



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

Marina Pereira Coelho

**DETERMINAÇÃO DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS
AROMÁTICOS EM AMOSTRAS AQUOSAS POR EXTRAÇÃO LÍQUIDO-
LÍQUIDO EM MEMBRANA MICROPOROSA APRIMORADA COM
NANOPARTÍCULAS DE PALÁDIO**

Florianópolis/SC

2019

Marina Pereira Coelho

**DETERMINAÇÃO DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS
AROMÁTICOS EM AMOSTRAS AQUOSAS POR EXTRAÇÃO LÍQUIDO-
LÍQUIDO EM MEMBRANA MICROPOROSA APRIMORADA COM
NANOPARTÍCULAS DE PALÁDIO**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Augusto dos Santos Madureira

Florianópolis/SC

2019

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

Coelho, Marina

DETERMINAÇÃO DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS
EM AMOSTRAS AQUOSAS POR EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO EM
MEMBRANA MICROPOROSA APRIMORADA COM NANOPARTÍCULAS DE
PALÁDIO / Marina Coelho ; orientador, Luiz Augusto dos
Santos Madureira, 2019.

71 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas,
Programa de Pós-Graduação em Química, Florianópolis, 2019.

Inclui referências.

1. Química. 2. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos.
3. Preparo de amostra. 4. Nanopartículas de paládio . 5.
MMLLE. I. dos Santos Madureira, Luiz Augusto . II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós
Graduação em Química. III. Título.

Marina Pereira Coelho

**DETERMINAÇÃO DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS
AROMÁTICOS EM AMOSTRAS AQUOSAS POR EXTRAÇÃO LÍQUIDO-
LÍQUIDO EM MEMBRANA MICROPOROSA APRIMORADA COM
NANOPARTÍCULAS DE PALÁDIO**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca
examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Luiz Augusto dos Santos Madureira
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Prof. Dr^a. Dilma Budziak
Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Dr^a. Morgana Frena
Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi
julgado adequado para obtenção de título de mestre em Química Analítica.

Prof. Dr. Marcus Mandolesi Sá
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Química

Prof. Dr. Luiz Augusto dos Santos Madureira
Orientador

Florianópolis, 2019

Dedico aos meus pais, Vanderlei e Verônica.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Verônica e Vanderlei, e minhas irmãs Daiane e Vanderléa por todo apoio incondicional, sempre incentivando meus sonhos e me guiando em todas as escolhas, sem vocês nada disso seria possível. Amo vocês.

A Isabel, por todo apoio e incentivo nos momentos que mais precisei. Agradeço por estar ao meu lado todos os dias ao longo dessa etapa, me aconselhado em todas as escolhas e me acalmado nos momentos mais difíceis, sua presença tornou todos os desafios mais leves. Amo você.

A todos os meus amigos que estiveram presente ao longo desses anos, Diogo, Lucas Murara, Duda, Carol, Cecília, Leila e Karine. Agradeço aos momentos felizes que fizeram toda diferença ao lado de vocês. Um agradecimento especial ao Lucas Morés, pelo apoio e compartilhamento de ideias. Por toda disponibilidade e ajuda, agradeço imensamente.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luiz Augusto dos Santos Madureira, por todos os ensinamentos transmitidos ao longo de dois anos de pesquisa. Agradeço pela orientação, amizade, paciência e apoio em todos os momentos.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Química Ambiental e Geoquímica Orgânica, Angela, Sara, Josi, Cecília e Gustavo pelo convívio diário e produtivas discussões. Principalmente a Karine, por todos os ensinamentos transmitidos e por dividir os desafios do dia-a-dia da pesquisa, sou muito grata.

Ao grupo de pesquisa coordenado pelo Prof. Dr. Josiel Barbosa Domingos do Laboratório de Catálise Biomimética (LaCBio), em especial ao Welman Elias pela colaboração com as nanopartículas de paládio.

Ao Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da UFSC pelo auxílio com as análises de microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de energia dispersiva.

A todos os professores do Departamento de Química que contribuíram para a minha formação.

A UFSC e ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFSC pela oportunidade e pelo ensino de qualidade.

A CAPES pela bolsa de estudos concedida, permitindo dedicação exclusiva ao Programa de Pós-Graduação em Química.

Eu aprendi algo duradouro, em um período de tempo muito curto, sobre a vida, que ela é gloriosa e que você não pode simplesmente desvalorizá-la.

Anna Quindlen

RESUMO

Os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA) são amplamente conhecidos como poluentes orgânicos persistentes. A presença de HPA em amostras aquosas ambientais resulta diretamente na qualidade da água e está associada a efeitos negativos à saúde humana, principalmente por seus efeitos tóxicos e carcinogênicos. Neste estudo o objetivo foi desenvolver uma metodologia analítica simples e com reduzidos volumes de solventes, explorando a técnica de extração líquido-líquido em membrana microporosa (MMLLE) aprimorada com nanopartículas de paládio (NPs-Pd) para a determinação simultânea de 16 HPA em amostras aquosas. No delineamento experimental, foram fixados o comprimento de 2,2 cm de extensão da membrana de fibra oca de polipropileno Q 3/2 Accurel PP, o volume de 3 μL de suspensão de NPs-Pd em tolueno (1000 mg L^{-1}) mantidas na fase orgânica (fase receptora), o volume de 10 mL de amostra aquosa (fase doadora) e a taxa de agitação em 500 rpm. Foram otimizados os parâmetros significativos estatisticamente da metodologia analítica por meio de planejamentos multivariados de superfícies de respostas, com exceção do estudo de efeito *salting out*. Os melhores solventes de extração e dessorção foram 1-octanol e acetonitrila, respectivamente. A etapa de dessorção foi realizada em banho ultrassônico com volume de 150 μL de solvente orgânico. Os tempos ótimos de extração e dessorção foram alcançados em 70 e 30 min, respectivamente. A concentração de sal (NaCl) apresentou sua condição ótima em 5% (m/v). Na avaliação da metodologia desenvolvida, foram obtidos limites de detecção e quantificação de 1,5 e 5 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, para os 16 HPA de estudo. Os coeficientes de correlação obtidos foram maiores ou igual a 0,9839. A precisão e exatidão do método foram avaliadas pelo desvio padrão relativo (DPR %) interdia e intradia. A precisão interdia ($n = 9$) variou de 8,8 a 20% e a precisão intradia variou de 0,3 a 18,4% ($n = 3$). A exatidão do método foi expressa pelas recuperações relativas para o naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno e benzo(a)pireno onde variou de 51 a 126 %. Para os compostos indeno(1,2,3-cd)pireno, dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno as recuperações obtidas foram abaixo de 37%. A técnica desenvolvida foi aplicada em amostra aquosa da Lagoa do Peri, Florianópolis, SC e não foram identificados nenhum dos 16 HPA acima do limite de detecção do método analítico. A técnica MMLLE aprimorada com NPs-Pd foi devidamente otimizada e validada, com capacidade de extração de 16 HPA em amostras aquosas ambientais.

Palavras-chave: Amostras aquosas, HPA, MMLLE, nanopartículas de paládio, otimização.

ABSTRACT

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) are known as persistent organic pollutants. The presence of PAH in aqueous environmental samples is directly related to the water quality and associated with negative effects on human health, mainly due to the toxic and carcinogenic effects. This study aimed the development of a simple analytical methodology employing low volume of solvents, exploring the Microporous Membrana Liquid-Liquid Extracion (MMLLE) technique with palladium nanoparticles (Pd-NPs) for the simultaneous determination of 16 PAH in aqueous samples. In the experimental design, 2.2 μm length of porous membrane, 3 μL of suspended Pd-NPs in toluene (1000 mg L^{-1}) maintained in the organic phase (acceptor phase), 10 mL volume of aqueous sample (donor phase) and the stirring rate at 500 rpm have been established. Statistically significant parameters of the analytical methodology were optimized through multivariate scheduling, with the exception of the salting out effect study. The best extraction and desorption solvents were 1-octanol and acetonitrile, respectively. The desorption step was performed in an ultrasonic bath with a volume of 150 μL of organic solvent. The selected times for extraction and desorption were 70 and 30 min, respectively. The salt concentration (NaCl) presented its optimal condition at 5% (m/v). In the evaluation of the methodology, the limits of detection and quantification were 1.5 and 5 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectively, for the 16 target PAH. The correlation coefficients obtained were greater than or equal to 0.9839. The precision and accuracy of the method were evaluated by the relative standard deviation (RSD%) interdia and intradia. The interday precision ($n = 9$) ranged from 8.8 to 20% and intraday precision ranged from 0.3 to 18.4% ($n = 3$). The accuracy of the method was expressed by the relative recoveries for naphthalene, acenaphthene, acenaphthene, fluorene, phenanthrene, anthracene, fluoranthene, pyrene, benzo(a)anthracene, chrysene, benzo(b)fluoranthene, benzo(k)fluoranthene and benzo(a)pyrene ranging from 51 to 126%. For indene(1,2,3-cd)pyrene, dibenzo(a,h)anthracene and benzo(g,h,i)perylene the recoveries obtained were below 37%. The technique developed was applied to aqueous sample from Lagoa do Peri, Florianópolis, SC, and PAH was not identified above the limit of detection of the analytical method. The improved MMLLE technique with Pd-NPs was duly optimized, increasing the extraction capacity of 16 PAH in aqueous samples.

Keywords: Aqueous samples, PAH, MMLLE, palladium nanoparticles, optimization.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Preparo de membranas porosas com nanopartículas de paládio.	35
Figura 2: Cromatograma da separação dos 16 HPA de estudo. 1-naftaleno; 2-acenaftileno; 3-acenafteno; 4-fluoreno; 5-fenantreno; 6-antraceno; 7-fluoranteno; 8-pireno; 9-benzo(a)antraceno; 10-criseno; 11-benzo(b)fluoranteno; 12-benzo(k)fluoranteno; 13-benzo(a)pireno; 14-indeno(1,2,3-cd)pireno; 15-dibenzo(a,h)antraceno; 16-benzo(g,h,i)perileno.....	43
Figura 3: Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície da membrana de fibra oca de polipropileno Q 3/2 Accurel PP, sendo A: Membrana sem presença de nanopartículas de paládio e B: Membrana com presença de nanopartículas de paládio.	44
Figura 4: Espectro de EDS para área analisada da membrana de fibra oca de polipropileno Q 3/2 Accurel PP sem a presença de nanopartículas de paládio.....	45
Figura 5: Espectro de EDS para área analisada da membrana de fibra oca de polipropileno Q 3/2 Accurel PP com a presença de nanopartículas de paládio.	45
Figura 6: Avaliação do desempenho de extração de HPA aplicando o modelo de extração convencional e proposto.....	47
Figura 7: Superfície ternária Simplex Lattice obtida para otimização do solvente de extração.	49
Figura 8: Superfície ternária Simplex Lattice obtida para otimização do solvente de dessorção.....	50
Figura 9: Gráfico de Pareto obtido para o planejamento experimental dos parâmetros estatisticamente significativos do grupo 1.	52
Figura 10: Superfícies de resposta obtidas pelo planejamento fatorial completo para o grupo 1.	53
Figura 11: Gráfico de Pareto obtido para o planejamento experimental dos parâmetros estatisticamente significativos do grupo 2.	54

Figura 12: Superfícies de resposta obtidas pelo planejamento fatorial completo para o grupo 2.	55
Figura 13: Comparação da distribuição espacial do Fenantreno, Pireno e Criseno.	56
Figura 14: Gráfico de barras obtido pela otimização univariada da concentração de sal para o grupo 1.	57
Figura 15: Gráfico de barras obtido pela otimização univariada da concentração de sal para o grupo 2.	58
Figura 16: Superfície de resposta obtida pelo planejamento <i>Doehlert</i> para otimização do tempo de extração e tempo de dessorção.	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Estruturas químicas dos 16 HPA considerados poluentes prioritários pela USEPA	20
Tabela 2: Planejamento de misturas de superfície ternária <i>Simplex Lattice</i> para escolha do solvente de extração	37
Tabela 3: Planejamento de misturas de superfície ternária <i>Simplex Lattice</i> para escolha do solvente de dessorção	38
Tabela 4: Planejamento fatorial completo 2^3	39
Tabela 5: Planejamento <i>Doehlert</i> para otimização do tempo de extração e tempo de dessorção	40
Tabela 6: Parâmetros otimizados para extração de 16 HPA	60
Tabela 7: Limites de detecção e quantificação, faixas lineares de trabalho, coeficientes de correlações lineares e equações lineares de 16 HPA.....	61
Tabela 8: Precisão interdia e intradia na amostra de água da Lagoa do Peri, Florianópolis, SC	63
Tabela 9: Recuperações relativas obtidas na amostra de água coletada na Lagoa do Peri, Florianópolis, SC.	64

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA – Análise de Variância

AOAC – Associação de Químicos Analíticos Oficiais, do inglês Association of Official Analytical Chemists

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio

DPR – Desvio Padrão Relativo

DQO – Demanda Química de Oxigênio

EDS – Espectroscopia de Energia Dispersiva, do inglês Energy Dispersive Spectrometry

FS – Folha Plana, do inglês Flat Sheet

GC – Cromatografia Gasosa, do inglês Gas Chromatography

GC-MS – Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas, do inglês Gas Chromatography – Mass Spectrometry

HF-LPME – Microextração em Fase Líquida suportada com Fibra Oca, do inglês Hollow Fiber – Liquid Phase Microextraction

HPA – Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, do inglês High Performance Liquid Chromatography

HS – Fibra Oca, do inglês Hollow Fiber

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

LLE – Extração Líquido-Líquido, do inglês Liquid-Liquid Extraction

LOD – Limite de Detecção, do inglês Limit of Detection

LOQ – Limite de Quantificação, do inglês Limit of Quantification

LPME – Microextração em Fase Líquida, do inglês Liquid Phase Microextraction

MALDI – Ionização e Dessorção a Laser Assistida por Matriz, do inglês Matrix – Assisted Laser Desorption/Ionization

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura, do inglês Scanning Electronic Microscopy

MMLLE – Extração Líquido-Líquido em Membrana Microporosa, do inglês Microporous Membrana Liquid-Liquid Extracion

MS – Espectrometria de Massas, do inglês Mass Spectrometry

NPs-Pd – Nanopartículas de Paládio

PP – Polipropileno

PTFE – Politetrafluoretileno

PVDF –Difluoreto de Polivinilideno

SC – Santa Catarina

SIM – Monitoramento de Íon Seleccionado, do inglês Select Ion Monitoring

SPE – Extração em Fase Sólida, do inglês Solid Phase Extraction

SPME – Microextração em Fase Sólida, do inglês Solid Phase Microextraction

USEPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, do inglês United States Environmental Protection Agency

SÚMARIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS	19
2.1.1 Fontes de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos	21
2.1.2 Monitoramento de hidrocarbonetos em água	21
2.1.3 Efeitos fisiológicos dos HPA à saúde humana	22
2.2 PREPARO DE AMOSTRA	24
2.2.1 Microextração em fase líquida suportada com fibra oca (HF-LPME)	25
<i>2.2.1.1 Configurações da HF-LPME.....</i>	<i>26</i>
2.2.2 Extração líquido-líquido em membrana microporosa (MMLLE)	28
2.3 NANOMATERIAIS	29
3 OBJETIVOS	33
3.1 OBJETIVO GERAL	33
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
4 METODOLOGIA	34
4.1 INSTRUMENTAÇÃO	34
4.2 MATERIAIS E REAGENTES	34
4.3 PREPARO DA MEMBRANA POROSA COM NANOPARTÍCULAS DE PALÁDIO.....	35
4.3.1 Caracterização da membrana estruturada com nanopartículas de paládio ..	36
4.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL – EXTRAÇÃO E DESSORÇÃO	36
4.5 AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DE EXTRAÇÃO UTILIZANDO MEMBRANAS MICROPOROSAS ESTRUTURADAS COM NANOPARTÍCULAS DE PALÁDIO	36
4.6 OTIMIZAÇÃO	37

4.6.1 Otimização do solvente de extração	37
4.6.2 Otimização do solvente de dessorção	38
4.6.3 Planejamento experimental de otimização	38
4.6.4 Otimização da concentração de NaCl.....	39
4.6.5 Otimização do tempo de extração e tempo de dessorção	39
4.7 AVALIAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA	40
4.7.1 Figuras de mérito	40
4.7.2 Precisão e exatidão	40
5 RESULTADOS	42
5.1 SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA	42
5.2 CARACTERIZAÇÃO DA MEMBRANA	44
5.3 DESEMPENHO DA EXTRAÇÃO	46
5.4 OTIMIZAÇÕES DO MÉTODO PROPOSTO	48
5.4.1 Otimização do solvente de extração	48
5.4.2 Otimização do solvente de dessorção	49
5.4.3 Planejamento experimental de otimização	50
5.4.4 Otimização da concentração de sal.....	56
5.4.5 Otimização do Tempo de Extração vs Tempo de Dessorção	59
5.4.6 Condições Otimizadas do Método	60
5.5 FIGURAS ANALÍTICAS DE MÉRITO	61
6 CONCLUSÃO	66
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67

1 INTRODUÇÃO

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) são amplamente conhecidos como poluentes orgânicos persistentes e são encontrados em diversos compartimentos ambientais. Atualmente a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) classifica dezesseis HPA como poluentes prioritários, sendo estes o naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo (b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, indeno(1,2,3-cd)pireno, dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno (BERIRO et al., 2016; MALETIC et al., 2019). Estudos que identifiquem e quantifiquem os HPA presentes em amostras ambientais são de grande importância, pois os HPA apresentam potencial tóxico e carcinogênico à saúde humana, principalmente quando ocorre a exposição a matrizes contaminadas (RENGARAJAN et al., 2015).

