, em análises desde rotineiras de compostos voláteis, semi-voláteis, resíduos de pesticidas, metabólitos e até estudos sensoriais (Ahmed, 2001; Luckow & Delahunty, 2004; Ouyang & Jiang, Solid Phase Microextraction, 2017).

As aplicações ambientais são crescentes em métodos de análise em águas, efluentes (Domínguez, Arrebola, Gavara, Vidal, & Frenich, 2018), solos (Orazbayeva, Kenessov, Koziel, Nassyrova, & Lyabukhova, 2017), resíduos sólidos (Mendes, et al., 2018), qualidade do ar e emissões atmosféricas (Barreira, 2017). Nestas mais diversas matrizes, vêm sendo aplicadas para a quantificação de diversas classes de contaminantes, como

compostos voláteis halogenados e não halogenados, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, pesticidas clorados e fosforados, derivados fenólicos, entre outras classes de compostos (Ouyang & Pawliszyn, SPME in environmental analysis, 2006; Valente & Augusto, 2000).

2.3.1 Equilíbrio de extração em SPME

O equilíbrio existente no sistema de extração de DI-SPME se dá de acordo com a Equação 1, na qual se verifica que a quantidade de analito extraído pela fibra está diretamente proporcional à concentração inicial na amostra e interligado ao volume de amostras, componente extrator e o coeficiente de partição (Ouyang & Pawliszyn, SPME in environmental analysis, 2006).

$$\text{Equação 1 - } n = \frac{K_{fs}V_fV_s}{K_{fs}V_f+V_s}C_0$$

Onde:

n = número de mols do analito extraído (mol);

K_{fs} = coeficiente de partição do analito entre amostra e fibra;

V_f = volume do revestimento da fibra (L);

V_s = volume da amostra (L);

C_0 = concentração do analito (mol L^{-1}).

A técnica do SPME é um método não exaustivo de extração, ou seja, somente uma parte dos analitos são extraídos da amostra, diferente dos métodos clássicos de extração em que a extração é exaustiva. A Equação 1 pode ser simplificada quando $V_s \gg K_{fs}V_f$ para a Equação 2, na qual podemos perceber que o volume de amostra não interfere na quantidade do analito extraído, diminuindo assim uma das fontes de erro dos métodos clássicos quando a extração for não exaustiva (Ouyang & Pawliszyn, SPME in environmental analysis, 2006).

$$\text{Equação 2 - } n = K_{fs}V_fC_0$$

A técnica também pode ser utilizada de modo a se obter uma extração exaustiva, empregando uma quantidade muito pequena de amostra. Nestas condições, tem-se $V_s \ll K_{fs}V_f$ e com isso simplificando a equação inicial, chega-se à Equação 3, na qual a quantidade de analito extraído é diretamente proporcional ao volume de amostra e à

concentração inicial (Reyes-Garcés, Gionfriddo, Gómez-Ríos, & Alam, 2018).

$$\text{Equação 3 - } n = V_s C_0$$

Levando em consideração que os sistemas são mais complexos e que há *headspace*, a equação inicial se modifica para a Equação 4, na qual se adiciona as constantes de partição entre amostra e *headspace* (Pawliszyn, 2012). Esta equação pode ser aplicada para quase todos os sistemas em que o frasco com amostra não esteja completamente cheio e que a volatilidade seja um parâmetro não desprezível.

$$\text{Equação 4 - } n = \frac{K_{fs} V_f V_s}{K_{fs} V_f + K_{hs} V_h + V_s} C_0$$

Onde:

K_{hs} = coeficiente de partição entre *headspace* e amostra;

V_h = Volume de *headspace* (L).

Para Pawliszyn, desta forma, a posição onde se encontra a fibra, seja no *headspace* ou imersa na amostra se aplica as mesmas constantes de equilíbrio, desde que o volume da fibra, *headspace* e amostra forem constantes (Reyes-Garcés, Gionfriddo, Gómez-Ríos, & Alam, 2018).

2.3.2 Aspectos Cinéticos

No modo direto com agitação o tempo necessário para se atingir o equilíbrio, t_e , depende da espessura do filme da fibra, L_f , e do coeficiente de difusão do analito na fase extratora D_f , conforme Equação 5 (Pawliszyn, 2012).

$$\text{Equação 5 - } t_e = \frac{L_f^2}{2D_f}$$

O aumento da espessura de recobrimento eleva a quantidade de analito retido na fibra, de acordo com a Equação 2 simplificada, mas exige maiores tempos de extrações. Temperatura de extração e agitação da amostra devem ser cuidadosamente avaliados, a fim de otimizar o coeficiente de difusão do analito na fase extratora, uma vez que

influenciam tanto no equilíbrio quanto na cinética de extração (Pawliszyn, 2012).

Ao se utilizar a técnica no modo *headspace* a Equação 6 expressa o tempo necessário para equilíbrio.

$$\text{Equação 6 - } t_e = 1,8 \left(\frac{L_h}{K_{hs}D_h} + \frac{L_s}{1,6D_s} \right) K_{fs}L_f$$

Onde:

L_h = Espessura do *headspace*;

L_s = Espessura da amostra;

L_f = Espessura do filme da fibra;

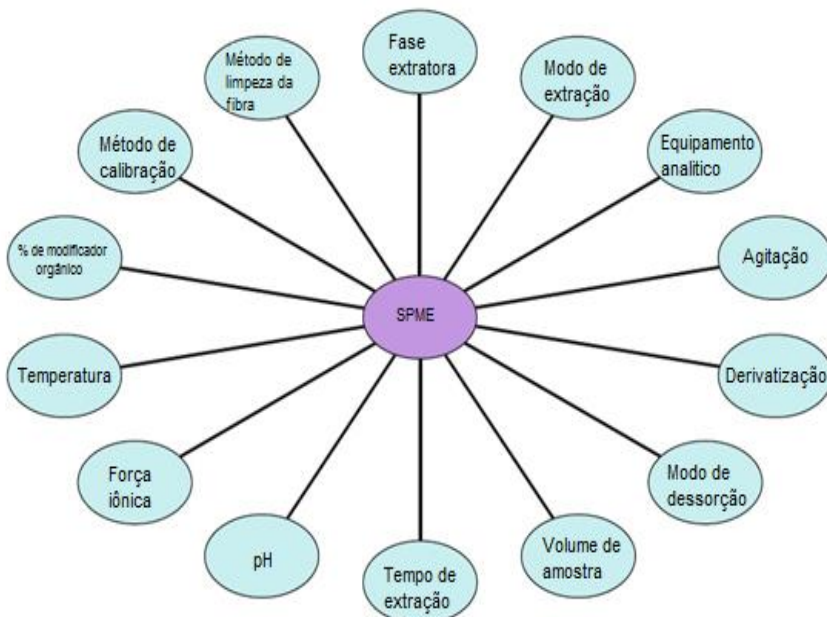
D_h = Coeficiente de difusão do analito no *headspace*;

D_s = Coeficiente de difusão do analito na amostra.

2.3.3 Parâmetros na extração que afetam a SPME

Diversos são os fatores que afetam a eficiência de um método empregando SPME, alguns estão demonstrados na Figura 6.

Figura 6 - Fatores que afetam o SPME.



Fonte: Adaptado de KUDLEJOVA, RISTICEVIC e VUCKOVIC, (2012)

Na implementação de métodos por SPME a otimização do método é uma das etapas principais para obter uma maior eficiência de extração e garantia da reprodutibilidade. Além disso, a correta otimização proporciona uma melhoria na sensibilidade, repetitividade e exatidão. Diante disso, neste trabalho se pretende avaliar os seguintes parâmetros: fase extratora, agitação, dessorção, tempo de extração e temperatura.

Dentre os principais parâmetros que afetam esse método temos:

2.3.3.1 Temperatura

Elevando a temperatura de extração do ponto de vista cinético há uma melhoria significativa na redução do tempo de equilíbrio do sistema por elevar o coeficiente de difusão dos analitos na matriz. Além disso, espera-se que este incremento ocasione um aumento da concentração dos analitos no *headspace*; se utilizar o SPME no modo DI pode ser um efeito negativo, mas no modo HS, um efeito positivo (Pawliszyn, 2012).

A elevação da temperatura, por outro lado, reduz o coeficiente de partição do analito entre a fibra e a amostra, ou seja, reduz a capacidade da fibra de adsorver os analitos desejados reduzindo a sensibilidade do método (Pawliszyn, 2012).

2.3.3.2 *pH*

Outro parâmetro que afeta o método é o pH, pois as fibras de SPME têm a capacidade de extrair compostos em sua forma não dissociada, sendo assim o pH influencia ao se realizar a método para analitos ácidos e básico, otimizando assim a constante de dissociação destas espécies, de modo a se obter predominantemente a espécie não dissociada (Pawliszyn, 2012).

Desta forma, quanto maior a quantidade de analito neutro adsorvido pela fibra, maior será a sensibilidade do método. Para isso, as substâncias ácidas, por exemplo, devem ser extraídas a um pH de duas unidades menor que o pK dos analitos de interesse, ou seja, do ponto de intersecção das duas curvas apresentadas no gráfico, de modo que a solução apresente uma concentração de analito predominantemente não ionizado (Pawliszyn, 2012).

2.3.3.3 *Força iônica*

Outro ponto importante é a adição de sal para se modificar a força iônica da matriz elevando ou diminuindo a quantidade de analito extraído, dependente da concentração de sal adicionada e da polaridade dos analitos. Similar ao percebido na técnica de extração líquido-líquido (Andrade-Eiroa, Canle, Leroy-Cancellieri, & Cerdá, 2016).

O efeito esperado é que ao se variar a concentração de sal adicionado na matriz se altere a solubilidade de certos analitos no meio, fazendo com que uma maior quantidade destes passem para uma outra fase, por exemplo, para *headspace*, aumentando assim a quantidade extraída e consequentemente a sensibilidade do método (Andrade-Eiroa, Canle, Leroy-Cancellieri, & Cerdá, 2016).

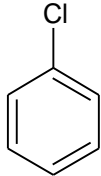
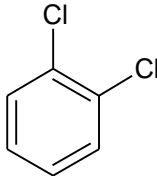
A adição de sal pode elevar ou diminuir a quantidade de analito extraído, dependendo da matriz, analito e modo de operação. Pode-se empregar também a saturação da matriz para duas finalidades, uma delas em análise com limites de quantificação muito baixo e outra para minimizar as variações em matrizes com concentrações de sal natural muito variadas (Andrade-Eiroa, Canle, Leroy-Cancellieri, & Cerdá,

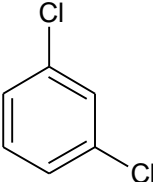
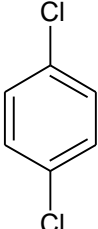
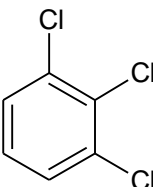
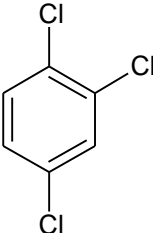
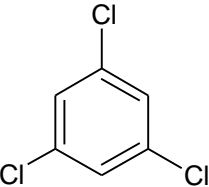
2016). Por mais importante que seja, não irá ser estudado no trabalho, para seguir a solução extratora descrita pela ANBT 10.005, de modo a não descaracterizar o objetivo da norma em questão.

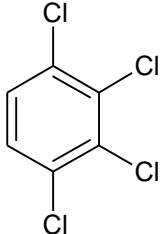
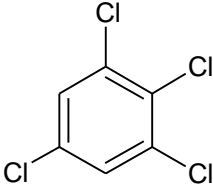
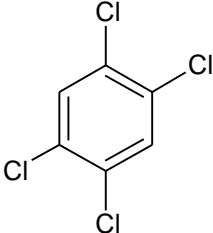
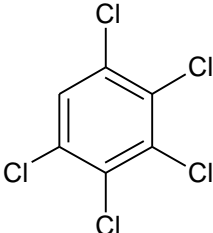
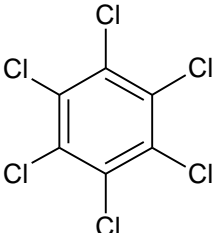
2.4 DERIVADOS DE BENZENOS

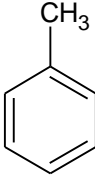
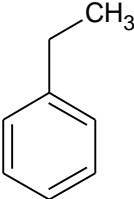
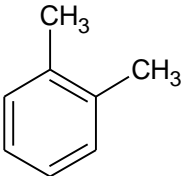
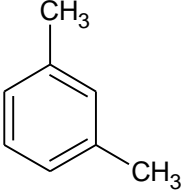
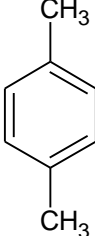
Dentre os poluentes orgânicos persistentes (POPs), que são os compostos que apresentam um grande tempo de meia vida, que bioacumulam no meio ambiente, alimentos e que geram danos ao ser humano, da Agencia de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA), encontram-se os clorobenzenos e os hidrocarbonetos aromáticos representados na Tabela 1. Muitos destes compostos bioacumulam e são conhecidos por serem carcinogênicos e extremamente perigosos a saúde. (USEPA (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY), 1987) A exposição excessiva a estes compostos causam danos ao sistema nervoso central, irritação na pele e trato respiratório superior.

Tabela 1 - Estruturas e propriedades dos derivados de benzenos.

Composto	Estrutura	LogP	Ponto de Ebulição (°C)	Pressão de vapor (mmHg a 25°C)
Clorobenzeno		2,84	132	8,78
1,2-Diclorobenzeno		3,43	180	1,20

1,3- Diclorobenzeno		3,53	173	2,15
1,4- Diclorobenzeno		3,44	174	1,28
1,2,3- Triclorobenzeno		4,05	218	0,21
1,2,4- Triclorobenzeno		4,02	213	0,30
1,3,5- Triclorobenzeno		4,19	208	0,24

1,2,3,4- Tetraclorobenzeno		4,64	254	0,039
1,2,3,5- Tetraclorobenzeno		4,66	246	0,073
1,2,4,5- Tetraclorobenzeno		4,60	244	0,005
Pentaclorobenzeno		5,18	277	0,002
Hexaclorobenzeno		5,73	325	0,001

Tolueno		2,73	111	28,50
Etilbenzeno		3,15	136	9,60
<i>o</i> -Xileno		3,12	144	7,00
<i>m</i> -Xileno		3,20	139	6,00
<i>p</i> -Xileno		3,15	138	6,75

Através da solubilidade em água e óleo e pela volatilidade é possível determinar a mobilidade de compostos no meio. Ao se analisar as propriedades físico-químicas dos clorobenzenos é possível verificar que a solubilidade em água é relativamente elevada se comparada com outros compostos orgânicos e pela toxicidade ao meio ambiente. Ao sorver no solo e resíduos sólidos a volatilidade é reduzida assim como a mobilidade, ocorrendo deposição e acumulação destes compostos nestes meios (Kin, 2008).

Os clorobenzenos são encontrados nos mais diversos ramos industriais como processo produtivo de agrotóxicos, de corantes têxteis, borracha, indústria automotiva e metal mecânica, na produção de plastificantes, óleos aditivos, fluídos dielétricos e processos de craqueamento e vários processos de combustão, entre outros processos (Euro Chlor, 2002; Meek, Giddings, & Gomes, Monochlorobenzene: Evaluation of risks to health from environmental exposure in Canada, 1994; Meek, Giddings, & Gomes, 1,2-Dichlorobenzene: Evaluation of risks to health from environmental exposure in Canada, 1994; Lahaniatis, Roas, Bieniek, W., & Korte, 1981; Grosjean, 1991). Assim, a presença de clorobenzenos no meio ambiente é proveniente de diversas rotas e nas mais diversas matrizes, onde são regulamentados quanto aos seus limites máximos.

Vários são os métodos analíticos que empregam cromatografia a gás com diferentes detectores para suas quantificações, por exemplo, por captura de elétrons ou espectrometria de massas, além de várias técnicas de preparo de amostra. Em águas, a determinação pode ser via *headspace* estático ou que envolvam pré-concentração dos analitos em matriz orgânica como *purge and trap*, extração líquido-líquido, extração em fase sólida ou microextração em fase sólida (Moodley, Chetty, Ramphal, & Gericke, 2013).

Muitos são os trabalhos que utilizam SPME para determinar essa classe de compostos em águas e solos. Dois trabalhos envolvendo a quantificação dos compostos de interesse em água mostram um comparativo utilizando diferentes fibras, polidimetilsiloxano (PDMS) de 100 μm e poliacrilato (PA) de 85 μm , sendo um dos trabalhos no modo HS-SPME e outro no DI-SPME e apresentaram resultados distintos, sendo que no método via HS-SPME a fibra que apresentou melhores resultados foi a de PA nas condições de extração de 80 °C de temperatura de extração e 1h de exposição da fibra (Fromberg, et al., 1996); já no método DI-SPME, a melhor fibra foi a de PDMS. No estudo não foi

descrito a temperatura de extração, somente o tempo empregado de 30 min (Moodley, Chetty, Ramphal, & Gericke, 2013). Ambos obtiveram um método validado quanto às figuras de mérito repetibilidade, recuperação e limites de quantificação dos compostos.

O comparativo dos métodos de HS-SPME foi com fibras de PDMS com filme de 100 μm e 7 μm , na determinação de clorobenzenos em matriz solo. As condições empregadas foram 30 °C como temperatura de extração e 50 min de exposição da fibra. Um dos critérios de escolha da fibra empregada foi a precisão do método, cujos melhores RSD foram obtidos para a fibra de PDMS com filme de 100 μm que apresentou resultados de RSD entre 2 e 8 % (Sarrión, Santos, & Galceran, 1998).

Diante do elevado tempo de preparo de amostras requeridos pelas normas ABNT NBR, da quantidade de amostra empregada e o uso excessivo de solvente nas etapas de preparo de amostras, é importante o desenvolvimento de métodos mais avançado que otimizem esses processos demandando menor tempo, quantidade de amostra e uso de solvente para matrizes complexas. Pretende-se, desta forma, desenvolver um método alternativo para a classificação de resíduos sólidos quanto aos voláteis exigidos pela ABNT NBR 10.004 para o extrato lixiviado.

2.5 VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO

A validação de método analítico “é a confirmação por exame e fornecimento de evidência objetiva de que os requisitos específicos para um determinado uso pretendido são atendidos” (ABNT, 2005).

