**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO**

MARIA ANGELA TALLARICO ADORNO

**Desenvolvimento de métodos de extração e determinação de Bifenilas
Policloradas por cromatografia gasosa e detector de captura de elétrons
em óleo Ascarel, reator anaeróbio e solo**

VERSÃO CORRIGIDA

SÃO CARLOS/SP

2013

MARIA ANGELA TALLARICO ADORNO

**Desenvolvimento de métodos de extração e determinação de Bifenilas
Policloradas por cromatografia gasosa e detector de captura de elétrons
em óleo Ascarel, reator anaeróbio e solo**

Tese apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento.

Orientadora: Prof.^a Ass. Maria Bernadete A.Varesche

VERSÃO CORRIGIDA

SÃO CARLOS/SP

2013

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO,
POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS
DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

A241d Adorno, Maria Angela Tallarico
Desenvolvimento de métodos de extração e
determinação de Bifenilas Policloradas por
cromatografia gasosa e detector de captura de elétrons
em óleo Ascarel, reator anaeróbio e solo / Maria Angela
Tallarico Adorno; orientador Profa. Maria Bernadete
Amancio Varesche. São Carlos, 2013.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação e Área
de Concentração em Hidráulica e Saneamento -- Escola de
Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo,
2013.

1. Congener MIX 1 SUPELCO. 2. Cromatografia em
coluna de vidro. 3. Extração em fase sólida (SPE). 4.
Extração líquido-líquido. I. Título.

FOLHA DE JULGAMENTO

Candidata: Bacharel **MARIA ANGELA TALLARICO ADORNO**.

Título da tese: "Desenvolvimento de métodos de extração e determinação de Bifenilas Policloradas por cromatografia gasosa e detector de captura de elétrons em óleo Ascarel, reator anaeróbio e solo".

Data da defesa: 23/08/2013

Comissão Julgadora:

Resultado:

Profa. Associada **Maria Bernadete Amâncio Varesche Silva (Orientadora)**

(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

Aprovada

Prof. Associado **Marcelo Zaiat**

(Escola de Engenharia de São Carlos/EESC)

Aprovado

Profa. Dra. **Eny Maria Vieira**

(Instituto de Química de São Carlos/IQSC)

Aprovado

Prof. Dr. **Edson Rodrigues Filho**

(Universidade Federal de São Carlos/UFSCar)

APROVADA

Profa. Dra. **Ana Paula Silveira Paim**

(Universidade Federal de Pernambuco/UFPE)

Aprovada.

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Hidráulica e Saneamento:

Profa. Assoc. **Maria Bernadete A. Varesche Silva**

Presidente da Comissão de Pós-Graduação:

Prof. Titular **Denis Vinicius Coury**

Dedico este trabalho aos meus pais, Toninho e Hermínia (*in memorian*) por me ensinarem, entre tantas coisas, que “o saber não ocupa lugar” e às minhas filhas Júlia e Luísa, razão desta minha existência.

*A adversidade desperta em nós
capacidades que, em
circunstâncias favoráveis,
teriam ficado adormecidas.*

Horácio

AGRADECIMENTOS

Ao Grande Pai, por me permitir mais esta possibilidade de aprendizado e pela força e coragem fundamentais, que me apoiaram nos momentos mais difíceis.

À Escola de Engenharia de São Carlos/USP, ao Departamento de Hidráulica e Saneamento e ao LPB pela oportunidade de tornar possível a realização deste trabalho.

À Professora Dr^a. Maria Bernadete A. Varesche pela disposição em orientar este trabalho e pelos ensinamentos.

A todos os pesquisadores do LPB, aos companheiros e funcionários do SHS pelo auxílio nos momentos de necessidade e pelo apoio e incentivo constantes.

À Dr^a. Regiane Cristina Corrêa pela participação na primeira etapa deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Édson Rodrigues Filho e à Thaisa Serafim, do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos pelas análises realizadas por CG/EM.

À Dr^a. Bruna C. Gomes pela valiosa participação na segunda etapa deste trabalho, com o estudo da degradação anaeróbia dos PCBs nos reatores em batelada, pelo aprendizado conjunto e pela amizade.

À professora Dr^a. Iolanda Cristina S. Duarte, do Departamento de Biologia da Universidade Federal de São Carlos/Sorocaba por nos ceder as amostras de solo e pela compra do material para SPME.

Ao professor Dr. Álvaro dos Santos Neto, do Instituto de Química de São Carlos/USP pela valiosa colaboração com sugestões e a disposição constante em auxiliar com idéias e discussões para a execução da parte final deste trabalho.

À Dr^a. Inês Tomita pelo valoroso apoio e auxílio nas tarefas do laboratório, pela sua grande generosidade e amizade.

À Dr^a. Carolina Sabatini pelo apoio, colaboração com as tarefas do laboratório e amizade.

Ao professor Dr. Marcos R. V. Lanza, do Instituto de Química de São Carlos/USP por permitir o uso do sistema para CG/EM.

Ao Dr. Paulo Clairmont pela realização das análises por CG/EM, pelo auxílio na implantação da técnica de SPME, ensinamentos e importantes discussões sobre os resultados.

À banca examinadora (Prof^a. Dr^a. Eny M. Vieira, Prof^a. Dr^a. Ana Paula S. Paim, Prof. Dr. Edson Rodrigues Filho e Prof. Ass. Marcelo Zaiat) pela valiosa contribuição prestada a este trabalho.

Ao Fernando G. Moura pelo auxílio na resolução dos problemas (não apenas de informática), sempre com disposição e bom humor e pela importante colaboração na formatação da tese.

Ao André C. Garcia pela colaboração para a impressão da tese.

À Eliana C. A. Cordeiro, da biblioteca do IQSC, pela correção das referências bibliográficas.

Ao Sr. A. C. Adão, do Serviço Gráfico da EESC pelo auxílio na encadernação da tese.

Às minhas filhas Júlia A. F. e Luísa A. F. por suportarem e compreenderem o *stress* e as ausências da mãe, resultantes do excesso de dedicação ao trabalho.

À Rita M. A. Gonçalves, grande amiga, mais do que irmã, presente nos momentos mais importantes da minha vida há mais de 30 anos, sempre pronta para me ouvir, aconselhar e dar o seu apoio incondicional.

Ao “Gênio, nosso amigo” (Prof. Tit. Eugenio Foresti) pelo apoio, incentivo, amizade e aprendizado pessoal e profissional.

Aos meus familiares, amigos e a todos que acreditaram e contribuíram, direta ou indiretamente, para que este trabalho se concretizasse.

Ao Sérgio T. Assato pelo apoio, incentivo e pelas palavras de encorajamento nos momentos delicados.

Ao meu irmão Vicente Adorno pela “força” e pela revisão do texto.

MUITO OBRIGADA!!!

Que eu continue com vontade de viver, mesmo sabendo que a vida é, em muitos momentos, uma lição difícil de ser aprendida.

Que eu permaneça com vontade de ter grandes amigos, mesmo sabendo que, com as voltas do mundo, eles vão indo embora de nossas vidas.

Que eu realmente sempre a vontade de ajudar as pessoas, mesmo sabendo que muitas delas são incapazes de ver, sentir, entender ou utilizar essa ajuda.

Que eu mantenha meu equilíbrio, mesmo sabendo que muitas coisas que vejo no mundo escurecem meus olhos.

Que eu realmente a minha garra, mesmo sabendo que a derrota e a perda são ingredientes tão fortes quanto o sucesso e a alegria.

Que eu atenda sempre mais à minha intuição, que sinaliza o que de mais autêntico eu possuo.

Que eu pratique mais o sentimento de justiça, mesmo em meio à turbulência dos interesses.

Que eu manifeste amor por minha família, mesmo sabendo que ela muitas vezes me exige muito para manter sua harmonia.

E, acima de tudo...