O monitoramento de HPA em amostras aquosas ambientais envolve normalmente técnicas analíticas exaustivas e exigem volumes excessivos de solvente orgânico. Portanto a busca de novos métodos de preparo de amostra eficiente para a extração de compostos poluentes presentes em matrizes ambientais é de extrema importância para melhorias no âmbito da pesquisa, principalmente no que se refere à aplicação dos princípios da química verde (ASENSIO-RAMOS et al., 2011; MERIB; CARASEK, 2013). Entre as técnicas de preparo de amostra que se destacam pela alta capacidade de pré-concentração dos analitos, está a técnica denominada extração líquido-líquido em membrana microporosa (MMLLE). Nesta técnica, a extração dos analitos presentes na amostra (fase doadora) ocorre através da interação com solvente orgânico imobilizado nos poros da membrana de fibra oca (fase receptora) (GONZÁLEZ-PEÑAS et al., 2004).

Entre os avanços em preparo de amostra, a integração de nanomateriais a técnicas microextrativas se destaca por apresentar materiais com grandes áreas de superfície e hidrofobicidade elevada, resultando em alta capacidade de sorção de determinados analitos. Os nanomateriais estão sendo aprimorados no desenvolvimento de novas configurações de técnicas que utilizam membranas microporosas, resultando em métodos mais sensíveis e eficientes (BERIRO et al., 2016). Nessa nova configuração, os nanomateriais são mantidos no lúmen ou apenas nos poros junto à fase receptora, resultando em melhor desempenho de extração dos analitos de interesse, onde

os nanomateriais atuam como via adicional para a extração de solutos, envolvendo extrações em fase líquida e em fase sólida (YANG; CHEN; SHI, 2015).

Devido às limitações encontradas nos métodos analíticos tradicionais para determinação de compostos contaminantes e ao potencial risco da exposição de HPA à saúde humana, este estudo tem como objetivo desenvolver uma metodologia analítica simples, empregando conceitos da química verde para a extração efetiva de 16 HPA em amostras aquosas, resultando em um preparo de amostra menos agressivo ao meio ambiente. A novidade do procedimento de extração empregado neste estudo foi utilizar nanopartículas de paládio preparadas em dispersão em solvente orgânico e immobilizadas nos poros da membrana microporosa em conjunto com o solvente extrator, como uma nova configuração da técnica MMLLE de fácil e rápido preparo. Os estudos utilizando nanomateriais para determinação de HPA em amostras ambientais ainda são escassos e, portanto, neste trabalho foi explorado o uso de nanopartículas de paládio como uma promissora ferramenta adicional de extração. A detecção dos 16 HPA foi realizada por cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (GC-MS).

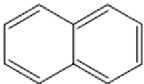
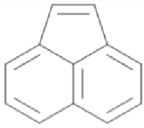
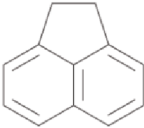
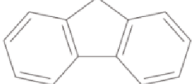
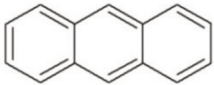
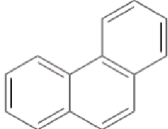
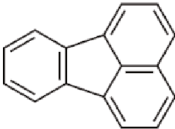
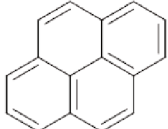
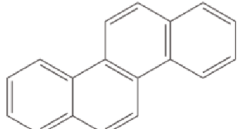
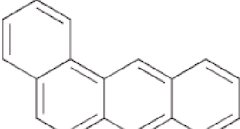
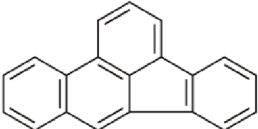
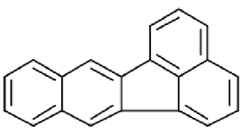
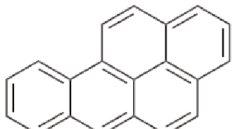
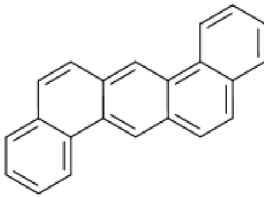
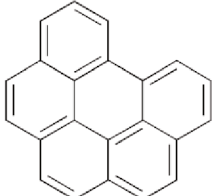
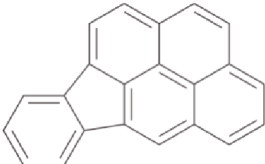
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) são compostos orgânicos cujas estruturas químicas apresentam, pelo menos, dois anéis aromáticos, sendo constituídos por átomos de carbono e hidrogênio. Os HPA são classificados em leves e pesados. O que os diferencia quanto à classificação é o número de anéis aromáticos condensados em sua estrutura. Os HPA leves apresentam até 3 anéis aromáticos condensados em sua estrutura, já HPA pesados apresentam de 4 a 6 anéis aromáticos (PURCARO; MORET; CONTE, 2013). Os HPA podem apresentar grupos alquila como substituintes dos átomos de hidrogênio ligados à estrutura do anel aromático, como por exemplo, 2-metilnaftaleno. Esses compostos são classificados como HPA alquilados. Em geral os HPA apresentam-se principalmente como sólidos amarelo pálido, branco ou incolores e são caracterizados como hidrofóbicos e lipofílicos, com redução de sua solubilidade em água de acordo com o aumento da massa molar.

Atualmente os HPA estão recebendo maior atenção dos órgãos governamentais e do meio científico, pois são considerados poluentes orgânicos persistentes, tóxicos, carcinogênicos e genotóxicos, com potencial risco à saúde humana. A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) classifica 16 HPA (Tabela 1) como poluentes prioritários: naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, indeno(1,2,3,cd)pireno, dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno (BERIRO et al., 2016; MALETIC et al., 2019). No Brasil, a legislação vigente para HPA em água doce é descrita pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) na Resolução nº 357/2005, que estabelece uma concentração máxima permitida de até 0,05 $\mu\text{g L}^{-1}$ para a presença de benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, indeno(1,2,3 – cd)pireno e dibenzo(a,h)antraceno. Estes HPA estão relacionados diretamente com o aumento da incidência de câncer (BRASIL, 2005).

Tabela 1: Estruturas químicas dos 16 HPA considerados poluentes prioritários pela USEPA

Nomenclatura IUPAC	Estrutura	Nomenclatura IUPAC	Estrutura
Naftaleno		Acenaftileno	
Acenafteno		Fluoreno	
Antraceno		Fenantreno	
Fluoranteno		Pireno	
Criseno		Benzo(a)antraceno	
Benzo(b)fluoranteno		Benzo(k)fluoranteno	
Benzo(a)pireno		Dibenzo(a,h)antraceno	
Benzo(g,h,i)perileno		Indeno(1,2,3-cd)pireno	

2.1.1 Fontes de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

Os HPA são oriundos de fontes antropogênicas e naturais. As fontes antropogênicas representam a fração mais significativa da origem desses compostos. A maioria dos HPA presentes no ambiente são resultados de processos incompletos de combustão e pirólise de carbono orgânico em alta temperatura (500-700 °C). A formação de HPA acontece por meio de precursores contendo átomos de carbono e hidrogênio que, submetidos à alta temperatura, dão origem a pequenos fragmentos instáveis que se recombinaem para a formação de HPA relativamente mais estáveis. Em baixa temperatura (100-150 °C) a formação desses compostos também ocorre, porém necessita de um período em escala de tempo geológico e uma maior quantidade de HPA alquilados é formada (PURCARO; MORET; CONTE, 2013).

De acordo com a origem do processo de formação dos HPA, estes podem ser classificados em pirogênicos, biogênicos e petrogênicos. As fontes naturais desses compostos são limitadas, se resumindo principalmente por incêndios florestais e erupções vulcânicas. Entre os processos pirolíticos, destacam-se as operações industriais, emissões veiculares, incineração, combustão doméstica de carvão e a fumaça de cigarro que é composta em grande parte por HPA. Os HPA biogênicos são provenientes de microorganismos terrestres e aquáticos. Já os HPA petrogênicos são derivados de petróleo bruto e alguns dos seus subprodutos e também podem chegar ao meio ambiente através de derramamentos de óleos, o que causa impacto negativo aos ecossistemas (GAO et al., 2018; IDOWU et al., 2019; RAZA et al., 2018).

Os HPA liberados para o meio ambiente podem ser transportados para longe de suas fontes de origem. Dessa maneira são passíveis de atingir todos os compartimentos ambientais, como a água, sedimentos, ar, solo e plantas. Essa capacidade de se acumular em diversas matrizes resulta na contaminação de espécies aquáticas e terrestres. Do mesmo modo, os HPA podem ser encontrados em suprimentos na dieta humana, tornando a alimentação à principal via de exposição de HPA para não fumantes, pois para fumantes, a fumaça do cigarro torna-se a principal fonte de contato com esses compostos (GAO et al., 2018; POINOT; GAILLARD; PARIS, 2018).

2.1.2 Monitoramento de hidrocarbonetos em água

A água é um componente essencial para sobrevivência de diversos ecossistemas, e sua importância é imensurável para diversos setores da sociedade, como para a saúde,

alimentação, geração de energia e economia. O crescimento populacional, o desenvolvimento industrial e longos períodos de secas motivaram a busca de água de qualidade. Os principais parâmetros de qualidade da água estão relacionados a aspectos químicos, físicos e biológicos. Entre os aspectos químicos que são avaliados estão o pH; alcalinidade; dureza; concentrações de cloretos, ferro, manganês, nitrogênio, fósforo e fluoretos; teor de oxigênio dissolvido; demanda bioquímica de oxigênio (DBO); demanda química de oxigênio (DQO); componentes inorgânicos e componentes orgânicos (BRASIL, 2005).

A alta demanda de água exige um maior rigor da qualidade dos recursos hídricos. Porém, esses recursos estão sendo ameaçados por excesso de substâncias químicas indesejáveis, como alguns metais potencialmente tóxicos (arsênio, mercúrio, cobre, cádmio e entre outros) incorporados na água através de descarte de resíduos industriais ou a partir de atividades agrícolas e de mineração. Do mesmo modo, compostos orgânicos também são encontrados em água oriundos de fontes industriais, agrícolas, navegação e resíduos domésticos. Alguns compostos orgânicos apresentam resistência à degradação biológica, permanecendo por longos períodos no ambiente aquático, como por exemplo, agrotóxicos e compostos derivados de petróleo (LEUDJO; PILLAY; YANGKOU, 2017; ZHANG; FANG, 2010).

Compostos derivados de petróleo, conhecidos como hidrocarbonetos de petróleo são derivados principalmente do refino de petróleo. A entrada desses compostos no meio aquático ocorre pelo derramamento acidental de derivados de petróleo e atividades de navegação. Dentre os principais hidrocarbonetos de petróleo identificados em meios aquáticos estão os hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos. Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) e os hidrocarbonetos alifáticos de cadeias longas e ramificadas não são degradados facilmente, persistindo por longos períodos no ambiente (AL-HAWASH et al., 2018). Portanto, estudos que quantifiquem os HPA em amostras aquosas são importantes para estabelecer a qualidade da água, bem como a integridade dos recursos hídricos que são fundamentais para diversos setores da sociedade e ecossistemas.

2.1.3 Efeitos fisiológicos dos HPA à saúde humana

A exposição da população aos HPA pode representar um grande risco à saúde humana. Os efeitos adversos à saúde estão diretamente relacionados com a via de exposição, a quantidade, a concentração e principalmente com a toxicidade desses

compostos (RENGARAJAN et al., 2015). Atualmente a USEPA classifica sete compostos que apresentam prováveis atividades carcinogênicas em humanos, incluindo benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, indeno(1,2,3-cd)pireno e dibenzo(a,h)antraceno (GAO et al., 2018). No Brasil, a legislação vigente para disposição desses compostos presentes em água doce é descrita pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) na Resolução nº 357/2005, que estabelece uma concentração máxima permitida de até 0,05 $\mu\text{g L}^{-1}$ para os sete compostos descritos pela USEPA como prováveis carcinogênicos (BRASIL, 2005).

Os efeitos causados à saúde pela exposição a HPA variam de acordo com a exposição do indivíduo a matrizes contaminadas, estado de saúde e idade. Os efeitos agudos mais relatados em estudos são inflamações na pele, náuseas, vômitos, diarreia e irritação nos olhos. Deve-se considerar que esses sintomas de curto prazo podem estar atrelados a uma soma de fatores ligados a outros compostos, que resultam nos mesmos efeitos agudos causados pela exposição a HPA. Já para os efeitos crônicos são relatados casos de catarata, problemas respiratórios, diminuição da função imunológica, dano renal e hepático e anormalidades na função pulmonar, causas que estão diretamente relacionadas a uma exposição prolongada aos HPA (RENGARAJAN et al., 2015).

O efeito mais preocupante decorrente da exposição a níveis elevados de concentração de HPA é a capacidade dos metabólitos reativos realizarem ligações com o DNA e com proteínas celulares causando rupturas bioquímicas e danos celulares que resultam em mutações, tumores e câncer. Os tipos de câncer mais relatados em estudos são de pele e pulmão, principalmente em trabalhadores expostos a esses compostos em suas áreas de trabalho. No entanto pesquisas não confirmam com clareza se a exposição a HPA é a principal causa dos cânceres citados, já que esses trabalhadores também são submetidos simultaneamente a diversos outros agentes cancerígenos. A Agência Internacional de Pesquisa do Câncer relatou em diversos estudos que o benzo(a)pireno é cancerígeno em animais e potencialmente também em humanos. Quando animais foram expostos por longos períodos de tempo a misturas de HPA desenvolveram câncer de pulmão através da inalação, câncer de pele por contato direto e câncer de estômago quando ingerido. Esses estudos concluíram que o benzo(a)pireno é o principal composto responsável por diagnósticos de câncer, sendo esse composto o primeiro HPA cancerígeno químico descoberto, o que o torna um dos HPA de maior preocupação em nível de saúde pública e de maior interesse das pesquisas científicas (RENGARAJAN et al., 2015).

2.2 PREPARO DE AMOSTRA

O preparo de amostra é uma etapa fundamental para o sucesso da metodologia analítica a ser empregada para a determinação dos analitos de interesse. Com o preparo busca-se isolar e concentrar os analitos a níveis adequados obtendo-se uma condição de limpeza da amostra que não comprometa a análise química. A etapa de preparo de amostra depende das características do analito e da matriz, exigindo uma otimização adequada das variáveis que influenciam significativamente a extração dos compostos em estudo. Atualmente busca-se o desenvolvimento e melhoria dos métodos de preparo de amostras, visando a simplificação, miniaturização e automatização. Dessa forma reduz-se a utilização de solventes e conseqüentemente tornam-se menos agressivos ao meio ambiente, mantendo a eficiência da extração. A busca de técnicas de preparo de amostra eficientes e com menor impacto ambiental é de extrema importância para melhorias no âmbito da pesquisa e ciência consciente (ASENSIO-RAMOS et al., 2011; MERIB; CARASEK, 2013).

As primeiras técnicas a serem exploradas em preparo de amostra foram extração líquido-líquido (LLE) e a extração em fase sólida (SPE), sendo que ambas requerem longos períodos de extração e utilizam grandes volumes de solvente. Essas características as tornam indesejáveis para um preparo de amostra simples e eficiente (MAGALHÃES; BONATO; OLIVEIRA, 2009). Outro fato desafiador em preparo de amostra é a análise de contaminantes em matrizes ambientais. Além da complexidade da matriz, normalmente os analitos alvo estão presentes em níveis traços (BARCELLOS, 2018). Alternativamente, o preparo de amostra está sendo direcionado ao desenvolvimento de técnicas de microextração que abordam os objetivos de minimizar o consumo de solventes, miniaturizar e automatizar as extrações. Além disso, são mais eficientes em termos de tempo, custo e energia e cumprem diversos requisitos estabelecidos pela química analítica verde. Algumas das várias ações que contribuem com os conceitos da química analítica verde são eliminar ou minimizar o uso de solventes, reduzir o consumo de reagentes e resíduos, reduzir a escala de extração e o número de etapas, e determinações simultâneas de diversos analitos (ARMENTA et al., 2019).

Nas últimas décadas, visando os conceitos estabelecidos pela química analítica verde, as novas técnicas exploradas em preparo de amostra estão cada vez mais sendo exploradas. Seguindo essas propriedades, técnicas tais como a microextração em fase

sólida, extração por sorção em barra de agitação, microextração de gota única e microextração em fase líquida baseada em membrana são algumas das novas técnicas que substituíram as técnicas convencionais, estimulando o estudo e desenvolvimento de novos métodos de extração (CAPRIOTTI et al., 2015).

