

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

Daiane Skupin da Silva

**HPAs EM ÁGUAS SUPERFICIAIS E EFLUENTE
HOSPITALAR: DEGRADAÇÃO POR PAOs E
DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA
DETERMINAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE SUBPRODUTOS**

**Santa Maria, RS
2016**

Daiane Skupin da Silva

**HPAs EM ÁGUAS SUPERFICIAIS E EFLUENTE HOSPITALAR:
DEGRADAÇÃO POR PAOs E DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS
PARA DETERMINAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE SUBPRODUTOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração em Química Analítica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Química**.

Orientador: Prof. Emérito Tit. Dr. Ayrton Figueiredo Martins

Santa Maria, RS

2016

Daiane Skupin da Silva

**HPAs EM ÁGUAS SUPERFICIAIS E EFLUENTE HOSPITALAR:
DEGRADAÇÃO POR PAOs E DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS
PARA DETERMINAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE SUBPRODUTOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração em Química Analítica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Química**.

Aprovado em 26 de fevereiro de 2016.

Prof. Emérito Tit. Dr. Ayrton Figueiredo Martins
(Presidente/Orientador)

Carlos Alberto Araújo de Almeida, Dr. (UFSM)

Paola de Azevedo Mello, Dra. (UFSM)

Maria Tereza Friedrich, Dra. (UPF)

Carla Sirtori, Dra. (UFRGS)

Santa Maria, RS
2016

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Emérito Tit. Dr. Ayrton Figueiredo Martins pela oportunidade e orientação ao longo deste trabalho.

À Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, financiador desta dissertação.

Às professoras Paola de Azevedo Mello, Martha Bohrer Adaime, Maria Tereza Friedrich e Carla Sirtori pela participação na banca examinadora e sugestões.

Aos professores Paola de Azevedo Mello, Manoel Martins, Marcio Schwaab e Carla da Silveira Frank pelas consideráveis sugestões prestadas no exame de qualificação. Aos demais professores que direta ou diretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao programa *Sustainable Water Management In Developing Countries (Swindon)*, pela oportunidade de realizar parte deste trabalho em intercâmbio na Universidade Nacional Autônoma do México.

Aos *maestros* da UNAM, Alma Chávez e José Elias, pelo auxílio durante o intercâmbio. Aos demais professores e funcionários do *Instituto de Ingenieria* da UNAM.

Aos amigos brasileiros, Liziane e Robson, que conheci no México. E aos demais amigos mexicanos pelo carinho e amizade: Sonia, Leo, Juan, Paulina, Idanea, Andy.

Aos funcionários do PPGQ.

Aos colegas e ex-colegas do LATER pelo convívio, paciência e apoio no desenvolvimento desta dissertação. Às ICs Júlia Antunes, Loisleini Saldanha e Raiara Araújo pela imensa ajuda principalmente na fase de conclusão deste trabalho.

À Joseline Altissimo, Giovanni Pedroso e Jeremias Bastos pela amizade, apoio, colaboração e conselhos durante a realização deste trabalho.

Aos meus pais e ao meu irmão Douglas pelo estímulo e apoio incondicional e por serem meu refúgio e referência. Ao meu amigo Alex Missio, meu segundo irmão, pela força e carinho em todos os momentos difíceis e pela alegria em compartilhar minhas conquistas.

Aos demais familiares que sempre me incentivaram.

Ao Diogo Morais pelo apoio, incentivo e carinho em todos os momentos.

Às amigas Djulia Ziemann e Bruna Dotto pela amizade, apoio e companheirismo em todas as horas.

A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para este trabalho.

E a Deus por me dar coragem e persistência para seguir adiante.

“Nossa maior fraqueza está em desistir. O caminho mais certo de vencer é tentar mais uma vez.”
(Thomas Edison)

RESUMO

HPAs EM ÁGUAS SUPERFICIAIS E EFLUENTE HOSPITALAR: DEGRADAÇÃO POR PAOs E DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE SUBPRODUTOS

AUTORA: DAIANE SKUPIN DA SILVA

ORIENTADOR: AYRTON FIGUEIREDO MARTINS

Neste trabalho fez-se a otimização de método analítico para identificação e quantificação de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) em amostras de águas superficiais e efluente hospitalar. Empregou-se Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção por Fluorescência (HPLC-FLD), Extração em Fase Sólida (SPE) e Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME). Para a SPE, investigou-se o uso de modificadores orgânicos, devido a baixa solubilidade dos HPAs, e empregou-se 20% de acetonitrila como tal. Aplicou-se planejamento fatorial e os melhores resultados foram: pH 5 para amostras e água de lavagem. O método de SPE foi validado em cartuchos Chromabond[®] C18 ec e as recuperações variaram de 92,0 a 100,2% (RSD 0,2 a 5,0%). As maiores concentrações de HPAs, com SPE, foram em amostras de águas superficiais do córrego do Campus da UFSM (5,4 a 21,5 $\mu\text{g L}^{-1}$). Para a DLLME, otimizada por planejamento de experimentos, as condições ótimas foram: pH 7, 0,2 mol L^{-1} de NaCl, 100 μL de solvente extrator (tetracloroeto de carbono) e 500 μL de solvente dispersor (acetona). O método de DLLME foi validado e as recuperações variaram 77,2 a 100,6% (RSD de 0,9 a 10,2%) para amostras de água superficiais e, de 72,7 a 100,3% (RSD de 1,9 a 8,9%), para amostras de efluente hospitalar. As maiores concentrações de HPAs, por DLLME, obtiveram-se em amostras de águas superficiais (3,2 a 19,7 $\mu\text{g L}^{-1}$). Empregando-se SPE e DLLME, as concentrações de antraceno e pireno ficaram abaixo do limite de quantificação em todos os pontos de amostragem. Na avaliação de risco ambiental, naftaleno, 1-metilnaftaleno e fenantreno apresentaram risco ambiental moderado. Alto risco ambiental foi evidenciado para fluoreno, antraceno e pireno. Como método de remediação aplicou-se fotocatalise heterogênea e ozonização. Na fotocatalise, empregou-se reator tanque agitado termostatizado, radiação ultravioleta e TiO_2 suportado em polidimetilsiloxano. Devido à baixa solubilidade fez-se necessária a adição de acetonitrila à solução de HPAs (5% em solução aquosa e 10% em água superficial e efluente hospitalar). Aplicou-se planejamento fatorial e as melhores taxas de degradação obtiveram-se com pH 9 e 35 °C (solução aquosa) e, pH 7 e 30 °C (águas superficiais e efluente hospitalar). Foi observada cinética de primeira ordem para a degradação fotocatalítica dos HPAs em solução aquosa e de ordem zero em amostras de efluente hospitalar e águas superficiais. Os subprodutos de degradação fotocatalítica de antraceno, fenantreno e naftaleno foram identificados por GC-MS e propuseram-se rotas de fragmentação. Empregou-se um reator tipo coluna de semi-batelada no processo de ozonização de HPAs. As melhores taxas de degradação dos analitos em solução aquosa e em amostras reais foram observadas em pH 9. O estudo cinético evidenciou reações de primeira ordem para todas as amostras estudadas e os tempos de degradação variaram de 5 a 15 minutos nas condições otimizadas.

Palavras-chave: HPAs. Águas superficiais. Efluente hospitalar. Técnicas de Extração. Fotocatalise heterogênea. Ozonização. Subprodutos.

ABSTRACT

HPAs IN SURFACE WATER AND WASTEWATER HOSPITAL: DEGRADATION BY AOPs AND DEVELOPMENT OF METHODS FOR DETERMINATION AND IDENTIFICATION OF SUBPRODUCTS

AUTHOR: DAIANE SKUPIN DA SILVA
ADVISER: AYRTON FIGUEIREDO MARTINS

In this study, was optimization an analytical method for identification and quantification method of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in surface water and hospital effluent samples. High Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection (HPLC-FLD), assisted by Solid Phase Extraction (SPE) and Dispersive Liquid-Liquid Microextraction (DLLME), was used. For SPE, the use of organic modifiers was necessary owing to the low solubility of PAHs, and employed 20% of acetonitrile as such. Factorial design was applied and the best results were: pH 5 for the samples and washing water. The SPE method was validated in Chromabond[®] C18 ec cartridges and recoveries ranged from 92.0 to 100.2% (RSD 0.2 to 5.0%). The highest concentrations of PAHs using SPE were found in surface waters from the water course crossing the UFSM Campus (5.4 to 21.5 $\mu\text{g L}^{-1}$). Using DLLME optimized by design of experiments, the best conditions were: pH 7, 0.2 mol L⁻¹ NaCl, 100 μL of extractor solvent (carbon tetrachloride) and 500 μL of disperser solvent (acetone). The DLLME method was validated, providing recoveries ranging from 77.2 to 100.6% (RSD 0.9 to 10.2%) for surface water and 72.7 to 100.3% (RSD 1.9 to 8.9%) for hospital effluent samples. Using DLLME, the highest concentrations of PAHs were found in surface water samples (3.2 to 19.7 $\mu\text{g L}^{-1}$). Employing both SPE and DLLME, the concentration of anthracene and pyrene were below the limit of quantification in all sampling points. By the environmental risk assessment naphthalene, 1-methylnaphthalene and phenanthrene showed moderate environmental risk. High environmental risk was found for fluorene, anthracene and pyrene. Heterogeneous photocatalysis and ozonation was examined as remediation method. A jacketed stirred tank reactor and ultraviolet irradiation were used for photocatalysis with TiO₂ supported on polydimethylsiloxane. Owing to the low solubility of PAHs, it was necessary the addition of acetonitrile to the solutions (5% in aqueous solution, and 10% in surface water and hospital effluent). A factorial design was applied and the best rates of degradation was set as pH 9 and 35 °C (aqueous solution), and pH 7 and 30 °C (surface water and hospital effluent). First order kinetics was observed for photocatalytic degradation of PAHs in aqueous solution, and, zero order, in hospital effluent and surface water. The photocatalytic degradation subproducts were identified for anthracene, phenanthrene and naphthalene by GC-MS and the fragmentation routes were proposed. Semi-batch column type reactor was used by the ozonation. The best degradation rates of the analytes, in aqueous solution and in real samples, were observed at pH 9. The ozonation kinetics showed a first-order reaction for all samples and degradation times ranging from 5 to 15 minutes.

Keywords: PAHs. Surface waters. Hospital effluent. Extraction techniques. Heterogeneous photocatalysis. Ozonation. Subproducts.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estruturas moleculares dos HPAs estudados.	7
Figura 2 – Estrutura molecular do fenantreno indicando a região côncava (baía).	8
Figura 3 – Avaliação do risco ambiental dos produtos químicos.	9
Figura 4 – Técnicas de microextração de compostos orgânicos.	11
Figura 5 – Etapas do procedimento de DLLME.	12
Figura 6 – PAOs que envolvem a geração de radicais HO [•]	17
Figura 7 – Mecanismo simplificado para a fotoativação do catalisador TiO ₂	20
Figura 8 – Mecanismo de ozonização por reação direta e indireta.	25
Figura 9 – Sistema de esgotos e representação esquemática do sistema de tratamento de efluentes adotado pelo HUSM.	27
Figura 10 – Representação figurativa sequencial do procedimento analítico.	30
Figura 11 – Pontos de amostragem de águas superficiais e efluente hospitalar.	31
Figura 12 – Procedimento de SPE de HPAs para análise por HPLC-FLD.	34
Figura 13 – Procedimento de DLLME de HPAs.	37
Figura 14 – Reator tanque agitado <i>home made</i> utilizado na aplicação dos PAOs.	41
Figura 15 – Fluxograma da SPE de HPAs para análise por GC-MS.	43
Figura 16 – Sistema de ozonização empregado na degradação de HPAs.	44
Figura 17 – Cromatograma da separação de HPAs por HPLC-FLD, concentração N1. Condições: ver Tabela 8.	49
Figura 18 – Cromatogramas dos testes de estabilidade de solução-padrão de HPAs.	52
Figura 19 – Efeito da adição de modificadores orgânicos (acetona, MeCN e MeOH), nas taxas de recuperação de HPAs por SPE empregando cartuchos C18 ec.	54
Figura 20 – Diagramas de Pareto para a SPE de HPAs em amostras de efluente hospitalar empregando 20% de MeCN.	57
Figura 21 – Avaliação do volume de saturação na SPE de HPAs.	58
Figura 22 – Cromatograma da avaliação do efeito da matriz efluente hospitalar na SPE de HPAs por meio de HPLC-FLD.	59
Figura 23 – Curvas analíticas para avaliação do efeito de matriz de HPAs por SPE.	61
Figura 24 – Gráficos Box & Whisker para verificação de valores discrepantes da curva analítica em solução aquosa.	62
Figura 25 – Gráficos Box & Whisker para verificação de valores discrepantes da curva analítica em efluente hospitalar.	63
Figura 26 – Concentrações ambientais medidas (MEC), em µg L ⁻¹ , de HPAs em amostras reais, por HPLC-FLD empregando SPE.	65
Figura 27 – Diagramas de Pareto para a DLLME de HPAs em solução aquosa.	70
Figura 28 – Diagramas de Pareto para a DLLME de HPAs em efluente hospitalar.	72
Figura 29 – Concentrações ambientais medidas (MEC), em µg L ⁻¹ , de HPAs em amostras reais, por HPLC-FLD empregando DLLME.	75
Figura 30 – Degradação de HPAs, em solução aquosa, por fotocatalise heterogênea.	79
Figura 31 – Degradação de HPAs, em efluente hospitalar, por fotocatalise heterogênea.	80

Figura 32– Degradação de HPAs, em solução aquosa, por fotocatalise heterogênea com uso de TiO ₂ imobilizado em PDMS avaliando a adição de MeCN.	81
Figura 33– Diagramas de Pareto para a degradação fotocatalítica de HPAs em solução aquosa empregando TiO ₂ imobilizado em PDMS.	83
Figura 34– Cromatograma para a degradação fotocatalítica de HPAs em solução aquosa empregando PDMS/TiO ₂ . Condições: pH 9, 35 °C e 5% de MeCN.	84
Figura 35– Diagramas de Pareto para a degradação fotocatalítica de HPAs em amostras de efluente hospitalar empregando TiO ₂ imobilizado em PDMS.	86
Figura 36– Cromatograma para a degradação fotocatalítica de HPAs em efluente hospitalar empregando PDMS/TiO ₂ . Condições: pH 7, 30 °C e 10% de MeCN.	87
Figura 37 – Espectro de emissão da lâmpada de vapor de mercúrio usada na aplicação de PAOs.	89
Figura 38 – Micrografia eletrônica de varredura de TiO ₂ suportado em PDMS. Vista interna (corte vertical) das barras poliméricas com TiO ₂	90
Figura 39 – Estudo cinético da degradação fotocatalítica de HPAs em solução aquosa.	93
Figura 40 – Estudo cinético da degradação fotocatalítica de HPAs em amostras de efluente hospitalar.	94
Figura 41 – Estudo cinético da degradação fotocatalítica de HPAs em amostras de águas superficiais.	95
Figura 42 – Rota proposta para a degradação fotocatalítica de antraceno.	98
Figura 43 – Rota proposta para a degradação fotocatalítica de fenantreno.	99
Figura 44 – Rota proposta para a degradação fotocatalítica de naftaleno.	100
Figura 45 – Degradação de HPAs em solução aquosa empregando pH 5, 7 e 9.	102
Figura 46 – Degradação de HPAs em amostras de efluente hospitalar empregando pH 5, 7 e 9.	103
Figura 47 – Degradação de HPAs em amostras de águas superficiais empregando pH 5, 7 e 9.	104
Figura 48 – Estudo cinético da degradação de HPAs por ozonização em solução aquosa. ...	105
Figura 49– Estudo cinético da degradação de HPAs por ozonização em amostras de efluente hospitalar.	106
Figura 50– Estudo cinético da degradação de HPAs por ozonização em amostras de águas superficiais.	107
Figura 51 – Sítios de ataque esperados para a reação entre os HPAs e ozônio.	109
Figura 52– Espectro de massas de subprodutos de antraceno em solução aquosa.	131
Figura 53– Espectro de massas de subprodutos de antraceno em amostras de água superficial.	132
Figura 54– Espectro de massas de subprodutos de antraceno em amostras de efluente hospitalar.	133
Figura 55– Espectro de massas de subprodutos de fenantreno em solução aquosa.	134
Figura 56– Espectro de massas de subprodutos de fenantreno em amostras de água superficial.	134
Figura 57– Espectro de massas de subprodutos de fenantreno em amostras de efluente hospitalar.	135
Figura 58– Espectro de massas de subprodutos de naftaleno em solução aquosa.	136

Figura 59– Espectro de massas de subprodutos de naftaleno em amostras de água superficial.	137
Figura 60– Espectro de massas de subprodutos de naftaleno em amostras de efluente hospitalar.....	138

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas de HPAs.	6
Tabela 2 – Potencial padrão de redução (IUPAC) de alguns oxidantes em meio aquoso.....	17
Tabela 3 – Identificação dos intermediários propostos para a degradação dos HPAs naftaleno, fenantreno e antraceno no estudo de WOO et al. (2009).....	21
Tabela 4 – Níveis de concentrações dos HPAs para obtenção da curva analítica por HPLC-FLD.....	32
Tabela 5 – Combinações de solventes extrator e dispersor empregados na DLLME de HPAs.	36
Tabela 6 – Caracterização do reator utilizado na degradação de HPAs.....	40
Tabela 7 – Parâmetros físico-químicos médios do efluente do HUSM, águas superficiais da UFSM e limites permitidos.....	47
Tabela 8 – Condições cromatográficas utilizadas na determinação de HPAs por HPLC-FLD.	49
Tabela 9 – Figuras de mérito do método de determinação de HPAs por HPLC-FLD.....	50
Tabela 10 – Comparação de LDs e LQs, em $\mu\text{g L}^{-1}$, de alguns HPAs estudados, empregando HPLC.	50
Tabela 11 – Otimização da SPE de HPAs em solução aquosa empregando diferentes cartuchos de SPE: taxas de recuperação e RSD.	55
Tabela 12 – Aplicação da melhor condição da SPE em efluente hospitalar fortificado com HPAs empregando cartuchos C18 ec.	55
Tabela 13 – Matriz do planejamento DCCR, variáveis independentes e resultados da recuperação de HPAs em efluente hospitalar empregando SPE.	56
Tabela 14 – Figuras de mérito do método de determinação de HPAs por SPE-HPLC-FLD...	60
Tabela 15 – Resultados de recuperação da SPE de HPAs em efluente hospitalar, em 3 níveis de concentração e 3 replicatas ($n=3$): precisão inter-dias.....	64
Tabela 16 – Resultados das diferentes combinações de solventes extrator e dispersor empregados na DLLME de HPAs em solução aquosa.....	67
Tabela 17 – Resultados das diferentes combinações de solventes extrator e dispersor empregados na DLLME de HPAs em amostras reais.	67
Tabela 18 – Matriz do planejamento DCCR, variáveis independentes e resultados da recuperação de HPAs em solução aquosa empregando DLLME.....	69
Tabela 19 – Matriz do planejamento DCCR, variáveis independentes e resultados da recuperação de HPAs em efluente hospitalar empregando DLLME.....	71
Tabela 20 – Resultados de recuperação da DLLME de HPAs em águas superficiais e efluente hospitalar, em 3 níveis de concentração e 6 replicatas ($n=6$): precisão inter-dias.	74
Tabela 21 – Avaliação de risco ambiental dos HPAs.....	77
Tabela 22 – Matriz do planejamento DCCR, variáveis independentes e resultados de degradação de HPAs por fotocatalise heterogênea em solução aquosa.	82
Tabela 23 – Matriz do DCCR, variáveis independentes e resultados de degradação de HPAs por fotocatalise heterogênea em efluente hospitalar.....	85

Tabela 24– Coeficientes de regressão para a degradação fotocatalítica de HPAs em solução aquosa, efluente hospitalar e águas superficiais.	92
Tabela 25 – Constantes cinéticas (k) para a degradação de HPAs em solução aquosa e constantes cinéticas aparentes (k_{ap}) para a degradação em efluente hospitalar e águas superficiais.....	96
Tabela 26 – Informação sobre os HPAs e seus intermediários gerados pelo processo de fotocatalise heterogênea e identificados por CG-MS.	97
Tabela 27 – Coeficientes de regressão para a degradação de HPAs, por ozonização, em solução aquosa, efluente hospitalar e águas superficiais.	108
Tabela 28 – Constantes cinéticas (k) para a degradação de HPAs em solução aquosa e constantes cinéticas aparentes (k_{ap}) para a degradação em efluente hospitalar e águas superficiais, aplicando ozonização.	108

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ANOVA	Análise de Variância
ANT	Antraceno
BC	Banda de Condução
BTEX	Benzeno, Tolueno, Etilbenzeno e Xileno
BV	Banda de Valência
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CONSEMA	Conselho Estadual do Meio Ambiente
COVs	Compostos Orgânicos Voláteis
DCCR	Delineamento do Composto Central Rotacional
DLLME	Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (do inglês <i>Dispersive Liquid-Liquid Microextraction</i>)
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EMEA	Agência Europeia de Avaliação de Medicamentos (do inglês <i>European Medicines Evaluation Agency</i>)
EPA	Agência de Proteção Ambiental (do inglês <i>U.S. Environmental Protection Agency</i>)
EPIs	Equipamentos de Proteção Individual
E°	Potencial de Redução
FEN	Fenantreno
FLU	Fluoreno
GC-MS	Cromatografia Gasosa com Detector de Massas (do inglês <i>Gas Chromatography Mass Spectrometry</i>)
HPA	Hidrocarboneto Policíclico Aromático
HPAs	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (do inglês <i>High Performance Liquid Chromatography</i>)
HPLC-FLD	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Fluorescência (do inglês <i>High Performance Liquid Chromatography with fluorescence detection</i>)
HO·	Radical Hidroxil
HUSM	Hospital Universitário de Santa Maria
$h\nu$	<i>Quantum</i> de Radiação Eletromagnética
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
k	Número de Fatores
K_{ow}	Coefficiente de Partição octanol/água
LAQIA	Laboratório de Análises Químicas Industriais e Ambientais
LATER	Laboratório de Pesquisa em Tratamento de Efluentes e Resíduos
LD	Limite de Detecção
$\log K_{ow}$	Logaritmo do Coeficiente de Partição Octanol-água
LLE	Extração Líquido-Líquido (do inglês <i>liquid-liquid extraction</i>)
LPME	Microextração em Fase Líquida (do inglês <i>liquid phase microextraction</i>)
LQ	Limite de Quantificação
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
MEC	Concentração Ambiental Medida (do inglês <i>Measured Environmental Concentration</i>)
MeCN	Acetonitrila
MeOH	Metanol

MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NAF	Naftaleno
P.A.	Padrão Analítico
PAOs	Processos Avançados de Oxidação
PC	Ponto Central
PDMS	Polidimetilsiloxano
PEC	Concentração Ambiental Predita (do inglês <i>Predicted environmental concentration</i>)
PNEC	Concentração Predita que não Causa Efeito (do inglês <i>Predicted No Effect Concentration</i>)
POPs	Poluentes orgânicos persistentes
PIR	Pireno
PPCPs	Fármacos e produtos de cuidado pessoal (do inglês <i>Pharmaceuticals and Personal Care Products</i>).
PU	Poliuretano
r^2	Coefficiente de correlação
RSD	Desvio Padrão Relativo
R(%)	Recuperação
SBSE	Extração Sortiva em Barra de Agitação (do inglês <i>stir bar sorptive extraction</i>)
SDME	Microextração em Gota Suspensa (do inglês <i>single drop microextraction</i>)
SPE	Extração em Fase Sólida (do inglês <i>solid phase extraction</i>)
SPME	Microextração em Fase Sólida (do inglês <i>solid phase microextraction</i>)
STE	Sistema de Tratamento de Efluentes
THF	Tetrahydrofurano
UFMS	Universidade Federal de Santa Maria
UV	Radiação Eletromagnética Ultravioleta
λ_{em}	Comprimento de Onda de Emissão
λ_{ex}	Comprimento de Onda de Excitação
1-ME	1-Metilnaftalno
ϕ	Diâmetro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1	Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) no meio ambiente	5
2.1.1	Características e propriedades físico-químicas dos HPAs.....	5
2.1.2	Toxicidade dos HPAs	6
2.2	Avaliação de risco ambiental.....	8
2.3	Técnicas de extração de compostos orgânicos	9
2.4	Técnicas de microextração de compostos orgânicos	10
2.4.1	Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME).....	12
2.4.1.1	Princípios da DLLME	14
2.5	Processos avançados de oxidação (PAOs).....	16
2.5.1	Fotólise.....	18
2.5.2	Fotocatálise heterogênea.....	19
2.5.3	Ozonização.....	23
2.6	Planejamento Fatorial	26
2.7	Águas superficiais e efluentes.....	26
3	MATERIAIS E MÉTODOS	29
3.1	Reagentes e soluções	29
3.2	Fluxograma experimental	29
3.3	Amostragem de efluente hospitalar e água superficial	30
3.4	Caracterização físico-química.....	32
3.5	Métodos de identificação e determinação de HPAs	32
3.5.1	Estabilidade dos HPAs.....	32
3.5.2	Análise cromatográfica de HPAs.....	33
3.5.3	Extração em fase sólida (SPE).....	33
3.5.4	Efeito de matriz.....	35
3.5.5	Estimativa do volume de saturação	35
3.5.6	Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME).....	35
3.6	Parâmetros de validação	37
3.7	Avaliação de risco.....	39
3.8	Aplicação de PAOs para a degradação de HPAs.....	39
3.8.1	Fotocatálise heterogênea.....	39
3.8.2	Otimização do processo de fotocatalise heterogênea	41
3.8.3	Estudo cinético.....	42
3.8.4	Metodologia de identificação de subprodutos da degradação fotocatalítica de HPAs	42
3.8.5	Ozonização.....	44
3.8.5.1	Reator e gerador de ozônio.....	44
3.8.5.2	Medida do ozônio na corrente gasosa	45

3.8.5.3	Ozonização de HPAs.....	46
3.9	Gerenciamento de resíduos.....	46
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
4.1	Caracterização físico-química.....	47
4.2	Métodos de identificação e determinação de HPAs.....	48
4.2.1	Método HPLC-FLD para determinação de HPAs.....	48
4.2.2	Estabilidade dos HPAs.....	51
4.2.3	Extração em fase sólida (SPE).....	53
4.2.3.1	Efeito do volume de saturação.....	57
4.2.3.2	Efeito de matriz.....	59
4.2.3.3	Figuras de mérito do método SPE-HPLC-FLD.....	60
4.2.3.4	Validação da SPE de HPAs.....	64
4.2.4	Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME).....	66
4.2.4.1	Efeito das variáveis.....	73
4.2.4.2	Validação da DLLME de HPAs.....	74
4.3	Avaliação de risco.....	77
4.4	Aplicação de PAOs.....	78
4.4.1	Fotocatálise heterogênea.....	78
4.4.1.1	Otimização em solução aquosa.....	82
4.4.1.2	Otimização em efluente hospitalar.....	85
4.4.2	Vantagens do uso de TiO ₂ imobilizado em PDMS.....	87
4.4.3	Efeito das variáveis na degradação fotocatalítica.....	88
4.4.3.1	Efeito da temperatura.....	88
4.4.3.2	Irradiação UV.....	88
4.4.3.3	Efeito do catalisador.....	89
4.4.3.4	Efeito do pH.....	90
4.4.4	Estudo cinético da degradação fotocatalítica de HPAs.....	91
4.4.5	Identificação de subprodutos da degradação fotocatalítica de HPAs.....	96
4.4.6	Ozonização.....	101
5	CONCLUSÕES.....	111
6	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	113
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	115
8	ANEXOS.....	129

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, o aumento populacional e o conseqüente aumento das atividades industriais, vêm contribuindo para o agravamento dos problemas ambientais, principalmente com respeito à preservação das águas superficiais e subterrâneas. Neste contexto, a legislação vem se tornando cada vez mais restritiva e a fiscalização, mais presente. Entretanto, relatos do descarte de toneladas de resíduos em córregos, rios e mares são ainda bastante frequentes em todo o mundo (HELENO et al., 2010).

No Brasil, a realidade não é diferente. Segundo o relatório apresentado em 2001 pela Agência Nacional de Águas, cerca de 70% dos rios que fazem parte das bacias hidrográficas que vão do Sergipe ao Rio Grande do Sul, apresentaram altos índices de contaminação, principalmente por efluentes urbanos, substâncias lixiviadas de grandes lixões, agrotóxicos e outras substâncias de interesse ambiental (TIBURTIUS et al., 2004).

A contaminação de solos, águas subterrâneas e águas superficiais por compostos orgânicos voláteis tem sido destaque nas últimas décadas, principalmente em função da frequência com que episódios de contaminação são verificados e da gravidade com que o meio ambiente é afetado (TIBURTIUS et al., 2004).

Tem-se dado atenção à presença de diversos contaminantes emergentes em diferentes compartimentos ambientais, no presente trabalho, em particular para amostras reais de águas superficiais e efluente hospitalar. Estes tipos de amostras contêm uma variedade de substâncias tóxicas/persistentes, tais como fármacos, radionuclídeos, solventes e desinfetantes, numa ampla gama de concentrações. A maioria destes compostos não são frequentemente monitorados, os quais podem ser controlados futuramente, como uma consequência da investigação crescente sobre os seus potenciais efeitos à saúde e ocorrência ambiental. A sua característica principal é a de que eles não precisam persistir no ambiente para causar efeitos negativos levando em consideração suas elevadas taxas de transformação/remoção que podem ser compensadas pela descarga contínua para o meio ambiente (VERLICCHI et al., 2010).

O tratamento das águas servidas geradas no Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM) é realizado através de sistema de fossas sépticas conjugada a filtros anaeróbios, sendo o efluente tratado descartado em um córrego que corta o Campus da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) (VASCONCELOS et al., 2009-a). Este córrego é integrante

da Bacia Hidrográfica da Barragem Vacacaí Mirim, que está localizada na porção centro-ocidental do Estado do Rio Grande do Sul.

Outro fato preocupante diz respeito a vazamentos em postos de combustíveis que provocam graves problemas ao meio ambiente, principalmente com respeito à contaminação de águas. O potencial poluente da gasolina está diretamente relacionado com os hidrocarbonetos aromáticos. Neste sentido, outra provável fonte de contaminação das águas superficiais do Campus da UFSM, que foi investigada, se deve a localização de um posto de combustíveis no Campus da Universidade.

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são classificados como Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) e a sua ocorrência no ambiente é motivo de grande preocupação. Estes compostos representam risco à saúde humana e aos ecossistemas, consequência da toxicidade e considerável solubilidade destas espécies (ZHANG et al., 2012-b; HARMENS et al., 2013).

As principais fontes de emissão de HPAs para o meio ambiente são a combustão incompleta da matéria orgânica, tais como carvão, combustível fóssil e biomassa (ZHANG et al., 2012-b). Os HPAs podem ser encontrados naturalmente no solo, porém, a sua presença em elevadas concentrações deve-se a emissões antropogênicas como, por exemplo, escapamentos de automóveis, fumaça de cigarro, aquecimento doméstico, emissões industriais, incluindo indústrias de ferro e aço, produção e processamento de plásticos, corantes e pigmentos (MA et al., 2010-a; PÉREZ-GREGORIO et al., 2010; ENE et al., 2012).

Os HPAs apresentam efeitos adversos aos seres humanos, tais como toxicidade elevada, são potentes agentes cancerígenos, mutagênicos, teratogênicos e desreguladores endócrinos (WANG et al., 2012; AL-SALEH et al., 2013). A contaminação humana se dá pela ingestão de água e/ou alimentos contaminados, inalação, absorção cutânea, nos pulmões e no trato gastrointestinal (BRUM e NETO, 2009; MIRSADEGHI et al., 2011; TFOUNI et al., 2012).

A Agência de Proteção Ambiental Americana (*U.S. Environmental Protection Agency* - EPA) lista 16 HPAs como poluentes prioritários por serem considerados carcinogênicos e mutagênicos (NIKOLAOU et al., 2009; LORENZO et al., 2011; SCHRÖDER et al., 2010; AUDEBERT et al., 2012). Dentre estes HPAs estão o antraceno, naftaleno, fluoreno, fenantreno, pireno e 1-metilnaftaleno, compostos alvos do presente estudo.

A determinação de HPAs em matrizes ambientais é realizada, normalmente, por meio de técnicas cromatográficas, envolvendo etapas preliminares de amostragem, extração e pré-concentração dos analitos (PÉREZ-CARRERA et al., 2007; FARHADI et al., 2009). Técnicas

de extração e microextração, livres de solventes, ou que fazem uso de menores quantidades destes, vêm sendo amplamente empregadas e tornaram-se indispensáveis, representando uma tendência irreversível em termos de métodos analíticos, particularmente, na área ambiental (BARCO-BONILLA et al., 2011; KRÜGER et al., 2011; DA SILVA et al., 2013).

As regulamentações relacionadas com a qualidade das águas vêm se tornando cada vez mais restritivas, principalmente em função da constatação definitiva da vulnerabilidade deste recurso essencial. Em função de ineficiência, elevado custo e complexidade operacional dos tratamentos existentes no momento, as tecnologias alternativas têm recebido bastante atenção nos últimos anos (TIBURTIUS et al., 2004).

Uma nova abordagem para a descontaminação de águas superficiais, chamada de remediação natural, vem ganhando aceitação nos últimos anos. A atenuação natural que ocorre no meio ambiente refere-se aos processos físicos, químicos (luz solar, presença de peróxido de hidrogênio, íons ferro) e biológicos que facilitam a remediação natural. Este processo limita bastante o deslocamento dos contaminantes e, portanto, reduz a extensão da contaminação no meio ambiente, porém, a formação de subprodutos de degradação é de suma importância, a fim de se avaliar a toxicidade dos compostos formados naturalmente no ambiente aquático (TIBURTIUS et al., 2004).

Compostos aromáticos, dentre eles os HPAs, são considerados espécies recalcitrantes a tratamentos convencionais de remediação de sítios contaminados (MUFF e SØGAARD, 2011). Desta forma, os Processos Avançados de Oxidação (PAOs) se apresentam como alternativa para o tratamento de matrizes complexas, neste caso, águas superficiais e efluente hospitalar, constituídas por uma gama de substâncias tóxicas e recalcitrantes.

Nos últimos anos, o Laboratório de Pesquisa em Tratamento de Efluentes e Resíduos (LATER) vem realizando estudos voltados à determinação/degradação de microcontaminantes presentes no efluente do HUSM, promovendo o desenvolvimento de métodos analíticos. Além disso, métodos miniaturizados, aplicação de PAOs para a remoção de espécies recalcitrantes do efluente hospitalar, identificação de subprodutos, enfatizando áreas como Quimiometria e Química Analítica Ambiental tem sido desenvolvidos (MARTINS et al., 2008, 2009, 2011; VASCONCELOS et al., 2009-a, 2009-b; BRENNER et al., 2011; HENRIQUES et al., 2012; WILDE et al., 2012, 2013; DA SILVA et al., 2013; ALMEIDA et al., 2015).

Neste contexto, o presente trabalho objetivou:

- Desenvolver, otimizar e validar método de extração em fase sólida (SPE) e a de microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) para a determinação de HPAs em amostras de água superficial da UFSM e efluente hospitalar do HUSM.
- Detectar e quantificar HPAs presentes na canalização do efluente geral do HUSM e em amostras de águas superficiais da UFSM, por meio de HPLC-FLD.
- Utilizar reator tanque agitado *home made* para estudo da degradação fotocatalítica de HPAs, com o uso de dióxido de titânio (TiO_2) suportado em material polimérico, em amostras de água, águas superficiais e efluente hospitalar.
- Identificar os produtos de degradação fotocatalítica de HPAs por meio de Cromatografia Gasosa com detector seletivo de massas (GC-MS).
- Empregar, também, o processo de ozonização para a degradação de HPAs nas matrizes em questão.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) no meio ambiente

Compostos orgânicos voláteis (COVs), dentre eles hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) estão entre os principais contaminantes das águas superficiais e subterrâneas. Os HPAs são classificados como Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs), pois causam preocupação devido à contaminação do meio ambiente e à saúde humana. Além do mais, os POPs apresentam características que devem ser levadas em consideração como: elevada lipofilicidade, persistência, capacidade de bioacumulação, longo alcance através do transporte atmosférico, deposição (ZHANG et al., 2012-b; HARMENS et al., 2013).

As principais fontes de emissão de HPAs para o meio ambiente são a combustão incompleta da matéria orgânica, tais como carvão, combustível fóssil e biomassa (ZHANG et al., 2012-b; KRÜGER et al., 2014). Os HPAs podem ser encontrados naturalmente no solo, porém, a sua presença em elevadas concentrações deve-se a emissões antropogênicas como, por exemplo, escapamentos de automóveis, fumaça de cigarro, aquecimento doméstico, emissões industriais, incluindo indústrias de ferro e aço, produção e processamento de plásticos, corantes e pigmentos (MA et al., 2010-a; PÉREZ-GREGORIO et al., 2010; ENE et al., 2012).

Nos últimos anos a concentração de HPAs em países industrializados e em desenvolvimento tem se tornado crescente. Na China, as emissões de HPAs contribuíram com mais de 20% do total mundial de emissão no ano de 2004 (XIA et al., 2013). Neste contexto, a contaminação do trinômio ar-água-solo por HPAs é de suma importância e vêm sendo investigada e reportada na literatura (BRUM e NETO, 2009; PIETZSCH et al., 2010; HUANG et al., 2011; LIU et al., 2012; ZHANG et al., 2012-c; YANG et al., 2012; AL-SALEH et al., 2013).

2.1.1 Características e propriedades físico-químicas dos HPAs

Os HPAs constituem um grupo de compostos orgânicos caracterizados por possuírem dois ou mais anéis aromáticos condensados (ZHANG et al., 2010). Na Tabela 1 são apresentadas algumas propriedades físico-químicas de HPAs.

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas de HPAs.

Propriedades	Antraceno	Fenantreno	Fluoreno	Naftaleno	Pireno	1-Metilnaftaleno
CAS number	120-12-7	85-01-8	86-73-7	91-20-3	129-00-0	90-12-0
Fórmula química	C ₁₄ H ₁₀	C ₁₄ H ₁₀	C ₁₃ H ₁₀	C ₁₀ H ₈	C ₁₆ H ₁₀	C ₁₁ H ₁₀
Massa molar (g mol ⁻¹)	178,23	178,23	166,22	128,17	202,26	142,20
Solubilidade (mg L ⁻¹) a 25 °C	0,045	1,1	1,9	31	0,132	26
Ponto de ebulição (°C)	340	332	295	218	404	244
Ponto de fusão (°C)	218	98,5	116-117	80,3	145-148	- 30,5
Pressão de vapor a 25°C	8,0 x 10 ⁻⁴	1,6 x 10 ⁻²	8,0 x 10 ⁻²	10,4	6,0 x 10 ⁻⁴	4,91
log K _{ow} a 25 °C	4,54	4,57	4,18	3,37	5,18	3,87
Constante de Henry a 25 °C (kPa)	7,3 x 10 ⁻²	3,98 x 10 ⁻³	1,01 x 10 ⁻²	4,89 x 10 ⁻²	1,1 x 10 ⁻³	-

Fonte: adaptado de ZHANG et al., 2010.

As características físico-químicas dos HPAs variam, em geral, de acordo com a massa molar. Os HPAs, à temperatura ambiente, são compostos sólidos, possuem altos pontos de fusão e ebulição, baixa pressão de vapor e baixa solubilidade em água, propriedades estas que, assim como a resistência a oxidação e redução, tem a tendência de diminuir com o aumento da massa molar, número de anéis aromáticos e grau de alquilação (SCHRÖDER et al., 2010; ZHANG et al., 2012-c).

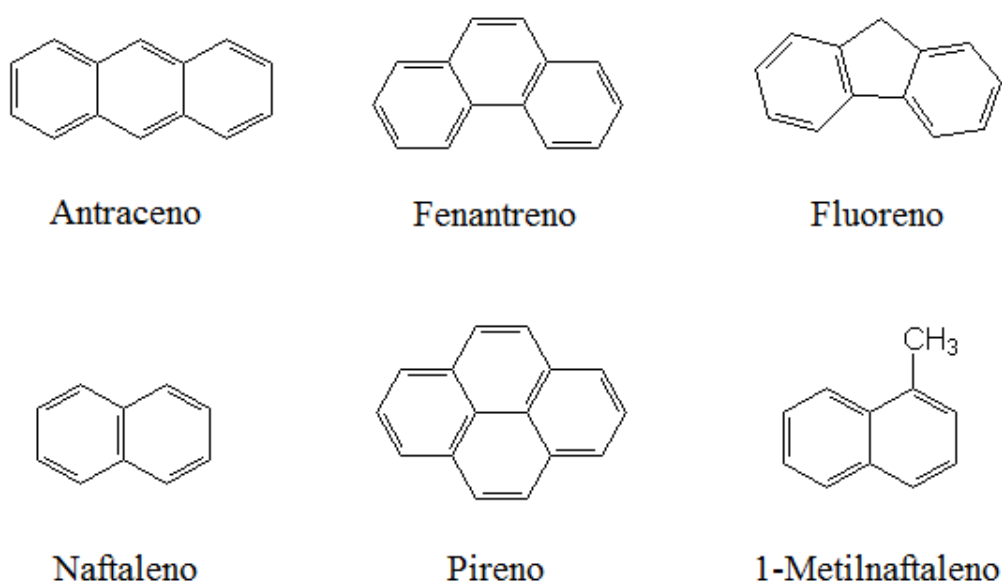
A volatilidade, pressão de vapor e constante de Henry dos HPAs também diminui com o aumento da massa molecular. Sendo assim, HPAs de menor massa molar serão mais voláteis e apresentam maiores pressões de vapor, como por exemplo, o naftaleno e o 1-metilnaftaleno. HPAs de dois ou três anéis aromáticos tendem a concentrar-se na fase gasosa do ar, enquanto que, HPAs com quatro anéis, distribuem-se entre as fases do ar, e os HPAs com cinco anéis ou mais, se concentram principalmente no material particulado atmosférico (ZHANG et al., 2012-c).

2.1.2 Toxicidade dos HPAs

Os POPs, incluindo os HPAs, apresentam efeitos adversos aos seres humanos, toxicidade elevada, são potentes agentes cancerígenos, mutagênicos, teratogênicos e desreguladores endócrinos (WANG et al., 2012; AL-SALEH et al., 2013). A contaminação humana se dá pela ingestão de água e/ou alimentos contaminados, inalação, absorção cutânea, pulmões e trato gastrointestinal (BRUM e NETO, 2009; MIRSADEGHI et al., 2011; TFOUNI et al., 2012).

A Agência de Proteção Ambiental americana (U.S. Environmental Protection Agency - EPA) lista 16 HPAs como poluentes prioritários por serem considerados carcinogênicos e mutagênicos (NIKOLAOU et al., 2009; LORENZO et al., 2011; SCHRÖDER et al., 2010; AUDEBERT et al., 2012, BARBOSA et al., 2014). Dentre estes HPAs estão antraceno, naftaleno, fluoreno, fenantreno e pireno. Na Figura 1, são apresentadas as estruturas moleculares dos HPAs alvos do presente estudo.

Figura 1 – Estruturas moleculares dos HPAs estudados.



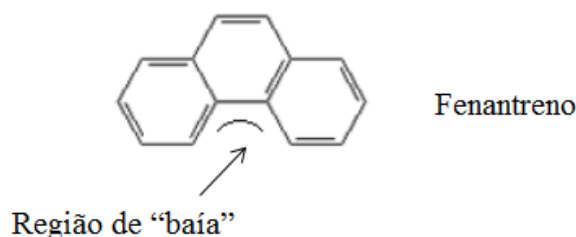
Fonte: adaptado de *Chemical Structure Drawing Software*.

Compostos com diferentes massas moleculares apresentam efeitos diferenciados sobre o sistema biológico. Compostos de baixa massa molecular, HPAs com dois ou três anéis aromáticos, apresentam alta toxicidade para organismos aquáticos. HPAs com quatro anéis aromáticos ou mais são considerados carcinogênicos (BEYER et al., 2010; QUIROZ et al., 2010).

A toxicidade dos HPAs está relacionada com a estrutura do composto. Alguns HPAs, como o fenantreno, possuem uma região côncava, conhecida como região de baía (Figura 2), formada pelas ramificações na sequência de anéis benzênicos. Compostos que possuem essa região são considerados carcinogênicos mais potentes, pois tal organização dos átomos de carbono fornece um alto grau de reatividade bioquímica. Na região de baía, ocorre uma

sequência de reações finalizada pela ligação do hidrocarboneto oxigenado após sua metabolização com uma base nitrogenada do DNA (PLATT et al., 2008; DESLER et al., 2009; BEYER et al., 2010; LAGERQVIST et al., 2011).

Figura 2 – Estrutura molecular do fenantreno indicando a região côncava (baía).



Fonte: adaptado de *Chemical Structure Drawing Software*.

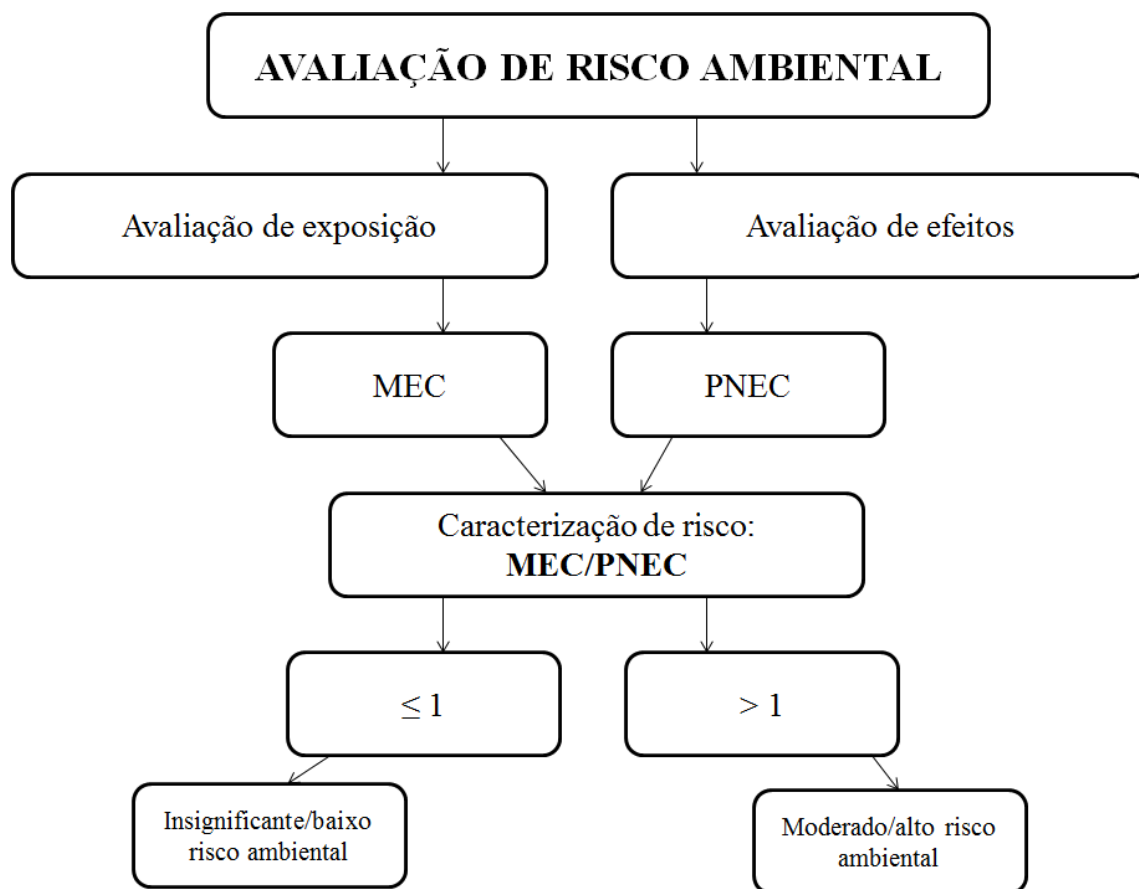
2.2 Avaliação de risco ambiental

Estudos que avaliam o risco ambiental de determinada substância têm a finalidade de prever a possível contaminação por este composto no meio ambiente e apoiar tomadas de decisão sobre o contaminante, com a finalidade de mitigar seus impactos (WILDE, 2011).

Para avaliar o potencial de risco ambiental existem ferramentas que podem ser empregadas baseando-se em dados como consumo, características físico-químicas, etc. A Agência Européia de Avaliação de Medicamentos (EMEA, do inglês *European Medicines Evaluation Agency*) propôs metodologias para a avaliação do risco ambiental de determinada substância em estudo (EMEA, 2006). Neste contexto, essas ferramentas também vêm sendo empregadas para a avaliação de risco de contaminantes emergentes como PPCPs (Fármacos e produtos de cuidado pessoal) e POPs (WILDE et al., 2012).

Algumas propriedades físico-químicas dos HPAs permitem a realização de uma avaliação de risco preliminar. O logaritmo do coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}), constante de Henry, biodegradação, bioacumulação, concentração predita que não causa efeito (PNEC) e concentração ambiental predita ou medida (PEC e MEC), são as variáveis utilizadas para a caracterização de risco. O processo da avaliação dos riscos ambientais é ilustrado na Figura 3.

Figura 3 – Avaliação do risco ambiental dos produtos químicos.



MEC = Concentração ambiental medida. PNEC = concentração predita que não causa efeito.
Fonte: adaptado de EMEA, 2006.

2.3 Técnicas de extração de compostos orgânicos

O preparo de amostra é uma das etapas críticas do processo analítico e tem sido um dos principais obstáculos para a obtenção de resultados adequados em termos de precisão e detectabilidade (MARTINS et al., 2012).

A determinação de HPAs em solução aquosa e amostras reais é, normalmente, realizada por técnicas cromatográficas e envolve etapas preliminares, como amostragem, extração e pré-concentração dos analitos. Geralmente os HPAs, em matrizes complexas, estão presentes em baixas concentrações (nível de traços), fazendo-se necessário o uso de métodos analíticos com limites de detecção (LDs) mais baixos, na faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$ – ng L^{-1} (OZCAN et al., 2010; HUANG et al., 2011; PANDEY et al., 2011; YEBRA-PIMENTEL et al., 2013).

As técnicas convencionais mais utilizadas para a extração de compostos orgânicos em amostras complexas são a extração líquido-líquido (LLE, do inglês *liquid-liquid extraction*) e a extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid phase extraction*) (CHUNG et al., 2010; SHAMSIPUR e HASSAN, 2010; BARCO-BONILLA et al., 2011; YEBRA-PIMENTEL et al., 2013). A LLE necessita de um grande volume de solventes orgânicos tóxicos (hexano, ciclohexano, isooctano) e é um método de trabalho intensivo e demorado (OZCAN et al., 2010; YEBRA-PIMENTEL et al., 2013).

A SPE é uma técnica de extração líquido-sólido baseada nos mecanismos de separação da cromatografia líquida de baixa pressão. É utilizada para a determinação de poluentes, presentes em baixos níveis de concentração em diversos tipos de amostras, dentre elas, às de interesse ambiental como águas e efluentes.