Que eu lembre sempre que todos nós fazemos parte dessa maravilhosa teia chamada vida, criada por alguém bem superior a todos nós!

E que as grandes mudanças não ocorrem por grandes feitos de alguns e, sim, nas pequenas parcelas cotidianas de todos nós!

Chico Xavier

RESUMO

ADORNO, M. A. T. **Desenvolvimento de métodos de extração e determinação de Bifenilas Policloradas por cromatografia gasosa e detector de captura de elétrons em óleo Ascarel, reator anaeróbio e solo.** 2013. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos, 2013.

Bifenilas policloradas (PCBs) são componentes de óleo ascarel, usado extensamente (no Brasil até os anos 80) como isolante em transformadores de energia devido às suas propriedades físico-químicas como estabilidade térmica e alta constante dielétrica. Apesar de ter sido proibido em todo o mundo devido à alta toxicidade dos PCBs presentes em sua composição, ainda resta grande quantidade de ascarel em circulação como resíduo “passivo” e resultante de contaminação em trocas dos fluidos dos transformadores, além de vazamentos. A principal forma de eliminação é por incineração, que, além de ser um processo caro, pode provocar a formação de compostos mais tóxicos, as dioxinas. Por isso é importante o monitoramento da concentração dessas substâncias, a fim de evitar maiores impactos ambientais na sua disposição, bem como em estudos de biodegradação. Esta matriz é extremamente complexa, o que torna a extração e determinação desses analitos um processo trabalhoso e difícil. Neste trabalho avaliaram-se métodos de extração e determinação de PCBs presentes na solução padrão comercial PCB *Congener MIX 1*, SUPELCO (PCBs 10, 28, 52, 138, 153 e 180). O desenvolvimento de métodos de extração (cromatografia em coluna, extração líquido-líquido (L-L), extração em fase sólida (SPE) e micro-extração em fase sólida - SPME) dos PCBs foi seguido da determinação, por cromatografia gasosa com detector por captura de elétrons (CG/DCE), em três matrizes diferentes: óleo ascarel, amostras provenientes de reatores anaeróbios em batelada e solo. Os métodos cuja purificação e extração diminuíram o efeito dos interferentes da matriz, como SPE – *Sulfoxide*, cromatografia em coluna de sílica e extração L-L com *n*-hexano foram validados pela avaliação dos seguintes parâmetros: linearidade e faixa de aplicação; precisão instrumental; limite de detecção, limite de quantificação e recuperação absoluta. O critério de escolha entre os métodos para extração dos PCBs do óleo que forneceram maior eficiência (cartucho SPE *Sulfoxide* e coluna de sílica gel, após lavagem ácida; método da adição de padrão, entre 1,0 e 4,0 mg L⁻¹) deve considerar a disponibilidade de recursos, pois a sílica gel é mais viável economicamente do que o cartucho SPE. Os valores de R² > 0,99 para o método de extração com sílica, mesmo tendo sido considerados apenas três pontos para a curva de calibração, atestam maior linearidade do que o método com SPE *Sulfoxide* (R² entre 0,97 e 0,99). A extração L-L e determinação por CG/DCE dos PCBs (padronização interna) de amostras provenientes de reatores anaeróbios em batelada (aquosas, em matriz extremamente complexa com biomassa e espuma de poliuretano para imobilização de microrganismos) foram eficientes na faixa de concentração entre 0,05 e 0,5 mg L⁻¹. Esse método foi adequado para monitorar PCBs em estudo de degradação anaeróbia e teste de adsorção dos PCBs em espuma; forneceu linearidade com R² entre 0,93 e 0,96 e limites de detecção de 0,048 a 0,298 mg L⁻¹, além de recuperação absoluta entre 14,1% e 110,7%. As condições testadas por SPME não permitiram a extração dos PCBs de óleo e de solo, principalmente devido à “dessorção incompleta” dos PCBs da fibra de polidimetil-siloxano, de 100 µm.

Palavras-chave: *Congener MIX 1* SUPELCO, cromatografia em coluna de vidro, extração em fase sólida (SPE), extração líquido-líquido, tratamento de amostras.

ABSTRACT

ADORNO, M. A. T. **Development and validation of a method for determination of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) of a standard solution *PCB Congener MIX 1* by gas chromatography and electron capture detector in three different matrices: Askarel oil, samples from batch anaerobic reactors and soil.** 2013. Thesis (Doctoral) – Escola de Engenharia de São Carlos of the Universidade de São Paulo, São Carlos, 2013 (Engineering School of São Carlos – University of São Paulo, São Carlos, 2013).

Polychlorinated biphenyls (PCBs) are components of askarel, oil widely used as insulation (until the '80s in Brazil) due to its physicochemical properties such as thermal stability and high dielectric constant. Despite having been banned worldwide due to the high toxicity of PCBs present in its composition, there are still lots of outstanding askarel as "passive" residue and resulting contamination of fluids in transformers exchanges, plus leaks. The main form of disposal is incineration, which, besides being costly, can cause the formation of more toxic compounds, that is, dioxins. It is therefore important to monitor the concentration of these substances in order to prevent further environmental impacts in their disposal, as well as in studies of biodegradation. This is an extremely complex matrix, which makes the extraction and determination of this analytes very difficult and labor intensive. In this work we have evaluated methods of extraction and determination of the PCBs present in the standard solution Congener *MIX 1*, SUPELCO (PCBs 10, 28, 52, 138, 153 e 180). The extraction and cleanup developed methods which reduced the effects of interfering matrix as solid phase extraction (SPE) - Sulfoxide, column chromatography on silica and liquid-liquid (L-L) extraction with *n*-hexane, and solid phase microextraction (SPME) after determination of the PCBs by gas chromatography with electron capture detector (GC/ECD) were validated by assessing the following parameters: linearity and range of application; instrumental precision; detection limit; limit of quantification and absolute recovery. The criterion for choosing between the methods for extraction of PCBs from the oil with a higher efficiency (SPE cartridge Sulfoxide and silica gel column, after acid washing; using the standard addition method, between 1.0 and 4.0 mg L⁻¹) must evaluate the availability resources, since the silica gel is more economically viable than the SPE cartridge. The R² values > 0.99 for silica extraction method, even though it was considered only three points for the calibration curve, attested higher linearity than the method with SPE Sulfoxide (R² between 0.97 and 0.99). The L-L extraction and determination by GC/ECD of the PCBs (internal standardization) of samples from batch anaerobic reactors (aqueous, in a very complex matrix with biomass and polyurethane foam for the immobilization of microorganisms) were efficient in the concentration range between 0.05 and 0.5 mg L⁻¹. This method was suitable to monitor PCBs in anaerobic degradation studies and its adsorption on foam; provided R² linearity between 0.93 and 0.96 and detection limits from 0.048 to 0.298 mg L⁻¹, as well as absolute recovery between 14.1% and 110.7%. The conditions tested for SPME technique did not allow the extraction of the PCBs from the oil and soil, mainly due to the "incomplete desorption" of PCBs from the polydimethylsiloxane fiber of 100 micron.