As técnicas de microextração em fase líquida baseada em membranas (MLPME) se destacaram entre as técnicas de microextração em fase líquida (LPME) por suas vantagens comparadas a outros métodos, incluindo alta eficiência de limpeza, maiores fatores de pré-concentração e consumo reduzido de solventes (ESRAFILI et al., 2018). Membranas de folha plana (FS) e fibra oca (HF) foram relatadas em estudos em biotecnologia, medicina, tratamento de água e química. Em preparo de amostra as membranas mais utilizadas são as orgânicas sintéticas compostas por materiais poliméricos porosos, principalmente de polipropileno (PP), politetrafluoretileno (PTFE) e difluoreto de polivinilideno (PVDF). O uso de membranas microporosas está sendo cada vez mais explorado sob diferentes nomes técnicos. A simplicidade como recurso para extração empregando microlitros de solventes se tornou de grande interesse para química analítica em relação ao desenvolvimento de metodologias modernas. (BARRI; AKE, 2008). Entre as várias técnicas desenvolvidas com membrana envolvendo LPME, se destaca a microextração em fase líquida suportada com fibra oca (HF-LPME) (CARASEK; MORÉS; MERIB, 2018).

2.2.1 Microextração em fase líquida suportada com fibra oca (HF-LPME)

A técnica de HF-LPME foi introduzida por Pedersen-Bjergaard em 1999, onde relataram o uso de uma membrana de polipropileno oca, porosa e hidrofóbica para extração de metanfetamina em amostras de plasma e urina. Os poros da membrana foram preenchidos com 1-octanol e no lúmen da membrana foi adicionada uma solução ácida. A amostra foi ajustada para pH básico por adição de NaOH e a extração dos analitos presente na amostra ocorreu pelo solvente orgânico seguindo para a solução ácida no interior da membrana. Ao final, a fase ácida contendo os analitos extraídos foi analisada por eletroforese capilar, demonstrando que extração de mentafetamina em amostras aquosas com o uso da técnica obteve resultados satisfatórios e confiáveis (PEDERSEN-BJERGAARD; RASMUSSEN, 1999).

2.2.1.1 Configurações da HF-LPME

A técnica HF-LPME pode ser usualmente aplicada em dois modos principais, distintos pelo número de fases líquidas envolvidas, sendo um modo de duas fases e um modo de três fases. A HF-LPME de duas fases consiste de uma fibra oca, porosa e hidrofóbica que é preenchida com um solvente orgânico imiscível em água, em seus poros e no lúmen formando a fase receptora, sendo a fase aquosa (amostra) a fase doadora. A HF-LPME de três fases se diferencia por ser introduzida uma terceira fase aquosa no lúmen da membrana que participa como fase receptora, de modo contrário ao modo bifásico, onde a solução receptora é uma solução orgânica (ESRAFILI et al., 2018). Nessa técnica os analitos são extraídos pela fase receptora, composta por alguns μL de uma solução presente nos poros e no interior da membrana que está diretamente imersa na fase doadora, os analitos migram da fase doadora para a fase receptora por difusão. Ao fim da extração, uma microseringa coleta a fase receptora do lúmen da membrana e o extrato obtido é encaminhado para análise final em equipamento compatível com os analitos e a fase receptora. Para determinação dos compostos orgânicos as técnicas mais utilizadas são cromatografia a gás, cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (GC-MS), eletroforese capilar e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). A HF-LPME também pode ser configurada para determinação de alguns metais. Para esse caso a literatura relata o uso de espectrometria de absorção atômica como ferramenta de análise (MERIB; CARASEK, 2013).

Para resultados aprimorados em HF-LPME, é necessário o ajuste de alguns parâmetros e as condições otimizadas dependem diretamente dos analitos a serem determinados e da análise subsequente para detecção. Os parâmetros a serem estudados incluem: tempo de extração; volumes das soluções; taxa de agitação; efeito *salting out*; pH da amostra, escolha da membrana e solvente orgânico (CARASEK; MORÉS; MERIB, 2018; MAGALHÃES; BONATO; OLIVEIRA, 2009). No que diz respeito ao tempo, a extração dos analitos ocorre por meio de transferência de massa e requer um determinado período de tempo e dependerá da natureza dos analitos, de modo que o tempo se torna um fator importante ao qual deve ser otimizado. O tempo de extração dependerá da massa molecular dos analitos e do tempo necessário para atingir o equilíbrio entre a concentração do analito na fase doadora e concentração do analito na fase receptora (MERIB; CARASEK, 2013).

Em relação ao volume de solventes, em sistemas de HF-LPME de duas ou três fases, o enriquecimento da fase receptora alcança melhores resultados quando se utiliza volumes relativamente pequenos de amostra e fase receptora, aspecto que torna a técnica muito atrativa. De maneira geral, para ambos os modos de atuação da técnica, a sensibilidade do método cresce de acordo com o decréscimo na razão entre a fase receptora e a amostra. Essa característica não pode ser observada com a técnica convencional de extração líquido-líquido devido ao uso de excessivos volumes de amostra e solventes orgânicos. A possibilidade de uso de pequenos volumes em ambas as fases associada a uma alta taxa de agitação resulta em maior eficiência de extração.

A taxa de agitação atua acelerando a cinética de extração através da difusão dos analitos presentes na amostra para a fase receptora. As taxas de agitação aplicadas nessa técnica podem variar próximo a 1500 e 2000 rpm para HF-LPME em três fases e HF-LPME em duas fases, respectivamente. O efeito *salting out* está relacionado com a adição de um sal na amostra para aumentar a eficiência de extração por meio da mudança na força iônica da solução. Para determinados analitos a adição de sal resulta em melhores resultados de extração. A influência significativa da presença de sal na amostra deve ser estudada para verificar a melhoria na extração. Para alguns analitos a presença de um sal pode não ser significativa e dependerá da natureza de cada analito em estudo. Além do estudo do efeito *salting out*, para alguns casos deve ser realizado um ajuste de pH da amostra para prevenir a ionização de analitos ácidos ou básicos. O ajuste permite que a eficiência da extração em HF-LPME seja mantida. Para analitos ácidos, o pH da amostra deve ser ajustado em um valor menor que pelo menos 1,5 unidade em relação ao pKa. E de maneira contrária para analitos básicos, onde o pH da amostra deve ser ajustado para pelo menos 1,5 unidade acima do pKa (MERIB; CARASEK, 2013).

A escolha da membrana está atrelada ao solvente orgânico, onde é necessária a escolha de uma membrana hidrofóbica para ideal interação com o solvente orgânico imiscível em água. Para que o solvente orgânico fique imobilizado é necessária uma membrana com alta porosidade (MERIB; CARASEK, 2013). Em HF-LPME a membrana mais utilizada é Acurel 3/2 Q Membrane (Wuppertal, Alemanha). Uma membrana microporosa composta de polipropileno com poros de 0,2 μm , espessura da parede de 200 μm e diâmetro interno de 600 μm (CARASEK; MERIB, 2015). Para escolher o solvente orgânico ideal, algumas características são necessárias, como ser imiscível em água e ser compatível com a técnica empregada na detecção dos analitos.

Dentro das técnicas de microextração em fase líquida, o solvente orgânico é uma variável de suma importância, sendo necessário trabalhar com um solvente que apresente alta eficiência de extração e seletividade para os analitos de interesse na amostra. Um dos solventes mais empregado em HF-LPME relatado em diversos estudos é o 1-octanol (HYDER et al., 2011; MERIB; CARASEK, 2013).

Nos últimos anos a HF-LPME se tornou umas das técnicas mais difundidas de microextração em fase líquida (LPME), sendo explorada por diferentes configurações. Uma delas é a extração líquido-líquido em membrana microporosa (MMLLE) que atua de modo semelhante à HF-LPME em duas fases (BARRI; AKE, 2008; YAMINI; REZAZADEH; SEIDI, 2019). Nesta configuração, a extração ocorre da mesma maneira descrita pelo modo de duas fases da HF-LPME, porém a fase receptora é formada por um solvente orgânico imobilizado apenas nos poros da membrana microporosa. Ao final da extração a fibra oca é retirada da amostra (fase aquosa) e transferida para um frasco adequado para realizar a dessorção dos analitos por um solvente orgânico apropriado (GONZÁLEZ-PEÑAS et al., 2004).

2.2.2 Extração líquido-líquido em membrana microporosa (MMLLE)

A extração líquido-líquido em membrana microporosa (MMLLE) foi desenvolvida com base nos princípios químicos da extração líquido-líquido (LLE) e nas configurações da técnica HF-LPME de duas fases. A MMLLE, de modo semelhante à HF-LPME, foi estabelecida com duas fases, sendo uma fase aquosa que corresponde à amostra, chamada de fase doadora e uma fase orgânica chamada de fase receptora. As membranas atuam nessa técnica como um suporte para a fase orgânica, sendo responsável por manter o solvente na posição. Um solvente orgânico adequado e imiscível é impregnado nos poros da membrana para que ocorra a extração (HYDER et al., 2011). A MMLLE é uma técnica recomendada para compostos hidrofóbicos que tendem a ser extraídos com facilidade pela fase receptora orgânica, como por exemplo, hidrocarbonetos (AKE, 2000). As principais vantagens da MMLLE são baixo consumo de solvente orgânico (microlitros), baixo custo de análise e fácil manuseio (ZORITA; BARRI; MATHIASSEN, 2007).

Na técnica MMLLE a extração ocorre por difusão dos analitos presentes na fase doadora para o solvente orgânico imobilizado nos poros da membrana. A Equação 1 descreve o equilíbrio relacionando a concentração do analito na fase doadora e fase receptora.



Onde, $[\text{Analito}]_{\text{fase doadora}}$ é a concentração do analito orgânico na fase doadora e $[\text{Analito}]_{\text{fase receptora}}$ é a concentração do analito orgânico na fase receptora.

A extração dos analitos está diretamente relacionada com coeficiente de partição (K) entre as duas fases líquidas: a fase aquosa e a fase orgânica. O delineamento da extração depende da solubilidade dos analitos em cada uma das fases e é quantificado através da razão entre a concentração do analito orgânico na fase receptora e fase doadora no equilíbrio, conforme a Equação 2:

$$K = \frac{[\text{Analito}]_{\text{fase receptora}}}{[\text{Analito}]_{\text{fase doadora}}} \quad (2)$$

Onde, K é o coeficiente de partição, $[\text{Analito}]_{\text{fase doadora}}$ é a concentração do analito orgânico na fase doadora e $[\text{Analito}]_{\text{fase receptora}}$ é a concentração do analito orgânico na fase receptora.

O valor de K varia de acordo com o solvente orgânico selecionado como fase receptora. O solvente adequado para aplicação específica deve apresentar baixa viscosidade para fornecer altos coeficientes de partição e apresentar compatibilidade com a membrana selecionada para o estudo, além de apresentar imiscibilidade em água e baixa volatilidade (ESRAFILI et al., 2018).

2.3 NANOMATERIAIS

Os nanomateriais estão sendo utilizados sob diferentes configurações em preparo de amostra através da integração com metodologias analíticas de microextração. A introdução de nanomateriais em técnicas modernas de preparo de amostra foi fundamentada nos princípios de microextração em fase sólida (SPME) (ZHANG; FANG, 2010). A SPME foi introduzida por Pawliszyn et al na década de 1990 e desde então suas diferentes configurações foram aplicadas em diferentes matrizes, como por exemplo, matrizes ambientais e alimentícias. As maiores vantagens da SPME são alta simplicidade e quase sempre ausência de solvente orgânico (PAWLISZYN et al., 1990).

O uso de membranas microporosas se tornou uma alternativa excelente em novas metodologias devido ao seu baixo custo e apresentação de bons resultados quando explorado em técnicas de microextração em fase líquida para o preparo de amostra em várias áreas de estudo. Os nanomateriais surgiram em métodos de tratamento de amostra principalmente para suprir as necessidades encontradas em SPME e para aumentar a eficiência de extração em LPME. Em SPME a área superficial é superior a das membranas microporosas, mas o uso de fibras em SPME também apresenta limitações, principalmente por utilizar fibras extremamente frágeis e com preços elevados. Uma vez que os nanomateriais foram introduzidos em preparo de amostra, membranas estruturadas com esses novos materiais se tornaram uma promissora alternativa a ser explorada para aumentar a eficiência de extração de analitos de interesse e suprir as limitações de técnicas de SPME e LPME (AZZOUZ et al., 2018).

No acoplamento da técnica de LPME com nanomateriais utilizando membranas microporosas, denominada assim de microextração em fase sólida/líquida, os nanomateriais são mantidos no lúmen ou apenas nos poros junto a fase receptora, resultando em uma forte capacidade de adsorção dos analitos. Nesse novo modo de extração, os nanomateriais atuam como uma via adicional para o transporte de solutos. O mecanismo de transferência do soluto na fase doadora para a fase receptora envolve extrações em fase líquida e em fase sólida (YANG; CHEN; SHI, 2015).

Os nanomateriais se destacam por desempenhar papéis importantes em muitos procedimentos analíticos com capacidade de atuar como adsorventes para uma infinita gama de moléculas, sendo conhecidos como nanossorventes (BENDICHO et al., 2015; LEUDJO; PILLAY; YANGKOU, 2017). Esses novos materiais ganharam atenção significativa em diversas áreas da ciência, e vem se mostrando promissor para detecção e determinação de poluentes orgânicos, muitas vezes em nível traço. A alta complexidade de algumas matrizes exige o desenvolvimento de técnicas de separação capazes de apresentar resultados que melhoram a sensibilidade de detecção atuando com dispositivos de extração miniaturizados. O uso de nanomateriais apresenta uma excelente alternativa para esses objetivos.

A denominação nanomaterial está relacionada com as estruturas nanométricas na qual pelo menos uma das faces (espessura, comprimento e/ou largura) esteja na faixa de 1 a 100 nm. Os nanomateriais incluem partículas com tamanhos nanométricos, materiais com poros na faixa nanométrica e aglomerados metálicos com tamanhos nanométricos dispersos em um material poroso. Em comparação com materiais de tamanhos maiores,

os nanomateriais frequentemente apresentam características em suas propriedades físicas e químicas que são resultantes do seu tamanho em nanoescala (TIAN et al., 2013). De acordo com sua estrutura, os nanomateriais atuam na adsorção de diversos compostos. Em alguns casos podem apresentar acúmulo ultra-rápido de compostos que possuem uma estrutura de elétrons π , que podem interagir via interações π - π (YANG; CHEN; SHI, 2015). Os nanomateriais são classificados por sua origem (natural ou artificial) e composição química (orgânica, inorgânica ou mista). Na literatura já foram relatados o uso de nanomateriais a base de carbono, nanopartículas de óxidos de metal e nanopartículas de metal com resultados satisfatórios quando integrados às técnicas de microextração (AZZOUZ et al., 2018). Os resultados promissores destes estudos estão diretamente atrelados a grandes áreas de superfície com excelente capacidade de sorção e as características hidrofóbicas da superfície desses materiais, que tornam possível o desenvolvimento de técnicas aprimoradas e mais sensíveis a determinados compostos (BENDICHO et al., 2015).

Estudos integrando nanomateriais a técnicas analíticas como LPME e SPME foram relatados na literatura com o objetivo de aumentar o potencial e eficiência de extração de analitos de interesse. Em estudo realizado por Zhao et al. (2011) a técnica HF-LPME foi reforçada com nanotubos de carbono dispersos na fase receptora para determinação de pesticidas em amostras de água e frutas, com limites de detecção entre 0,1 e 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. A detecção dos analitos foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (ZHAO et al., 2011). Sae-Khow e Mitra (2009) de modo semelhante, aplicaram a técnica HF-LPME incorporando nanotubos de carbono nos poros de uma membrana através de uma dispersão dos nanotubos em fluoreto de polivinilideno. O polímero serviu como aglutinante para imobilizar os nanotubos de carbono nos poros da membrana, resultando em um aumento de fator de enriquecimento em até 93% quando comparado ao uso da membrana lisa. Esta técnica foi aplicada para a determinação de compostos polares, como a atrazina e 4-cloro-3-nitrobenzofenona, e para compostos apolares como o naftaleno e fenantreno em solução aquosa, onde a detecção foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (SAE-KHOW; MITRA, 2009).

Bhat e Wu (2010) realizaram microextração líquido-líquido com nanopartículas de paládio e octadecano tiol preparadas em tolueno para a extração seletiva e sensível de proteínas em amostras reais de pâncreas, cogumelo, soja e leite, obtendo limites de detecção entre 17 a 37 mol L^{-1} . A detecção foi realizada por dessorção a laser em espectrometria de massas com ionização assistida por matriz (MALDI – MS) (BHAT;

WU, 2010). Em estudo de Song, Shi e Chen (2013) foi descrito o uso de uma membrana mista combinada com nanotubos de carbono e fibra oca, combinando as técnicas de LPME e SPME para determinar estricnina e brucina em amostras de urina. A membrana foi preparada pela dispersão de nanotubos de carbono em água e surfactante, seguido da imobilização nos poros da fibra por sonificação. Posteriormente a membrana foi preenchida com microlitros de solvente orgânico (1-octanol) e então exposta na amostra para extração dos analitos por imersão direta. Após a etapa de extração, os analitos foram dessorvidos para metanol via efeito assistido por ultra-som e analisados por cromatografia líquida de alta eficiência. Os limites de detecção encontrados neste estudo para estricnina e brucina foram 0,7 e 0,9 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente (SONG; SHI; CHEN, 2013).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma metodologia analítica simples, eficiente e com reduzido uso de solventes orgânicos explorando uma nova configuração da técnica de extração líquido-líquido em membrana microporosa (MMLLE) com nanopátículas de Paládio para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em amostras aquosas seguido de detecção por Cromatografia a Gás acoplada à Espectrometria de Massas (GC-MS).