Na validação deve ser demonstrado o desempenho nas figuras de mérito ou parâmetro de desempenho, seletividade, linearidade, faixa de trabalho, faixa linear de trabalho, sensibilidade, limite de detecção, limite de quantificação, recuperação, repetibilidade e robustez, cuja última é opcional (INMETRO, 2018).

2.5.1 Seletividade

É a capacidade de um método mensurar o analito na presença de outros analitos, matriz ou material que possa interferir no ensaio. Nesta figura de mérito, deve-se verificar qual efeito que a matriz tem sobre os

analitos ou se um analito interfere no outro. Muitas vezes, quando a seletividade não é assegurada, a linearidade, a recuperação e a precisão estarão comprometidas (INMETRO, 2018).

Ensaios que utilizam como sistema de detecção o espectrômetro de massas acoplado a um cromatógrafo normalmente apresentam uma elevada seletividade por conseguir separar os analitos e filtrar um ou mais fragmentos de interesse de uma molécula para sua quantificação.

2.5.2 Linearidade

Outro parâmetro de avaliação é a linearidade, a qual demonstra se um método analítico que empregue curva de calibração apresenta uma função que descreva a relação existente entre sinal analítico obtido pelo método e concentração de analito na solução em uma faixa de concentração conhecida (INMETRO, 2018).

2.5.3 Faixa de trabalho

A figura de mérito faixa de trabalho pode ser definida como “o intervalo entre a menor concentração e a maior concentração de analito na amostra para o qual se demonstrou que o procedimento analítico tem um nível aceitável de precisão, exatidão e linearidade” (INMETRO, 2018).

O limite inferior da faixa de trabalho é o limite de quantificação do método, e o superior é a maior concentração empregada na construção da curva analítica.

2.5.4 Faixa linear de trabalho

Esse parâmetro é definido pela curva analítica e pode ser definido como “a faixa de concentração do analito em que os resultados do método são proporcionais à concentração do analito” (INMETRO,

2018), ou seja, a faixa em que a linearidade é verdadeira, isto é, a faixa da menor até a maior concentração usada na construção da curva analítica.

2.5.5 Sensibilidade

Sensibilidade analítica, é avaliada somente nos métodos cuja curva de calibração é representada por um modelo matemático linear, cuja sensibilidade é o coeficiente angular, ou seja, a inclinação da curva analítica (INMETRO, 2018). Desta forma se pode observar que quanto maior a sensibilidade de um método maior será a variação do sinal analítico para uma variação de concentração.

2.5.6 Limite de detecção

A menor quantidade de analito que o método, sob condições normais, fornece sinal proveniente do analito na amostra, com dada certeza, que se difere do ruído sem necessariamente quantificar, é denominada de limite de detecção (LD) (INMETRO, 2018). Para se determinar o limite de detecção de um método existem vários modos, que dentre eles os mais comuns são:

Através da relação sinal/ruído, que é determinada pela relação dos sinais medidos em amostras com concentração conhecida e em amostra isenta do analito. Essa relação para o limite de detecção deve ser no mínimo de 3:1 ou 2:1.

Outro modo de determinar o limite de detecção é a partir de 7 leituras de uma amostra sem o analito, empregando a equação abaixo (INMETRO, 2018):

$$\text{Equação 7 - } LD = \bar{X} + t_{(n-1,1-\alpha)} Sd$$

Onde:

LD = Limite de Detecção;

\bar{X} = Médias das leituras de branco;

$t_{(n-1,1-\alpha)}$ = Abscissa da distribuição de Student, de acordo com o grau de confiança e tamanho da amostragem;

Sd = Desvio padrão amostral das leituras.

Sendo um modo que necessita da média e desvio padrão das leituras de branco, somente se aplica a métodos em que o branco quantifique alguma quantidade e que ela tenha alguma variação. Caso contrário pode ser realizado contaminando uma amostra com uma concentração conhecida mínima, de modo que se possa obter um resultado com desvio padrão. Nessa situação se deve adotar como média o valor zero, empregando somente o desvio padrão (INMETRO, 2018).

2.5.7 Limite de quantificação

A concentração mais baixa de analito que pode ser quantificado por um método com a devida exatidão e precisão é denominado de limite de quantificação (LQ) que normalmente é a concentração do menor padrão empregado na construção da calibração do método (INMETRO, 2018).

Dentre os diversos modos de se validar essa figura de mérito em métodos cromatográficos, pode-se destacar:

Através da relação sinal/ruído, na qual a razão entre o sinal do analito em uma amostra de baixa concentração (limite de quantificação desejado) e em um branco deve ser superior a 10:1, verificando os ruídos na mesma região (INMETRO, 2018).

Em métodos cuja curva analítica segue um modelo matemático linear, pode-se estimar o limite de quantificação determinando o desvio padrão de um branco ou do ponto mais baixo da curva e utilizando a equação abaixo:

$$\text{Equação 8 - } LQ = 10 \frac{s}{a}$$

Onde:

s : é o desvio padrão do branco ou padrão de menor concentração;

a : Coeficiente angular da curva analítica.

A validação dessa figura de mérito pode também ser avaliada em termos de repetibilidade e exatidão.

2.5.8 Tendência/Recuperação

De modo a demonstrar a exatidão de um método analítico, a figura de mérito tendência será empregada. Os modos podem ser pelo uso de materiais de referência e certificado (MRC) ou ensaios de recuperação de amostras fortificadas (INMETRO, 2018).

Quando se possuir material de referência e certificado da matriz adequada e com os certificados da *ISO GUIDE 34*, deve ser feito o ensaio com essas misturas e avaliar o erro relativo do método a ser validado. Os critérios de aceitação para esse modo de validação, devem ser os definidos pelo certificado do material de referência e certificado, ou quando não expresso pelo mesmo, devem ser definidos erros relativos máximos pelo próprio laboratório (INMETRO, 2018).

Por outro lado, quando não há material de referência e certificado disponível, deve-se realizar ensaios de amostras fortificadas, ou seja, matrizes contaminadas com uma quantidade conhecida de analito. Após os ensaios da amostra não fortificada e fortificada, a recuperação deve ser determinada pela equação abaixo (INMETRO, 2018).

$$\text{Equação 9 - Recuperação (\%)} = \frac{C_1 - C_2}{C_3} \times 100$$

Onde:

C_1 = Concentração do analito na amostra fortificada;

C_2 = Concentração do analito na amostra não fortificada;

C_3 = Concentração do analito adicionado na amostra fortificada.

A *Association of Official Analytical Chemists (AOAC International)* sugere faixas de aceitação para os resultados de recuperações, que devem ficar compreendidas entre as faixas apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Critérios de aceitação sugeridos pela AOAC para recuperação

Analito (%)	Razão do analito	Unidade	Recuperação Média %
100	1	100%	98-102
10	10 ⁻¹	10%	98-102
1	10 ⁻²	1%	97-103
0,1	10 ⁻³	0,1%	95-105
0,01	10 ⁻⁴	100 ppm	90-107
0,001	10 ⁻⁵	10 ppm	80-110
0,0001	10 ⁻⁶	1 ppm	80-110
0,00001	10 ⁻⁷	100 ppb	80-110
0,000001	10 ⁻⁸	10 ppb	60-115
0,0000001	10 ⁻⁹	1 ppb	40-120

Fonte. AOAC, 2012.

Os critérios de recuperação variam de acordo com a concentração na qual o analito se encontra na amostra. É possível também avaliar a exatidão de um método pela comparação com um método de referência.

2.5.9 Repetibilidade

Na avaliação da precisão do método durante a validação, o estudo a ser realizado é de repetibilidade, ou seja, deve ser feito sob mesmo conjunto de condições, isto é, mesmo procedimento de medição, mesmo operador, mesmo sistema de medição, mesma condição de operação e mesmo local. Além das repetições das medidas serem feitas no mesmo objeto e no menor espaço de tempo possível (INMETRO, 2018).

O primeiro modo de avaliar a dispersão das medidas é através do coeficiente de variação, também chamado de desvio padrão relativo (DPR), calculado pela equação abaixo.

$$\text{Equação 10. } \mathbf{DPR} (\%) = \left(\frac{DP}{CMD} \right) \times 100$$

Onde:

DP: Desvio padrão;

CMD: Concentração média determinada.

À obtenção de um resultado confiável, o número de repetições do ensaio deve variar de 6 a 15. É possível que valores calculados a partir de vários pequenos grupos possam ser agrupados para se obter um grau de liberdade aceitável. Deve-se avaliar a repetibilidade em concentrações baixas, médias e alta dentro da faixa de trabalho (INMETRO, 2018).

Crítérios de aceitação do DPR são sugeridos de acordo com a concentração ela AOAC International, conforme Tabela 3.

Tabela 3 - Sugestão de critérios de aceitação para a repetibilidade

Analito (%)	Razão do analito	Unidade	DPR %
100	1	100%	1,3
10	10 ⁻¹	10%	1,9
1	10 ⁻²	1%	2,7
0,1	10 ⁻³	0,1%	3,7
0,01	10 ⁻⁴	100 ppm	5,3
0,001	10 ⁻⁵	10 ppm	7,3
0,0001	10 ⁻⁶	1 ppm	11
0,00001	10 ⁻⁷	100 ppb	15
0,000001	10 ⁻⁸	10 ppb	21
0,0000001	10 ⁻⁹	1 ppb	30

Fonte. AOAC, 2012

Além do desvio padrão relativo pode ser realizado um comparativo entre amplitude máxima dos valores e se determinar o limite de repetibilidade pela equação abaixo:

$$\text{Equação 11. } r = t_{(n-1,1-\alpha)}\sqrt{2} \cdot S_r$$

Onde:

r: limite de repetibilidade;

t: abscissa da distribuição de Student bilateral;

n: número de repetições;

α : grau de liberdade desejado;

S_r: desvio padrão.

Como critério de aceitação para esse método, a amplitude máxima deve ser inferior ao valor determinado pelo limite de repetibilidade do método.

Normalmente os estudos de precisão intermediária, na qual se deve alterar equipamento, analista ou tempo, e reprodutibilidade, estudo realizado entre laboratórios, não são avaliados durante a validação do método e sim durante a rotina analítica. Precisão intermediária é a análise crítica de cartas controles de branco contaminado, conforme exigido pelos métodos de ensaio para monitoramento da qualidade analítica. Reprodutibilidade, por sua, vez é avaliada em participação em rodadas de ensaios de proficiência, ou estudo bilateral entre dois laboratórios.

2.5.10 Robustez

Esta figura de método tem como função avaliar a capacidade de o método não ser afetado por pequenas variações nos parâmetros de execução do método, fornecendo uma maior confiança durante a aplicação rotineira (INMETRO, 2018).

Para essa avaliação se realiza um comparativo entre os resultados obtidos sob as condições normais do ensaio e os resultados obtidos alterando condições. Normalmente se alteram parâmetros como pH da amostra, fluxo da fase móvel no cromatógrafo, pequenas variações de volumes em etapas em que se pode haver um erro deste, temperatura, entre outros, ou via planejamento experimental. Esse estudo auxilia também na identificação das fontes de incerteza do método desenvolvido ou adaptado (INMETRO, 2018).

De acordo com os documentos orientativos de validação de métodos, esse parâmetro não é obrigatório, pois com o avanço tecnológico os equipamentos possuem uma precisão mais elevada, não sendo necessário se avaliar essa figura de mérito (INMETRO, 2018).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um método analítico empregando microextração em fase sólida e GC-MS para a determinação de compostos derivados de benzeno em matrizes de resíduos sólidos provenientes de indústria de óleo e gás natural.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Adaptar método cromatográfico para determinação de compostos derivados de benzeno;
- Otimizar as condições de extração por SPME do método via planejamento experimental empregando superfície resposta;
- Realizar o estudo de validação do método desenvolvido com base nas orientações do DOQ-CGCRE-008 - Revisão 5 do INMETRO;
- Desenvolver um método empregando SPME para determinação de derivados de benzeno nos resíduos sólidos de indústria petroquímica;
- Aplicar o método em amostras de borras oleosas para verificar se as condições do método oferecem uma boa recuperação dos analitos a serem analisados e se as amostras apresentam quantidade superiores aos limites estabelecidos pelas legislações.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 MATERIAIS E REAGENTES

Foram utilizados os seguintes reagentes da marca Sigma-Aldrich: Ácido Acético Glacial, Hidróxido de Sódio, Ácido Clorídrico. A água tipo I empregada no trabalho foi obtida a partir do ultrapurificador Milli-Q Direct 16, da marca Merck.

Solução extratora: em um balão volumétrico de 1000 mL calibrado pela RBC, adicionou-se 5,7 mL de ácido acético glacial a água ultrapura, seguido de 64,3 mL de hidróxido de sódio $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. O pH desta solução foi ajustado para $4,93 \pm 0,05$ com ácido clorídrico ou hidróxido de sódio, ambos $1,0 \text{ mol L}^{-1}$;

As fibras de microextração em fase sólidas empregadas nos experimentos foram: fibra SPME 24 gauge com $100 \mu\text{m}$ de espessura de fase polidimetilsiloxano (PDMS) - Marca Supelco, condicionada por 30 minutos a $250 \text{ }^\circ\text{C}$ no injetor do GC, e fibra de SPME 24 gauge com $85 \mu\text{m}$ de espessura de fase poliacrilato (PA) - Marca Supelco, condicionada por 120 minutos a $300 \text{ }^\circ\text{C}$.

Solução padrão mistura de clorobenzenos com ISO Guia 34, M-8121 $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$, marca AccuStandard;

Solução padrão mistura de voláteis com ISO Guia 34, M-502-10X $2000 \mu\text{g mL}^{-1}$, marca AccuStandard;

Frascos de 20 mL de rosca com tampa e septo para *headspace*.

Os resíduos sólidos foram provenientes de quatro quadrantes da bacia de efluentes de uma indústria de petróleo e gás natural, os quais apresentam uma elevada quantidade de substâncias oleosas e alguns, além da elevada quantidade destes compostos, apresentam resíduos de solos, que estão representados na Figura 7. Os resíduos foram disponibilizados pela indústria em sacos de coleta; ao chegar ao laboratório foram transferidos a tubos falcons de 50 mL, fechados com para filme e acondicionados em freezer a $-18 \text{ }^\circ\text{C}$.

Figura 7 - Resíduos sólidos de borras oleósa avaliadas pelo método



Fonte: o próprio autor.

4.2 EQUIPAMENTOS

Toda infraestrutura empregada neste trabalho foi disponibilizada pelo SENAI, do laboratório de análise instrumental do Instituto SENAI de Tecnologia Ambiental (IST Ambiental), localizado na Rua Harry Pofhal 111, Escola Agrícola, Blumenau-SC.

4.2.1 pHmetro

As aferições de pH foram realizadas empregando o pHmetro HQ411d da marca HACH com sonda de pH Intellical PHC201 de mesma marca, ambos calibrados pela rede brasileira de calibração (RBC) em toda faixa de leitura.

4.2.2 Balança analítica

As pesagens das matrizes e amostras durante a execução dos experimentos foram realizadas empregando uma balança analítica modelo AW220 da Shimadzu, a qual se encontra calibrada pela rede brasileira de calibração (RBC) em pontos que abrangem toda sua faixa de trabalho.

4.2.3 Estufa de secagem

Para todos os experimentos foi utilizada uma estufa da Nova Ética modelo 400/2ND calibrada pela RBC para secagem das vidrarias e remoção dos compostos orgânicos voláteis presentes nas matrizes de resíduo sólido empregadas para os ensaios de otimização, construção de curva e validação.

4.2.4 Repipetador Automático

A fim de se obter uma reprodutibilidade e exatidão maior durante os experimentos, em todas as contaminações das matrizes, foi utilizado o repipetador automático HandyStep eletrônico da marca Brand calibrado pela RBC nos pontos mínimos, médios e máximos de cada ponteira.

4.2.5 Autoamostrador CombiPal

Autoamostrador Combipal de marca CTC foi empregado para realização da etapa de extração via SPME. O auto amostrador apresenta os acessórios necessários para as extrações, como seringa de SPME, suporte para seringa e forno de *headspace*. O acessório de condicionamento da fibra não estava disponível e foi realizado o condicionamento desta forma no injetor do cromatógrafo a gás. Sistema controlado pelo mesmo software de controle do GC-MS

4.2.6 Cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas

Os experimentos de quantificação por padronização externa e identificação dos analitos foram executadas por GC-MS com filtro de massas *ion trap*, Figura 8, no instrumento 431-GC da Varian acoplado ao 210-MS da mesma marca. O software utilizado foi o Varian MS Workstation versão 6.9.2 Service Pack 1. O tratamento de dados foi realizado empregando o software MassHunter Workstation Software Quantitative Analysis B.06.00 Service Pack 1 da Agilent Technologies.

Figura 8 - Cromatógrafo a gás acoplado ao espectrômetro de massas



Fonte: o próprio autor.

4.3 DESCONTAMINAÇÃO DOS RESÍDUOS SÓLIDOS

Os resíduos sólidos empregados para os experimentos durante as etapas de desenvolvimento de métodos, otimização e curvas de calibração foram submetidos a um tratamento térmico para remover a contaminação de compostos voláteis nos mesmos e se obter uma matriz isenta dos analitos de interesse.

Adicionou-se aproximadamente 50 g do resíduo sólido em uma cápsula de porcelana e se levou a estufa a 120°C por 12 horas e ocasionais agitações do material na cápsula. Após este período, com o material seco, macerou-se para se ter uma melhor homogeneidade. O processo foi repetido conforme mais material fosse necessário.

Para se verificar a eficiência do processo, realizou-se uma análise de branco do mesmo, empregando o ponto central do estudo de otimização do método de extração por SPME descrito a seguir.

4.4 DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO POR SPME

As extrações foram realizadas utilizando o método de extração de HS-SPME no qual foi adicionado 0,500 g do resíduo sólido a ser analisado em um frasco de *headspace* de 20 mL, com tampa magnética furada e septo; ao frasco, adicionou-se os dois padrões selecionados para o projeto de modo a se obter a concentração estipulada, 50 µL de uma solução de 100,0 µg mL⁻¹ de cada analito.