Keywords: *Congener MIX 1* SUPELCO, glass column chromatography, solid phase extraction (SPE), liquid-liquid extraction, sample treatment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura de dioxinas - PCDDs, furanos - PCDFs e PCBs (SROGI, 2008).....	8
Figura 2 - Estrutura molecular dos PCBs, sendo $x + y \leq 10$ (PENTEADO; VAZ, 2001)	9
Figura 3 - Transformador preenchido com óleo ascarel, potencialmente PCB (Lorencini Brasil, acesso em 06 mai. 2013)	12
Figura 4 - Esquema de um suporte com a fibra para SPME (KING; READMAN; ZHOU, 2003).....	34
Figura 5 – Estimativa do resíduo da resposta analítica usando o método dos mínimos quadrados (RIBEIRO et al., 2008)	35
Figura 6 – Exemplos de gráficos de resíduo: (a) quando não há linearidade, (b) quando há heteroscedasticidade e (c) com homoscedasticidade e normalmente distribuídos (PIMENTEL; BARROS NETO, 1996)	36
Figura 7 – Exemplo de cálculo por adição de padrão (RIBANI et al., 2004)	41
Figura 8 – Diagrama geral da análise da regressão linear ponderada (ALMEIDA; CASTELBRANCO; FALCÃO, 2002)	44
Figura 9 – Fluxograma experimental.....	48
Figura 10 - Fluxograma experimental da extração dos PCBs do óleo ascarel por cromatografia em coluna de vidro, com diferentes suportes e eluentes e cartucho SPE	50
Figura 11- Estruturas de: (a) 1,3,5-triclorobenzeno, (b) 2,4,5,6-tetracloro m-xileno e (c) octacloronaftaleno	51
Figura 12 - Amostra de óleo ascarel.....	53
Figura 13 - (a) Óleo retido no topo da coluna; (b) Óleo eluído com <i>n</i> -hex/acet 70:30	57
Figura 14 - Frasco de antibiótico de 100 mL e tampa de butila revestida com teflon	60
Figura 15 - Esquema do desenvolvimento da 2. ^a etapa do trabalho: métodos para extração dos PCBs da solução <i>MIX</i> do óleo ascarel, de amostras de reatores anaeróbios em batelada e solo	61
Figura 16 - Esquema do teste para escolher o melhor solvente para extração dos PCBs da solução <i>MIX</i>	64
Figura 17 - Esquema da extração em cartucho SPE <i>Sulfoxide</i> para o óleo ascarel	72
Figura 18 - <i>Manifold</i> com os cartuchos para extração em fase sólida - SPE <i>Sulfoxide</i>	74
Figura 19 - Frasco <i>Wheaton</i> de 20 mL usado para coleta das frações eluídas por SPE	74
Figura 20 - Frasco de 1,5 mL usado para armazenar as amostras após ressuspender em <i>n</i> -hexano.....	74

Figura 21 – Funil de separação com óleo ascarel, ácido sulfúrico e <i>n</i> -hexano.....	77
Figura 22 - Tratamento do óleo ascarel com ácido sulfúrico concentrado após descartar a fase ácida e lavar a fase hexânica com água.....	78
Figura 23 - Esquema da extração de PCBs de óleo ascarel por colunas cromatográficas de vidro	83
Figura 24 - Colunas de sílica gel eluídas com <i>n</i> -hexano.....	85
Figura 25 - Frasco de 10 mL para amostrador automático por <i>headspace</i> com tampa rosqueável e septo de Teflon.....	87
Figura 26 – (a) Interface de cobre com circulação de água aquecida do banho-maria para manter o aquecimento da amostra uniforme e constante; (b) envolvida com isopor.....	87
Figura 27 - Banho-maria com circulação da água para aquecimento da amostra.....	88
Figura 28 - Sistema completo para SPME: (a) banho-maria para aquecimento da amostra com recirculação de água, (b) agitador magnético, (c) interface para aquecimento e amostra, d) <i>holder</i> e a fibra em exposição no <i>headspace</i> da amostra.....	88
Figura 29 - Óleo em coluna de florissil – (a) início da eluição e (b) coluna seca, com retenção da “cor” do óleo	90
Figura 30 - Óleo em coluna de sílica gel – (a) início da eluição e (b) coluna seca.....	91
Figura 31 - Óleo em coluna de alumina – (a) início da eluição e (b) coluna seca	92
Figura 32 – Esquema da extração dos PCBs (<i>n</i> -hexano) das amostras de reatores anaeróbios em batelada com e sem espuma de poliuretano	97
Figura 33 - Amostra de solo coletado no terreno próximo ao LPB	100
Figura 34 - Cromatograma de solução de 1,3,5-TCB (4 mg L ⁻¹) em benzeno, por CG/DCE (TR ~5,0 min)	105
Figura 35 - Cromatograma de solução de octacloronaftaleno em benzeno, 0,2 mg L ⁻¹ , obtido por CG/DCE (TR ~34 min)	106
Figura 36 - Cromatograma da mistura de soluções dos padrões arocloros 1260 e 1016, 10 mg L ⁻¹ em metanol, obtido por CG/DCE após coluna de florissil e eluição com <i>n</i> -hexano	106
Figura 37 - Cromatograma obtido por CG/DCE do óleo puro dissolvido em <i>n</i> -hexano, sem pré-tratamento	107
Figura 38 - Cromatograma (CG/DCE) da fração obtida no primeiro teste de extração de PCBs de ascarel em coluna com florissil, eluída com <i>n</i> -hexano	108
Figura 39 - Cromatograma (CG/DCE) da fração obtida no teste de extração de PCBs de ascarel, com florissil e sílica em pipeta Pasteur	108

Figura 40 - Cromatograma obtido por CG/DCE no teste para extração de PCBs de 5 mL de óleo em 10 mL de <i>n</i> -hexano, sem ácido, após coluna de florissil/Cu, eluída com <i>n</i> -hexano ..	109
Figura 41 - Cromatograma obtido por CG/DCE no teste para extração de PCBs de 0,15 mL de óleo em 15 mL de <i>n</i> -hexano, sem ácido, após coluna de sílica gel no topo e florissil/Cu, eluída com <i>n</i> -hexano	109
Figura 42 - Cromatograma obtido por CG/DCE no teste para extração de PCBs de 10 mL de óleo em 15 mL de <i>n</i> -hexano, lavagem ácida, após coluna de sílica gel no topo e florissil/Cu (2 mL amostra), eluída com <i>n</i> -hexano	110
Figura 43 - Cromatograma obtido por CG/DCE no teste para extração de PCBs – ascarel A – fração 1) <i>n</i> -hexano	111
Figura 44 - Cromatograma obtido por CG/DCE no teste para extração de PCBs – ascarel A – fração (2) <i>n</i> -hexano/acetona 70:30	111
Figura 45 - Cromatograma obtido por CG/EM no teste para extração de PCBs – ascarel A – fração (2) <i>n</i> -hexano/acetona 70:30	112
Figura 46 - Cromatograma obtido por CG/DCE no teste para extração de PCBs – óleo submetido a coluna de sílica e florissil eluída com <i>n</i> -hexano após passar por cartucho SPE C-18 (a).....	113
Figura 47 - Cromatograma obtido por CG/DCE no teste para extração de PCBs – óleo submetido a coluna de sílica e florissil eluída com <i>n</i> -hexano após passar por cartucho SPE alumina (b).....	113
Figura 48 - Cromatograma obtido por CG/DCE para extração L-L – teste (a) <i>n</i> -hexano.....	114
Figura 49 - Cromatograma obtido por CG/DCE para extração L-L – teste (h) éter etílico....	115
Figura 50 - Cromatograma com as condições cromatográficas otimizadas para a solução <i>MIX</i> (0,5 mg L ⁻¹) e octacloronaftaleno (padrão interno, 10,7 min) 0,1 mg L ⁻¹	117
Figura 51 - Cromatograma da fração contendo 1 mL solução PCB <i>MIX</i> 0,67 mg L ⁻¹ em ACN extraída com 0,3 mL de <i>n</i> -hexano nas condições descritas em 4.2.1	119
Figura 52 - Cromatograma do branco, correspondente ao óleo sem contaminação com a solução <i>MIX</i> , após passar por coluna de florissil	120
Figura 53 - Cromatograma do óleo após contaminação com a solução <i>MIX</i> e passar por coluna de florissil.....	121
Figura 54 - Cromatograma obtido por CG/DCE com amostra de óleo ascarel após passar por cartucho SPE <i>Sulfoxide</i> – F2	123
Figura 55 - Cromatograma obtido por CG/DCE de 1,3,5-triclorobenzeno 2 mg L ⁻¹ para confirmar TR (7,9 min)	124