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a capacidade de extração adicionando dispersão de nanopátículas de paládio em tolueno nos poros de uma membrana microporosa de fibra oca e comparar com a capacidade de extração da membrana simples (modo convencional).
- Caracterizar a membrana estruturada com dispersão de nanopátículas de paládio em tolueno por microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de energia dispersiva.
- Avaliar a significativa influência e otimizar os parâmetros envolvidos na metodologia proposta, dos quais: solvente de extração; solvente de dessorção; efeito *salting out*; tempo de extração e tempo de dessorção.
- Obter os parâmetros analíticos de mérito: linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção e limite de quantificação.
- Aplicar a metodologia desenvolvida em amostra de água da Lagoa do Peri, Florianópolis, SC.

4 METODOLOGIA

4.1 INSTRUMENTAÇÃO

A extração de HPA em amostras aquosas foi realizada com auxílio de agitador magnético modelo DI-03 (Dist, Florianópolis, SC, Brasil). A dessorção dos analitos da fase receptora foi realizada em banho ultrassônico com frequência de 25 kHz modelo USC 1450 (Unique, Indaiatuba, SP, Brasil).

A otimização das variáveis de preparo de amostra foi realizada em um cromatógrafo a gás GC Clarus 680 acoplado a um espectrômetro de massas Clarus SQ8, ambos Perkin Elmer (Shelton, CT, EUA). As condições de operação do cromatógrafo foram: modo *splitless* (1 min) e o programa de temperatura iniciado em 50 °C por 5 min, seguido de uma taxa de 6 °C min⁻¹ até 300 °C e mantido constante por 10 minutos em uma coluna capilar SLB®-5ms (30m x 0,25mm x 0,25 µm de espessura de filme) (Supelco, Bellefonte, PA, EUA). A temperatura do injetor foi mantida em 280 °C. Gás Hélio (99,999% de pureza) foi utilizado com gás de arraste com fluxo de 1 mL min⁻¹. A temperatura da fonte de íons e da linha de transferência foram 230 e 275 °C, respectivamente. O espectrômetro de massas foi operado em modo de ionização por elétrons (EI) a 70 eV. As análises foram realizadas em modo de monitoramento seletivo de íons (modo SIM) e janelas seletivas com íons selecionados (*m/z*): Janela 1: 128; Janela 2: 152, 153 e 154; Janela 3: 165, 166; Janela 4: 178; Janela 5: 202; Janela 6: 228; Janela 7: 252 e 253; Janela 8: 276, 277, 278 e 279.

4.2 MATERIAIS E REAGENTES

Os padrões analíticos de HPA foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Os solventes orgânicos de grau HPLC n-hexano, n-octano, 1-octanol, acetonitrila, diclorometano e metanol utilizados na extração, dessorção e preparo de padrões foram adquiridos da Tedia (Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Para simulação da matriz foi utilizada água ultra-pura com resistividade de 18,2 MΩ cm obtida de um sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, EUA). O cloreto de sódio de grau analítico foi obtido da Vetec (Rio de Janeiro, RJ, Brasil). As membranas de fibra oca de polipropileno Q 3/2 AccurelPP (poros de 0,2 µm, espessura da parede de 200 µm e diâmetro interno de 600 µm) foram adquiridas da Membrane (Wuppertal, Alemanha). As nanopartículas de paládio foram sintetizadas e cedidas pelo grupo de pesquisa coordenado pelo Prof.

Dr. Josiel Barbosa Domingos no Laboratório de Catálise Biomimética (LaCBio) ao Laboratório de Química Ambiental e Geoquímica Orgânica (LQAG).

Todas as vidrarias utilizadas no preparo de amostra foram lavadas com água corrente e mantidas durante 24 h em um recipiente com solução de 5% (v/v) de detergente neutro Extran (Merck, Rio de Janeiro, Brasil) e posteriormente foram enxaguadas com água desionizada. Para eliminar fontes de contaminação orgânica, as vidrarias foram calcinadas a 400 °C por um período de 4 h antes de serem utilizadas, com exceção da vidraria volumétrica.

4.3 PREPARO DA MEMBRANA POROSA COM NANOPARTÍCULAS DE PALÁDIO

As membranas utilizadas na fase extratora foram cortadas com tamanho de 2,2 cm e uma extremidade foi selada a quente (Figura 1). As membranas foram submersas em solução de acetona e mantidas em banho ultrassônico por 30 min para efetuar uma limpeza removendo possíveis contaminantes. Posteriormente as membranas foram secas a temperatura ambiente (25°C) e seus poros foram preenchidos com solvente extrator como parte de fase receptora. O preenchimento ocorreu pelo contato direto da membrana em solvente orgânico por 1 min. Em seguida a membrana foi lavada com água ultra-pura para remover o excesso de solvente. A adição de dispersão de nanopartículas de paládio (1000 mg L⁻¹ em tolueno) foi realizada com auxílio de uma microseringa com capacidade de 10 µL, a qual foi inserida no interior da membrana e 3 µL de dispersão foi liberada sendo mantida nos poros da membrana.

Figura 1: Preparo de membranas porosas com nanopartículas de paládio.



4.3.1 Caracterização da membrana estruturada com nanopartículas de paládio

A caracterização da membrana estruturada com nanopartículas de paládio (NPs-Pd) foi realizada utilizando a análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectrometria de energia dispersiva (EDS). Na análise de microscopia eletrônica de varredura foram realizadas as imagens da superfície da membrana de fibra oca de polipropileno Q 3/2 Accurel PP estruturada com NPs-Pd. Na análise de espectrometria de energia dispersiva foi realizada a caracterização química. A membrana estruturada com NPs-Pd foi preparada conforme o procedimento descrito no item anterior (item 4.3) e cortada de forma a expor a parte interior da membrana. O lado exterior da membrana foi fixado com fita dupla face de carbono no stub (porta amostras em análises de MEV e EDS), e o recobrimento da amostra foi realizado com camada de ouro. As análises foram realizadas no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da UFSC em um microscópio eletrônico de varredura (JEOL, modelo JSM-6390LV, Tóquio, Japão).

4.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL – EXTRAÇÃO E DESSORÇÃO

A extração de 16 HPA (naftaleno; acenaftileno; acenafteno; fluoreno; fenantreno; antraceno; fluoranteno; pireno; benzo(a)antraceno; criseno; benzo(b)fluoranteno; benzo(k)fluoranteno; benzo(a)pireno; indeno(1,2,3-cd)pireno; dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno) ocorreu pela imersão de uma haste de metal na qual foi imobilizada a membrana estruturada com NPs-Pd em frasco de vidro de 20 mL contendo 10 mL de amostra aquosa e mantido sob agitação a 500 rpm, de acordo com a estratégia de otimização. Após a extração, a fase extratora foi transferida para um *insert* contendo 150 μ L de solvente orgânico e a dessorção foi realizada em banho ultrassônico de acordo com o Item 4.6.

4.5 AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DE EXTRAÇÃO UTILIZANDO MEMBRANAS MICROPOROSAS ESTRUTURADAS COM NANOPARTÍCULAS DE PALÁDIO

Para avaliar a capacidade extrativa da técnica MMLLE aprimorada com NPs-Pd foram realizados dois ensaios de modo univariado em triplicata. Posteriormente foi aplicada a análise de variância (ANOVA) para avaliar a diferença significativa em um nível de confiança de 95% entre os ensaios. O primeiro ensaio consistiu no método convencional de extração MMLLE e o segundo ensaio com método MMLLE

aprimorado com NPs-Pd. No modelo convencional da técnica MMLLE a membrana é enriquecida apenas por solvente orgânico. Na configuração da técnica MMLLE proposta para este estudo ocorreu à adição de dispersão de NPs-Pd (1000 mg L⁻¹ / em tolueno) nos poros da membrana conforme descrito anteriormente (Item 4.3). Todas as etapas de extração e dessorção foram mantidas como descritas no delineamento experimental (Item 4.4).

4.6 OTIMIZAÇÃO

Para realizar a otimização do método analítico desenvolvido, foi preparada uma solução estoque de 10 mg L⁻¹ em acetonitrila a partir de um mix de padrões analíticos dos 16 HPA e 150 µL dessa solução foram adicionados a 10 mL de água ultra-pura para simular a matriz. As concentrações dos 16 HPA foram mantidas em 150 µg L⁻¹ e foram avaliadas as condições ótimas dos seguintes parâmetros: solvente de extração; solvente de dessorção; efeito *salting out*; tempo de extração e tempo de dessorção. A resposta analítica utilizada em todos os experimentos foi à média geométrica das áreas dos picos dos 16 HPA em estudo.

4.6.1 Otimização do solvente de extração

Para escolha do melhor solvente de extração foi realizado um planejamento de misturas de superfície ternária *Simplex Lattice* com três solventes orgânicos imiscíveis em água: n-hexano; n-octano e 1-octanol. O planejamento foi executado conforme a matriz descrita na Tabela 2.

Tabela 2: Planejamento de misturas de superfície ternária *Simplex Lattice* para escolha do solvente de extração

Ensaio/Solvente	n-Hexano	n-Octano	1-octanol
1	1,00	0,00	0,00
2	0,00	1,00	0,00
3	0,00	0,00	1,00
4	0,50	0,50	0,00
5	0,50	0,00	0,50
6	0,00	0,50	0,50
7, 8, 9*	0,33	0,33	0,33

*Ponto central

4.6.2 Otimização do solvente de dessorção

Para escolha do melhor solvente de dessorção foi realizado um planejamento de misturas de superfície ternária *Simplex Lattice* com três solventes orgânicos: diclorometano; metanol e acetonitrila. O planejamento foi executado conforme a matriz descrita na tabela 3.

Tabela 3: Planejamento de misturas de superfície ternária *Simplex Lattice* para escolha do solvente de dessorção

Ensaio/Solvente	Diclorometano	Metanol	Acetonitrila
1	1,00	0,00	0,00
2	0,00	1,00	0,00
3	0,00	0,00	1,00
4	0,50	0,50	0,00
5	0,50	0,00	0,50
6	0,00	0,50	0,50
7, 8, 9*	0,33	0,33	0,33

*Ponto central

4.6.3 Planejamento experimental de otimização

Utilizou-se um planejamento fatorial completo 2^3 (níveis: +1; 0 e -1) para uma avaliação preliminar da significância em um nível de 95% de confiança dos seguintes parâmetros: tempo de extração; tempo de dessorção e efeito *salting out*. Variou-se o tempo de extração (10 a 30 min), tempo de dessorção (10 a 30 min) e a concentração de NaCl (0 a 30 % (m/v)). O planejamento foi executado conforme a matriz descrita na Tabela 4.

Tabela 4: Planejamento fatorial completo 2³

Ensaio/Variável	Tempo de Extração (min)	Tempo de Dessorção (min)	Concentração de NaCl (m/v)
1	10	10	0
2	30	10	0
3	10	30	0
4	30	30	0
5	10	10	30
6	30	10	30
7	10	30	30
8	30	30	30
9, 10, 11*	20	20	15

*Ponto central

4.6.4 Otimização da concentração de NaCl

A concentração de sal foi otimizada através de ensaio univariado em triplicata com três níveis de concentrações (0; 5 e 10% (m/v)) de NaCl, totalizando 9 experimentos. Os níveis de concentrações foram escolhidos com base na análise dos resultados do processo de planejamento experimental de otimização. Para avaliar a diferença significativa entre as concentrações foi aplicada análise de variância (ANOVA) em um nível de confiança de 95%.

4.6.5 Otimização do tempo de extração e tempo de dessorção

Para a escolha dos melhores tempos de extração e dessorção foi realizado um planejamento *Doehlert*, onde variou-se o tempo de extração (15 a 75 min) e o tempo de dessorção (10 a 50 min). O planejamento foi executado conforme a matriz descrita na tabela 5.

Tabela 5: Planejamento *Doehlert* para otimização do tempo de extração e tempo de dessorção

Ensaio/Variável	Tempo de extração (min)	Tempo de dessorção (min)
1	30	10
2	15	30
3	30	50
4	60	50
5	75	30
6	60	10
7, 8, 9*	45	30

*Ponto central.

4.7 AVALIAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA

4.7.1 Figuras de mérito

As figuras analíticas de mérito foram obtidas através de curvas de calibração externa em água ultra-pura. As curvas foram construídas a partir da adição de padrões analíticos utilizando concentrações de 5 a 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ para os hidrocarbonetos acenafteno, fluoranteno, pireno e benzo(k)fluoranteno, de 5 a 150 $\mu\text{g L}^{-1}$ para os hidrocarbonetos naftaleno e antraceno e de 5 a 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ para os hidrocarbonetos acenaftileno; fluoreno; fenantreno; benzo(a)antraceno; criseno; benzo(b)fluoranteno; benzo(a)pireno; indeno(1,2,3-cd)pireno; dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno. A extração dos analitos foi realizada em triplicata, utilizando as condições otimizadas (Item 4.6), e a identificação e quantificação dos analitos foi realizada por GC-MS. Os resultados foram avaliados individualmente, para cada analito, sendo avaliada a área do pico cromatográfico correspondente. Os parâmetros avaliados através da curva analítica foram coeficiente de correlação linear (R), limite de quantificação (LOQ), limite de detecção (LOD), recuperação relativa e precisões intradia e interdia. O LOQ foi determinado utilizando o primeiro ponto da curva e o LOD foi calculado como sendo o valor de LOQ dividido por 3,3.

4.7.2 Precisão e exatidão

Os ensaios de precisão e exatidão foram realizados em amostra de água de lagoa em concentrações conhecidas, em triplicata, de acordo com a metodologia proposta neste estudo. A precisão foi calculada através do desvio padrão relativo (DPR) dos ensaios intradia e interdia. O valores foram considerados aceitáveis quando $\text{DPR} <$

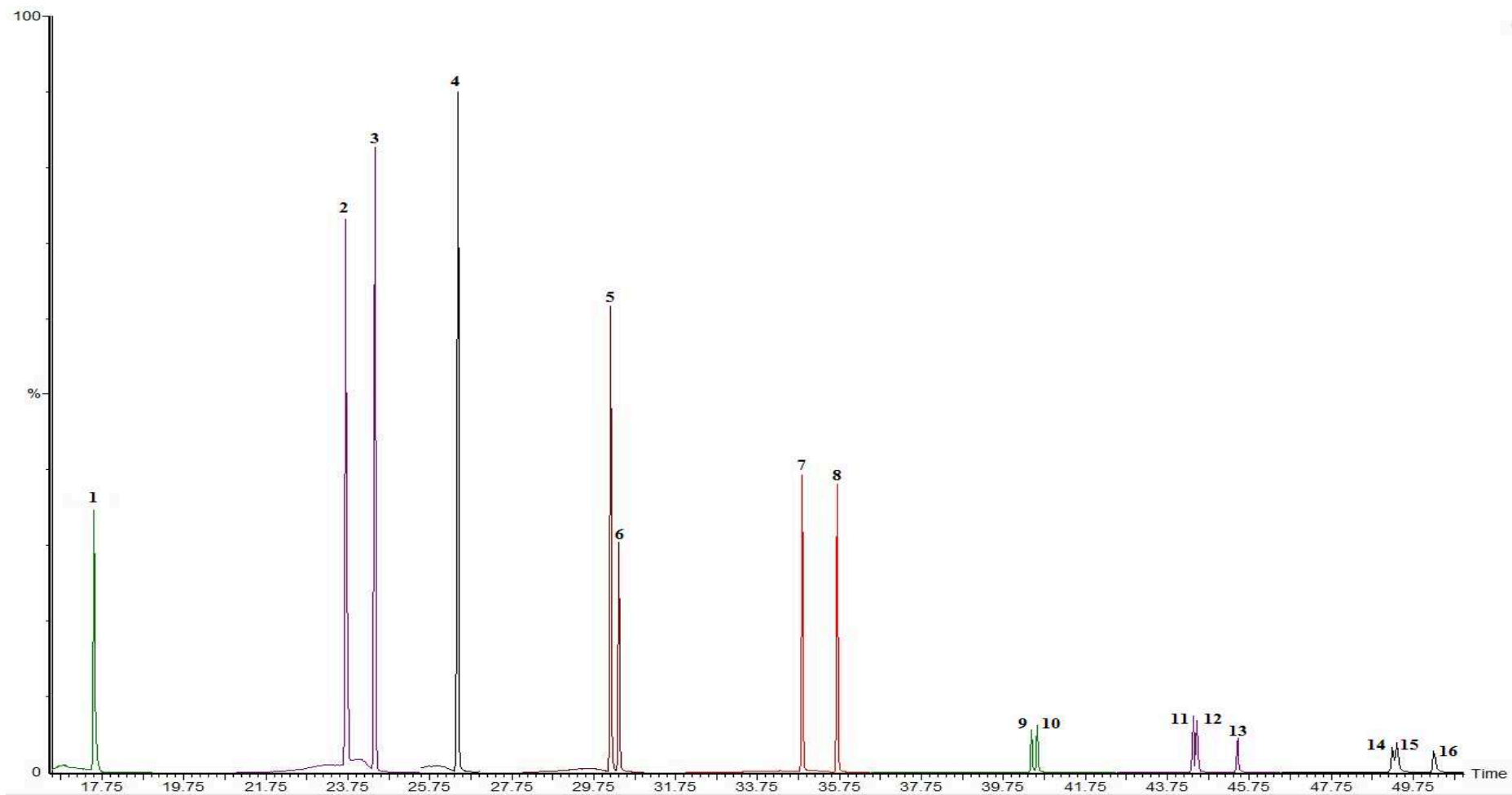
20%. A exatidão foi expressa pela recuperação relativa por meio da resposta analítica de cada analito aplicada na equação da reta. As amostras de água foram coletadas na Lagoa do Peri, Florianópolis, SC, com auxílio de um frasco âmbar. Após a coleta, o frasco foi armazenado a 4 °C até o momento da análise.