Para o isolamento e pré-concentração de compostos orgânicos, utilizando SPE, a amostra aquosa é percolada por um cartucho contendo o sorvente, onde os analitos são retidos, para posterior eluição com uma pequena quantidade de solvente orgânico adequado. As etapas da extração consistem na ativação do sorvente, percolação da amostra/sorção dos analitos no sorvente, eliminação dos interferentes da matriz (*clean up*), eluição dos analitos e posterior concentração do composto de interesse. A escolha do tipo e quantidade de sorvente, pH da amostra e do eluente, volume de amostra e de solvente para ativação dos cartuchos e para a eluição dos analitos, são alguns parâmetros que devem ser considerados (CALDAS et al., 2011).

A SPE vem sendo empregada como alternativa na determinação de HPAs, em diversas matrizes, por ser uma técnica que utiliza menores volumes de solvente e envolve menor tempo no preparo das amostras. Estudos investigando a presença de HPAs em amostras de água (MA et al., 2010-b) com recuperações na faixa de 70,0–122,0%; leite (80%–118%) (CHUNG et al., 2010); alimentos (> 70%) (GOSETTI et al 2011); urina (> 88%) (BIANCHI et al., 2012) e musgos (> 75%) (FOAN e SIMON, 2012), são reportados na literatura.

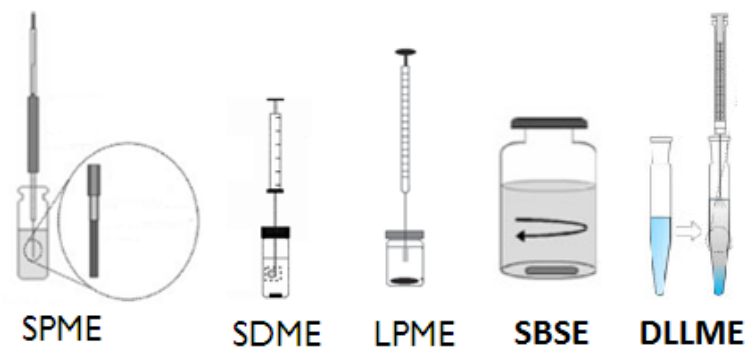
2.4 Técnicas de microextração de compostos orgânicos

Nos últimos anos, as técnicas clássicas de preparo de amostra para a determinação de compostos orgânicos em amostras ambientais estão sendo substituídas por técnicas miniaturizadas, que são caracterizadas pelo baixo custo, alta eficiência, reduzida quantidade de solvente, além da possibilidade de automação (MARTINS et al., 2012).

Técnicas de microextração, livres de solventes, ou que fazem uso de menores quantidades de solventes vêm sendo amplamente empregadas, representando uma tendência irreversível em termos de métodos analíticos, particularmente, na área ambiental (BARCO-BONILLA et al., 2011; KRÜGER et al., 2011; DA SILVA et al., 2013).

Entre as principais técnicas de microextração existentes para a determinação de HPAs destacam-se a microextração em fase sólida (SPME, do inglês *solid phase microextraction*) (ISHIZAKI et al; 2010; MENG e ANDERSON, 2010; GE e LEE, 2011; HAN et al., 2012); a microextração em gota suspensa (SDME, do inglês *Single Drop Microextraction*) (WU et al., 2008; PENA-PEREIRA et al., 2012); a microextração em fase líquida (LPME, do inglês *Liquid-Phase Microextraction*) (LEONG et al., 2010; SANAGI et al., 2012); a extração sortiva em barra de agitação (SBSE, do inglês *Stir Bar Sorptive Extraction*) (SÁNCHEZ-AVILA et al., 2010; BARCO-BONILLA et al., 2011; KRÜGER et al., 2011; MAO et al., 2012); a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME, do inglês *Dispersive Liquid-Liquid Microextraction*) (MOHAMMADI et al., 2013; TSENG et al., 2014). Na Figura 4 estão ilustradas as técnicas de microextração mais empregadas na extração de compostos orgânicos em matrizes de origem ambiental, biológica e alimentícia.

Figura 4 – Técnicas de microextração de compostos orgânicos.

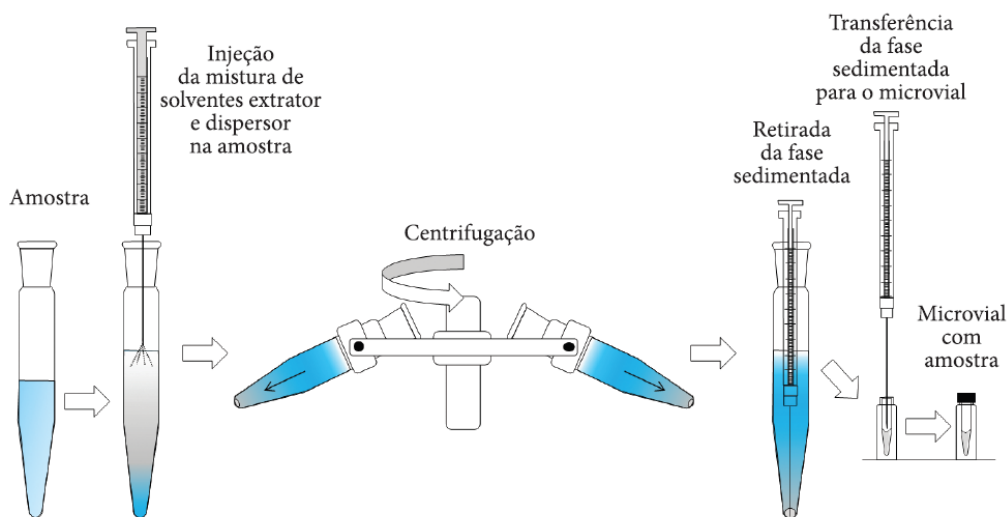


Fonte: adaptado de CALDAS et al., 2011.

2.4.1 Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME)

A DLLME foi desenvolvida, em 2006, por REZAEI et al. para a pré-concentração de HPAs em amostras de água. O princípio básico da técnica é a dispersão de um solvente extrator (imiscível com água) e um solvente dispersor (miscível em água e no solvente extrator) em uma solução aquosa, o que proporciona uma grande área de contato entre a fase aquosa e o solvente extrator. Uma mistura apropriada do solvente dispersor e do solvente extrator é injetada rapidamente, com auxílio de uma seringa, na solução aquosa (REZAEI et al., 2006; LEONG et al., 2010). Após leve agitação, uma solução turva com microgotas é formada. As microgotas consistem do solvente extrator mais o analito já extraído. Após centrifugação, ocorre a sedimentação das microgotas formando uma fase sedimentada, que é retirada com o auxílio de uma seringa e para a quantificação dos analitos pela técnica mais apropriada (SARAFRAZ-YAZDI e AMIRI, 2010; CALDAS et al., 2011; KOCÚROVÁ et al., 2012; MARTINS et al., 2012). As etapas do procedimento estão ilustradas na Figura 5.

Figura 5 – Etapas do procedimento de DLLME.



Fonte: CALDAS et al., 2011.

As vantagens da DLLME em relação aos métodos convencionais de extração com solvente, do ponto de vista comercial, econômico e ambiental, são: simplicidade de operação, rapidez, baixo custo, facilidade de manipulação, baixo consumo de solventes orgânicos, alta

recuperação, alto fator de enriquecimento e compatibilidade com os métodos analíticos com análise por cromatografia gasosa e por cromatografia líquida (LEONG et al., 2010; REZAEI et al., 2010; CALDAS et al., 2011).

A DLLME tem sido aplicada na extração de compostos orgânicos como plastificantes (FARAHANI et al., 2007), fármacos (SARAFRAZ-YAZDI et al., 2008) e compostos inorgânicos (MOHAMMADI et al., 2012) em amostras de água; agrotóxicos em alimentos (ZHAO et al., 2007); HPAs em amostras de água (LEONG et al., 2010; TSENG et al., 2014), alimentos (MOHAMMADI et al., 2012; KAMANKESH et al., 2015).

Alguns parâmetros influenciam o processo de extração por DLLME, entre os quais volume e tipo de solvente extrator e de solvente dispersor, tempo de extração, força iônica e pH (REZAEI et al., 2010; SARAFRAZ-YAZDI e AMIRI, 2010; CALDAS et al., 2011; MARTINS et al., 2012).

O parâmetro mais importante na aplicação da DLLME é a seleção de um solvente extrator apropriado. O solvente extrator deve ser selecionado dentre os que apresentarem maior densidade que a água, capacidade de extração dos compostos de interesse e boa separação cromatográfica. Na extração de compostos orgânicos em águas, os solventes extratores mais utilizados são os clorados, entre eles se destacam clorobenzeno, tetracloreto de carbono e tetracloroetileno (CALDAS et al., 2011).

O volume do solvente extrator na DLLME deve ser suficiente para extrair o analito e é escolhido o menor volume possível obtendo-se um alto fator de enriquecimento com menor uso de solventes tóxicos (CALDAS et al., 2011; MARTINS et al., 2012).

A principal característica para a escolha do solvente dispersor é a sua miscibilidade na fase orgânica (solvente extrator) e na fase aquosa. A necessidade destas características limita, geralmente, ao uso de metanol, acetonitrila, acetona e tetra-hidrofurano (THF). A variação no volume de solvente dispersor influencia no volume de fase sedimentada, então, é possível considerar a influência do solvente dispersor na eficiência da extração (SARAFRAZ-YAZDI e AMIRI, 2010; CALDAS et al., 2011).

A injeção, com o auxílio de uma seringa, da mistura dos solventes extrator e dispersor na amostra é recomendada por REZZAEI et al. (2006), pois quando o dispersor e o extrator são adicionados separadamente na amostra aquosa, não se observa a formação de uma fase sedimentada (REZAEI et al., 2006).

A influência da força iônica também deve ser considerada, uma vez que influencia na separação das fases. O aumento na concentração de NaCl aumenta o volume de fase sedimentada, devido à diminuição da solubilidade do solvente extrator na presença de um sal.

Esta influência se dá de acordo com as características de cada analito (CALDAS et al., 2011; MARTINS et al., 2012).

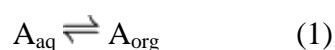
O pH é outro parâmetro que deve ser levado em consideração e é otimizado em função da acidez ou basicidade dos compostos. Compostos ácidos normalmente requerem uma acidificação da amostra para permanecerem na forma molecular e facilitar a partição dos analitos nas microgotas do solvente extrator. A acidificação é empregada, por exemplo, quando se trabalha com compostos da classe dos clorofenoxiacéticos (CALDAS et al., 2011).

O tempo de extração na DLLME, que é definido como o intervalo entre a injeção da mistura dos solventes extrator e dispersor na fase aquosa e a centrifugação, também deve ser otimizado e é um dos parâmetros mais importantes em técnicas de microextração. A centrifugação na DLLME é essencial para que se obtenham duas fases distinguíveis nos tubos de extração. Depois da retirada da fase sedimentada, esta pode ser injetada diretamente no equipamento ou evaporada e redissolvida em um solvente apropriado (REZAEE et al., 2010; CALDAS et al., 2011; MARTINS et al., 2012).

2.4.1.1 Princípios da DLLME

A DLLME baseia-se no processo de partição dos analitos entre duas fases líquidas imiscíveis, sendo uma delas a fase aquosa (a amostra) e, a outra, uma fase orgânica (solvente orgânico). A solubilização dos analitos em qualquer uma das fases é governada pela polaridade relativa do sistema, sendo que os analitos são geralmente apolares, apresentando maior afinidade pela fase orgânica. A fase orgânica é composta por um solvente apolar, em comparação com a fase aquosa, que é, por sua vez, altamente polar (MARTINS et al., 2012).

A polaridade de uma molécula refere-se às concentrações de cargas da nuvem eletrônica em volta da molécula. Moléculas polares possuem maior concentração de carga negativa numa parte da nuvem e maior concentração positiva em outro extremo. Nas moléculas apolares, a carga eletrônica está uniformemente distribuída. As diferenças de cargas elétricas entre as moléculas dos analitos, da fase aquosa (polar) e da fase orgânica (apolar), é que determinam o equilíbrio resultante (MARTINS et al., 2012), que pode ser representado pela Equação 1:



No caso ideal, a razão das atividades do analito A nas duas fases é uma constante e independe da quantidade de A , sendo que para uma dada temperatura, a constante de equilíbrio (K_D) é o coeficiente de partição ou distribuição (REZAEE et al., 2010; MARTINS et al., 2012), sendo representado na Equação 2:

$$K_D = \frac{[A_{org}]}{[A_{aq}]} \quad (2)$$

onde: A: Analito; aq: fase aquosa; org: fase orgânica; K_D : coeficiente de distribuição ou partição; []: atividade ou concentração relativa do analito (REZAEE et al., 2010; MARTINS et al., 2012).

Depois do tempo necessário para que seja atingido o equilíbrio da partição do analito, as fases são separadas. Alguns fatores afetam a polaridade relativa do sistema, tais como presença ou adição de sais, alterações no pH da fase aquosa, modificadores químicos ou misturas de solventes solúveis ou parcialmente solúveis na fase aquosa (REZAEE et al., 2006; REZAEE et al., 2010; MARTINS et al., 2012).

A fase orgânica ou extrato poderá conter a maior proporção do analito. Se esta quantidade for próxima a 100% pode ser considerada uma técnica de extração exaustiva e a exatidão do método, expressa em termos de recuperação, pode ser calculada através da Equação 3:

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

onde: C_1 = concentração do analito determinada na amostra fortificada; C_2 = concentração do analito na amostra não fortificada; C_3 = concentração do analito adicionada na amostra fortificada (REZAEE et al., 2010; MARTINS et al., 2012).

Se a transferência do analito entre a fase aquosa e a fase orgânica for parcial, a extração por DLLME será considerada uma técnica de equilíbrio. Neste caso, a recuperação (R) pode ser definida como a quantidade total de analito, em porcentagem, que é transferida para a fase aceptora (ou orgânica) ao final da extração. A razão entre o volume da fase doadora (aquosa) e a fase aceptora (orgânica) também governa a recuperação do analito, de acordo com a Equação 4:

$$R(\%) = \frac{K_D V_{org}}{K_D V_{org} + V_d} \times 100 \quad (4)$$

onde: K_D : coeficiente de distribuição ou partição; V_{org} = volume da fase orgânica; V_d = volume da fase doadora (ou aquosa) (REZAEI et al., 2010; MARTINS et al., 2012).

Portanto, a extração em duas fases é favorecida para analitos hidrofóbicos, ou seja, com elevados coeficientes de partição (entre 500 e 1000 ou maiores). Adicionalmente, a recuperação pode ser favorecida aumentando-se a razão entre as fases aceptora (orgânica) e doadora (REZAEI et al., 2006; REZAEI et al., 2010; MARTINS et al., 2012).

Outro parâmetro comumente utilizado para demonstrar a eficiência dos processos de microextração em fase líquida, como no caso da DLLME, é o fator de enriquecimento (E), que informa o grau de concentração do analito obtido na extração e pode ser calculado pela Equação 5 :

$$E = \frac{V_d R}{100 V_{org}} \quad (5)$$

como os valores de V_d/V_{org} são normalmente elevados, altos fatores de enriquecimento são obtidos (REZAEI et al., 2006; REZAEI et al., 2010; MARTINS et al., 2012).

2.5 Processos avançados de oxidação (PAOs)

Compostos aromáticos, dentre eles os HPAs, são considerados espécies recalcitrantes a tratamentos convencionais de remediação de sítios contaminados (MUFF e SØGAARD, 2011). Desta forma, os PAOs se apresentam como alternativa para o tratamento de matrizes complexas, neste caso, águas superficiais e efluente hospitalar, constituídas por uma gama de substâncias tóxicas e recalcitrantes.

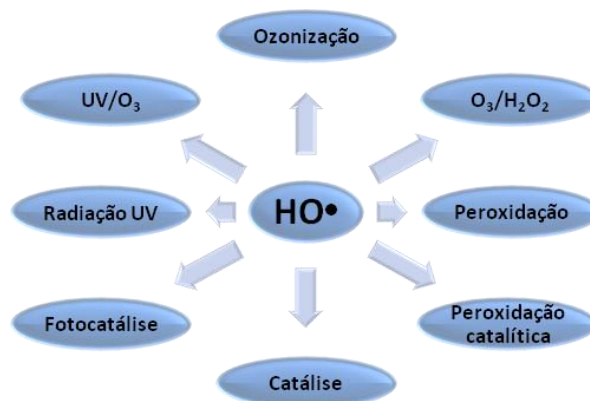
Os PAOs caracterizam-se por converter a grande maioria dos compostos orgânicos em dióxido de carbono, água e ânions inorgânicos através de processos físico-químicos que geram espécies radicalares em solução (TIBURTIUS et al., 2009; DA ROCHA et al., 2010). Dentre estas, o radical hidroxil (HO^\bullet), apresenta alto potencial padrão de redução (2,8 V) e em segundo lugar, o ozônio (2,07 V), como mostrado na Tabela 2 (MALATO et al., 2009; CHAN et al 2012).

Tabela 2 – Potencial padrão de redução (IUPAC) de alguns oxidantes em meio aquoso.

Oxidante	Reação	E° (V, 25 °C)
Flúor	$F_{2(g)} + 2H^+ + 2e^- \rightarrow 2HF$	3,05
	$F_{2(g)} + 2e^- \rightarrow 2F^-$	2,87
Radical Hidroxila	$HO\cdot + H^+ + e^- \rightarrow H_2O$	2,80
Ânion radicalar Sulfato	$SO_4\cdot^- + e^- \rightarrow SO_4^{2-}$	2,60
Ferrato(VI)	$FeO_4^{2-} + 8H^+ + 3e^- \rightarrow Fe^{3+} + 4H_2O$	2,20
	$FeO_4^{2-} + 4H_2O + 3e^- \rightarrow Fe(OH)_3 + 5HO^-$	0,70
Ozônio	$O_{3(g)} + 2H^+ + 2e^- \rightarrow O_{2(g)} + H_2O$	2,07
	$O_3 + H_2O + 2e^- \rightarrow O_2 + 2HO^-$	1,24
Peróxido de Hidrogênio	$H_2O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow 2H_2O$	1,76
Íon Permanganato	$MnO_4^- + 4H^+ + 3e^- \rightarrow MnO_{2(s)} + 2H_2O$	1,67
	$MnO_4^- + 8H^+ + 5e^- \rightarrow Mn^{2+} + 4H_2O$	1,51
Radical Hidroperoxila	$HO_2\cdot + 3H^+ + 3e^- \rightarrow 2H_2O$	1,65
	$HO_2\cdot + H^+ + e^- \rightarrow H_2O_2$	1,44
Hipoclorito	$HClO^- + H^+ + 2e^- \rightarrow Cl^- + H_2O$	1,48
	$ClO^- + H_2O + 2e^- \rightarrow Cl^- + 2HO^-$	0,84
Íon Dicromato	$Cr_2O_7^{2-} + 14H^+ + 6e^- \rightarrow 2Cr^{3+} + 7H_2O$	1,36
Cloro	$Cl_{2(g)} + 2e^- \rightarrow 2Cl^-$	1,36
Oxigênio	$O_{2(g)} + 4H^+ + 4e^- \rightarrow 2H_2O$	1,23
Brometo	$Br_{2(l)} + 2e^- \rightarrow 2Br^-$	1,07
Dióxido de Cloro	$ClO_{2(aq)} + e^- \rightarrow ClO_2^-$	0,95

Fonte: SHARMA, 2008; BRILLAS et al., 2009; MALATO et al., 2009.

O radical $HO\cdot$ é altamente reativo e pode ser gerado por reações envolvendo oxidantes fortes, como ozônio e peróxido de hidrogênio; semicondutores, como o dióxido de titânio (TiO_2), combinados com radiação ultravioleta (UV) (OHTANI, 2010; LAMSAL et al., 2011; WANG e CHEN, 2011) e, apenas por radiação UV (RAZAVI et al., 2011). Na Figura 6 é apresentado um esquema dos principais PAOs que geram o radical $HO\cdot$.

Figura 6 – PAOs que envolvem a geração de radicais $HO\cdot$.

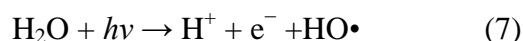
Fonte: adaptado de MARTINS, 1998.

Entre os PAOs estudados para a degradação de HPAs em amostras de águas e solos contaminados destacam-se na literatura, a fotocatalise heterogênea (b-WANG et al., 2009; DA ROCHA et al., 2010; KOU et al., 2010; VELA et al., 2012), química Fenton (VENNY et al., 2012; YAP et al., 2012), fotólise direta (SHAO et al., 2010; SANCHES et al., 2011; JIA et al., 2012; XU et al., 2013) e ozonização (BEDJANIAN e NGUYEN, 2010; GÓMEZ-ALVAREZ et al., 2012).

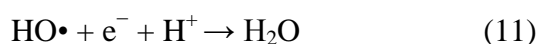
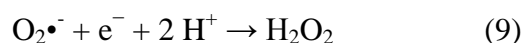
2.5.1 Fotólise

A eficiência da radiação ultravioleta tem sido avaliada na remediação de resíduos, visando a sua desinfecção. Em função da elevada eficiência da radiação UV na destruição de microorganismos, muitos equipamentos fundamentados na utilização de lâmpadas a vapor de mercúrio foram comercializados, principalmente, para servirem de alternativa à desinfecção química (TIBURTIUS et al., 2004; SANCHES et al., 2011).

Na fotólise direta, moléculas orgânicas podem absorver fótons de radiação UV, gerando espécies eletronicamente excitadas, que podem transferir elétrons para aceptores presentes no meio, formando radicais livres (Equações 6 e 7).



Estas espécies radicalares podem reagir com oxigênio molecular, gerando radicais peróxi (R-O-O-R') que tendem a se decompor naturalmente, formando intermediários parcialmente oxidados como o ânion radical superóxido ($\text{O}_2\cdot^-$), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxil ($\text{HO}\cdot$) (Equações 8-11) (GONZALEZ et al., 2004).



Estudos reportados na literatura enfatizam a aplicação da fotólise direta para a degradação de HPAs em amostras de interesse ambiental. Em 2010, SHAO et al., avaliaram a degradação do HPA fenantreno em solventes. SANCHES et al. (2011), estudaram a degradação de antraceno em amostras de água, também, enfocando o estudo cinético e obtendo reações de primeira ordem. No estudo de degradação do antraceno, os seguintes subprodutos foram identificados: antraquinona, antrona e 1-hidroxi-antraquinona.

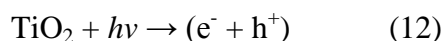
A avaliação da degradação do HPA fenantreno também foi realizada por JIA et al. (2012) em amostras se solo. A aplicação de fotólise na degradação dos HPAs fenantreno e pireno, na mesma matriz, foi investigada por XU et al. (2013). Ambos os estudos enfatizaram o estudo cinético revelando reações de primeira ordem.

2.5.2 Fotocatálise heterogênea

A fotocatálise heterogênea baseia-se na oxidação química dos contaminantes mediada por um semicondutor inorgânico, tais como ZnO, CdS ou TiO₂, o qual é ativado por radiação UV. Geralmente, utiliza-se TiO₂, devido à sua alta fotoatividade, estabilidade e baixo custo, quando comparado com os demais semicondutores disponíveis (MALATO et al., 2009; a-WANG et al., 2009; AUGUGLIARO et al., 2012; DI PAOLA et al., 2012).

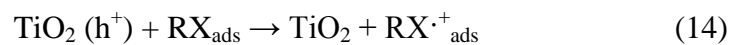
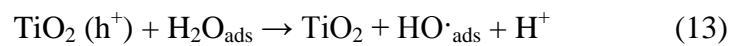
O TiO₂ possui três formas alotrópicas: anatase, rutilo e brookita. Anatase e brookita podem ser transformadas irreversivelmente em rutilo se submetidas a temperaturas acima de 700 °C. Tanto a forma anatase, como a rutila, são ativas em reações fotocatalíticas, mas, mesmo apresentando energias de “*band gap*” similares, a forma anatase apresenta uma maior atividade fotocatalítica, sendo o componente principal do TiO₂ P-25 da Degussa – constituído basicamente de 75% anatase e 25% rutilo – com partículas muito pequenas, de 21 nm, e área superficial elevada, cerca de 50 m² g⁻¹ (HASHIMOTO et al., 2005; LU et al., 2011; DI PAOLA et al., 2012; NAKATA et al., 2012).

A irradiação do semicondutor promove-o a um estado eletronicamente excitado, no qual um elétron da banda de valência (BV) passa para a banda de condução (BC) gerando um par elétron-lacuna (e⁻ + h⁺) (Equação 12) (MELO et al., 2009; KHAN et al., 2010; HERRMANN, 2010; OHTANI et al., 2010; LU et al., 2011).



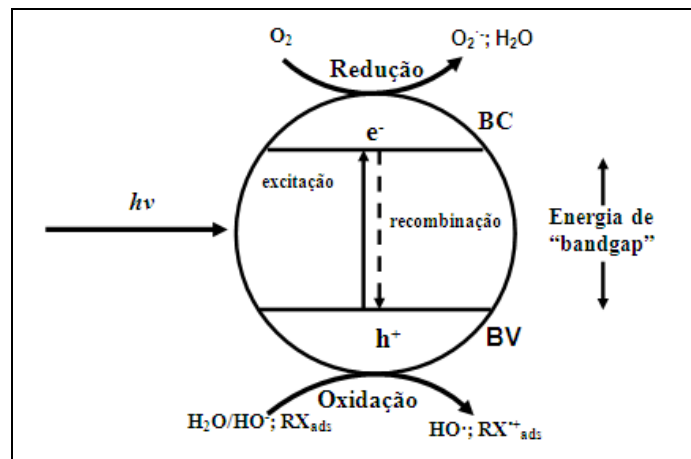
Para que ocorra a promoção dos elétrons da BV para a BC a radiação incidente deve ter fótons com energia suficiente para atingir a energia mínima necessária (“*band-gap*”). O “*band-gap*” do TiO_2 é de 3,2 eV ($\lambda = 387,5 \text{ nm}$) (NAKATA et al., 2012).

O caráter oxidante da lacuna da BV gera radicais hidroxil pela oxidação de moléculas de H_2O adsorvidas na superfície do semicondutor (mecanismo indireto) (Equação 13) e também, é capaz de oxidar diretamente moléculas orgânicas via lacuna foto gerada (Equação 14). No entanto, o mecanismo de oxidação indireta dos contaminantes predomina sobre o direto devido à alta concentração de moléculas de água adsorvidas na superfície do semicondutor (YANG et al., 2008; MELO et al., 2009; HERRMANN, 2010; LU et al., 2011).



Na Figura 7 é representado o mecanismo para a fotoativação do catalisador TiO_2 .

Figura 7 – Mecanismo simplificado para a fotoativação do catalisador TiO_2 .



e^- : elétron foto gerado na banda de condução; h^+ : lacuna gerada na banda de valência; RX_{ads} : substrato; RX^+_{ads} : substrato oxidado.

Fonte: adaptado de HERRMANN, 2010.

A eficiência dos processos de oxi-redução está ligada ao processo de recombinação do par elétron/lacuna, sendo que, quanto menor a recombinação, maior a eficiência do

semicondutor. Este processo pode ser favorecido pela presença de doadores ou receptores de elétrons pré-adsorvidos ao catalisador. As lacunas (h^+) formadas na superfície das partículas do semicondutor possuem alto poder oxidante devido a potenciais positivos (+2,0 a +3,5 V), reagindo com a água ou com grupos OH^- pré-adsorvidos na superfície do catalisador. Enquanto que, os elétrons presentes na BC são responsáveis pela distribuição das cargas negativas e podem migrar para a superfície da partícula, sendo bons redutores com potenciais entre 0 e -1,0 V (HERRMANN, 2010; NAKATA et al., 2012).

A literatura reporta estudos sobre a aplicação do processo de fotocatalise heterogênea para a degradação de HPAs. VELA et al. (2012) investigaram a degradação de HPAs em águas residuais por meio de fotocatalise, utilizando TiO_2 e ZnO , e luz solar. Com 120 minutos de reação, temperatura 25 °C e pH 8, os autores observaram 98% de degradação dos HPAs e reações de primeira ordem no estudo cinético.

Dentre os analitos alvos do presente estudo, a degradação fotocatalítica de naftaleno, fenantreno e antraceno, usando TiO_2 , em solução aquosa, foi investigada por WOO et al. (2009), bem como a identificação, por GC-MS, dos intermediários formados durante o processo. Devido à baixa solubilidade dos HPAs, os autores avaliaram a adição de acetona (1 e 16%), a fim de promover a melhor homogeneidade da mistura reacional e evitar perdas dos analitos antes do processo.

Segundo os autores, a adição de acetona pode causar a acumulação dos intermediários formados e permitiu, assim, propor uma via de degradação mais completa. Na Tabela 3, são apresentados os intermediários formados durante o processo de degradação fotocatalítica dos HPAs naftaleno, fenantreno e antraceno, no estudo realizado por WOO et al. (2009).

Tabela 3 – Identificação dos intermediários propostos para a degradação dos HPAs naftaleno, fenantreno e antraceno no estudo de WOO et al. (2009).

Número	Fórmula	Nome	Observação*
(a) Naftaleno			
1	$C_{10}H_8O$	1-naftalenol	y
2	$C_{10}H_6O_2$	1,4- naftalenodiona	x,y
3	$C_9H_6O_2$	2H-1-benzopiran-2-ona	x,y
4	$C_{10}H_6O_3$	2-hidroxi-1,4-naftalenodiona	y
5	$C_8H_6O_2$	1,2-benzenodicarboxaldeído	x,y
(b) Fenantreno			
6	$C_{14}H_{10}O$	9-fenantrenol	x,y
7	$C_{14}H_8O_2$	9,10-fenantrenodiona	x,y
8	$C_{14}H_{10}O_2$	(1 1'-bifenil)-2 2'-dicarboxaldeído	x,y
9	$C_{13}H_8O_2$	Benzocumarina	x,y

Tabela 3– Identificação dos intermediários propostos para a degradação dos HPAs naftaleno, fenantreno e antraceno no estudo de WOO et al. (2009).

(continuação)

Número	Fórmula	Nome	Observação*
(c) Antraceno			
10	C ₁₄ H ₁₀ O	Antrona	x,y
11	C ₁₄ H ₈ O ₂	9,10-antracenodiona	x,y
12	C ₁₄ H ₁₀ O ₃	1,8-dihidroxi-9(10H)-antracenona	y
13	C ₁₄ H ₈ O ₃	1-hidroxi-9,10-antracenodiona	x,y
14	C ₁₄ H ₈ O ₃	2-hidroxi-9,10-antracenodiona	x
15	C ₁₄ H ₈ O ₄	1,4-dihidroxi-9,10-antracenodiona	x,y
16	C ₈ H ₆ O ₂	1,2-benzenodicarboxaldeído	x,y

*Intermediário identificado somente na condição empregando (x) 1% e (y) 16% de acetona. Fonte: WOO et al. (2009).

A degradação de fenantreno e antraceno também foi investigada por KOU et al. (2010), utilizando GaN:ZnO como catalisador. Neste estudo também identificou-se, por GC-MS, a formação dos intermediários 9-fenantrenol e 9,10-fenantrenodiona para a degradação fotocatalítica de fenantreno. Já, para a degradação de antraceno, antrona e 9,10-antracenodiona também foram identificados como intermediários.

WANG et al. (2009), avaliaram a degradação do HPA pireno, em amostras de solo, com uso de óxidos de ferro, em fase sólida, como catalisador e identificaram, por GC-MS, o 1-hidroxipireno como intermediário. DA ROCHA et al. (2010) utilizaram fotocatalise heterogênea assistida com peróxido de hidrogênio (H₂O₂/UV/TiO₂) para a degradação de naftaleno, fluoreno, fenantreno, antraceno e pireno também em amostras de solo.

Métodos utilizando TiO₂ em suspensão orientados para a remediação de efluentes, ou pelo menos para substratos de interesse ambiental são abundantes. Entretanto, a aplicação destes procedimentos é bastante discutida, principalmente em função das desvantagens que derivam do seu caráter heterogêneo.

Neste sentido a dificuldade da penetração da radiação em um meio que contém uma fina suspensão de partículas opacas, a dificuldade na remoção dos fotocatalisadores, uma vez terminado o processo, e a rápida recombinação do par elétron-lacuna (10⁻¹² s) constituem as principais desvantagens destes métodos (TIBURTIUS et al., 2004). Com o intuito de contornar estes problemas, muitos trabalhos têm sido desenvolvidos investigando a imobilização de semicondutores em suportes como zeólitas (HISANAGA e TANAKA, 2002), vidros (BOUZAZA e LAPLANCHE, 2002; TSOUKLERIS et al., 2007; MARTINS et al.,

2009), nanotubos de carbono (SILVA e FARIA, 2010), polímeros (DA SILVA, 2012), entre outros materiais.

2.5.3 Ozonização

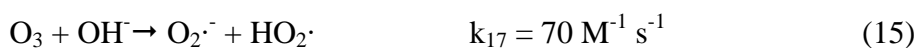
Dentre os PAOs, a ozonização se tornou uma importante técnica para a oxidação e degradação de uma grande variedade de poluentes orgânicos em águas e efluentes. Dentre as aplicações, destaca-se o uso eficiente da ozonização para a degradação de POPs (CHEN et al., 2012).

O ozônio é um oxidante forte ($E^\circ = 2,07 \text{ eV}$) que se decompõe em água para formar radical $\text{HO}\cdot$, agente oxidante muito forte, até mais que o próprio ozônio. Os radicais $\text{HO}\cdot$ podem induzir a oxidação dos analitos (modo indireto) ou, devido a sua natureza dipolar, atuar como eletrófilo, agente nucleofílico ou em reações de adição dipolar (modo direto), atacando seletivamente certos grupos funcionais de moléculas orgânicas através de um mecanismo eletrofílico (KLAVARIOTI et al., 2009; SILLANPÄÄ et al., 2011).

Estes diferentes caminhos reacionais na ozonização conduzem a diferentes produtos de oxidação, controlados por diferentes cinéticas. Seguindo o mecanismo de reação direta e indireta, observa-se que a geração de radicais pode ser dividida em três etapas principais, conforme descrito abaixo.

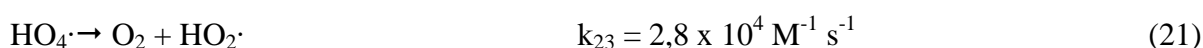
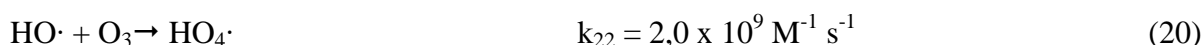
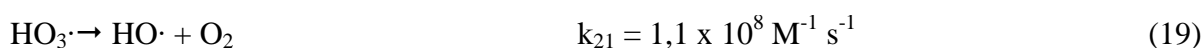
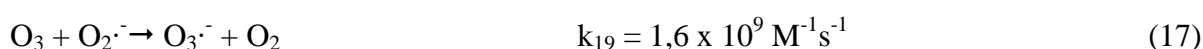
1ª Etapa: **Iniciação**

A reação entre íons hidroxila e ozônio promove a formação do ânion radicalar superóxido ($\text{O}_2\cdot^-$) e radicais hidroperoxila ($\text{HO}_2\cdot$), este último em equilíbrio ácido-base, como pode ser observado nas Equações 15 e 16.



2ª Etapa: **Cadeia Radicalar**

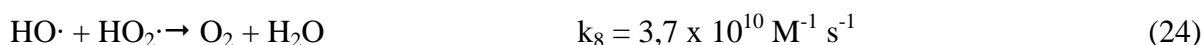
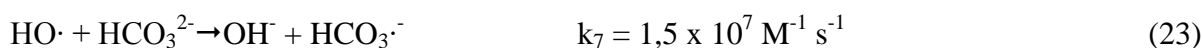
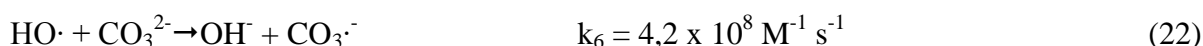
O ânion radicalar ozonídeo ($O_3^{\cdot-}$), formado pela reação entre ozônio e o ânion radicalar superóxido (Equação 17), se decompõe imediatamente em radical hidroxila, que pode reagir com compostos orgânicos, microcontaminantes ou mesmo com radical hidroxila. Além disso, pode reagir com o próprio ozônio gerando HO_4^{\cdot} , que se decompõe gerando oxigênio e radical hidroperoxila (Equações 18-21) e, deste modo, a cadeia radicalar pode começar novamente (Equações 15 e 16).

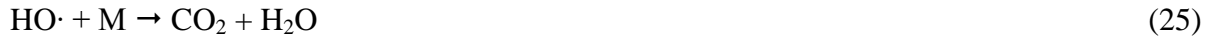


Qualquer substância que reage com radicais hidroxil gerando $O_2^{\cdot-}$ e HO_2^{\cdot} promove a cadeia radicalar.

3ª Etapa: **Terminação**

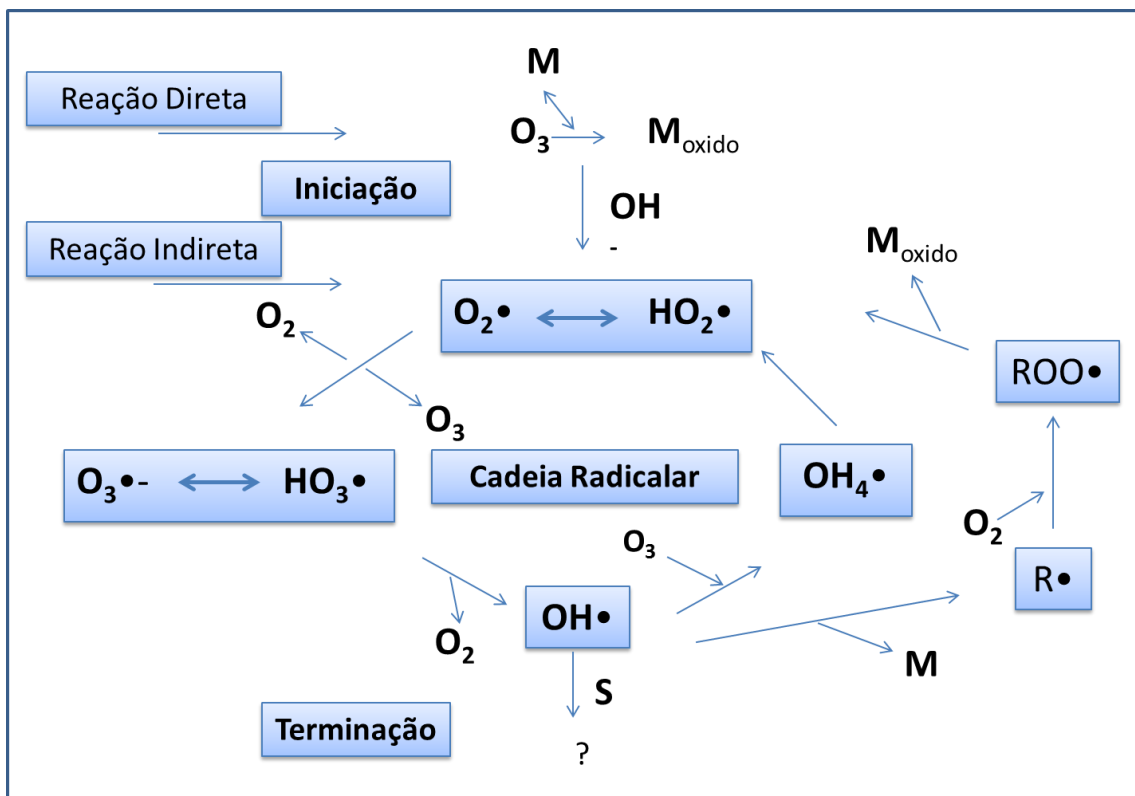
Alguns compostos orgânicos (microcontaminantes) e inorgânicos podem reagir com radicais hidroxil formando radicais secundários, produtos degradados, interrompendo a geração de radicais $O_2^{\cdot-}$ e HO_2^{\cdot} . Da mesma forma, a reação entre radicais pode promover o fim da cadeia radicalar de reações, como pode ser visto nas equações 22-25 (GOTTSCHALK et al., 2000; SILLANPÄÄ et al., 2011; WILDE et al., 2012).





A Figura 8 apresenta uma visão geral dos caminhos diretos e indiretos, e suas interações.

Figura 8 – Mecanismo de ozonização por reação direta e indireta.



R: produto de reação; M: micropoluente; S: Sequestrante de radicais.
 Fonte: adaptado de: GOTTSCHALK et al., 2000.

A ozonização tem sido tradicionalmente utilizada no tratamento de água potável, no controle de odor, sabor e desinfecção, bem como, para o tratamento de águas residuais (KLAVARIOTI et al., 2009; REUNGOAT, et al., 2012; SILVA, et al., 2012).

BEDJANIAN e NGUYEN, 2010, utilizaram o processo de ozonização na degradação de HPAs em amostras de ar, enfocando o estudo cinético e obtendo reações de primeira ordem.

Em 2012, GÓMEZ-ALVAREZ et al., aplicaram a ozonização para avaliar a degradação do HPA antraceno em amostras de solo. A degradação completa do analito foi observada entre 15 e 30 min de tratamento da amostra com ozônio. Os autores também identificaram

9,10-antraquinona (9,10-antracenediona), ácido ftálico (1,2-benzenodicarboxaldeído) e antrona como produtos da degradação de antraceno. Esses intermediários também foram identificados no estudo de KOU et al. (2010), utilizando GaN:ZnO na degradação fotocatalítica de antraceno.

2.6 Planejamento Fatorial

Nos últimos anos, ferramentas quimiométricas têm sido frequentemente aplicadas para a otimização de metodologias analíticas, considerando suas vantagens como a redução do número de experimentos, menor consumo de reagentes e melhora da qualidade da informação obtida (FERREIRA et al., 2007; BEZERRA et al., 2008). Isso significa uma sensível diminuição do trabalho e, conseqüentemente, do tempo e custo final do processo. Naturalmente, cabe ao pesquisador investir algum tempo no planejamento do processo e no estudo das variáveis envolvidas, coletando informações na literatura, para que a definição da estratégia de realização dos ensaios possa agregar melhor qualidade aos resultados obtidos (RODRIGUES e IEMMA, 2009).

A metodologia do planejamento fatorial é uma ferramenta fundamentada na teoria estatística, que fornece informações seguras sobre o processo, minimizando o empirismo que envolve técnicas de tentativa e erro (análise univariada). O primeiro passo de otimização multivariada é a triagem dos fatores estudados, a fim de obter os efeitos significativos do sistema de análise (FERREIRA et al., 2007).

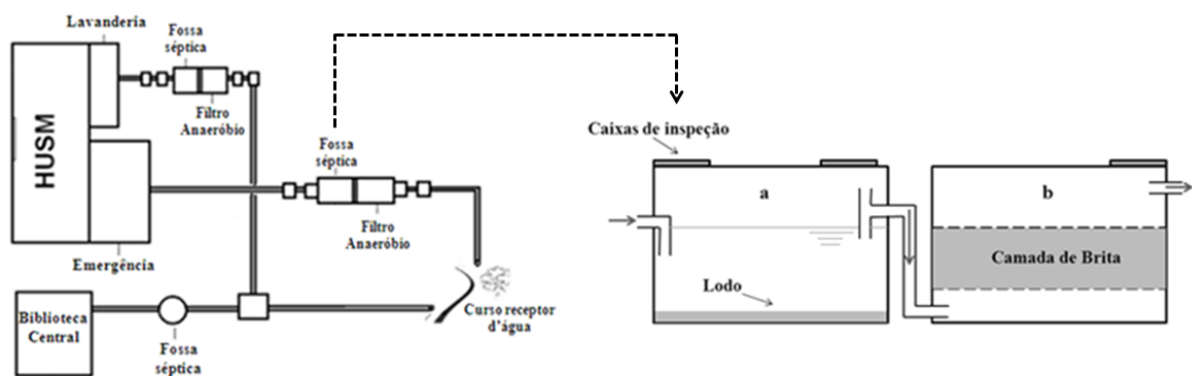
2.7 Águas superficiais e efluentes

Nos últimos anos, tem-se dado atenção à presença de diversos contaminantes emergentes em diferentes compartimentos ambientais como solo, águas superficiais e residuais. Efluentes hospitalares contêm uma variedade de substâncias tóxicas/persistentes, tais como fármacos, radionuclídeos, solventes e desinfetantes, numa ampla gama de concentrações. A maioria destes compostos não são frequentemente monitorados, os quais podem ser controlados futuramente, como uma consequência da investigação crescente sobre os seus potenciais efeitos à saúde e ocorrência ambiental. A sua característica principal é a de que eles não precisam persistir no ambiente para causar efeitos negativos levando em consideração suas elevadas taxas de transformação/remoção que podem ser compensadas pela descarga contínua para o meio ambiente (VERLICCHI et al., 2010).

O Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM) é a mais importante instituição de saúde da região central do Estado do Rio Grande do Sul. Dispõe de 302 leitos e a equipe de trabalho é composta por 166 docentes, 1355 funcionários em nível de apoio médio e superior, 443 funcionários terceirizados e 342 estagiários (<http://www.husm.ufsm.br>).

No HUSM, o tratamento das águas servidas geradas é feito através de sistema de fossas sépticas conjugada a filtros anaeróbios (Figura 9), sendo o efluente tratado descartado em um córrego que corta o campus da universidade. O consumo de água do HUSM é em torno de $1,3 \text{ m}^3$ por paciente por dia e o lançamento de esgoto do HUSM possui um fluxo médio de aproximadamente $190 \text{ m}^3 \text{ dia}^{-1}$. (VASCONCELOS et al., 2009-a; WILDE, 2011).

Figura 9 – Sistema de esgotos e representação esquemática do sistema de tratamento de efluentes adotado pelo HUSM.



(a) fossa séptica conjugada a (b) filtro anaeróbio.

Fonte: adaptado de WILDE, 2011; ALMEIDA et al., 2013.

O LATER vem realizando estudos enfocando o lançamento de efluentes e abordando potenciais soluções para a problemática em questão (MARTINS et al., 2008, 2009, 2011; VASCONCELOS et al., 2009-a, 2009-b; BRENNER et al., 2011; HENRIQUES et al., 2012; WILDE et al., 2012, 2013; DA SILVA et al., 2013; WILDE et al., 2013, 2014).

Devido ao fato do efluente do HUSM ser descartado no córrego que corta o campus universitário, o presente trabalho se estende ao estudo destas águas superficiais que fazem parte da Bacia Hidrográfica do Vacacaí-Vacacaí Mirim que está localizada na porção centro-ocidental do Estado, entre as coordenadas geográficas $29^{\circ}35'$ a $30^{\circ}45'$ de latitude Sul e $53^{\circ}04'$ a $54^{\circ}34'$ de longitude Oeste.

Outro fato preocupante diz respeito a vazamentos em postos de combustíveis, que podem provocar graves danos ao meio ambiente, principalmente, no que se refere à contaminação de águas (TIBURTIUS et al., 2004). O potencial poluente da gasolina está diretamente relacionado com os hidrocarbonetos aromáticos, uma vez que, outra provável fonte de contaminação das águas superficiais do campus da UFSM, que foi investigada, se deve a localização de um posto de combustíveis no campus da Universidade.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes e soluções

Os HPAs antraceno (ANT), fenantreno (FEN), fluoreno (FLU), naftaleno (NAF), pireno (PIR) e 1-metilnaftaleno (1-ME) foram adquiridos da empresa Sigma-Aldrich® (Deisenhofen, Alemanha). Todos os HPAs apresentam pureza acima de 95%.

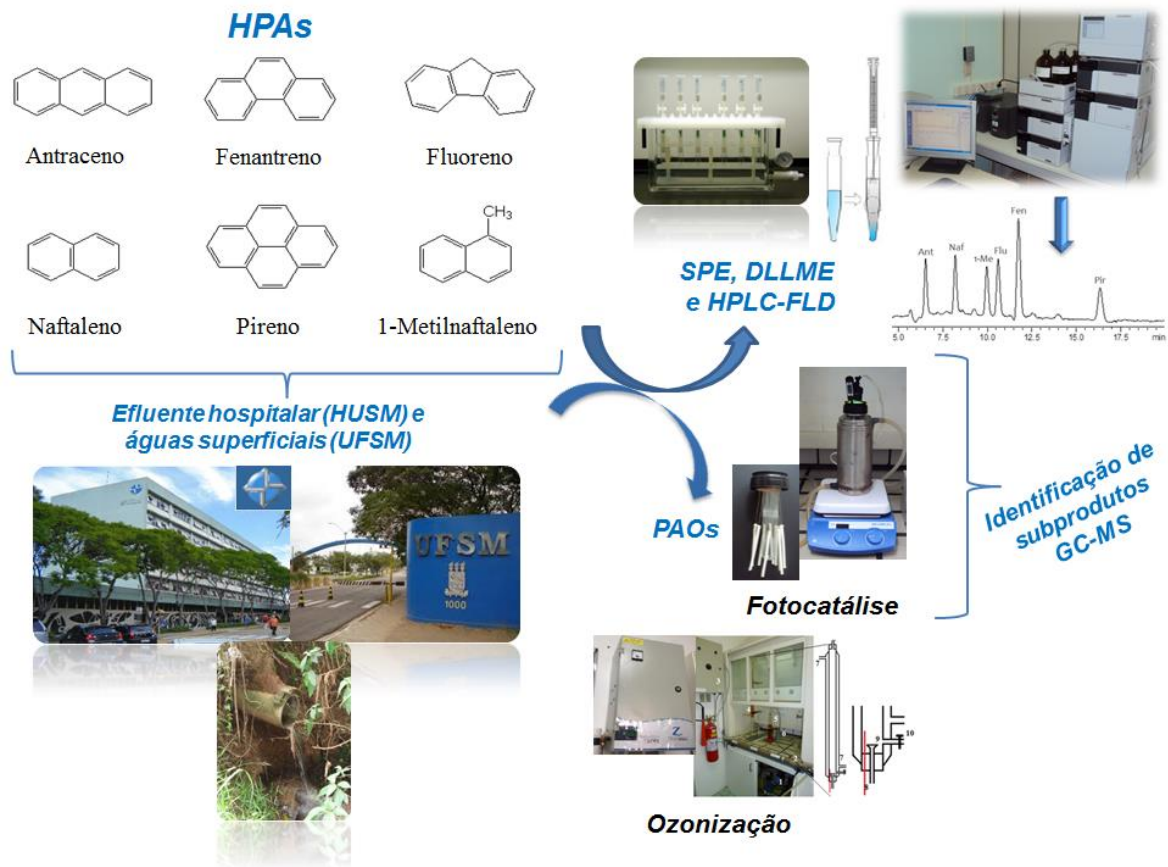
As soluções estoques individuais dos HPAs (500 mg L^{-1}) foram preparadas a partir da pesagem direta dos padrões e solubilização em acetonitrila (MeCN) (J.T.Baker®, Xalostoc, México). As soluções de trabalho ($1000 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) dos HPAs foram preparadas por diluição simples das soluções estoque com MeCN. Todas as soluções foram estocadas em frasco âmbar e em refrigerador, à temperatura de 4-8 °C.

Utilizaram-se reagentes de grau analítico e as soluções injetadas no cromatógrafo a líquido foram preparadas com água de alta pureza, resistividade de 18 MΩ cm, de um aparelho Direct-Q 3 Ultrapure Water Systems (Millipore, Billerica, USA). Todos os reagentes usados nas análises cromatográficas foram de grau HPLC. Água destilada foi utilizada como amostra de solução aquosa nos experimentos de degradação.