Figura 56 - Cromatograma obtido por CG/DCE da fração F1 do óleo após passar por SPE <i>Sulfoxide</i> , fortificado com solução padrão <i>MIX</i> 2,0 mg L ⁻¹ , octacloronaftaleno 0,8 mg L ⁻¹ e 1,3,5-triclorobenzeno 2,0 mg L ⁻¹	124
Figura 57 - Cromatograma obtido por CG/DCE da fração F2 do óleo após passar por SPE <i>Sulfoxide</i> , fortificado com solução padrão <i>MIX</i> 2,0 mg L ⁻¹ , octacloronaftaleno 0,8 mg L ⁻¹ e 1,3,5-triclorobenzeno 2,0 mg L ⁻¹	124
Figura 58 - Cromatograma obtido por CG/DCE da fração F3 do óleo após passar por SPE <i>Sulfoxide</i> , fortificado com solução padrão <i>MIX</i> 2,0 mg L ⁻¹ , octacloronaftaleno 0,8 mg L ⁻¹ e 1,3,5-triclorobenzeno 2,0 mg L ⁻¹ em <i>n</i> -hexano.....	125
Figura 59 - Cromatograma obtido por CG/DCE da fração F4 do óleo após passar por SPE <i>Sulfoxide</i> , fortificado com solução padrão <i>MIX</i> 2,0 mg L ⁻¹	125
Figura 60 - Cromatograma obtido por CG/DCE da fração F4 do óleo após passar por SPE <i>Sulfoxide</i> , fortificado com solução padrão <i>MIX</i> 2,0 mg L ⁻¹ e 1,3,5-triclorobenzeno 2,0 mg L ⁻¹	126
Figura 61 - Cromatograma obtido por CG/DCE da fração F1 do óleo tratado com H ₂ SO ₄ após passar por SPE <i>Sulfoxide</i> , fortificado com solução padrão <i>MIX</i> 2,0 mg L ⁻¹ , octacloronaftaleno 2,0 mg L ⁻¹ e 1,3,5-triclorobenzeno 2,0 mg L ⁻¹	127
Figura 62 - Cromatograma obtido por CG/DCE da fração F2 do óleo tratado com H ₂ SO ₄ após passar por SPE <i>Sulfoxide</i> , fortificado com solução padrão <i>MIX</i> 2,0 mg L ⁻¹ , octacloronaftaleno 2,0 mg L ⁻¹ e 1,3,5-triclorobenzeno 2,0 mg L ⁻¹	127
Figura 63 - Cromatograma obtido por CG/DCE da fração F3 do óleo tratado com H ₂ SO ₄ após passar por SPE <i>Sulfoxide</i> , fortificado com solução padrão <i>MIX</i> 2,0 mg L ⁻¹ , octacloronaftaleno 2,0 mg L ⁻¹ e 1,3,5-triclorobenzeno 2,0 mg L ⁻¹	127
Figura 64 - Cromatograma obtido por CG/DCE da fração F4 do óleo tratado com H ₂ SO ₄ após passar por SPE <i>Sulfoxide</i> , fortificado com solução padrão <i>MIX</i> 2,0 mg L ⁻¹ , octacloronaftaleno 2,0 mg L ⁻¹ e 1,3,5-triclorobenzeno 2,0 mg L ⁻¹	128
Figura 65 - Curvas de calibração e resíduos dos PCBs 10, 28 e 52 após SPE com cartucho <i>Sulfoxide</i> eluído com <i>n</i> -hexano, considerando FR (concentração em mg L ⁻¹)	134
Figura 66 – Curvas de calibração e resíduos dos PCBs 138, 153 e 180 após SPE com cartucho <i>Sulfoxide</i> eluído com <i>n</i> -hexano, considerando FR (concentração em mg L ⁻¹)	134
Figura 67 - Curvas de calibração e resíduos dos PCBs 10, 28 e 52 após tratamento ácido e SPE com cartucho <i>Sulfoxide</i> eluído com <i>n</i> -hexano, considerando áreas cromatográficas com melhor ajuste (concentração em mg L ⁻¹).....	136

Figura 68 - Curvas de calibração e resíduos dos PCBs 138, 153 e 180 após tratamento ácido e SPE com cartucho <i>Sulfoxide</i> eluído com <i>n</i> -hexano, considerando áreas cromatográficas com melhor ajuste (concentração em mg L ⁻¹)	136
Figura 69 - Cromatogramas das frações F2 referentes a P0 (óleo puro) e P4 (óleo com adição de 4,0 mg L ⁻¹ de <i>MIX</i>) após tratamento ácido e cromatografia em coluna de vidro com alumina, florisil e sílica como adsorventes e eluição com <i>n</i> -hexano.....	141
Figura 70 - Curvas de calibração e resíduos dos PCBs 28, 52 e 138 após tratamento ácido e coluna de vidro com sílica gel eluída com <i>n</i> -hexano, considerando FR (concentração em mg L ⁻¹)	145
Figura 71 - Curvas de calibração e resíduos dos PCBs 153 e 180 após tratamento ácido e coluna de vidro com sílica gel eluída com <i>n</i> -hexano, considerando FR (concentração em mg L ⁻¹)	146
Figura 72 - Curvas de calibração e resíduos dos PCBs 28, 52 e 138 após tratamento ácido e coluna de vidro com sílica gel eluída com <i>n</i> -hexano, considerando média entre as áreas cromatográficas (concentração em mg L ⁻¹)	147
Figura 73 - Curvas de calibração e resíduos dos PCBs 153 e 180 após tratamento ácido e coluna de vidro com sílica gel eluída com <i>n</i> -hexano, considerando média entre as áreas cromatográficas (concentração em mg L ⁻¹)	148
Figura 74 - Cromatograma do padrão <i>MIX</i> 0,5 mg L ⁻¹ em água, obtido pela extração por HS-SPME (fibra PDMS 100 µm), em CG/DCE (condições descritas em 5.2.1)	152
Figura 75 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de (a)	154
Figura 76 – Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE apenas da fibra, sem exposição a nenhuma amostra, após injeção de (a).....	155
Figura 77 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de (b)	155
Figura 78 - Cromatograma obtido por HS-SMPME e CG/DCE de (c).....	155
Figura 79 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de (d)	155
Figura 80 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de (e)	156
Figura 81 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de (f).....	156
Figura 82 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de (g)	156
Figura 83- Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de (h)	156
Figura 84 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de (i).....	157
Figura 85 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de óleo após passar por coluna de vidro com florisil (a) – F1	158

Figura 86 – Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de óleo após passar por coluna de vidro com florisil (a) – F2	158
Figura 87 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de óleo após passar por coluna de vidro com sílica gel (b) – F1	158
Figura 88 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de óleo após passar por coluna de vidro com sílica gel (b) – F2	158
Figura 89 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de óleo após passar por coluna de vidro com alumina (c) – F1	159
Figura 90 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de óleo após passar por coluna de vidro com alumina (c) – F2	159
Figura 91 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de óleo após passar por coluna de vidro com sílica – replicata (1).....	160
Figura 92 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE somente da fibra, após a injeção da replicata (1)	160
Figura 93 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de óleo após passar por coluna de vidro com sílica – replicata (2).....	160
Figura 94 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE somente da fibra, após a injeção da replicata (2)	160
Figura 95 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de óleo após passar por coluna de vidro com sílica – replicata (3).....	161
Figura 96 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE somente da fibra, após a injeção da replicata (3)	161
Figura 97 - Amostras extraídas com <i>n</i> -hexano: (a) com triton e (b) sem triton.....	163
Figura 98 - Curvas de calibração com as médias entre FR (OCTN como padrão interno) e resíduos obtidos após determinação por CG/DCE dos PCBs 10, 28 e 52 diluídos em meio de cultivo e lodo inativado e extração com <i>n</i> -hexano (concentrações: 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 e 0,5 mg L ⁻¹).....	170
Figura 99 - Curvas de calibração com as médias entre FR (OCTN como padrão interno) e resíduos obtidos após determinação por CG/DCE dos PCBs 138, 153 e 180 diluídos em meio de cultivo e lodo inativado e extração com <i>n</i> -hexano (concentrações: 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 e 0,5 mg L ⁻¹).....	171
Figura 100 - Curvas de calibração traçadas com as médias entre as áreas e os resíduos obtidos após determinação por CG/DCE dos PCBs 10, 28 e 52 (concentração em mg L ⁻¹).....	174