Após a adição dos padrões foi adicionado 10,0 mL de solução de extração previamente refrigerada de 4 ± 2°C, de modo a manter a mesma solução e proporção descrita no método da ABNT NBR ISO 10.005, acarretando assim em uma menor alteração do objetivo da norma. Desta forma, para a otimização do método, a concentração utilizada de cada composto foi de 0,50 µg mL⁻¹.

Este frasco foi preso ao agitador rotativo descrito para agitação do ZHE e foi submetido a agitação por 18 ± 2 horas a 30 ± 2 rpm em ambiente com temperatura controlada a 23 ± 2°C.

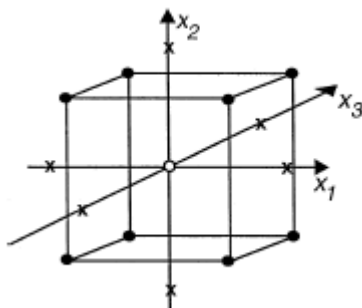
Após essa etapa, os frascos submetidos ao processo de lixiviação acima descrito foram organizados no autoamostrador para otimização do processo de extração via SPME. Para identificar a melhor fibra para os compostos de interesse, primeiramente se realizou dois ensaios, um empregando fibra revestida de polidimetilsiloxano (PDMS) e outro empregando poliácrlato (PA); ambos foram submetidos à condição do ponto central do planejamento experimental, buscando identificar a fibra cuja quantidade de analito extraído da amostra fosse maior.

Os planejamentos podem ser utilizados para avaliar as condições experimentais tanto durante o preparo de amostras, como as variáveis instrumentais da técnica utilizada para realizar as análises.

Também são utilizados na validação de métodos analíticos na etapa de testes de robustez (Ferreira, et al., 2017).

Empregando o modelo de planejamento experimental do composto central, Figura 9, descrito por BEZERRA, *et al.* (2008), que pode ser usado para otimizações com três variáveis sendo cada uma em cinco níveis de magnitude ($-\alpha$, -1 , 0 , $+1$, $+\alpha$), este modelo que vem sendo amplamente aplicado em estudos de química analítica.

Figura 9 - Esquema de modelo estatístico empregado



Fonte: LUNDSTEDT, *et al.*, 1998.

Os parâmetros selecionados a serem avaliados na otimização foram: temperatura de extração, tempo de extração e temperatura de dessorção, nos níveis de magnitude conforme descritos na Tabela 4.

Tabela 4 - Níveis de magnitudes selecionados na otimização

Parâmetro	$-\alpha$	-1	0	$+1$	$+\alpha$
Temperatura de extração (°C)	20	30	40	50	60
Tempo de extração (min)	10	20	30	40	50
Temperatura de dessorção (°C)	230	240	250	260	270

Fonte: o próprio autor.

Para a otimização do método, alguns fatores importantes, que poderiam melhorar a sensibilidade, não foram avaliados, como força iônica e agitação. A força iônica não foi variada de modo a obedecer a solução de lixiviação descrita pela ANBT NBR ISO 10.005. Agitação,

por sua vez, o auto amostrador Combipal, durante a agitação, quebrava as seringas e, para reduzir as perdas das fibras, também não foi avaliado.

Na Tabela 5 estão descritas as condições dos experimentos necessários de acordo com o modelo do composto central para realização da análise estatística multivariada. O auto amostrador foi configurado para realizar as extrações nas temperaturas descritas abaixo, o tempo de equilíbrio térmico para todos foram de 30 minutos com agitação de 500 rpm ligada e desligada a cada 30 segundos. O tempo de exposição da fibra foi configurado de acordo com cada experimento, assim como a temperatura de dessorção, que foi alterada durante os experimentos.

Tabela 5 - Experimentos para realização da otimização por análise multivariada.

Experimentos	Temperatura de extração (°C)	Tempo de extração (min)	Temperatura de dessorção (°C)
Exp 01	30	20	240
Exp 02	50	20	260
Exp 03	50	40	240
Exp 04	30	40	260
Exp 05 (C)	40	30	250
Exp 06	50	20	240
Exp 07	30	20	260
Exp 08	30	40	240
Exp 09	50	40	260
Exp 10 (C)	40	30	250
Exp 11	40	10	250
Exp 12	40	50	250
Exp 13	40	30	230
Exp 14	40	30	270
Exp 15	20	30	250
Exp 16	60	30	250
Exp 17 (C)	40	30	250

Fonte: o próprio autor.

Legenda: (C) indica o ponto central realizado em triplicata

Destes experimentos foram avaliados estatisticamente as áreas obtidas dos ensaios via GC-MS, empregando o software Statistica 10, avaliando parâmetros como, ANOVA, coeficiente de regressão, falta de ajuste, gráfico de Pareto e avaliação dos resíduos. Após isso, os gráficos de superfícies respostas de cada composto mostraram o comportamento do processo de extração com a variação dos parâmetros avaliados. E por último, o software indicou a melhor condição de extração para os compostos de interesse usando a ferramenta desejabilidade, que avalia as superfícies respostas de todos os compostos juntas.

4.5 DETERMINAÇÃO DOS ANALITOS

Para quantificar os analitos de interesse, foi empregada a técnica da GC-MS com a seguinte condição cromatográfica: o gás de arraste empregado foi o He 6.0, de marca White Martins, com fluxo constante de 1,2 mL min⁻¹ em modo *splitless*; temperatura do injetor variando de acordo com a necessidade para a otimização; tempo de exposição da fibra no injetor foi de 5 min, de modo que a desorção seja completa e houvesse um período maior para uma limpeza eficiente da mesma. Foram empregados no equipamento todos os consumíveis adequados à utilização da técnica, liner para SPME e cabeça de injetor com selo ao invés de septo, acessório este que minimiza a quebra das fibras por se tratar de um sistema com molas para realizar o isolamento ao invés de um material polimérico que necessita ser perfurado.

A coluna capilar utilizada foi a DB-624 (30 m × 0,25 mm × 1,4 µm). A rampa de aquecimento foi otimizada do método multirresíduo desenvolvido para atendimento de monitoramentos ambientais de compostos orgânicos voláteis pela USEPA 8060D em águas e solos pelo IST Ambiental, cujos ensaios são acreditados pela CGCRE do Inmetro. Obtendo-se, assim, uma rampa iniciando em 80°C com aquecimento 10 °C min⁻¹ até a temperatura de 240 °C e permanecendo por 15 min, resultando em uma corrida de 31 min.

Com o intuito de se avaliar desde os compostos leves aos pesados, foi utilizado um equipamento com filtro de massas por *iontrap*, de modo a possibilitar uma melhor fragmentação dos compostos mais pesados.

As condições do espectrômetro de massas foram: temperatura da *transferline* 250 °C; do *iontrap* 180 °C; do *manifold* 50 °C. Ionização por impacto de elétrons com 70 eV, corrente de emissão 20 µA; análise em modo varredura de 70 a 290 *m/z* durante o tempo de 1 a 31 min; tempo

de ionização máximo de 30 ms, superior ao recomendado pelo fabricante, mas fará com que os compostos mais pesados possam ser mais facilmente ionizados e detectados.

4.6 QUANTIFICAÇÃO DOS ANALITOS

Para quantificar os compostos de interesse foram monitoradas as seguintes razões massa/carga, Tabela 6. Como o sistema de detecção por *ion trap* são indicados para obtenção de espectros de massas completos e foi empregado na aquisição de dados modo de varredura, avaliou-se os espectros obtidos em cada pico cromatográfico com os da biblioteca NIST.

Tabela 6 - Lista de razões massa/carga empregadas como quantificadores

Composto	Quantificador	Composto	Quantificador
Tolueno	91	1,3,5-Triclorobenzeno	182
Etilbenzeno	91	1,2,4-Triclorobenzeno	182
<i>m+p</i> -Xileno	91	1,2,3-Triclorobenzeno	182
<i>o</i> -Xileno	91	1,2,3,5+1,2,4,5-Tetraclorobenzeno	216
Clorobenzeno	112	1,2,3,4-Tetraclorobenzeno	216
1,3-Diclorobenzeno	146	Pentaclorobenzeno	250
1,4-Diclorobenzeno	146	Hexaclorobenzeno	283
1,2-Diclorobenzeno	146		

Fonte: o próprio autor.

As razões *m/z* selecionadas foram escolhidas de acordo com os picos bases dos espectros de massa da biblioteca NIST.

4.7 VALIDAÇÃO DO MÉTODO

Após o método de extração por SPME ser otimizado, iniciou-se os estudos de validação do método.

4.7.1 Seletividade

Para avaliar a seletividade do método, foram avaliadas sete amostras isentas dos analitos de interesse, amostras estas preparadas pelo processo de descontaminação já descrito anteriormente. Tais amostras passaram por todas as etapas do método propostos por esse trabalho.

Estes resultados foram avaliados quanto a presença dos analitos de interesse de modo a verificar se há compostos na matriz que possam gerar falsos positivos nos resultados finais da análise.

4.7.2 Linearidade, Faixa de trabalho, Faixa linear de trabalho e Sensibilidade

Para as figuras de mérito provenientes da curva analítica primeiramente se definiu uma faixa de concentração de modo a atender os valores de referência da legislação. Entretanto, os limites máximos no lixiviado são elevados, superiores a $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ (ABNT, 2004a). Desta forma, buscando um método que, além de caracterizar o resíduo sólido de modo a enquadrar em uma das classificações, possa identificar a presença de traços de derivados de clorobenzeno, foi estipulado uma faixa de trabalho de 2,00 a $90,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.

A curva de calibração externa foi preparada em frascos de *headspace* de 20 mL, nos quais foi adicionada a solução extratora descrita no item 4.1, refrigerada, para minimizar a volatilização dos analitos, e, após isso, adicionadas as duas soluções de padrões selecionados, conforme Tabela 7, e fechados imediatamente.

Tabela 7 - Construção da curva de calibração

Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	2,00	10,0	30,0	50,0	70,0	90,0
Concentração solução estoque ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1000,0	5000,0	5000,0	5000,0	5000,0	5000,0
Volume de solução estoque (μL)	20,0	20,0	60,0	100,0	140,0	180,0
Volume de solução extratora (mL)	9,96	9,96	9,88	9,80	9,72	9,64

Fonte: o próprio autor.

Cada concentração da curva analítica foi preparada em triplicata e com valores de concentração selecionados de modo a ficarem bem distribuídos pela faixa de trabalho. Para os ensaios de calibração do instrumento, foram empregadas as condições de extração via SPME definidas pelo tratamento estatístico realizado sobre os resultados obtidos dos ensaios do planejamento experimental.

A avaliação da linearidade foi realizada para validar a curva analítica, que consistiu na análise dos seguintes parâmetros:

Coeficiente de determinação, realizado via MassHunter, software de integração e quantificação do equipamento GC-MS, de modo a verificar se a relação entre concentração e sinal analítico é regida por uma função.

Verificação estatística de Shapiro-Wilks sobre os resultados de resíduos para verificar se há aleatoriedade dos resíduos, cálculos esses realizado empregando o software Action Stat Pro.

Faixa de trabalho e faixa linear de trabalho: serão descritas as faixas nas quais o método pode ser aplicado, ou seja, os valores compreendidos entre a concentração mínima e máxima dos padrões utilizados para construção da curva analítica.

Sensibilidade: somente será aplicado a curvas de calibrações cuja função seja linear; caso contrário, essa figura de mérito não será aplicada.

4.7.3 Repetibilidade

De modo a avaliar-se a repetibilidade do método, foram preparadas e analisadas quatro amostras de três níveis de magnitude distribuídos pela faixa de trabalho, cujas concentrações são distintas as usadas para construção da curva analítica.

Para preparar as amostras para serem empregadas no estudo da repetibilidade, pesou-se 0,500 g de resíduo sólido descontaminado em frascos de *headspace* de 20 mL e se adicionou 40,0, 80,0 e 120,0 μL de cada uma das duas soluções mãe dos padrões de 5000,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, e, em seguida, adicionou-se a solução extratora para o volume final de 10 mL, de modo a se obter quatro frascos de amostras contendo 20, 40 e 60 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada analito.

Esses frascos foram presos ao agitador rotativo, onde permaneceram nas condições de tempo, agitação e temperatura descritos pela ABNT NBR 10.005. Após essa etapa de lixiviação as amostras foram ensaiadas no cromatógrafo a gás sobre as condições otimizadas da extração via *headspace* SPME.

Os resultados obtidos de cada concentração foram avaliados pelo erro relativo, através da amplitude em relação ao limite de repetibilidade e desvio padrão relativos, verificando, assim, se o método apresenta precisão e exatidão por toda sua faixa de trabalho.

4.7.4 Limite de quantificação

A determinação do limite de quantificação desejado foi elaborada de modo similar ao estudo de repetibilidade, no qual se preparou sete amostras sintéticas, alterando o volume de fortificação da solução estoque de 1000,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para 20,0 μL cuja concentração pretendida foi idêntica à concentração mais baixa da curva de calibração externa ensaiada no equipamento.

Os mesmos critérios adotados na repetibilidade também foram adotados nesta etapa, e, desta forma, obtendo-se um limite de quantificação confiável quanto a exatidão e precisão do método proposto.

4.7.5 Limite de detecção

Determinação do limite de detecção do método foi determinado a partir dos resultados dos ensaios realizados para o limite de quantificação e usando a equação abaixo.

Apesar de limite de quantificação não haver critério de aceitação, somente foi avaliado se o limite de detecção calculado foi inferior ao de quantificação.

4.7.6 Análise das amostras e verificação da exatidão

Para o estudo de recuperação e análise de amostras de borras de petróleo foi empregado o método proposto pelo trabalho. Foram analisadas quatro amostras distintas, as quais foram preparadas em triplicata e paralelamente foram preparadas as amostras fortificadas em duplicata, adicionando a cada frasco 50 μL da solução mãe de 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ resultando em uma fortificação de 25 $\mu\text{g L}^{-1}$, valor este, escolhido de modo ser distinto das concentrações usada na curva de calibração ou para os ensaios de repetibilidade, resultado assim em 20 frascos que foram submetidos a todas as etapas do método.

As amostras foram avaliadas pelas médias dos resultados obtidos e classificadas de acordo com os limites máximos permitidos descritos pela ABNT NBR 10.004. Os resultados das matrizes fortificadas, por sua vez, foram utilizados para se determinar o percentual de recuperação do método pela equação abaixo.

De acordo com a AOAC e o documento do INMETRO de validação, a recuperação teve seu critério de aceitação para esse estudo de 60 a 115% devido a faixa de concentração do método.

Com todos os dados anteriormente citados, o método poderá ser considerado válido se aprovado em todas estas figuras de mérito estudadas. Como o método proposto teve suas etapas de maiores incertezas automatizada empregando o auto amostrador CombiPal, o estudo de robustez não foi realizado.

Devido ao entupimento dos filtros durante a execução do ensaio via clássica, não foi possível realizar o estudo comparativo entre ABNT NBR 10.005 e o método proposto.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 MÉTODO CROMATOGRÁFICO

Anteriormente a este trabalho, foi adaptado o método da USEPA 8260D para análise de compostos orgânicos voláteis em águas, efluentes e solos no laboratório de cromatografia do Instituto SENAI de Tecnologia Ambiental de Blumenau. Este método é validado e acreditado na ABNT NBR ISO/IEC 17025 pelo INMETRO (CRL 0325).

O método de quantificação via HS-GC-MS é empregado pelo laboratório para ensaios de extrato lixiviado da ABNT ISO 10.005. Como o método foi desenvolvido para quantificação de 64 analitos, para esse trabalho se adequou a rampa de aquecimento para otimizar o tempo e conseguir separar todos os compostos de interesse. O método inicial utilizado como base, tem rampa de aquecimento de acordo com a Tabela 8.

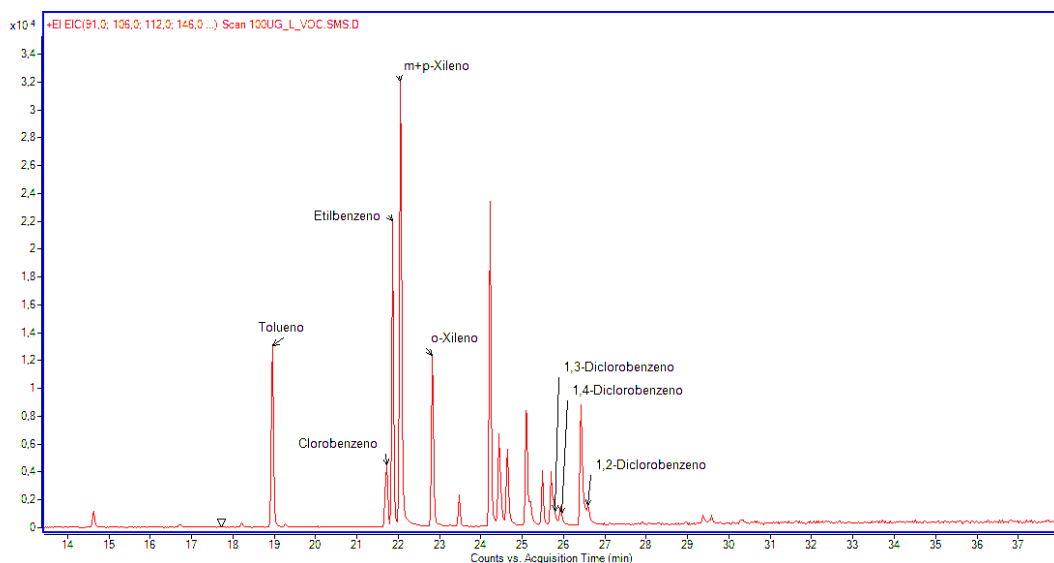
Tabela 8 - Rampa de aquecimento usada como base para o desenvolvimento do método

Taxa de aquecimento (°C min ⁻¹)	Temperatura (°C)	Permanência (min)
	45	3
8	90	4
6	225	2,88

Fonte: o próprio autor.

Este método de 38 minutos somente separava compostos de interesse até os diclorobenzeno, conforme Figura 10.

Figura 10 - Cromatograma do método usado como base para o desenvolvimento



Fonte: o próprio autor.

Como o primeiro composto de interesse, tolueno, apresentava tempo de retenção de aproximando em 19 min, elevou-se a temperatura inicial para reduzir esse tempo, assim como se elevou a temperatura final do método para conseguir avaliar os clorobenzenos menos voláteis, chegando à rampa de aquecimento descrita na Tabela 9.