3.2 Fluxograma experimental

A Figura 10 é uma representação sequencial do procedimento analítico desenvolvido neste trabalho, enfatizando a etapa de amostragem do efluente do HUSM e águas superficiais da UFSM; o desenvolvimento de método cromatográfico, por meio de HPLC-FLD, para a determinação de HPAs; o emprego de SPE e DLLME para a determinação de HPAs nas matrizes estudadas; a aplicação de alguns PAOs (fotólise, fotocátalise heterogênea e ozonização) e a identificação de subprodutos de degradação.

Figura 10 – Representação figurativa sequencial do procedimento analítico.



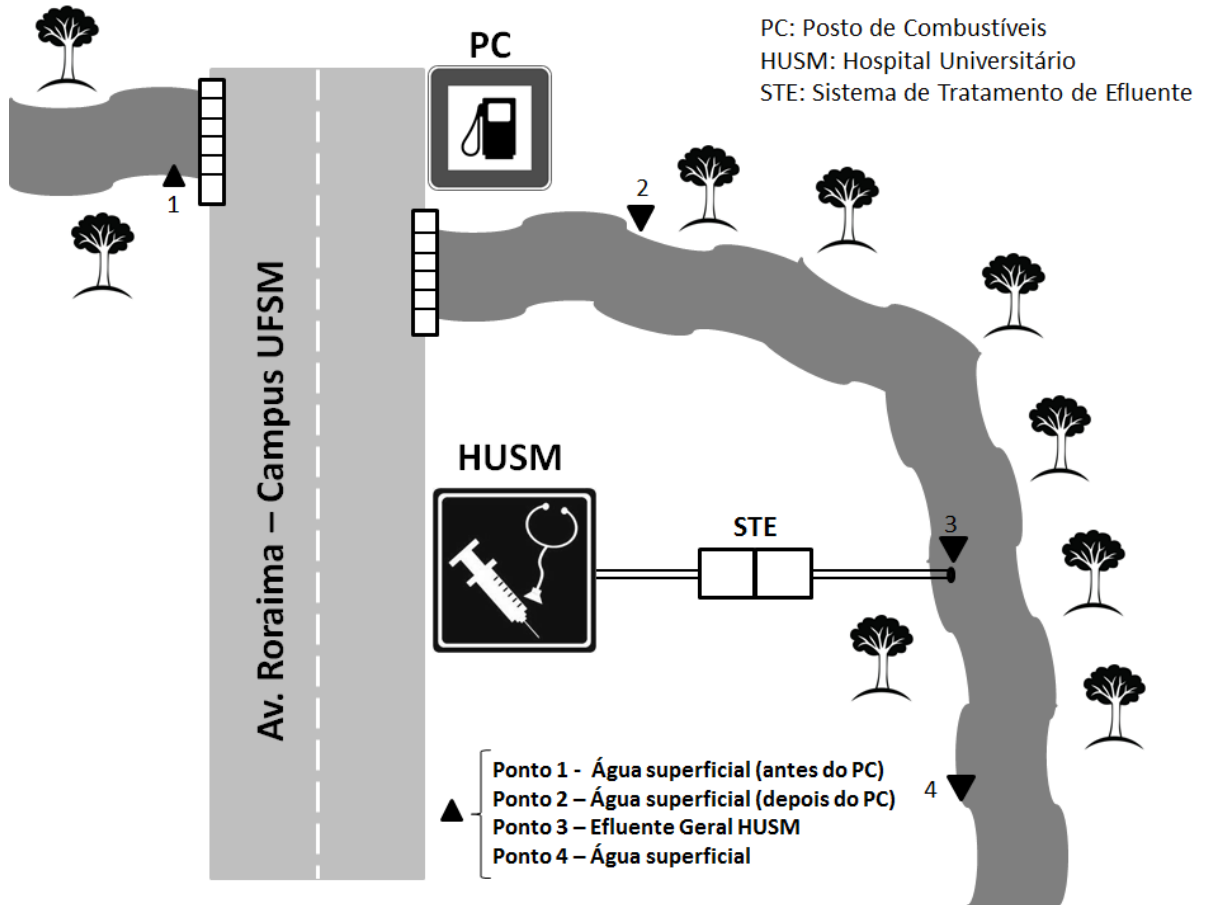
Fonte: elaborado pelo autor; *Microsoft Power Point*.

3.3 Amostragem de efluente hospitalar e água superficial

Antecedendo o período de amostragem de águas superficiais e efluente hospitalar, os alunos do LATER passaram por um processo de imunização contra tétano, hepatite A e B. Durante as coletas utilizaram-se permanentemente Equipamentos de Proteção Individual (EPIs), como aventais, luvas, máscaras, óculos de proteção e calçados fechados.

As amostras de efluente foram coletadas da canalização do efluente geral do HUSM após o sistema de tratamento (fossa séptica e filtro anaeróbio) e filtradas apenas em filtro qualitativo (celulose, 26 μm), tanto para os experimentos de extração quanto para a aplicação de PAOs. As amostras de água superficial foram coletadas no córrego que corta o Campus da UFSM, antes e depois do posto de combustível e após o local de coleta do efluente hospitalar (Figura 11).

Figura 11 – Pontos de amostragem de águas superficiais e efluente hospitalar.



Fonte: elaborado pelo autor; *Microsoft Power Point*.

Para os testes de extração, as amostras de água superficial e efluente hospitalar foram posteriormente filtradas em filtro de nitrato de celulose com porosidade de 0,45 μm (Sartorius, Goettingen, Germany).

As coletas foram feitas durante sete dias consecutivos (17 a 23 de agosto de 2015), das 8 h às 18 h, de hora em hora. Após esse horário, devido ao difícil acesso, não foram feitas coletas. As amostras foram imediatamente filtradas em filtro qualitativo de celulose, 26 μm . Ao fim do dia foram homogeneizadas e acondicionadas em frascos de vidro e mantidas sob refrigeração (4-8 $^{\circ}\text{C}$) até a etapa de preparo e análise.

3.4 Caracterização físico-química

As características físico-químicas do efluente do HUSM, após o tratamento, já foram analisadas em trabalhos anteriores (MARTINS et al., 2009; MINETTO, 2009). No presente trabalho foram avaliadas algumas características físico-químicas do efluente geral do HUSM e de águas superficiais da UFSM, e os resultados confrontados com os limites permitidos para estes parâmetros de acordo com a Resolução 430 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) (2011) e a da Resolução 128 do CONSEMA (Conselho Estadual do Meio Ambiente) (2006).

Características físico-químicas avaliadas: alcalinidade; NO_3^- ; Cl^- ; PO_4^{3-} total; SO_4^{2-} ; K^+ ; Na^+ ; sólidos suspensos; sólidos totais (a 105 °C); pH; temperatura média. Estes parâmetros foram avaliados de acordo com metodologia descrita no Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (APHA, 2002). As análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Análises Químicas Industriais e Ambientais (LAQIA) do Departamento de Química da UFSM.

3.5 Métodos de identificação e determinação de HPAs

3.5.1 Estabilidade dos HPAs

Inicialmente, a estabilidade das soluções-estoque de HPAs foi verificada utilizando-se soluções-padrão nas concentrações do N3 (Tabela 4) preparadas em MeCN.

Tabela 4 – Níveis de concentrações dos HPAs para obtenção da curva analítica por HPLC-FLD.

Níveis de concentração	Ant ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Naf ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1-Me ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Flu ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Fen ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Pir ($\mu\text{g L}^{-1}$)
N1	20	5	4	3	1	100
N2	40	50	40	30	10	200
N3	60	100	80	60	20	300
N4	80	150	120	90	30	400
N5	100	200	160	120	40	500
N6	120	250	200	150	50	600
N7	140	300	240	180	60	700

As amostras foram dispostas à temperatura ambiente, com e sem a incidência de luz, bem como sob refrigeração, a 4–8 °C, no período de um mês, segundo metodologia proposta por RIBANI et al. (2004). A concentração dos HPAs foi determinada a cada 5 dias, empregando HPLC-FLD.

3.5.2 Análise cromatográfica de HPAs

Para a determinação dos HPAs, o sistema de cromatografia a líquido utilizado foi um equipamento Shimadzu (Kyoto, Japão) constituído por bomba quaternária (LC-20AT), degaseificador (DGU-20A₅), amostrador automático (SIL-20A), detector de fluorescência (RF-10A_{XL}), modulo comunicador (CBM-20A) e Software LC Solution (Sinc do Brasil, São Paulo, Brasil). Utilizou-se uma coluna *Shim-pack* CLC-ODS(M) (250 x 4,6 mm, 4 µm) e pré-coluna Shimadzu G-ODS (4 mm).

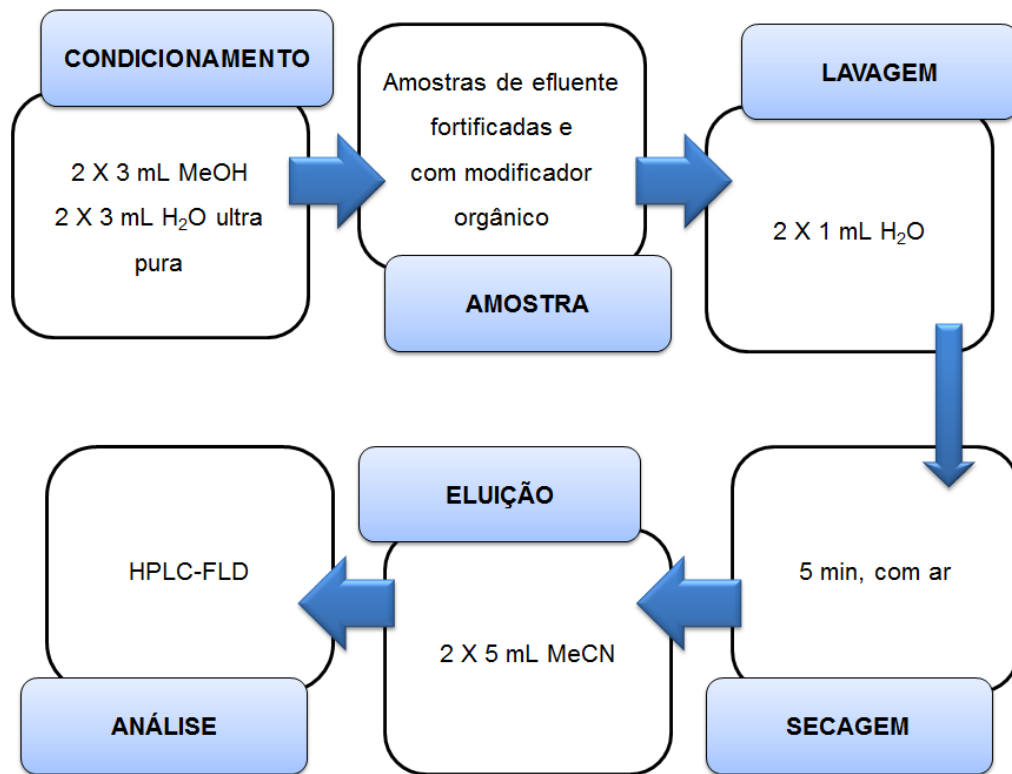
As condições cromatográficas otimizadas foram: fase móvel, vazão, modo de eluição, comprimento de onda de excitação (λ_{ex}) e emissão (λ_{em}), volume de injeção e tempo de corrida cromatográfica, visando melhor resolução dos analitos, no menor tempo de retenção, sem interferências de outros compostos presentes nas matrizes estudadas.

3.5.3 Extração em fase sólida (SPE)

Para o estudo de otimização do método de SPE usou-se sistema a vácuo Chromabond[®] Manifold e uma bomba de vácuo Weg modelo B481194. Os testes iniciais foram feitos empregando diferentes cartuchos de extração Chromabond[®] (Macherey-Nagel, Düren, Alemanha): C18 ec (45 µm, 60 Å) 3 mL/200 mg; Florisil 6 mL/1000 mg; SiOH 6 mL/2000 mg; HR-P 3 mL/500 mg. Também utilizou-se nos testes de SPE o cartucho Strata X (Phenomenex, Torrence, EUA) 3 mL/60 mg.

Os estudos iniciais de SPE foram feitos em solução aquosa, com as concentrações de HPAs do nível 3 (N3) da curva de calibração (ver Tabela 4), em duplicata. As soluções foram preparadas em água ultra pura. O volume de solução e/ou amostra utilizado nos testes iniciais foi de 10 mL. Posteriormente, avaliou-se a adição de modificadores orgânicos na amostra, devido à baixa solubilidade dos HPAs em água. Investigou-se a utilização de 0, 10 e 20% de MeCN, MeOH e acetona no volume total de amostra. A Figura 12 apresenta o procedimento de SPE empregado na quantificação de HPAs.

Figura 12 – Procedimento de SPE de HPAs para análise por HPLC-FLD.



Fonte: elaborado pelo autor; *Microsoft Power Point*.

O procedimento geral (Figura 12) para a SPE consistiu de condicionamento do cartucho com 2 x de 3 mL de MeOH e 2 x de 3 mL de H₂O ultra pura. Em seguida passou-se 10 mL de amostra de HPAs (ANT, NAF, 1-ME, FLU, FEN e PIR), com modificador orgânico, em diferentes pH estudados. Após lavou-se com 2 mL de H₂O (nos pH estudados) e então deixou-se secar o cartucho com ar por 5 min. A eluição foi feita com 2 x de 5 mL de MeCN. A passagem da amostra pelos cartuchos nas etapas de otimização e validação da metodologia não ultrapassou a vazão de 2 mL min⁻¹.

Para a otimização da SPE, aplicou-se planejamento fatorial DCCR, 2², com duas variáveis independentes (pH da amostra e pH da água de lavagem) e dois níveis, incluindo 4 ensaios nas condições axiais e 3 repetições do ponto central (PC), totalizando 11 experimentos. O ajuste do pH foi feito com NaOH ou HCl 0,1 mol L⁻¹. Para testes prévios, utilizou-se 10 mL de amostra.

A validação do processo de SPE de HPAs foi feita em 3 níveis de concentração compreendidos na faixa linear de cada analito (iniciando pelo LQ) e com 3 replicatas ($n = 3$). O procedimento foi repetido durante 3 dias para amostras de efluente hospitalar fortificado

com concentrações conhecidas dos HPAs, correspondentes aos níveis 1, 3 e 7 da curva de calibração (ver Tabela 4).

Em seguida, uma pré-concentração, 25 vezes, foi testada para que se pudesse aproximar-se ao LQ do método cromatográfico e possibilitar a quantificação de HPAs em amostras de água, águas superficiais e de efluente hospitalar. Empregou-se 100 mL de amostra e a eluição foi feita com 4 mL de MeCN. A matriz foi enriquecida com HPAs para verificar o efeito da matriz na pré-concentração e etapa de *clean up*.

3.5.4 Efeito de matriz

Devido à complexidade do efluente hospitalar, o efeito dessa matriz sobre a intensidade do sinal dos analitos na análise cromatográfica por HPLC-FLD foi avaliado. Amostras de efluente foram coletadas, filtradas em filtros de membrana de nitrato de celulose de porosidade 0,45 μm . Posteriormente aplicaram-se as condições ótimas da técnica de SPE.

3.5.5 Estimativa do volume de saturação

A capacidade máxima do sorvente escolhido em reter os analitos frente a diferentes volumes de amostras foi testada empregando a condição ótima previamente definida para a SPE de HPAs. Para solução aquosa utilizou-se volumes de 0 a 1000 mL e para amostras de efluente hospitalar de 0 a 200 mL.

Para soluções aquosas a concentração final foi ajustada para o N4 (ver Tabela 4) da curva de calibração de HPAs. As amostras compostas de efluente hospitalar foram pré-filtradas em papel filtro qualitativo e, posteriormente, em filtro de nitrato de celulose de 0,45 μm . Os testes foram feitos em duplicata e, no caso das amostras de efluente, uma terceira amostra foi preparada sem adição dos analitos para verificar a presença destes no efluente.

3.5.6 Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME)

Na primeira etapa da otimização do procedimento de DLLME foi feita a escolha da combinação de solventes extrator e dispersor empregando a proporção 100:400 μL , respectivamente. Nestes testes iniciais foram utilizadas as seguintes condições: pH 7, sem adição de NaCl, 5 mL de amostra, tempo de interação de 1 min (repouso) e tempo de extração

de 5 min (centrifugação). As misturas de solventes extrator e dispersor investigadas são apresentadas na Tabela 5.

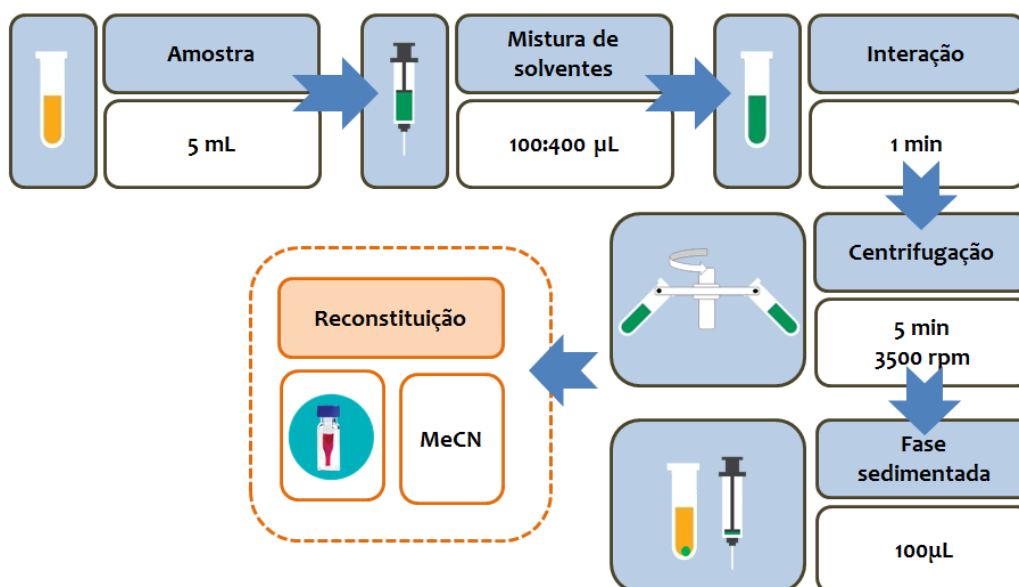
Tabela 5 – Combinações de solventes extrator e dispersor empregados na DLLME de HPAs.

COMBINAÇÃO	EXTRATOR	DISPERSOR
1	Clorofórmio (CHCl ₃)	Acetona (C ₃ H ₆ O)
2	Tetracloroeto de Carbono (CCl ₄)	Acetona
3	Clorofórmio	Metanol (CH ₃ OH)
4	Tetracloroeto de Carbono	Metanol
5	Clorofórmio	Acetonitrila (CH ₃ CN)
6	Tetracloroeto de Carbono	Acetonitrila

Após a avaliação da melhor combinação de solventes extrator e dispersor para a otimização da DLLME de HPAs em solução aquosa e efluente hospitalar, aplicou-se planejamento multivariado de experimentos do tipo Delineamento do Composto Central Rotacional (DCCR) com quatro variáveis independentes (pH da amostra, concentração de NaCl, volume de solvente extrator e volume de solvente dispersor), totalizando 18 experimentos. O ajuste do pH foi feito com NaOH ou HCl 0,1 mol L⁻¹. Utilizou-se 5 mL de amostra, tempo de interação de 1 min e tempo de extração de 5 min.

A validação do processo de DLLME de HPAs foi feita em 3 níveis de concentração compreendidos na faixa linear de cada analito (iniciando pelo LQ) e com 6 replicatas ($n = 6$). O procedimento foi repetido durante 3 dias para amostras de efluente hospitalar fortificado com concentrações conhecidas dos HPAs, correspondentes aos níveis 1, 3 e 7 da curva de calibração (ver Tabela 4). A Figura 13 apresenta o procedimento adotado para a DLLME de HPAs.

Figura 13 – Procedimento de DLLME de HPAs.



Fonte: adaptado de Altíssimo (2016); *Microsoft Power Point*.

3.6 Parâmetros de validação

No Brasil, há duas agências credenciadoras para verificar a competência de laboratórios de ensaios, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e o INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial) (RIBANI et al., 2004). Estes órgãos disponibilizam guias para o procedimento de validação de métodos analíticos, respectivamente, a Resolução ANVISA RE nº 899, de 29/05/2003 e o documento INMETRO DOQ-CGCRE-008, de março/2003, os quais foram utilizados no presente trabalho para assegurar a qualidade dos resultados. Outra normativa empregada foi a Diretiva 96/23/CE da Comissão Europeia que visa o desempenho de métodos analíticos e à interpretação de resultados.

As principais figuras de mérito, como LD, LQ, faixa linear, equação da reta e coeficiente de correlação foram investigadas a fim de otimizar o método HPLC-FLD. Avaliou-se também, o efeito da matriz.

O método de separação otimizado foi, então, validado para a quantificação de HPAs de acordo com *International Conference on Harmonization* (ICH, 2005). A validação do método instrumental, ou seja, a resposta do equipamento às condições cromatográficas

aplicadas foi feita pela injeção de soluções-padrão dos HPAs em sete níveis de concentração (Ver Tabela 4) e a linearidade foi avaliada pelo ajuste das curvas (r^2).

Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram estimados pela razão sinal ruído de acordo com as Equações 26 e 27 (KAZAKEVICH e LOBRUTTO, 2007):

$$LD = C_s \cdot \frac{3}{S/N} \quad (26)$$

$$LQ = C_s \cdot \frac{10}{S/N} \quad (27)$$

onde C_s é a concentração do analito injetada e S/N é a razão sinal ruído.

A complexidade da composição dos efluentes hospitalares, quando comparados a soluções padrão em solventes puros, pode causar erros conduzindo a resultados inexatos (VIENO et al., 2006). Sendo assim, avaliou-se o efeito da matriz sobre a intensidade do sinal dos analitos durante a análise cromatográfica por SPE-HPLC-FLD.

O cálculo do efeito de matriz sobre a determinação dos HPAs alvo deste estudo foi feito de acordo com a Equação 28:

$$ME(\%) = \frac{A_{std} - (A_a - A_b)}{A_{std}} \cdot 100 \quad (28)$$

Onde ME (%) é o efeito de matriz em percentagem, A_{std} é a área do pico do analito em solvente puro (MeCN), A_a é a área do pico da matriz enriquecida com o analito e A_b é a área do pico da matriz sem enriquecimento. De acordo a ANVISA, não há efeito de matriz quando o valor encontrado é igual ou menor a 20%.

A linearidade do método foi determinada obtendo-se a equação de regressão linear, aplicação do teste de Grubbs (GRUBBS, 1969) para verificação de valores discrepantes e para verificação de homocedasticidade.

3.7 Avaliação de risco

A avaliação de risco de HPAs em ambiente aquático foi feita avaliando o coeficiente de partição octanol-água de cada analito e a relação MEC/PNEC. A relação MEC/PNEC foi calculada utilizando-se a concentração de cada HPA medida nos pontos de amostragem investigados e os valores de PNEC existentes na literatura.

3.8 Aplicação de PAOs para a degradação de HPAs

3.8.1 Fotocatálise heterogênea

Para a aplicação de fotocatálise heterogênea, empregou-se um reator tipo tanque agitado *home made* com jaqueta termostática. A radiação ultravioleta foi gerada por lâmpada de vapor de mercúrio de pressão média (Philips do Brasil, Barueri, SP, Brasil). O bulbo de proteção original da lâmpada foi substituído por um tubo de quartzo imerso nas amostras.

Uma fonte Intral (Porto Alegre, RS, Brasil) foi usada como fonte para a lâmpada de vapor de mercúrio. A temperatura foi controlada por meio de arrefecimento com circulação de água com gelo; para a recirculação da água usou-se uma bomba dosadora pulsante ProMinent (ProMinent Deutschland GmbH, Germany). A agitação da solução foi feita com o auxílio de um agitador magnético IKA C-MAG HS 7 (IKA do Brasil, Campinas, SP, Brasil) com barra de agitação, colocada no fundo do reator.

O fluxo de fótons e a eficiência fotônica foram determinados de acordo com a metodologia descrita por MARTINS et al. (2009). A partir da conversão da energia luminosa emitida pela lâmpada de vapor de mercúrio em energia química, através do reagente actinométrico, foi calculado o fluxo de fótons ($n = 3$) para o reator tanque agitado, conforme a Equação 29:

$$q = \frac{\Delta A \cdot V_1 \cdot V_2}{\Phi(\lambda) \cdot \varepsilon(510 \text{ nm}) \cdot V_3 \cdot l \cdot t} \quad (29)$$

onde: q = fluxo de fótons (mol s^{-1}), ΔA = absorvância (510 nm), V_1 = capacidade volumétrica do reator (L), V_3 = volume de solução preparada para ser medida no espectrofotômetro (L), $\Phi(\lambda)$ = eficiência quântica (254 nm), V_2 = volume da amostragem (L), $\varepsilon(510 \text{ nm})$ = absorvância molar, l = caminho ótico (1 cm), t = tempo (s).

Com o fluxo de fótons determinado, foi calculada a eficiência fotônica baseada no abatimento da DQO para os processos aplicados ao efluente hospitalar, como mostra a Equação 30:

$$\zeta (\%) = \frac{\Delta DQO \cdot \Delta t \cdot V \cdot E}{A \cdot I_0} \cdot 100 \quad (30)$$

onde: ΔDQO (conversão de: $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ para: $\text{mol O}_2 \text{ L}^{-1}$), Δt = tempo de tratamento (s), V = volume de efluente no reator (L), E = energia contida em 1 mol de fótons ($\lambda_{\text{máx}} = 254 \text{ nm}$) = 1 Einstein, A = área total irradiada (m^2), I_0 = intensidade da radiação incidente (W m^{-2}).

A caracterização do reator e as condições empregadas na degradação de HPAs em solução aquosa, águas superficiais e efluente hospitalar são apresentadas na Tabela 6.

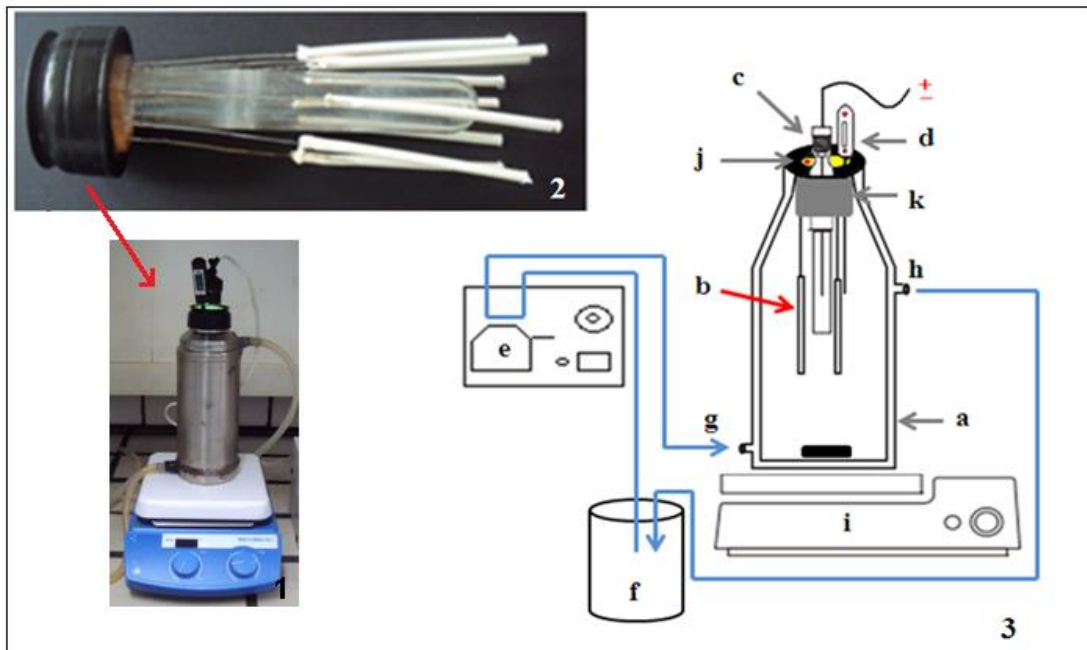
Tabela 6 – Caracterização do reator utilizado na degradação de HPAs.

Características	Especificação
Tipo de reator	tanque agitado com jaqueta termostática
Dimensão interna	19 x 7 cm
Capacidade	800 mL
Material	Aço inox
Área superficial interna	~ 0,04 m^2
Resfriamento	Água gelada
Radiação UV	254 nm
Lâmpada	Pressão Média Potência 125 W Intensidade 401 W m^{-2}
Fonte para lâmpada	220 V; 60 Hz
Tubo de quartzo	$\phi_e = 24 \text{ mm}$; $\phi_i = 22 \text{ mm}$; $h = 200 \text{ mm}$
Barras agitação magnética	3 x 0,5 cm
Velocidade de agitação	750 rpm
Fluxo de fótons q (mol s^{-1})*	$1,06 \times 10^{-4} \pm 1,45 \times 10^{-5}$
Eficiência fotônica ζ (%)*	$16,07 \pm 0,55$

Fonte: *MAYER, 2013.

Para avaliar a degradação de HPAs por meio de fotocatalise heterogênea utilizou-se barras de TiO_2 imobilizado em polidimetilsiloxano (PDMS), preparadas de acordo com a metodologia apresentada por DA SILVA (2012). O reator fotocatalítico e o sistema completo utilizado na aplicação de fotocatalise heterogênea é representado no esquema da Figura 14.

Figura 14 – Reator tanque agitado *home made* utilizado na aplicação dos PAOs.



(1) Reator tanque agitado. (2) Barras poliméricas, com TiO_2 suportado, em volta do tubo de quartzo. (3) Esquema representativo do sistema fotocatalítico: (a) reator – vista interna; (b) barras poliméricas com TiO_2 suportado; (c) lâmpada UV com tubo protetor de quartzo; (d) termômetro digital; (e) bomba dosadora; (f) reservatório com água e gelo; (g) entrada e (h) saída de água; (i) agitador magnético; (j) orifício para coleta de amostras; (k) rolha de silicone.

Fonte: DA SILVA, 2012.

3.8.2 Otimização do processo de fotocatalise heterogênea

O processo de fotocatalise heterogênea foi avaliado para os HPAs ANT, NAF, FEN, FLU e 1-ME. Inicialmente investigou-se o efeito da adição de MeCN na degradação fotocatalítica dos HPAs, devido à baixa solubilidade destes analitos em água. Os níveis estudados foram a adição de 0, 1, 5, 10 e 15% de MeCN. O volume de solução empregado no reator foi de 750 mL.

Testes prévios foram realizados para avaliar a eficiência do fotocatalisador TiO_2 imobilizado em PDMS. Comparou-se o uso de TiO_2 suspenso e apenas o uso de radiação UV (fotólise) na degradação dos HPAs. Estes experimentos foram feitos nas condições intermediárias do planejamento aplicado por DA SILVA, 2012 (pH 7 e 30 °C).

A otimização das variáveis para o processo de degradação fotocatalítica de HPAs, em solução aquosa, águas superficiais (Ponto 4) e em amostras de efluente hospitalar (Ponto 3) fortificadas com os HPAs em estudo, foi feita por meio de planejamento fatorial DCCR. Avaliou-se o pH da amostra e a temperatura como variáveis independentes do processo. O

ajuste do pH da amostra foi feito com NaOH ou HCl 0,1 mol L⁻¹. A concentração inicial de HPAs corresponde ao N7 da curva analítica (ver Tabela 4).

O tempo de irradiação utilizado nos estudos de degradação de HPAs foi de 60 min e as amostras (2 mL) foram coletadas em diferentes tempos de reação. A avaliação da eficiência do tratamento fotocatalítico foi feita por HPLC-FLD.

3.8.3 Estudo cinético

A partir das condições otimizadas pelo planejamento fatorial foram feitos experimentos para avaliar a cinética de reação. Os experimentos foram repetidos (triplicata), nas melhores condições otimizadas, e alíquotas foram coletadas em diferentes tempos de reação, levando em consideração a degradação de cada analito, até 60 minutos. As alíquotas coletadas foram levadas para análise em HPLC-FLD. Os dados obtidos foram tratados conforme as curvas de ordem zero e primeira ordem.

Para determinar a ordem de reação, primeiramente avaliaram-se os coeficientes de regressão das curvas C/C_0 versus tempo (para cinética de ordem zero (Equação 31)) e curvas $\ln C/C_0$ versus tempo (para cinética de primeira ordem – Equação 32).

$$[C] = [C_0] - k \cdot t \quad (31)$$

$$\ln[C] = \ln[C_0] - k \cdot t \quad (32)$$

onde: C_0 é concentração inicial do analito, C é a concentração em determinado tempo (tempo de coleta das amostras), e k é a constante de velocidade reacional (dada pelo coeficiente angular da curva).

3.8.4 Metodologia de identificação de subprodutos da degradação fotocatalítica de HPAs

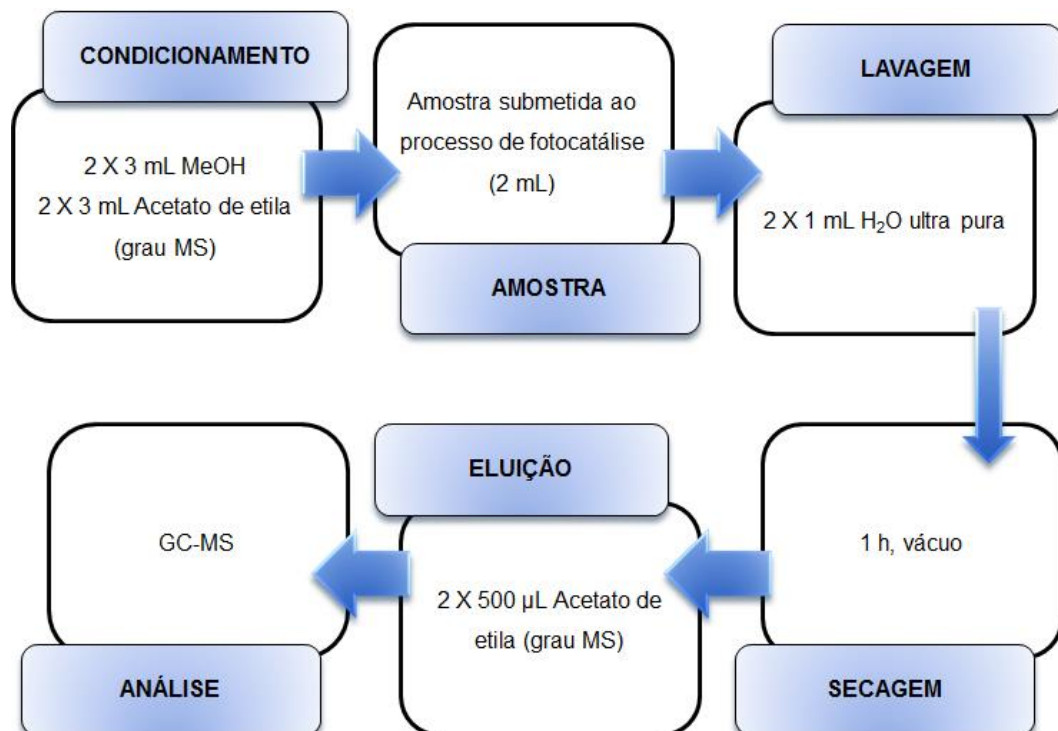
A identificação dos subprodutos da degradação fotocatalítica de HPAs (ANT, NAF e FEN) em amostras de água, águas superficiais (Ponto 4) e efluente hospitalar (Ponto 3) foi realizada durante intercâmbio na Universidade Nacional Autônoma do México (UNAM, Cidade do México).

HPAs e seus produtos de degradação fotocatalítica foram analisados em um cromatógrafo a gás (GC) (HP 6890) equipado com uma coluna capilar (HP-5, 30 m×0,32

mm×0,25 μm) e detector seletivo de massas (HP 5973). Empregou-se hélio como gás de arraste com fluxo de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$. O modo de injeção utilizado foi *splitless* ($2,0 \mu\text{l}$) e a temperatura do injetor de $250 \text{ }^\circ\text{C}$. Aplicou-se uma rampa de temperatura: $80 \text{ }^\circ\text{C}$ por 4 minutos, logo a temperatura foi aumentada até $200 \text{ }^\circ\text{C}$ ($20 \text{ }^\circ\text{C}$ por minuto) e mantida por 4 minutos e, finalmente, aumentada até $250 \text{ }^\circ\text{C}$ ($50 \text{ }^\circ\text{C}$ por minuto) e mantida por 2 minutos. O *solvent delay* foi fixado em 4 minutos. A temperatura da fonte de impacto de elétrons foi de $230 \text{ }^\circ\text{C}$ com energia de 70 eV . A temperatura do quadrupolo foi de $150 \text{ }^\circ\text{C}$ e a temperatura da interface do GC de $280 \text{ }^\circ\text{C}$. Foi realizado um *scan* na faixa de m/z 40 até m/z 400. A biblioteca NIST98 MS foi utilizada para a identificação das espécies, como um suplemento para as características espectrais de massa.

Antecedendo a identificação dos subprodutos da degradação fotocatalítica dos HPAs, as amostras foram submetidas a uma etapa de preparo utilizando SPE, para que as mesmas estivessem em solvente adequado para análise por GC-MS. O método de SPE foi desenvolvido usando cartuchos Strata X C18-E (Phenomenex, Torrence, EUA) $3 \text{ mL}/200 \text{ mg}$ e pode ser observado no fluxograma da Figura 15.

Figura 15 – Fluxograma da SPE de HPAs para análise por GC-MS.



Fonte: elaborado pelo autor; *Microsoft Power Point*.

3.8.5 Ozonização

O processo de ozonização foi avaliado para os HPAs ANT, NAF, FEN, FLU e 1-ME.

3.8.5.1 Reator e gerador de ozônio

Os experimentos foram feitos empregando-se sistema de ozonização com reator tipo coluna de semi-batelada de 800 mL de capacidade, de vidro borossilicatado (Figura 16). O gerador de ozônio utilizado foi o modelo Z100 (Ozone Bras), com geração de ozônio pelo método corona (GLAZE, 1987). Como fonte de oxigênio foi usado ar seco, previamente, pela passagem em tubo secante contendo carvão ativado granulado (do inglês, *Granular Active Carbon – GAC*), cloreto de cálcio (CaCl_2) e sílica gel. A mistura ar - ozônio foi purgada e dispersa na forma de bolhas no fundo do reator-coluna através de fritas de vidro sinterizado. O fluxo de ar foi de 2 L min^{-1} .

Figura 16 – Sistema de ozonização empregado na degradação de HPAs.



(1) compressor de ar; (2) tubo secante ($\text{GAC} + \text{CaCl}_2 + \text{sílica gel}$); (3) gerador de ozônio; (4) Reator Semi-batelada Tubular ($h = 81 \text{ cm}$, $\varnothing_i = 4 \text{ cm}$), (5) destruição do ozônio excedente (solução $\text{KI } 10 \text{ g L}^{-1}$) e (6) GAC. No detalhe: (7) entrada e saída de água de resfriamento, (8) Termômetro, (9) Difusor de ozônio e (10) porta de amostragem.

Fonte: adaptado de WILDE, 2011; BRENNER, 2013.

3.8.5.2 Medida do ozônio na corrente gasosa

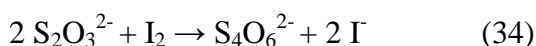
A otimização das condições de trabalho do ozonizador, uma vez que o ozônio deve ser gerado “*in situ*”, foi feita por iodometria, método normatizado (Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (APHA, 2002)). O método consiste na lavagem do gás rico em ozônio em uma solução de iodeto de potássio (KI), e determinação do ozônio que reagiu pela titulação com tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$).

A corrente gasosa que deixou o gerador de ozônio foi lavada em solução de KI em um lavador de gás contendo 200 mL da solução. O gás foi transportado do gerador de ozônio para o frasco lavador com o auxílio de uma mangueira de silicone e borbulhado no fundo do frasco.

A reação empregada para a determinação quantitativa da massa de ozônio em corrente gasosa consiste na liberação de iodo da solução de KI. Nesta reação, o elemento ativo é o oxigênio atômico liberado da molécula de ozônio, que se reverte em oxigênio molecular. A reação de oxidação do iodeto de potássio pelo ozônio é apresentada na Equação 33:



À solução de iodeto de potássio, na qual borbulhou-se ozônio, adicionou-se 10 mL de H_2SO_4 (1:5, v/v) e titulou-se com $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, até o desaparecimento da coloração amarela, característica do iodo. Adicionou-se 1 a 2 mL de solução de amido indicadora e titulou-se até o desaparecimento da coloração azul. A reação de oxidação dos íons tiosulfato pelo iodo produz tetrionato, como mostra a Equação 34:



O ozônio produzido foi calculado pela Equação 35:

$$O_3 \text{ produzido (mg min}^{-1}\text{)} = \frac{A \cdot N \cdot 24}{T} \quad (35)$$

onde: A é o volume, em mL, do titulado; N é a normalidade do tiosulfato de sódio; T é o tempo de borbulhamento, em min.

3.8.5.3 Ozonização de HPAs

Os experimentos em solução aquosa foram feitos em água destilada e deionizada no intervalo de pH de 5, 7 e 9, ajustado com NaOH (0,1 ou 6 mol L⁻¹) e H₂SO₄ (1:1 v/v) ou ácido fórmico (1 mol L⁻¹), sem utilização de soluções tampões para controle de pH e à temperatura de 20± 2 °C. A concentração inicial de HPAs corresponde ao N7 da curva analítica (ver Tabela 4). Para acompanhamento, amostras foram retiradas (2 mL) em determinados intervalos de tempo e foram purgadas com N₂ para remoção de ozônio residual.

As amostras de efluente hospitalar e água superficial foram filtradas em filtro qualitativo (26 µm) antes da ozonização e, posteriormente, em filtro seringa de membrana de 0,45 µm, PTFE Chromafil® (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren, Germany) e, então, diluídas em MeCN diretamente no vial. Amostras dos testes em solução aquosa apenas passaram pelo processo de diluição em MeCN e foram analisadas por HPLC-FLD para avaliar a degradação dos HPAs.

A partir das condições otimizadas foram feitos experimentos para avaliar a cinética de reação, empregando-se as equações já citadas anteriormente. Os experimentos foram repetidos (triplicata), nas melhores condições otimizadas, e alíquotas foram coletadas em diferentes tempos de reação, levando em consideração a degradação de cada analito, até 60 minutos. As alíquotas coletadas foram levadas para análise em HPLC-FLD. Os dados obtidos foram tratados conforme as curvas de ordem zero e primeira ordem.

3.9 Gerenciamento de resíduos

Os resíduos gerados no LATER são primeiramente segregados e após, encaminhados ao Programa de Gerenciamento de Resíduos Químicos da UFSM, o qual entrega os resíduos a uma empresa especializada em tratamento de resíduos químicos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização físico-química

As características físico-químicas do efluente do HUSM, após o tratamento, das águas superficiais da UFSM e os limites permitidos para estes parâmetros de acordo com a Resolução 430 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) (2011) e a da Resolução 128 do CONSEMA (Conselho Estadual do Meio Ambiente) (2006) são apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7 – Parâmetros físico-químicos médios do efluente do HUSM, águas superficiais da UFSM e limites permitidos.

Parâmetro	Águas superficiais	Efluente HUSM	Limites (CONAMA)	Limites (CONSEMA)
pH	7,3	7,7	5-9	6-9
Temperatura (°C)	25	23	< 40	< 40
Alcalinidade (mg L ⁻¹ HCO ₃ ⁻)	162	149	-	-
Cl ⁻ (mg L ⁻¹)	44,4	27,9	-	-
PO ₄ ³⁻ (mg L ⁻¹)	3,6	3,1	1	-
NO ₃ ⁻ (mg L ⁻¹)	1,5	0,3	<10	-
SO ₄ ²⁻ (mg L ⁻¹)	17,4	8,5	-	-
K (mg L ⁻¹)	11,7± 0,3	8,1± 0,2	-	-
Na (mg L ⁻¹)	57,5 ± 0,8	27,2 ± 1,1	-	-
Sólidos suspensos (mg L ⁻¹)	75	16	≤ 150	125
Sólidos totais (mg L ⁻¹)	318,7	248,7	-	-
A _{UV} 254	1,037	1,254	-	-
DQO (mg L ⁻¹)*	-	≤ 330	180 mg L ⁻¹	-
COD (mg O ₂ L ⁻¹)*	390,0	420,0	≤ 200	-
DBO ₅ (mg O ₂ L ⁻¹)*	320,1	303,7	≤ 120	-
Nitrogênio amoniacal (mg L ⁻¹)*	-	52,0	20	-
Nitrogênio Total (mg L ⁻¹)*	-	59,1	10	-

*Dados de trabalhos anteriores do grupo de pesquisa (WILDE et al., 2012; DA SILVA et al., 2013).

De acordo com os dados apresentados na Tabela 7, as águas superficiais da UFSM e o efluente do HUSM, mesmo após tratamento, apresentam alta carga orgânica variável e alguns parâmetros acima dos limites estabelecidos pelo CONAMA e CONSEMA. O laudo das análises físico-químicas encontra-se no Anexo A.

Em trabalhos anteriores, WILDE (2011) e DA SILVA (2012) relatam valores de DQO entre 200 e 612 mg L⁻¹, valores acima dos limites permitidos pelo CONAMA.

Outros indicadores do efluente do HUSM foram relatados anteriormente, com concentrações acima dos limites determinados pelos órgãos reguladores: nitrogênio total ($59,1 \text{ mg L}^{-1}$) e nitrogênio amoniacal ($52,0 \text{ mg L}^{-1}$). A concentração de nitrogênio amoniacal está diretamente ligada aos indicadores de matéria orgânica, altos valores indicam alta concentração de matéria orgânica no efluente.

VERLICCHI et al. (2015) publicaram uma revisão de literatura onde dão uma visão geral sobre o tratamento de efluentes hospitalares em todo o mundo nos últimos vinte anos; descrevem as principais características físico-químicas de efluentes hospitalares nas mais diversas publicações. Neste trabalho, relatam valores de nitrogênio total entre 60 e 98 mg L^{-1} , e nitrogênio amoniacal, entre 10 e 68 mg L^{-1} .

Segundo BAUR (2012) a determinação da forma predominante de nitrogênio pode fornecer indicações acerca do estágio de poluição ocasionada através do lançamento de efluente em um curso de água. Se a poluição é recente, o nitrogênio estará basicamente na forma de nitrogênio orgânico ou amoniacal, e se antiga, na forma de nitrato, desde que se tenha em questão, quantidade suficiente de oxigênio dissolvido para permitir a nitrificação.

4.2 Métodos de identificação e determinação de HPAs

4.2.1 Método HPLC-FLD para determinação de HPAs

O desenvolvimento do método analítico HPLC-FLD para determinação de HPAs em amostras de águas superficiais e efluente hospitalar, foi previamente consultados em trabalhos na literatura, usados como base (OKUDA et al., 2006; LIU et al., 2007; TFOUNI et al., 2007; PURCARO et al., 2009; SERPE et al., 2010; SANTOS et al., 2011; DOST e IDELI, 2012).

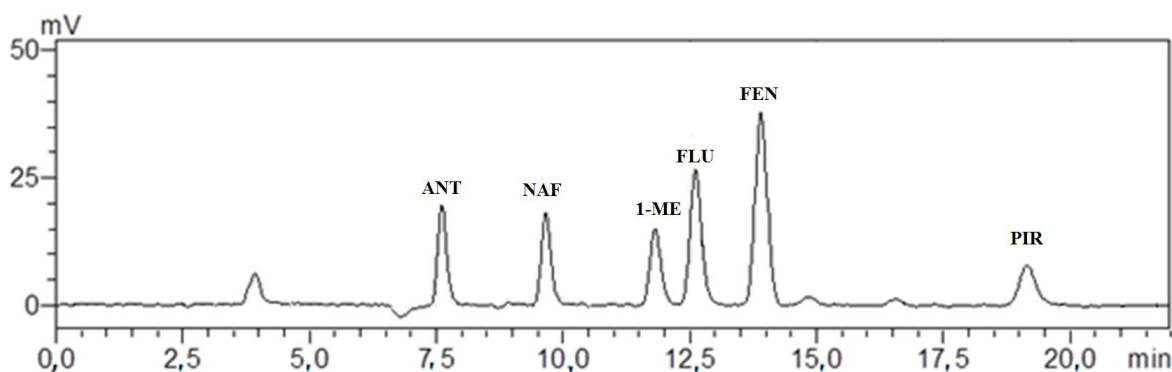
As condições cromatográficas como vazão, fase móvel e comprimento de onda de excitação e emissão, foram ajustados, visando uma separação com menos interferentes e melhor resolução entre os picos dos analitos, levando em conta a complexidade da matriz. Na Tabela 8 são apresentadas as condições cromatográficas para a determinação de HPAs por HPLC-FLD.

Tabela 8 – Condições cromatográficas utilizadas na determinação de HPAs por HPLC-FLD.

Condições cromatográficas	
Coluna	Shim-pack CLC-ODS(M) (250 x 4,6 mm, 4 μ m)
Pré-coluna	Shimadzu G-ODS (4 mm)
Fase móvel	MeCN:H ₂ O 80:20 (v/v)
Vazão da fase móvel	0,7 mL min ⁻¹
Eluição	Modo isocrático
λ_{ex}	250 nm
λ_{em}	350 nm
Volume de injeção	20 μ L
Tempo de retenção (min)	ANT (7,5), NAF (9,6), 1-ME (11,8), FLU (12,6), FEN (13,9), PIR (19,1)
Análise cromatográfica	22 min

A coluna cromatográfica foi equilibrada com fase móvel por pelo menos 20 minutos, antes da primeira injeção. A separação cromatográfica foi conduzida em modo isocrático, usando mistura de MeCN e água como fase móvel. A melhor separação de todos os analitos foi evidenciada utilizando a proporção 80:20 (v/v), respectivamente. Dentre as vantagens do método HPLC-FLD pode-se destacar a determinação simultânea dos HPAs estudados em uma única análise cromatográfica. O cromatograma HPLC-FLD obtido para HPAs é apresentado na Figura 17.

Figura 17– Cromatograma da separação de HPAs por HPLC-FLD, concentração N1. Condições: ver Tabela 8.



Fonte: adaptado de *Software LC Solution*.

Investigou-se a vazão da fase móvel na faixa de 0,4 a 0,7 mL min⁻¹. A melhor condição foi observada empregando 0,7 mL min⁻¹, promovendo a melhor resolução e menor largura dos picos, bem como do tempo de retenção dos HPAs. As principais figuras de mérito,

como LD, LQ, faixa linear, equação da reta e coeficiente de correlação são apresentadas na Tabela 9.

Tabela 9 – Figuras de mérito do método de determinação de HPAs por HPLC-FLD.

Analito	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Equação da reta	r^{2a}	LD ^b ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ^c ($\mu\text{g L}^{-1}$)
ANT	20-260	$y = 1358,3x + 10865$	0,999	6,67	20,01
NAF	5-300	$y = 9920,8x - 42675$	0,999	1,66	4,98
1-ME	4-240	$y = 11607x - 59759$	0,999	1,33	3,99
FLU	3-180	$y = 14202x - 49630$	0,999	1,02	3,06
FEN	1-60	$y = 72689x - 91965$	0,999	0,35	1,05
PIR	100-700	$y = 625,08x - 42222$	0,999	33,34	100,02

^a para 7 níveis de concentração.

^b Limite de detecção para S/N = 3,3 ($n=6$); instrumental.