Figura 101 - Curvas de calibração traçadas com as médias entre as áreas e os resíduos obtidos após determinação por CG/DCE dos PCBs 138, 153 e 180 (concentração em mg L^{-1})	175
Figura 102 - Curvas de calibração com as médias entre FR e os resíduos obtidos após determinação por CG/DCE dos PCBs 10, 28 e 52 diluídos em <i>n</i> -hexano (concentração em mg L^{-1})	178
Figura 103 - Curvas de calibração com as médias entre FR e os resíduos obtidos após determinação por CG/DCE dos PCBs 138, 153 e 180 diluídos em <i>n</i> -hexano (concentração em mg L^{-1})	178
Figura 104 - Cromatogramas (CG/DCE) dos testes de adsorção dos PCBs em espuma de poliuretano: D1 – Líquido e Espuma T0 correspondem ao tempo inicial ($T = 0$); T48 corresponde a 48 h de ensaio ($T = 48$)	182
Figura 105 – Cromatogramas (CG/DCE) de amostras provenientes do teste de degradação dos PCBs em reatores anaeróbios em batelada em $T = 0$ (início do ensaio), $T = 30$ dias e $T = 60$ dias, para o líquido e para a espuma	184
Figura 106 - Cromatograma obtido por CG/EM da solução $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de <i>MIX</i> 1	185
Figura 107 - Cromatograma obtido por HS-SPME por CG/DCE de amostra de solo 2 (UFSCar/Sorocaba), controle I após 45 min de exposição da fibra a 75°C	186
Figura 108 - Cromatograma obtido por HS-SPME por CG/DCE de amostra de solo 5, controle II (UFSCar/Sorocaba) após 45 min de exposição da fibra a 75°C	186
Figura 109- Cromatograma obtido por HS-SPME por CG/DCE de amostra de solo coletado no terreno próximo ao LPB após 45 min de exposição da fibra a 75°C	187
Figura 110 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE após exposição do solo do LPB lavado com <i>n</i> -hexano e acetona, com adição de $40 \mu\text{L}$ de solução de octacloronaftaleno 100 mg L^{-1}	188
Figura 111 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de solo fortificado com $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de <i>MIX</i>	189
Figura 112 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE somente da fibra, sem exposição a nenhuma amostra, após a injeção da amostra de solo fortificado com $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de <i>MIX</i>	189
Figura 113 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de solo fortificado com concentração final de $0,17 \text{ mg L}^{-1}$ de solução <i>MIX</i> e exposição da fibra a $75^\circ\text{C}/15 \text{ min}$	190
Figura 114 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE apenas da fibra, sem exposição a nenhuma amostra, após extração de solo fortificado com concentração final de $0,17 \text{ mg L}^{-1}$ de solução <i>MIX</i> e exposição da fibra a $75^\circ\text{C}/15 \text{ min}$	191

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Congêneres de PCBs possíveis, massa molecular e porcentagem de cloro para vários congêneres de PCBs.....	10
Tabela 2 - PCBs presentes no padrão PCB Congener <i>MIX</i> 1 - SUPELCO	49
Tabela 3 - Preparação das amostras para <i>cleanup</i> com florisil em coluna de vidro	56
Tabela 4 – Volumes e massas das amostras de óleo usadas para o tratamento com H ₂ SO ₄	79
Tabela 5 - Condições em que foram realizados os testes com amostras de óleo puro e após tratamento ácido para extração por SPME.....	89
Tabela 6 - Preparação do solo fortificado com <i>MIX</i> nas concentrações para verificação da extração dos PCBs por HS-SPME e CG/DCE.....	102
Tabela 7 - Fortificação de solo com solução <i>MIX</i> nas concentrações 0,2 a 1,3 mg L ⁻¹ para verificação da extração dos PCBs por HS-SPME e CG/DCE	103
Tabela 8 - Preparação das amostras para <i>cleanup</i>	110
Tabela 9 - Tempos de retenção de componentes de mistura de arocloros 1260 e 1016 comparados com óleo ascarel	113
Tabela 10 - Solventes usados nos testes para extração líquido-líquido das amostras do RAHLF	114
Tabela 11 - Áreas cromatográficas dos PCBs extraídos com <i>n</i> -hexano (<i>a</i> , <i>b</i> e <i>c</i>) e <i>n</i> -hexano/acetona 70:30 (<i>d</i> , <i>e</i> e <i>f</i>)	118
Tabela 12 - Áreas cromatográficas obtidas por CG/DCE da fração F2 de extração dos PCBs de óleo com cartucho <i>Supelclean Sulfoxide</i> SUPELCO	123
Tabela 13 - Média, Desvio Padrão (D.P.) e Coeficiente de Variação (C.V.) de FR para os pontos da curva por adição do padrão <i>MIX</i> ao óleo, por SPE após tratamento ácido – P0 e P1	128
Tabela 14 - Média, Desvio Padrão (D.P.) e Coeficiente de Variação (C.V.) de FR para os pontos da curva por adição do padrão <i>MIX</i> ao óleo, por SPE após tratamento ácido – P2, P3 e P4	129
Tabela 15 - Média, Desvio Padrão (D.P.) e Coeficiente de Variação (C.V.) de TR para os pontos da curva por adição do padrão <i>MIX</i> ao óleo, por SPE após tratamento ácido – P0 e P1	130
Tabela 16 - Média, Desvio Padrão (D.P.) e Coeficiente de Variação (C.V.) de TR para os pontos da curva por adição do padrão <i>MIX</i> ao óleo, por SPE após tratamento ácido – P2, P3 e P4	131

Tabela 17 - Média, D.P. e C.V. de FR e de TR para 10 injeções da mesma fração F2, do ponto P4 após passar por tratamento ácido e cartucho SPE <i>Sulfoxide</i>	132
Tabela 18 - Equações das retas obtidas e de F para os PCBs com tratamento ácido, após SPE <i>Sulfoxide</i> , considerando-se FR dos PCBs presentes no <i>MIX</i>	132
Tabela 19 - Equações das retas obtidas e de F para os PCBs presentes no <i>MIX</i> considerando-se áreas cromatográficas com melhor ajuste	135
Tabela 20 – Calibração ponderada e escolha do modelo mais adequado, considerando FR e áreas com melhor ajuste após SPE <i>Sulfoxide</i>	137
Tabela 21 - Equação das retas obtidas e valores de F para os PCBs presentes no <i>MIX</i> considerando-se áreas cromatográficas com melhor ajuste para a calibração ponderada.....	138
Tabela 22 - Valores das concentrações dos analitos que compõem o <i>MIX</i> na amostra de óleo ascarel original usando FR, áreas cromatográficas com melhor ajuste e calibração ponderada das melhores áreas.....	138
Tabela 23 - Média, Desvio Padrão (D.P.) e Coeficiente de Variação (C.V.) de FR para os pontos da curva por adição do padrão <i>MIX</i> ao óleo, após tratamento ácido e coluna de sílica – P0, P2 e P4.....	142
Tabela 24 - Média, Desvio Padrão (D.P.) e Coeficiente de Variação (C.V.) de TR para os pontos da curva por adição do padrão <i>MIX</i> ao óleo, após tratamento ácido e coluna de sílica – P0, P2 e P4.....	143
Tabela 25 - Média, D.P. e C.V. de FR e de TR para 10 injeções da mesma fração F2, do ponto P4a, após passar por tratamento ácido e coluna de sílica gel	143
Tabela 26 - Equações das retas obtidas considerando-se FR dos PCBs presentes no <i>MIX</i> após tratamento ácido e coluna de sílica.....	144
Tabela 27 - Equações das retas obtidas e F, considerando-se a média entre as áreas cromatográficas dos PCBs presentes no <i>MIX</i>	147
Tabela 28 - Equações das retas e valores de F para os PCBs presentes no <i>MIX</i> considerando-se as áreas cromatográficas que forneceram melhor ajuste após coluna de sílica.....	148
Tabela 29 – Valores das concentrações dos analitos que compõem o <i>MIX</i> na amostra de óleo ascarel original, após tratamento ácido e coluna de sílica, considerando FR, médias entre as áreas (Média) e áreas cromatográficas com melhor ajuste (Áreas).....	149
Tabela 30 – Valores das concentrações dos analitos presentes no <i>MIX</i> após tratamento ácido, com SPE <i>Sulfoxide</i> (calibração ponderada das melhores áreas) e coluna de sílica (FR)	150