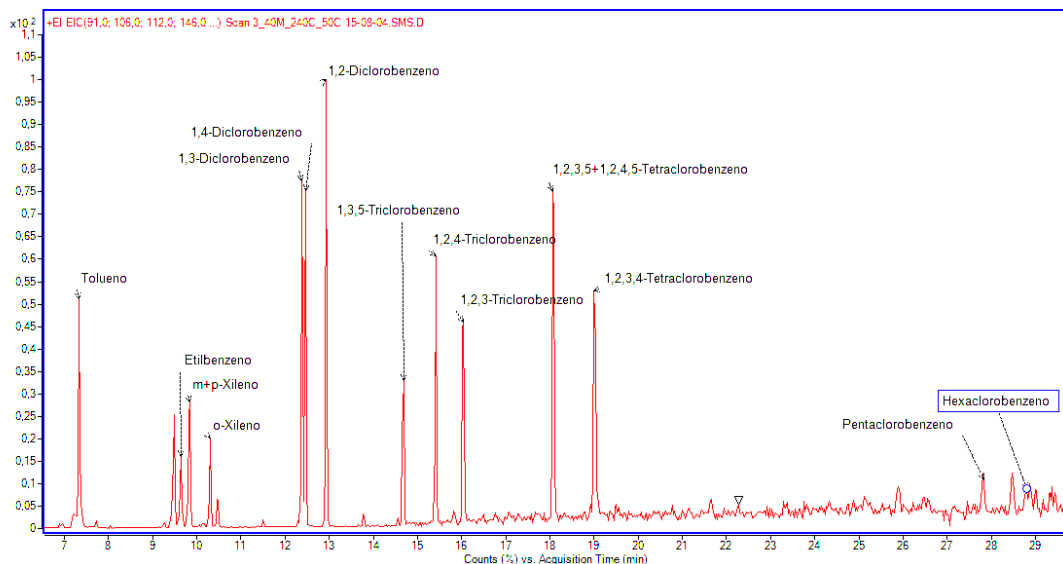
Tabela 9 - Rampa de aquecimento desenvolvida para a separação dos compostos de interesse.

Taxa de aquecimento (°C min ⁻¹)	Temperatura (°C)	Permanência (min)
	80	
10	240	15

Fonte: o próprio autor.

Com essas alterações foi possível reduzir o tempo de análise, de modo que do tolueno até o hexaclorobenzeno saíssem na mesma corrida cromatográfica (Figura 11). Entretanto, é possível verificar uma baixa sensibilidade para os compostos pentaclorobenzeno e hexaclorobenzeno.

Figura 11 - Cromatograma do método adaptado para aplicar ao estudo.



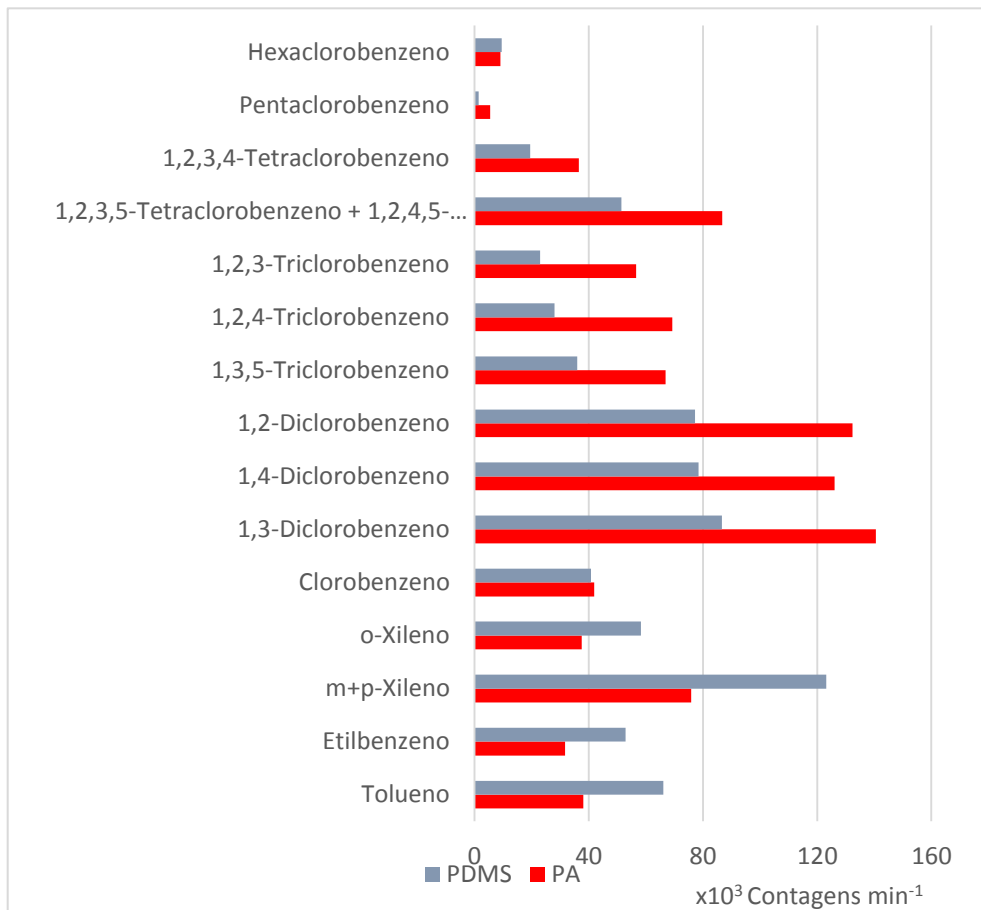
Fonte: o próprio autor.

Empregando a coluna DB-624MS, houve uma coeluição dos picos referentes aos compostos 1,2,3,5-tetraclorobenzeno e 1,2,4,5-tetraclorobenzeno. Como não são compostos com valores máximos permitidos estimados pela ABNT NBR 10.004, não se avaliou outra coluna para essa separação. Para todos os ensaios se considerou a somatória dos compostos.

5.2 OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO POR SPME

Para identificar qual fibra apresentaria maior poder de adsorção, realizou-se um experimento em triplicata com as fibras de SPME com fase PA e outro com fase PDMS, obtendo os seguintes resultado (Figura 12).

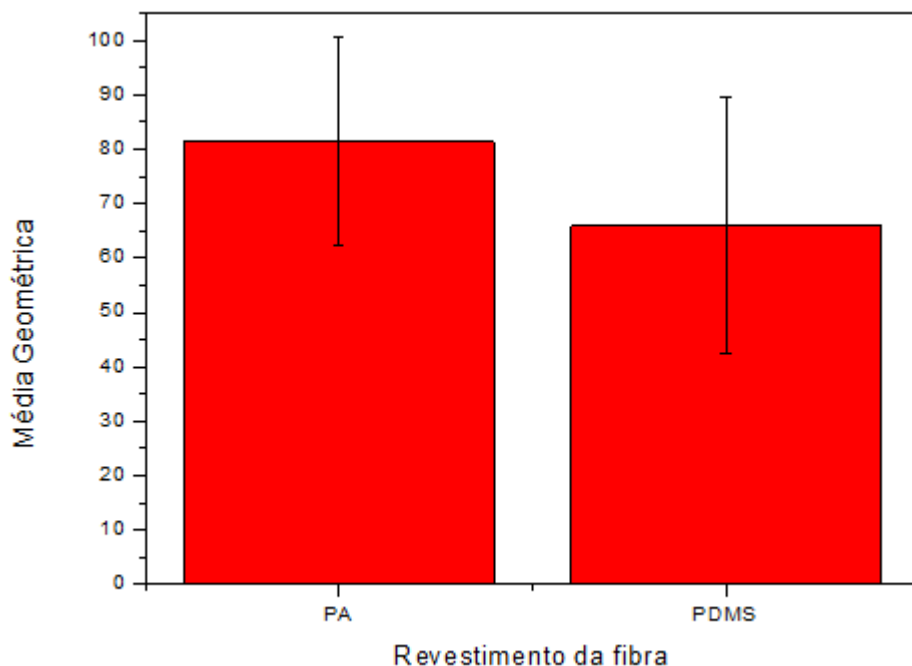
Figura 12 - Comparação das áreas obtidas usando fibra de PA e PDMS no experimento preliminar



Fonte: o próprio autor.

Para verificar estatisticamente a melhor fibra, as áreas foram normalizadas e realizada a média e desvio padrão de cada fibra (Figura 13). A fibra de PA apresentou uma média pouco maior, mas levando em conta que o desvio padrão são equivalentes. Sendo assim foi escolhida a de PA por ter a média superior.

Figura 13 - Médias geométrica e desvio padrão dos resultados normalizados das fibras



Fonte: o próprio autor.

Estes resultados estão de acordo com o trabalho de FROMBERG, *et al.* (1996), no qual a fibra de PA apresentou o melhor poder de adsorção para os derivados de clorobenzeno, que são os analitos principais deste trabalho, quando realizado pelo modo de HS-SPME, diferente ao observado por MOODLEY, *et al.* (2013), no qual o melhor poder de adsorção ocorreu para a fibra de PDMS. Entretanto, com imersão direta, para os mesmos analitos em um estudo com água de barragem. A fibra de PA, sendo assim, foi escolhida para os próximos experimentos.

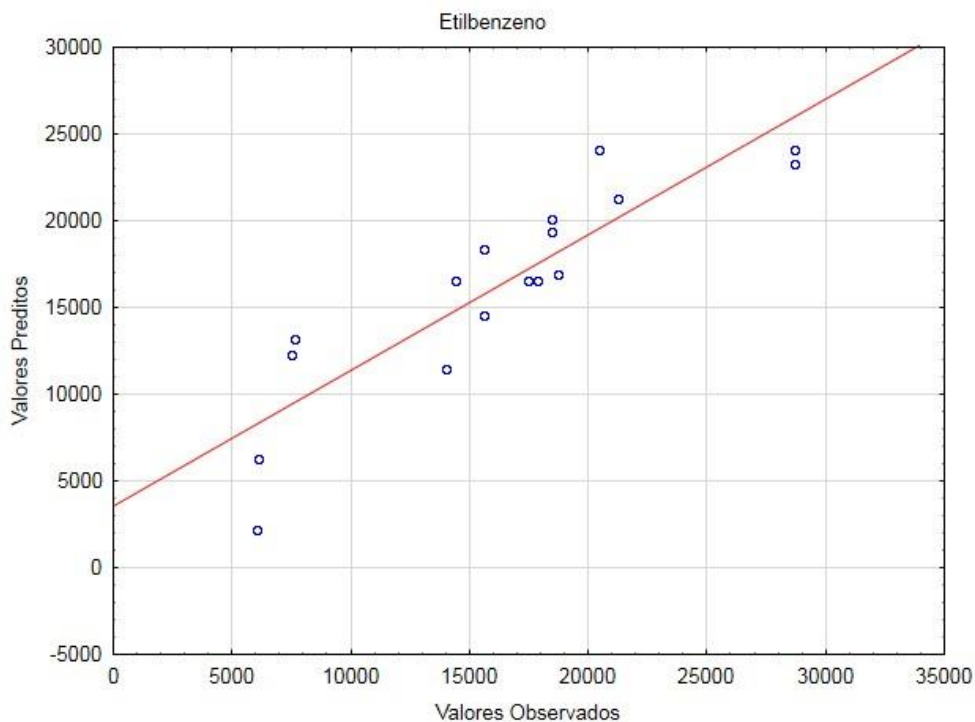
O tratamento dos resultados do planejamento experimental realizado foi realizado pelo Statistica 10, para cada composto, de modo a se observar o comportamento individual.

Inicialmente se avaliou o teste de ANOVA verificando os coeficientes de regressão se ficaram acima do critério estipulado de 0,7, assim como foi verificado se houve falta de ajuste significativa, ou seja,

$p < 0,05$, para cada composto. Todos os compostos apresentaram coeficientes de regressão entre 0,7094 a 0,8802 e dentro do critério de aceitação da falta de ajuste.

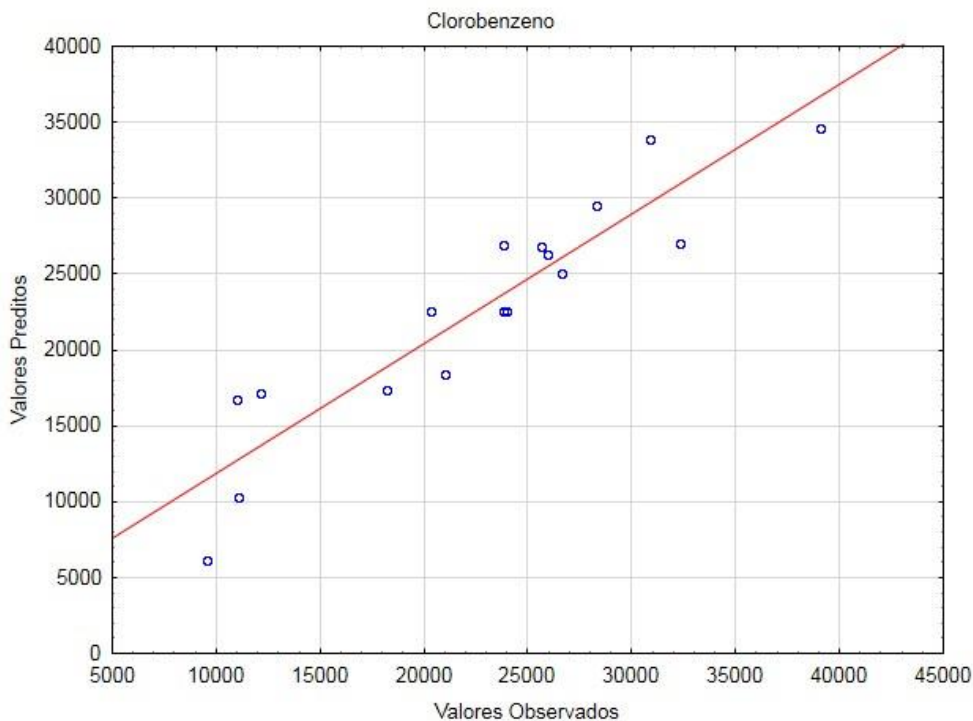
Além desta avaliação foi realizada uma análise de cada composto pelo gráfico de valor previsto pelo valor observado (Figura 14 e 15), e também pela avaliação da distribuição dos resíduos por Shapiro-Wilk.

Figura 14 - Gráficos de valores observados por valores preditos de área do etilbenzeno



Fonte: o próprio autor.

Figura 15 - Gráficos de valores observados por valores preditos de área do clorobenzeno

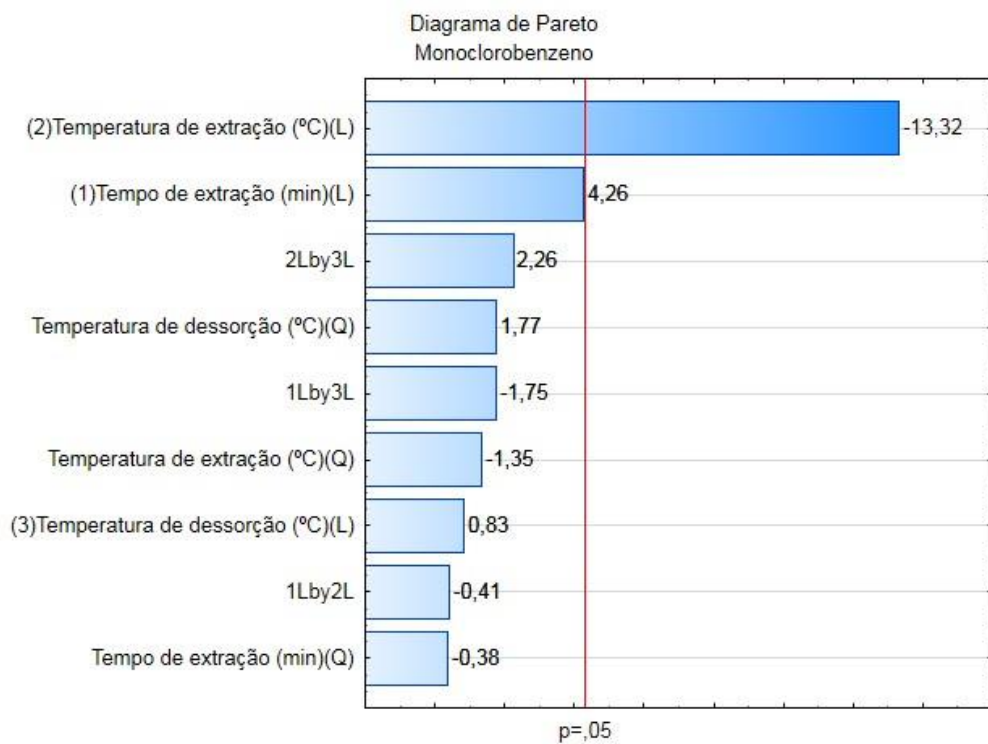


Fonte: o próprio autor.

Um modelo matemático adequado deve ter os pontos plotados o mais próximo a linha de regressão possível assim como terem tendências crescente. Os gráficos obtidos apresentam essas características. Além disso, os resultados da avaliação da distribuição dos resíduos por Shapiro-Wilk apresentaram uma boa distribuição dos mesmos, uma vez que os valores obtidos foram $p > 0,05$ e valores de $W > 0,892$, valor este tabelado para 0,05 de nível de confiança e 17 de tamanho amostral (Shapiro & Wilk, 1965).