5 RESULTADOS

5.1 SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA

Para avaliar a separação cromatográfica dos 16 HPA (naftaleno; acenaftileno; acenafteno; fluoreno; fenantreno; antraceno; fluoranteno; pireno; benzo(a)antraceno; criseno; benzo(b)fluoranteno; benzo(k)fluoranteno; benzo(a)pireno; indeno(1,2,3-cd)pireno; dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno) foi realizada uma injeção de 1 μL de solução padrão contendo todos os analitos de trabalho em concentração de 2 mg L^{-1} preparada em acetonitrila. Foram selecionadas as razões m/z de todos os 16 HPA e o espectrômetro de massas foi operado em modo de monitoramento seletivo de íons (Modo SIM). A separação cromatográfica dos compostos está apresentada na Figura 2 e observa-se que houve uma boa separação dos compostos. Os analitos foram identificados através do tempo de retenção e confirmados por cada espectro de massas correspondente. Com base na boa separação dos compostos, prosseguiu-se no desenvolvimento da metodologia analítica de extração de HPA explorando a técnica de extração líquido-líquido em membranas microporosas (MMLLE) aprimorada com nanopartículas de paládio (NPs-Pd).

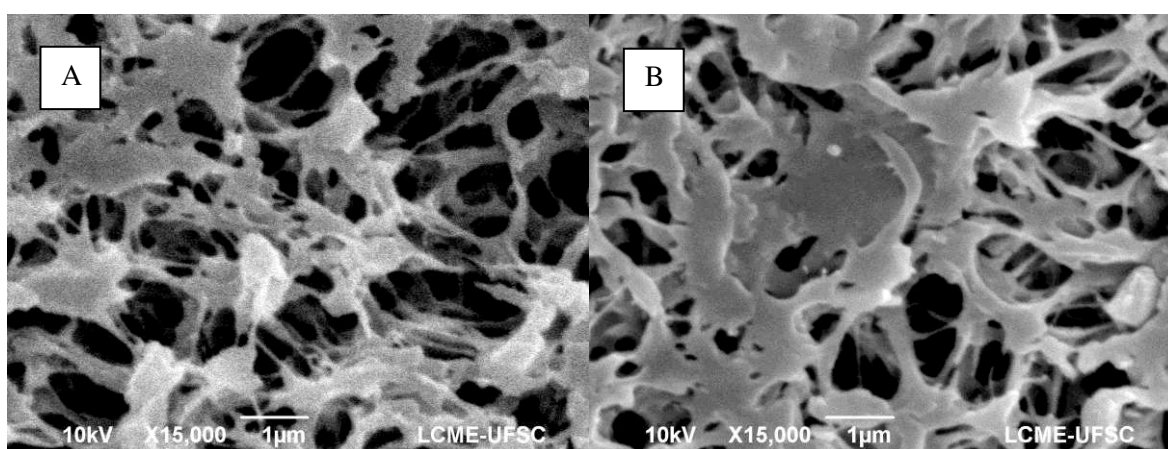
Figura 2: Cromatograma da separação dos 16 HPA de estudo. 1-naftaleno; 2-acenaftileno; 3-acenafteno; 4-fluoreno; 5-fenantreno; 6-antraceno; 7-fluoranteno; 8-pireno; 9-benzo(a)antraceno; 10-criseno; 11-benzo(b)fluoranteno; 12-benzo(k)fluoranteno; 13-benzo(a)pireno; 14-indeno(1,2,3-cd)pireno; 15-dibenzo(a,h)antraceno; 16-benzo(g,h,i)perileno.



5.2 CARACTERIZAÇÃO DA MEMBRANA

Para caracterizar as superfícies da membrana de fibra oca de polipropileno Q 3/2 Accurel PP com NPs-Pd em relação a suas propriedades e composição química, foram utilizadas as técnicas de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva. A Figura 4 apresenta as imagens obtidas pela análise microscópica da membrana porosa com um aumento de 15000 vezes.

Figura 3: Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície da membrana de fibra oca de polipropileno Q 3/2 Accurel PP, sendo A: Membrana sem presença de nanopartículas de paládio e B: Membrana com presença de nanopartículas de paládio.



Nas imagens de MEV (Figura 4-A e 4-B) é possível observar a alta porosidade da membrana de fibra oca de polipropileno Q 3/2 Accurel PP. Na Figura 4-A, é apresentada a imagem de MEV da membrana sem a presença de NPs-Pd e na Figura 4-B com a presença de NPs-Pd. As imagens de MEV não foram conclusivas quanto à presença do nanomaterial disperso na membrana de fibra oca, devido aos poros da membrana serem em escala de micrometros e as nanopartículas em escala de nanômetros. De forma qualitativa, é possível observar leve escurecimento na membrana (Figura 4-B), o que pode ser resultado da presença de NPs-Pd que apresentam coloração escura.

As imagens de MEV não identificaram a presença de NPs-Pd na membrana de fibra oca de polipropileno. Portanto, foi realizada a caracterização química da membrana com NPs-Pd por espectroscopia de energia dispersiva (EDS). Ao realizar as análises por EDS, foram selecionadas as energias correspondentes aos átomos de carbono e paládio, pois são correspondentes a composição química da membrana e nanopartículas, respectivamente. A análise EDS da membrana sem a presença de NPs-Pd (Figura 5) apresentou um resultado de

100% de carbono (Erro +/- 0,63). Para análise EDS da membrana com a presença de NPs-Pd (Figura 6), os resultados apresentaram 94,50% de carbono (Erro +/- 2,19) e 5,5% de paládio (Erro +/- 0,98). De acordo com os resultados é possível identificar a presença de nanopartículas na membrana. O pico de segunda maior intensidade representado no espectro é proveniente da detecção do ouro, devido ao recobrimento realizado na amostra quando fixada no stub.

Figura 4: Espectro de EDS para área analisada da membrana de fibra oca de polipropileno Q 3/2 Accurel PP sem a presença de nanopartículas de paládio.

Full scale counts: 3275

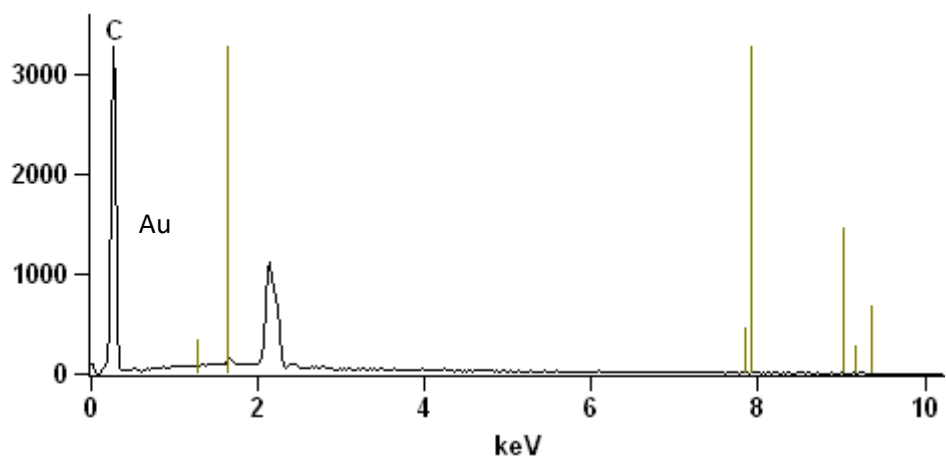
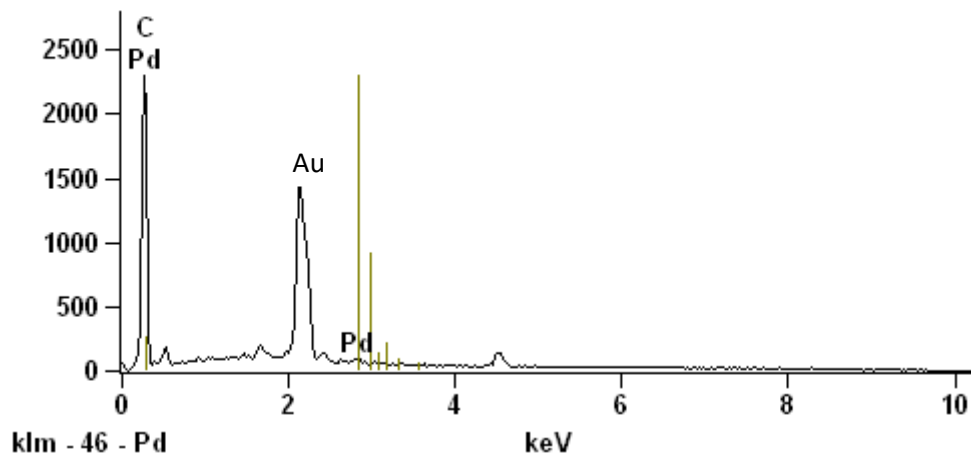


Figura 5: Espectro de EDS para área analisada da membrana de fibra oca de polipropileno Q 3/2 Accurel PP com a presença de nanopartículas de paládio.

Full scale counts: 2292



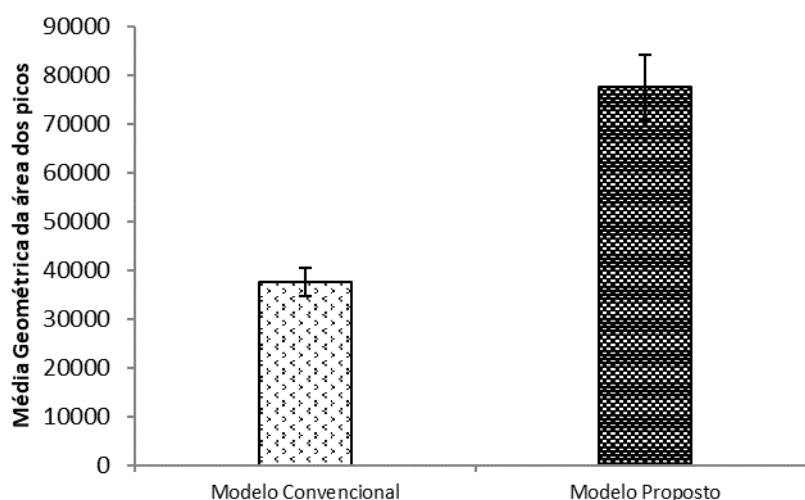
5.3 DESEMPENHO DA EXTRAÇÃO

Os desempenhos de extração de 16 HPA utilizando o modelo convencional de extração e modelo proposto (técnica MMLLE aprimorada com NPs-Pd) foram avaliados. Inicialmente foi realizado um branco de extração empregando a fase receptora com NPs-Pd para verificar a presença de possíveis interferentes na análise e determinação dos analitos. O solvente de extração utilizado foi o hexano e o metanol foi empregado como solvente de dessorção. O tempo de extração foi de 15 min., sem a presença de sal, e a dessorção foi realizada em banho ultrassônico por 15 min. A fase doadora foi mantida em 10 mL e foram adicionados 150 μ L da mistura de 16 HPA a 10 mg L⁻¹.

De acordo com os resultados obtidos, não foram detectados interferentes para a configuração de extração proposta. Após o ensaio do branco de extração. Seguiu-se com o teste de desempenho da extração empregando a metodologia proposta neste estudo. O desempenho da metodologia proposta foi comparado com o desempenho utilizando o modelo convencional. As metodologias de extração foram avaliadas quanto à capacidade de extrair os analitos da fase doadora. Para o desenvolvimento da nova metodologia analítica, foi escolhido utilizar nanopartículas de paládio para estudar a sua capacidade de interagir com os analitos de trabalho. A síntese e caracterização das NPs-Pd foram realizadas por Elias et al, 2017. Para melhor adaptação na metodologia proposta, as NPs-Pd foram mantidas em dispersão em solvente orgânico tolueno.

Ao avaliar a capacidade de extração dos analitos observou-se que houve aumento significativo ($p < 0,05$) (Figura 3) na capacidade de extração ao utilizar o método proposto com NPs-Pd, quando comparada com a capacidade do método convencional. O modelo convencional de extração é aquele onde os poros da membrana são preenchidos apenas com solvente orgânico. De acordo com a análise de variância, os resultados obtidos entre o modelo convencional e o modelo proposto apresentam diferença significativa ($p < 0,05$), com valor de F calculado maior que F crítico, afirmando que a aplicação de NPs-Pd, quando integrada a MMLLE, é uma promissora ferramenta para determinação de HPA em amostras aquosas.

Figura 6: Avaliação do desempenho de extração de HPA aplicando o modelo de extração convencional e proposto.



A integração de nanomateriais utilizando membranas microporosas, é denominada pela literatura como microextração em fase sólida e líquida. No presente estudo, a dispersão de NPs-Pd em tolueno é mantida nos poros da membrana junto ao solvente orgânico extrator, formando assim a fase receptora, com uma forte capacidade de adsorção dos analitos. Neste método de extração, os nanomateriais atuam como uma via adicional para o transporte de solutos. O mecanismo de transferência do soluto da fase doadora para a fase receptora envolve extrações em fase líquida e em fase sólida, e a passagem dos compostos de uma fase para outra é definida por mecanismo de difusão. (YANG; CHEN; SHI, 2015). A extração dos compostos orgânicos presentes na fase doadora ocorre porque a solubilidade desses compostos é maior na fase orgânica quando comparada com a fase aquosa (fase doadora). E com a presença de nanopartículas na fase receptora, os analitos podem migrar da fase orgânica via interações de adsorção com as nanopartículas, de modo que a concentração dos compostos na fase orgânica reduza, provocando uma perturbação no pré-equilíbrio entre as duas fases. Como resultado, os compostos começam a migrar em maior concentração da fase aquosa para a fase receptora para restabelecer o pré-equilíbrio, resultando em uma melhor eficiência de extração. Além dessas propriedades, os HPA apresentam em sua estrutura elétrons π , proveniente da dupla ligação entre átomos de carbono. A presença desses elétrons π tornam os HPA compostos com alta afinidade com nanomateriais, podendo

realizar interações π - π . Como resultado, a interação entre HPA e nanomateriais é favorecida (YANG; CHEN; SHI, 2015).

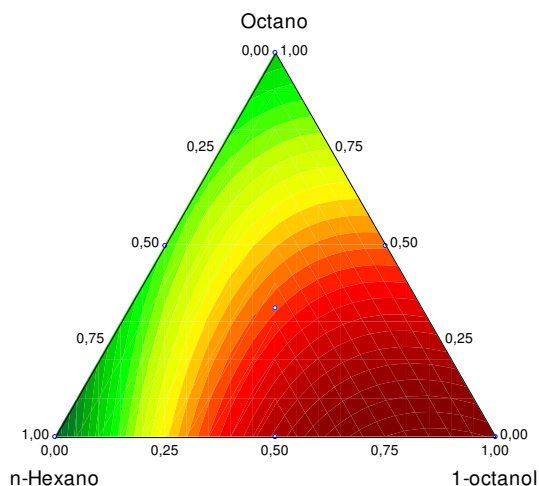
5.4 OTIMIZAÇÕES DO MÉTODO PROPOSTO

5.4.1 Otimização do solvente de extração

A escolha do solvente de extração é de suma importância para o desenvolvimento da metodologia analítica, pois o solvente interage diretamente com o analito de interesse. O solvente orgânico ideal deve apresentar imiscibilidade com a fase doadora (fase aquosa), apresentar uma boa interação com a membrana e alta eficiência de extração e seletividade para os analitos (HYDER et al., 2011). Os três solventes orgânicos selecionados para preencher os poros da membrana, como parte da fase receptora foram escolhidos a partir desses critérios e avaliados de acordo com seus desempenhos na extração dos 16 HPA. O solvente metanol foi utilizado como solvente de dessorção, o tempo de extração foi de 15 min sem a presença de sal e a dessorção foi realizada em banho ultrassônico por 15 minutos. A fase doadora foi mantida em 10 mL e foram adicionados 150 μ L da mistura de 16 HPA a 10 mg L⁻¹.

O gráfico de superfície ternária Simplex Lattice (Figura 7) foi obtido através do modelo matemático quadrático aplicado para interpretação dos dados. Através deste gráfico, foi observada uma tendência no aumento da resposta analítica entre proporções de solvente próxima de 100% (v/v) de 1-octanol. O coeficiente de determinação (R^2 - 0,9944) indica que 99,44% dos dados estão ajustados ao modelo matemático, portanto não apresenta falta de ajuste.

Figura 7: Superfície ternária Simplex Lattice obtida para otimização do solvente de extração.



Através da resposta analítica observada, optou-se por utilizar 1-octanol como solvente de extração. O desempenho de extração observado para 1-octanol pode ser justificado por sua longa cadeia linear de átomos de carbono, caracterizada como apolar, que proporciona uma melhor interação com os analitos hidrofóbicos. Por outro lado, o substituinte hidroxila, caracterizado como polar, interage com as moléculas de água de forma simultânea. Além disso, a alta viscosidade e baixa solubilidade em água desse solvente garantem que ele permaneça imobilizado nos poros da membrana e não seja disperso para a fase doadora durante o processo de extração (ESRAFILI et al., 2018).