^c Limite de quantificação para S/N =10 ($n=6$); instrumental.

Na Tabela 10 fez-se a comparação LDs e LQs de alguns dos analitos alvos deste estudo, com informações reportadas na literatura empregando HPLC. De acordo com a tabela, pode-se observar a obtenção de melhores LDs e LQs, empregando HPLC-FLD, no presente trabalho, para NAF e FEN, em comparação com estudos reportados na literatura e o Método 8310 (EPA, 1986), evidenciando, assim, a maior sensibilidade do detector de fluorescência na determinação destes HPAs.

Tabela 10 – Comparação de LDs e LQs, em $\mu\text{g L}^{-1}$, de alguns HPAs estudados, empregando HPLC.

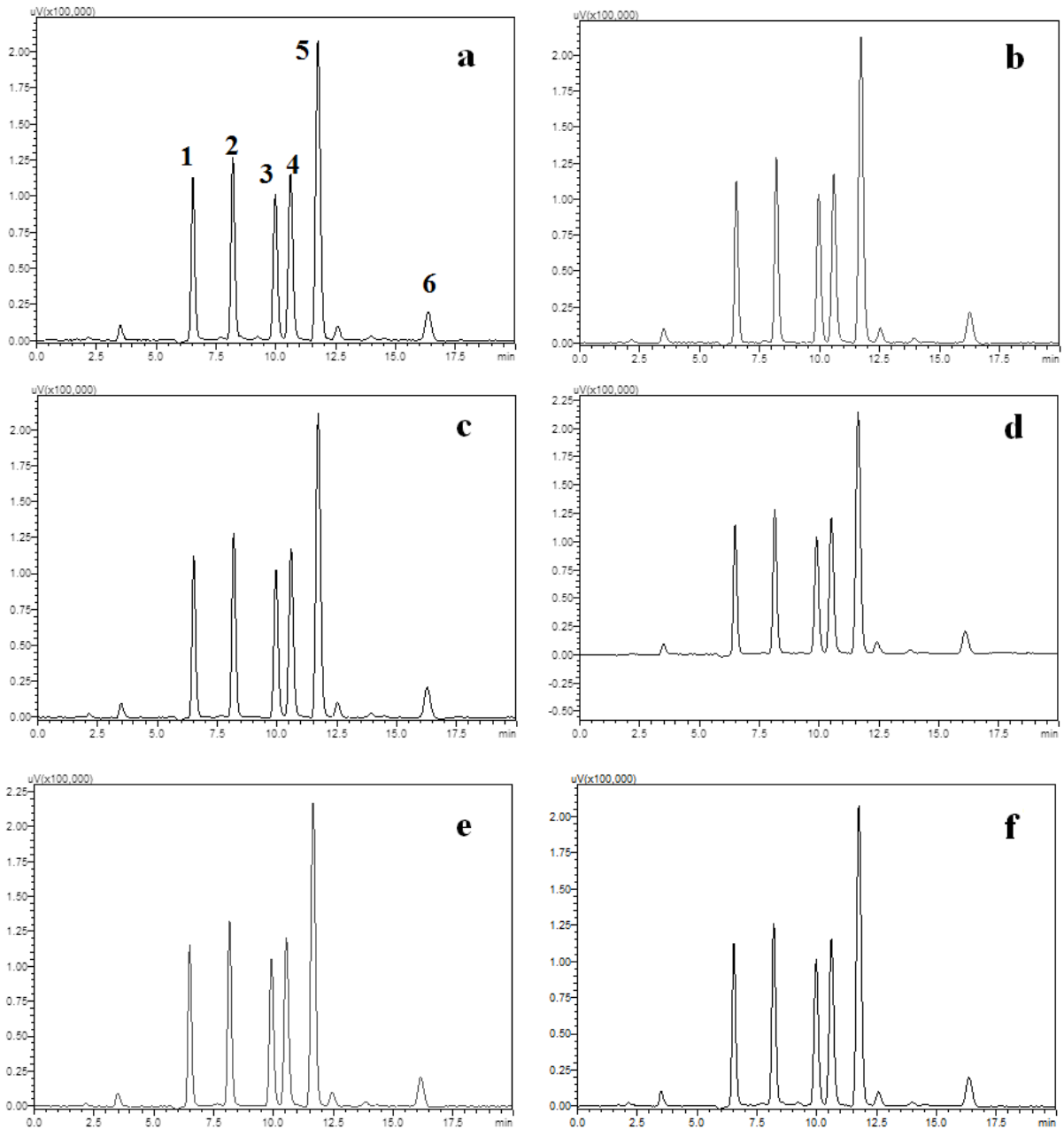
Analito	LD	LQ	Amostra	Método	Referência
ANT	0,66	-	Águas subterrâneas e residuais	HPLC-FLD	EPA, Método 8310
	6,67	20,01	Águas superficiais/efluente hospitalar	HPLC-FLD	Este trabalho
NAF	1,8	-	Águas subterrâneas e residuais	HPLC-UV	EPA, Método 8310
	1,66	4,98	Águas superficiais/efluente hospitalar	HPLC-FLD	Este trabalho
FLU	0,7	2,34	Óleos comestíveis e alimentos grelhados	HPLC-UV	DOST e IDELI, 2012
	0,21	-	Águas subterrâneas e residuais	HPLC-UV	EPA, Método 8310
	18,3	-	Sedimentos	HPLC-UV	LIU et al., 2007
	1,02	3,06	Águas superficiais/efluente hospitalar	HPLC-FLD	Este trabalho
FEN	0,38	1,26	Óleos comestíveis e alimentos grelhados	HPLC-UV	DOST e IDELI, 2012
	1,1	-	Sedimentos	HPLC-DAD	LIU et al., 2007
	0,64	-	Águas subterrâneas e residuais	HPLC-FLD	EPA, Método 8310
	0,35	1,05	Águas superficiais/efluente hospitalar	HPLC-FLD	Este trabalho

4.2.2 Estabilidade dos HPAs

Para gerar resultados confiáveis e reprodutíveis, os padrões usados devem ser estáveis por um período razoável. Testes de estabilidade são realizados para identificar e avaliar degradações significativas do analito quando submetido ao armazenamento em condições adversas. A estabilidade é dependente de fatores como a temperatura, tempo de armazenamento e da presença ou ausência de luz (RIBANI et al., 2004). Devido a estes fatores, foram realizados testes relativos à estabilidade para os HPAs investigados neste estudo.

Na Figura 18 pode-se observar que não há diminuição significativa da área dos picos de HPAs nos 30 dias em que se realizaram os testes de estabilidade nas condições aplicadas: temperatura ambiente ou 4° C (geladeira) e na presença ou na ausência de luz. Os cromatogramas correspondentes ao demais dias em que a solução-padrão foi avaliada quanto à estabilidade de HPAs apresentaram-se semelhantes aos mostrados na Figura 18, em ambas as condições investigadas.

Figura 18 – Cromatogramas dos testes de estabilidade de solução-padrão de HPAs.



(a) Primeiro dia e (b) trigésimo dia, temperatura ambiente. (c) Primeiro dia e (d) trigésimo dia, temperatura ambiente e na ausência de luz. (e) Primeiro dia e (f) trigésimo dia, 4° C na ausência de luz. Picos correspondentes: (1) ANT, (2) NAF, (3) 1-ME, (4) FLU, (5) FEN e (6) PIR.

Fonte: adaptado de *Software LC Solution*.

Com base nos resultados obtidos no teste de estabilidade da solução-padrão estoque de HPAs, optou-se por armazenar as soluções a 4° C na ausência de luz, e prepará-las a cada 30 dias. Segundo o MAPA (2011) uma solução é considerada estável quando for observada uma degradação máxima de até 2% em relação a uma referência recém-preparada analisada. A

estabilidade das soluções padrão deve ser avaliada sempre que não houver alguma referência prévia para o seu prazo de validade. Assim, após análise dos cromatogramas referentes aos testes de estabilidade, é possível concluir que os analitos apresentaram estabilidade nas condições a que foram submetidas.

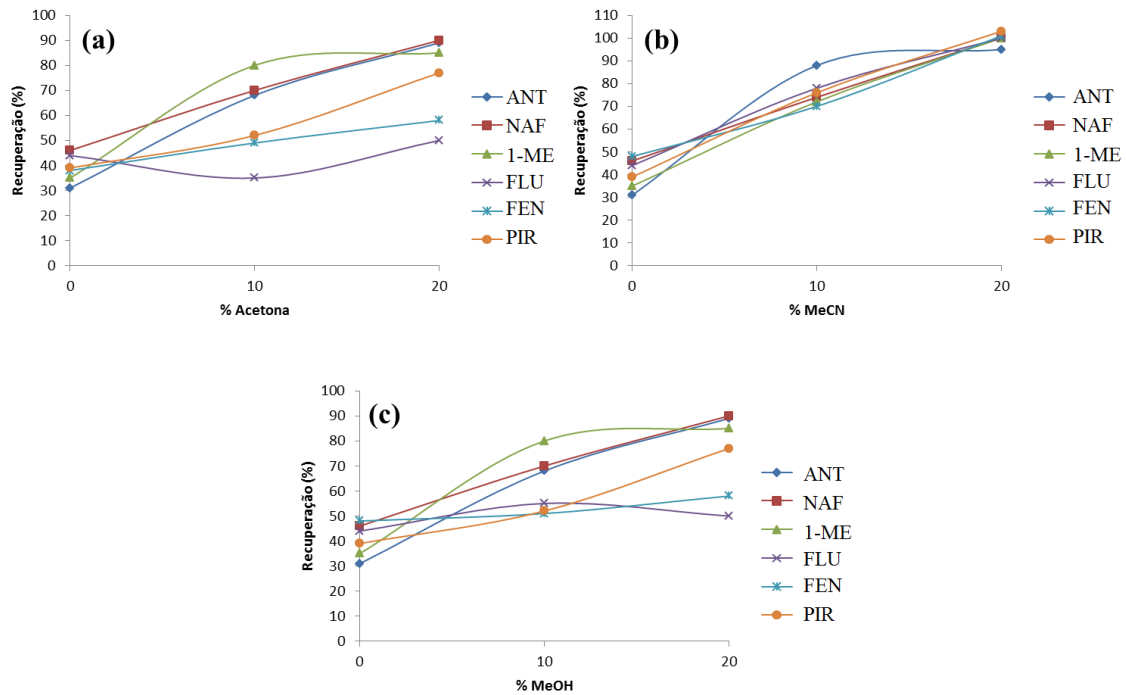
4.2.3 Extração em fase sólida (SPE)

A primeira etapa da SPE consiste no condicionamento do sorvente e é um fator determinante para preparar a retenção dos analitos (WILDE et al., 2012). Assim, para melhor ativação do sorvente, a primeira etapa do condicionamento foi conduzida com metanol, seguido por água ultra-pura.

Um recurso para aumentar a solubilidade dos HPAs é a adição de solventes orgânicos (MeOH, MeCN, acetona ou 2-propanol), chamados também de co-solventes ou modificadores orgânicos. Entretanto, a concentração de co-solvente é um parâmetro crítico, que deve ser avaliado cuidadosamente. É importante considerar-se que, se o modificador for adicionado em baixa concentração, pode não dissolver completamente os compostos de maiores massas moleculares. Entretanto, se adicionado em alta concentração, pode dificultar a adsorção dos compostos com menores massas moleculares. Desta forma, para cada tipo de adsorvente e co-solvente este parâmetro deve ser otimizado (CAVALCANTE et al., 2007).

Estudos individuais foram feitos objetivando eliminar algumas variáveis do processo de otimização da SPE. Avaliou-se a utilização de modificadores orgânicos como MeCN, MeOH e acetona. Testes foram feitos sem a adição de modificador e avaliando-se o uso de 10 e 20% do volume total de amostra. Os resultados dos testes com os diferentes modificadores orgânicos empregados podem ser observados na Figura 19.

Figura 19 – Efeito da adição de modificadores orgânicos (acetona, MeCN e MeOH), nas taxas de recuperação de HPAs por SPE empregando cartuchos C18 ec.



Fonte: elaborado pelo autor; *Microsoft Excel*.

De acordo com a Figura 19, pode-se observar que acetona apresentou melhores resultados que MeOH, quando empregados como modificadores orgânicos para a extração de HPAs por SPE. Este resultado também foi evidenciado por CAVALCANTE et al., 2007. Porém, no presente estudo, MeCN foi o solvente que apresentou as melhores taxas de recuperação e, portanto, foi selecionado para os experimentos de SPE. A proporção de modificador orgânico adicionada à amostra, que apresentou as maiores taxas de recuperação (superiores a 90%) para a extração dos analitos alvos deste estudo foi de 20% do volume de amostra (H₂O:MeCN 8:2, v/v).

Posteriormente, foram avaliados diferentes tipos de cartuchos de extração, nas condições apresentadas no item 3.5.3, e as taxas de recuperação são apresentadas na Tabela 11.

Tabela 11 – Otimização da SPE de HPAs em solução aquosa empregando diferentes cartuchos de SPE: taxas de recuperação e RSD.

Cartuchos de SPE	ANT%	NAF%	1-ME%	FLU%	FEN%	PIR%
C18 ec	95,6 ± 0,6	100,2 ± 1,4	100,1 ± 4,2	100,9 ± 7,7	101,1 ± 7,0	103,9 ± 4,6
SiOH	44,2 ± 9,2	49,8 ± 7,2	65,3 ± 4,6	62,3 ± 3,2	67,4 ± 10,4	37,2 ± 8,4
Florisil	61,1 ± 14,1	60,9 ± 14,0	54,3 ± 7,4	76,1 ± 7,6	70,8 ± 8,2	34,0 ± 7,2
HR-P	78,5 ± 0,7	71,7 ± 3,8	69,4 ± 2,5	68,1 ± 1,0	70,7 ± 9,6	79,3 ± 1,1
Strata X	68,1 ± 6,9	60,3 ± 9,4	57,3 ± 2,2	48,5 ± 6,1	54,1 ± 6,8	41,6 ± 5,4

*Experimentos feitos em duplicata.

O cartucho Chromabond® C18 ec apresentou as melhores recuperações para os HPAs em solução aquosa, com resultados variando de 95,6 a 103,9% e RSD de 0,6 a 7,7%. Sendo assim, o mesmo método de SPE foi empregado para a matriz efluente hospitalar, em duplicata, apresentando recuperações superiores a 90% como pode ser observado na Tabela 12.

Tabela 12 – Aplicação da melhor condição da SPE em efluente hospitalar fortificado com HPAs empregando cartuchos C18 ec.

Analito	ANT%	NAF%	1-ME%	FLU%	FEN%	PIR%
Recuperação e RSD	91,0±3,5	99,7±1,9	97,2±7,5	99,8±6,3	103,8±2,6	100,5±8,1

*Experimentos feitos em duplicata.

Com base nos resultados dos testes prévios para a SPE de HPAs em amostras de efluente hospitalar fez-se a otimização multivariada da técnica de extração. Aplicou-se planejamento fatorial DCCR, 2², com duas variáveis independentes (pH da amostra e pH da água de lavagem) e dois níveis, incluindo 4 ensaios nas condições axiais e 3 repetições do ponto central (PC), totalizando 11 experimentos. A Tabela 13 apresenta a matriz de delineamento com seus 11 ensaios e a taxa de recuperação (%) de cada analito.

Tabela 13 – Matriz do planejamento DCCR, variáveis independentes e resultados da recuperação de HPAs em efluente hospitalar empregando SPE.

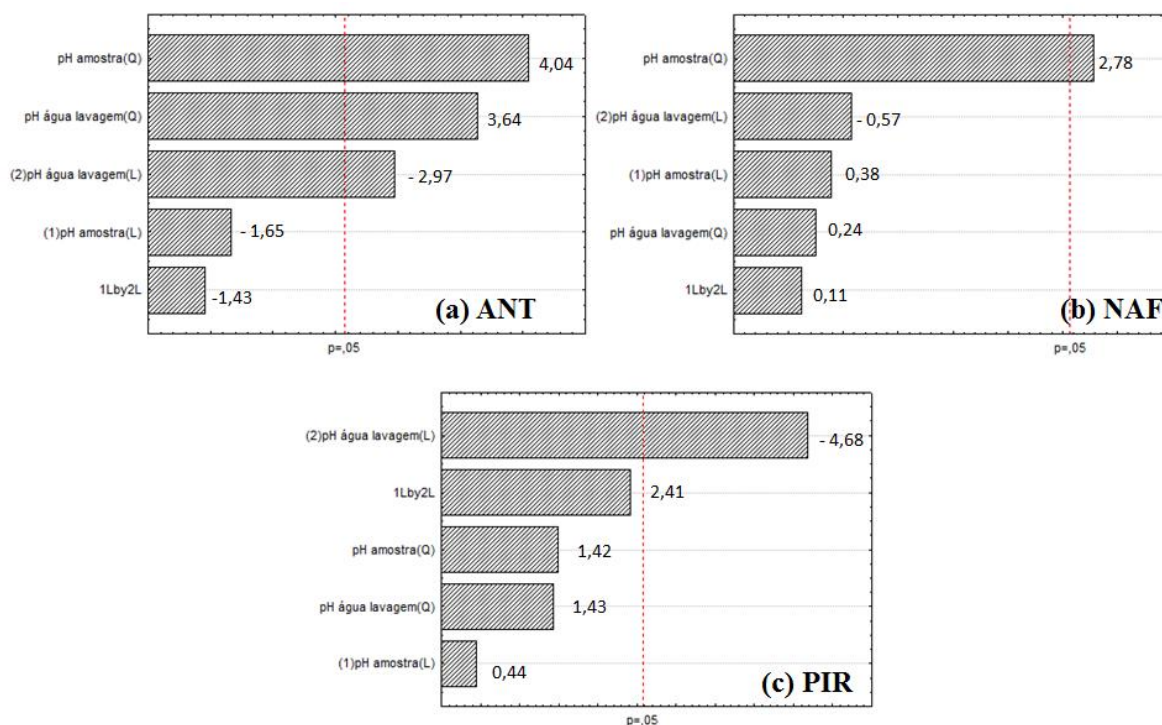
Item	Variáveis↓	Níveis→						
			-1,41	-1	0	1	1,41	
X ₁	pH da amostra		4	5	7	9	10	
X ₂	pH da H ₂ O		4	5	7	9	10	
Exp.	pH da amostra	pH da H ₂ O	ANT (%)	NAF (%)	1-ME (%)	FLU (%)	FEN (%)	PIR (%)
1	5 (-1)	5 (-1)	99,3	100,9	100,8	99,5	101,1	102,9
2	9 (1)	5 (-1)	98,6	99,5	98,9	97,0	94,0	91,7
3	5 (-1)	9 (1)	99,0	99,8	99,8	99,9	98,7	98,9
4	9 (1)	9 (1)	92,7	99,1	97,8	100,0	95,1	97
5	4 (-1,41)	7 (0)	98,1	98,7	100,4	88,9	100,0	98,9
6	10 (1,41)	7 (0)	96,1	102,1	98,4	99,5	97,5	99,7
7	7 (0)	4 (-1,41)	99,7	94,9	94,2	91,9	93,7	103,6
8	7 (0)	10 (1,41)	93,2	92,9	93,8	92,0	94	94,8
9	7 (0)	7 (0)	88,6	92,0	99,0	92,2	101,9	99,0
10	7 (0)	7 (0)	90,0	93,0	97,5	100	99,1	95,0
11	7 (0)	7 (0)	94,0	98,8	95,2	91,1	92,0	94,2

Os parâmetros da ANOVA para o modelo foram utilizados na análise estatística. Para a extração dos HPAs, em efluente hospitalar, a verificação do modelo que melhor se ajusta aos resultados foi feita pela determinação do R² (coeficiente de determinação do modelo), e variou de 0,72 a 0,75, podendo-se dizer que 72 a 75% da variação total em torno da média é explicada pela regressão.

De maneira geral, dentre as variáveis independentes investigadas na SPE de HPAs em amostras de efluente hospitalar, o pH da amostra apresentou efeito estatisticamente significativo ($p < 0,05$) para as taxas de recuperação de ANT e NAF, como pode ser observado nos Diagramas de Pareto da Figura 20.

Para ANT, o pH da água de lavagem apresentou-se como variável significativa, tanto pelo modelo quadrático como pelo linear, apresentando efeito positivo, ou seja, a medida que aumenta-se o pH do nível -1,41 ao nível -1, promove-se o aumento das taxas de recuperação. Na SPE de PIR, o pH da água de lavagem também apresentou efeito significativo. Para os HPAs 1-ME, FLU e FEN nenhuma das variáveis estudadas apresentaram-se como significativas no processo de SPE, apesar das elevadas taxas de recuperação obtidas (>88%).

Figura 20 – Diagramas de Pareto para a SPE de HPAs em amostras de efluente hospitalar empregando 20% de MeCN.



Fonte: adaptado de *Software Statistica*.

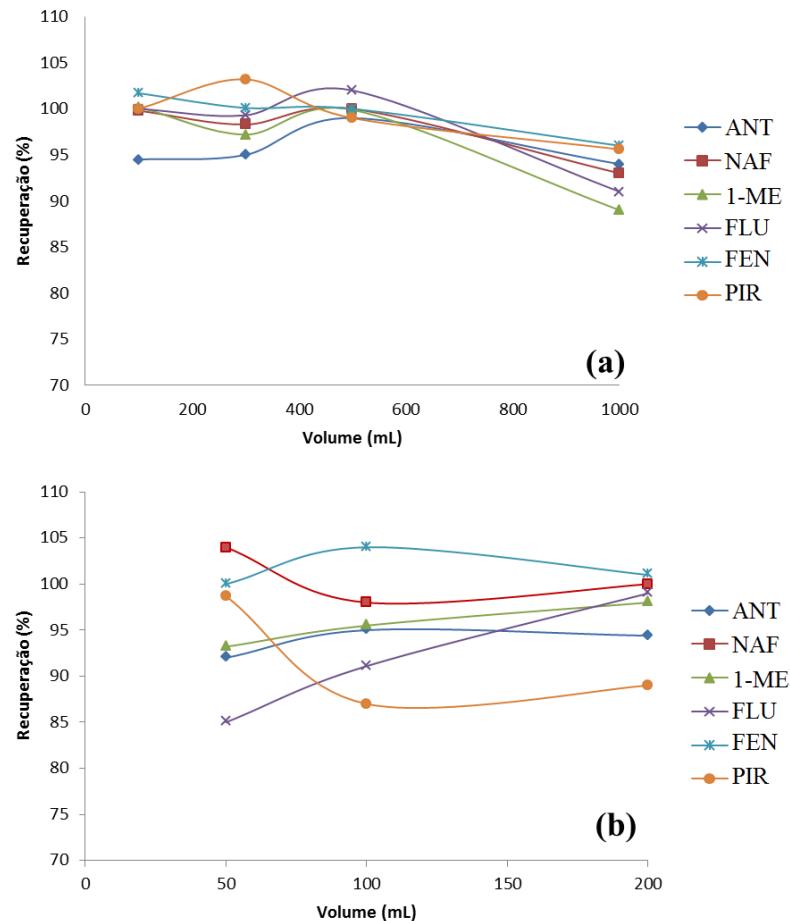
As melhores condições para a SPE de HPAs obtidas pelo planejamento fatorial foram pH da amostra e pH da água de lavagem igual a 5. Com base nos resultados dos testes prévios, empregou-se de 20% de MeCN como modificador orgânico da amostra e o mesmo como solvente foi utilizado na eluição dos HPAs para posterior análise cromatográfica por HPLC-FLD.

4.2.3.1 Efeito do volume de saturação

A estimativa do volume de saturação testa a capacidade volumétrica máxima em que o sorvente retém o analito sem grandes perdas de recuperação (HENNION, 1999). Essa avaliação, no presente estudo foi feita com diferentes concentrações dos analitos diluídos em volumes de 0 a 1000 mL para soluções aquosas e de 0 a 200 mL para o efluente hospitalar. Esse estudo teve por objetivo avaliar o volume de amostra efluente a ser usado, posteriormente, na determinação de HPAs sem apresentar grandes perdas na recuperação. A

Figura 21 apresenta os resultados da eficiência da pré-concentração de HPAs em diferentes volumes de solução aquosa e efluente hospitalar fortificado com analitos alvo.

Figura 21 – Avaliação do volume de saturação na SPE de HPAs.



(a) solução aquosa e (b) efluente hospitalar.
Fonte: elaborado pelo autor; *Microsoft Excel*.

De acordo com a Figura 21, pode-se observar que, independente do volume de amostra empregado na avaliação da pré-concentração de HPAs obteve-se altas taxas de recuperação dos analitos. Em solução aquosa, as recuperações variaram de 91 a 103%.

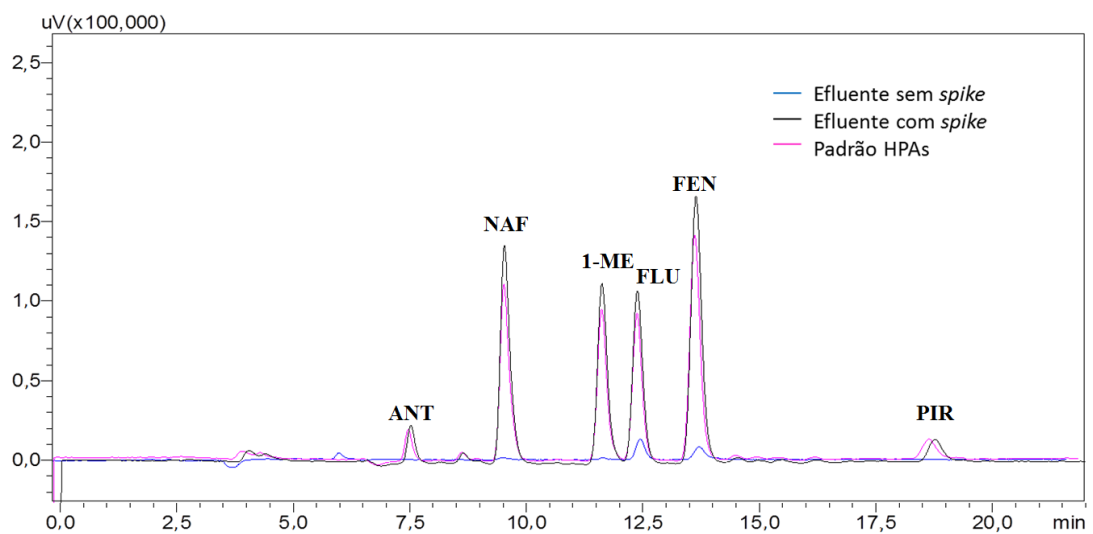
Porém, em amostras de efluentes, que apresentam uma alta carga orgânica, a avaliação do volume de saturação do cartucho de SPE torna-se mais crítica. Entretanto, para amostras de efluente hospitalar, nos diferentes volumes investigados, não foram observadas variações significativas nas taxas de recuperação de HPAs, as quais variaram de 87 a 104%.

O volume escolhido para a aplicação de SPE, com o objetivo de pré-concentrar os analitos, foi de 100 mL.

4.2.3.2 Efeito de matriz

O efeito de matriz encontrado para os HPAs ANT, NAF, 1-ME, FLU e FEN variou de 15 a 17%. Para o PIR ficou próximo de 8%. Com base nesses resultados pode-se dizer que não há efeito da matriz, pois o valor máximo permitido é de 20% (ANVISA, 2003), comparando as curvas analíticas em solvente e na matriz. Esses efeitos foram considerados no momento da quantificação dos analitos nas amostras de efluente. O cromatograma do estudo de efeito de matriz pode ser observado na Figura 22.

Figura 22 – Cromatograma da avaliação do efeito da matriz efluente hospitalar na SPE de HPAs por meio de HPLC-FLD.



Fonte: adaptado de *Software LC Solution*.

As curvas analíticas para fins de avaliação do efeito matriz podem ser observadas na Figura 23.

4.2.3.3 Figuras de mérito do método SPE-HPLC-FLD

Geralmente, poluentes orgânicos, como os HPAs, estão presentes em baixas concentrações em amostras de origem ambiental (PÉREZ-CARRERA et al., 2007), sendo indispensável o uso de uma etapa de pré-concentração (neste trabalho, 25 vezes) para a posterior determinação de HPAs em amostras de águas superficiais e de efluente hospitalar por HPLC-FLD. Na validação do método SPE-HPLC-FLD obteve-se as seguintes figuras de mérito apresentadas na Tabela 14.

Tabela 14 – Figuras de mérito do método de determinação de HPAs por SPE-HPLC-FLD

Acetonitrila					
Analito	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Equação da reta	r^{2a}	LD ^b ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ^c ($\mu\text{g L}^{-1}$)
ANT	1-7	$y = 1287,1x + 746,82$	0,999	0,3	0,9
NAF	0,2-6,2	$y = 9890,4x - 683,23$	0,999	0,07	0,21
1-ME	0,2-6,2	$y = 11628x - 1593,4$	0,999	0,05	0,15
FLU	0,2-6,2	$y = 14215x - 1731,9$	0,999	0,04	0,12
FEN	0,1-6,1	$y = 72375x - 7189,6$	0,999	0,01	0,03
PIR	4-26	$y = 628,79x - 1728,9$	0,999	1,32	3,96
Efluente					
Analito	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Equação da reta	r^{2a}	LD ^b ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ^c ($\mu\text{g L}^{-1}$)
ANT	1-7	$y = 1104x + 421,66$	0,999	0,3	0,9
NAF	0,2-6,2	$y = 8258,6x - 656,46$	0,998	0,07	0,21
1-ME	0,2-6,2	$y = 9806,7x - 1658,7$	0,998	0,05	0,15
FLU	0,2-6,2	$y = 11684x - 1462,1$	0,999	0,04	0,12
FEN	0,1-6,1	$y = 67571x - 9134$	0,996	0,01	0,03
PIR	4-26	$y = 578,48x - 1590,6$	0,999	1,32	3,96

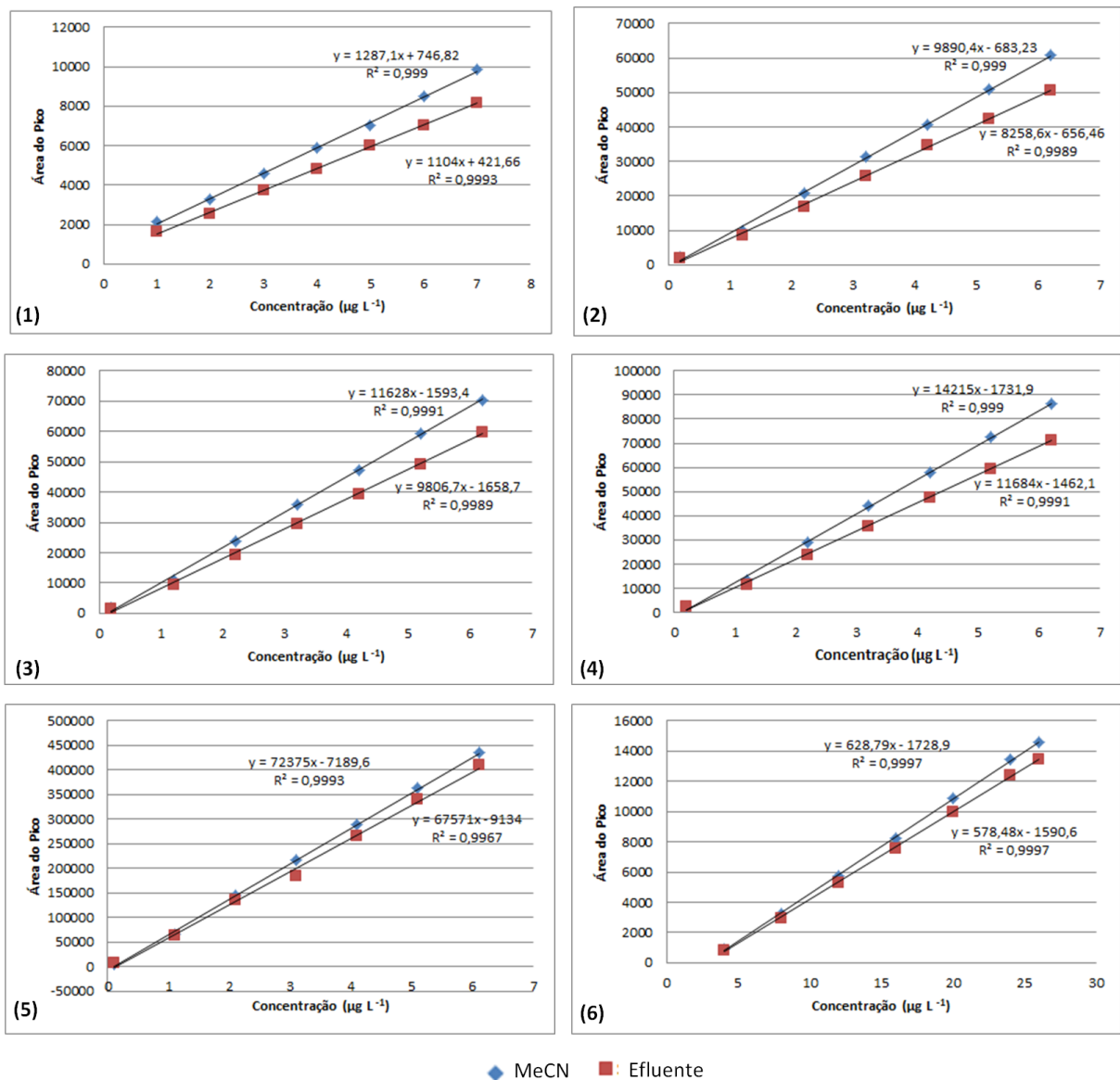
^a para 7 níveis de concentração.

^b Limite de detecção para $S/N = 3,3$ ($n=6$).

^c Limite de quantificação para $S/N = 10$ ($n=6$).

A linearidade do método foi determinada obtendo-se a equação de regressão linear, aplicação do teste de Grubbs (GRUBBS, 1969) para verificação de valores discrepantes e para verificação de homocedasticidade. As curvas analíticas para os HPAs estão apresentadas na Figura 23.

Figura 23 – Curvas analíticas para avaliação do efeito de matriz de HPAs por SPE.

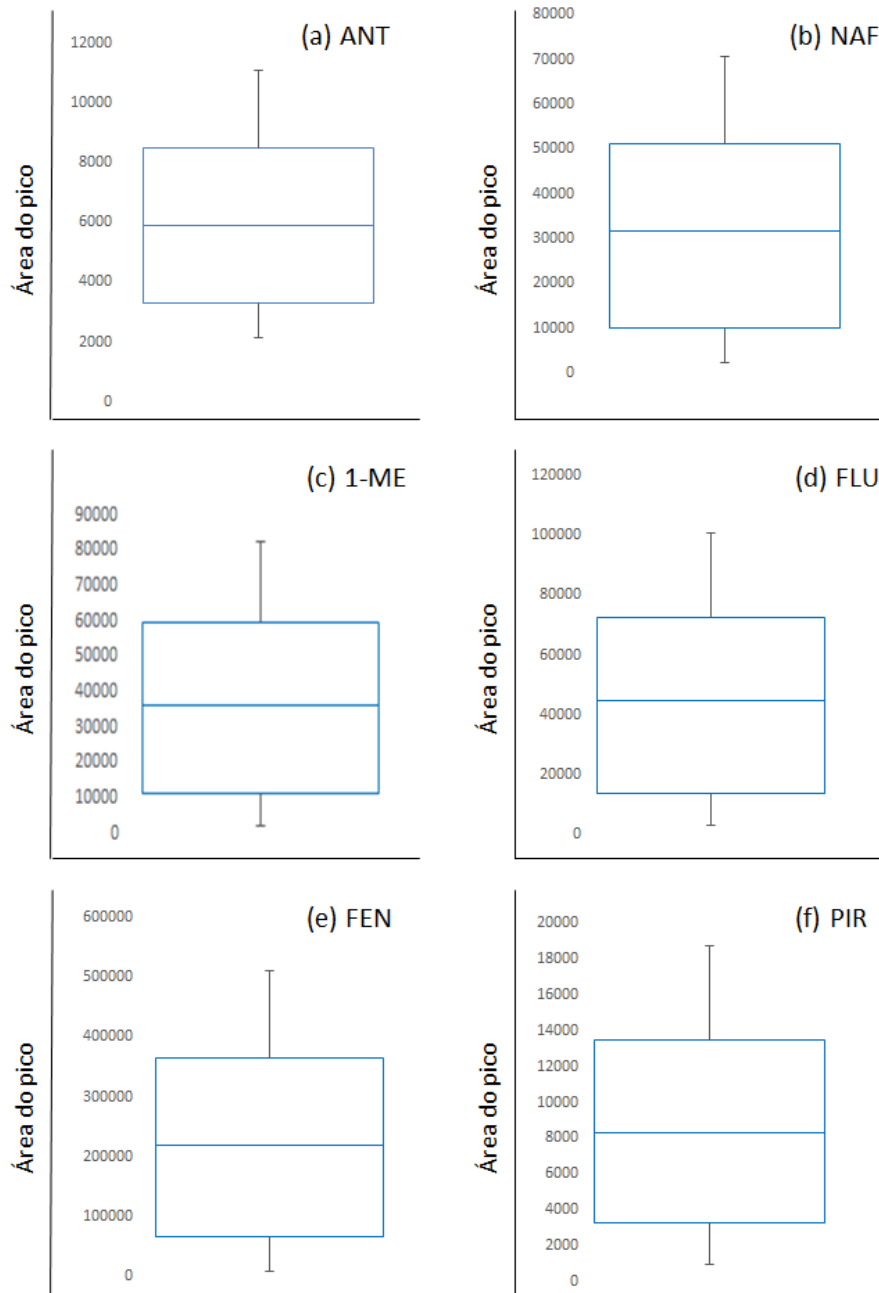


Curvas analíticas: (1) ANT, (2) NAF, (3) 1-ME, (4) FLU, (5) FEN e (6) PIR.

Fonte: elaborado pelo autor; *Microsoft Excel*.

O teste de Grubbs demonstrou a inexistência de valores discrepantes para avaliação de cada nível de concentração. A Figura 24 apresenta os gráficos Box & Whisker para a variância média determinada, em solução aquosa; que demonstra que não há a ocorrência de valores discrepantes.

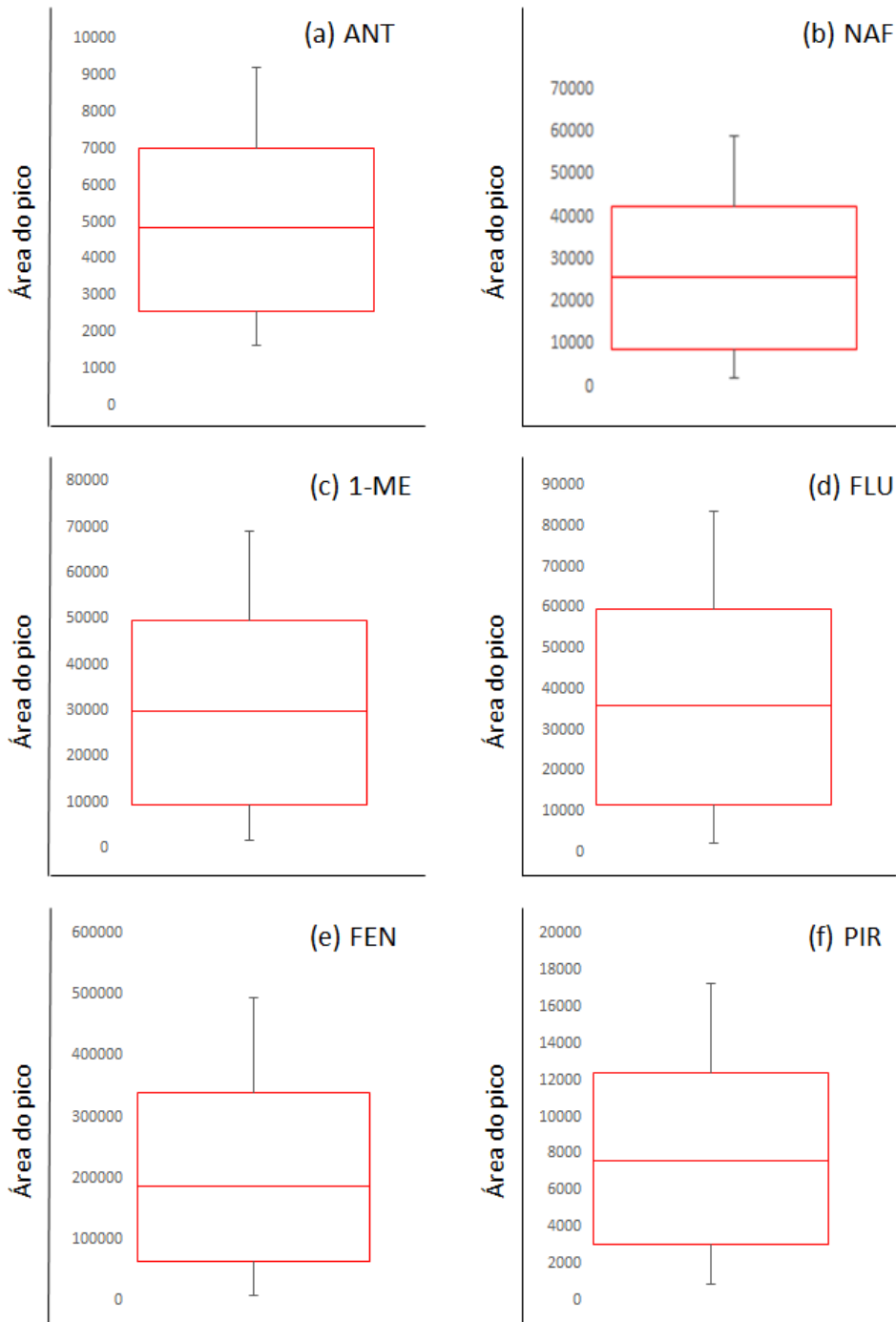
Figura 24 – Gráficos Box & Whisker para verificação de valores discrepantes da curva analítica em solução aquosa.



Fonte: elaborado pelo autor; *Microsoft Excel*.

A Figura 25 apresenta os gráficos Box & Whisker para a variância média determinada, em efluente hospitalar; que demonstra, também, que não há a ocorrência de valores discrepantes.

Figura 25 – Gráficos Box & Whisker para verificação de valores discrepantes da curva analítica em efluente hospitalar.



Fonte: elaborado pelo autor; *Microsoft Excel*.

A seletividade do método cromatográfico foi comprovada com a comparação das curvas analíticas preparadas em acetonitrila e em efluente hospitalar. Segundo RIBANI et al. (2004) deve-se comparar as duas curvas analíticas, e caso elas sejam paralelas, não há

interferência da matriz na determinação da substância de interesse, sendo, assim, o método, seletivo.

4.2.3.4 Validação da SPE de HPAs

A validação do processo de SPE de HPAs foi feita em 3 níveis de concentração compreendidos na faixa linear de cada analito (iniciando pelo LQ) e com 3 replicatas ($n = 3$). O procedimento foi repetido durante 3 dias para amostras de efluente hospitalar fortificado com concentrações conhecidas dos HPAs. Na Tabela 15, podem ser observados os resultados dos testes de recuperação para HPAs em diferentes concentrações por SPE.

Tabela 15 – Resultados de recuperação da SPE de HPAs em efluente hospitalar, em 3 níveis de concentração e 3 replicatas ($n=3$): precisão inter-dias.

Concentração	N1	N3	N7
Analito^{a±b}			
ANT% ± RSD%	96,3 ± 1,1	96,6 ± 1,7	99,8 ± 5,9
NAF% ± RSD%	98,7 ± 1,4	100,2 ± 1,7	93,3 ± 1,6
1-ME% ± RSD%	99,7 ± 0,5	99,5 ± 1,0	95,7 ± 3,0
FLU% ± RSD%	98,4 ± 3,1	96,2 ± 6,5	92,0 ± 0,2
FEN% ± RSD%	98,0 ± 3,0	99,2 ± 1,5	96,5 ± 4,8
PIR% ± RSD%	99,2 ± 4,5	97,9 ± 2,5	99,1 ± 4,4

^a recuperação média de 3 dias de validação em 3 três níveis de concentração.

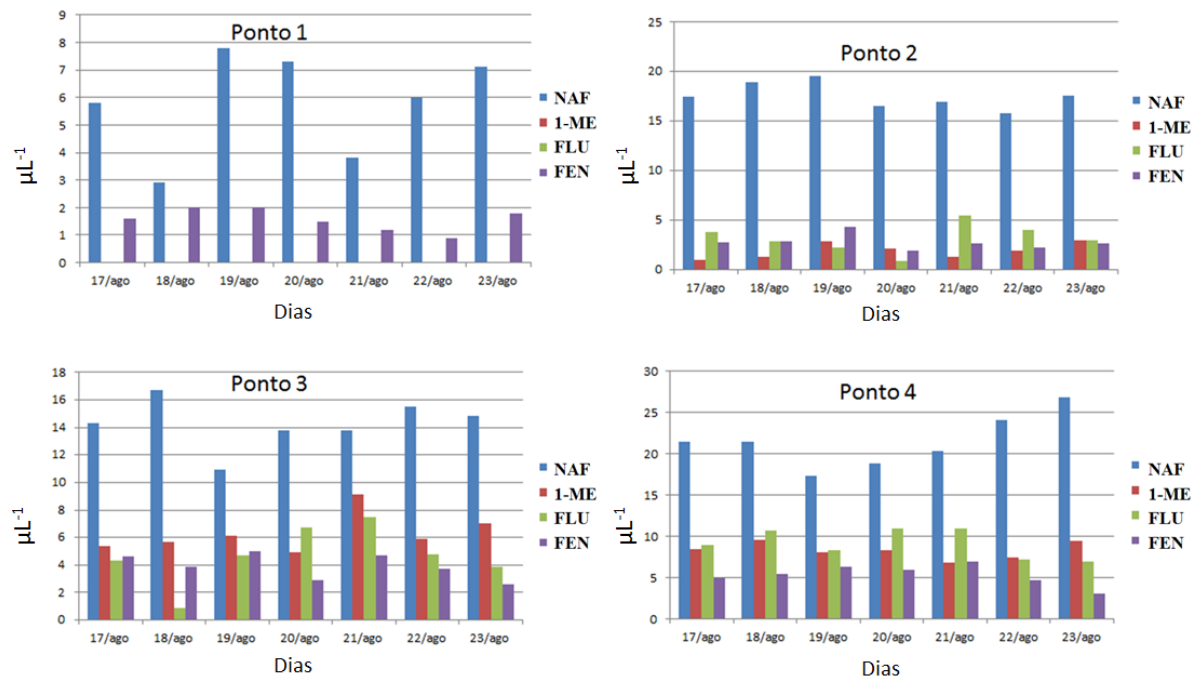
^b média do desvio padrão relativo de 3 dias de validação em 3 três níveis de concentração.

Um mínimo de 3 níveis de concentração é necessário para assegurar a confiabilidade analítica da metodologia aplicada (STÖCKL et al., 2009). Intervalos aceitáveis de recuperação para a análise de resíduos, geralmente, estão entre 70 e 120%, com precisão de até $\pm 20\%$. Porém, dependendo da complexidade analítica, este valor pode ser de 50 a 120%, com precisão de até $\pm 15\%$ (RIBANI et al., 2004).

Os resultados das taxas de recuperação para a SPE de HPAs ficaram dentro da faixa permitida. Os resultados em efluente hospitalar fortificado com os analitos variaram de 92,0 a 100,2%, com RSD de 0,2 a 5,0%. Desta forma, os resultados obtidos no presente estudo são adequados para a metodologia analítica proposta para a determinação de HPAs em amostras

de água superficial e efluente hospitalar. A Figura 26 apresenta os gráficos com as concentrações ambientais de HPAs medidas por SPE nos pontos de amostragem investigados.

Figura 26 – Concentrações ambientais medidas (MEC), em $\mu\text{g L}^{-1}$, de HPAs em amostras reais, por HPLC-FLD empregando SPE.



Fonte: elaborado pelo autor; *Microsoft Excel*.

Os analitos ANT e PIR apresentaram concentrações abaixo do LQ em todos os pontos de amostragem. Como pode-se observar, na Figura 26, 1-ME e FLU não foram identificados no Ponto 1 (antes do posto de combustíveis) em nenhum dos dias de amostragem. No Ponto 2 (após o posto de combustíveis) esses analitos foram identificados em concentrações médias de 1,9 e 3,2 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Observou-se, também, o aumento da concentração de NAF e FEN, em relação ao primeiro ponto de amostragem, enfatizando, assim, a influência do posto de combustíveis na descarga de HPAs neste ponto de amostragem.

No Ponto 3, efluente geral do HUSM, observou-se a presença de HPAs NAF, 1-ME, FEN e FLU em concentrações médias que variaram de 3,9 a 14,3 $\mu\text{g L}^{-1}$. A presença de HPAs neste ponto de amostragem provavelmente está relacionada às emissões provenientes de laboratórios do HUSM, pelo uso de solventes orgânicos; à produção de água quente pelas caldeiras da lavanderia do HUSM, as quais podem emitir óleo combustível; e ao uso de

medicamentos que contém em sua composição óleos minerais, por exemplo. Já no Ponto 4, águas superficiais do córrego que corta o Campus da UFSM, as concentrações de HPAs variaram de 5,4 a 21,5 $\mu\text{g L}^{-1}$. Este ponto de amostragem engloba o descarte do efluente geral do HUSM e dos demais pontos de coleta, justificando o aumento da concentração de HPAs, se comparado com os demais pontos de amostragem.

Há alguns estudos reportados na literatura empregando SPE para a determinação de HPAs em amostras ambientais. SIEMERS et al. (2015) investigaram a presença de NAF e ANT, por GC-MS e LC-MS/MS, em amostras de água de rio obtendo recuperações na faixa de 80-85%. As concentrações de antraceno ficaram abaixo do LQ, assim como no presente estudo. Os autores também relataram concentrações de naftaleno abaixo do LQ nas amostras investigadas.

KHALILI-FARD et al. (2012) utilizaram SPE e HPLC-UV para a quantificação dos HPAs FEN, ANT e PIR em amostras de água do mar e água residual, obtiveram recuperações na faixa de 78-108%. Para ANT as concentrações encontradas foram 0,62 e 19,01 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Para PIR, 0,42 e 10,57 $\mu\text{g L}^{-1}$, e para FEN, 0,35 e 25,50 $\mu\text{g L}^{-1}$. As concentrações apresentadas no estudo reportado, em amostras de água residual foram maiores que as do presente trabalho, em ambos os pontos de coleta de água superficial e efluente hospitalar.

SARRIA-VILLA et al. (2016) avaliaram a presença dos HPAs FLU, FEN, ANT e PIR em amostras de água empregando SPE, HPLC-UV e GC-MS, e obtiveram recuperações na faixa de 77,5-95,6%. Em alguns dos pontos de amostragem os analitos não foram detectados. Nos pontos de amostragem em que foi possível quantificar os HPAs, a concentração média de FEN encontrada foi de 0,058 $\mu\text{g L}^{-1}$, 0,3 $\mu\text{g L}^{-1}$. Para ANT e PIR, 3,7 $\mu\text{g L}^{-1}$, foi a concentração reportada.

Também, no ano atual, HIJOSA-VALSERO et al. investigaram a presença dos HPAs ANT, FLU, NAF e PIR em amostras de água empregando SPE e GC-MS. Antraceno não foi detectado, assim como no presente trabalho, e os demais analitos apresentaram concentração média de 0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ na amostra em questão.