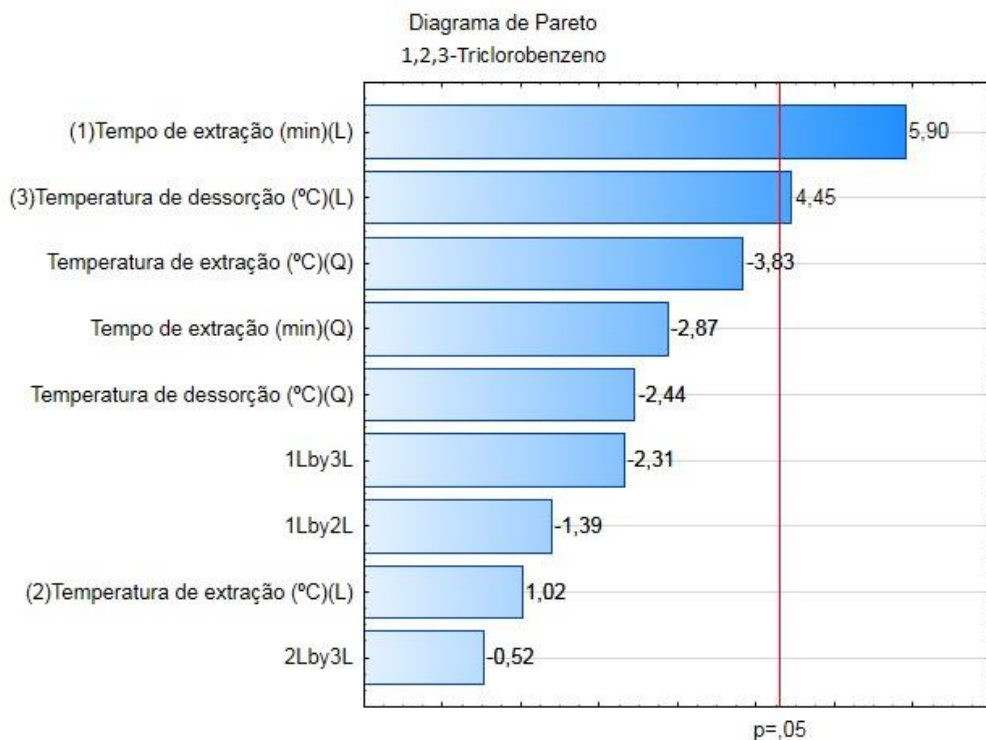
Após essas avaliações foi realizado uma avaliação do diagrama de Pareto para verificar a variável mais significativa conforme a Figura 16 e 17.

Figura 16 - Diagrama de Pareto obtido para o clorobenzeno



Fonte: o próprio autor.

Figura 17 - Diagrama de Pareto obtido para o 1,2,3-triclorobenzeno.

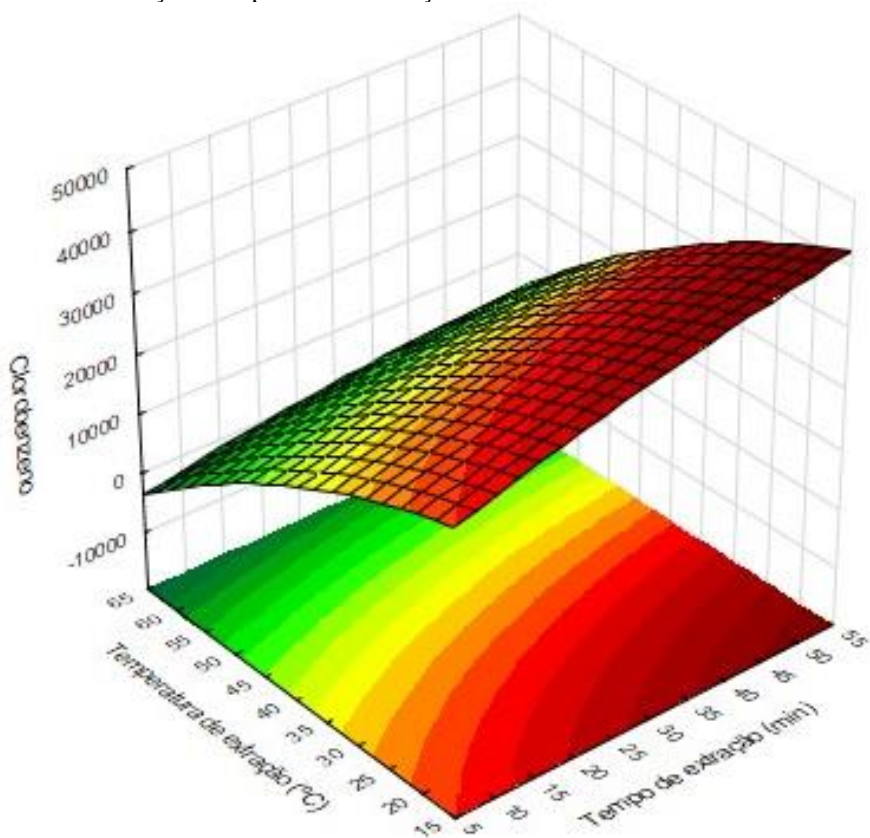


Fonte: o próprio autor.

É possível verificar que as variáveis que mais influenciam o processo de extração por SPME são tempo de extração e temperatura de extração. Resultado esse já esperado, uma vez que empregando o SPME em modo *headspace* o equilíbrio de volatilização é favorecido em temperaturas mais altas e o de adsorção é favorável em baixas temperaturas.

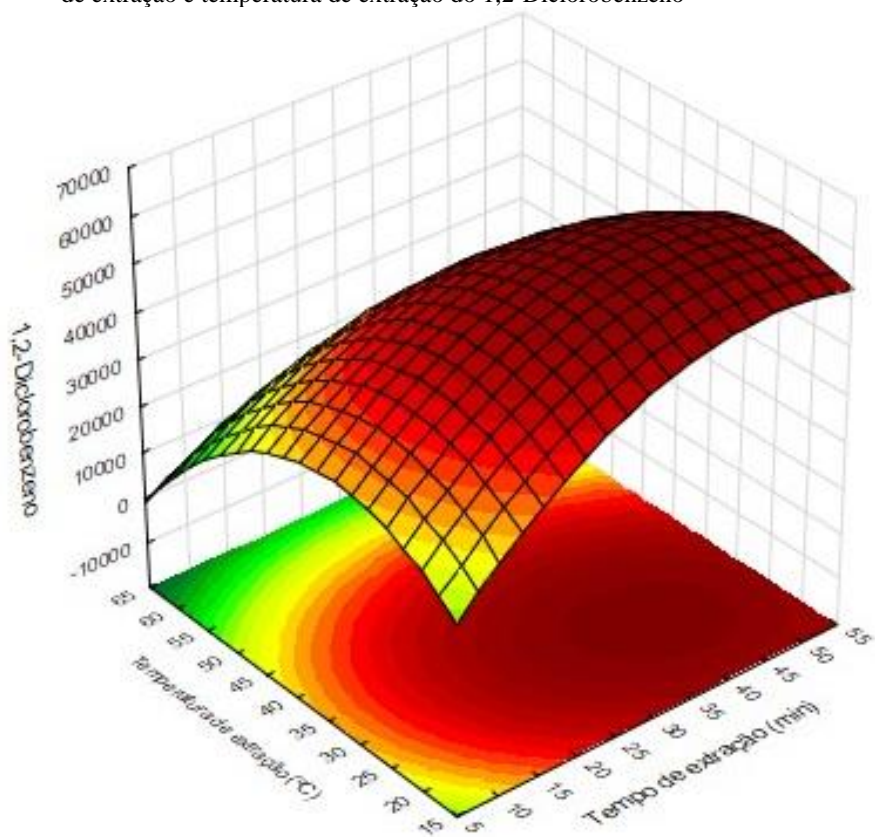
Com esses resultados foi possível afirmar que os resultados do planejamento experimental foram adequados e com isso os gráficos de superfícies respostas puderam ser analisados, alguns exemplos estão apresentados nas Figuras 18-20.

Figura 18 - Superfície resposta da área (contagens min^{-1}) em relação ao tempo de extração e temperatura de extração do clorobenzeno



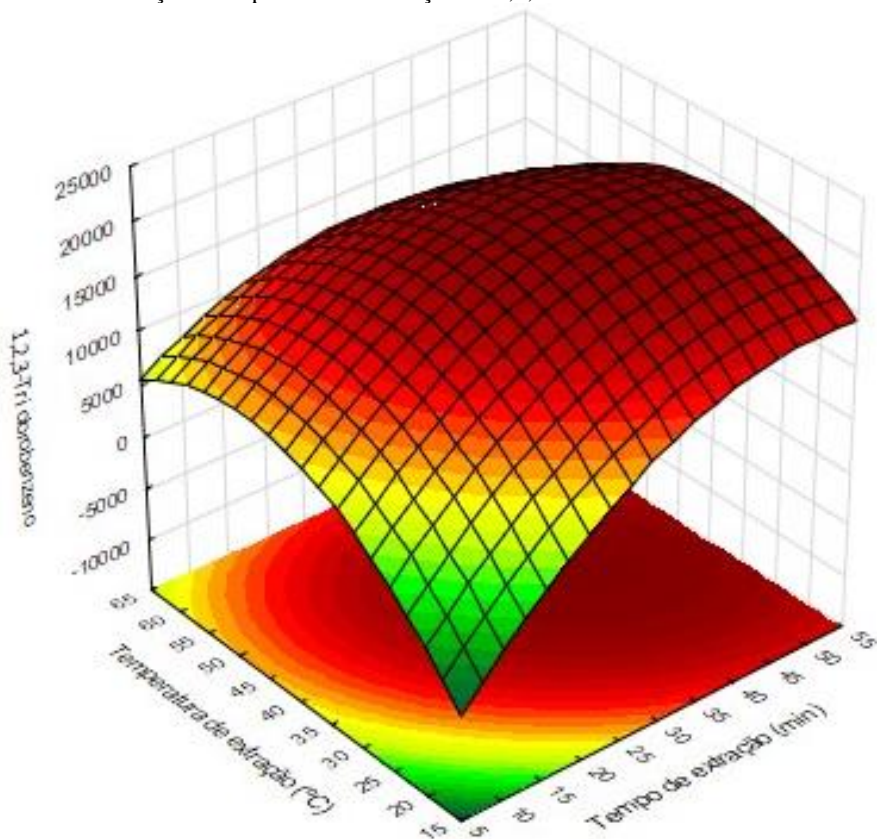
Fonte: o próprio autor.

Figura 19 - Superfície resposta da área (contagens min^{-1}) em relação ao tempo de extração e temperatura de extração do 1,2-Diclorobenzeno



Fonte: o próprio autor.

Figura 20 - Superfície resposta da área (contagens min^{-1}) em relação ao tempo de extração e temperatura de extração do 1,2,3-Triclorobenzeno

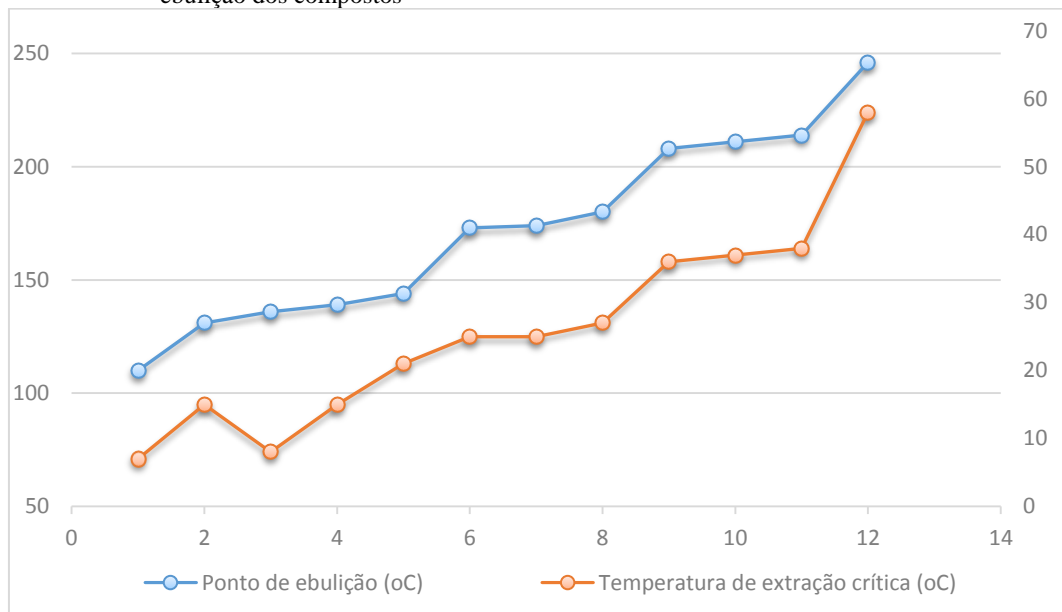


Fonte: o próprio autor.

Ao se avaliar as superfícies respostas obtidas, percebe-se uma tendência por extrações de maior quantidade de analito em elevado período de exposição da fibra. Por outro lado, a temperatura de extração tem sua influência variando de acordo com o composto.

Pode-se perceber que quanto menor a pressão de vapor do composto maior deve ser a temperatura de extração (Figura 21), de modo a favorecer a volatilização dos mesmos. Entretanto, compostos com maior pressão de vapor, mais voláteis, temperaturas altas reduzem a quantidade de analito extraído, favorecendo nesses casos o processo de desorção dos analitos na fibra.

Figura 21 -Comparativo da temperatura crítica de extração e o ponto de ebulição dos compostos



Fonte: o próprio autor.

Legenda: 1. Tolueno; 2. Clorobenzeno; 3. Etilbenzeno; 4. m+p-Xileno; 5. o-Xileno; 6. 1,3-Diclorobenzeno; 7. 1,4-Diclorobenzeno; 8. 1,2-Diclorobenzeno; 9. 1,3,5-Triclorobenzeno; 10. 1,2,4-Triclorobenzeno; 11. 1,2,3-Triclorobenzeno; 12. 1,2,3,5+1,2,4,5-Tetraclorobenzeno

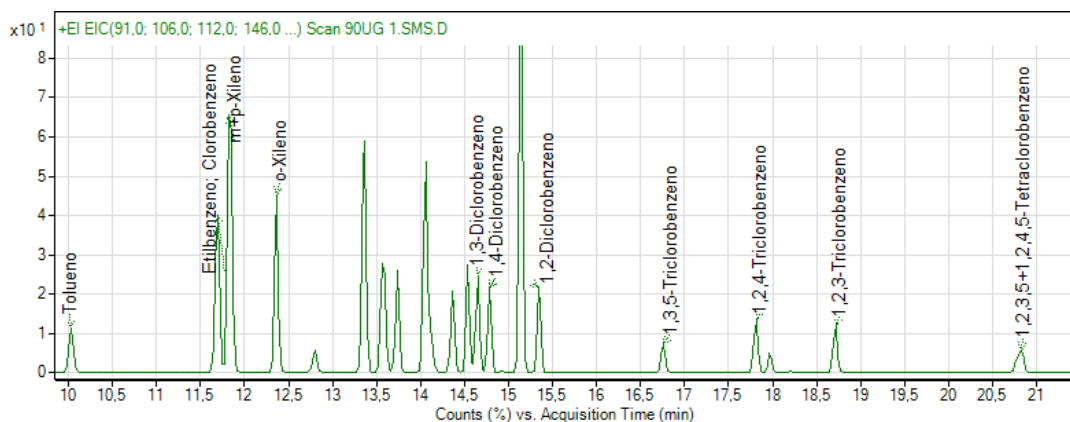
Por apresentar um comportamento concorrente entre os compostos uma escolha adequada para uma boa extração foi necessária. Empregando assim a ferramenta, perfil de predição de valores, de modo a identificar a melhor condição para um método de extração por SPME mais eficaz. Obtendo assim a condição otimizada de: temperatura de extração 30 °C, tempo de exposição da fibra 50 min, temperatura de dessorção de 240 °C. Essas condições foram as adotadas para todos os experimentos realizados.

5.3 VALIDAÇÃO DO MÉTODO

O estudo de validação se iniciou pela construção da curva de calibração externa de modo a se verificar a linearidade, faixa de trabalho e sensibilidade.

Os compostos 1,2,3,4-tetraclorobenzeno, pentaclorobenzeno e hexaclorobenzeno ao se reduzir as concentrações do estudo do planejamento experimental para os valores empregados como faixa de trabalho não apresentaram sensibilidade adequada e não foram tratados (Figura 22).

Figura 22 - Cromatograma obtido para a concentração de $90 \mu\text{g L}^{-1}$ dos analitos

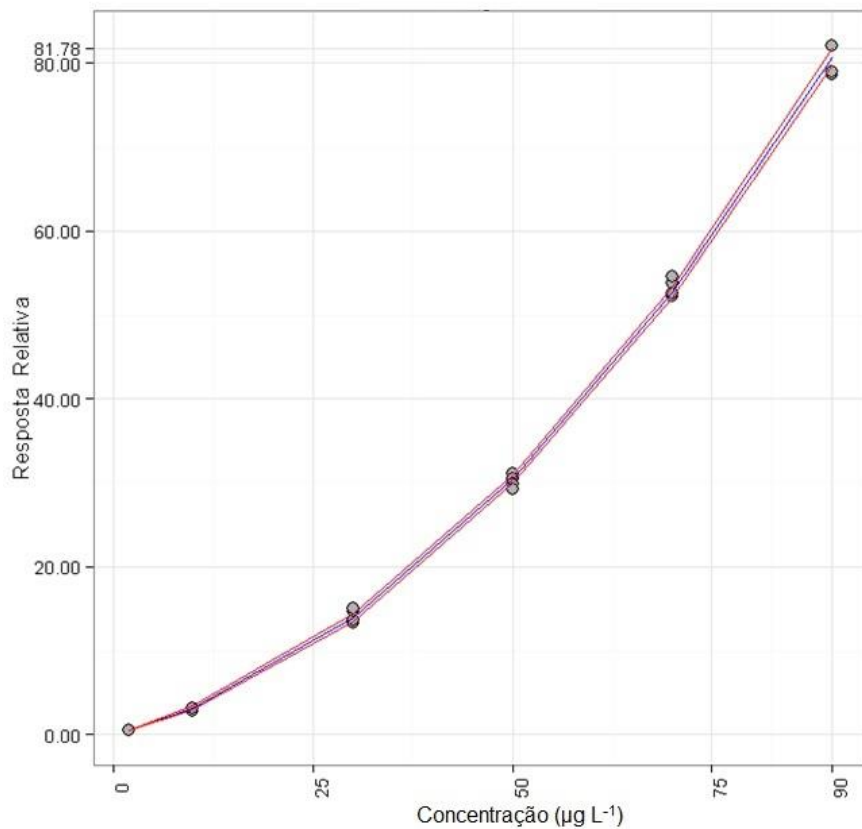


Fonte: o próprio autor.