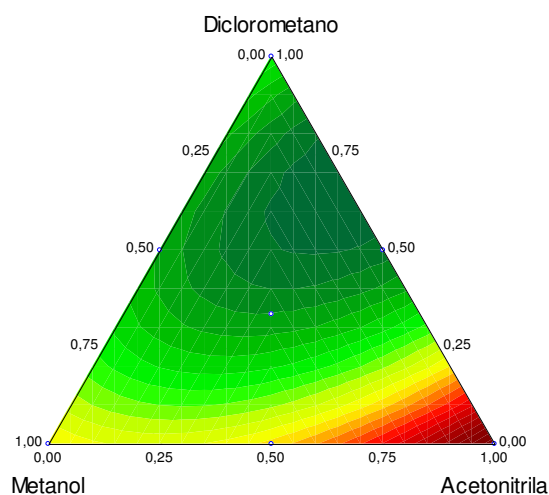
Neste estudo, observou-se que compostos mais leves são extraídos mais facilmente quando comparados com os HPA de maior massa. Mas a tendência de cada composto a ser extraído não mudou com a variação de solvente.

5.4.2 Otimização do solvente de dessorção

A escolha do solvente de dessorção deve considerar alguns fatores, como afinidade com os compostos de estudo e compatibilidade com a técnica empregada na detecção (GONZÁLEZ-PEÑAS et al., 2004). Os três solventes orgânicos selecionados para realizar a dessorção dos analitos da fase receptora foram escolhidos a partir desses critérios e avaliados de acordo com seus desempenhos na dessorção dos 16 HPA. Os demais parâmetros foram fixados, como o solvente de extração: 1-octanol; o tempo de extração: 15 min e o tempo de dessorção: 15 min. A fase doadora foi mantida em 10 mL e foram adicionados 150 μL da mistura de 16 HPA a 10 mg L^{-1} para esta otimização.

O gráfico de superfície ternária Simplex Lattice (Figura 8) foi obtido por meio do modelo matemático quadrático aplicado para interpretação dos dados. Através do gráfico, foi observada uma tendência de melhor resposta analítica utilizando acetonitrila como solvente de dessorção. O coeficiente de determinação ($R^2 = 0,9914$) indica que 99,14% dos dados estão ajustados ao modelo matemático, portanto não apresenta falta de ajuste.

Figura 8: Superfície ternária Simplex Lattice obtida para otimização do solvente de dessorção.



O desempenho observado pelo gráfico de superfície ternária Simplex Lattice obtido mostrou que acetonitrila, como solvente de dessorção, foi capaz de interagir com os analitos de modo a estabelecer um equilíbrio entre a fase receptora e o solvente orgânico de dessorção, permitindo a passagem dos analitos extraídos para o solvente orgânico para posterior análise cromatográfica. A dessorção dos analitos foi realizada em banho ultrassônico para melhorar a eficiência de dessorção dos 16 HPA avaliados neste estudo.

5.4.3 Planejamento experimental de otimização

O planejamento experimental através de superfícies de respostas é possível aplicando-se planejamentos fatoriais para avaliar a tendência na influência significativa de parâmetros da metodologia proposta. O planejamento é definido por matrizes, compostas por diferentes níveis dos parâmetros em estudo. Através dos resultados desse planejamento é possível obter boas estimativas quanto à significância dos parâmetros estudados.

Os resultados do planejamento experimental foram expressos pela resposta analítica de dois grupos de compostos. O grupo 1 foi estabelecido pela média geométrica da área dos

picos dos compostos: naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno e pireno. E o grupo 2 foi estabelecido pela média geométrica da área dos picos dos compostos: benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, indeno(1,2,3-cd)pireno, dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno. Os resultados foram expressos em dois grupos devido ao compartimento distinto entre os compostos que compõem grupos diferentes e os compostos foram agrupados em um mesmo grupo pelas características e propriedades semelhantes.

A influência significativa dos parâmetros foi avaliada através dos gráficos de Pareto, além da influência individual de cada parâmetro, foram avaliados os comportamentos das variáveis quando combinadas entre si, interações de segunda ordem. Para o grupo 1, quando avaliados individualmente e interações em pares, todos os parâmetros apresentaram influência significativa ($p < 0,05$), com exceção para a combinação entre os três parâmetros, interação de terceira ordem.

De acordo com o gráfico (Figura 9), a extração dos analitos é favorecida em concentrações baixas de sal (NaCl) e em maiores tempos de extração. O tempo de dessorção apresentou uma influência baixa sobre os resultados, porém significativa. Através das superfícies de respostas obtidas, é possível perceber que o tempo de dessorção apresenta bons resultados ao longo de todos os níveis estudados. E o comportamento na mudança de concentração de sal e no tempo de extração concluídos pelo gráfico de Pareto é confirmado pelas superfícies de respostas (Figura 10), onde observou-se uma tendência em melhores resultados com concentrações de sal próximos a 5% (m/v NaCl) e tempos de extrações próximos a 30 minutos.

Figura 9: Gráfico de Pareto obtido para o planejamento experimental dos parâmetros estatisticamente significativos do grupo 1.

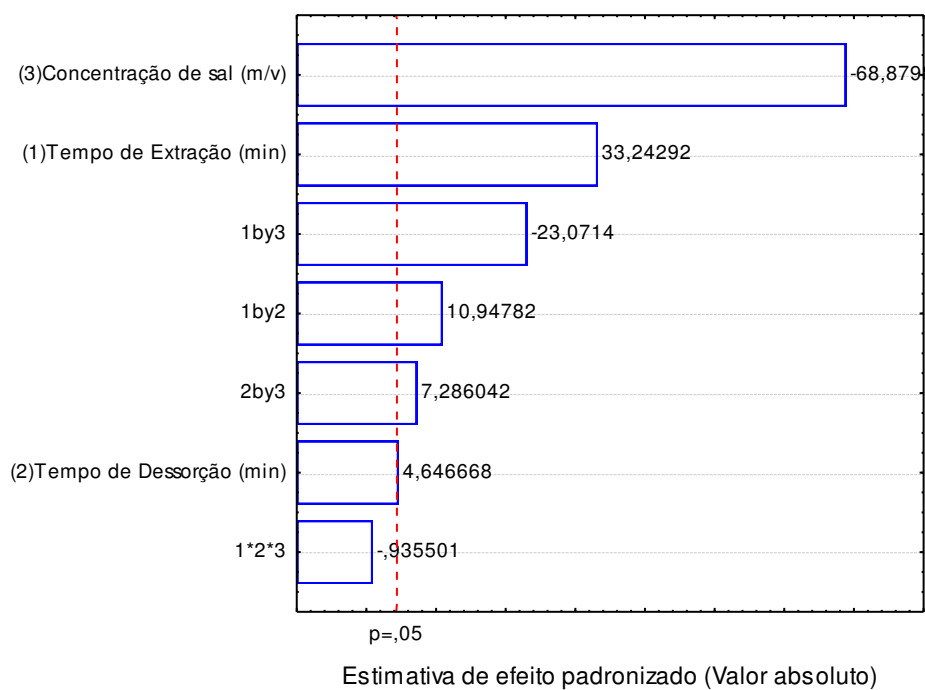
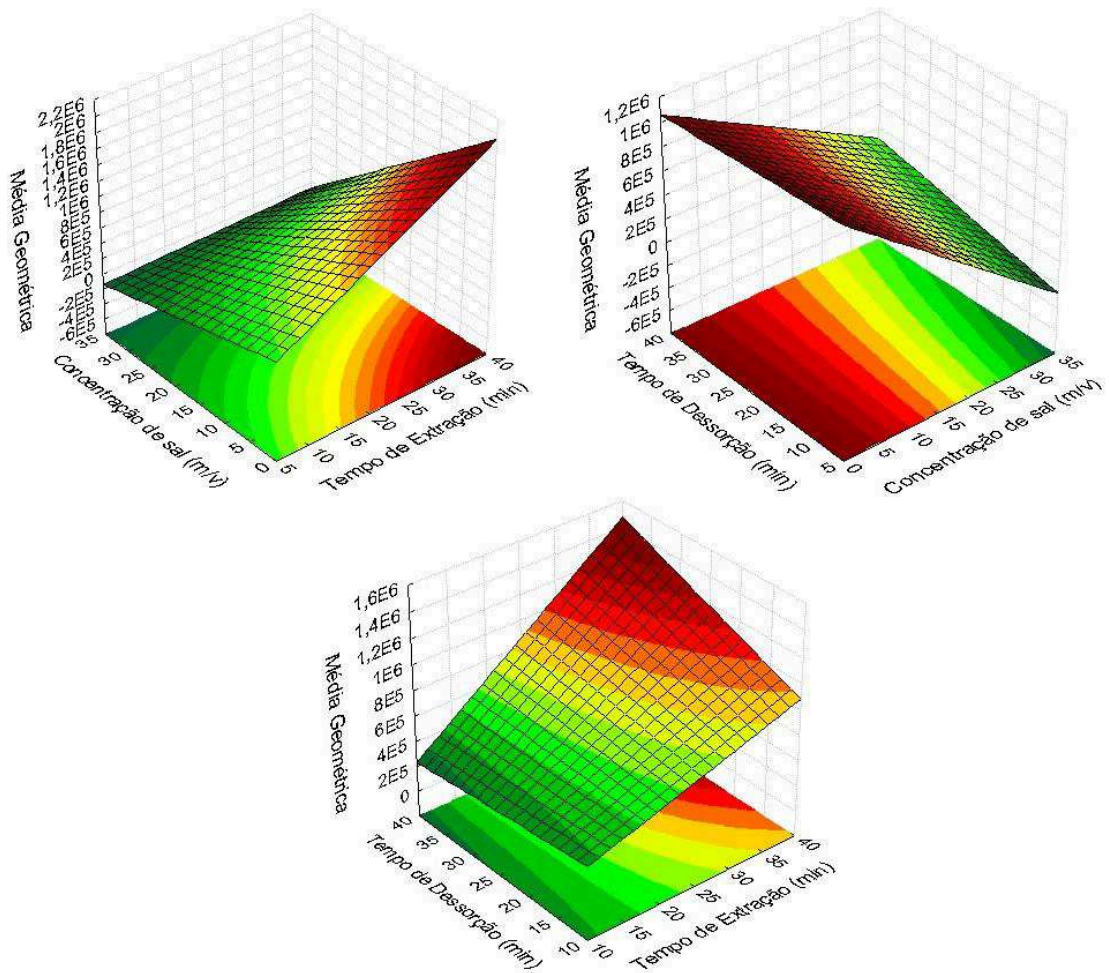


Figura 10: Superfícies de resposta obtidas pelo planejamento fatorial completo para o grupo 1.



Para o grupo 2, os parâmetros individuais, interações em pares e a combinação entre os três parâmetros apresentaram influência significativa. De acordo com o gráfico de Pareto (Figura 11), a extração dos analitos é favorecida em concentrações altas de sal (NaCl) e em maiores tempos de extração e dessorção. O comportamento apresentado é o oposto em relação ao grupo 1 quando comparadas às mudanças de concentração de sal e mudanças no tempo de dessorção, não obstante, apenas o tempo de extração manteve a mesma tendência. Os resultados observados pelo gráfico de Pareto são confirmados pelas superfícies de respostas (Figura 12), onde observou-se uma tendência em melhores resultados com concentrações de sal próximos a 30% (m/v NaCl) e tempos de extração e dessorção próximos a 30 min.

Figura 11: Gráfico de Pareto obtido para o planejamento experimental dos parâmetros estatisticamente significativos do grupo 2.

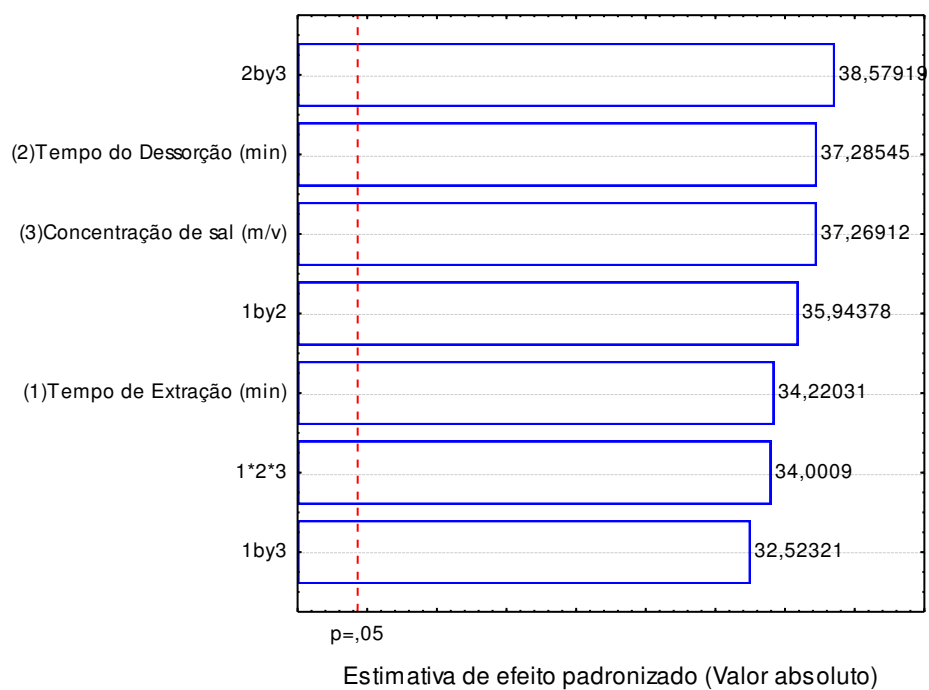
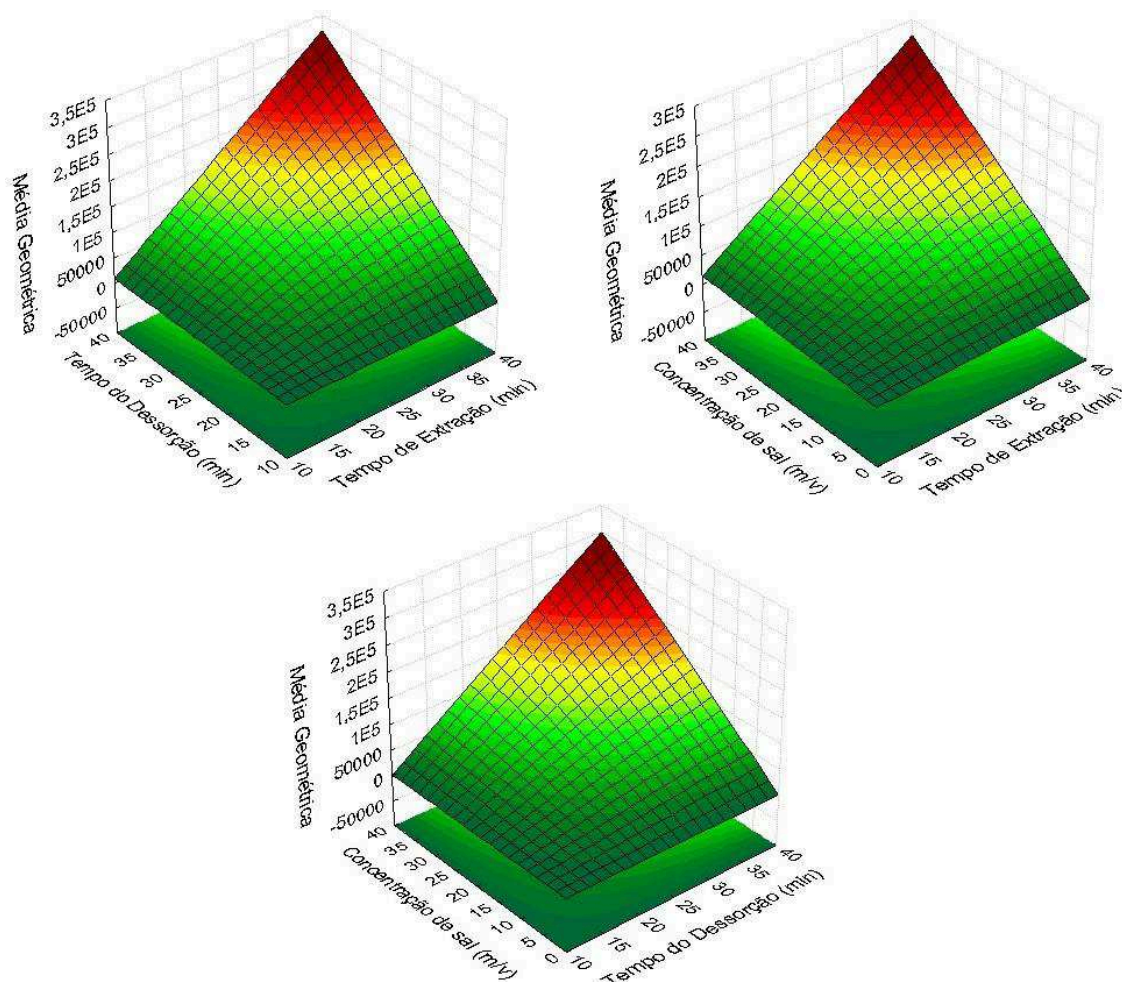