Tabela 31 - Condições em que foram realizados os testes com as amostras de óleo puro e após tratamento ácido para extração por SPME e os cromatogramas correspondentes (CG/DCE)	153
Tabela 32 - Média entre os fatores de resposta obtidos para as retas de calibração dos PCBs	165
Tabela 33 - Equações das retas de calibração obtidas para os <i>MIX</i> PCBs a partir das curvas com lodo e meio Angelidaki, com os fatores de resposta (FR) das substâncias, obtidos por CG/DCE, limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ)	165
Tabela 34 – Precisão instrumental (10 injeções sucessivas do padrão 0,5 mg L ⁻¹), com relação a FR e TR	166
Tabela 35 - Média, desvio-padrão e coeficiente de variação (C.V.) entre FR e TR para o PCB 10 (TR = 4,0 min)	166
Tabela 36 - Média, desvio-padrão e coeficiente de variação (C.V.) entre FR e TR para o PCB 28 (TR = 5,0 min)	167
Tabela 37 - Média, desvio-padrão e coeficiente de variação (C.V.) entre FR e TR para o PCB 52 (TR = 5,4 min)	167
Tabela 38 - Média, desvio-padrão e coeficiente de variação (C.V.) entre FR e TR para o PCB 138 (TR = 7,0 min)	168
Tabela 39 - Média, desvio-padrão e coeficiente de variação (C.V.) entre FR e TR para o PCB 153 (TR = 7,3 min)	168
Tabela 40 - Média, desvio-padrão e coeficiente de variação (C.V.) entre FR e TR para o PCB 180 (TR = 8,1 min)	169
Tabela 41 - Média, desvio-padrão e coeficiente de variação (C.V.) entre TR para OCTN, usado como padrão interno (TR = 10,7 min), com concentração constante: 0,1 mg L ⁻¹	169
Tabela 42 – Concentrações obtidas (reais) e valores do teste F para os PCBs, considerando FR	171
Tabela 43 - Modelo escolhido para calibração ponderada e valores do teste F para os PCBs, considerando FR	172
Tabela 44 - Áreas cromatográficas (médias) usadas para calcular as curvas de calibração dos PCBs presentes no <i>MIX</i>	173
Tabela 45 - Equações das retas obtidas considerando-se apenas as médias entre as áreas cromatográficas dos PCBs presentes no <i>MIX</i>	175
Tabela 46 - Modelo escolhido para calibração ponderada, R ² e valores do teste F para os PCBs considerando médias entre áreas cromatográficas	176

Tabela 47 - Equações das retas de calibração obtidas para os <i>MIX</i> PCBs diluídos em <i>n</i> -hexano, usando FR, para cálculos da recuperação absoluta	179
Tabela 48 - Média, desvio-padrão e coeficiente de variação (C.V.) entre FR dos PCBs 10 e 28	179
Tabela 49 - Média, desvio-padrão e coeficiente de variação (C.V.) entre FR dos PCBs 52 e 138	179
Tabela 50 - Média, desvio-padrão e coeficiente de variação (C.V.) entre FR dos PCBs 153 e 180	180
Tabela 51 - Taxa de recuperação absoluta dos PCBs presentes no <i>MIX</i>	180
Tabela 52 - Resultados de amostras do teste de adsorção dos PCBs em espuma de poliuretano em T=0, T=48 h.....	182
Tabela 53 - Resultados de amostras do teste de degradação dos PCBs em reatores anaeróbios em batelada em T = 0, T = 30 dias e T = 60 dias	183
Tabela 54 - Nomes e tempos de retenção dos PCBs e seus correspondentes números de congêneres, por CG/EM	185
Tabela 55 - Fatores de resposta (FR) dos PCBs presentes no <i>MIX</i> em teste de fortificação de solo e extração por <i>HS</i> -SPME e CG/DCE.....	188
Tabela 56 - Média entre os FR, D.P. e C.V. para a fortificação do solo realizada inicialmente, sem adição de <i>n</i> -hexano.....	192
Tabela 57 - Média entre os FR, Desvios-padrão (D.P.) e C.V. para o novo procedimento de fortificação do solo com a solução <i>MIX</i> 2,75 mg L ⁻¹ e adição de <i>n</i> -hexano – 3 pontos iniciais	193
Tabela 58 - Média entre os FR, Desvios-padrão (D.P.) e C.V. para o novo procedimento de fortificação do solo com a solução <i>MIX</i> 2,75 mg L ⁻¹ , com adição de <i>n</i> -hexano – 3 pontos finais	193

LISTA DE SIGLAS

ABNT Associação Brasileira de Normas Técnicas
ACN Acetonitrila
ASE *Accelerated Solvent Extraction* – extração acelerada com solvente
C Celsius (graus)
CETESB Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo
CG Cromatografia gasosa
CGCRE Coordenação Geral de Acreditação do INMETRO
CLAE Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CNPq Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
COBEI Comitê Brasileiro para a Indústria Elétrica
CROMA Laboratório de Cromatografia do IQSC – Instituto de Química de São Carlos
CSIA-Cl *Compound-specific chlorine isotope analysis* – análise isotópica de composto específico - cloro
C.V. Coeficiente de variação
DCE Detector de captura de elétrons
DDT *Dichloro-diphenyl-trichloroethane* – diclorofenil-tricloroetano
DEA Detector por emissão atômica
DLLME *Dispersive Liquid-Liquid Microextraction* -Microextração Dispersiva Líquido-Líquido
DMSO Dimetil Sulfóxido
DNP Detector de nitrogênio e fósforo
ECD *Electron capture detector* – Detector de captura de elétrons
EM Espectrometria de massas
EtOH Etanol
EUA Estados Unidos da América
FE Fase Estacionária
FIOCRUZ Fundação Oswaldo Cruz
FM Fase Móvel
FME *Focused Microwave Assisted* – extração assistida por micro-ondas focalizada
FR Fator de resposta
GC *Gas chromatography* – Cromatografia gasosa

HS-SPME *Headspace – Solid Phase Micro Extraction* – Fase de vapor em um recipiente fechado – micro extração em fase sólida

IBAMA Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

INMETRO Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

LD Limite (s) de detecção

L-L (Extração) Líquido-líquido

LPB Laboratório de Processos Biológicos

LQ Limite (s) de quantificação

Ltda Limitada

MeOH Metanol

MIC Ministério da Indústria e Comércio

MIX *Mixture* - mistura

MMA Ministério do Meio Ambiente

MME Ministério de Minas e Energia

NBR Norma brasileira

NIP Plano Nacional de Implementação (da Convenção de Estocolmo)