5.3.1 Linearidade /Faixa de trabalho/ Sensibilidade

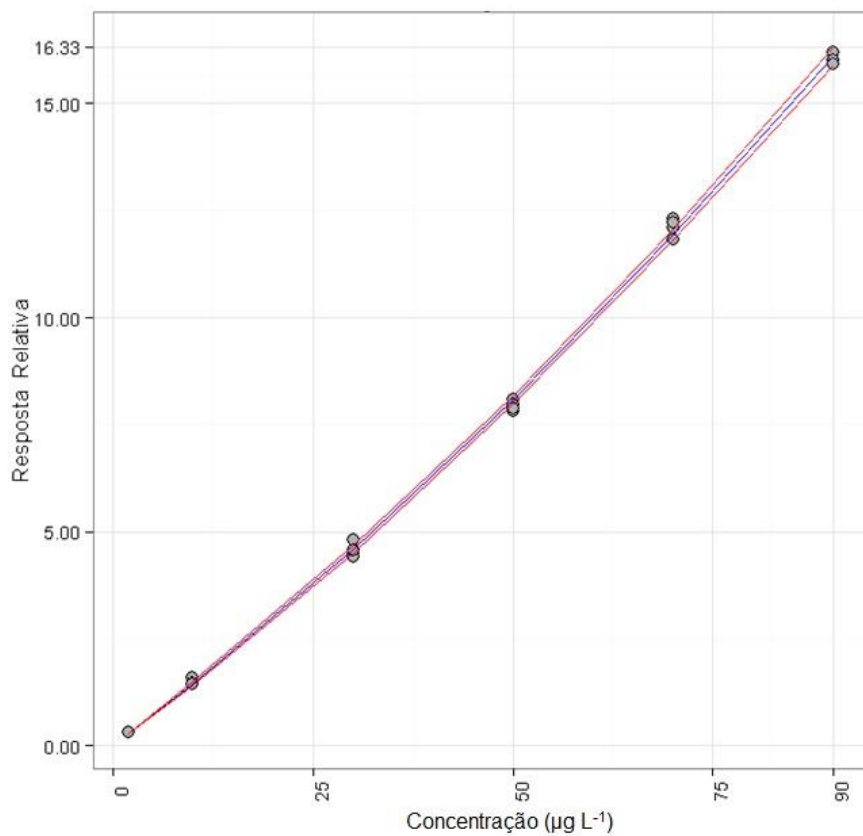
Após a execução dos ensaios para calibração, os resultados foram tratados via MassHunter MS Quantitative Analysis para obtenção das integrações. Outro software empregado para validação da linearidade do método foi o Action Stat Quality, no qual foi construído a curva de calibração, conforme Figuras 23-25, e realizado o tratamento estatístico necessário.

Figura 23 - Curva de calibração obtida para validação do tolueno



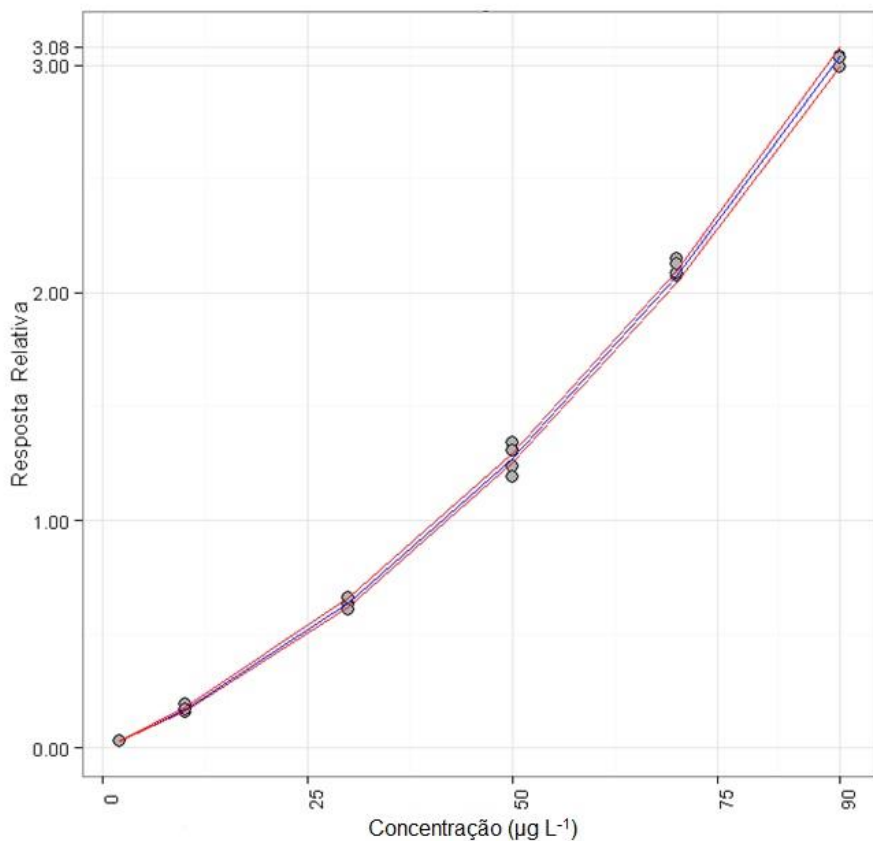
Fonte: o próprio autor.

Figura 24 - Curva de calibração obtida para validação do clorobenzeno



Fonte: o próprio autor.

Figura 25 - Curva de calibração obtida para validação do 1,2,4-triclorobenzeno



Fonte: o próprio autor.

As curvas de calibração para o método desenvolvido apresentaram para todos os compostos comportamento polinomial de segunda ordem e foi empregado peso de $1/\text{concentração}$ para melhorar a precisão e exatidão das concentrações mais baixas e forçando a origem. O primeiro critério de validação da linearidade empregado foi o coeficiente de determinação, cujos resultados estão dispostos na Tabela 10.

Tabela 10 - Coeficientes de determinação e equação das curvas analíticas obtidas

Analito	Coeficiente de determinação	Equação
Tolueno	0,9977	$y = 0,00717x^2 + 0,25166x$
Etilbenzeno	0,9976	$y = 0,00607x^2 + 0,12330x$
<i>m+p</i>-Xileno	0,9975	$y = 0,03413x^2 + 0,51486x$
<i>o</i>-Xileno	0,9992	$y = 0,00945x^2 + 0,27736x$
Clorobenzeno	0,9996	$y = 0,00043x^2 + 0,14049x$
1,3-Diclorobenzeno	0,9985	$y = 0,00149x^2 + 0,06138x$
1,4-Diclorobenzeno	0,9975	$y = 0,00248x^2 + 0,15935x$
1,2-Diclorobenzeno	0,9987	$y = 0,00124x^2 + 0,15962x$
1,3,5-Triclorobenzeno	0,9990	$y = 0,00244x^2 + 0,05651x$
1,2,4-Triclorobenzeno	0,9992	$y = 0,00021x^2 + 0,01512x$
1,2,3-Triclorobenzeno	0,9985	$y = 0,00094x^2 + 0,01406x$
1,2,3,5 + 1,2,4,5-Tetraclorobenzeno	0,9988	$y = 0,019554x^2 - 0,02187x$

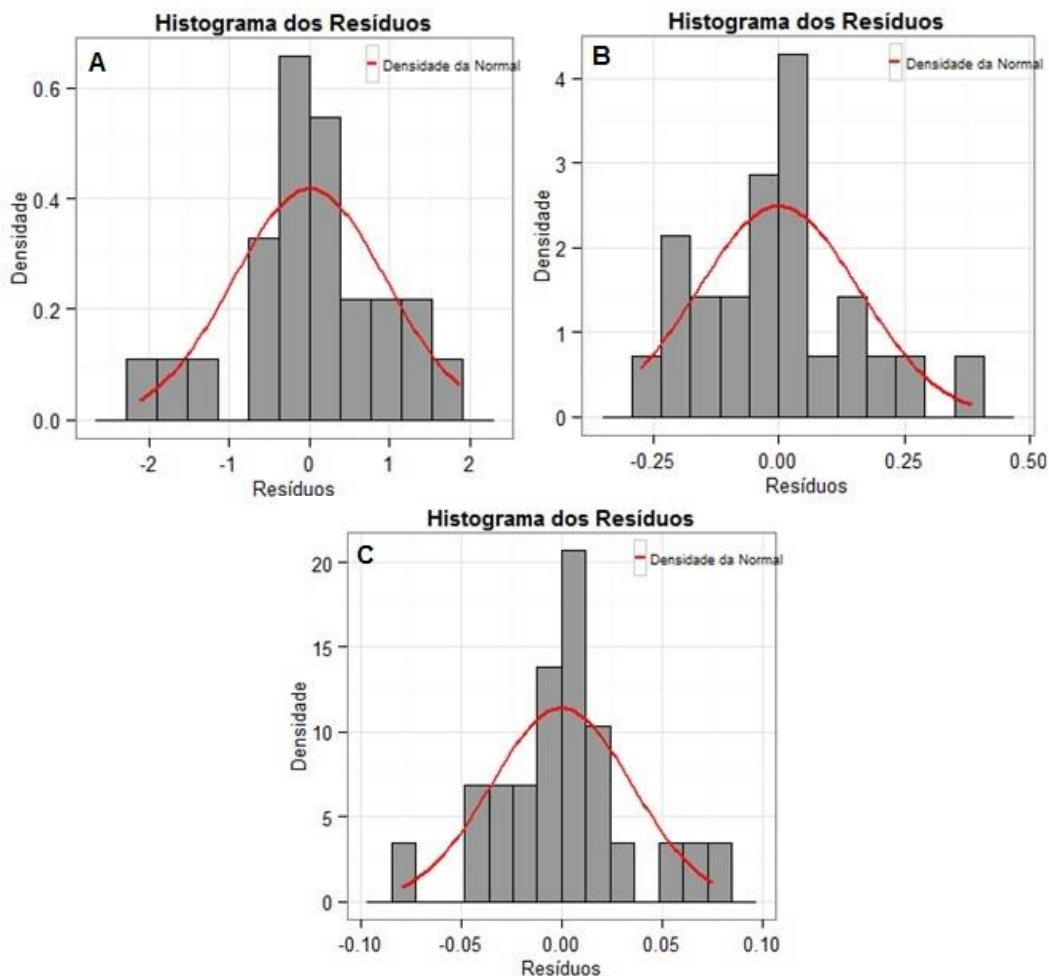
Fonte: o próprio autor.

Pela avaliação feita sobre os coeficientes de determinação (R^2) as curvas foram aprovadas, uma vez que ficaram acima de 0,98 como sugerido pela Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2017), sendo o valor de y a resposta relativa dos picos cromatográficos ao padrão interno e o valor de x a concentração do analito.

Além disso, foi avaliado parâmetros estatísticos da curva de calibração, verificando inicialmente os resultados de valor- p obtidos no teste de ANOVA para os coeficientes “ a ” junto a concentração² e “ b ” junto a concentração, de modo a verificar se o modelo matemático usado é adequado aos resultados obtidos. Todos os compostos apresentaram, ambos os coeficientes, menores que 0,05, indicando que as hipóteses são diferentes de nula e confirmando que os comportamentos das curvas apresentadas são polinomiais de segunda ordem.

A etapa subsequente foi a avaliação dos resíduos de modo a atender as recomendações descritas pelo DOQ-CGCRE-008 Revisão 05 (INMETRO, 2018). A primeira análise realizada foi a visual dos histogramas (Figura 26) e do gráfico de resíduo padronizados (Figura 27) como representado a seguir.

Figura 26 - Histogramas de resíduos obtidos pelo tratamento estatístico da curva analítica, A: Tolueno; B: Clorobenzeno; C: 1,2,4-Triclorobenzeno

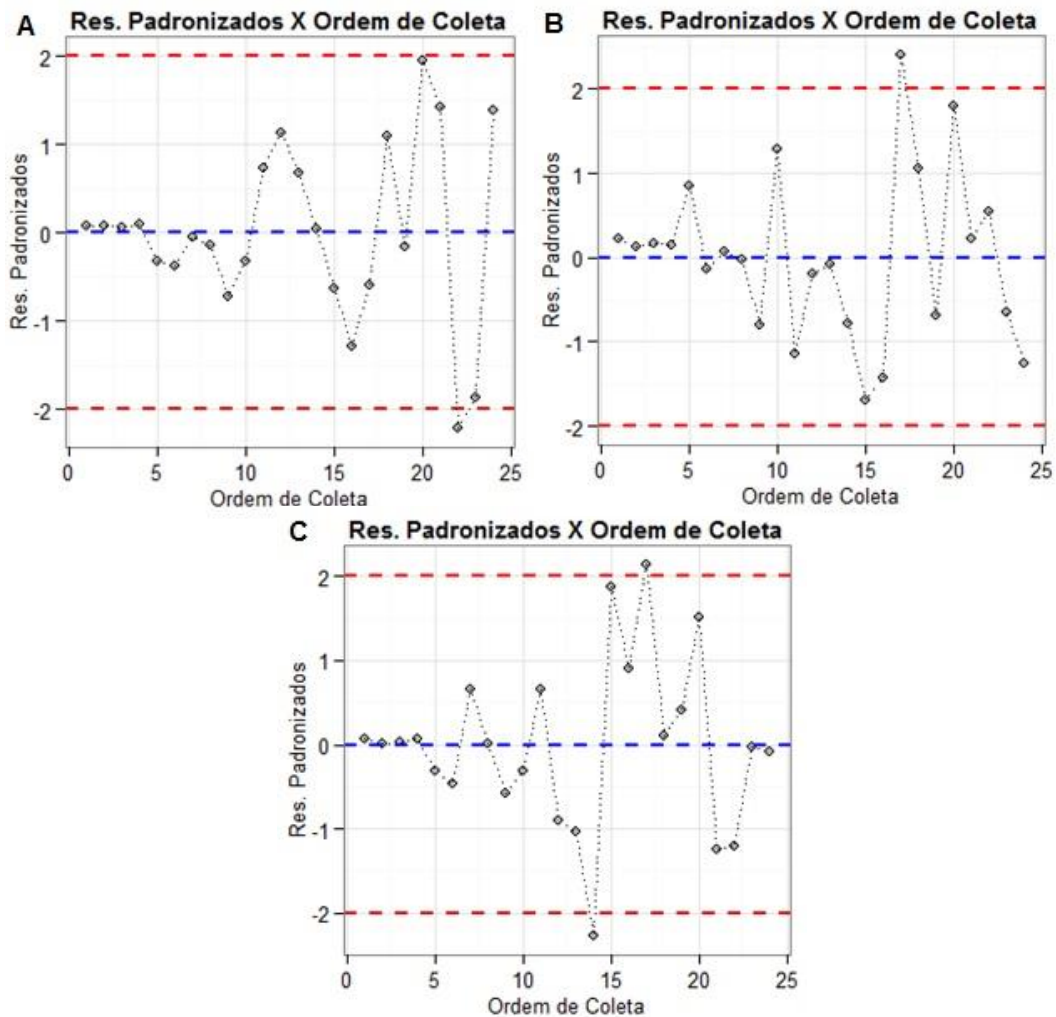


Fonte: o próprio autor.

As avaliações realizadas sobre os histogramas foram para perceber se os resíduos obtidos apresentavam uma densidade de

distribuição próxima a normal, todos os compostos apresentaram comportamento adequado.

Figura 27 - Gráfico da ordem de coleta pelos resíduos padronizados para os compostos, A: Tolueno; B: Clorobenzeno; C: 1,2,4-Triclorobenzeno



Fonte: o próprio autor.

Os gráficos de resíduos padronizados mostram alguns pontos que tendem a ser pontos aberrantes. Entretanto, pelo tratamento estatístico, não demonstraram que esses pontos fora da faixa de -2 a 2 são pontos atípicos. Todavia, estão dentro da faixa de -3 a 3, podendo assim considerá-los adequados. Desta forma, ao se avaliar a aleatoriedade dos pontos dos gráficos produzidos para cada composto, os mesmos mostraram uma boa aleatoriedade dos pontos. Para confirmar essa hipótese, o teste de Shapiro-Wilk foi aplicado aos resultados de resíduos, conforme demonstrado na Tabela 11.

Tabela 11 - Resultados obtidos para o teste de Shapiro-Wilk para cada os resíduos de cada composto.

Analito	Valor estatísticos de W	p-valor
Tolueno	0,9519	0,2383
Etilbenzeno	0,9522	0,2612
m+p-Xileno	0,9641	0,6015
o-Xileno	0,9354	0,1290
Clorobenzeno	0,9313	0,1044
1,3-Diclorobenzeno	0,9239	0,1040
1,4-Diclorobenzeno	0,9532	0,3654
1,2-Diclorobenzeno	0,9733	0,7488
1,3,5-Triclorobenzeno	0,9451	0,2119
1,2,4-Triclorobenzeno	0,9474	0,1852
1,2,3-Triclorobenzeno	0,9343	0,1508
1,2,3,5 + 1,2,4,5-Tetraclorobenzeno	0,9557	0,4069

Fonte: o próprio autor.

Como critério de avaliação do teste de Shapiro-Wilks foi avaliado se o valor de W foi superior à 0,916 que é o valor tabelado para o número de coleta de 24 (Shapiro & Wilk, 1965), e se o p-valor foi superior a 0,05 (EBRAHIMI-NAJAFABADI, LEARDI, & JALALI-HERAVI, 2014).

Diante de todos os testes estatísticos empregados para os resultados obtidos durante a construção da curva de calibração foi possível afirmar que o método foi validado para a figura de mérito linearidade de todos os compostos.

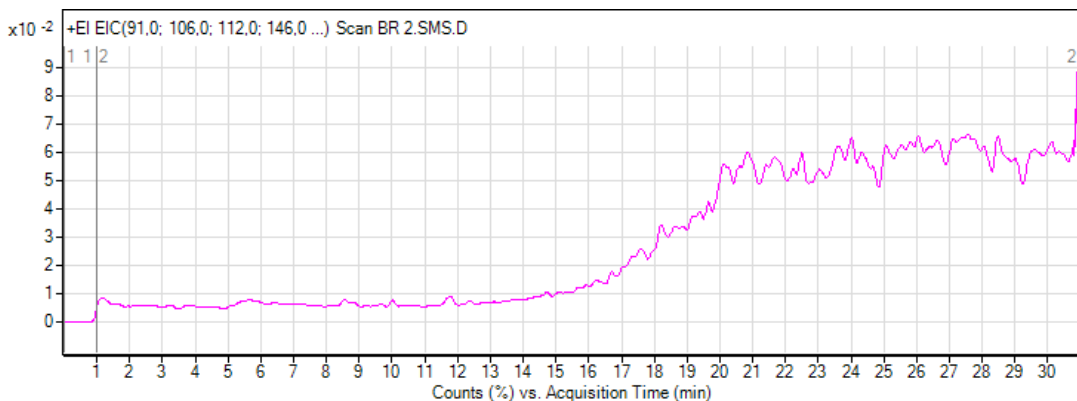
A faixa de trabalho adotada para o método foi de 2,0 a 90,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, valores idênticos às concentrações mínima e máxima da curva

analítica. Sensibilidade não foi avaliada, uma vez que a para todos os compostos o comportamento foi quadrático.