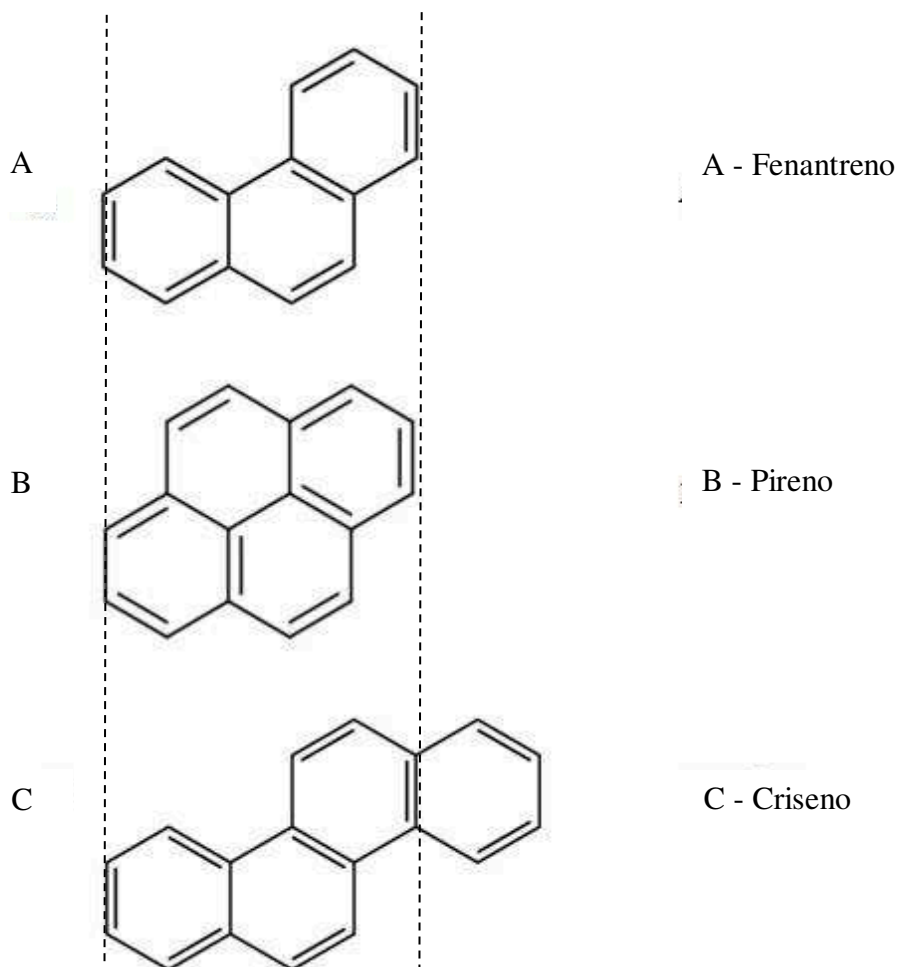
Figura 12: Superfícies de resposta obtidas pelo planejamento fatorial completo para o grupo 2.



Os resultados apresentados para o grupo 1 e o grupo 2 com comportamentos diferentes, pode ser justificado pelo tamanho das moléculas e o arranjo espacial. No grupo 1, os HPA variam de 2 a 3 anéis aromáticos, com exceção ao pireno, que possui 4 anéis aromáticos. Para o grupo 2, os HPA variam entre 4 a 5 anéis aromáticos. O tamanho da molécula implica diretamente na sua difusão até a fase receptora e na adsorção pelas NPs-Pd. O comportamento do pireno foi semelhante aos compostos do grupo 1, o que pode ser explicado pelo arranjo espacial dos 4 anéis aromáticos que estão distribuídos de maneira a ocupar o menor espaço em um mesmo plano e mantendo sua aromaticidade. Quando

comparado ao pireno, pode-se observar que a distribuição espacial dos 4 anéis do criseno e do benzo(a)antraceno ocupam um maior espaço no mesmo plano (Figura 13).

Figura 13: Comparação da distribuição espacial do Fenantreno, Pireno e Criseno.



Com base nos resultados apresentados no planejamento experimental estudado através do planejamento fatorial completo 2^3 , a concentração de sal foi otimizada optando-se por um planejamento univariado para melhor compreensão e discussão dos resultados. E a otimização dos tempos de extração e dessorção seguiu-se com planejamento de superfícies de respostas, optando-se por um planejamento *Doehlert*.

5.4.4 Otimização da concentração de sal

A partir dos resultados apresentados no planejamento experimental, a concentração do sal foi otimizada de forma univariada em três concentrações de NaCl: 0; 5 e 10% (m/v).

Os resultados foram expressos pela resposta analítica de dois grupos de compostos. Os compostos que pertencem a cada grupo foram distribuídos conforme o planejamento experimental. Grupo 1: naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno e pireno (Figura 14). Grupo 2: benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, indeno(1,2,3-cd)pireno, dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno (Figura 15). Os resultados foram expressos por gráficos de barra. O solvente 1-octanol foi utilizado como solvente de extração e o solvente acetonitrila foi utilizado como solvente de dessorção, o tempo de extração foi de 15 minutos e a dessorção foi realizada em banho ultrassônico por 15 minutos. A fase doadora foi mantida em 10 mL e foram adicionados 150 μ L da mistura de 16 HPA a 10 mg L⁻¹.

Para o grupo 1, a presença de sal não apresentou diferenças significativas, mesmo com as mudanças na concentração. Para o grupo 2, a adição de sal em uma concentração de 5% (m/v) de NaCl aumentou a eficiência de extração significativamente ($p < 0,05$) quando comparada com a capacidade de extração sem adição de sal. E de acordo com a análise de variância, os resultados obtidos para o grupo 2 entre as concentrações de 0 e 5% (m/v) NaCl apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$), com valor de F calculado maior que F crítico.

Figura 14: Gráfico de barras obtido pela otimização univariada da concentração de sal para o grupo 1.

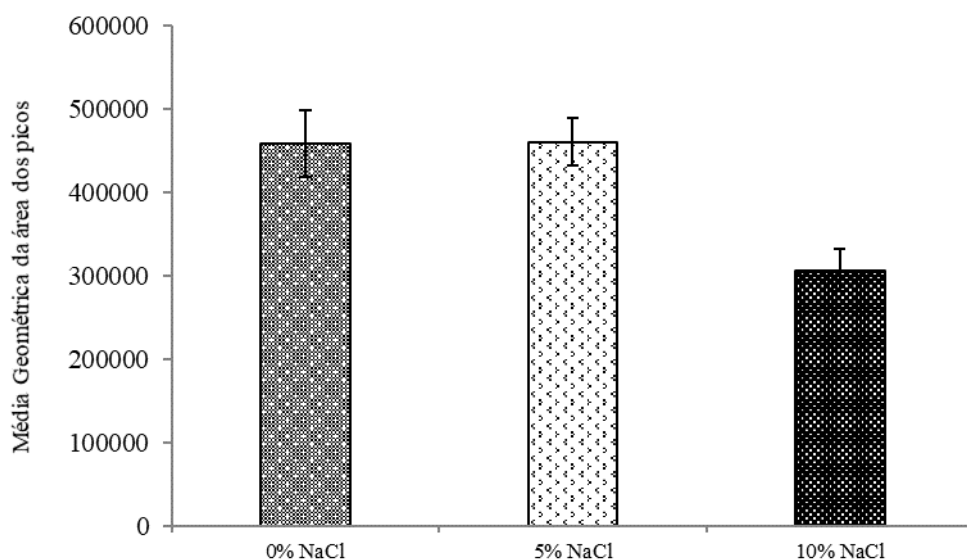
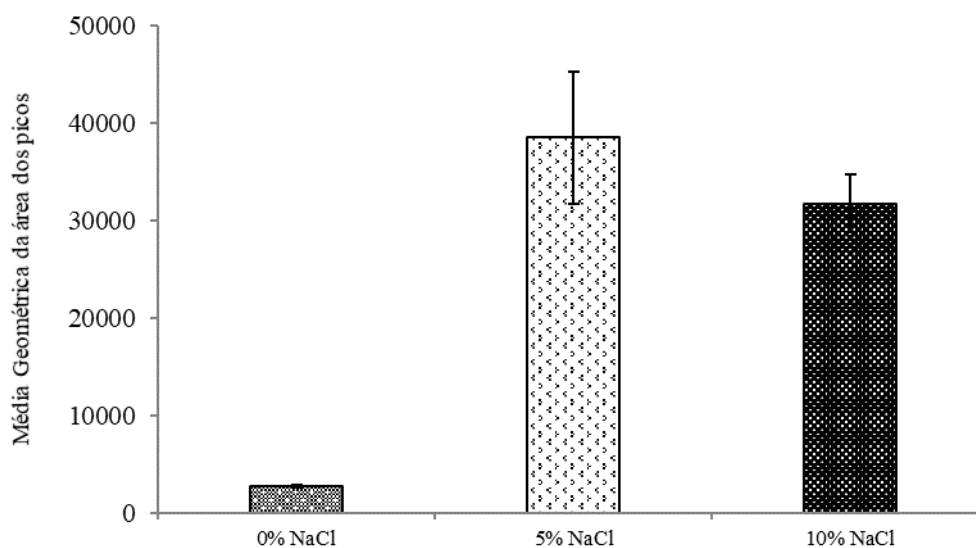


Figura 15: Gráfico de barras obtido pela otimização univariada da concentração de sal para o grupo 2.



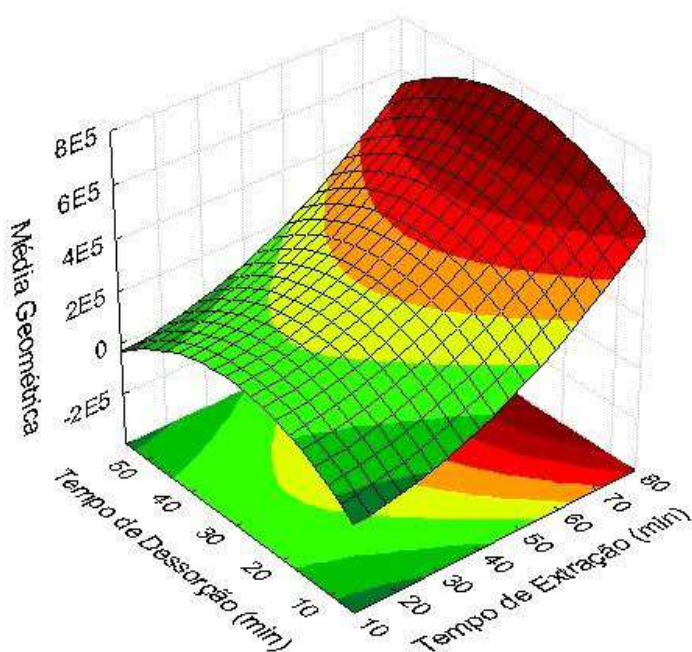
O objetivo da otimização da concentração de sal foi estabelecer uma condição na qual ambos os grupos fossem favorecidos, portanto, foi estabelecida a concentração de NaCl em 5% (m/v), onde para o grupo 1 não ocorreu aumento na eficiência de extração com aumento da concentração, mas é possível perceber um declínio na resposta analítica com aumento da concentração. O grupo 2 foi favorecido pela presença de sal, onde a adição de 5% (m/v) de NaCl aumentou o desempenho de extração dos analitos deste estudo.

A presença de sal na solução doadora causa o efeito *salting out*, reduzindo a solubilidade dos analitos em água devido a presença de íons Na^+ e Cl^- que são facilmente solvatados por moléculas de água (HASSEINE; MENIAI; KORICHI, 2009). É conhecido que com aumento da massa molar de HPA a sua solubilidade em água reduz, então em uma primeira análise o esperado seria que os HPA do grupo 2 apresentassem maior capacidade de serem extraídos. Porém como a extração ocorre por difusão e a mobilidade dos analitos diminui com o aumento da massa molar e arranjo espacial, a capacidade de extração de HPA de massa molar mais elevada também diminui. A adição de sal na solução doadora proporciona uma maior mobilidade dos compostos do grupo 2, devido as moléculas de água estarem na esfera de hidratação dos íons salinos em maior quantidade que ao redor das moléculas orgânicas, conseqüentemente, ocorre um aumento na eficiência de extração.

5.4.5 Otimização do Tempo de Extração vs Tempo de Dessorção

A extração dos analitos ocorre por meio de transferência de massa requerendo um período de tempo determinado, o que está relacionado diretamente com o tempo necessário para atingir o equilíbrio entre a concentração dos compostos na fase aquosa e concentração na fase receptora, portanto, o tempo de extração se torna um fator importante ao qual deve ser otimizado (MERIB; CARASEK, 2013). Do mesmo modo que para que ocorra a dessorção dos analitos é necessário um determinado tempo para estabelecer um novo equilíbrio entre a fase receptora e o solvente de dessorção (GONZALES-PEÑAS et al., 2004). De modo a reduzir o número de experimentos, o tempo de extração e dessorção foram avaliados por meio de planejamento multivariado *Doehlert*, que combina o estudo simultâneo de dois parâmetros. Neste estudo as interações entre as duas variáveis não foram levadas em consideração por se tratarem de parâmetros executados em etapas diferentes no delineamento experimental. Na execução do planejamento, variou-se o tempo de extração (15 a 75 min) e o tempo de dessorção (10 a 50 min). O solvente 1-octanol foi utilizado como solvente de extração e o solvente acetonitrila foi utilizado como solvente de dessorção. A concentração de NaCl foi de 5% (m/v) e a fase doadora foi mantida em 10 mL e foram adicionados 150 μL da mistura de 16 HPA a 10 mg L^{-1} . A partir dos experimentos realizados foi obtida uma superfície de resposta apresentada na Figura 16.

Figura 16: Superfície de resposta obtida pelo planejamento *Doehlert* para otimização do tempo de extração e tempo de dessorção.



O gráfico foi obtido através do modelo matemático quadrático aplicado para interpretação dos dados. Através do gráfico, foi observada uma tendência no aumento da resposta analítica em tempos próximos a 70 minutos de extração e próximos a 30 minutos de dessorção. Estes resultados foram selecionados como valores ótimos de tempo de extração e dessorção. O coeficiente de determinação ($R^2 - 0,8899$) indica que 88,99% dos dados estão ajustados ao modelo matemático, portanto não apresenta falta de ajuste. De acordo com a tendência observada na superfície de resposta, conclui-se que o equilíbrio entre a fase aquosa e a fase receptora não foi atingido, o mesmo ocorreu para o equilíbrio de dessorção entre a fase receptora e o solvente orgânico de dessorção, indicando que para ambos os casos a extração e dessorção ocorreu através de um pré-equilíbrio. Considerando tempos maiores, a frequência analítica seria prejudicada, portanto optou-se por estabelecer 70 e 30 minutos como valores ótimos de extração e dessorção, respectivamente.

5.4.6 Condições Otimizadas do Método

Na etapa de extração as condições otimizadas foram o solvente extrator 1-octanol, para preenchimento dos poros da membrana, a concentração de NaCl onde foram adicionados 5% (m/v) na fase doadora (amostra) e o tempo de 70 minutos de extração. A taxa de agitação foi fixada em 500 rpm de acordo com a estratégia de extração e o volume da fase doadora (fase aquosa) foi fixado em 10 mL. Na etapa de dessorção as condições otimizadas foram o solvente de dessorção acetonitrila e o tempo de 30 minutos em banho ultrassônico para dessorção dos analitos, o volume de solvente foi fixado em 150 μ L.

Tabela 6: Parâmetros otimizados para extração de 16 HPA

Parâmetro	Condição ótima
Solvente de Extração	1-octanol
Solvente de Dessorção	Acetonitrila
Concentração de NaCl	5% (m/v)
Tempo de Extração	70 min
Tempo de Dessorção	30 min

5.5 FIGURAS ANALÍTICAS DE MÉRITO

Os parâmetros de mérito avaliados por meio da curva analítica estão apresentados na Tabela 7. Os coeficientes de correlação apresentaram valores maiores ou iguais a 0,9839 o que indica boa correlação linear em toda a faixa linear de trabalho para todos os analitos. Os limites de quantificação (LOQ) foram estabelecidos como sendo o valor de menor nível de concentração das curvas analíticas para cada analito. No presente estudo o LOQ para os 16 HPA foi de 5 µg L⁻¹. Os valores de limites de detecção foram obtidos pelo valor de LOQ dividido por 3,3.