4.2.4 Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME)

Na etapa da otimização do procedimento de DLLME foi feita a escolha da combinação de solventes extrator e dispersor. A combinação tetracloreto de carbono e acetona, na proporção 100:400 μL , respectivamente, apresentou as melhores taxas de

recuperação de HPAs em solução aquosa. As condições usadas inicialmente foram: pH 7, sem adição de NaCl, 5 mL de amostra, tempo de interação de 1 min e tempo de extração de 5 min. Os resultados dos testes prévios da DLLME de HPAs em solução aquosa são apresentados na Tabela 16.

Tabela 16 – Resultados das diferentes combinações de solventes extrator e dispersor empregados na DLLME de HPAs em solução aquosa.

Ext.	Disp.	ANT(%)	NAF(%)	1-ME(%)	FLU(%)	FEN(%)	PIR(%)
CHCl ₃	C ₃ H ₆ O	89,7 ± 7,2	81,0 ± 3,9	71,8 ± 5,1	70,2 ± 8,9	84,6 ± 9,1	64,8 ± 3,0
CCl ₄	C ₃ H ₆ O	98,0 ± 1,4	85,5 ± 7,4	89,5 ± 0,8	82,0 ± 3,4	99,0 ± 1,4	75,0 ± 7,5
CHCl ₃	CH ₃ OH	65,7 ± 12,8	60,6 ± 9,0	61,7 ± 4,3	51,8 ± 9,3	67,0 ± 2,6	49,1 ± 8,2
CCl ₄	CH ₃ OH	77,8 ± 9,1	69,3 ± 8,2	71,1 ± 2,9	65,4 ± 5,9	80,3 ± 8,8	54,8 ± 10,3
CHCl ₃	CH ₃ CN	-	-	-	-	-	-
CCl ₄	CH ₃ CN	-	-	-	-	-	-

(-) não ocorreu a formação da microgota.

Como pode-se observar na Tabela 16, nas condições que empregam clorofórmio/acetonitrila e tetracloreto de carbono/acetonitrila (solvente extrator/dispersor) não se observa a formação da microgota durante o processo de DLLME, assim que a mistura de solventes é injetada na amostra, nem mesmo após passado o tempo de interação.

Em amostras reais de efluente hospitalar e águas superficiais a combinação tetracloreto de carbono e acetona, na proporção 100:400 µL, respectivamente, também apresentou-se como condição ótima para a extração de HPAs por DLLME, empregando, também, as demais condições citadas anteriormente. Os resultados para a DLLME de HPAs em amostras reais são apresentados na Tabela 17.

Tabela 17 – Resultados das diferentes combinações de solventes extrator e dispersor empregados na DLLME de HPAs em amostras reais.

Águas superficiais							
Ext.	Disp.	ANT(%)	NAF(%)	1-ME(%)	FLU(%)	FEN(%)	PIR(%)
CHCl ₃	C ₃ H ₆ O	82,3 ± 8,0	79,4 ± 5,9	81,2 ± 7,3	78,5 ± 9,1	85,3 ± 8,5	60,2 ± 5,7
CCl ₄	C ₃ H ₆ O	90,4 ± 6,1	89,3 ± 3,2	84,6 ± 1,7	88,1 ± 0,9	89,4 ± 3,8	79,2 ± 8,5
CHCl ₃	CH ₃ OH	60,7 ± 2,8	50,2 ± 3,9	68,9 ± 5,3	59,1 ± 2,5	59,2 ± 9,4	48,3 ± 2,7
CCl ₄	CH ₃ OH	67,2 ± 1,9	60,2 ± 8,1	78,4 ± 6,5	66,1 ± 0,8	72,7 ± 3,5	60,1 ± 9,9

Tabela 17 – Resultados das diferentes combinações de solventes extrator e dispersor empregados na DLLME de HPAs em amostras reais.

(continuação)

Águas superficiais							
Ext.	Disp.	ANT(%)	NAF(%)	1-ME(%)	FLU(%)	FEN(%)	PIR(%)
CHCl ₃	CH ₃ CN	-	-	-	-	-	-
CCl ₄	CH ₃ CN	-	-	-	-	-	-
Efluente hospitalar							
CHCl ₃	C ₃ H ₆ O	80,1 ± 7,8	79,3 ± 9,8	68,2 ± 5,2	70,9 ± 3,0	81,6 ± 4,2	50,8 ± 6,3
CCl ₄	C ₃ H ₆ O	92,0 ± 6,1	90,6 ± 4,2	88,9 ± 4,3	81,7 ± 5,0	90,8 ± 2,9	76,8 ± 7,1
CHCl ₃	CH ₃ OH	70,3 ± 8,9	77,4 ± 5,6	71,9 ± 9,2	68,0 ± 2,7	79,6 ± 4,8	48,2 ± 9,5
CCl ₄	CH ₃ OH	61,5 ± 6,6	59,4 ± 4,1	60,9 ± 7,5	76,8 ± 1,4	68,1 ± 6,2	40,6 ± 8,6
CHCl ₃	CH ₃ CN	-	-	-	-	-	-
CCl ₄	CH ₃ CN	-	-	-	-	-	-

(-) não ocorreu a formação da microgota.

Na DLLME de HPAs em amostras reais, nas condições que empregam clorofórmio/acetonitrila e tetracloreto de carbono/acetonitrila (solvente extrator/dispersor) não se observa a formação da microgota durante o processo de DLLME, assim que a mistura de solventes é injetada na amostra, nem mesmo depois de passado o tempo de interação.

A combinação tetracloreto de carbono e acetona, na proporção 100:400 µL, respectivamente, apresentou as melhores taxas de recuperação de HPAs, também em amostras reais e foi empregada no processo de validação da DLLME.

Com base nos resultados dos testes prévios para a DLLME de HPAs, fez-se a otimização multivariada da técnica de microextração. Aplicou-se planejamento fatorial DCCR, com quatro variáveis independentes (pH da amostra, concentração de NaCl, volume de solvente extrator e volume de solvente dispersor), totalizando 18 experimentos. Utilizou-se 5 mL de amostra, tempo de interação de 1 min, tempo de extração de 5 min e a melhor combinação de solvente extrator e dispersor (Tetracloreto de Carbono e Acetona). A Tabela 18 apresenta a matriz de delineamento com seus 18 ensaios e a taxa de recuperação (%) de cada analito em solução aquosa.

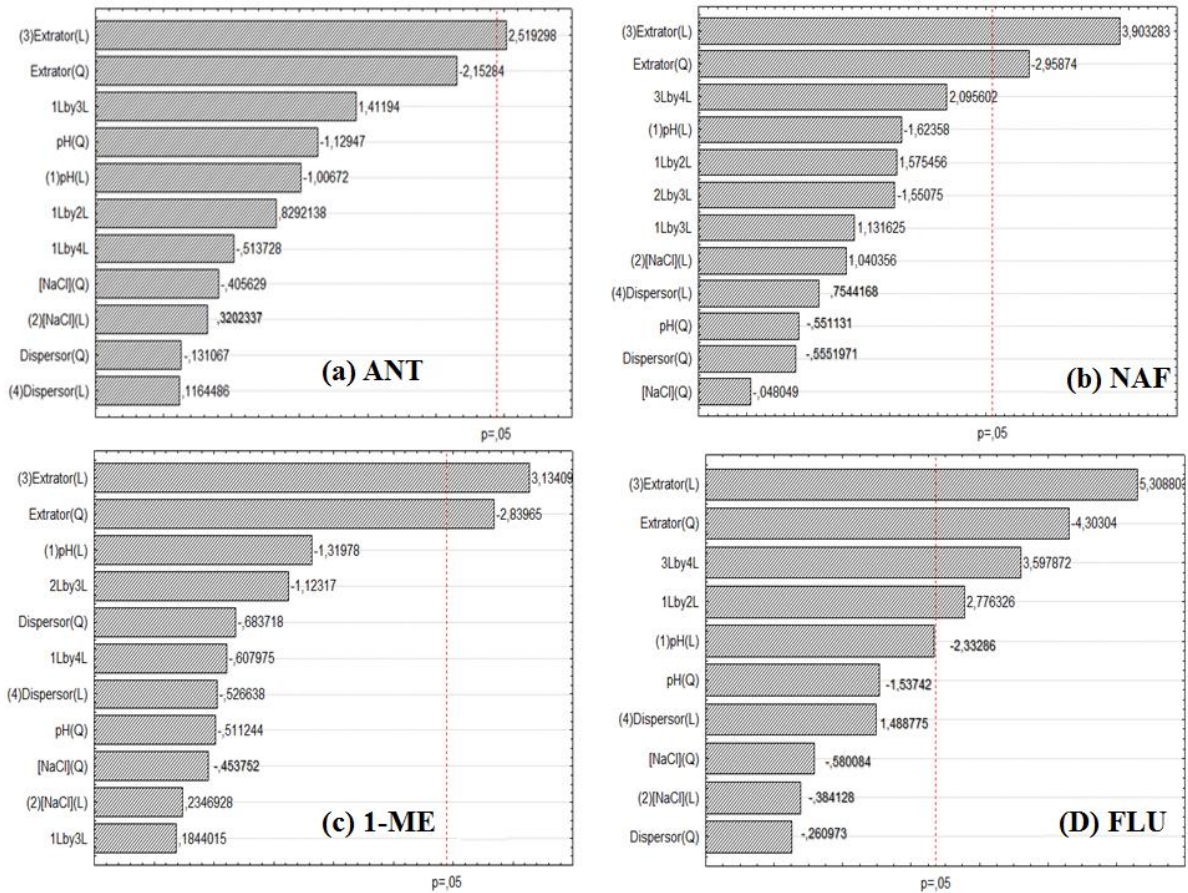
Tabela 18 – Matriz do planejamento DCCR, variáveis independentes e resultados da recuperação de HPAs em solução aquosa empregando DLLME.

Variáveis Níveis	X ₁		X ₂		X ₃		X ₄			
	pH		[NaCl] (M)		Extrator (μL)		Dispensor (μL)			
(-1,68)	3		0		30		300			
(-1)	5		0,1		50		350			
(0)	7		0,2		100		400			
(1)	9		0,3		150		450			
(1,68)	11		0,5		180		500			

Exp.	pH	[NaCl]	Extrator	Dispensor	ANT (%)	NAF (%)	1-ME (%)	FLU (%)	FEN (%)	PIR (%)
1	9 (1)	0,3 (1)	150 (1)	350 (-1)	80	75	65	55	82	40
2	9 (1)	0,3 (1)	50 (-1)	350 (-1)	79	82	79	65	88	49
3	9 (1)	0,1 (-1)	150 (1)	450 (1)	79	80	71	77	91	57
4	5 (-1)	0,3 (1)	50 (-1)	450 (1)	89	71	58	37	98	71
5	9 (1)	0,1 (-1)	50 (-1)	450 (1)	0	0	0	0	0	0
6	5 (-1)	0,1 (-1)	150 (1)	350 (-1)	80	79	81	81	98	69
7	5 (-1)	0,3 (1)	150 (1)	450 (1)	74	87	90	76	99	78
8	5 (-1)	0,1 (-1)	50 (-1)	350 (-1)	82	76	67	71	83	51
9	3 (-1,68)	0,2 (0)	100 (0)	400 (0)	70	86	89	67	94	37
10	11 (1,68)	0,2 (0)	100 (0)	400 (0)	68	71	76	49	89	51
11	7 (0)	0 (-1,68)	100 (0)	400 (0)	78	90	80	73	95	60
12	7 (0)	0,5 (1,68)	100 (0)	400 (0)	89	81	87	61	91	65
13	7 (0)	0,2 (0)	30 (-1,68)	400 (0)	0	0	0	0	0	0
14	7 (0)	0,2 (0)	180 (1,68)	400 (0)	97	90	84	64	75	70
15	7 (0)	0,2 (0)	100 (0)	300 (-1,68)	87	70	70	58	81	73
16	7 (0)	0,2 (0)	100 (0)	500 (1,68)	91	88	89	82	67	62
17	7 (0)	0,2 (0)	100 (0)	400 (0)	99	90	90	80	99	76
18	7 (0)	0,2 (0)	100 (0)	400 (0)	99	89	93	84	100	79

A Figura 27 apresenta os diagramas de Pareto para a DLLME de HPAs em solução aquosa. Dentre as variáveis independentes avaliadas por meio de planejamento de experimentos, o volume de solvente extrator mostrou-se como variável significativa para a extração de ANT, NAF, 1-ME e FLU. Os efeitos apresentados pelos diagramas de Pareto são positivos, ou seja, à medida que aumenta-se o volume de solvente extrator, do nível -1,68 ao nível 0 (de 30 para 100 μL) observa-se taxas de recuperação superiores. Para os analitos FEN e PIR, nenhuma das variáveis apresentou efeitos estatisticamente significativos ($p < 0,05$).

Figura 27 – Diagramas de Pareto para a DLLME de HPAs em solução aquosa.



Fonte: adaptado de *Software Statistica*.

Como de praxe, os parâmetros da ANOVA para o modelo foram utilizados na análise estatística. Para a DLLME de NAF, em solução aquosa, a verificação do modelo que melhor se ajusta aos resultados foi feita pela determinação do R^2 (coeficiente de determinação do modelo). Este foi calculado em 0,91, podendo-se dizer que 91% da variação total em torno da média é explicada pela regressão. Para a DLLME dos demais analitos o coeficiente de determinação do modelo variou de 0,75–0,88.

As melhores condições para a extração de HPAs por DLLME em solução aquosa foram apresentadas nos experimentos 17 e 18 do planejamento fatorial, ou seja, o ponto central: pH 7, adição de $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl, $100 \mu\text{L}$ de solvente extrator (tetracloreto de carbono) e $500 \mu\text{L}$ de solvente dispensor (acetona). Nessas condições, as recuperações dos HPAs variaram de 76 a 99%.

A Tabela 19 apresenta a matriz de delineamento com seus 18 ensaios e a taxa de recuperação (%) de cada analito em efluente hospitalar, como exemplo de amostra complexa,

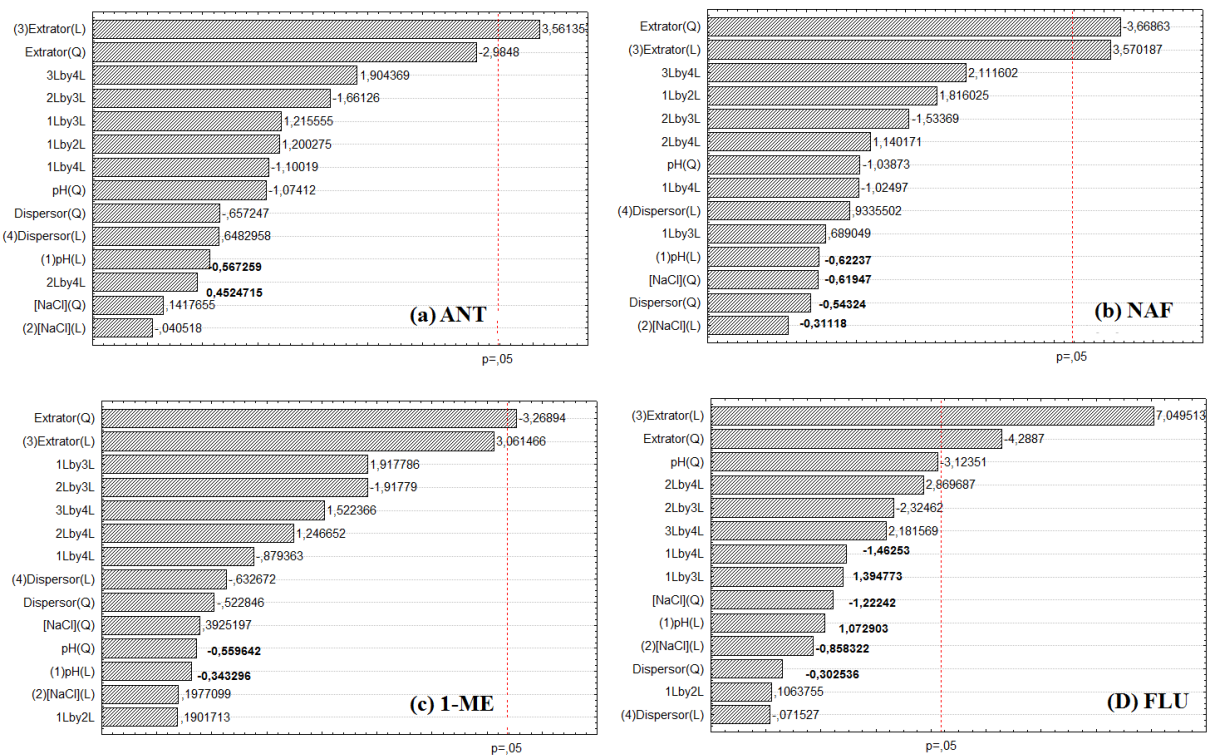
utilizando-se 5 mL de amostra, tempo de interação de 1 min, tempo de extração de 5 min e a melhor combinação de solvente extrator e dispersor (Tetracloroeto de Carbono e Acetona).

Tabela 19 – Matriz do planejamento DCCR, variáveis independentes e resultados da recuperação de HPAs em efluente hospitalar empregando DLLME.

Variáveis Níveis		X ₁		X ₂		X ₃		X ₄		
		pH		[NaCl] (M)		Extrator (µL)		Dispersor (µL)		
(-1,68)		3		0		30		300		
(-1)		5		0,1		50		350		
(0)		7		0,2		100		400		
(1)		9		0,3		150		450		
(1,68)		11		0,5		180		500		
Exp.	pH	[NaCl]	Extrator	Dispersor	ANT (%)	NAF (%)	1-ME (%)	FLU (%)	FEN (%)	PIR (%)
1	9 (1)	0,3 (1)	150 (1)	350 (-1)	79	69	60	62	81	51
2	9 (1)	0,3 (1)	50 (-1)	350 (-1)	79	78	74	71	77	42
3	9 (1)	0,1 (-1)	150 (1)	450 (1)	82	79	68	67	91	72
4	5 (-1)	0,3 (1)	50 (-1)	450 (1)	89	73	67	40	98	57
5	9 (1)	0,1 (-1)	50 (-1)	450 (1)	0	0	0	0	0	0
6	5 (-1)	0,1 (-1)	150 (1)	350 (-1)	78	71	84	78	90	71
7	5 (-1)	0,3 (1)	150 (1)	450 (1)	78	81	85	66	92	77
8	5 (-1)	0,1 (-1)	50 (-1)	350 (-1)	82	69	79	81	86	49
9	3 (-1,68)	0,2 (0)	100 (0)	400 (0)	72	79	81	76	90	42
10	11 (1,68)	0,2 (0)	100 (0)	400 (0)	78	65	67	50	82	57
11	7 (0)	0 (-1,68)	100 (0)	400 (0)	82	90	83	71	84	71
12	7 (0)	0,5 (1,68)	100 (0)	400 (0)	75	89	76	68	89	59
13	7 (0)	0,2 (0)	30 (-1,68)	400 (0)	0	0	0	0	0	0
14	7 (0)	0,2 (0)	180 (1,68)	400 (0)	82	89	79	66	65	80
15	7 (0)	0,2 (0)	100 (0)	300 (-1,68)	87	70	70	58	81	73
16	7 (0)	0,2 (0)	100 (0)	500 (1,68)	90	86	91	80	65	72
17	7 (0)	0,2 (0)	100 (0)	400 (0)	90	91	89	87	100	77
18	7 (0)	0,2 (0)	100 (0)	400 (0)	89	86	97	81	92	81

A Figura 28 apresenta os diagramas de Pareto para a DLLME de HPAs em efluente hospitalar. Dentre as variáveis independentes avaliadas por meio de planejamento de experimentos, o volume de solvente extrator mostrou-se como variável significativa para a extração de NAF, 1-ME, FLU, FEN e PIR. Os efeitos apresentados pelos diagramas de Pareto são positivos, para ANT e FLU, ou seja, para esses analitos, à medida que aumenta-se o volume de solvente extrator, do nível -1,68 ao nível 0 (de 30 para 100 µL) observa-se taxas de recuperação superiores. Para os analitos FEN e PIR, em amostras de efluente, nenhuma das variáveis apresentou efeitos estatisticamente significativos ($p < 0,05$), assim como observado em solução aquosa.

Figura 28 – Diagramas de Pareto para a DLLME de HPAs em efluente hospitalar.



Fonte: adaptado de *Software Statistica*.

Mais uma vez, os parâmetros da ANOVA para o modelo foram utilizados na análise estatística. Para a DLLME dos HPAs em efluente hospitalar os coeficientes de determinação do modelo (R^2) variaram de 0,92 a 0,97, podendo-se dizer que 92-97% da variação total em torno da média é explicada pela regressão.

Tanto em solução aquosa (Tabela 18) quanto em amostras reais de efluente hospitalar (Tabela 19), nos experimentos 5 e 13, a recuperação de HPAs por DLLME foi igual a zero, pois não houve a formação da microgota durante o processo de extração, fato este que, possivelmente, esta associado ao uso de menores volume de solvente extrator dentre os investigados, uma vez que o volume do solvente extrator na DLLME deve ser suficiente para extrair o analito.

As melhores condições para a extração de HPAs por DLLME em efluente hospitalar, assim como em solução aquosa, foram às apresentadas nos experimentos 17 e 18 do planejamento fatorial, ou seja, o ponto central: pH 7, adição de $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl, $100 \mu\text{L}$ de solvente extrator (tetracloreto de carbono) e $400 \mu\text{L}$ de solvente dispensor (acetona). Nessas condições, as recuperações dos analitos variaram de 77 a 100%. As mesmas condições

foram aplicadas na determinação de HPAs, também, em amostras de águas superficiais, após a metodologia ser validada.

4.2.4.1 Efeito das variáveis

Como mencionado anteriormente, a DLLME é influenciada por diversos fatores, assim, para a otimização do método, efetuou-se a avaliação de quatro variáveis de maior significância: pH da amostra, força iônica, volume de solvente extrator e volume de solvente dispersor.

Na extração de compostos orgânicos em águas, os solventes extratores mais utilizados são os clorados. A escolha do solvente extrator é o parâmetro mais importante na aplicação da DLLME (CALDAS et al., 2011). Tetracloreto de carbono foi selecionado como solvente extrator na DLLME de HPAs pois o emprego deste solvente e, também de clorofórmio, combinado com acetonitrila (solvente dispersor) não promoveu a formação da microgota, como dito anteriormente. Além do mais, o uso de tetracloreto de carbono foi considerado por apresentar maior densidade que a água, capacidade de extração dos compostos de interesse com taxas de recuperação satisfatórias e bom comportamento durante a análise cromatográfica por HPLC-FLD.

Empregou-se 100 µL de solvente extrator, volume intermediário entre os investigados no planejamento e experimentos e, suficiente para extrair os analitos de interesse. Nesta condição obteve-se um alto fator de enriquecimento, enfatizando menor uso de solventes tóxicos (MARTINS et al., 2012).

Acetona foi utilizada como solvente dispersor, considerando a sua miscibilidade na fase orgânica (solvente extrator) e na fase aquosa. Isto limitou o uso de acetonitrila com solvente dispersor na extração de HPAs. A acetonitrila combinada com os extratores investigados no presente estudo não promoveu a formação da fase sedimentada, como já relatado. Desta forma, variação do volume de solvente dispersor influencia diretamente no volume de fase sedimentada, então, deve-se considerar a influência do solvente dispersor na eficiência da extração (MARTINS et al., 2012).

O uso de NaCl foi investigado para avaliar o efeito da força iônica na extração de HPAs por DLLME, fator este que influencia na separação das fases. O uso de 0,2 M de NaCl, se comparado com concentrações inferiores e até a ausência da adição deste sal, promoveu o aumento do volume de fase sedimentada, isto se deve à diminuição da solubilidade do solvente extrator na presença de NaCl (CALDAS et al., 2011; MARTINS et al., 2012).

O pH, é outro parâmetro que foi levado em consideração e as melhores taxas de recuperação foram apresentadas em pH neutro.

4.2.4.2 Validação da DLLME de HPAs

A validação do processo de DLLME de HPAs foi feita em 3 níveis de concentração compreendidos na faixa linear de cada analito (iniciando pelo LQ) e com 6 replicatas ($n = 6$). O procedimento foi repetido durante 3 dias para amostras efluente hospitalar e águas superficiais, fortificadas com concentrações conhecidas dos HPAs. Na Tabela 20 podem ser observados os resultados dos testes de recuperação para HPAs em diferentes concentrações por DLLME.

Tabela 20 – Resultados de recuperação da DLLME de HPAs em águas superficiais e efluente hospitalar, em 3 níveis de concentração e 6 replicatas ($n=6$): precisão inter-dias.

Concentração	N1	N3	N7
Analito^{a+b}			
Águas superficiais			
ANT% ± RSD%	90,7 ± 4,8	89,0 ± 6,3	87,3 ± 3,9
NAF% ± RSD%	86,1 ± 8,4	91,7 ± 1,9	90,2 ± 6,4
1-ME% ± RSD%	96,2 ± 3,9	97,1 ± 8,6	89,3 ± 0,9
FLU% ± RSD%	87,8 ± 1,7	81,9 ± 3,1	80,2 ± 7,5
FEN% ± RSD%	99,7 ± 4,0	92,5 ± 3,4	100,6 ± 8,1
PIR% ± RSD%	77,2 ± 2,5	80,9 ± 8,9	78,3 ± 10,2
Efluente hospitalar			
ANT% ± RSD%	80,2 ± 5,1	90,3 ± 7,6	92,9 ± 2,7
NAF% ± RSD%	90,7 ± 6,3	98,0 ± 2,0	89,1 ± 2,5
1-ME% ± RSD%	97,3,2 ± 2,1	94,8 ± 6,1	91,9 ± 8,3
FLU% ± RSD%	79,0 ± 5,6	88,1 ± 7,5	80,0 ± 8,2
FEN% ± RSD%	100,3 ± 7,4	89,1 ± 2,0	79,9 ± 3,9
PIR% ± RSD%	79,2 ± 1,9	78,3 ± 5,8	72,7 ± 8,9

^a recuperação média de 3 dias de validação em 3 três níveis de concentração.

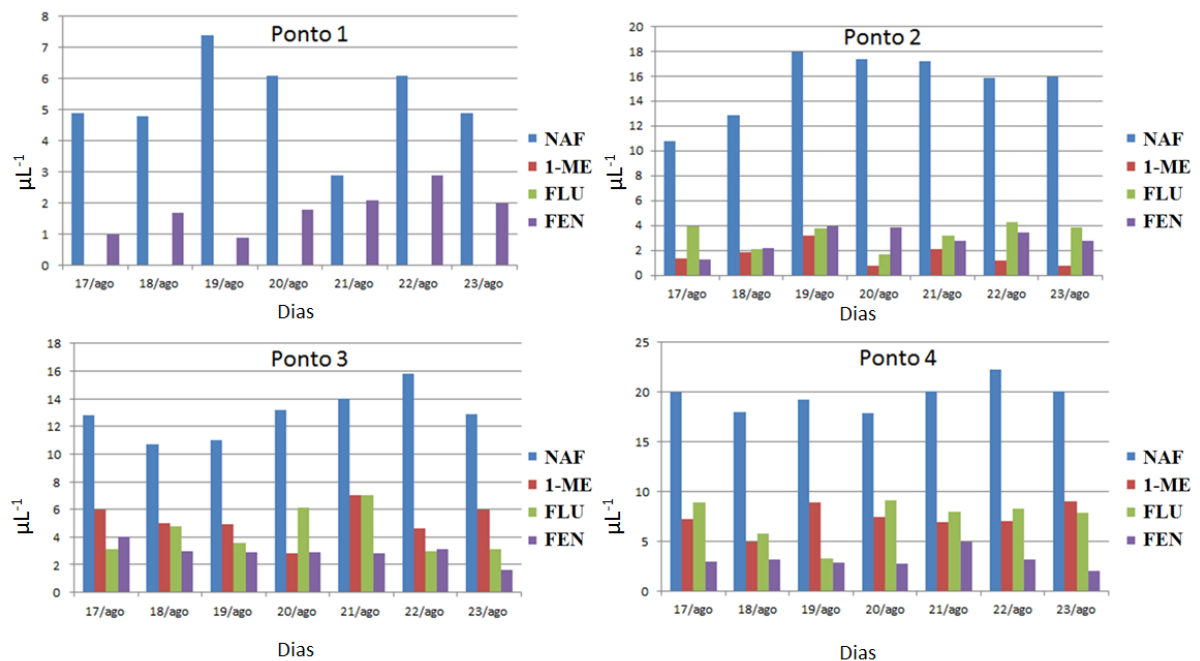
^b média do desvio padrão relativo de 3 dias de validação em 3 três níveis de concentração.

Um mínimo de 3 níveis de concentração é necessário para assegurar a confiabilidade analítica da metodologia aplicada (STÖCKL et al., 2009). Intervalos aceitáveis de

recuperação para a análise de resíduos, geralmente, estão entre 70 e 120%, com precisão de até $\pm 20\%$. Porém, dependendo da complexidade analítica, este valor pode ser de 50 a 120%, com precisão de até $\pm 15\%$ (RIBANI et al., 2004).

Os resultados das taxas de recuperação para a DLLME de HPAs ficaram dentro da faixa permitida. Os resultados em águas superficiais variaram de 77,2 a 100,6 com RSD de 0,9 a 10,2%. Já os resultados em efluente hospitalar fortificado com os analitos variaram de 72,7 a 100,3%, com RSD de 1,9 a 8,9%. Desta forma, os resultados obtidos no presente estudo são adequados para a metodologia analítica proposta para a determinação de HPAs em amostras de água superficial e efluente hospitalar empregando DLLME. A Figura 29 apresenta os gráficos com as concentrações ambientais de HPAs medidas por DLLME nos pontos de amostragem investigados.

Figura 29 – Concentrações ambientais medidas (MEC), em $\mu\text{g L}^{-1}$, de HPAs em amostras reais, por HPLC-FLD empregando DLLME.



Fonte: elaborado pelo autor; *Microsoft Excel*.

Na DLLME, assim como por SPE, ANT e PIR apresentaram concentrações abaixo do LQ em todos os pontos de amostragem. Como pode-se observar, na Figura 29, 1-ME e FLU não foram identificados no Ponto 1 (antes do posto de combustíveis) em nenhum dos dias de amostragem. No Ponto 2 (após o posto de combustíveis) esses analitos foram identificados em

concentrações médias de 1,6 e 3,3 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Observou-se, também, o aumento da concentração de NAF e FEN, em relação ao primeiro ponto de amostragem, enfatizando, assim, a influência do posto de combustíveis na descarga de HPAs neste ponto de amostragem.

No Ponto 3, efluente geral do HUSM, observou-se a presença de HPAs NAF, 1-ME, FEN e FLU em concentrações médias que variaram de 2,9 a 12,9 $\mu\text{g L}^{-1}$. A presença de HPAs neste ponto de amostragem provavelmente está relacionada às emissões provenientes de laboratórios do HUSM, pelo uso de solventes orgânicos; à produção de água quente pelas caldeiras da lavanderia do HUSM, as quais podem emitir óleo combustível; e ao uso de medicamentos que contém em sua composição óleos minerais, por exemplo. Já no Ponto 4, águas superficiais do córrego que corta o Campus da UFSM, as concentrações de HPAs variaram de 3,2 a 19,7 $\mu\text{g L}^{-1}$. Este ponto de amostragem engloba o descarte do efluente geral do HUSM e dos demais pontos de coleta, justificando o aumento da concentração de HPAs, se comparado com os demais pontos de coleta.

Outro fator levado em consideração para a presença de HPAs nas amostras em questão pode estar associada ao uso de solventes orgânicos nos laboratórios de pesquisa da UFSM, também, ao excesso de automóveis que circulam diariamente pelo Campus (combustão incompleta de combustíveis).

Há poucos relatos na literatura abordando o estudo de HPAs por DLLME em amostras ambientais, enfatizando a importância do presente trabalho. REZAEI et al. (2006), quando introduziram a técnica de microextração DLLME, investigaram a extração de HPAs alvo do presente estudo (NAF, ANT, FLU, PIR e FEN) em águas superficiais e também, a presença de pesticidas e compostos benzênicos, empregando cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC-FID). Para os HPAs, as taxas de recuperação variaram de 60,3-104,6%.

Em 2009, XU et al. determinaram HPAs (NAF, ANT e FLU) por DLLME e cromatografia líquida em amostras de água, apresentando recuperações de 88 a 118%. As concentrações dos HPAs determinadas nas amostras reais foram: 0,5, 4,6, 4,4 ng L^{-1} , respectivamente. Já, TSENG et al. (2014) empregaram DLLME e GC-MS para a investigação de HPAs (FLU e FEN) em amostras de água apresentando recuperações na faixa de 84-113%.

4.3 Avaliação de risco

Devido as diferentes massas moleculares, os HPAs apresentam variação de comportamento, distribuição no meio ambiente e efeitos sobre a biota. Os HPAs são compostos não polares e de alta lipofilicidade, persistência no meio ambiente e genotoxicidade, que aumentam com o aumento da sua massa molecular (AUDEBERT et al., 2012; ZHANG et al., 2012-c).

Uma propriedade importante no estudo de HPAs, assim como de outros compostos orgânicos é o coeficiente de partição octanol-água ($\log K_{ow}$) (SEIEDEH et al., 2011). Os HPAs apresentam alto $\log K_{ow}$, sendo assim, grande atividade lipofílica, dificultando a degradação microbiológica, limitada pela quantidade de substância dissolvida na água. O $\log K_{ow}$ é a forma mais usual de expressar tal propriedade e quanto maior o seu valor, mais hidrofóbica é a substância (BEYER et al., 2010; SCHRÖDER et al., 2010; ZHANG et al., 2012-c).

Substâncias com $\log K_{ow}$ 4,5 ou superior, como os HPAs antraceno, fenantreno e pireno, são classificadas como substâncias de risco, devido à fácil bioacumulação. Sendo que $\log K_{ow} > 3$ já é um indicativo deste potencial de bioacumulação dos HPAs no meio ambiente.

Levando em consideração as concentrações de HPAs encontradas em amostras de águas superficiais (maiores que nos demais pontos de amostragem) calculou-se o quociente de risco ambiental (QR) (Tabela 21).

Tabela 21 – Avaliação de risco ambiental dos HPAs.

Analito	$\log K_{ow}$	MEC ($\mu\text{g L}^{-1}$)^a	PNEC^b	QR^c
ANT	4,54	<LQ	0,0028	>10
NAF	3,37	21,5	2,4	>1
1-ME	3,87	8,3	8,3	>1
FLU	4,18	9,1	0,25	>10
FEN	4,57	5,4	1,8	>1
PIR	5,18	<LQ	0,04	>10

^a Concentração média medida em águas superficiais (Ponto 4).

^b Concentração predita que não causa efeito. Valores encontrados na literatura.

^c Quociente de risco (MEC/PNEC).

NAF, 1-ME e FEN, $QR > 1$, apresentaram risco ambiental moderado como pode ser observado na Tabela 21. Para ANT e PIR, analitos que foram detectados nas amostras investigadas, porém não quantificados ($<LQ$) o QR foi calculado levando em consideração o LD de cada analito (ver Tabela 9). Desta forma, para FLU, ANT e PIR, $QR > 10$, indicando alto risco e enfatizando a preocupação da presença destes HPAs, classificados como mutagênicos e carcinogênicos.

4.4 Aplicação de PAOs

4.4.1 Fotocatálise heterogênea

A fotocatálise heterogênea aplicada ao tratamento de águas e efluentes apresenta desvantagens quando se faz uso de catalisadores em suspensão. A remoção do catalisador da solução necessita de uma etapa de micro-filtração para a posterior análise cromatográfica da degradação dos analitos. Além do mais, o catalisador em suspensão pode dificultar a penetração da radiação em meio turvo, que contém uma fina suspensão de partículas (TIBURTIUS et al., 2004), como por exemplo, na matriz efluente hospitalar, um dos alvos desse estudo.

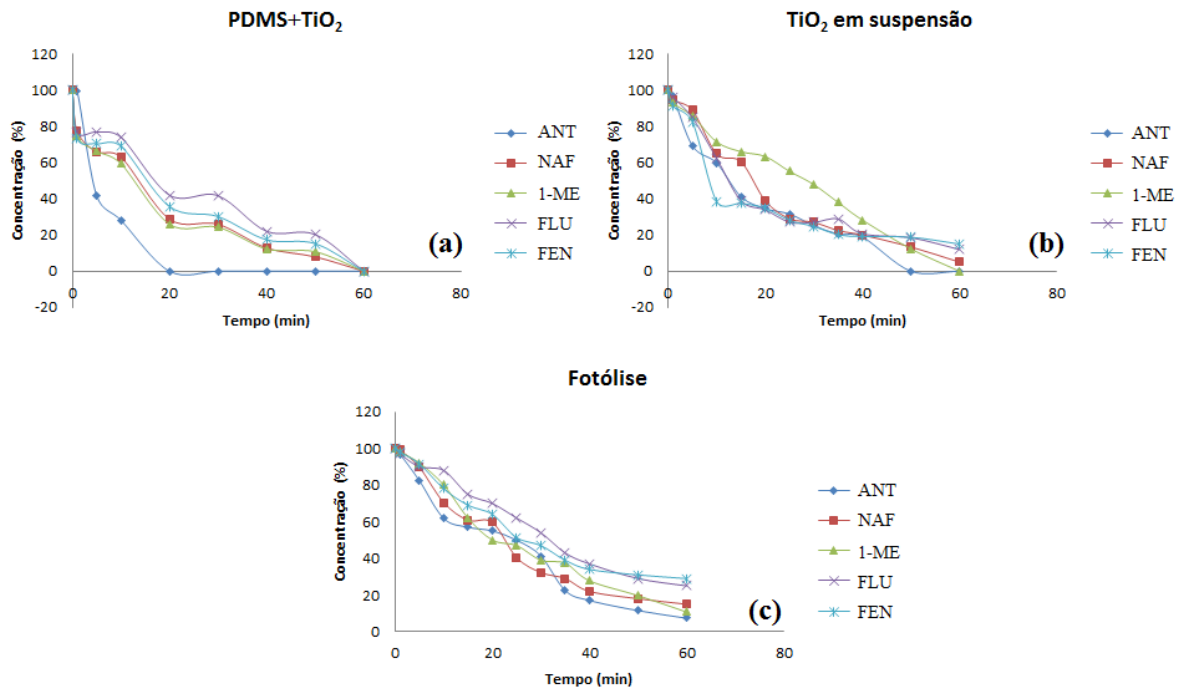
Por estes motivos, DA SILVA (2012), realizou um estudo voltado para uso de catalisadores suportados em materiais poliméricos (PDMS e PU). Neste trabalho, investigou-se a degradação de hidrocarbonetos monoaromáticos, BTEX, em solução aquosa e em efluente hospitalar aplicando fotocatálise heterogênea, enfatizando o preparo e a aplicação de barras poliméricas com TiO_2 . Testes iniciais evidenciaram a maior eficiência do uso do catalisador imobilizado em polímeros frente ao uso de TiO_2 em suspensão. A otimização fotocatalítica foi feita por meio de planejamento fatorial fracionado (3^{3-1}) e as melhores condições foram: 20 °C, pH 9 e o emprego de TiO_2 imobilizado em PDMS (DA SILVA, 2012).

Neste contexto, as barras de PDMS+ TiO_2 , também, foram aplicadas para avaliar a degradação fotocatalítica de HPAs em solução aquosa, amostras de águas superficiais e efluente hospitalar. Experimentos prévios foram realizados nas condições intermediárias do planejamento fatorial aplicado por DA SILVA, 2012, pH 7 e 30 °C de temperatura.

A fim de avaliar a eficiência das barras de PDMS+ TiO_2 na degradação fotocatalítica dos HPAs em estudo, fez-se a comparação do uso de TiO_2 em suspensão e apenas da radiação UV (fotólise direta). Os resultados, em solução aquosa, mostraram que o uso das barras de

PDMS+TiO₂, mostraram-se mais eficientes do que o uso do fotocatalisador em suspensão e do que o emprego de fotólise direta, como pode ser observado na Figura 30.

Figura 30– Degradação de HPAs, em solução aquosa, por fotocatalise heterogênea.



(a)TiO₂ imobilizado em PDMS, (b) TiO₂ em suspensão e (c) por meio de fotólise. Condições empregadas: pH 7, 30 °C e 5% de MeCN.

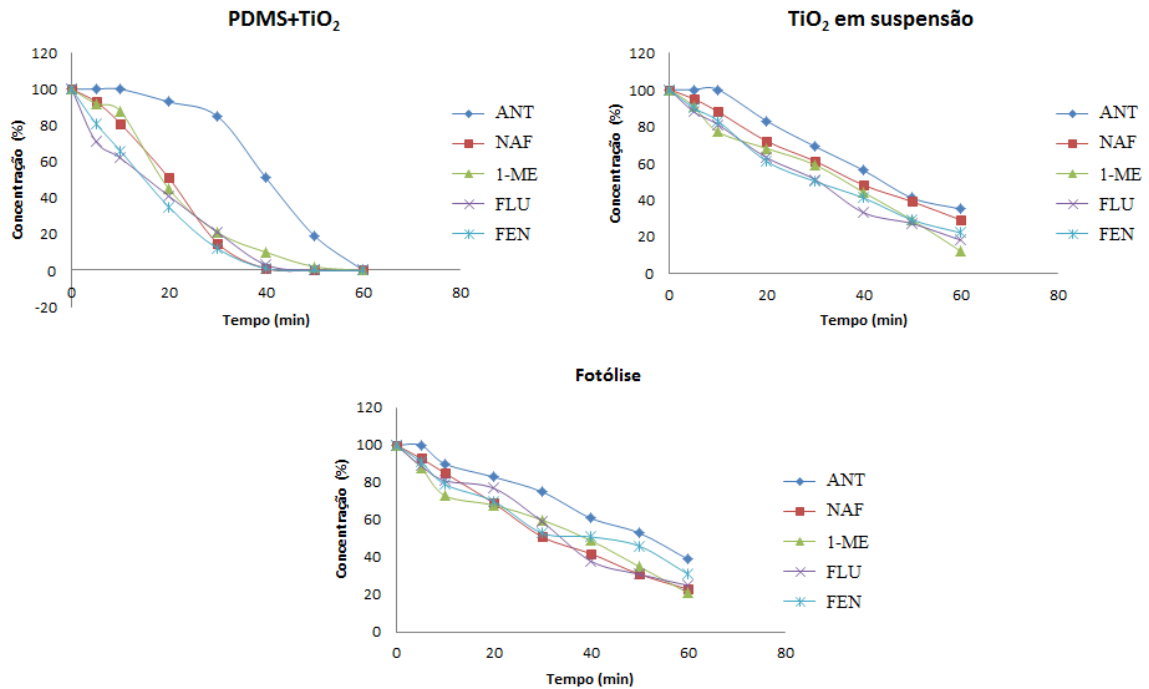
Fonte: elaborado pelo autor; *Microsoft Excel*.

De acordo com a Figura 30-a, pode-se observar que empregando TiO₂ imobilizado em PDMS em 60 min tem-se a degradação de todos os HPAs abaixo do LD do método cromatográfico. Já com o uso do catalisador em suspensão (Figura 30-b) apenas ANT e 1-ME são degradados completamente em 60 min de reação. Empregando a fotólise (Figura 30-c) direta, nenhum dos HPAs em estudo são degradados totalmente neste tempo reacional, restando de 7-29% da concentração inicial dos analitos.

Para amostras de efluente hospitalar, o emprego de PDMS+TiO₂ também apresentou maior eficiência que a fotólise simples e o uso do catalisador em suspensão, como pode ser observado na Figura 31. O mesmo comportamento foi observado para as amostras de água superficial. A fotocatalise heterogênea, com a ação das barras poliméricas com TiO₂ suportado mostrou-se mais eficiente se comparado com o uso do catalisador em suspensão e

apenas do processo de fotólise simples. Neste contexto, induzem maior formação de radicais (hidroxil), proporcionando a completa fotodegradação de HPAs nas amostras investigadas.

Figura 31 – Degradação de HPAs, em efluente hospitalar, por fotocatalise heterogênea.

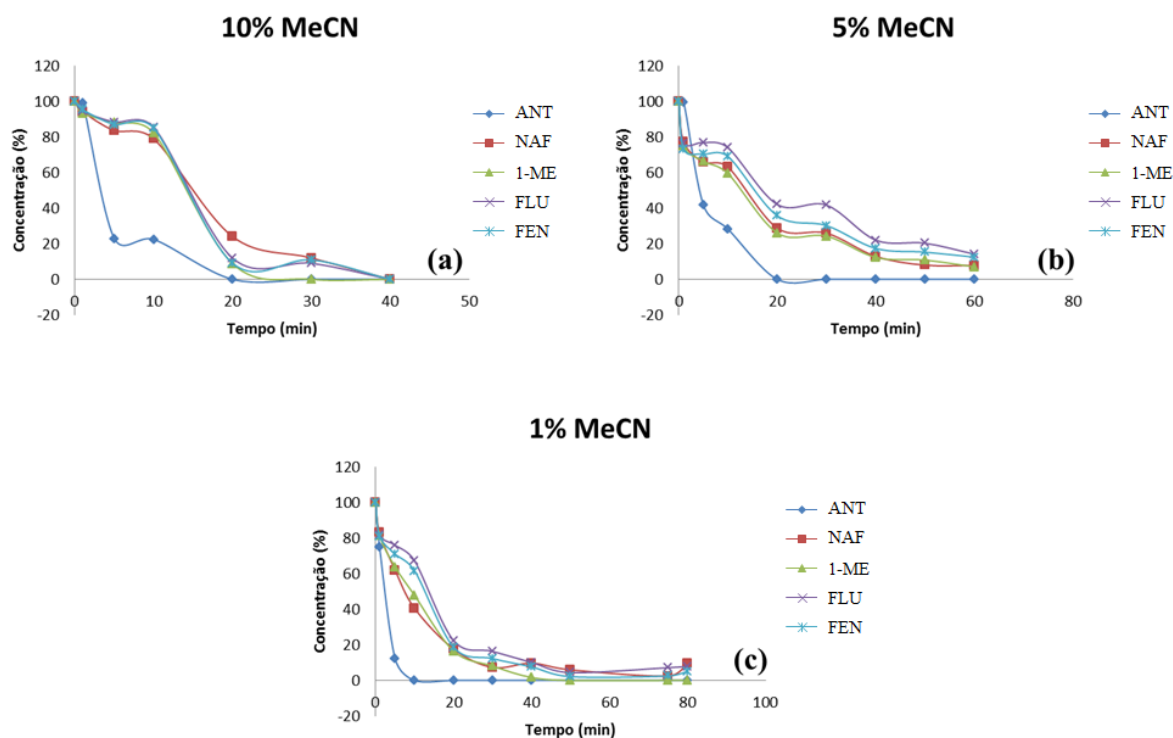


(a)TiO₂ immobilizado em PDMS, (b) TiO₂ em suspensão e (c) por meio de fotólise. Condições empregadas: pH 7, 30 °C e 10% de MeCN.

Fonte: elaborado pelo autor; *Microsoft Excel*.

Devido à baixa solubilidade dos HPAs fez-se necessário o uso de MeCN, como modificador orgânico, adicionada à solução de HPAs submetida ao processo de fotocatalise heterogênea. Foram testados a adição de 0, 1, 5 e 10% de MeCN. Os resultados podem ser observados na Figura 32.

Figura 32– Degradação de HPAs, em solução aquosa, por fotocatalise heterogênea com uso de TiO_2 imobilizado em PDMS avaliando a adição de MeCN.



(a)10%, (b) 5% e (c)1%. Condições empregadas: pH 7 e 30 °C.
Fonte: elaborado pelo autor; *Microsoft Excel*.

De acordo com os gráficos da Figura 32, as melhores condições foram obtidas empregando 10% de MeCN na solução de HPAs para os estudos de degradação. Uma vez que a capacidade do reator é de 750 mL, o volume de MeCN empregado teria que ser 75 mL. Com objetivo de reduzir o uso de solventes orgânicos, optou-se por empregar 5% de MeCN, sendo que nesta condição observou-se a degradação dos HPAs, até concentrações abaixo do LD do método cromatográfico, em 60 min de irradiação. Usando 1% de MeCN, os analitos foram degradados completamente em 80 min de reação, porém ocorreu perda dos mesmos antes da aplicação do processo, devido à baixa solubilidade dos HPAs.

WOO et al. (2009) são exemplo de uso de modificador orgânico na investigação da degradação fotocatalítica de NAF, FEN e ANT, usando TiO_2 . Estes autores avaliaram a adição de acetona (1 e 16%) e verificaram que a adição de 16% de acetona altera, significativamente, a degradação de ANT e NAF. Com a adição de 1% de acetona, NAF é degradado completamente em 25 min de reação e, com a adição de 16%, a degradação completa é observada em apenas 10 min. Já, para o HPA ANT, a adição de 1% de acetona

promove a degradação fotocatalítica completa em 23 min e, a adição de 16%, em 10 min de reação. Já, no presente estudo, em solução aquosa, as melhores taxas de degradação para todos os HPAs investigados foram obtidas com 5% de MeCN, não observando-se perdas de analitos durante o preparo das amostras.

A melhor condição para a degradação completa (abaixo do LD do método cromatográfico), de HPAs em efluente hospitalar e em águas superficiais foi empregando-se 10% de MeCN. Em proporções menores, observou-se perda dos analitos antes da aplicação do processo de degradação.

4.4.1.1 Otimização em solução aquosa

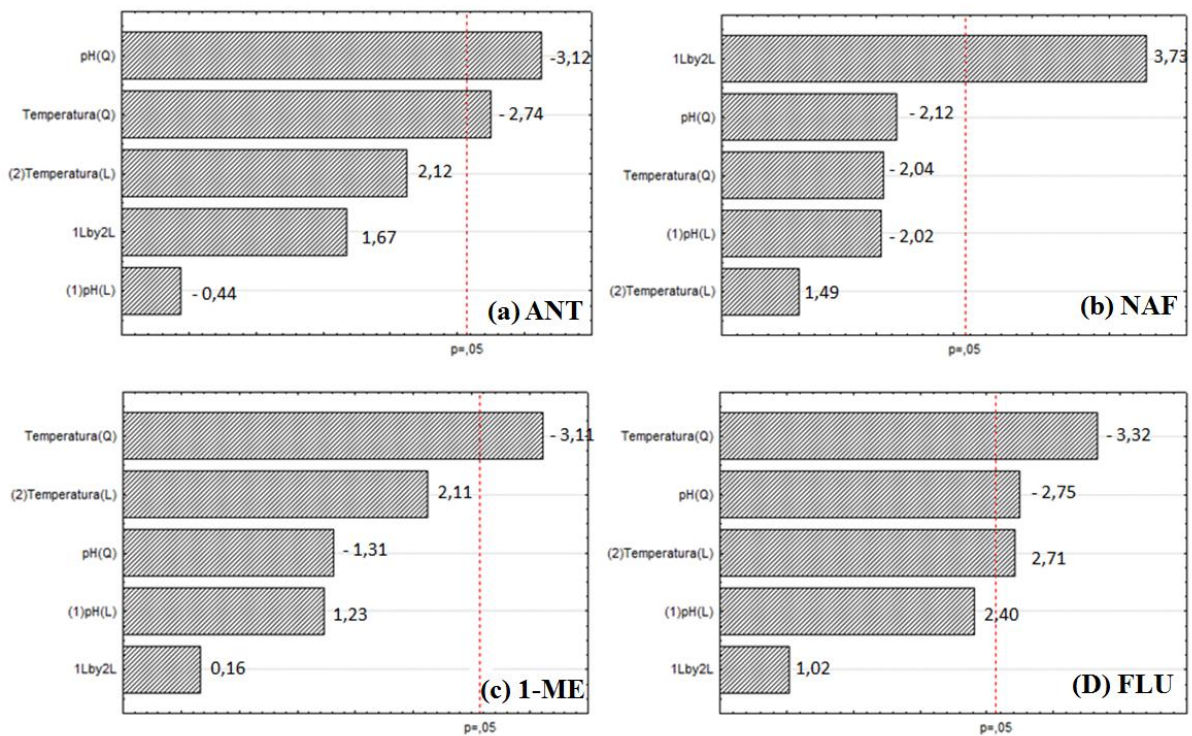
Para o tratamento fotocatalítico de HPAs aplicou-se planejamento fatorial DCCR, 2^2 , com duas variáveis independentes (pH da amostra e temperatura) e dois níveis, incluindo 4 ensaios nas condições axiais e 3 repetições do ponto central (PC), totalizando 11 experimentos. A Tabela 22 apresenta a matriz de delineamento com seus 11 ensaios e a taxa de degradação (%) de cada analito, em solução aquosa, no tempo de irradiação de 60 min.