5.3.2 Seletividade

Após a avaliação da curva analítica construída para o método, realizou-se sete replicatas do ensaio empregando amostras que passaram pela etapa de descontaminação. Nestes sete ensaios, para todos os compostos analisados, os valores de concentrações obtidos foram extremamente baixos ou não detectados, conforme mostra o cromatograma da Figura 28.

Figura 28 - Cromatograma da soma dos íon extraídos de quantificação, de uma amostra isenta de analitos, para as razões massa/carga de quantificação dos analitos de interesse



Fonte: o próprio autor.

Desta forma é possível validar o método na figura de mérito seletividade. Normalmente ao se empregar o detector de massas acoplado à técnica da cromatografia se resulta em métodos com elevadas seletividades, afirmando, assim, que as matrizes estudadas não interferem na quantificação dos compostos de interesse.

5.3.3 Repetibilidade

Foram avaliados separadamente os resultados obtidos pela replicatas dos três níveis de magnitude utilizados para validar a repetibilidade e avaliar a exatidão. Os ensaios cromatográficos foram avaliados pelo limite de repetibilidade e pelo desvio padrão relativo. As Tabelas 12-14 apresentam os resultados obtidos para os três níveis de magnitude estudado para validar a repetibilidade do método analítico proposto.

Tabela 12 - Resultados obtidos para repetitividade a 20 $\mu\text{g L}^{-1}$

Analito	Média ($\mu\text{g L}^{-1}$)	RSD (%)	Amplitude	Limite de repetitividade
Tolueno	20,0±2,6	5,21	2,41	3,60
Etilbenzeno	20,8±4,2	8,09	3,89	5,83
<i>m+p</i>-Xileno	36,4±3,8	4,25	3,70	5,35
<i>o</i>-Xileno	19,7±2,4	4,95	2,38	3,37
Clorobenzeno	18,7±1,4	2,95	1,32	1,91
1,3-Diclorobenzeno	19,4±2,5	5,26	2,10	3,53
1,4-Diclorobenzeno	19,8±2,6	5,34	2,37	3,65
1,2-Diclorobenzeno	19,0±2,4	5,11	2,12	3,36
1,3,5-Triclorobenzeno	18,7±1,6	3,43	1,52	2,22
1,2,4-Triclorobenzeno	20,1±2,1	4,27	2,03	2,97
1,2,3-Triclorobenzeno	20,0±2,2	4,50	2,00	3,11
1,2,3,5+1,2,4,5-Tetraclorobenzeno	36,8±2,8	3,08	2,45	3,92

Fonte: o próprio autor.

Tabela 13 - Resultados obtidos para repetitividade a 40 $\mu\text{g L}^{-1}$

Analito	Média ($\mu\text{g L}^{-1}$)	RSD (%)	Amplitude	Limite de repetitividade
Tolueno	42,2±1,3	1,98	1,71	2,65
Etilbenzeno	39,2±1,1	2,14	1,76	3,10
<i>m+p</i>-Xileno	76,9±9,2	3,89	3,84	5,45
<i>o</i>-Xileno	39,6±4,0	1,59	1,44	2,17
Clorobenzeno	38,6±1,9	6,76	5,77	9,42

1,3-Diclorobenzeno	42,0±2,2	4,80	4,19	6,70
1,4-Diclorobenzeno	40,5±3,9	2,04	1,76	2,69
1,2-Diclorobenzeno	39,5±1,6	2,60	4,54	6,86
1,3,5-Triclorobenzeno	40,3±6,8	1,26	1,28	1,85
1,2,4-Triclorobenzeno	40,3±4,8	1,11	1,01	1,50
1,2,3-Triclorobenzeno	38,1±1,9	4,79	8,52	12,75
1,2,3,5+1,2,4,5-Tetraclorobenzeno	76,2±4,9	4,07	3,46	5,57

Fonte: o próprio autor.

Tabela 14 - Resultados obtidos para repetitividade a 60 µg L⁻¹

Analito	Média (µg L⁻¹)	RSD (%)	Amplitude	Limite de repetitividade
Tolueno	59,4±3,8	2,03	2,65	4,25
Etilbenzeno	59,23±0,89	1,67	2,38	3,47
<i>m+p</i>-Xileno	123,5±3,6	2,41	3,10	4,94
<i>o</i>-Xileno	62,3±3,5	2,87	3,99	6,00
Clorobenzeno	60,4±3,0	1,68	2,21	3,50
1,3-Diclorobenzeno	60,3±2,5	1,93	2,65	4,03
1,4-Diclorobenzeno	59,3±3,6	1,52	2,01	3,15
1,2-Diclorobenzeno	60,4±4,3	1,39	3,48	5,69
1,3,5-Triclorobenzeno	60,4±2,5	2,48	2,84	5,11
1,2,4-Triclorobenzeno	60,2±2,9	0,60	0,78	1,23
1,2,3-Triclorobenzeno	59,6±2,3	1,18	3,31	5,03
1,2,3,5+1,2,4,5-Tetraclorobenzeno	118,1±4,1	2,24	3,35	4,83

Fonte: o próprio autor.

Diante dos resultados obtidos nos três níveis de magnitude é possível perceber que o maior RSD foi de 8,09% inferior ao sugerido pela AOAC (2012) que é de 15%. Além disso, ao se avaliar os resultados obtidos para os limites de repetitividade e amplitude, para todos os experimentos o limite de repetitividade foi maior que a amplitude, conforme regra da AOAC (2012). Com essas observações é possível confirmar a repetibilidade do método e considerando validade para essa figura de mérito.

Outra informação importante que podemos retirar desses resultados diz respeito à exatidão do método, no qual os erros relativos encontrados foram de 90,9% a 105,6%, valores a baixo de 20% considerado como limite em métodos cromatográficos em baixa concentração. Sendo assim, o método apresentou uma exatidão adequada a seu propósito.

5.3.4 Limite de quantificação

Após essas etapas se realizaram as sete replicatas do primeiro ponto da curva de modo a validar e comprovar sua possível mensuração. Com isso foi realizada a mesma avaliação para as três concentrações da repetibilidade descrita anteriormente. Os resultados obtidos para a avaliação do limite de quantificação estão demonstrados na Tabela 15.

Tabela 15 - Resultados do estudo do limite de quantificação

Analito	Média ($\mu\text{g L}^{-1}$)	RSD (%)	Amplitude ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Limite de repetibilidade
Tolueno	2,08±0,15	3,01	0,18	0,22
Etilbenzeno	1,96±0,30	6,28	0,33	0,43
<i>m+p</i>-Xileno	4,42±0,40	3,56	0,42	0,54
<i>o</i>-Xileno	2,00±0,27	5,65	0,29	0,39
Clorobenzeno	1,99±0,17	3,63	0,18	0,25
1,3-Diclorobenzeno	2,01±0,12	2,73	0,16	0,19
1,4-Diclorobenzeno	2,01±0,17	3,33	0,17	0,23
1,2-Diclorobenzeno	1,99±0,42	8,31	0,40	0,57
1,3,5-Triclorobenzeno	2,07±0,35	6,64	0,34	0,47
1,2,4-Triclorobenzeno	2,02±0,27	5,55	0,31	0,39
1,2,3-Triclorobenzeno	2,06±0,32	6,09	0,33	0,43
1,2,3,5+1,2,4,5-Tetraclorobenzeno	4,35±0,25	2,22	0,28	0,33

Fonte: o próprio autor.

Na verificação dos resultados apresentados são aceitáveis os valores de RSD, por terem ficado extremamente abaixo do limite da AOAC (2012) que para 1 ppb o critério de aceitação é de 30%. Assim como as amplitudes foram menores que os limites de repetitividade.

Ao se analisar a exatidão desta concentração para os diversos compostos, encontra-se valores de grau de concordância variando de 98% a 110,5%. Se considerar o aceitável pelos documentos orientativos empregados para recuperação que para a faixa de concentração é de 40% a 120%, os valores obtidos foram muito mais restritivos (INMETRO, 2018). Desta forma o método foi considerado validado para a figura de mérito em análise.

Para se comparar o limite de quantificação obtido com outros trabalhos empregando matrizes ambientais e a técnica do SPME para alguns compostos empregados por esse trabalho, é necessário estimar o LQ com base na razão do sinal e ruído dos picos obtidos. Os LQ determinados estão dispostos na Tabela 16.

Tabela 16 - Limites de quantificações determinados pela razão do sinal e ruído

Analito	Limite de quantificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Tolueno	0,37
Etilbenzeno	0,33
<i>m+p</i>-Xileno	0,22
<i>o</i>-Xileno	0,42
Clorobenzeno	0,16
1,3-Diclorobenzeno	0,25
1,4-Diclorobenzeno	0,33
1,2-Diclorobenzeno	0,47
1,3,5-Triclorobenzeno	0,49
1,2,4-Triclorobenzeno	0,34
1,2,3-Triclorobenzeno	0,43
1,2,3,5+1,2,4,5-	0,57
Tetraclorobenzeno	

Fonte: o próprio autor.

Com o trabalho Santos, SARRIÓN E GALCERAN (1997), MOODLEY *et al.* (2013), ou LI *et al.* (2010), percebe-se que estes trabalhando com soluções extratoras específicas, ou fibra desenvolvidas por eles, empregaram como concentração mais baixa da curva valores entre 0,08 a 1 $\mu\text{g L}^{-1}$, valores abaixo dos empregados neste trabalho. Os limites de quantificações nestes trabalhos foram calculados com base nas razões de sinais e ruídos obtendo valores entre 0,20 a 2,65 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Moodley, Chetty, Ramphal, & Gericke, 2013), 3,2 a 22,5 ng L^{-1} (Li, Ye, Huo, & Zeng, 2010) e 3,0 a 10,0 ng L^{-1} (Santos, Sarrión, & Galceran, 1997). Comparando os resultados obtidos com o trabalho de Moodley *et al.* que trabalhou com o modo de extração por SPME via Headspace os LQ foram similares, mas quando comparados com métodos realizados via

imersão direta, os resultados dos outros dois trabalhos possuem LQ similares entre si e de 10 a 100 vezes mais baixos que os obtidos por este trabalho.

5.3.5 Limite de detecção

O limite de detecção do método determinado a partir do desvio padrão do limite de quantificação, apresentaram os seguintes resultados (Tabela 17).

Tabela 17 - Limite de detecção determinado para o método

Analito	Limite de detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Tolueno	0,15
Etilbenzeno	0,30
<i>m+p</i>-Xileno	0,19
<i>o</i>-Xileno	0,28
Clorobenzeno	0,18
1,3-Diclorobenzeno	0,13
1,4-Diclorobenzeno	0,16
1,2-Diclorobenzeno	0,41
1,3,5-Triclorobenzeno	0,34
1,2,4-Triclorobenzeno	0,27
1,2,3-Triclorobenzeno	0,31
1,2,3,5+1,2,4,5-Tetraclorobenzeno	0,12

Fonte: o próprio autor.

Os valores calculados como limites de detecção podem ser considerados coerentes, uma vez que estes valores estão na mesma magnitude dos descritos para os compostos pela USEPA 8260D (2017). Estes valores na ordem de alto ppt são importantes para uma das aplicações do método, para a caracterização dos resíduos sólidos que serão destinados a incineração, de modo a verificar a presença dos derivados de clorobenzeno. Para essa aplicação o método teria como limite de detecção mais alto como $8,2 \text{ ng g}^{-1}$, podendo assim prever se

haverá formação das dioxinas e furanos provenientes dos derivados clorobenzenos.

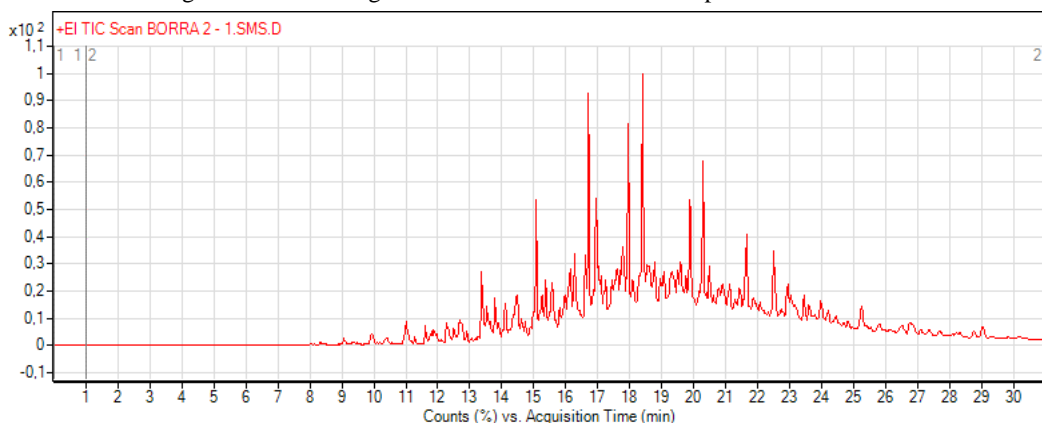
A ABNT NBR 10.005 de caracterização dos extratos lixiviados, indica os métodos de quantificação da USEPA, que para voláteis seria o USEPA *method* 8260D, cujo ensaio deve ser executado empregando GC-MS, e, como preparo o sistema *purge-and-trap*, *headspace* ou via injeção direta. Ao se comparar os dados de desempenho dos resultados via ambos os métodos se percebe que os RSD obtidos neste estudo são mais baixos que os obtidos pela USEPA que variam de 7% a 12% para os mesmos compostos. Demonstrando que um método via SPME pode apresentar uma precisão maior que os métodos clássicos de ensaios (United States Environmental Protection Agency, 2017).

5.3.6 Aplicação do método e verificação da exatidão

Após todas as figuras de mérito anteriores estarem validadas, iniciou-se os ensaios envolvendo as amostras de borras de petróleo, as quais foram submetidas em duplicata a todo processo de preparo e ensaio, assim como uma duplicata de fortificada para se determinar o estudo de recuperação do método.

Na Figura 29 pode-se observar um dos cromatogramas obtidos pelo método para a amostras de Borra 2.

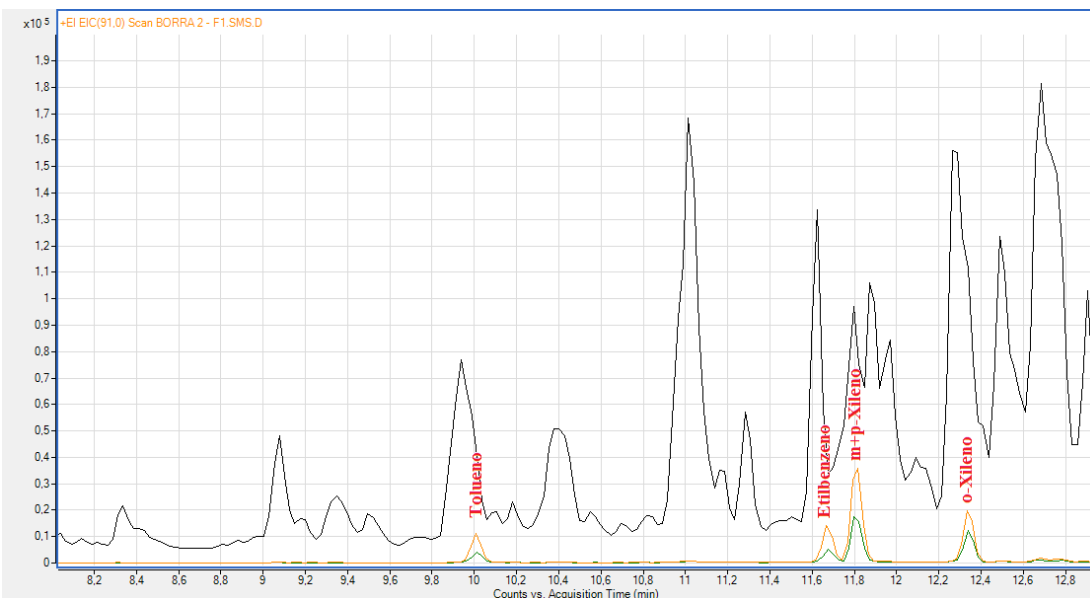
Figura 29 - Cromatograma da amostra borra 2 obtido pelo método



Fonte: o próprio autor.

Ao se observar o cromatograma da amostra borra 2, é possível perceber que o método foi capaz de extrair uma quantidade imensa de compostos voláteis. Entretanto, pela elevada seletividade fornecida pelo espectrômetro de massas foi possível filtrá-lo de modo a de quantificar os compostos de interesse sem dificuldade, como demonstrado na Figura 30.

Figura 30 - Comparativo entre cromatograma íons totais da amostra e de íon extraído da amostra (verde) e amostra fortificada (Laranja)



Fonte: o próprio autor.

Os ensaios com as quatro amostras de borras provenientes da bacia de efluente encaminhadas por uma empresa de petróleo e gás natural, tiveram os seguintes resultados (Tabela 18):

Tabela 18 - Resultados das duplicatas das amostras ensaiadas

Analito	Borra 1 ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Borra 2 ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Borra 3 ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Borra 4 ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Tolueno	<LOQ	10,02±0,67	<LOQ	<LOQ
Etilbenzeno	<LOQ	19,1±2,8	8,4±1,4	<LOQ
m+p-Xileno	2,48±0,20	13,3±1,8	4,2±0,5	<LOQ
o-Xileno	6,3±1,2	19,8±1,8	6,6±1,8	5,36±0,82

Clorobenzeno	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
1,3-Diclorobenzeno	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
1,4-Diclorobenzeno	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
1,2-Diclorobenzeno	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
1,3,5-Triclorobenzeno	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
1,2,4-Triclorobenzeno	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
1,2,3-Triclorobenzeno	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
1,2,3,5+1,2,4,5-Tetraclorobenzeno	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ

Fonte: o próprio autor.