Tabela 7: Limites de detecção e quantificação, faixas lineares de trabalho, coeficientes de correlações lineares e equações lineares de 16 HPA

Analito	LOD (µg L ⁻¹)	LOQ (µg L ⁻¹)	Faixa linear	R	Equação linear
			de trabalho (µg L ⁻¹)		
Naftaleno	1,5	5,0	5-150	0,9990	y= 8948x + 2684
Acenaftileno	1,5	5,0	5-150	0,9894	y= 19239x + 41677
Acenafteno	1,5	5,0	5-100	0,9965	y= 3165x - 91910
Fluoreno	1,5	5,0	5-200	0,9905	y= 22253x + 56623
Fenantreno	1,5	5,0	5-200	0,9910	y= 15456x +7137
Antraceno	1,5	5,0	5-150	0,9839	y= 6660x +27995
Fluoranteno	1,5	5,0	5-100	0,9884	y= 11491x - 25839
Pireno	1,5	5,0	5-100	0,9970	y=11271x -52358
Benzo(a)antraceno	1,5	5,0	5-200	0,9980	y= 1552x - 891,4
Criseno	1,5	5,0	5-200	0,9970	y=1680x - 5213
Benzo(b)fluoranteno	1,5	5,0	5-200	0,9985	y=2008x -2495
Benzo(k)fluoranteno	1,5	5,0	5-100	0,9950	y=1728 - 6110
Benzo(a)pireno	1,5	5,0	5-200	0,9970	y=1621x -12753
Indeno(1,2,3-cd)pireno	1,5	5,0	5-200	0,9985	y=1279x - 11823
Dibenzo(a,h)antraceno	1,5	5,0	5-200	0,9955	y=2286x - 22671
Benzo(g,h,i)perileno	1,5	5,0	5-200	0,9980	y=1490x - 12522

Os ensaios de precisão e exatidão foram realizados em amostra de água da Lagoa do Peri, Florianópolis, SC. A exatidão do método foi expressa através da recuperação relativa dos analitos. Inicialmente foi realizada uma extração na amostra aplicando-se o método otimizado neste estudo para verificar a presença de HPA e/ou possíveis interferências. Por meio da análise na amostra foi possível concluir que nenhum analito avaliado foi encontrado acima do limite de detecção do método e não foram encontrados compostos interferentes.

Os ensaios de precisão intradia foram realizados utilizando 3 níveis de concentração da faixa linear de trabalho para cada analito. E a precisão interdia foi realizada utilizando 1 nível de concentração para os 16 analitos. Os resultados foram expressos pelo desvio padrão relativo (DPR %) da resposta analítica da extração realizada em triplicata para cada nível de concentração, obtendo-se valores menores ou igual a 20%, considerados aceitáveis, de acordo com os parâmetros estabelecidos pela AOAC (2016) para análises traços ou de impurezas. A Tabela 8 apresenta os valores obtidos para cada analito nos ensaio de precisão. A recuperação relativa dos anaitos foi estudada através de ensaios realizados em 3 níveis de concentração da faixa linear de trabalho para cada analito. A Tabela 9 apresenta os valores obtidos para cada analito para os ensaios de recuperação.

Tabela 8: Precisões interdia e intradia na amostra de água da Lagoa do Peri, Florianópolis, SC

Analito	Fortificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Precisão interdia (%) n = 9	Precisão Intradia (%) n = 3	Analito	Fortificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Precisão interdia (%) n = 9	Precisão Intradia (%) n = 3
Naftaleno	5	10,30	13,63	Benzo(a)antraceno	5	19,90	4,31
	100	-	9,72		100	-	5,0
	150	-	5,51		200	-	3,0
Acenaftileno	5	16,91	8,22	Criseno	5	11,51	10,82
	50	-	13,56		100	-	8,82
	150	-	1,73		200	-	8,65
Acenafteno	5	19,46	10,50	Benzo(b)fluoranteno	5	11,70	9,74
	50	-	16,44		100	-	3,64
	100	-	2,32		200	-	5,02
Fluoreno	5	13,00	12,37	Benzo(k)fluoranteno	5	19,95	16,24
	150	-	0,30		50	-	18,32
	200	-	4,70		100	-	17,56
Fenantreno	5	16,55	5,96	Benzo(a)pireno	5	18,42	9,6
	100	-	5,85		100	-	6,4
	200	-	2,57		200	-	14,49
Antraceno	5	13,83	7,33	Indeno(1,2,3-cd)pireno	5	19,72	8,64
	75	-	10,65		100	-	1,93
	150	-	13,93		200	-	11,59
Fluoranteno	5	11,23	10,79	Dibenzo(a,h)antraceno	5	10,19	11,60
	100	-	7,43		100	-	10,02
	200	-	10,40		200	-	11,21
Pireno	5	8,81	6,86	Benzo(g,h,i)perileno	5	17,24	6,70
	50	-	10,82		100	-	9,78
	100	-	1,39		200	-	10,11

Tabela 9: Recuperações relativas obtidas na amostra de água coletada na Lagoa do Peri, Florianópolis, SC.

Analito	Fortificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Analito	Fortificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)
Naftaleno	5	60	Benzo(a)antraceno	5	111
	100	75		100	98
	150	70		200	96
Acenaftileno	5	80	Criseno	5	115
	50	94		100	98
	150	77		200	68
Acenafteno	5	91	Benzo(b)fluoranteno	5	72
	50	85		100	81
	100	65		200	68
Fluoreno	5	91	Benzo(k)fluoranteno	5	91
	50	88		50	71
	150	73		100	77
Fenantreno	5	87	Benzo(a)pireno	5	96
	50	77		100	74
	100	73		200	51
Antraceno	5	82	Indeno(1,2,3-cd)pireno	5	20
	50	82		100	40
	100	84		200	36
Fluoranteno	5	94	Dibenzo(a,h)antraceno	5	22
	50	62		100	37
	100	55		200	33
Pireno	5	126	Benzo(g,h,i)perileno	5	22
	50	64		100	36
	100	57		200	37

Os HPA naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno e benzo(a)pireno apresentaram valores de recuperação de 51 a 126%. Os compostos indeno(1,2,3,cd)pireno, dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno não apresentaram boa recuperação, com valores menores ou igual a 37%, estes resultados podem ser atribuídos aos fatores relacionados com o equilíbrio termodinâmico da extração, como por exemplo a baixa difusão dos analitos em meio aquoso, o que se deve às elevadas massas molares quando comparado aos HPA de menor massa molar (NOKWETHEMBA, 2012). Essa tendência também é observada com o aumento da concentração para alguns HPA, com exceção do naftaleno, acenaftileno, benzo(b)fluoranteno e benzo (a) pireno que apresentaram valores de recuperação semelhantes ao longo da faixa linear. Outro fator relevante na recuperação de HPA está associado a matriz, pois os HPA são compostos com propriedades hidrofóbicas e em amostras ambientais tendem a serem adsorvidos por partículas em suspensão. Portanto, a recuperação desses analitos pode ser prejudicada quando há presença de materiais interferentes na matriz aquosa (TAROZO; FRENA; MADUREIRA, 2010).

6 CONCLUSÃO

A metodologia analítica otimizada neste estudo explorando a técnica de extração líquido-líquido com membranas microporosas aprimorada com nanopartículas de paládio apresentou resultados promissores para a determinação de HPA em amostras aquosas ambientais. A integração de nanopartículas de paládio na fase receptora resultou em um aumento satisfatório na eficiência de extração quando comparada à técnica convencional que utiliza apenas solvente orgânico na fase receptora. A metodologia desenvolvida também apresentou vantagens frente às técnicas de extração líquido-líquido tradicionais, como o reduzido uso de solventes orgânicos, apenas alguns microlitros de solvente orgânico são utilizados durante o processo de extração e dessorção, e baixo volume de amostra. Essas características tornam a técnica atrativa e de fácil aplicação, com bom custo benefício e vantagens de acordo com os conceitos de química analítica verde. A otimização dos parâmetros de extração e dessorção realizados em sua maioria com planejamento multivariado, com exceção da otimização da concentração de sal, permitiram reconhecer importantes interações estatisticamente significativas entre os principais parâmetros avaliados, possibilitando uma melhor identificação da condição ótima para cada parâmetro, através da redução de experimentos. Os resultados apresentados em relação às curvas analíticas de 16 HPA apresentaram boa linearidade e correlação entre as concentrações em toda a faixa linear de trabalho para todos os analitos avaliados, com valores de R maiores ou igual 0,9839. Os limites de detecção e quantificação alcançados para todos os compostos foram de 1,5 e 5 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Foram obtidos valores apreciáveis de recuperações para todos os analitos, com exceção dos compostos indeno(1,2,3,cd)pireno, dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno, que apresentaram valores baixos de recuperações. A aplicação da técnica em amostra aquosa da Lagoa do Peri, Florianópolis, SC, não identificou nenhum dos 16 HPA acima do limite de detecção do método analítico. A técnica de extração líquido-líquido em membranas microporosas aprimorada com nanopartículas de paládio foi devidamente otimizada e validada, com capacidade de extração de 16 HPA em amostras aquosas ambientais. Por fim, visa-se a aplicação desta metodologia analítica otimizada em diferentes matrizes ambientais.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKE, J., MATHIASSEN, L. Membrane-based techniques for sample enrichment. **Journal of Chromatography A**. v. 902, p. 205–225, 2000.

AL-HAWASH, A. B., DRAGH, M. A., LI, S., ALHUJAILY, A., ABBOOD, H. A., ZHANG, X., MA, F. Principles of microbial degradation of petroleum hydrocarbons in the environment. **The Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 44, n. 2, p. 71–76, 2018.

AOAC, Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis: Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements**. AOAC International: Mayland, 2016.

ARMENTA, S., GARRIGUES, S., ESTEVE-TURRILLAS, F. A., GUARDIA, M. Green extraction techniques in green analytical chemistry. **Trends in Analytical Chemistry**, <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.03.016>, 2019.

ASENSIO-RAMOS, M., RAVELO-PÉREZ, L. M., GONZÁLEZ-CURBELO, M. Á., HERNÁNDEZ-BORGES, J. Liquid phase microextraction applications in food analysis. **Journal of Chromatography A**. v. 1218, p. 7415–7437, 2011.

AZZOUZ, A., KAILASA, S., LEE, S., RASCÓN, A. J., BALLESTEROS, E., ZHANG, M., KIM, K. Review of nanomaterials as sorbents in solid-phase extraction for environmental samples. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 108, P. 347-369, 2018.

BARCELLOS, R., PIZZOLATO, T. M. Trends in Analytical Chemistry Combining extraction and purification steps in sample preparation for environmental matrices: A review of matrix solid phase dispersion (MSPD) and pressurized liquid extraction (PLE) applications. **Trends in Analytical Chemistry**. v. 109, p. 83-96, 2018.

BARRI, T., AKE, J. Advances and developments in membrane extraction for gas chromatography Techniques and applications. **Journal of Chromatography A**. v. 1186, p. 16–38, 2008.

BENDICHO, C., COSTAS-MORA, I., ROMERO, V., LAVILLA, I. Nanoparticle-enhanced liquid-phase microextraction. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 68, p. 78–87, 2015.

BERIRO, D. J., CAVE, M. R., MARK, R., WRAGG, J., THOMAS, R., WILLS, G., EVANS, F. A review of the current state of the art of physiologically-based tests for measuring human dermal in vitro bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in soil. **Journal of Hazardous Materials**, v. 305, p. 240–259, 2016.

BHAT, A. R.; WU, H. Synthesis , characterization and application of modified Pd nanoparticles as preconcentration probes for selective enrichment / analysis of proteins via hydrophobic interactions from real-world samples using nanoparticle- liquid-liquid microextraction coupled to matrix-assisted laser desorption / ionization time-of-flight mass spectrometry. **Rapid Communication in Mass Spectrometry**. p. 3547–3552, 2010.

BRASIL. Resolução CONAMA 357, de 17 de março de 2005. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Disponível em: http://pnqa.ana.gov.br/Publicacao/RESOLUCAO_CONAMA_n_357.pdf. Acesso em: julho de 2014.

CAPRIOTTI, A. L., CAVALIARE, C., FOGLIA, P., SAMPERI, R., STAMPACHIACCHIERE, S., VENTURA, S., LAGANÀ, A. Trends in Analytical Chemistry Recent advances and developments in matrix solid-phase dispersion. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 186–193, 2015.

CARASEK, E.; MERIB, J. Membrane-based microextraction techniques in analytical chemistry: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 880, p. 8–25, 2015.

CARASEK, E.; MORÉS, L.; MERIB, J. Basic principles , recent trends and future directions of microextraction techniques for the analysis of aqueous environmental samples. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 19, 2018.

ESRAFILI, A., BAHARFAR, M., TAJIK, M., YAMINI, Y., GHAMBARIAN, M. Two-phase hollow fiber liquid-phase microextraction. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 108, p. 314–322, 2018.

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

GONZÁLEZ-PEÑAS, E., LEACHE, C., VISCARRET, M., PÉREZ DE OBANOS, A., ARAGUÁS, C., LÓPEZ DE CERAIN, A. Determination of ochratoxin A in wine using liquid-phase microextraction combined with liquid chromatography with fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**. v. 1025, p. 163–168, 2004.

HASSEINE, A.; MENIAI, A.; KORICHI, M. Salting-out effect of single salts NaCl and KCl on the LLE of the systems (water + toluene + acetone), (water + cyclohexane + 2-propanol) and (water + xylene + methanol). **Desalination**. v. 242, p. 264–276, 2009.

HYDER, M., AGUILAR, L. L., GENBERG, J., SANDAHL, M., WESÉN, C., JÖNSSON, J. A. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from organic aerosols using hollow fiber micro – porous membrane liquid – liquid extraction (HF-MMLLE) followed by gas chromatography – mass spectrometry analysis. **Talanta**, v. 85, p. 919–926, 2011.

IDOWU, O., SEMPLE, K. T., RAMADASS, K., O'CONNOR, W., HANSBRO, P., THAVAMANI, P. Beyond the obvious: Environmental health implications of polar polycyclic aromatic hydrocarbons. **Environment International**, v. 123, p. 543–557, 2019.

LEUDJO, A.; PILLAY, K.; YANGKOU, X. Nanosponge cyclodextrin polyurethanes and their modification with nanomaterials for the removal of pollutants from waste water : A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 159, p. 94–107, 2017.

MAGALHÃES, I. R. DOS S.; BONATO, P. S.; OLIVEIRA, A. R. M. DE. Fundamentos e avanços recentes da microextração em fase líquida empregando membranas cilíndricas ocas (LPME). **Scientia Chromatographica**, v. 1, n. 4, p. 11–17, 2009.

MALETIĆ, S. P., BELJIN, J. M., RONCEVIC, S. D., GRGIC, M. G., DALMACIJA, B. D. State of the art and future challenges for polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments: sources, fate, bioavailability and remediation techniques. **Journal of Hazardous Materials**, v. 365, p. 467–482, 2019.

MERIB, J.; CARASEK, E. Microextração em fase líquida suportada com fibra oca (HF-LPME): Fundamentos e aplicações recentes. **Scientia Chromatographica**, v. 5, n. 4, p. 249–262, 2013.

NOKWETHEMBA, P. Modification, development and application of extraction methods for PAHs in sediments and water. Tese de Doutorado. University of the Witwatersrand, Johannesburg, 2012

PAWLISZYN, A. C. L. Solid-phase microextraction with thermal desorption using fused-silica optical fibers. **Analytical Chemistry**, v. 62, p. 2145-2148, 1990.

PEDERSEN-BJERGAARD, S.; RASMUSSEN, K. E. Liquid-liquid-liquid microextraction for sample preparation of biological fluids prior to capillary electrophoresis. **Analytical Chemistry**, v. 71, n. 14, p. 2650–2656, 1999.

POINOT, P.; GAILLARD, J.; PARIS, A. Polycyclic aromatic hydrocarbons in fruits and vegetables : Origin , analysis , and occurrence. **Environmental Pollution**, v. 234, p. 96–106, 2018.

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

RAZA, N., HASHEMI, B., KIM, K., LEE, S., DEEP, A. Aromatic hydrocarbons in air, water, and soil: Sampling and pretreatment techniques. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 103, p. 56–73, 2018.

RENGARAJAN, T., RAJENDRAN, P., NANDAKUMAR, N., LOKESHKUMAR, B., RAJENDRAN, P., NISHIGAKI, I. Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons with special focus on cancer. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 5, p. 182–189, 2015.

SAE-KHOW, O.; MITRA, S. Fabrication and characterization of carbon nanotubes immobilized in porous polymeric membranes. **Journal of Materials Chemistry**, v.19, p. 3713–3718, 2009.

SONG, X.; SHI, Y.; CHEN, J. Carbon nanotubes reinforced hollow fiber solid phase microextraction for the determination of strychnine and brucine in urine. **Talanta**, v. 116, p. 188–194, 2013.

TAROZO, R.; FRENA, M.; MADUREIRA, L. A. S. Geochemical markers as a tool to assess sedimentary organic matter sources of the Laguna Estuarine System, South Brazil: Aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 12, p. 2308–2318, 2010.

TIAN, J., XU, J., ZHU, F., LU, T., SU, C., OUYANG, G. Application of nanomaterials in sample preparation. **Journal of Chromatography A**, v. 1300, p. 2–16, 2013.

YAMINI, Y., REZAZADEH, M., SEIDI, S. Liquid-phase microextraction - The different principles and configurations. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 112, p. 264–272, 2019.

YANG, Y., CHEN, J., SHI, Y. Recent developments in modifying polypropylene hollow fibers for sample preparation. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 64, p. 109–117, 2015.

ZHANG, L., FANG, M. Nanomaterials in pollution trace detection and environmental improvement. **Nano Today**, v. 5, n. 2, p. 128–142, 2010.

ZHAO, G., WANG, C., WU, Q., WANG, Z. Determination of carbamate pesticides in water and fruit samples using carbon nanotube reinforced hollow fiber liquid-phase microextraction followed by high performance liquid chromatography. **Analytical Methods**, v. 3, p. 1410–1417, 2011.

ZORITA, S., BARRI, T., MATHIASSEN, L. A novel hollow-fibre microporous membrane liquid – liquid extraction for determination of free 4-isobutylacetophenone concentration at ultra trace level in environmental aqueous samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1157, p. 30–37, 2007.