Tabela 22 – Matriz do planejamento DCCR, variáveis independentes e resultados de degradação de HPAs por fotocatalise heterogênea em solução aquosa.

Item	Variáveis↓	Níveis→					
		-1,41	-1	0	1	1,41	
X ₁	pH da amostra	4	5	7	9	10	
X ₂	Temperatura (°C)	20	25	30	35	40	
Exp.	pH da amostra	Temperatura	ANT (%)	NAF (%)	1-ME (%)	FLU (%)	FEN (%)
1	5 (-1)	25 (-1)	76,1	98,5	83,9	80,5	70
2	9 (1)	25 (-1)	73,6	92,1	91,6	90	94
3	5 (-1)	35 (1)	70	69,7	90	80	77
4	9 (1)	35 (1)	100	100	100	100	100
5	4 (-1,41)	30 (0)	82	93,6	82,5	75	85
6	10 (1,41)	30 (0)	59,1	88,5	89,4	93	97,5
7	7 (0)	20 (-1,41)	62,8	92,5	66,9	78	93,7
8	7 (0)	40 (1,41)	84,5	90,3	83,9	85	64
9	7 (0)	30 (0)	100	100	100	100	98
10	7 (0)	30 (0)	100	100	100	97	93
11	7 (0)	30 (0)	100	97,8	97	98	91

As variáveis independentes investigadas na degradação fotocatalítica de HPAs, pH e temperatura, apresentaram efeito estatisticamente significativo ($p < 0,05$) para as taxas de degradação dos HPAs ANT e FLU. Para 1-ME, apenas a temperatura apresentou efeito significativo. Para NAF, a interação entre as variáveis foi significativa. Para FEN, nenhuma das variáveis apresentou efeito significativo. A Figura 33 apresenta os Diagramas de Pareto da degradação de HPAs por fotocatalise heterogênea em solução aquosa.

Figura 33– Diagramas de Pareto para a degradação fotocatalítica de HPAs em solução aquosa empregando TiO_2 imobilizado em PDMS.

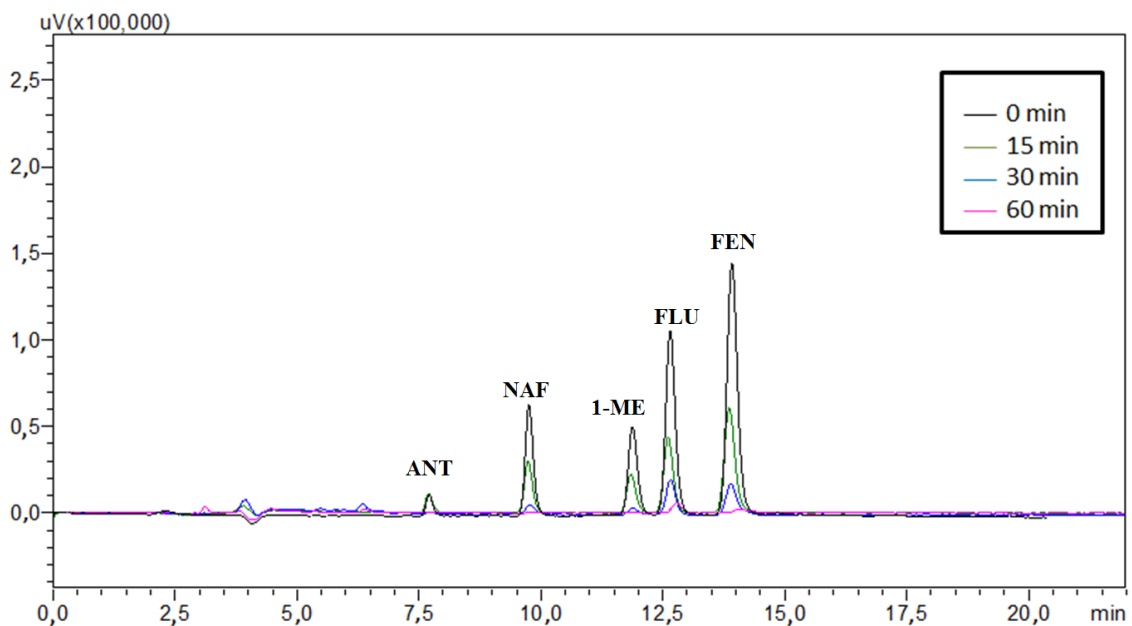


Fonte: adaptado de *Software Statistica*.

Os parâmetros da ANOVA para o modelo foram utilizados na análise estatística. Para a degradação de NAF, em solução aquosa, a verificação do modelo que melhor se ajusta aos resultados foi feita pela determinação do R^2 (coeficiente de determinação do modelo), calculado em 0,84, podendo-se dizer que 84% da variação total em torno da média é explicada pela regressão. Para a degradação dos demais analitos o coeficiente de determinação do modelo variou de 0,70–0,80.

As melhores condições para a degradação de HPAs em solução aquosa foram: pH 9 e 35 °C, empregando o catalisador TiO_2 imobilizado em PDMS, desta forma, induzindo maior formação de radicais (hidroxil) e proporcionando a completa fotodegradação de HPAs nas amostras de solução aquosa. Na Figura 34 pode-se observar o cromatograma da degradação de HPAs em 60 min de irradiação.

Figura 34– Cromatograma para a degradação fotocatalítica de HPAs em solução aquosa empregando PDMS/ TiO_2 . Condições: pH 9, 35 °C e 5% de MeCN.



Fonte: adaptado de *Software LC Solution*.

4.4.1.2 Otimização em efluente hospitalar

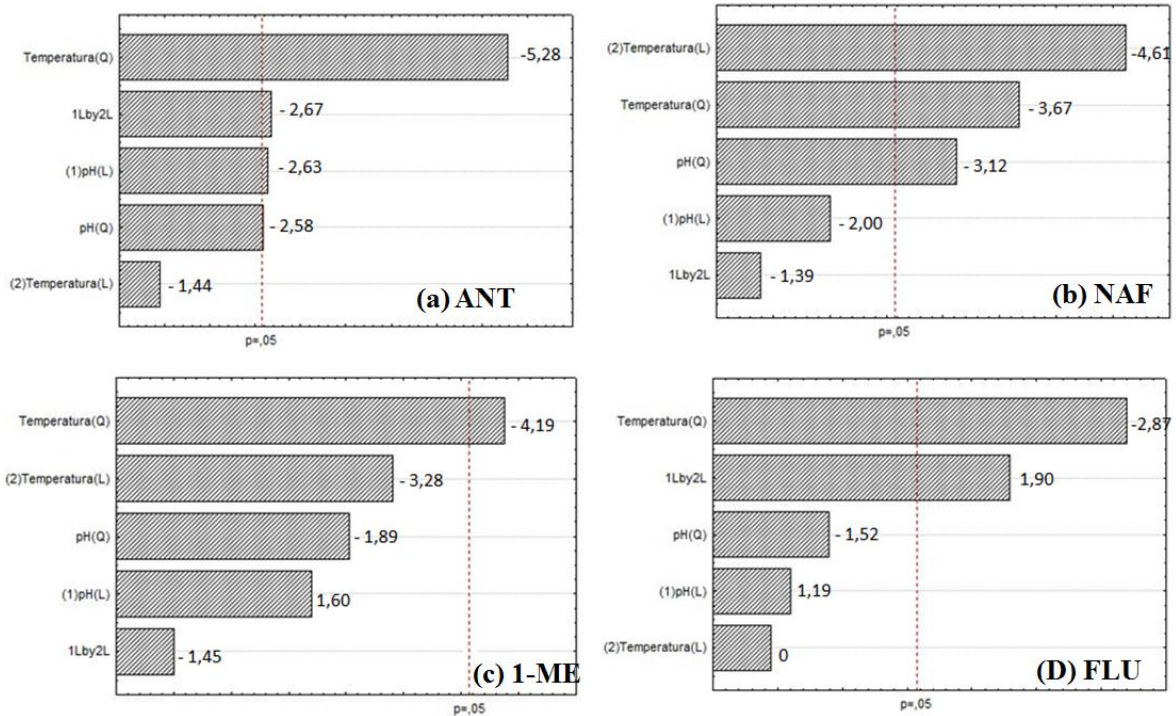
Para o tratamento fotocatalítico de HPAs em efluente hospitalar, também, aplicou-se planejamento fatorial DCCR, 2^2 , com duas variáveis independentes (pH da amostra e temperatura) e dois níveis, incluindo 4 ensaios nas condições axiais e 3 repetições do ponto central (PC), totalizando 11 experimentos. A Tabela 23 apresenta a matriz de delineamento com seus 11 ensaios e a taxa de degradação (%) de cada analito em efluente hospitalar, no tempo de irradiação de 60 min.

Tabela 23 – Matriz do DCCR, variáveis independentes e resultados de degradação de HPAs por fotocatalise heterogênea em efluente hospitalar.

Item	Variáveis↓	Níveis→					
		-1,41	-1	0	1	1,41	
X ₁	pH da amostra	4	5	7	9	10	
X ₂	Temperatura (°C)	20	25	30	35	40	
Exp.	pH da amostra	Temperatura	ANT (%)	NAF (%)	1-ME (%)	FLU (%)	FEN (%)
1	5 (-1)	25 (-1)	90	98	80	91	71
2	9 (1)	25 (-1)	96	92	90	81	88
3	5 (-1)	35 (1)	91	99	90	95	99
4	9 (1)	35 (1)	70	84	100	90	82
5	4 (-1,41)	30 (0)	90	93	77	96	93
6	10 (1,41)	30 (0)	81	85	85	98	94
7	7 (0)	20 (-1,41)	76	95	60	99	91
8	7 (0)	40 (1,41)	72	80	81	100	76
9	7 (0)	30 (0)	100	100	100	100	100
10	7 (0)	30 (0)	100	100	100	100	100
11	7 (0)	30 (0)	100	100	100	100	100

As variáveis independentes investigadas na degradação fotocatalítica de HPAs em efluente hospitalar, pH e temperatura, apresentaram efeito estatisticamente significativos ($p < 0,05$) para as taxas de degradação de ANT e NAF. Para 1-ME e FEN a temperatura apresentou efeito significativo. E para ANT e FEN a interação entre as variáveis foi significativa. Para FLU, nenhuma das variáveis apresentou-se como significativa para a degradação deste analito. Os parâmetros da ANOVA para o modelo foram utilizados na análise estatística. Para a degradação de ANT e NAF, em efluente hospitalar, a verificação do modelo que melhor se ajusta aos resultados foi feita pela determinação do R^2 (coeficiente de determinação do modelo), calculado em 0,90, podendo-se dizer que 90% da variação total em torno da média é explicada pela regressão. Para a degradação dos demais analitos o coeficiente de determinação do modelo variou de 0,73–0,87. A Figura 35 apresenta os Diagramas de Pareto para a degradação dos HPAs em amostras de efluente hospitalar.

Figura 35– Diagramas de Pareto para a degradação fotocatalítica de HPAs em amostras de efluente hospitalar empregando TiO_2 imobilizado em PDMS.

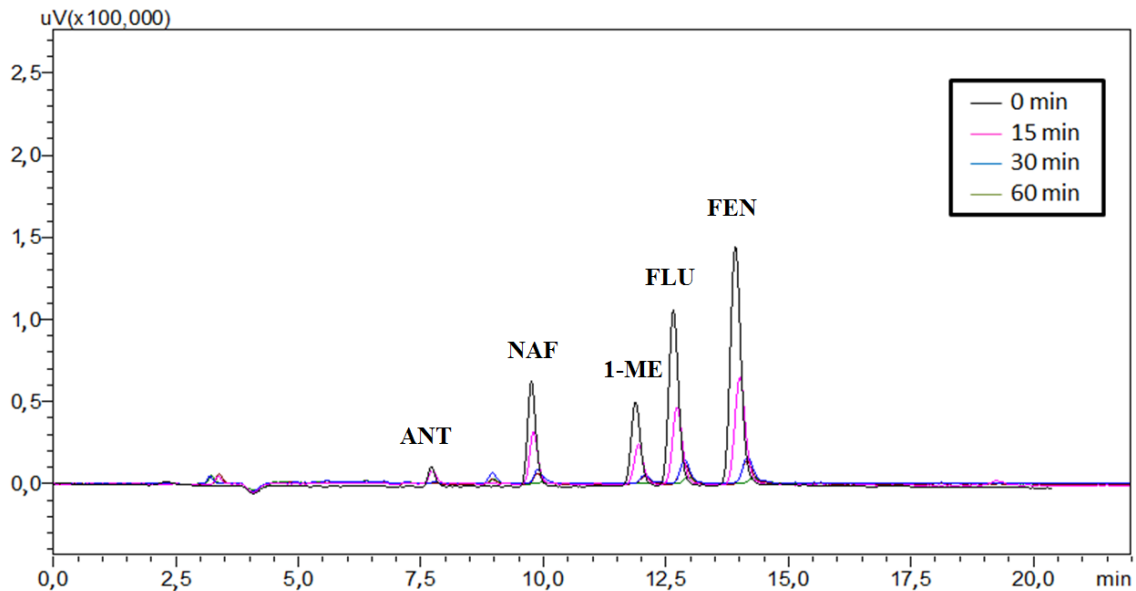


Fonte: adaptado de *Software Statistica*.

As melhores condições para a degradação de HPAs em amostras de efluente hospitalar foram: pH 7 e 30 °C, utilizando o catalisador TiO_2 imobilizado em PDMS, provavelmente, induzindo a maior formação de radicais (hidroxil) e promovendo a completa fotodegradação de HPAs.

VELA et al. (2012) investigaram a degradação de HPAs em águas residuais por meio de fotocatalise, utilizando TiO_2 e ZnO , e luz solar. As condições empregadas neste estudo foram: temperatura 25 °C e pH 8, resultados semelhantes aos do presente trabalho porém a desvantagem, foi o tempo de reação (120 minutos). Na Figura 36 pode-se observar o cromatograma da degradação de HPAs em efluente hospitalar empregando 60 min de irradiação.

Figura 36– Cromatograma para a degradação fotocatalítica de HPAs em efluente hospitalar empregando PDMS/TiO₂. Condições: pH 7, 30 °C e 10% de MeCN.



Fonte: adaptado de *Software LC Solution*.

Para as amostras de águas superficiais aplicou-se as melhores condições indicadas para solução aquosa e efluente hospitalar. A melhor condição foi pH 7 e 30 °C, empregando o catalisador TiO₂ imobilizado em PDMS e 10% de MeCN. A mesma condição obtida para as amostras de efluente hospitalar promoveu a degradação completa dos HPAs em 60 min de irradiação.

4.4.2 Vantagens do uso de TiO₂ imobilizado em PDMS

O método empregado utilizando TiO₂ suportado em polímero (PDMS) mostrou-se muito eficiente para a degradação de HPAs em águas superficiais e efluente hospitalar, uma vez que todos os analitos foram completamente degradados em 60 min de irradiação. Além do mais, a aplicação da fotocatalise heterogênea utilizando barras de PDMS/TiO₂ elimina a etapa morosa de filtração (0,45 µm), indispensável quando se faz uso de catalisador em suspensão. Além do baixo custo no tratamento de efluente hospitalar, este procedimento ainda proporcionou o reuso das barras poliméricas com TiO₂ durante diversos ensaios de degradação (aproximadamente 20 ensaios) sem perda de eficiência.

4.4.3 Efeito das variáveis na degradação fotocatalítica

Vários parâmetros operacionais podem provocar mudanças nas taxas de degradação entre dois ou mais contaminantes: temperatura, pH, presença de íons, concentração do catalisador, irradiação UV (comprimento de onda de luz, intensidade de luz), entre outros (PAZ, 2006). Por este motivo, no presente estudo avaliou-se o efeito do pH, da temperatura e do catalisador (presença/ausência de barras poliméricas com TiO₂ suportado em PDMS).

4.4.3.1 Efeito da temperatura

A temperatura é outro fator que influencia na degradação de HPAs em matrizes complexas por meio de fotocatalise heterogênea. Sistemas fotocatalíticos não requerem aquecimento e, geralmente, são operados à temperatura ambiente. Recomenda-se realizar a fotodecomposição a temperaturas entre 20 e 80 °C. Em temperaturas muito baixas (abaixo de 0 °C), a atividade fotocatalítica diminui e o passo limitante é a dessorção do produto final da superfície do catalisador (MALATO et al., 2009; MOZIA, 2010).

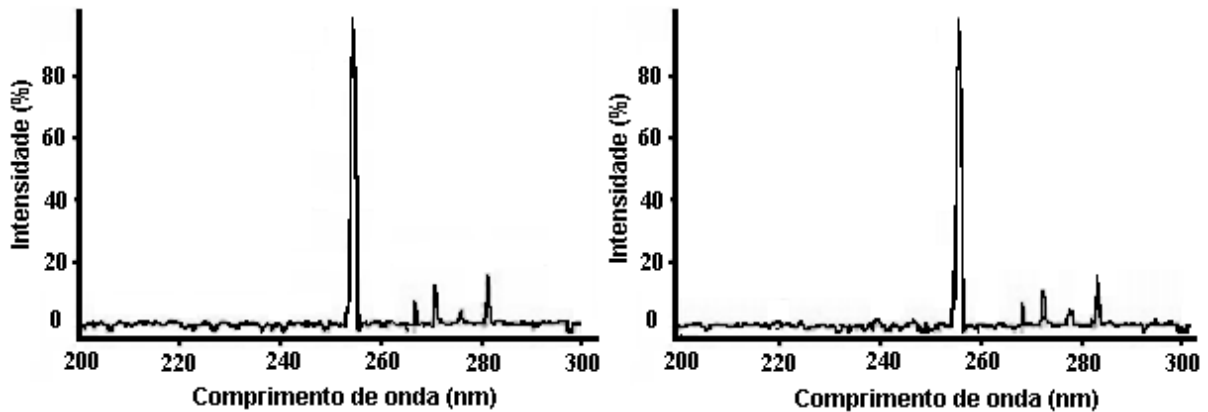
Temperaturas elevadas podem ocasionar a volatilização dos analitos e/ou da amostra em questão, desfavorecendo a adsorção dos contaminantes (MALATO et al., 2009; MOZIA, 2010). Por outro lado, quando a temperatura aumenta, acima de 80 °C, próximo ao ponto de ebulição da água, ocorre a adsorção exotérmica dos poluentes, fator limitante da taxa de degradação. Como resultado, a atividade fotocatalítica diminui (MOZIA, 2010).

4.4.3.2 Irradiação UV

Com relação ao comprimento de onda, as fontes artificiais de radiação UV mais comumente empregadas são lâmpadas do tipo UV-A ($\lambda_{\text{máx}} = 355\text{-}365$ nm) ou UV-C (lâmpadas germicida, $\lambda_{\text{máx}} = 254$ nm). Isto, devido ao fato de que as fontes de luz UV artificial permitem a obtenção de fluxos de fótons mais elevados (MOZIA, 2010).

Na Figura 37, é apresentado o espectro de emissão da lâmpada UV 125 W, e pode se observar a emissão em 254 nm. Para este procedimento, utilizou-se um espectrômetro de absorção atômica colocando-se a lâmpada de vapor de mercúrio no local destinado às lâmpadas do aparelho (WILDE, 2006; DA SILVA, 2012, MAYER, 2013). Com isso foi possível perceber que o tubo de quartzo utilizado como protetor nos experimentos de fotocatalise heterogênea não interfere na penetrabilidade da radiação nas amostras.

Figura 37 – Espectro de emissão da lâmpada de vapor de mercúrio usada na aplicação de PAOs.



(a) lâmpada sem bulbo de proteção e (b) com o bulbo de proteção.

Fonte: WILDE, 2006; DA SILVA, 2012; MAYER, 2013.

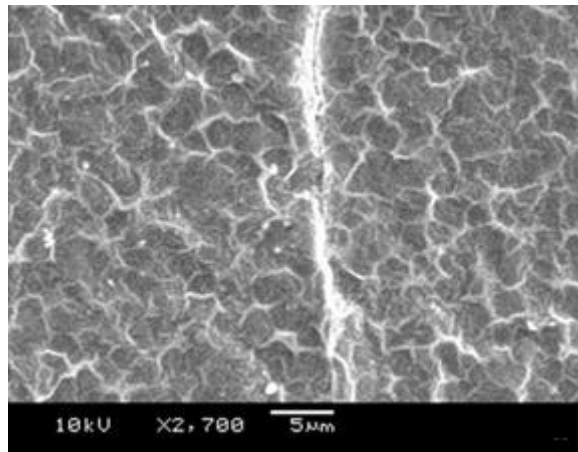
O efeito de intensidade de luz sobre a cinética da reação fotocatalítica pode ser característica e, em alguns casos, depende da intensidade da lâmpada. Neste trabalho utilizou-se lâmpada de alta intensidade (401 W m^2), em que a cinética pode-se considerar independente da intensidade da lâmpada. O aumento da intensidade resulta em aumento na taxa de reação, até atingir o limite de transferência de massa. Em maiores intensidades de irradiação ocorre a transferência de elétrons pelo catalisador oxigênio, dissolvido na solução, resultando em queda na geração de radicais $\text{O}_2^{\bullet-}$, o passo limitante da velocidade de degradação (MOZIA, 2010).

4.4.3.3 Efeito do catalisador

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foi utilizada para visualizar a superfície interna e a textura do filme de TiO_2 suportado ao polímero PDMS (DA SILVA, 2012). A MEV foi empregada para examinar a homogeneidade de distribuição do TiO_2 suportado nos polímeros. A amostra de polímero com TiO_2 imobilizado foi preparada através de metalização com ouro, usando aparelho Desk II modelo Denton Vacuum (<http://www.dentonvacuum.com>) e as imagens foram geradas em um microscópio eletrônico de varredura JEOL modelo JSM-6360 (<http://www.jeol.com>). Este procedimento foi realizado

no Laboratório de Soldagem e Materiais (Lasomet) na UFSM. A Figura 38 apresenta a MEV de TiO_2 suportado em PDMS.

Figura 38 – Micrografia eletrônica de varredura de TiO_2 suportado em PDMS. Vista interna (corte vertical) das barras poliméricas com TiO_2 .



Fonte: microscópio eletrônico de varredura JEOL modelo JSM-6360.

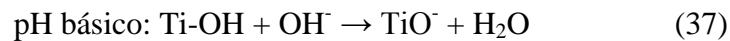
Na micrografia eletrônica de varredura apresentada na Figura 38, para PDMS/ TiO_2 , observa-se a formação de ranhuras, que caracterizam o catalisador aderido ao polímero. A deposição do TiO_2 no PDMS foi homogênea, em que as partículas de TiO_2 formaram uma espécie de aglomerado, o que diminui a superfície de contato e, conseqüentemente, promove a obtenção de taxas de degradação de HPAs satisfatórias.

4.4.3.4 Efeito do pH

A interpretação do efeito do pH na eficiência do processo UV+PDMS/ TiO_2 , em efluente hospitalar, não é tarefa fácil, primeiramente, por se tratar de uma matriz bastante complexa e, também, devido à possibilidade de três mecanismos de reação de degradação da matéria orgânica: ataque do radical HO^\bullet gerado no processo pela fotocatalise, oxidação direta pela lacuna positiva fotogerada na superfície do TiO_2 e redução direta por elétrons fotogerados na banda de condução (MOLINARI et al., 2006).

O efeito do pH nos processos de fotocatalise heterogênea está intimamente relacionado com o processo de adsorção. O pH do meio tem influência na capacidade de adsorção dos compostos, presentes no efluente, na matriz e nas partículas de TiO_2 , e, quanto

maior o número de compostos adsorvidos, mais rápidas serão as oxirreduções. A dependência da capacidade de adsorção em relação ao pH pode ser explicada pelas propriedades anfotéricas do TiO₂ em meio aquoso, ou seja, em pH básico. Acima do pH do ponto de carga zero (pH_{PCZ}) do TiO₂ P25 (6,5), a superfície deste fica negativamente carregada e, em pH ácido, fica com carga positiva (Equações 36 e 37) (HAQUE e MUNEER, 2007).



O pH também pode afetar o mecanismo de degradação: em solução aquosa, o pH 9 se apresentou como ideal para a degradação de HPAs. Em amostras de efluente hospitalar, as melhores taxas de degradação foram observadas empregando-se pH 7. Enquanto que em pH baixo, as lacunas (h⁺) desempenham um papel predominante na oxidação, e, em pH neutro a alcalino, os radicais hidroxila são as espécies oxidantes predominantes – pela facilidade de sua geração devido à maior disponibilidade de íons hidróxido na superfície do catalisador (DALLAGO et al, 2009).

4.4.4 Estudo cinético da degradação fotocatalítica de HPAs

O mesmo procedimento utilizado nos experimentos de otimização foi aplicado para o estudo cinético de degradação de HPAs, utilizando-se as condições ótimas resultantes do planejamento fatorial para solução aquosa, água superficial e efluente hospitalar. As alíquotas foram coletadas em diferentes tempos de reação.

Na Tabela 24, são apresentados os coeficientes de regressão para solução aquosa, águas superficiais e efluente hospitalar.

Tabela 24– Coeficientes de regressão para a degradação fotocatalítica de HPAs em solução aquosa, efluente hospitalar e águas superficiais.

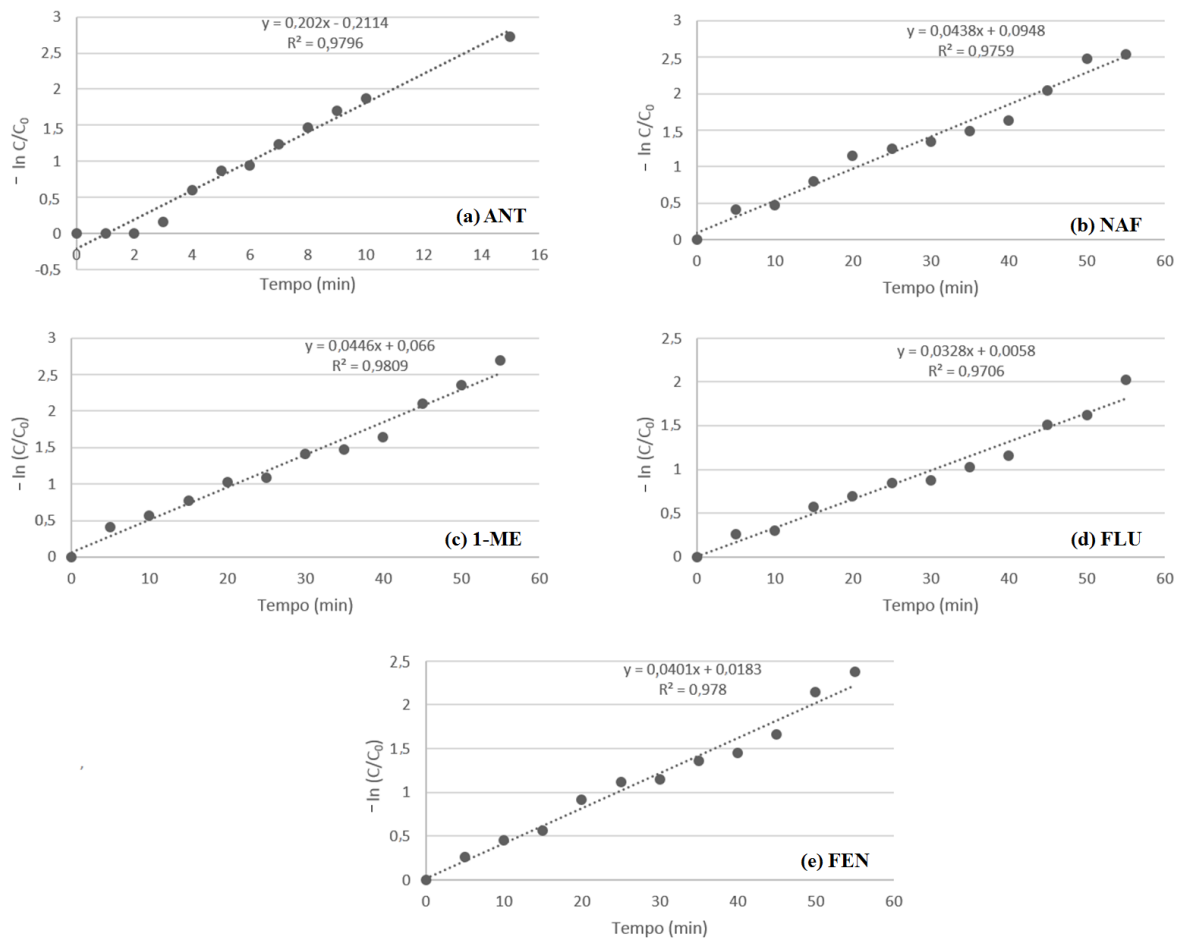
Analito	Solução aquosa		Efluente hospitalar		Águas superficiais	
	Ordem zero	1 ^a ordem	Ordem zero	1 ^a ordem	Ordem zero	1 ^a ordem
ANT	0,8455	0,9796	0,9019	0,7298	0,9429	0,8873
NAF	0,8535	0,9759	0,9868	0,7854	0,9359	0,8823
1-ME	0,8735	0,9809	0,9868	0,7854	0,9872	0,7419
FLU	0,9405	0,9706	0,9701	0,8502	0,9710	0,8538
FEN	0,9057	0,9780	0,9797	0,8631	0,9363	0,9095

O modelo de cinética de primeira ordem se ajustou bem aos dados experimentais, quando se avalia a degradação fotocatalítica de HPAs em solução aquosa. No estudo da degradação de ANT, por meio de fotólise em amostras de água, realizado por SANCHES et al. (2011), também se evidenciou cinética de primeira ordem.

VELA et al. (2012) reportam reações de primeira ordem no estudo cinético da degradação fotocatalítica de HPAs em amostras de águas residuais. Outra evidência de cinética de primeira ordem, para a degradação de HPAs, é relatada por BEDJANIAN e NGUYEN (2010), porém utilizando o processo de ozonização de amostras de ar.

Na Figura 39 podem ser observados os gráficos com as respectivas constantes cinéticas de degradação fotocatalítica de HPAs, em solução aquosa, confirmando-se reações de primeira ordem.

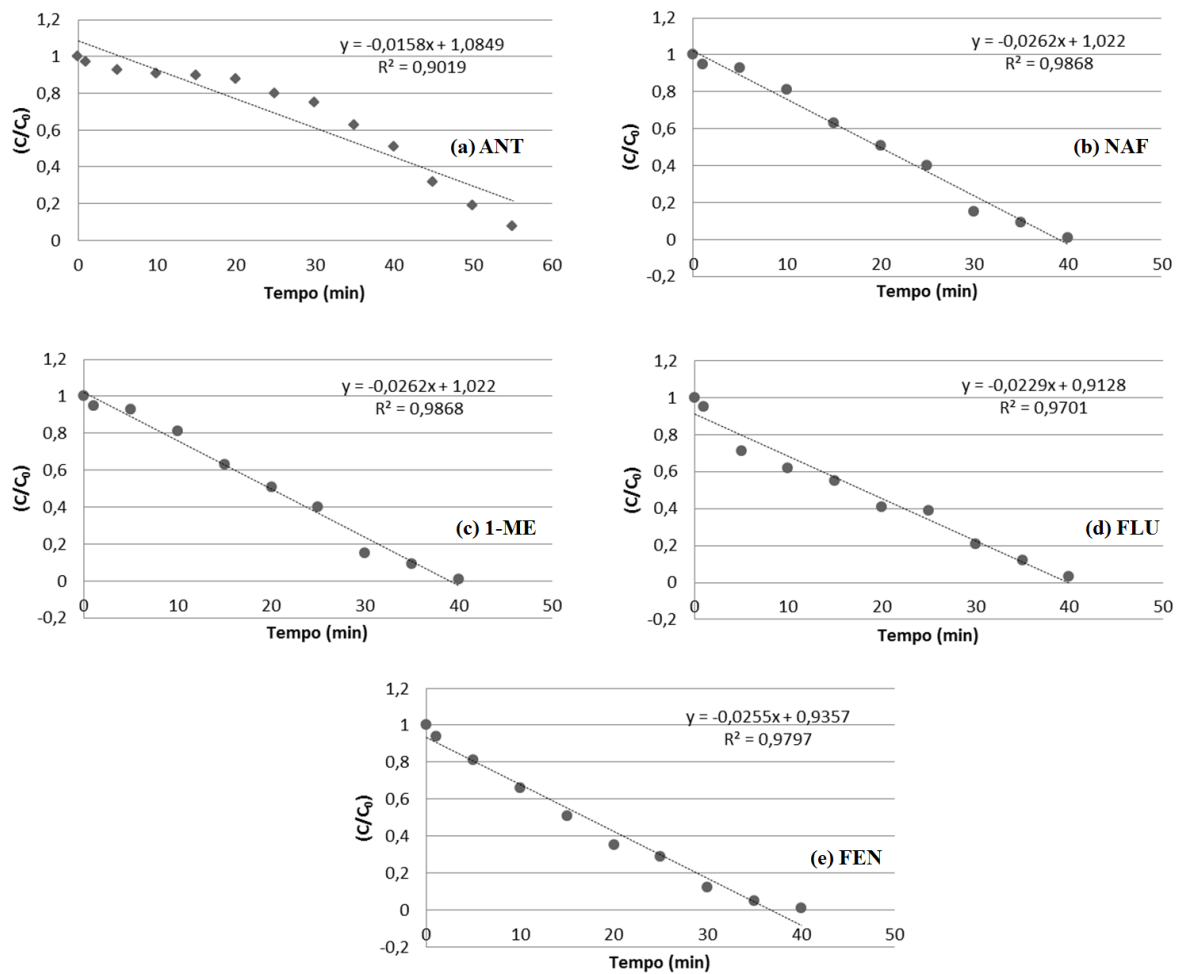
Figura 39 – Estudo cinético da degradação fotocatalítica de HPAs em solução aquosa.



Fonte: elaborado pelo autor; *Microsoft Excel*.

Na Figura 40 podem ser observados os gráficos com as respectivas constantes cinéticas da degradação de HPAs, em amostras de efluente hospitalar, evidenciando reações de ordem zero pela relação linear da concentração normalizada (C/C_0) *versus* o tempo de irradiação.

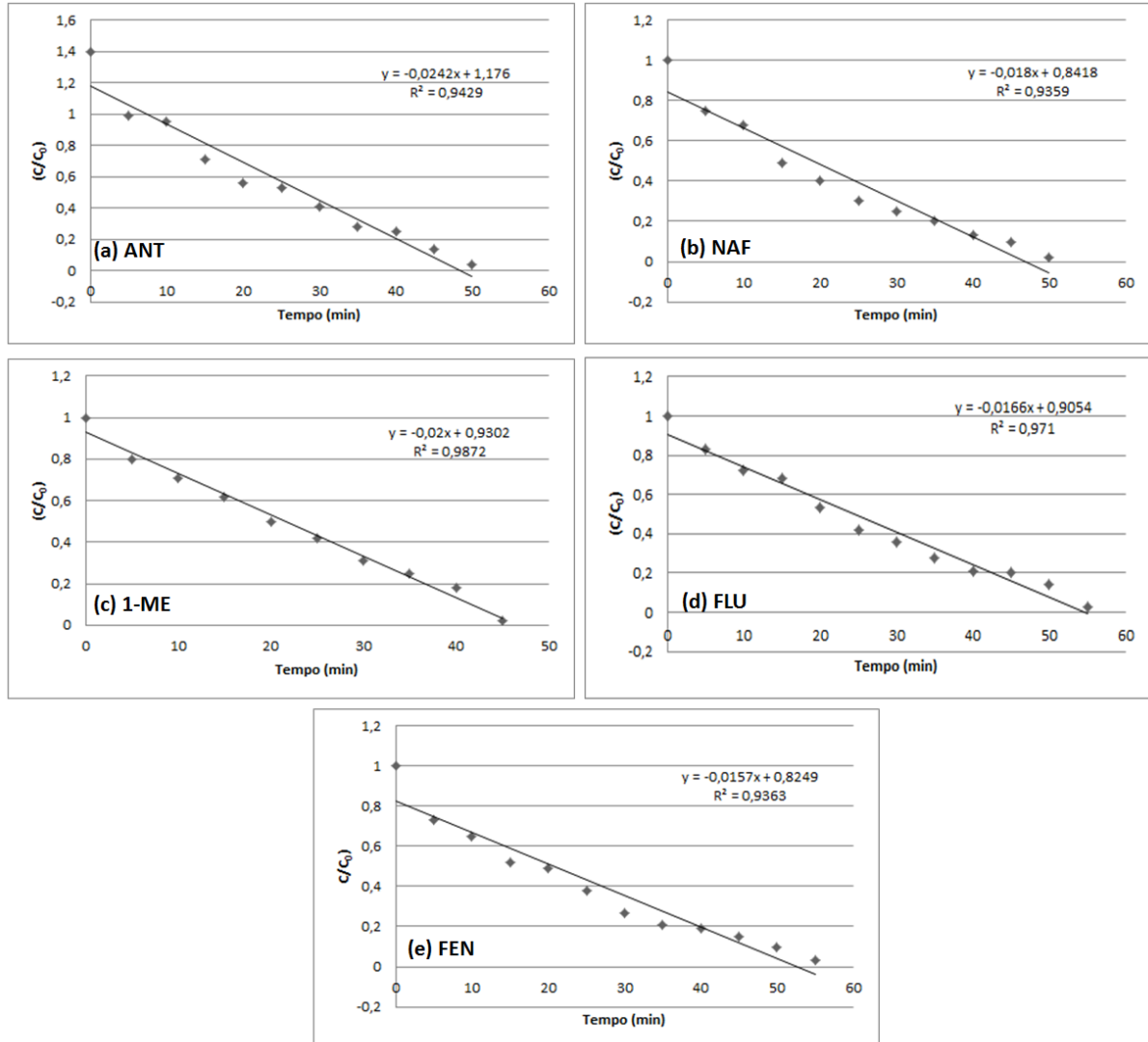
Figura 40 – Estudo cinético da degradação fotocatalítica de HPAs em amostras de efluente hospitalar.



Fonte: elaborado pelo autor; *Microsoft Excel*.

Na Figura 41 pode-se observar os gráficos com as respectivas constantes cinéticas da degradação de HPAs, em amostras de águas superficiais, como também em efluente hospitalar, reações de ordem zero.

Figura 41 – Estudo cinético da degradação fotocatalítica de HPAs em amostras de águas superficiais.



Fonte: elaborado pelo autor; *Microsoft Excel*.

A diferença de ordem de reação, observada comparando-se com os resultados com os obtidos em solução aquosa, deve-se à complexidade, turbidez e presença de outros compostos, recalcitrantes, nas matrizes efluente hospitalar e águas superficiais. Este tipo de cinética de ordem zero tem sido relatada na literatura, em estudos voltados para a degradação de compostos orgânicos por ação fotocatalítica de TiO_2 . O comportamento cinético de ordem zero, onde a velocidade de degradação dos analitos é constante ao longo do tempo,

normalmente, é atribuído à completa cobertura dos sítios do fotocatalisador pelo composto orgânico (MINABE et al., 2000; MILLS et al., 2003; ILIEV et al., 2007).

Analisando-se as constantes cinéticas (k), da degradação fotocatalítica, pode-se observar que ANT, em solução aquosa, apresenta maior valor de k , tendo assim degradação completa ocorre em tempo menor que dos demais analitos. Em efluente hospitalar, ANT apresenta menor valor de k , se comparado com os demais, sendo que sua degradação se dá em um tempo maior de irradiação devido à complexidade da matriz. Os valores de k são apresentados na Tabela 25.

Tabela 25 – Constantes cinéticas (k) para a degradação de HPAs em solução aquosa e constantes cinéticas aparentes (k_{ap}) para a degradação em efluente hospitalar e águas superficiais.

Analito	Solução aquosa^a	Efluente hospitalar^b	Águas superficiais^b
ANT	$20,2 \times 10^{-2}$	$1,58 \times 10^{-2}$	$2,42 \times 10^{-2}$
NAF	$4,38 \times 10^{-2}$	$2,62 \times 10^{-2}$	$1,80 \times 10^{-2}$
1-ME	$4,46 \times 10^{-2}$	$2,62 \times 10^{-2}$	$2,00 \times 10^{-2}$
FLU	$3,28 \times 10^{-2}$	$2,29 \times 10^{-2}$	$1,66 \times 10^{-2}$
FEN	$4,01 \times 10^{-2}$	$2,55 \times 10^{-2}$	$1,57 \times 10^{-2}$

a: k , em min^{-1} , cinética de primeira ordem.

b: k_{ap} , em $\mu\text{g L}^{-1} \text{min}^{-1}$, cinética de ordem zero.

As amostras investigadas, água superficial e efluente hospitalar, são matrizes extremamente complexas e apresentam uma grande quantidade de espécies inorgânicas que acabam por atenuar a degradação fotocatalítica. O principal motivo desta inibição se dá, principalmente, pela afinidade dos íons ao TiO_2 (ZHANG et al., 2005; CHONG et al., 2011). Diante destes fatos que podem inibir o processo, se pode apenas determinar a constante cinética aparente (k_{ap}) para a degradação fotocatalítica.

4.4.5 Identificação de subprodutos da degradação fotocatalítica de HPAs

Para os HPAs ANT, FEN e NAF foram identificados os produtos intermediários da degradação fotocatalítica por GC-MS. A Tabela 26 mostra os subprodutos identificados nas amostras de solução aquosa, água superficial e efluente hospitalar, e os correspondentes espectros de massas são apresentados no Anexo B.

Tabela 26 – Informação sobre os HPAs e seus intermediários gerados pelo processo de fotocatalise heterogênea e identificados por CG-MS.

No.	Fórmula molecular	<i>m/z</i>	Nome	Observação*
ANT	C ₁₄ H ₁₀	178	Antraceno	-
1	C ₁₄ H ₁₀ O	194	Hidroxil antraceno	e
2	C ₁₄ H ₁₀ O ₂	210	Dihidroxil antraceno	b
3	C ₁₄ H ₁₀ O	194	Antrona	c
4	C ₁₄ H ₁₀ O ₃	226	1,8-Dihidroxi-9(10H)-antracenona	a
5	C ₁₄ H ₈ O ₂	208	9,10-Antracenodiona	b
6	C ₁₄ H ₈ O ₃	224	1-Hidroxi-9,10-antracenodiona	d
7	C ₁₄ H ₈ O ₄	240	1,4-Dihidroxi-9,10-antracenodiona	c
8	C ₁₄ H ₈ O ₃	224	2-Hidroxi-9,10-antracenodiona	c
9	C ₈ H ₆ O ₂	134	1,2-Benzenodicarboxaldeido	e
FEN	C ₁₄ H ₁₀	178	Fenantreno	-
10	C ₁₄ H ₁₀ O	194	9-Fenantrenol	e
11	C ₁₄ H ₈ O ₂	208	9,10-Fenantrenodiona	c
12	C ₁₄ H ₁₀ O ₂	210	(1,1-Bifenil)-2,2-dicarboxaldeido	c
13	C ₁₃ H ₈ O ₂	196	Benzocoumarina	e
NAF	C ₁₀ H ₈	128	Naftaleno	-
14	C ₁₀ H ₈ O	144	1-Naftalenol	e
15	C ₁₀ H ₆ O ₂	158	1,4-Naftalenodiona	e
16	C ₉ H ₆ O ₂	146	2H-1-benzopirran-2-ona	e
17	C ₁₀ H ₆ O ₃	174	2-Hidroxi-1,4-naftalenodiona	b
18	C ₁₄ H ₈ O ₂	134	1,2-Benzenodicarboxaldeido	e

^a identificado somente em solução aquosa.

^b identificado em solução aquosa e amostras de água superficial.

^c identificado somente em efluente hospitalar.

^d identificado em amostras de água superficial e efluente hospitalar.

^e identificado em todas as amostras.

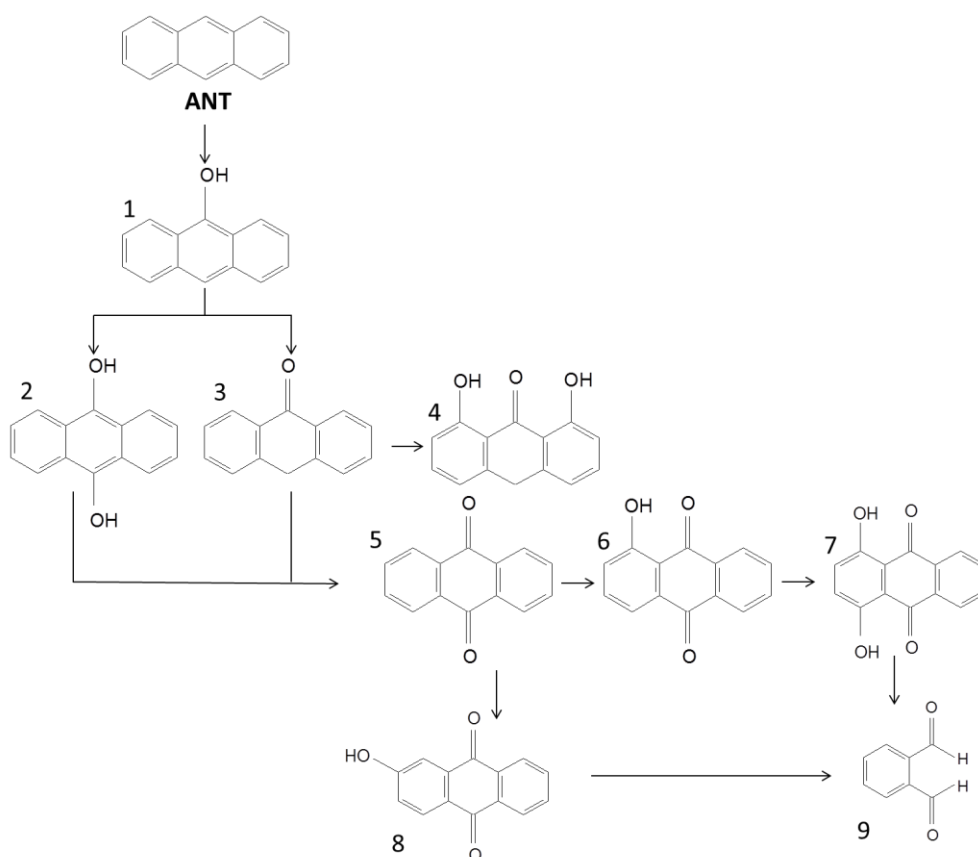
Para ANT foram identificados nove subprodutos de degradação fotocatalítica. A Figura 42 apresenta a rota proposta para a degradação deste analito. ANT (*m/z* 178) sofre o ataque do radical hidroxil, preferencialmente, nas posições 9 e 10, formando o composto 1 (hidroxil antraceno, *m/z* 194), o qual sofre outra reação de hidroxilação, gerando o intermediário dihidroxil antraceno, (composto 2), *m/z* 210, ou, ainda, um rearranjo molecular, formando o composto 3 (antrona, *m/z* 194).

Antrona, por sua vez, reage com dois radicais hidroxil formando o composto 4 (1,8-Dihidroxi-9(10H)-antracenona), uma cetona com *m/z* 226. Na mesma rota de fragmentação, os compostos 2 e 3 podem sofrer um rearranjo em suas moléculas e formar o intermediário de *m/z* 208, denominado 9,10-Antracenodiona (composto 5), o qual pode sofrer uma reação de hidroxilação e gerar os intermediários 6 e 8 (1-Hidroxi-9,10-antracenodiona e 2-Hidroxi-9,10-antracenodiona). O composto 6 (*m/z* 224), a partir de uma reação de hidroxilação, forma o composto 7 (1,4-Dihidroxi-9,10-antracenodiona), *m/z* 240. Ainda, o composto 8, *m/z* 224,

pode sofrer um rearranjo em sua molécula, através da ruptura de um anel aromático, formando o subproduto denominado 1,2-Benzenodicarboxaldeído (composto 9). O mesmo mecanismo é observado quando o composto 7 perde um anel aromático formando um aldeído (composto 9).

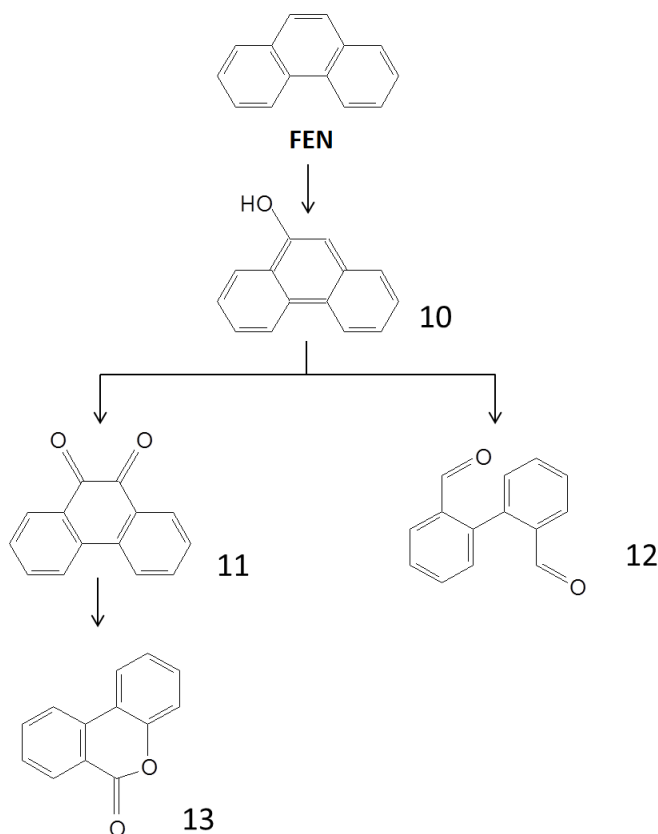
No estudo realizado por SANCHES et al. (2011) os subprodutos antrona, 9,10-Antracenediona e 1-Hidroxi-9,10-antracenediona foram identificados aplicando o processo de fotólise direta de antraceno em amostras de águas residuais. Os subprodutos dihidroxil antraceno, antrona e 9,10-Antracenediona foram identificados no estudo de KOU et al. (2010) por meio de degradação fotocatalítica empregando como catalisador GaN:ZnO. WOO et al. (2009) identificaram 9,10-antracenediona como intermediário mais abundante. 9,10-Antracenediona também pode ser identificada como subproduto de degradação de antraceno quando se aplica o processo de ozonização (KWAMENA et al., 2006; PERRAUDIN et al., 2007).