É possível perceber que os resíduos sólidos analisados apresentaram um perfil similar, contendo com derivados de benzeno não clorados e não se detectou clorobenzenos neles. A presença de derivados de benzeno não clorados já era esperado nos resíduos desta natureza, quanto aos clorados havia suspeita de não ter nestes resíduos. Todos os resultados foram abaixo os valores máximos permitidos pelas legislações vigentes.

Tentou-se realizar um estudo comparativo entre a metodologia proposta e o método de acordo com a ABNT NBR 10.005, entretanto não foi possível realizá-lo, pois há entupimento dos papéis filtros na etapa inicial exigida para resíduos pastosos (Figura 31).

Figura 31 - Etapa inicial de filtração do resíduo sólido.



Fonte: o próprio autor.

De modo a se tentar simular o ensaio, desprezou-se essa etapa para o processo de lixiviação. Após o período de lixiviação o filtro superior se obstruiu nos primeiros mililitros de filtração, impossibilitando o ensaio e necessitando abrir o ZHE, descaracterizando assim o extrato obtido. Por consequência, não há um estudo estatístico comparativo entre o método proposto pelo trabalho e o método descrito pela ABNT NBR 10.005.

As amostras fortificadas foram empregadas de modo a avaliar se há algum efeito da matriz no ensaio, e se calcular a recuperação de cada composto de interesse do método, cujos resultados estão dispostos na Tabela 19.

Tabela 19 - Resultados de recuperação obtidos para os analitos

Analito	Recuperação (%)
Tolueno	94,29±9,58
Etilbenzeno	96,92±17,65
<i>m+p</i>-Xileno	89,21±9,56
<i>o</i>-Xileno	79,73±10,33
Clorobenzeno	93,21±16,83
1,3-Diclorobenzeno	97,52±22,64
1,4-Diclorobenzeno	89,74±14,52
1,2-Diclorobenzeno	89,25±15,19
1,3,5-Triclorobenzeno	89,43±1,56
1,2,4-Triclorobenzeno	98,43±15,99
1,2,3-Triclorobenzeno	84,39±20,78
1,2,3,5+1,2,4,5-Tetraclorobenzeno	89,00±10,20

Fonte: o próprio autor.

O valor mínimo de recuperação foi de 79,73% uma recuperação excelente para o tipo de matriz complexa que este trabalho utilizou. Se avaliar esse percentual em relação ao que os documentos do INMETRO (2016) e AOAC (2012) utilizam como critério para a faixa de concentração da recuperação, 60-115%, percebe-se que a este método obteve uma boa performance nesta figura de mérito, podendo, assim, ser considerado um método validado.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Resíduos sólidos pastosos da indústria de petróleo são extremamente difíceis de se analisar seguindo as normas e métodos vigentes. E isso foi demonstrado na tentativa de realizar o ensaio de acordo com a ABNT NBR 10.005, onde ocorreu os entupimentos previstos na etapa inicial e final do processor de lixiviação. Para contornar este problema, o método foi realizado de modo a manter as condições de lixiviação mais próximas ao descrito pela ABNT, como solução extratora, relação de solução e resíduo, tempo e temperatura de extração.

O método adaptado foi capaz de separar e avaliar os compostos de interesse pelo trabalho e reduzir o tempo de ensaio do método existente no laboratório do IST Ambiental. A otimização do método de extração por SPME que resultou nas condições de compromisso: Temperatura de extração 30 °C, tempo de exposição da fibra 50 min, temperatura de dessorção de 240 °C.

A validação do método, realizada de acordo com o documento de Inmetro DOQ CGCRE 008 – Revisão 6, foi capaz de demonstrar a eficácia do método na faixa de trabalho de 2,00 a 90,0 µg L⁻¹. Extração via SPME realizado pelo autoamostrador resultou em um método de elevada repetibilidade com desvio padrão relativo (RDS) dos compostos bem baixos.

Análises das amostras de borras mostraram que os compostos derivados de clorobenzeno não apresentaram concentrações acima do limite de detecção, e os compostos alquil benzênicos avaliados apresentam concentrações entre 2,48 - 19,85 µg L⁻¹. O perfil similar das quatro amostras se deu uma vez que a procedências das mesmas era de uma mesma bacia de efluentes, mas de quadrantes distintos. A elevada recuperação, variando de 80 a 98% dos analitos deste trabalho, pode ser resultante do fato de contaminar os resíduos e logo em seguida a adição da solução extratora. Uma avaliação do percentual de extração do extrato lixiviado pode ser importante para compreender melhor o método de preparo do extrato, assim como a influência do tempo de contato da matriz com a fortificação e a solução extratora.

Não foram localizados estudos realizados para classificar resíduos sólidos, por métodos alternativos e que empregam a solução extratora da ABNT NBR 10.005. Portanto, o método proposto apresenta um ponto importante de inovação por ser um método alternativo que busca manter o máximo de características do método original.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT. **NBR 10.004**: Resíduos sólidos - Classificação. 2. ed. Rio de Janeiro: ABNT, 2004a. 71 p.

ABNT. **NBR 10.005**: Procedimento para obtenção de extrato lixiviado de resíduos sólidos. 2. ed. Rio de Janeiro: ABNT, 2004b. 16 p.

ABNT. **NBR 10.006**: Procedimento para obtenção de extrato solubilizado de resíduos sólidos. 2. ed. Rio de Janeiro: ABNT, 2004c. 3 p.

ABNT. **NBR 10.007**: Amostragem de resíduo sólidos. 2. ed. Rio de Janeiro: ABNT, 2004d. 21 p.

ABNT. **NBR ISO/IEC 17025 - Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração**. São Paulo: ABNT, 2005.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 166**. Brasília: [s.n.], 2017.

AHMED, F. E. Analyses of pesticides and their metabolites in foods and drinks. **Trends in analytical chemistry**, v. 20, n. 11, p. 649- 661, 2001.

ANASTAS, P. T.; WARNER, J. C. **Green Chemistry: Theory and Practice**. Nova Iorque: Oxford University Press, 1998.

ANDRADE-EIROA, A. et al. Solid phase extraction of organic compounds: a critical review. part I. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 80, p. 641-654, 2016.

ANP. Boletim Mensal da Produção de Petróleo e Gás Natural, 2018. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/publicacoes/boletins-anp/2395-boletim-mensal-da-producao-de-petroleo-e-gas-natural>>. Acesso em: 06 Agosto 2018.

AOAC. **Official methods of analysis of AOAC International, in Guidelines for Standard Method Performance Requirements (Appendix F)**. Gaithersburg: AOAC International, 2012.

ARTHUR, C. L.; PAWLISZYN, J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. **American Chemical Society**, v. 62, p. 2145-2148, 1990.

BARREIRA, L. M. F. **Solid-phase microextraction based sampling techniques for the analysis of volatile organic compounds in the atmosphere**. Helsinki: University of Helsinki, 2017.

BEZERRA, M. A. et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v. 76, p. 965-977, 2008.

BRASIL, LEI N. 12.305 DE 2 DE AGOSTO DE 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos.

CHAUHAN, A.; GOYAL, M. K.; CHAUHAN, P. GC-MS Technique and its Analytical Applications in Science and Technology. **Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques**, v. 5, n. 6, p. 1-5, 2014.

CONAMA, RESOLUÇÃO N° 313 DE 29 DE OUTUBRO DE 2002. **Gestão de resíduos e produtos perigosos**. [S.l.].

DEGEL, F. Comparison of new solid-phase extraction methods for chromatographic identification of drugs in clinical toxicological analysis. **The Canadian Society of Clinical Chemists**, v. 29, n. 6, p. 529-540, 1996.

DOMÍNGUEZ, I. et al. Automated and simultaneous determination of priority substances and polychlorinated biphenyls in wastewater using headspace solid phase microextraction and high resolution mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 1002, n. 9, p. 39-49, 2018.

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.

ELEKTOROWICZ, M.; HABIBI, S. Sustainable waste management: recovery of fuel from petroleum sludge. **Canadian Journal of Civil Engineering**, n. 32, p. 164-169, 2005.

ESTRADA-ARRIAGA, E. B.; ZEPEDA-AVILES, J. A.; GARCÍA-SÁNCHEZ, L. Post-treatment of real oil refinery effluent with high concentrations of phenols using photo-ferrioxalate and Fenton's reactions with membrane process step. **Chemical Engineering Journal**, v. 285, p. 508-516, 2016.

EURO CHLOR. **1,2,4-trichlorobenzene**. Euro Chlor. [S.l.], p. 37. 2002.

FERREIRA, S. L. C. et al. Multivariate optimization techniques in food analysis – A review. **Food Chemistry**, p. 1-6, 2017.

FRENA, M.; MADUREIRA, L. A. S.; TONIETTO, A. E. Application of Solid Phase Microextraction and Gas Chromatography for the Determination of BTEX in Solid Petroleum Residues.. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 24, p. 1530-1536, 2013.

FROMBERG, A. et al. Analysis of chloro- and nitroanilines and -benzenes in soils by headspace solid-phases microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 746, p. 71-81, 1996.

GROSJEAN, D. Atmospheric fate of toxic aromatic compounds. **The Science of the total environmental**, v. 100, p. 367-414, 1991.

HASHEMI, B.; ZOHRABI, P.; SHAMSIPUR, M. Recent developments and applications of different sorbents for SPE and SPME from biological samples. **Talanta**, v. 187, p. 337-347, 2018.

HOFFMANN, E. D.; STROOBANT, V. **Mass Spectrometry**. 3^a. ed. West Sussex: John Wiley, 2007.

INMETRO. **DOQ-CGCRE-008**: Orientação sobre validação de métodos analíticos. 7. ed. Rio de Janeiro: INMETRO, 2018.

ISLAS, G. et al. Dispersive Solid Phase Extraction for the Analysis of Veterinary Drugs Applied to Food Samples: A Review. **International Journal of Analytical Chemistry**, p. 16, 2017.

JAMES, K. J.; STACK, M. A. The determination of volatile organic compounds in soil using solid phase microextraction with gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of High Resolution Chromatography**, v. 19, n. 9, p. 515-519, 1996.

JANOSCHEK, L.; GROZDEV, L.; BERENSMEIER, S. Membrane-assisted extraction of monoterpenes: from in silico solvent screening towards biotechnological process application. **Royal Society Open Science**, v. 5, p. 15, 2018.

KIN, C. M. **DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A SOLID PHASE MICROEXTRACTION METHOD FOR SIMULTANEOUS DETERMINATION OF PESTICIDE RESIDUES IN FRUITS AND VEGETABLES BY GAS CHROMATOGRAPHY**. University of Malaya. Kuala Lumpur, p. 312. 2008.

KOEL, M.; KALJURAND, M. Application of the principles of green chemistry in analytical chemistry. **Pure and Applied Chemistry**, v. 78, n. 11, p. 1993-2002, 2006.

KUDLEJOVA, L.; RISTICEVIC, S.; VUCKOVIC, D. Solid-Phase Microextraction Method Development. In: PAWLISZYN, J. **Handbook of Solid Phase Microextraction**. 1^a Edição. ed. London: Elsevier, 2012. Cap. 7, p. 201-249.

- LAAKS, J. et al. In-Tube Extraction-GC-MS as a High-Capacity Enrichment Technique for the Analysis of Alcoholic Beverages. **J. Agric. Food Chem.**, v. 62, n. 14, p. 3081–3091, 2014.
- LAHANIATIS, E. S. et al. Bildung von chlorierten organischen verbindungen bei der verbrennung von polyäthylen in gegenwart von natriumchlorid. **Chemosphere**, v. 10, n. 11/12, p. 1321-1326, 1981.
- LAMBROPOULOU, D. A.; ALBANIS, T. A. Optimization of headspace solid-phase microextraction conditions for the determination of organophosphorus insecticides in natural water. **Journal of Chromatography A**, v. 922, p. 243-255, 2001.
- LI, X.-J. et al. Solid-phase microextraction using a diglycidyl ether poly(ethylene glycol) coated fiber combined with gas chromatography: very simple, rapid and sensitive method for the determination of chlorobenzenes in water. **Microchim Acta**, v. 168, p. 161-167, 2010.
- LORD, H.; PAWLISZYN, J. Evolution of solid-phase microextraction technology. **Journal of chromatography A**, v. 885, p. 153-193, 2000.
- LUCKOW, T.; DELAHUNTY, C. Consumer acceptance of orange juice containing functional ingredients. **Food research international**, v. 37, p. 805-814, 2004.
- LUNDSTEDT, T. et al. Experimental design and optimization. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 42, p. 3-40, 1998.
- MARSOL-VALL, A. et al. Development of a SBSE-TD method coupled to GC-MS and chemometrics for the differentiation of variety and processing conditions in peach juices. **Food Chemistry**, v. 239, n. 15, p. 119-125, 2018.
- MEEK, M. E.; GIDDINGS, M.; GOMES, R. 1,2-Dichlorobenzene: Evaluation of risks to health from environmental exposure in Canada. **Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology Review**, v. 12, n. 2, p. 269-275, 1994.
- MEEK, M. E.; GIDDINGS, M.; GOMES, R. Monochlorobenzene: Evaluation of risks to health from environmental exposure in Canada. **Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology Reviews**, v. 12, n. 2, p. 409-415, 1994.
- MENDES, L. D. et al. Development of an eco-friendly method for the determination of total polychlorinated biphenyls in solid waste by gas

chromatography-mass spectrometry. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 4, p. 5042-5048, 2018.

MERIB, J. et al. Determination of compounds with varied volatilities from aqueous samples using a polymeric ionic liquid sorbent coating by direct immersion-headspace solid-phase microextraction. **Analytical Methods**, v. 8, n. 20, p. 4108-4118, 2016.

MOODLEY, K. G. et al. A rapid method for determining chlorobenzenes in dam water systems. **Water SA**, v. 39, n. 1, p. 23-30, 2013.

NAMIEŚNIK, J. Green Analytical Chemistry - Some Remarks. **Journal of Separation Science**, v. 24, p. 151-153, 2001.

ORAZBAYEVA, D. et al. Quantification of BTEX in Soil by Headspace SPME-GC-MS Using Combined Standard Addition and Internal Standard Calibration. Dina Orazbayeva, Bulat Kenessov, Email author, Jacek A. Koziel, Dayana Nassyrova, Nadezhda V. Lyabukhova. **Chromatographia**, v. 80, n. 8, p. 1249-1256, 2017.

OUYANG, G.; JIANG, R. **Solid Phase Microextraction**. Berlin: Springer, 2017.

OUYANG, G.; PAWLISZYN, J. SPME in environmental analysis. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 386, 2006. 1059-1073.

PAWLISZYN, J. Theory of Solid-Phase Microextraction. In: PAWLISZYN, J. **Handbook of Solid Phase Microextraction**. 1ª Edição. ed. London: Elsevier, 2012. Cap. 2, p. 13-59.

RAGHANI, A. R. High-speed gas chromatographic analysis of solvents in pharmaceuticals using solid phase microextraction. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 29, p. 507-518, 2002.

REYES-GARCÉS, N. et al. Advances in Solid Phase Microextraction and Perspective on Future Directions. **Analytical Chemistry**, v. 90, p. 302-360, 2018.

SANTOS, F. J.; SARRIÓN, M. N.; GALCERAN, M. T. Analysis of chlorobenzenes in soils by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-ion trap mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 771, p. 181-189, 1997.

SARRIÓN, M. N.; SANTOS, F. J.; GALCERAN, M. T. Strategies for the analysis of chlorobenzenes in soils using solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-ion trap mass spectrometry. **Journal of chromatography A**, n. 819, p. 197-209, 1998.

SCHRAMM, F. R. Ecologia, ética e saúde: O princípio da responsabilidade. In: LEAL, M. C., et al. **Saúde, Ambiente e Desenvolvimento**. São Paulo: Hicitec, v. II, 1992. p. 233-255.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An Analysis of Variance Test for Normality. **Biometrika**, v. 52, n. 3, p. 591-611, Dezembro 1965.

SHIREY, R. E. SPME commercial devices and fibre coatings. In: PAWLISZYN, J. **Handbook of solid phase microextraction**. 1ª Edição. ed. Londres: Elsevier, 2012. p. 99-133.

SILVA, D. F.; LIMA, G. F. D. C. EMPRESAS E MEIO AMBIENTE: CONTRIBUIÇÕES DA LEGISLAÇÃO AMBIENTAL. **Revista Internacional Interdisciplinar INTERthesis**, Florianópolis, v. 10, n. 2, p. 334-359, 2013.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios da análise instrumental**. 6ª. ed. São Paulo: Bookman, 2009.

STENERSON, K. K. et al. Application of SPME Using an Overcoated PDMS–DVB Fiber to the Extraction of Pesticides From Spaghetti Sauce: Method Evaluation and Comparison to QuEChERS. **LCGC North America**, v. 34, n. 7, p. 500-509, 2016.

TOBISZEWSK, M.; NAMIES, J. Direct chromatographic methods in the context of green analytical chemistry. **Trends in analytical chemistry**, v. 35, p. 67-73, 2012.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Validated Test Method 8260D**: Volatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS). Washington: USEPA, 2017.

USEPA (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY). **Hazard ranking system issue analysis**. USEPA. Washington, p. 135. 1987.

USEPA. **Method 1311 - Toxicity Characteristic Leaching Procedure**. Washington: USEPA, 1992.

VALENTE, A. L. P.; AUGUSTO, F. Microextração por fase sólido. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 523-530, 2000.

VARIAN. 210-MS, 220-MS, and 225-MS GC/MS Ion Trap Mass Spectrometer: Hardware Operation Manual, 2009. Disponível em: <<https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/public/954144.pdf>>. Acesso em: 31 Dezembro 2017.

YANG, X.; PEPPARD, T. Solid-Phase Microextraction of Flavor Compounds — A Comparison of Two Fiber Coatings and a Discussion of the Rules of Thumb For Absorption. **LC GC North America**, v. 13, n. 11, p. 882-886, 1995.

ZGOLA-GRZEŚKOWIAK, A.; GRZEŚKOWIAK, T. Dispersive liquid-liquid microextraction. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, n. 9, p. 1382-1399, 2011.