OBS. Observação

ONU Organização das Nações Unidas

P. A. para análise (grau de pureza)

PCB *Polychlorinated Biphenyls* (Bifenilas Policloradas)

PCDDs *Polychlorinated dibenzo p-dioxins* (di-benzo-*p*-dioxinas policloradas)

PCDF *Polychlorinated dibenzofurans* (di-benzo-furanos policlorados)

PDMS Poli-dimetil-diloxano

PFE *Pressurized Fluid Extraction* – extração com fluido pressurizado

PLE *Pressurized Liquid Extraction* – extração com líquido pressurizado

PNUD Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento

POP *Persistent Organic Pollutant* – poluentes orgânicos persistentes

RAHLF Reator Anaeróbio Horizontal de Leito Fixo

RS Rio Grande do Sul

R-X Raios-X

S/A Sociedade Anônima

SEMA Secretaria do Meio Ambiente

SFE *Supercritical Fluid Extraction* - extração com fluido supercrítico

SP São Paulo

SPE *Solid Phase Extraction* - Extração em Fase Sólida

SPME *Solid Phase Micro Extraction* - Micro Extração em Fase Sólida

TENAX Polímero poroso adsorvente

TR Tempo de retenção

UASB *Upflow Anaerobic Sludge Blanket* – Reator Anaeróbio de Manta de Lodo

UFPR Universidade Federal do Paraná

UFSCar Universidade Federal de São Carlos

USEPA/EPA *United States Environmental Protection Agency* – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

USP Universidade de São Paulo

LISTA DE ABREVIATURAS

acet	Acetona
Am.	Amostra (s)
ANOVA	<i>Analysis of variance</i> - Análise de variância
Ass.	Associada (o)
cm	Centímetros
Conc.	Concentração
conc.	concentrado
Crom.	Cromatografia
d.i.	Diâmetro interno
dil.	Diluído
D.P.	Desvio padrão
Extr.	Extração
%ER	Porcentagem do erro relativo
F	Fração
F _{exp}	F experimental (estatística)
F _{tab}	F tabelado (estatística)
f ₁ , f ₂	Graus de liberdade (estatística)
g	Gramas
h	Hora (s)
<i>h</i>	Número de parâmetros da equação da reta
hex	<i>n</i> -hexano
km	Kilômetro (s)
L	Litro
min	Minuto
mg	Miligramas
min	Minuto
mL	Mililitros
mm	Milímetros
<i>n</i> -	(Posição do substituinte na molécula) normal
n.	Número
OCTN	Octacloronaftaleno
<i>p</i>	(Posição do substituinte na molécula) para

ppm/p Partes por milhão por peso

p Peso

P Ponto (nível de concentração nas curvas de calibração)

Pd Padrão

PR Porcentagem relativa

psi *Pounds per square inch* – libras por polegadas ao quadrado – medida de pressão

%REC Taxa de recuperação

S_1^2 A variância obtida para a concentração mais baixa

S_2^2 A variância obtida para a concentração mais alta

T Tempo

T_{det} Temperatura do detector

T_{forno} Temperatura do forno

T_{inj} Temperatura do injetor

TCB Triclorobenzeno

v. Volume

v/v Volume por volume

XAD Resina adsorvente

w Modelo de calibração ponderada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS	4
2.1 OBJETIVO PRINCIPAL	4
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
3 REVISÃO DA LITERATURA	5
3.1 BIFENILAS POLICLORADAS	8
3.2 LEGISLAÇÃO BRASILEIRA SOBRE OS PCBS.....	13
3.3 MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO E DE BIODEGRAÇÃO DE PCBS.....	17
3.4 PARÂMETROS DE VALIDAÇÃO	34
3.5 TRATAMENTO DE AMOSTRAS.....	44
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	46
4.1 PRIMEIRA ETAPA: EXTRAÇÃO DOS PCBS (AROCLOS) DE ÓLEO ASCAREL POR CROMATOGRAFIA EM COLUNA DE VIDRO E CARTUCHO SPE – ALUMINA	49
4.1.1 Determinação das condições cromatográficas para análise dos PCBs em padrões de arocloros..	51
4.1.2 Testes para extração dos PCBs (arocloros) do óleo ascarel e de amostras provenientes de reatores anaeróbios	53
4.2 SEGUNDA ETAPA: DETERMINAÇÃO DOS SEIS CONGÊNERES PRESENTES EM SOLUÇÃO COMERCIAL PCB CONGENER <i>MIX</i> 1 SUPELCO EM TRÊS MATRIZES DIFERENTES: ÓLEO ASCAREL, AMOSTRAS PROVENIENTES DE REATORES ANAERÓBIOS EM BATELADA E SOLO	61
4.2.1 Otimização das condições cromatográficas para determinação dos PCBs por CG/DCE.....	62
4.2.2 Escolha do melhor solvente para extrair os PCBs presentes na solução padrão <i>MIX</i>	63
4.2.3 Testes para extração dos PCBs após contaminar o óleo com solução <i>MIX</i> por cromatografia em coluna de vidro	64
4.2.4 Teste para extração dos PCBs do óleo por partição com <i>n</i> -hexano e acetonitrila.....	70
4.2.5 Extração dos PCBs do óleo em cartucho de Extração em Fase Sólida – SPE (<i>Solid Phase Extraction</i>)	71
4.2.6 Testes para extração dos PCBs em colunas de alumina, florisil e sílica gel após tratamento do óleo com ácido sulfúrico concentrado	82
4.2.7 Extração dos PCBs do óleo com a técnica <i>Solid Phase Microextraction</i> (SPME, Micro-extração em Fase Sólida).....	86

4.3 EXTRAÇÃO DOS PCBS DO PADRÃO <i>MIX</i> 1 DE AMOSTRAS PROVENIENTES DE REATORES ANAERÓBIOS EM BATELADA.....	93
4.3.1 Extração líquido-líquido (L-L) com <i>n</i> -hexano e curvas de calibração	94
4.3.2 Preparação das curvas para recuperação absoluta.....	98
4.3.3 Teste para avaliar a adsorção dos PCBs em espuma de poliuretano	98
4.3.4 Determinação da ordem de eluição dos padrões, por CG/EM.....	99
4.4 EXTRAÇÃO DOS PCBS PRESENTES NO PADRÃO <i>MIX</i> 1 POR <i>HS-SPME</i> EM AMOSTRAS DE SOLO	100
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	104
5.1 PRIMEIRA ETAPA.....	104
5.1.1. Condições cromatográficas para a separação dos PCBs em padrões de arocloros por CG/DCE	104
5.1.2 Extração de PCBs (arocloros) do óleo ascarel e de amostras provenientes de reatores anaeróbios	106
5.2 SEGUNDA ETAPA.....	116
5.2.1 Otimização das condições cromatográficas para determinação dos PCBs por CG/DCE.....	116
5.2.2 Escolha do melhor solvente para os PCBs presentes na solução padrão <i>MIX</i>	117
5.2.3 Testes para extração dos PCBs após contaminar o óleo com solução <i>MIX</i> , por extração líquido-líquido e cromatografia em coluna de vidro.....	119
5.2.4 Testes para extração dos PCBs do óleo por partição com <i>n</i> -hexano e acetonitrila.....	121
5.2.5 Extração dos PCBs com cartucho de Extração em Fase Sólida – SPE (<i>Solid Phase Extraction</i>) <i>Supelclean Sulfoxide</i> – SUPELCO (3 g/6 mL).....	121
5.2.6 Testes para extração dos PCBs em colunas de alumina, florisil e sílica gel após tratamento do óleo com ácido sulfúrico concentrado	140
5.2.7 Extração dos PCBs usando a técnica <i>Solid Phase Microextraction</i> (SPME – Micro-extração em Fase Sólida).....	151
5.3 EXTRAÇÃO DOS PCBS DO PADRÃO <i>MIX</i> 1 DE AMOSTRAS PROVENIENTES DE REATORES ANAERÓBIOS EM BATELADA.....	161
5.3.1 Extração líquido-líquido (L-L) com <i>n</i> -hexano e curvas de calibração	161
5.3.2 Recuperação absoluta.....	175
5.3.3 Teste para avaliar a adsorção dos PCBs em espuma de poliuretano	179
5.3.4 Determinação da ordem de eluição dos padrões, por CG/EM.....	183
5.4 EXTRAÇÃO POR <i>HS-SPME</i> DOS PCBS PRESENTES NO PADRÃO <i>MIX</i> 1 DE AMOSTRAS DE SOLO	184