Figura 42 – Rota proposta para a degradação fotocatalítica de antraceno.



Para a degradação fotocatalítica de FEN foram identificados quatro subprodutos. A Figura 43 apresenta a rota proposta para a degradação deste analito. Inicialmente a molécula de FEN (m/z 178) sofre uma reação de hidroxilação formando o intermediário denominado 9-fenantrenol (composto 10), m/z 194. A molécula 9-fenantrenol pode sofrer rearranjos e gerar os subprodutos 9,10-fenantrenodiona, m/z 208, e (1,1-Bifenil)-2,2-dicarboxaldeído, m/z 210 (composto 10 e 11). Ainda, a molécula 9,10-fenantrenodiona pode sofrer um rearranjo e gerar o intermediário de m/z 196, denominado Benzocoumarina (composto 13). Todos os intermediários encontrados foram derivados a partir de reações de hidroxilação pelo ataque do radical HO• na posição 9 e/ou 10 da molécula de fenantreno. Estes intermediários também foram identificados no estudo realizado por WOO et al. (2009) aplicando fotocatalise.

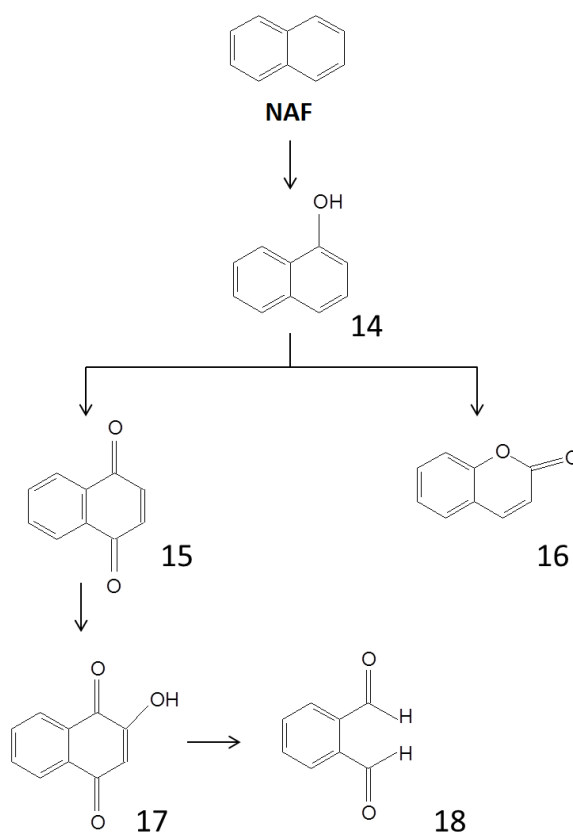
Figura 43 – Rota proposta para a degradação fotocatalítica de fenantreno.



Fonte: adaptado de *Chemical Structure Drawing Software*.

A Figura 44 apresenta a rota proposta para a degradação fotocatalítica de NAF. A molécula de NAF, m/z 128, sofre uma reação de hidroxilação formando o composto 14 (1-naftalenol), m/z 144. 1-naftalenol pode sofrer rearranjo em sua molécula e forma os intermediários 1,4-naftalenodiona, m/z 158, e 2H-1-benzopirano-2-ona, m/z 146 (compostos 15 e 16, respectivamente). A molécula 1,4-naftalenodiona sofre uma reação de hidroxilação gerando o intermediário de m/z 174, denominado 2-Hidroxi-1,4-naftalenodiona (composto 17). A molécula 2-Hidroxi-1,4-naftalenodiona sofre um rearranjo com a ruptura de um anel aromático, formando o subproduto 1,2-Benzenedicarboxaldeído (composto 18), o qual tem m/z 134 e também é identificado no final rota de degradação do ANT neste trabalho. Estes intermediários podem ser confirmados no estudo realizado por WOO et al. (2009) aplicando fotocatalise.

Figura 44 – Rota proposta para a degradação fotocatalítica de naftaleno.



Fonte: adaptado de *Chemical Structure Drawing Software*.

Por fim, os produtos de degradação de HPAs podem ainda ser degradados a ácidos orgânicos de baixo peso molecular (LMWOA, do inglês *Low Molecular Weight Organic Acid*), CO₂, H₂O e sais inorgânicos, de acordo com o grau de mineralização encontrado.

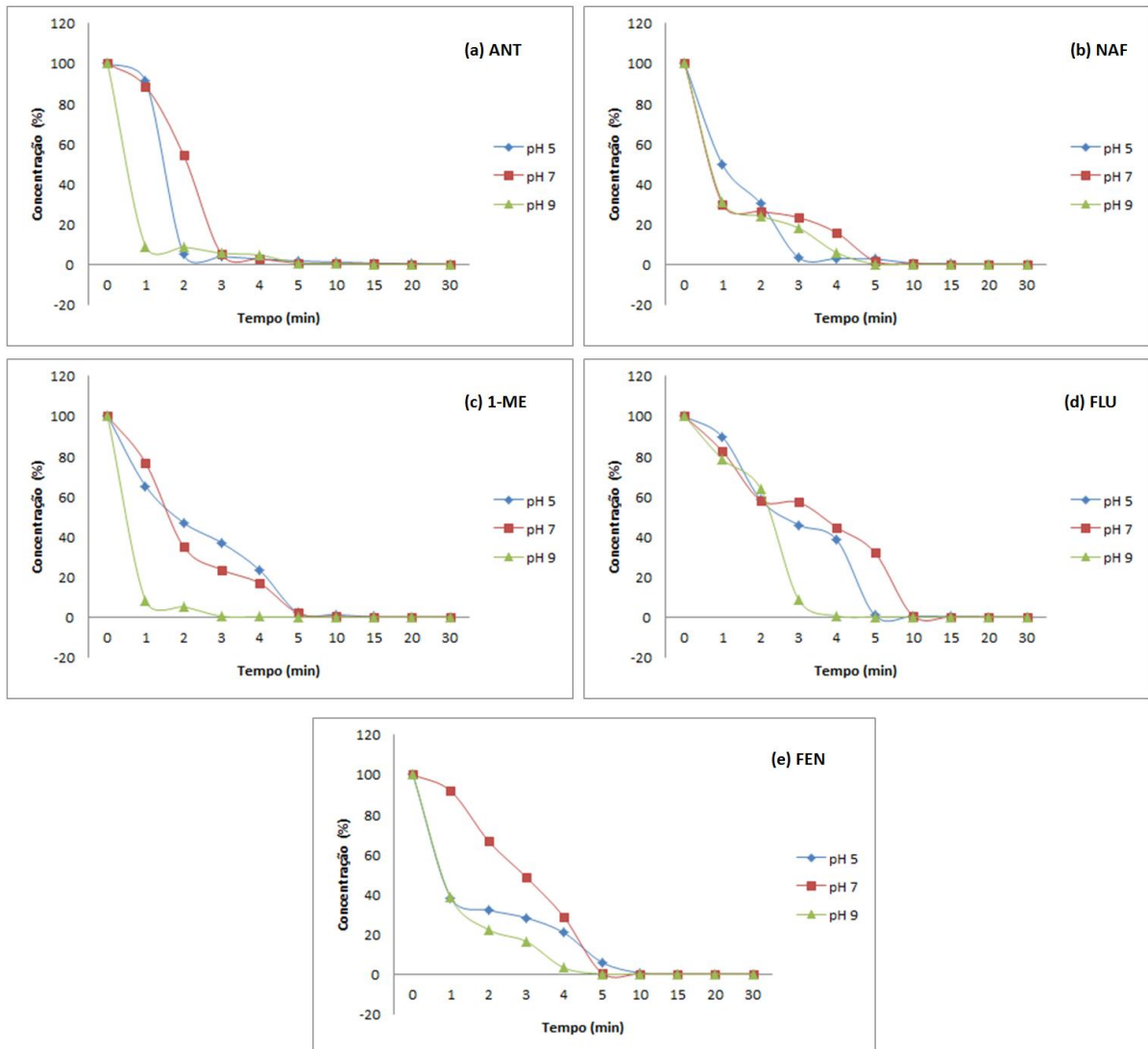
4.4.6 Ozonização

A otimização da geração de ozônio no reator tipo coluna foi feita empregando-se o método iodométrico; a produção de ozônio foi de 0,215 mg min⁻¹.

Como o pH é o mais importante fator do mecanismo de ozonização, foi escolhido para ser investigado. Avaliou-se a degradação dos HPAs em solução aquosa, águas superficiais e efluente hospitalar, fortificado nas concentrações do N7 (ver Tabela 4), nos pH 5, 7 e 9.

A Figura 45 apresenta os gráficos de degradação de HPAs em solução aquosa. Pode-se observar as melhores taxas de degradação em pH 9, condição esta em que os analitos são completamente degradados em 5 minutos de reação.

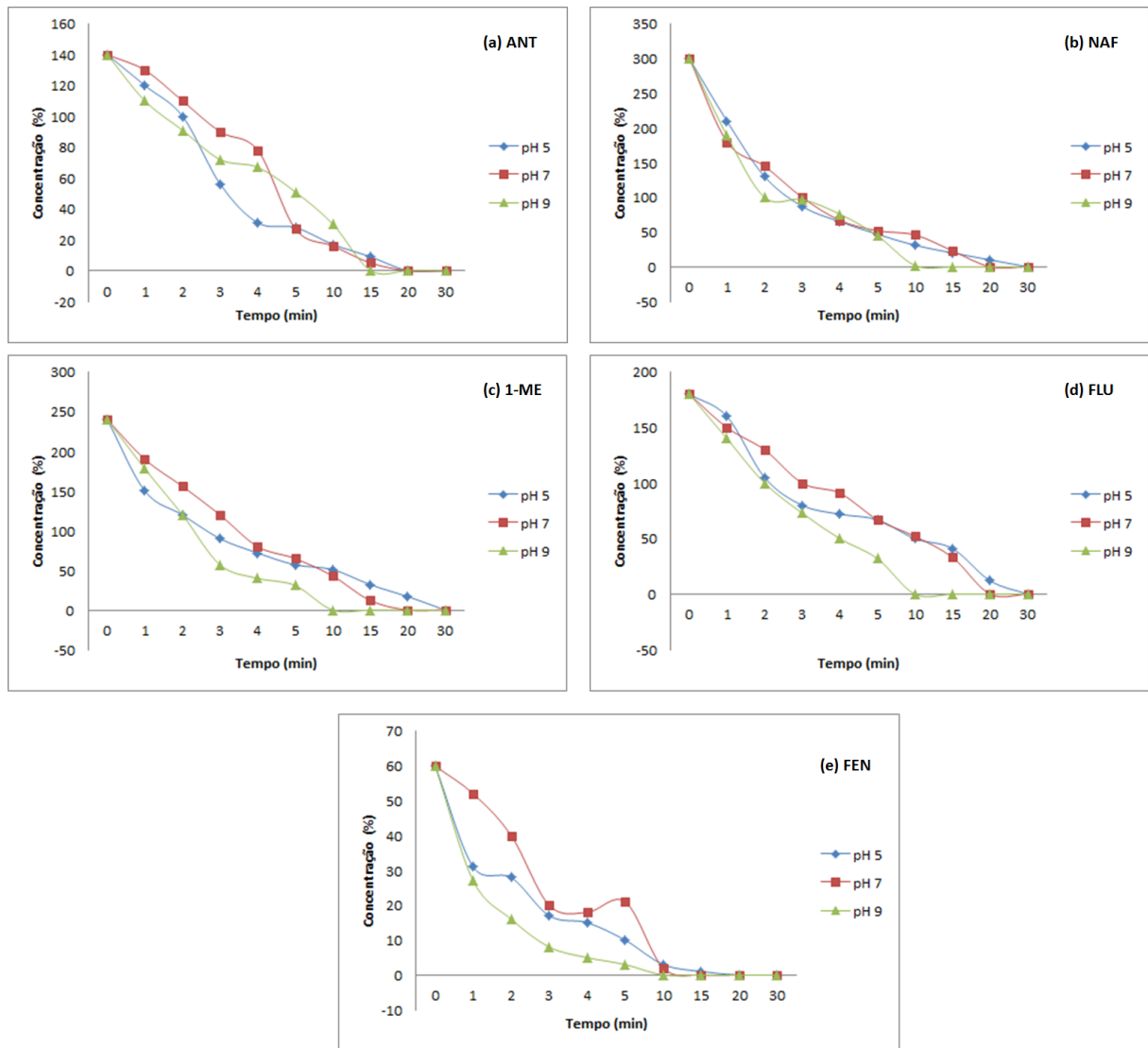
Figura 45 – Degradação de HPAs em solução aquosa empregando pH 5, 7 e 9.



Fonte: elaborado pelo autor; *Microsoft Excel*.

Na Figura 46 são apresentados os gráficos da degradação de HPAs por ozonização de amostras de efluente hospitalar, onde também se observou melhores taxas de degradação dos analitos em pH 9, assim como em solução aquosa. Em amostras de efluente hospitalar, nesta condição (pH 9), os analitos são completamente degradados em 10-15 minutos de reação.

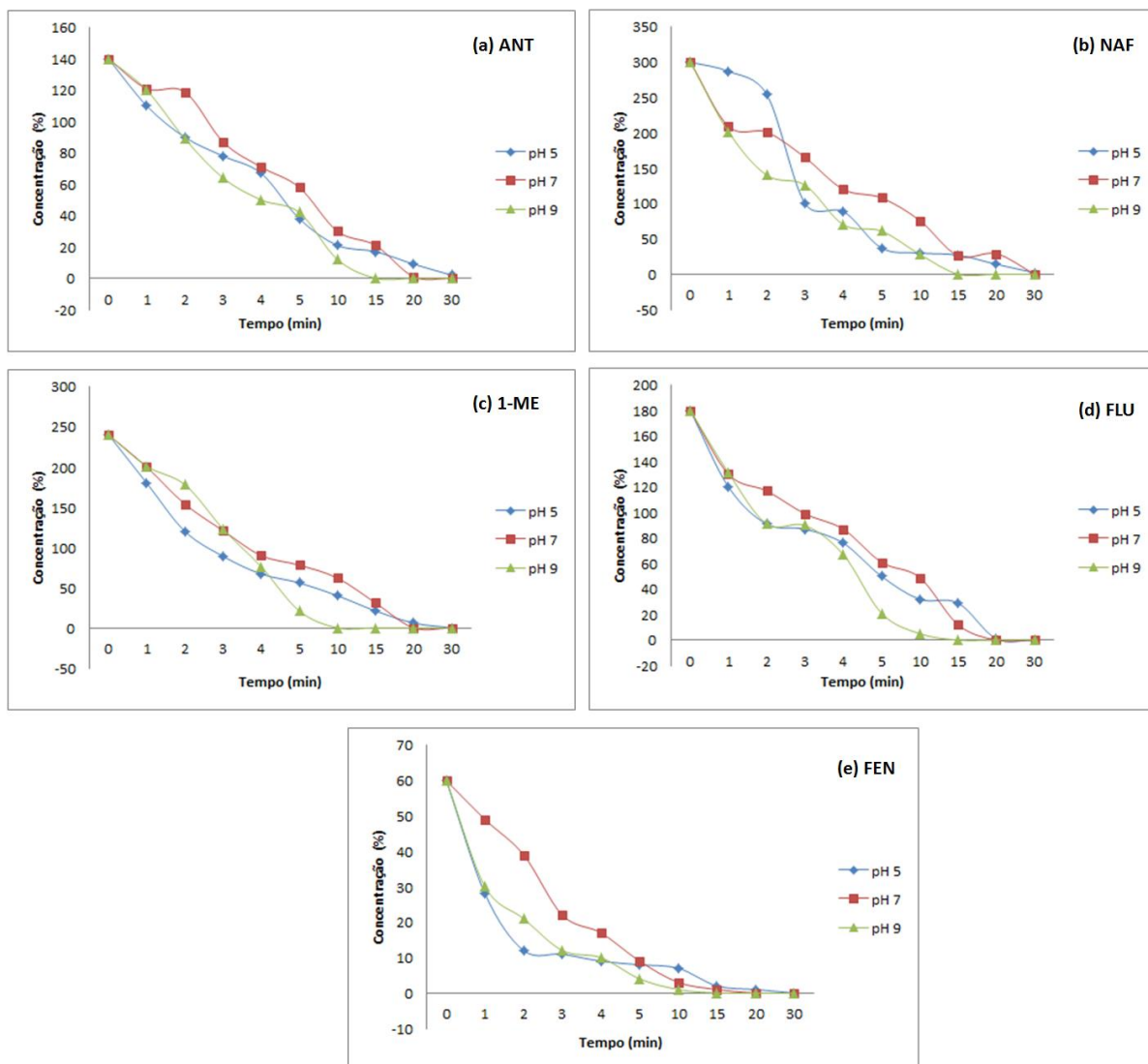
Figura 46 – Degradação de HPAs em amostras de efluente hospitalar empregando pH 5, 7 e 9.



Fonte: elaborado pelo autor; *Microsoft Excel*.

Na Figura 47 são apresentados os gráficos da degradação de HPAs por ozonização de amostras de águas superficiais, onde também se observa melhores taxas de degradação dos analitos em pH 9, assim como em solução aquosa e em amostras de efluente hospitalar. Em amostras de águas superficiais os analitos são completamente degradados em 10-15 minutos de reação na melhor condição reportada (pH 9).

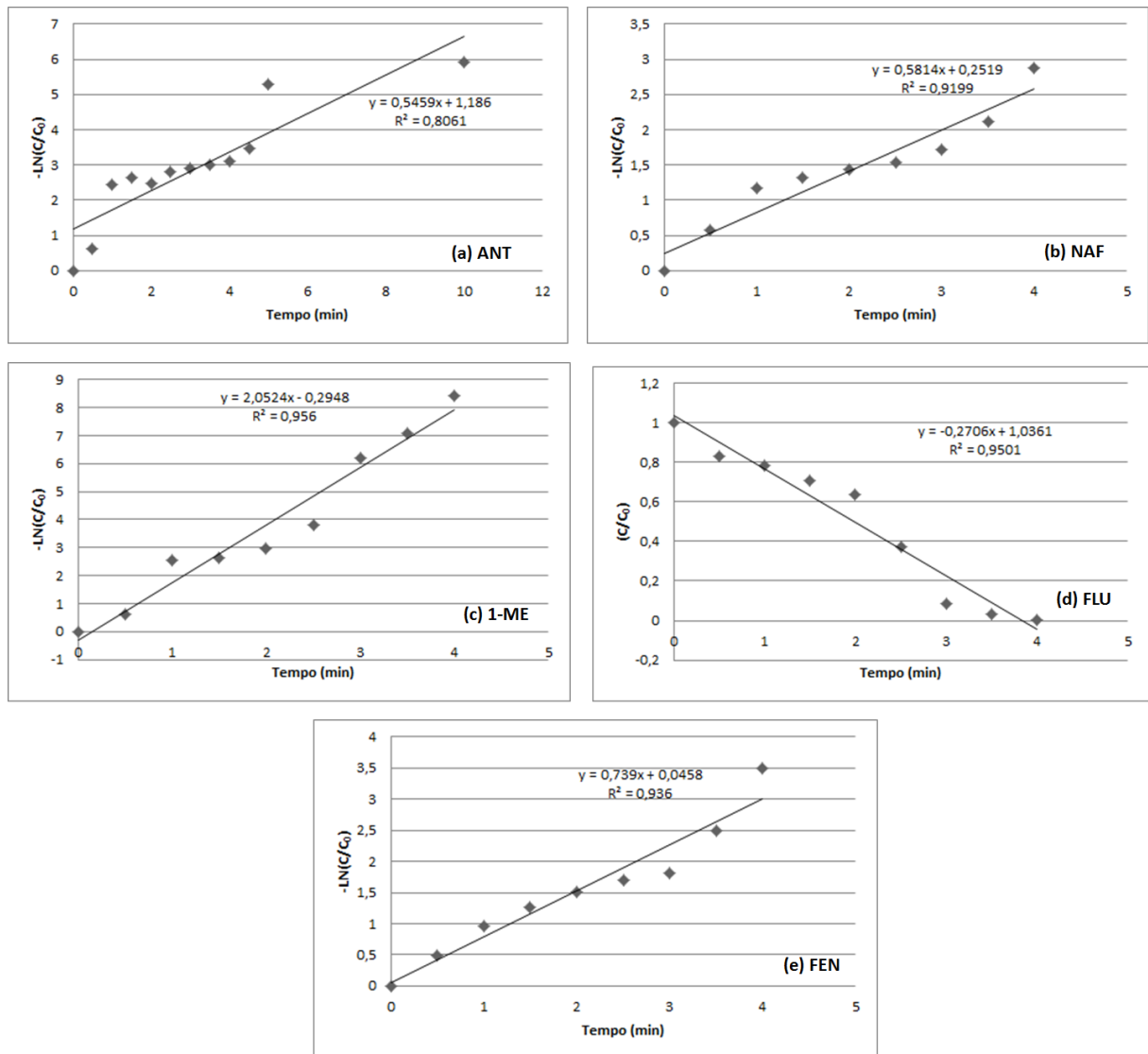
Figura 47 – Degradação de HPAs em amostras de águas superficiais empregando pH 5, 7 e 9.



Fonte: elaborado pelo autor; *Microsoft Excel*.

Na Figura 48 podem-se observar os gráficos com as respectivas constantes cinéticas da degradação por meio de ozonização de HPAs em solução aquosa confirmando reações de primeira ordem, exceto para FLU, que apresentou constante cinética de ordem zero. Analisando-se as Figuras 45 e 48, e pode-se perceber o decaimento da concentração de HPAs de forma abrupta, em solução aquosa, nos primeiros minutos de reação – característica que reforça a ocorrência de cinética de primeira ordem.

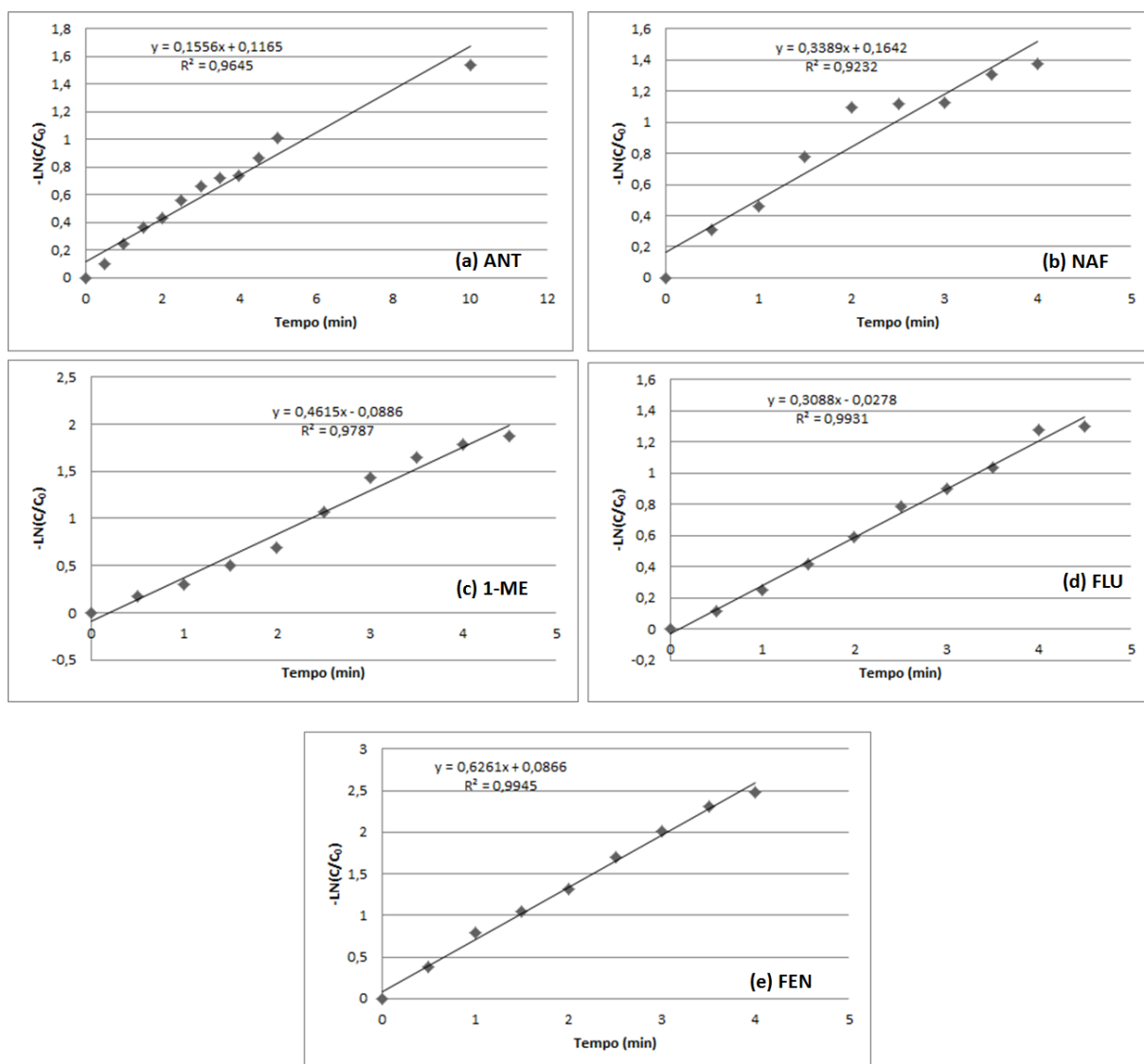
Figura 48 – Estudo cinético da degradação de HPAs por ozonização em solução aquosa.



Fonte: elaborado pelo autor; *Microsoft Excel*.

Na Figura 49, podem-se observar os gráficos com as respectivas constantes cinéticas da degradação por meio de ozonização de HPAs em amostras de efluente hospitalar, assim como em solução aquosa, evidenciando cinética de “*pseudoprimeira ordem*”, assim denominada devido à complexidade da matriz em questão, podendo-se, apenas, determinar a constante cinética aparente (k_{ap}).

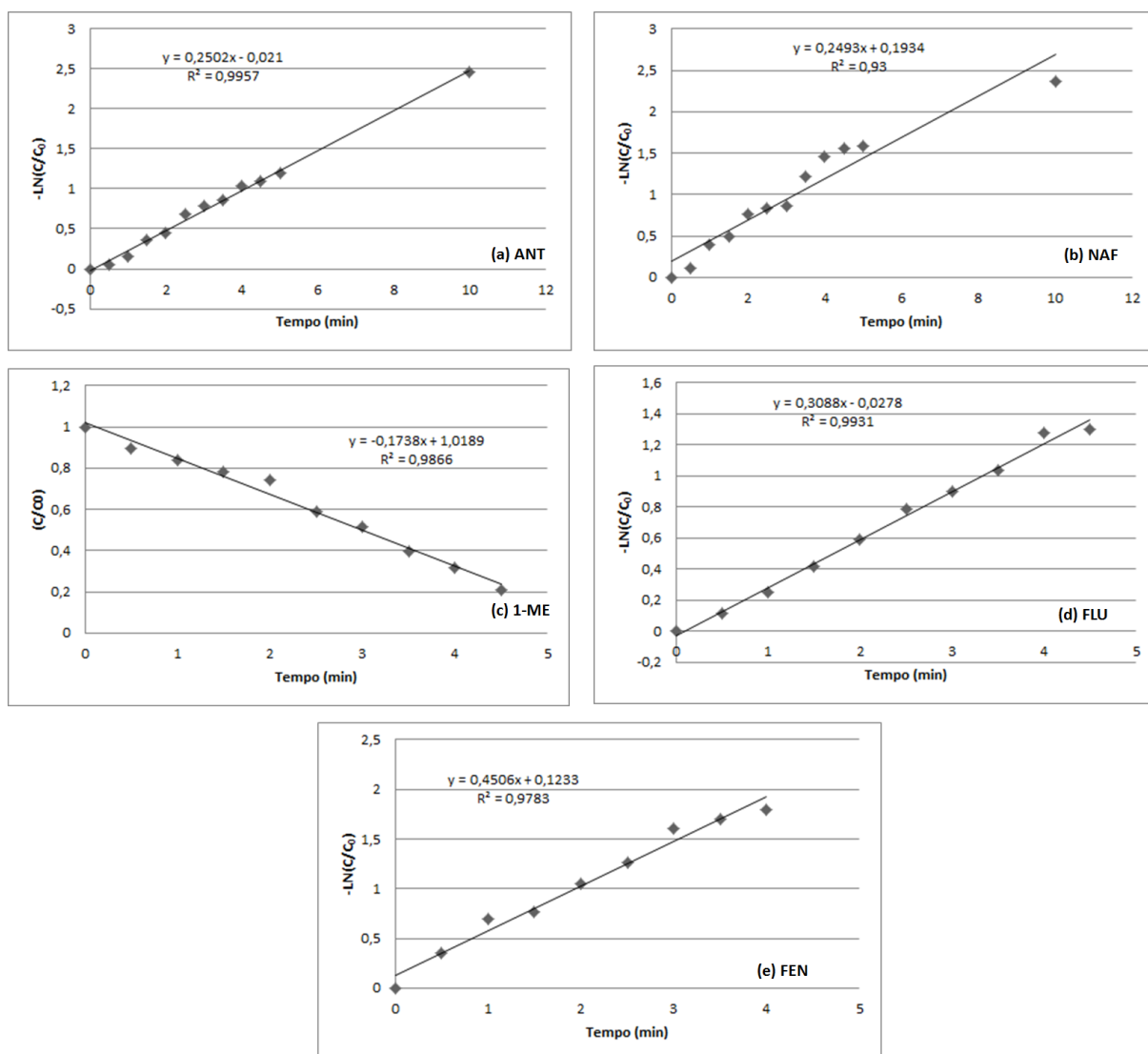
Figura 49– Estudo cinético da degradação de HPAs por ozonização em amostras de efluente hospitalar.



Fonte: elaborado pelo autor; *Microsoft Excel*.

Na Figura 50, podem-se observar os gráficos com as respectivas constantes cinéticas aparentes da degradação de HPAs, por meio de ozonização, em águas superficiais, predominando cinética de primeira ordem, exceto pra 1-ME, cujo coeficiente de correlação propõe a ocorrência de uma reação de ordem zero.

Figura 50– Estudo cinético da degradação de HPAs por ozonização em amostras de águas superficiais.



Fonte: elaborado pelo autor; *Microsoft Excel*.

Na Tabela 27 são apresentados os coeficientes de regressão do processo de ozonização em solução aquosa, de águas superficiais e de efluente hospitalar, predominando reações de primeira ordem.

Tabela 27 – Coeficientes de regressão para a degradação de HPAs, por ozonização, em solução aquosa, efluente hospitalar e águas superficiais.

Analito	Solução aquosa		Efluente hospitalar		Águas superficiais	
	Ordem zero	1ª ordem	Ordem zero	1ª ordem	Ordem zero	1ª ordem
ANT	0,3039	0,8061	0,8290	0,9645	0,8326	0,9957
NAF	0,7297	0,9199	0,8373	0,9232	0,7191	0,9300
1-ME	0,5882	0,9560	0,9515	0,9787	0,9866*	0,9184
FLU	0,9501*	0,7829	0,9651	0,9931	0,9651	0,9931
FEN	0,8074	0,9360	0,8500	0,9945	0,8702	0,9783

A Tabela 28 apresenta as constantes cinéticas para a degradação de HPAs por ozonização em solução aquosa e em amostras reais, efluente hospitalar e águas superficiais.

Tabela 28 – Constantes cinéticas (k) para a degradação de HPAs em solução aquosa e constantes cinéticas aparentes (k_{ap}) para a degradação em efluente hospitalar e águas superficiais, aplicando ozonização.

Analito	Solução aquosa ^a	Efluente hospitalar ^a	Águas superficiais ^a
ANT	$5,45 \times 10^{-1}$	$1,55 \times 10^{-1}$	$2,50 \times 10^{-1}$
NAF	$5,81 \times 10^{-1}$	$3,38 \times 10^{-1}$	$2,49 \times 10^{-1}$
1-ME	$20,52 \times 10^{-1}$	$4,61 \times 10^{-1}$	$1,73 \times 10^{-1(c)}$
FLU	$2,70 \times 10^{-1(b)}$	$3,08 \times 10^{-1}$	$3,08 \times 10^{-1}$
FEN	$7,39 \times 10^{-1}$	$6,26 \times 10^{-1}$	$4,50 \times 10^{-1}$

a: k , em min^{-1} , cinética de primeira ordem.

b: k , em $\mu\text{g L}^{-1} \text{min}^{-1}$, cinética de ordem zero.

c: k_{ap} , em $\mu\text{g L}^{-1} \text{min}^{-1}$, cinética de ordem zero.

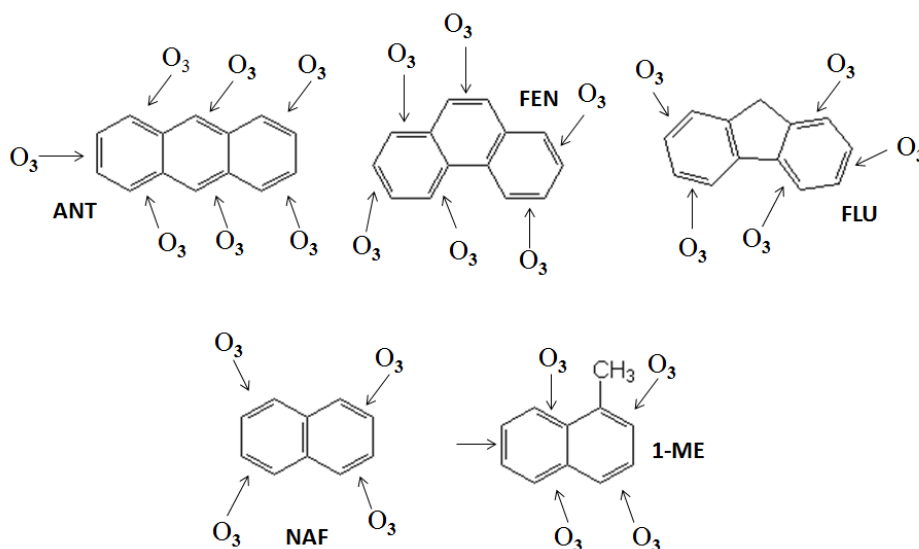
No presente trabalho observou-se o predomínio de reações de primeira ordem; este fato também é observado por BEDJANIAN e NGUYEN (2010), que utilizaram ozonização na degradação de HPAs em amostras de ar.

Em 2012, GÓMEZ-ALVAREZ et al., aplicaram ozonização na degradação de ANT em amostras de solo. A degradação completa do analito foi observada entre 15 e 30 min de tratamento da amostra com ozônio. Os resultados reportados, relacionando tempos de degradação, condizem com os resultados obtidos no presente trabalho para ANT e para os demais HPAs, porém, alguns analitos, no presente estudo apresentam degradação em 10 min de reação, em pH 9, em amostras reais.

A menor efetividade na degradação de HPAs em pH ácido observada em solução aquosa e amostras reais, deste trabalho, está relacionada à seletividade do ozônio como oxidante e, com o fato do aumento da geração de radicais livres com a elevação do pH. Estes radicais reagem não seletivamente com os microcontaminantes e com os demais contaminantes orgânicos presentes nas amostras reais.

HAO et al. (2012) empregaram pH 7 na ozonização catalítica dos HPAs FEN e PIR, evidenciando, mais uma vez, que em pH ácido a degradação de HPAs é menos efetiva. O ozônio é um eletrófilo altamente seletivo e os HPAs investigados contém sítios reativos para reação com ozônio – os anéis aromáticos (Figura 51).

Figura 51 – Sítios de ataque esperados para a reação entre os HPAs e ozônio.



Fonte: adaptado de *Chemical Structure Drawing Software*.

Ademais, é conhecido que, para pH acima de 5, a decomposição de ozônio aumenta com a elevação do pH, intensificando o mecanismo radicalar e a formação de radicais HO·.

5 CONCLUSÕES

Os métodos de extração desenvolvidos, de SPE e DLMME, apresentaram ambos boas taxas de recuperação, com destaque para a microextração – uma nova opção para a extração de HPAs de amostras ambientais (aqui, efluente hospitalar e águas superficiais). A DLLME mostrou vantagens em relação a SPE, tais como, simplicidade, fácil execução, rapidez, baixo custo e reduzido consumo de solventes, altas recuperações e compatibilidade com métodos analíticos cromatográficos, em geral.

O método cromatográfico (HPLC-FLD) desenvolvido para a quantificação de HPAs, também, se mostrou adequado aos propósitos, com curva de calibração ($r^2=0,999$), bastante seletivo e com limites de quantificação satisfatórios.

ANT e PIR apresentaram concentrações abaixo do LQ em todos os pontos de amostragem, tanto usando-se extração com SPE quanto com DLLME. Usando-se SPE, as mais altas concentrações de HPAs foram encontradas em amostras de águas superficiais do córrego do Campus da UFSM (5,4 a 21,5 $\mu\text{g L}^{-1}$), como também com DLLME (3,2 a 19,7 $\mu\text{g L}^{-1}$).

Na avaliação preliminar de risco ambiental, NAF, 1-ME e FEN apresentaram risco moderado pela ocorrência em todas as amostras reais. Porém, FLU, ANT e PIR, constituem alto risco, sendo motivo de preocupação, uma vez que além da ocorrência em tais concentrações, são também considerados mutagênicos e carcinogênicos.

Empregando-se fotocatalise heterogênea, as melhores taxas de degradação foram obtidas em pH 9 e a 35 °C, em solução aquosa; já para amostras de água superficial e de efluente hospitalar, pH 7 e 30 °C. O método fotocatalítico utilizando TiO_2 suportado em polímero (PDMS) mostrou-se muito eficiente para a degradação de HPAs em águas superficiais e em efluente hospitalar, uma vez que todos os analitos foram completamente degradados em 60 min de irradiação. Foi observada cinética de primeira ordem para a degradação fotocatalítica dos HPAs em solução aquosa e águas superficiais; mas para amostras de efluente hospitalar obteve-se cinética de ordem zero.

Foram identificados nove subprodutos de degradação fotocatalítica de ANT, quatro para FEN e cinco para NAF, por GC-MS. Foram propostas possíveis rotas de fragmentação, essencialmente, envolvendo de reações de hidroxilação e de rearranjo molecular.

No processo de ozonização de HPAs, as melhores taxas de degradação em solução aquosa e em amostras reais foram observadas em pH 9. Nesta condição, o mecanismo

radicalar é favorecido , bem como a formação de radicais HO·, o que promove a degradação dos analitos no intervalo de apenas 5 a 15 minutos nas condições otimizadas. O estudo cinético evidenciou, de forma predominante, reações de primeira ordem para todas as amostras estudadas, confirmando resultados reportados na literatura.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Aplicação de outras técnicas de microextração para a determinação de HPAs em amostras de águas superficiais e efluente hospitalar.
- Estudo de outros PAOs, além de fotólise, fotocátalise heterogênea e ozonização, para avaliar a degradação de HPAs em amostras reais.
- Comparar o uso de outros reatores para a aplicação de fotólise, fotocátalise heterogênea e ozonização.
- Emprego de outros catalisadores no estudo da degradação fotocatalítica de HPAs.
- Investigação dos subprodutos de degradação de HPAs após a aplicação de ozonização.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, C. A.A. et al. Determination of anti-anxiety and anti-epileptic drugs in hospital effluent and a preliminary risk assessment. **Chemosphere**, 93, 2349–2355, 2013.
- ALMEIDA, C. A.A. et al. Determination of the psychoactive drugs carbamazepine and diazepam in hospital effluent and identification of their metabolites. **Environ Sci Pollut Res**, 22, 17192–17201, 2015.
- ALTISSIMO, J. 2016. **Desenvolvimento de Método de Quantificação de Estatinas em Efluente Hospitalar e Estudo de Degradação Oxidativa Avançada**. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria, RS.
- ANVISA. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003.
- AUDEBERT, M. et al. Comparative potency approach based on H2AX assay for estimating the genotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Toxicology and Applied Pharmacology**, 260, 58–64, 2012.
- APHA-AWWA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 20th ed., American Public Health Association, USA, 1998.
- AUGUGLIARO, V. et al. Overview on oxidation mechanisms of organic compounds by TiO₂ in heterogeneous photocatalysis. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, 13, 224–245, 2012.
- BARBOSA, E. S. et al. Otimização e validação da extração sólido-líquido e purificação em baixa temperatura de HPAs em lodo de esgoto. **Química Nova**, Vol. 37, No. 3, 404-410, 2014.
- BARCO-BONILLA, N. et al. Comprehensive analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in wastewater using stir bar sorptive extraction and gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, 693, 62-71, 2011.
- BAUR, L., 2012. **Estudo e identificação de nitrogênio em efluente de curtume**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal do Rio Grande do Sul
- BEDJANIAN, Y.; NGUYEN, M. L. Kinetics of the reactions of soot surface-bound polycyclic aromatic hydrocarbons with O₃. **Chemosphere**, 79, 387–393, 2010.
- BEZERRA, M. A. et al. Response Surface Methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, 76, 965-977, 2008.
- BEYER, J. et al. Analytical methods for determining metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) pollutants in fish bile: A review. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, 30, 224–244, 2010.

BIANCHI, F et al. Magnetic solid-phase extraction based on diphenyl functionalization of Fe₃O₄ magnetic nanoparticles for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in urine samples. **Journal of Chromatography A**, 1231, 8–15, 2012.

BRENNER, C. G. B. 2013. **Antiandrogênios em efluente hospitalar: extração com barras poliméricas, quantificação, identificação de metabólitos e subprodutos, proposição de rotas de degradação por processos avançados de oxidação**. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria, RS.

BRENNER, C. G. B. et al. Determination of Sulfamethoxazole and Trimethoprim and Their Metabolites in Hospital Effluent. **Clean-Soil Air Water**, 39, 28-34, 2011.

BRILLAS, E., SIRÉS, I.; OTURAN, M A. Electro-Fenton process and related electrochemical technologies based on Fenton's reaction chemistry. **Chemical reviews**, 109(12), 6570-631, 2009.

BRUM, D. M.; NETO, A. D. P. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Tripuí River, Ouro Preto, MG, Brazil. **Journal of Hazardous Materials**, 165, 447–453, 2009.

CALDAS, S. S. et al. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. **Química Nova**, Vol. 34, No. 9, 1604-1617, 2011.

CAVALCANTE, R. M. et al. Utilização da extração em fase sólida (SPE) na determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em matrizes aquosas ambientais. **Quim. Nova**, Vol. 30, No. 3, 560-564, 2007.

CHAN, P. Y.; EL-DIN, M. G.; BOLTON, J. R. A solar-driven UV/Chlorine advanced oxidation process. **Water Research**, 46, 5672–5682, 2012.

CHEN, X. et al. Ozonation products of triclosan in advanced wastewater treatment. **Water Research**, 46, 2247-2256, 2012.

CHONG, M.N. et al. Recent development in photocatalytic water treatment technology: A review. **Water Research**, 44, 227-3027, 2010.

CHUNG, T. -Y.; LIAO, C. -J.; CHEN, M. F. Comparison of liquid–liquid extraction and solid-phase extraction for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in the milk of Taiwan. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, 41, 178–183, 2010.

CONAMA. Conselho Nacional Do Meio Ambiente. Resolução N° 430, de 13 de maio de 2011.

CONSEMA. Conselho Estadual Do Meio Ambiente. Resolução N° 128, de 07 de dezembro de 2006.

DA ROCHA, O. R. S. et al. Oil sludge treatment by photocatalysis applying black and white light. **Chemical Engineering Journal**, 157, 80–85, 2010.

DA SILVA, D. S. 2012. **BTEX: Desenvolvimento de barras de extração sortiva, determinação em efluente hospitalar e degradação por meio de fotocatalise heterogênea com TiO₂ suportado em polímeros.** Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, RS.

DA SILVA, D. S. et al. PDMS extraction bars for the determination of volatile aromatic hydrocarbons in water and wastewater. **Journal of Separation Science**, 36, 362-368, 2013.

DALLAGO, R. M. et al. Estudo da degradação fotocatalítica de dimetil dissulfeto: avaliação estatística do efeito do pH da temperatura e concentração do contaminante orgânico. **Quim. Nova**, Vol. 32, No. 2, 343-347, 2009.

DESLER, C.; JOHANNESSEN, C.; RASMUSSEN, L. J. Repair of DNA damage induced by anthanthrene, a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) without bay or fjord regions. **Chemico-Biological Interactions**, 177, 212–217, 2009.

DI PAOLA et al. A survey of photocatalytic materials for environmental remediation. **Journal of Hazardous Materials**, 211–212, 3–29, 2012.

DOST, K.; IDELI, C. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils and barbecued food by HPLC/UV–Vis detection. **Food Chemistry**, 133, 193–199, 2012.

ENE, A.; BOGDEVICH, O.; SION, A. Levels and distribution of organochlorine pesticides (OCPs) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in topsoils from SE Romania. **Science of the Total Environment**, 439, 76–86, 2012.

EPA. Environmental Protection Agency. Método 8310, 1986.

FARAHANI, H. et al. Development of dispersive liquid–liquid microextraction combined with gas chromatography–mass spectrometry as a simple, rapid and highly sensitive method for the determination of phthalate esters in water samples. **Journal of Chromatography A**, 1172, 105–112, 2007.

FARHADI, K.; TAHMASEBI, R.; MALEKI, R. Preparation and application of the titania sol–gel coated anodized aluminum fibers for headspace solid phase microextraction of aromatic hydrocarbons from water samples. **Talanta**, 77, 1285-1289, 2009.

FERREIRA, S. L. C. et al. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. **Analytica Chimica Acta**, 597, 179–186, 2007.

FOAN, L.; SIMON, V. Optimization of pressurized liquid extraction using a multivariate chemometric approach and comparison of solid-phase extraction cleanup steps for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in mosses. **Journal of Chromatography A**, 1256, 22–31, 2012.

GE, D.; LEE, H. K. Water stability of zeolite imidazolate framework 8 and application to porous membrane-protected micro-solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from environmental water samples. **Journal of Chromatography A**, 1218, 8490–8495, 2011.

GLAZE, W.H., 1987. **Drinking-water treatment with ozone. Environmental Science & Technology**, 3(21), pp.224-230.

GÓMEZ-ALVAREZ, M. et al. Anthracene decomposition in soils by conventional ozonation. **Journal of Environmental Management**, 113, 545–551, 2012

GONZALEZ, M. G. et al. Vacuum-ultraviolet photolysis of aqueous reaction systems. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, 5, 225-246, 2004.

GOSETTI, F. et al. Simultaneous determination of thirteen polycyclic aromatic hydrocarbons and twelve aldehydes in cooked food by an automated on-line solid phase extraction ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, 1218, 6308–6318, 2011.

GOTTSCHALK, C., LIBRA, J.A. & SAUPE, A., 2000. *Ozonation of water and wastewater: a practical guide to understanding ozone and its application*, Ed. Wiley-VCH, Alemanha.

GRUBBS, F. E., Procedure of detectin outlying observations in samples. **Taylor & Francis Groups**. v. 11, p. 1-21, 1969.

HAN, Q. et al. Facile and tunable fabrication of Fe₃O₄/graphene oxide nanocomposites and their application in the magnetic solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from environmental water samples. **Talanta**, 101, 388–395, 2012.

HAQUE, M.M.; MUNEEER, M. Photodegradation of norfloxacin in aqueous suspensions of titanium dioxide. **J. Hazard. Mater.**, 145, 51-57, 2007.

HARMENS, H.; FOAN, L.; SIMON, V.; MILLS, G. Terrestrial mosses as biomonitors of atmospheric POPs pollution: A review. **Environmental Pollution**, 173, 245–254, 2013.

HASHIMOTO, K.; IRIE, H.; FUJISHIMA, A. TiO₂ photocatalysis: a historical overview and future perspectives. **Journal of Applied Physics**, 44, 8269-8285, 2005.

HELENO, F. F. et al. Otimização e validação de métodos analíticos para determinação de BTEX em água utilizando extração por *headspace* e microextração em fase sólida. **Química Nova**, v. 33, n. 2, p. 329-336, 2010.

HENNION, M.-C. Solid-phase extraction: method development , sorbents , and coupling with liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, 856, .3-54, 1999.

HENRIQUES, D. M. et al. Nonylphenol polyethoxylate in hospital wastewater: A study of the subproducts of electrocoagulation. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, 47, 1–9, 2012.

HERRMANN, J. Photocatalysis fundamentals revisited to avoid several misconceptions. **Applied Catalysis B: Environmental**, 99, 461-468, 2010.

HIJOSA-VALSERO, M. et al. Chemical pollution in inland shallow lakes in the Mediterranean region (NW Spain): PAHs, insecticides and herbicides in water and sediments. **Science of the Total Environment**, 544,797–810, 2016.

HAO, L; HUIPING, D; JUN, S. Activated carbon and cerium supported on activated carbon applied to the catalytic ozonation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 363–364, 101–107, 2012.

HU, C. et al. A sol–gel polydimethylsiloxane/polythiophene coated stir bar sorptive extraction combined with gas chromatography-flame photometric detection for the determination of organophosphorus pesticides in environmental water samples. **Journal of Chromatography A**, 1275, 25–31, 2013.

HUANG, Y.; ZHOU, Q.; XIE, G. Development of micro-solid phase extraction with titanate nanotube array modified by cetyltrimethylammonium bromide for sensitive determination of polycyclic aromatic hydrocarbons from environmental water samples. **Journal of Hazardous Materials**, 193, 82–89, 2011.

ICH, 2005. International Conference on Harmonization. ICH Q2 (R1): Validation of Analytical Procedures — Text and Methodology, Geneva, Switzerland, 2005. *Text*, 2.

ILIEV, V. et al. Influence of the size of gold nanoparticles deposited on TiO₂ upon the photocatalytic destruction of oxalic acid. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, 263, 32–38, 2007.

INMETRO. Orientação sobre validação de métodos analíticos - DOQ-CGCRE-008, 2011.

ISHIZAKI, A. et al. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in food samples by automated on-line in-tube solid-phase microextraction coupled with high-performance liquid chromatography-fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**, 1217, 5555–5563, 2010.

JIA, H. et al. Photodegradation of phenanthrene on cation-modified clays under visible light. **Applied Catalysis B: Environmental**, 123–124, 43–51, 2012.

KAMANKESH, M. et al. Rapid determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in grilled meat using microwave-assisted extraction and dispersive liquid–liquid microextraction coupled to gas chromatography–mass spectrometry. **Meat Science**, 103 61–67, 2015.

KAZAKEVICH, Y.; LOBRUTTO, R., 2007. *HPLC for pharmaceutical scientists* Y. Kazakevich & R. LoBrutto, eds., Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons.

KHALILI-FARD, V. et al. Application of sulfur microparticles for solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from sea water and wastewater samples. **Analytica Chimica Acta**, 714, 89–97, 2012.

KHAN, U. et al. UV and solar TiO₂ photocatalysis of brevetoxins (PbTx). **Toxicon**, 55, 1008-1016, 2010.

KLAVARIOTI, M.; MANTZAVINOS, D. & KASSINOS, D. Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes. **Environment International**, 35, 402–417, 2009.

KOCÚROVÁ, L. et al. Recent advances in dispersive liquid–liquid microextraction using organic solvents lighter than water. A review. **Microchemical Journal**, 102, 11–17, 2012.

KOU, J. et al. Photocatalytic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in GaN:ZnO solid solution-assisted process: Direct hole oxidation mechanism. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, 325, 48–54, 2010.

KRÜGER, O. et al. Comparison of stir bar sorptive extraction (SBSE) and liquid–liquid extraction (LLE) for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in complex aqueous matrices. **Talanta**, 85, 1428–1434, 2011.

KRÜGER, O. et al. Sorption effects interfering with the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in aqueous samples. **Talanta**, 122, 151–156, 2014.

KWAMENA, A.N.O. et al. Kinetic and product yield study of the heterogeneous gas-surface reaction of anthracene and ozone. **J. Phys. Chem. A**, 110, 3638–3646, 2006.

LAGERQVIST, A. et al. Structural requirements for mutation formation from polycyclic aromatic hydrocarbon dihydrodiol epoxides in their interaction with food chemopreventive compounds. **Food and Chemical Toxicology**, 49, 879–886, 2011.

LAMSAL, R.; WALSH, M. E.; GAGNON, G. A. Comparison of advanced oxidation processes for the removal of natural organic matter. **Water Research**, 45, 3263–3269, 2011.

LEONG, M. I. et al. Low toxic dispersive liquid–liquid microextraction using halosolvents for extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples. **Journal of Chromatography A**, 1217, 5455–5461, 2010.

LEONG, M. I.; FUH, M. R.; HUANG, S. D. Beyond dispersive liquid–liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, 1335, 2–14, 2014.

LI, B. et al. Rapid Determination Method for 12 Pyrethroid Pesticide Residues in Tea by Stir Bar Sorptive Extraction-Thermal Desorption-Gas Chromatography. **Physics Procedia**, 25, 1776 – 1780, 2012.

LIU, F. et al. Pollution characteristics, ecological risk and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface sediment from Tuhai-Majia River system, China. **Procedia Environmental Sciences**, 13, 1301–1314, 2012.

LIU, Y. et al. Determination of Trace Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Surface Sediments of Huangpu River Using High Performance Liquid Chromatography. **Chin J Chromatogr**, 25(3), 356–361, 2007.

LORENZO, J. M. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in two Spanish traditional smoked sausage varieties: “Chorizo gallego” and “Chorizo de cebolla”. **Meat Science**, 89, 105–109, 2011.

LU, S. –Y. et al. Photocatalytic decomposition on nano-TiO₂: Destruction of chloroaromatic compounds. **Chemosphere**, 82, 1215–1224 2011.

a-MA, B. et al. Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the rhizosphere: Synthesis through meta-analysis. **Environmental Pollution**, 158, 855–86, 2010.

b-MA, J. et al. Determination of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental water samples by solid-phase extraction using multi-walled carbon nanotubes as adsorbent coupled with gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, 1217, 5462–5469, 2010.

MALATO, S. et al. Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: Recent overview and trends. **Catalysis Today**, 147, 1-59, 2009.

MAO, X. et al. Stir bar sorptive extraction approaches with a home-made portable electric stirrer for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds in environmental water. **Journal of Chromatography A**, 1260, 16–24, 2012.

MAPA. Guia de Validação e Controle de Qualidade Analítica, 2011.

MARTINS, A. F. Advanced oxidation processes applied to effluent streams from an agrochemical industry. **Pure & Appl. Chem.**, 70, 2271-2279, 1998.

MARTINS, A.F. et al. Concentration of Ciprofloxacin in Brazilian hospital effluent and preliminary environmental risk assessment: A Case Study. **Clean-Soil Air Water**, 36, 264-269, 2008.

MARTINS, A.F. et al. A Study of Photocatalytic Processes Involving the Degradation of the Organic Load and Amoxicillin in Hospital Wastewater. **Clean-Soil Air Water**, 37, 365-371, 2009.

MARTINS, A. F. et al. Occurrence of the Antimicrobials Sulfamethoxazole and Trimethoprim in Hospital Effluent and Study of Their Degradation Products after Electrocoagulation. **Clean-Soil Air Water**, 39, 21-27, 2011.

MARTINS, M. L. Microextração Líquido-Líquido Dispersiva (DLLME): fundamentos e aplicações. **Scientia Chromatographica**, 4(1), 35-51, 2012.

MAYER, F. M. 2013. **Parabenos em efluente hospitalar: quantificação e identificação de metabólitos e subprodutos de oxidação avançada**. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, RS.

MENG, Y.; ANDERSON, J. L. Tuning the selectivity of polymeric ionic liquid sorbent coatings for the extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons using solid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, 1217, 6143–6152, 2010.

MILLS, A. et al. Thick titanium dioxide films for semiconductor photocatalysis. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, 160, 185–194, 2003.

MINABE, T. et al. TiO₂-mediated photodegradation of liquid and solid organic compounds. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, 137, 53–62, 2000.

MINETTO, L. 2009. Reatores de discos rotativos e tubular helicoidal na degradação fotocatalítica de diclofenaco e carga orgânica de efluente hospitalar. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, RS.

MIRSADEGHI, S. A. et al. Risk assessment for the daily intake of polycyclic aromatic hydrocarbons from the ingestion of cockle (*Anadara granosa*) and exposure to contaminated water and sediments along the west coast of Peninsular Malaysia. **Journal of Environmental Sciences**, 23, 336–345, 2011.

MELO, S. A. S. et al. Degradação de fármacos por processos oxidativos avançados. **Química Nova**, 32, 188-197, 2009.

MOHAMMADI, A. et al. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fish samples by a new microextraction technique and method optimization using response surface methodology. **Food Chemistry**, 141, 2459–2465, 2013.

MOHAMMADI, S. Z. Dispersive liquid-liquid microextraction for the simultaneous separation of trace amounts of zinc and cadmium ions in water samples prior to flame atomic absorption spectrometry determination. **Quím. Nova**, 35, 198-202, 2012.

MOHAMMADI, V. G. et al. Microwave-assisted extraction and dispersive liquid–liquid microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry for isolation and determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fish. **Journal of Chromatography A**, 1237, 30– 36, 2012.

MOLINARI, R. et al. Heterogeneous photocatalytic degradation of pharmaceuticals in water by using polycrystalline TiO₂ and a nanofiltration membrane reactor. **Catal. Today**, 118, 205-213, 2006.

MOZIA, S. Photocatalytic membrane reactors (PMRs) in water and wastewater treatment. A review. **Sep. Purif. Technol.**, 73, 71–91, 2010.

MUFF, J.; SØGAARD, E. G. Identification and fate of halogenated PAHs formed during electrochemical treatment of saline aqueous solutions. **Journal of Hazardous Materials**, 186, 1993–2000, 2011.

NAKATA, K. et al. Photoenergy conversion with TiO₂ photocatalysis: New materials and recent applications. **Electrochimica Acta**, 84, 103–111, 2012.

NIKOLAOU, A. et al. Levels and toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediments. **Trends in Analytical Chemistry**, 28, 653-664, 2009.

OHTANI, B. Photocatalysis A to Z—What we know and what we do not know in a scientific sense. **Journal of Photochemistry and Photobiology C**, 11, 157-178, 2011.

OKUDA, T. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the aerosol in Beijing, China, measured by aminopropylsilane chemically-bonded stationary-phase column chromatography and HPLC/fluorescence detection. **Chemosphere**, 65, 427–435, 2006.

OZCAN, S.; TOR, A.; AYDIN, M. E. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in waters by ultrasound-assisted emulsification-microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, 665, 193–199, 2010.

PANDEY, S. K.; KIM, K. -H.; BROWN, R. J. C. A review of techniques for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in air. **Trends in Analytical Chemistry**, 30, 1716–1738, 2011.

PAZ, Y. Preferential photodegradation – why and how? **C. R. Chimie**, 9, 774-787, 2006.

PENA-PEREIRA, F. et al. Rapid screening of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in waters by directly suspended droplet microextraction-microvolume fluorospectrometry. **Talanta**, 89, 217–222, 2012.

PÉREZ-CARRERA, E. et al. Simultaneous determination of pesticides, polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in seawater and interstitial marine water samples, using stir bar sorptive extraction–thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, 1170, 82-90, 2007.

PÉREZ-GREGORIO, M. R. et al. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from organic solvents by ashes wastes. **Journal of Hazardous Materials**, 178, 273–281, 2010.

PERRAUDIN, E.; BUDZINSKI H.; VILLENAVE, E. Identification and quantification of ozonation products of anthracene and phenanthrene adsorbed on silica particles. *Atmos. Environ.*, 41, 6005–6017, 2007.

PIETZSCH, R.; PATCHINEELAM, S.R.; TORRES, J. P. M. Polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediments from a subtropical estuary in Brazil. **Marine Chemistry**, 118, 56–66, 2010.

PLATT, K. L.; GRUPE, S.; FICKLER, M. The 3,4-oxide is responsible for the DNA binding of benzo[ghi]perylene, a polycyclic aromatic hydrocarbon without a “classic” bay-region. **Chemico-Biological Interactions**, 176, 179–187, 2008.

PURCARO, G.; MORET, S.; CONTE, L. S. Optimisation of microwave assisted extraction (MAE) for polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) determination in smoked meat. **Meat Science**, 81, 275–280, 2009.

QUIROZ, R.; GRIMALT, J. O.; FERNÁNDEZ, P. Toxicity assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from European high mountain lakes. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 73, 559–564, 2010.

RAZAVI, B. et al. Treatment of statin compounds by advanced oxidation processes: Kinetic considerations and destruction mechanisms. **Radiation Physics and Chemistry**, 80, 453-461, 2011.

REZAEI, M. et al. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, 1116, 1–9, 2006.

REZAEI, M.; Yamini, Y.; Faraji, M. Evolution of dispersive liquid-liquid microextraction method. **Journal of Chromatography A**, 1217, 2342–2357, 2010.

REUNGOAT, et al. Ozonation and biological activated carbon filtration of wastewater treatment plant effluents. **Water Research**, 46, 863–872, 2012.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Quim. Nova**, 27, 771–780, 2004.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos**. Campinas: Casa do Espírito Amigo Fraternidade Fé e Amor, 2009.

SANAGI, M. M. et al. Agarose film liquid phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water. **Journal of Chromatography A**, 1262, 43–48, 2012.

SÁNCHEZ-AVILA, J. et al. Stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry: An effective tool for determining persistent organic pollutants and nonylphenol in coastal waters in compliance with existing Directives. **Marine Pollution Bulletin**, 60, 103–112, 2010.

SANCHES, S. et al. Direct photolysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in drinking water sources. **Journal of Hazardous Materials**, 192, 1458–1465, 2011.

SANTOS, C.; GOMES, A.; ROSEIRO, L. C. Polycyclic aromatic hydrocarbons incidence in Portuguese traditional smoked meat products. **Food and Chemical Toxicology**, 49, 2343–2347, 2011.

SARAFRAZ-YAZDI, A.; RAZAVI N., YAZDINEJAD S. R. Separation and determination of amitriptyline and nortriptyline by dispersive liquid-liquid microextraction combined with gas chromatography flame ionization detection. **Talanta**, 75, 1293–1299, 2008.

SARAFRAZ-YAZDI, A.; AMIRI. Liquid-phase microextraction. **Trends in Analytical Chemistry**, 29, 1–13, 2010.

SARRIA-VILLA, R. et al. Presence of PAHs in water and sediments of the Colombian Cauca River during heavy rain episodes, and implications for risk assessment. **Science of the Total Environment**, 540, 455–465, 2016.

SCHRÖDER, B. et al. Prediction of environmental parameters of polycyclic aromatic hydrocarbons with COSMO-RS. **Chemosphere**, 79, 821–829, 2010.

SERPE, F. P. et al. Optimisation and validation of an HPLC method for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in mussels. **Food Chemistry**, 122, 920–925, 2010.

SHAMSIPUR, M.; HASSAN, J. A novel miniaturized homogenous liquid-liquid solvent extraction-high performance liquid chromatographic-fluorescence method for determination

of ultra traces of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment samples. **Journal of Chromatography A**, 1217, 4877–4882, 2010.

SHAO, J. et al. Electron-accepting potential of solvents determines photolysis rates of polycyclic aromatic hydrocarbons: Experimental and density functional theory study. **Journal of Hazardous Materials**, 179, 173–177, 2010.

SHARMA, V K. Oxidative transformations of environmental pharmaceuticals by Cl₂, ClO₂, O₃, and Fe(VI): Kinetics assessment. **Chemosphere**, 73(9), 1379-1386, 2008.

SILLANPÄÄ, M. E. T.; KURNIAWAN, T. A.; LO, W-h. Degradation of chelating agents in aqueous solution using advanced oxidation process (AOP). **Chemosphere**, 83, 1443–1460, 2011.

SILVA, C. P.; OTERO, M. & ESTEVES, V. Processes for the elimination of estrogenic steroid hormones from water: A review. **Environmental Pollution**, 165, 38-58, 2012.

SIEMERS A. K. et al. Development and application of a simultaneous SPE-method for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), alkylated PAHs, heterocyclic PAHs (NSO-HET) and phenols in aqueous samples from German Rivers and the North Sea. **Chemosphere**, 122, 105–114, 2015.

STÖCKL, D., D'HONDT, H., THIENPONT, L.M. Method validation across the disciplines—Critical investigation of major validation criteria and associated experimental protocols. **Journal of Chromatography B**, 877, 2180–2190, 2009.

TIBURTIUS, E. R. L.; PERALTA-ZAMORA, P.; LEAL, E. S. Contaminação de águas por BTXs e processos utilizados na remediação de sítios contaminados. **Química Nova**, 27, 441-446, 2004.

TIBURTIUS, E. R. L.; PERALTA-ZAMORA, P.; EMMEL, A. Degradação de benzeno, tolueno e xilenos em águas contaminadas por gasolina, utilizando-se processos foto-Fenton. **Química Nova**, 32, 2058-2063, 2009.

TFOUNI, S. A. V. et al. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in cachaça by HPLC with fluorescence detection. **Food Chemistry**, 101, 334–338, 2007.

TFOUNI, S. A. V. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee brew: Influence of roasting and brewing procedures in two *Coffea* cultivars. **Food Science and Technology**, 50, 526-530, 2012.

TSENG, W. C.; CHEN, P. S.; HUANG, S. D. Optimization of two different dispersive liquid–liquid microextraction methods followed by gas chromatography–mass spectrometry determination for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) analysis in water. **Talanta**, 120, 425–432, 2014.

a-VASCONCELOS, T. G. et al. Ciprofloxacin in hospital effluent: Degradation by ozone and photoprocesses. **Journal of Hazardous Materials**, 169, 1154-1158, 2009.

b-VASCONCELOS, T. G. et al. Photo-degradation of the antimicrobial ciprofloxacin at high pH: Identification and biodegradability assessment of the primary by-products. **Chemosphere** 76, 487-493, 2009.

VELA, N. et al. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from groundwater by heterogeneous photocatalysis under natural sunlight. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, 232, 32–40, 2012.

VENNY; GAN, S.; NG, K. H. Modified Fenton oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated soils and the potential of bioremediation as post-treatment. **Science of the Total Environment**, 419, 240–249, 2012.

VERLICCHI, P. et al. Hospital effluents as a source of emerging pollutants: An overview of micropollutants and sustainable treatment options. **Journal of Hydrology**, 389, 416-428, 2010.

VERLICCHI P., AL AUKIDY M., ZAMBELLO E., What have we learned from worldwide experiences on the management and treatment of hospital effluent? — An overview and a discussion on perspectives, **Science of The Total Environment**, v. 514, p. 467-491, 2015.

VIENO, N.M., TUHKANEN, T. e KRONBERG, L. Analysis of neutral and basic pharmaceuticals in sewage treatment plants and in recipient rivers using solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry detection. **Journal of Chromatography A**, 1134, 101-11, 2006.

WANG, D. -Q. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides in fish from Taihu Lake: Their levels, sources, and biomagnification. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 82, 63–70, 2012.

WANG, H.; CHEN, X. Kinetic analysis and energy efficiency of phenol degradation in a plasma-photocatalysis system. **Journal of Hazardous Materials**, 186, 1888-1892, 2011.

a-WANG, H. et al. Analysis of TiO₂ photocatalysis in pulsed discharge system for phenol degradation. **Journal of Electrostatics**, 67, 886-889, 2009.

b-WANG, Y. et al. Photodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbon pyrene by iron oxide in solid phase. **Journal of Hazardous Materials**, 162, 716–723, 2009.

WILDE, M. L. 2006. **Tratamento de efluente da produção de trifluralina por oxidação-coagulação com ferrato de potássio e processos Fenton combinados**. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, RS.

WILDE, M. L. 2011. **Beta-bloqueadores em efluente hospitalar: ocorrência, degradação por processos avançados de oxidação e identificação de subprodutos**. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria, RS.

WILDE, M.L.; KÜMMERER, K.; MARTINS, A. F. Multivariate Optimization of Analytical Methodology and a First Attempt to an Environmental Risk Assessment of β -Blockers in Hospital Wastewater. **J. Braz. Chem. Soc.** Vol. 00, No. 00, 1–9, 2012.

WILDE, M. L. et al. Oxidation coagulation of β -blockers by K_2FeVIO_4 in hospital wastewater: Assessment of degradation products and biodegradability. **Sci Total Environ**, 443, 351–357 2013.

WILDE, M.L.; MONTIPÓ, S.; MARTINS, A. F. Degradation of β -blockers in hospital wastewater by means of Ozonation and Fe^{2+} /Ozonation. **Water Research**, 48, 280–295, 2014.

WOO, O. T. et al. Photocatalytic oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons: Intermediates identification and toxicity testing. **Journal of Hazardous Materials**, 168, 1192–1199, 2009.

WU, Y. et al. Headspace single drop microextraction combined with HPLC for the determination of trace polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental samples. **Talanta**, 74, 470–477, 2008.

XIA, Z. et al. Pollution level, inhalation exposure and lung cancer risk of ambient atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Taiyuan, China. **Environmental Pollution**, 173, 150–156, 2013.

XU, C. et al. Photolysis of polycyclic aromatic hydrocarbons on soil surfaces under UV irradiation. **Journal of Environmental Sciences**, 25, 569–575, 2013.

XU, H. et al. A novel dispersive liquid–liquid microextraction based on solidification of floating organic droplet method for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous samples. **Analytica Chimica Acta**, 636, 28–33, 2009.

YANG, B. et al. Risk assessment and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in agricultural soils of Huanghuai plain, China. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 84, 304–310, 2012.

YANG, L.; YU, L. E.; RAY, M. B. Degradation of paracetamol in aqueous solutions by TiO_2 photocatalysis. **Water research**, 42, 3480–3488, 2008.

YAP, C. L.; GAN, S.; NG, K. H. Ethyl lactate-Fenton treatment of soil highly contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). **Chemical Engineering Journal**, 200–202, 247–256, 2012.

YEBRA-PIMENTEL, I. et al. The potential of solvent-minimized extraction methods in the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in fish oils. **Food Chemistry**, 139, 1036–1043, 2013.

ZHANG, H.; XUE, M.; DAI, Z. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in aquatic products by HPLC-fluorescence. **Journal of Food Composition and Analysis**, 23, 469–474, 2010.

a-ZHANG, K. et al. Calculated respiratory exposure to indoor size-fractioned polycyclic aromatic hydrocarbons in an urban environment. **Science of the Total Environment**, 431, 245–251, 2012.

b-ZHANG, K. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in upstream riverine runoff of the Pearl River Delta, China: An assessment of regional input sources. **Environmental Pollution**, 167, 78–84, 2012.

c-ZHANG, W. et al. The behaviors and fate of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in a coking wastewater treatment plant. **Chemosphere**, 88, 174–182, 2012.

ZHANG, W. et al. Effects of anions on the photocatalytic and photoelectrocatalytic degradation of reactive dye in a packed-bed reactor. **J. Chem. Technol. Biotechnol.**, 80, 223–229, 2005.

ZHAO, E. et al. Application of dispersive liquid-liquid microextraction for the analysis of organophosphorus pesticides in watermelon and cucumber. **Journal of Chromatography A**, 1175, 137–140, 2007.

8 ANEXOS

Anexo A – Caracterização físico-química de águas superficiais da UFSM e efluente do HUSM.



LAQIA - LABORATÓRIO DE ANÁLISES QUÍMICAS INDUSTRIAIS E AMBIENTAIS

Reg. CRQ 5ª. 4.164

Setor de Química Industrial e Ambiental

Depto. de Química/CCNE – Universidade Federal de Santa Maria

SANTA MARIA, 12 DE MAIO DE 2015

LAUDO ANALÍTICO: 060/15

RAZÃO SOCIAL/INTERESSADO: Ayrton Figueiredo Martins

A/C Sr.: Ayrton/Michael

ENDEREÇO: Laboratório LATER-UFSM, prédio 18, sala 2132

Nº: -

BAIRRO: Camobi

CIDADE: Santa Maria

UF: RS

CEP: 97105-900

FONE: 3220-8664

CNPJ/CPF: -

INSC. EST.: -

DATA DE NASCIMENTO: -

E-MAIL: -

DATA DE RECEBIMENTO: 08/04/2015

MATERIAL DE ANÁLISE: Uma (01) amostra de água de fonte/vertente. A amostra foi coletada e entregue pelo interessado.

Parâmetros	Efluente Córrego	Efluente PA HUSM	Efluente geral HUSM
pH:	7,3	8,2	7,7
Alcalinidade	162 mg L ⁻¹ HCO ₃ ⁻	39,5 mg L ⁻¹ CO ₃ ⁻²	149 mg L ⁻¹ HCO ₃ ⁻
Nitrato	1,4 mg L ⁻¹	3,8 mg L ⁻¹	0,3 mg L ⁻¹
Cloreto	44,7 mg L ⁻¹	86,6 mg L ⁻¹	27,9 mg L ⁻¹
Fosfato	3,6 mg L ⁻¹	13,9 mg L ⁻¹	3,1 mg L ⁻¹
Sulfato	17,4 mg L ⁻¹	21,0 mg L ⁻¹	8,5 mg L ⁻¹
Potássio	11,7 ± 0,3 mg L ⁻¹	25,0 ± 0,3 mg L ⁻¹	8,1 ± 0,2 mg L ⁻¹
Sódio	57,5 ± 0,8 mg L ⁻¹	45,9 ± 0,7 mg L ⁻¹	27,2 ± 1,1 mg L ⁻¹
Sólidos suspensos	75 mg L ⁻¹	25 mg L ⁻¹	16 mg L ⁻¹
Sólidos totais	318,7 mg L ⁻¹	460,7 mg L ⁻¹	248,7 mg L ⁻¹

Legenda:

mg L⁻¹ – miligrama por litro

Observações:

^(*) - Valor máximo permitido – Segundo Portaria nº 2914 de 12 de dezembro de 2011- Ministério da Saúde.

Prof. Dr. Valderi L. Dressler

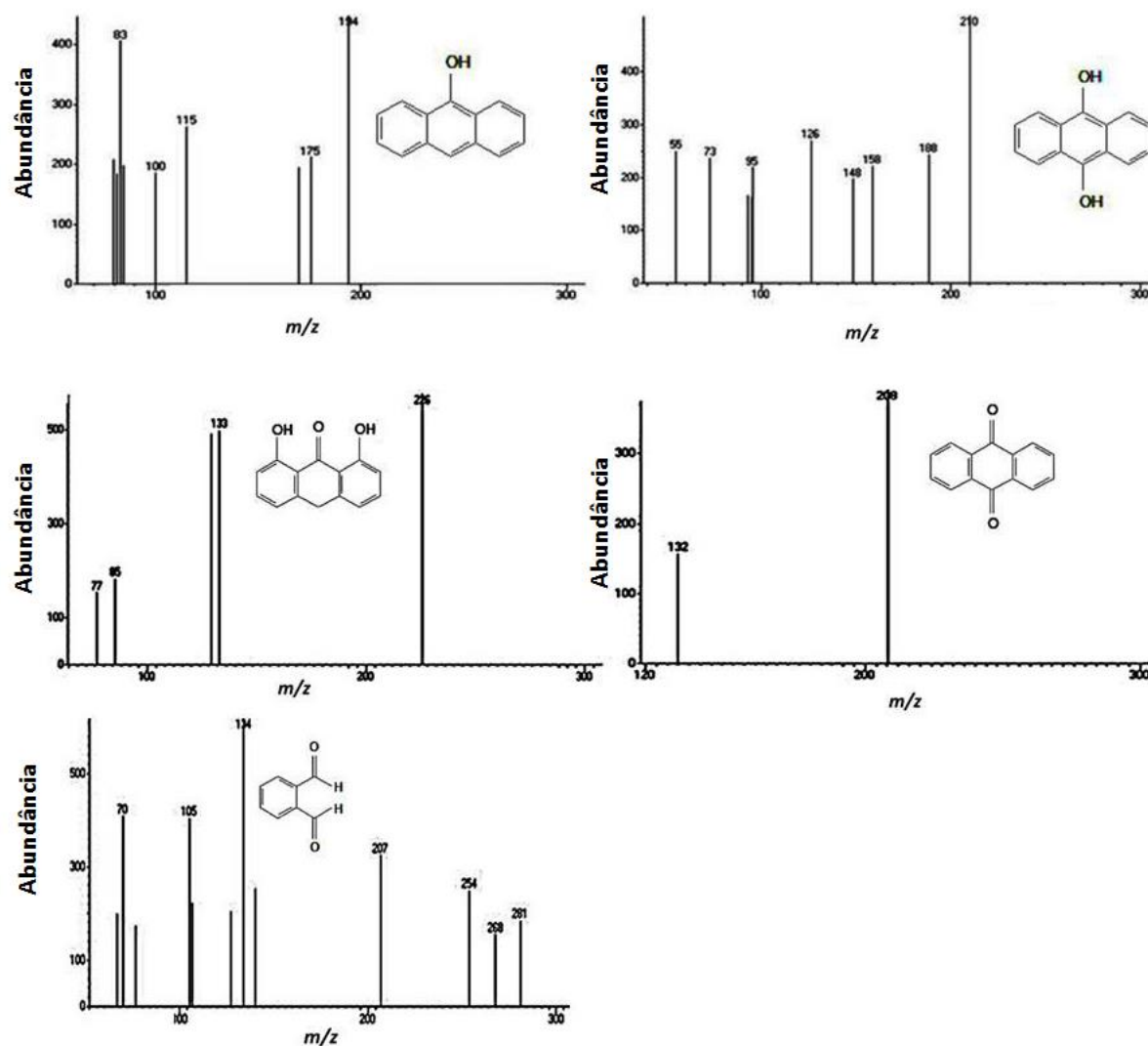
Químico Industrial - CRQ 5a. Região nr. 05200921

LAQIA - LABORATÓRIO DE ANÁLISES QUÍMICAS INDUSTRIAIS E AMBIENTAIS - Reg. CRQ 5ª. 4.164

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA - Depto. de Química/CCNE - Setor de Química Industrial e Ambiental
Campus - Camobi - 97.105-900 Santa Maria, RS ☎ (0xx55) 3220.9445 / 3220.8802 (Fone/Fax)

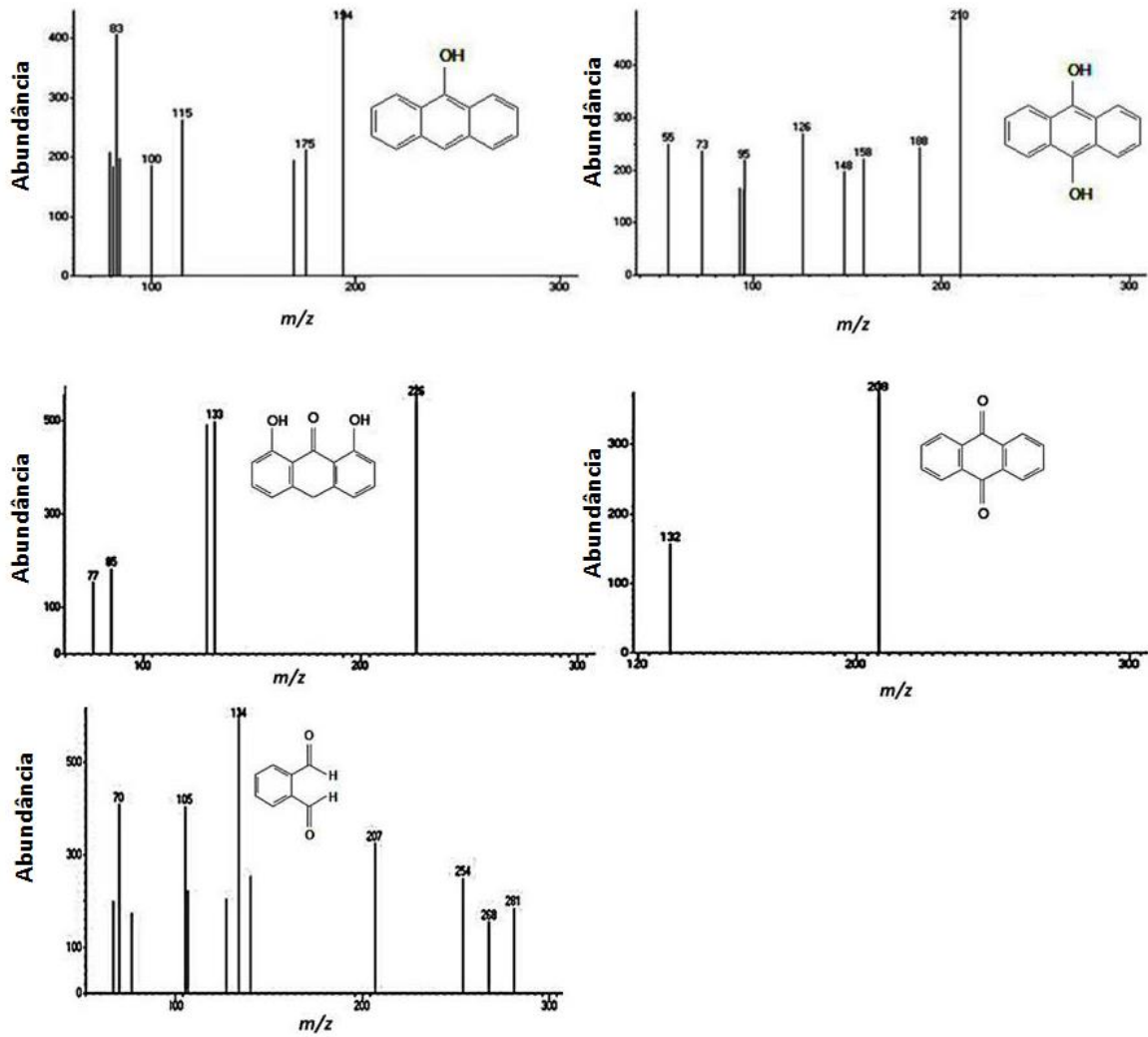
Anexo B – Espectros de massas da identificação de subprodutos de degradação fotocatalítica dos HPAs antraceno, naftaleno e fenantreno em solução aquosa, amostras de água superficial e efluente hospitalar empregando GC-MS.

Figura 52– Espectro de massas de subprodutos de antraceno em solução aquosa.



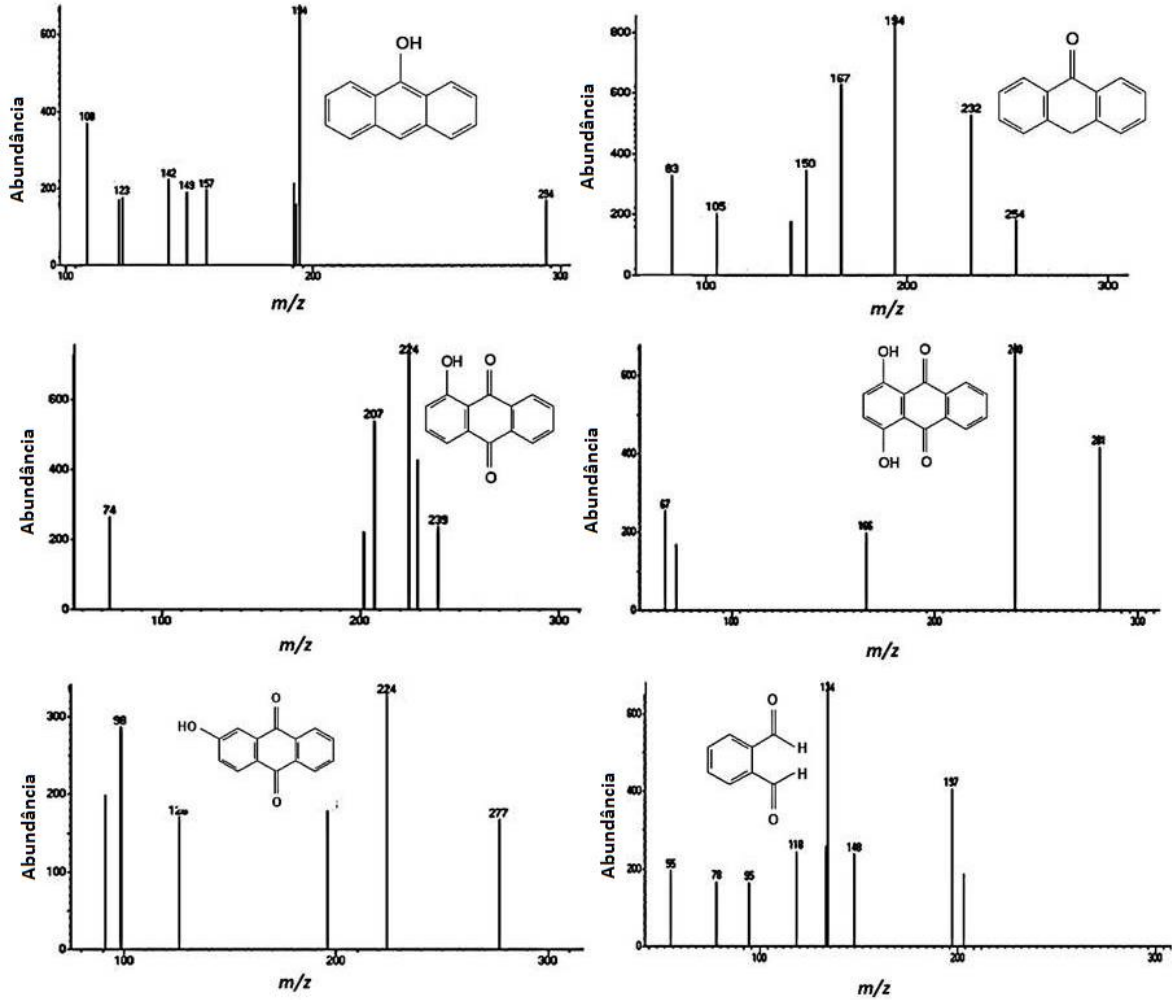
Fonte: Agilent 6890 series - GC Software.

Figura 53– Espectro de massas de subprodutos de antraceno em amostras de água superficial.



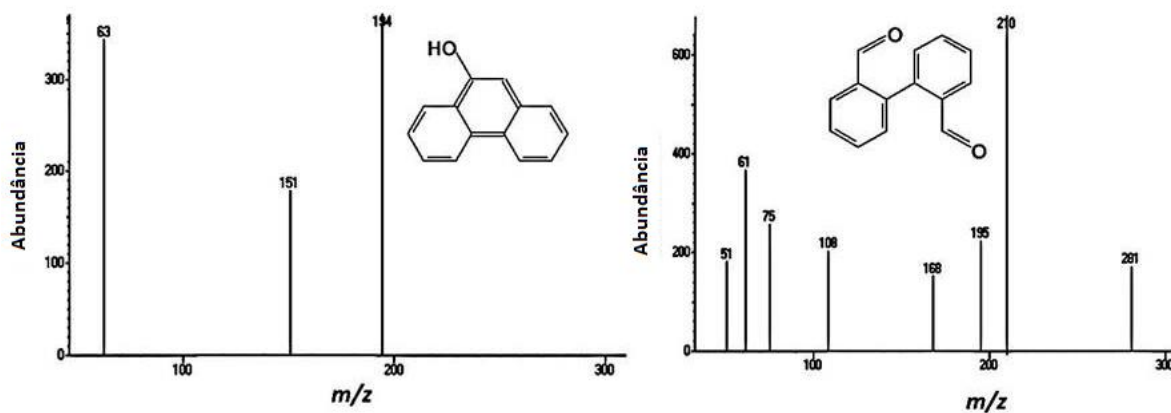
Fonte: Agilent 6890 series - GC Software.

Figura 54– Espectro de massas de subprodutos de antraceno em amostras de efluente hospitalar.



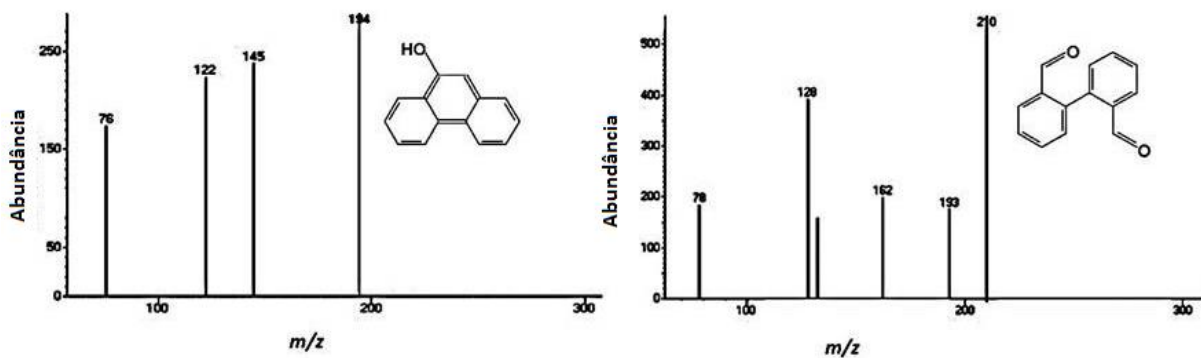
Fonte: Agilent 6890 series - GC Software.

Figura 55– Espectro de massas de subprodutos de fenantreno em solução aquosa.



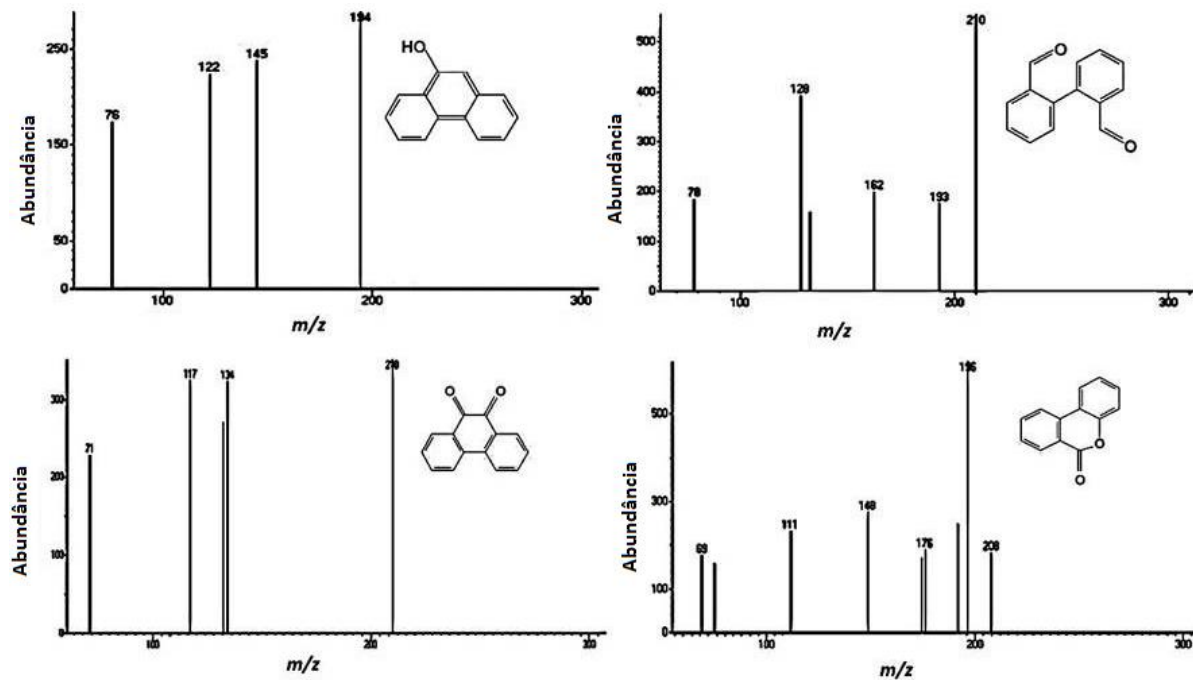
Fonte: Agilent 6890 series - GC Software.

Figura 56– Espectro de massas de subprodutos de fenantreno em amostras de água superficial.



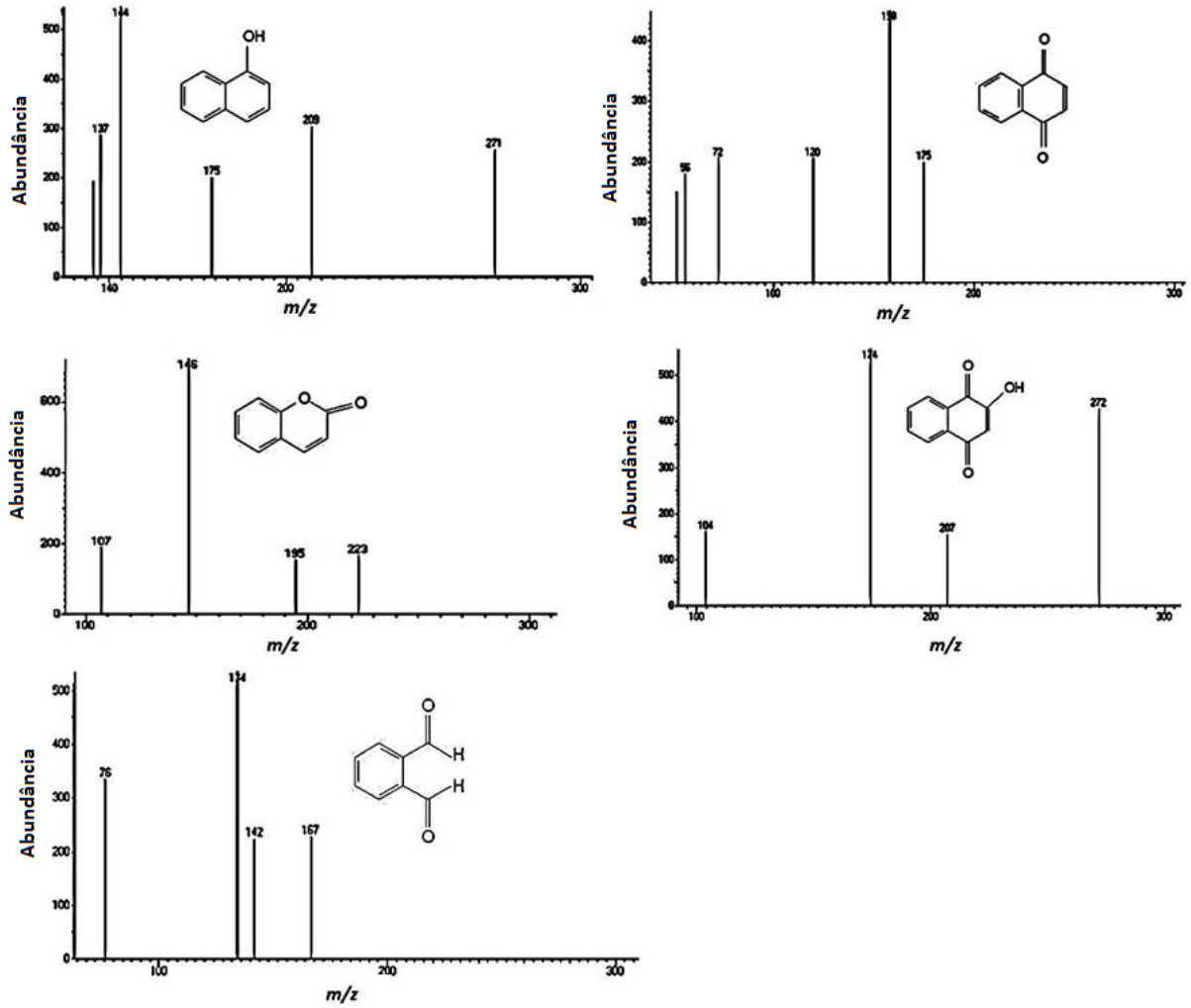
Fonte: Agilent 6890 series - GC Software.

Figura 57– Espectro de massas de subprodutos de fenantreno em amostras de efluente hospitalar.



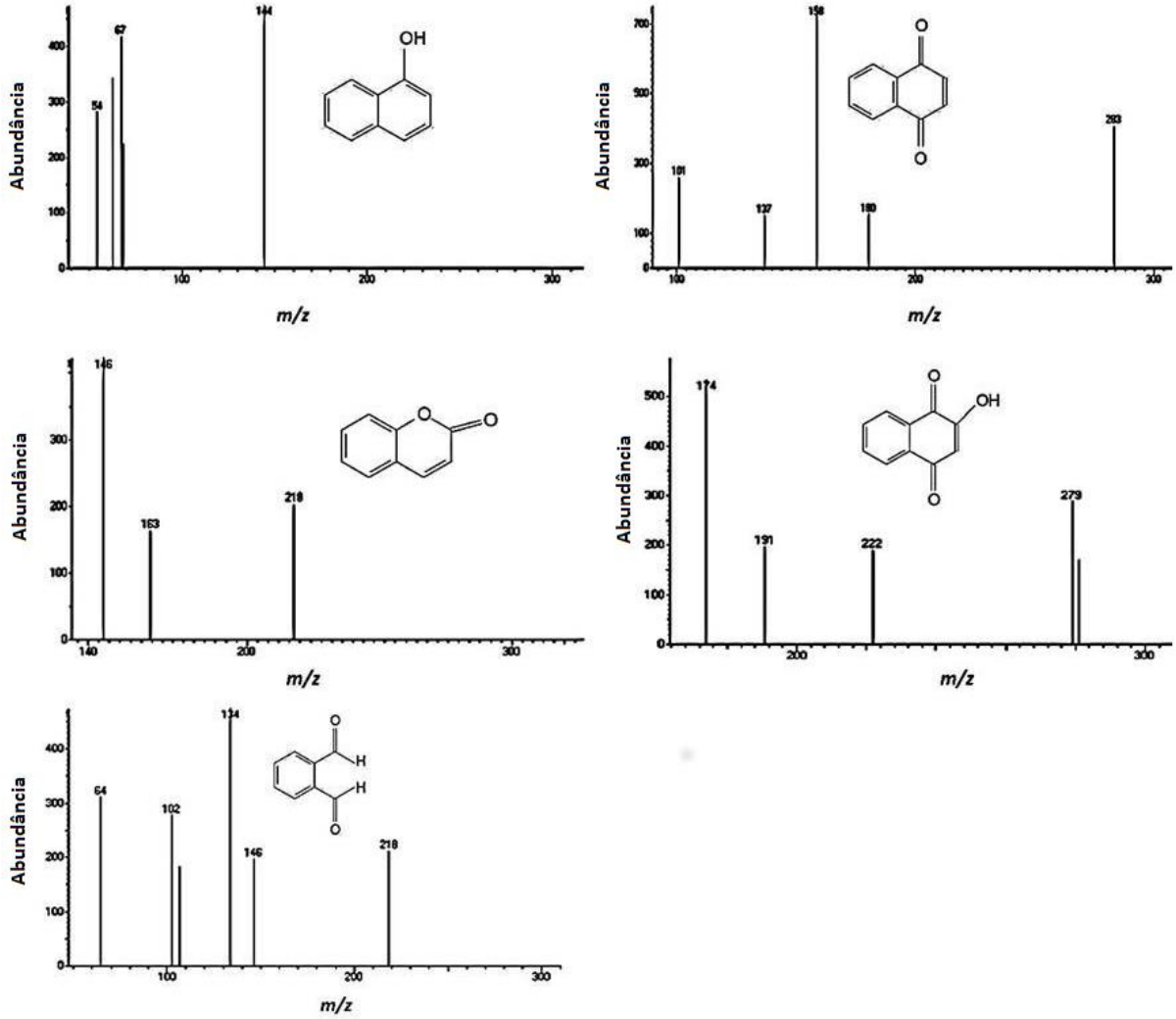
Fonte: Agilent 6890 series - GC Software.

Figura 58– Espectro de massas de subprodutos de naftaleno em solução aquosa.



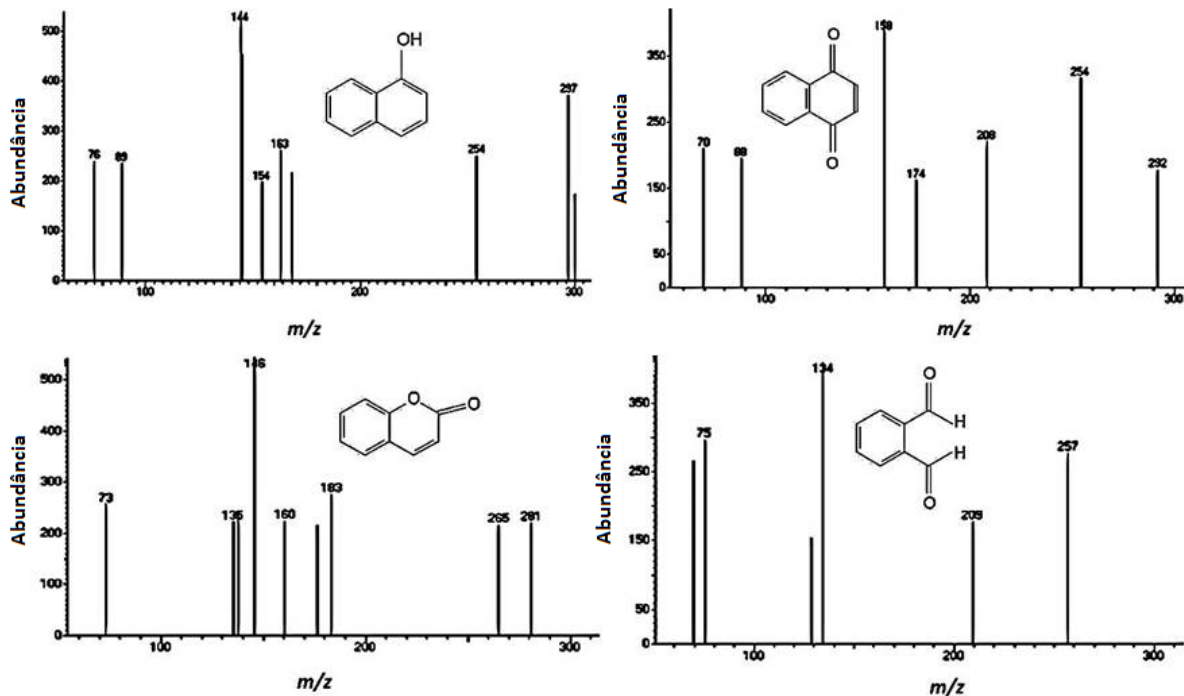
Fonte: Agilent 6890 series - GC Software.

Figura 59– Espectro de massas de subprodutos de naftaleno em amostras de água superficial.



Fonte: Agilent 6890 series - GC Software.

Figura 60– Espectro de massas de subprodutos de naftaleno em amostras de efluente hospitalar.



Fonte: Agilent 6890 series - GC Software.