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	192
7 CONCLUSÕES	196
8 SUGESTÕES.....	197
REFERÊNCIAS	199
ANEXOS	211
ANEXO A - ESTUDO SOBRE AS BIFENILAS POLICLORADAS – PROPOSTA PARA ATENDIMENTO À “CONVENÇÃO DE ESTOCOLMO”, ANEXO A – PARTE II (ACESSADO EM 24/03/2013), DO MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, APRESENTA A LEGISLAÇÃO BRASILEIRA PARA OS PCBS, COM OS REGULAMENTOS EDITADOS PELO GOVERNO FEDERAL:	211
ANEXO B - CONVENÇÃO DE ESTOCOLMO	214
APÊNDICES (Cromatogramas)	216
APÊNDICE A - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO PADRÃO MIX PCBS 0,5 MG L ⁻¹ EM ISOCTANO: PCB 10 (11,35 MIN), PCB 28 (15,74 MIN), PCB 52 (6,98 MIN), PCB 153 (23,63 MIN), PCB 138 (24,99 MIN), PCB 180 (20,15 MIN), POR CG/DCE.....	216
APÊNDICE B - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO PADRÃO AROCLORO 1016, 2 MG L ⁻¹ EM METANOL, POR CG/DCE	216
APÊNDICE C - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO PADRÃO AROCLORO 1260, 2 MG L ⁻¹ EM METANOL, POR CG/DCE	216
APÊNDICE D - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO PADRÃO AROCLORO 1221, 2 MG L ⁻¹ EM METANOL, POR CG/DCE	217
APÊNDICE E - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO PADRÃO AROCLORO 1232, 2 MG L ⁻¹ EM METANOL, POR CG/DCE	217
APÊNDICE F - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO PADRÃO AROCLORO 1242, 2 MG L ⁻¹ EM METANOL, POR CG/DCE	217
APÊNDICE G - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO PADRÃO AROCLORO 1248, 2 MG L ⁻¹ EM METANOL, POR CG/DCE	218
APÊNDICE H - CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO PADRÃO AROCLORO 1254, 2 MG L ⁻¹ EM METANOL, POR CG/DCE	218
APÊNDICE I - CROMATOGRAMA OBTIDO POR CG/DCE DE TESTE PARA EXTRAÇÃO DE PCBS – ASCAREL B – FRAÇÃO 1) N-HEXANO	218
APÊNDICE J - CROMATOGRAMA OBTIDO POR CG/EM DE TESTE PARA EXTRAÇÃO DE PCBS – ASCAREL B – FRAÇÃO 1) N-HEXANO	219

APÊNDICE K - CROMATOGRAMA OBTIDO POR CG/DCE DE TESTE PARA EXTRAÇÃO DE PCBS – ASCAREL B – FRAÇÃO 2) <i>N</i> -HEXANO/ACETONA 70:30.....	219
APÊNDICE L - CROMATOGRAMA OBTIDO POR CG/EM DE TESTE PARA EXTRAÇÃO DE PCBS – ASCAREL B – FRAÇÃO 2) <i>N</i> -HEXANO/ACETONA 70:30.....	219
APÊNDICE M - CROMATOGRAMA OBTIDO POR CG/DCE DE TESTE PARA EXTRAÇÃO DE PCBS – AFLUENTE DO REATOR A – FRAÇÃO 1) <i>N</i> -HEXANO.....	220
APÊNDICE N - CROMATOGRAMA OBTIDO POR CG/DCE DE TESTE PARA EXTRAÇÃO DE PCBS – AFLUENTE DO REATOR A – FRAÇÃO 2) <i>N</i> -HEXANO/ACETONA 70:30	220
APÊNDICE O - CROMATOGRAMA OBTIDO POR CG/DCE DE TESTE PARA EXTRAÇÃO DE PCBS – AFLUENTE DO REATOR B – FRAÇÃO 1) <i>N</i> -HEXANO.....	220
APÊNDICE P - CROMATOGRAMA OBTIDO POR CG/DCE DE TESTE PARA EXTRAÇÃO DE PCBS – AFLUENTE DO REATOR B – FRAÇÃO 2) <i>N</i> -HEXANO/ACETONA 70:30.....	221
APÊNDICE Q - CROMATOGRAMA OBTIDO POR CG/DCE DE TESTE PARA EXTRAÇÃO DE PCBS - MISTURA DE SOLUÇÕES DE PADRÕES DE AROCLOROS 1260 E 1016, 10 MG L ⁻¹ – FRAÇÃO 1) <i>N</i> -HEXANO	221
APÊNDICE R - CROMATOGRAMA OBTIDO POR CG/DCE DE TESTE PARA EXTRAÇÃO DE PCBS – PADRÃO MIX – FRAÇÃO 1) <i>N</i> -HEXANO.....	221
APÊNDICE S - CROMATOGRAMA OBTIDO POR CG/DCE PARA EXTRAÇÃO L-L – TESTE (B) <i>N</i> -HEXANO/CH ₂ CL ₂ 70:30.....	222
APÊNDICE T - CROMATOGRAMA OBTIDO POR CG/DCE PARA EXTRAÇÃO L-L – TESTE (C) <i>N</i> -HEXANO/ACETONA 70:30.....	222
APÊNDICE U - CROMATOGRAMA OBTIDO POR CG/DCE PARA EXTRAÇÃO L-L – TESTE (D) CICLO-HEXANO.....	222
APÊNDICE V - CROMATOGRAMA OBTIDO POR CG/DCE PARA EXTRAÇÃO L-L – TESTE (E) <i>N</i> -PENTANO.....	223
APÊNDICE X - CROMATOGRAMA OBTIDO POR CG/DCE PARA EXTRAÇÃO L-L – TESTE (F) BENZENO	223
APÊNDICE Y - CROMATOGRAMA OBTIDO POR CG/DCE PARA EXTRAÇÃO L-L – TESTE (G) TOLUENO	223

1 INTRODUÇÃO

Os transformadores de grande porte usados nas redes de transmissão de energia elétrica trabalham em operação ininterrupta durante anos. Para isso é necessário que possuam eficiente sistema de isolamento e refrigeração, realizado por fluidos com características físico-químicas como alta constante dielétrica e grande estabilidade térmica.

Em todo o mundo, até o início dos anos 80, os fluidos usados para este fim eram chamados *Polychlorinated Biphenyls* (PCBs), ou bifenilas policloradas. Os PCBs foram produzidos e comercializados internacionalmente como ascarel (ou askarel), fenoclor, aroclor, etc. No Brasil o óleo ficou conhecido como ascarel. A nomenclatura dos PCBs componentes do óleo (chamados arocloros) relaciona a estrutura da molécula (número de átomos de carbono) e a porcentagem de cloro. Por exemplo, o arocloro 1254 é composto de uma mistura de PCBs (12 átomos de carbono) com 54% de cloro.

Por possuir grande número de átomos de cloro em seus componentes, o ascarel é altamente tóxico, provocando riscos à saúde e ao meio ambiente, motivo pelo qual teve seu uso proibido em todo o mundo a partir dos anos 70. No Brasil foi proibido em 1981 pela Portaria Interministerial n. 19, de 02 de Janeiro de 1981. Essa mesma portaria ainda permitiu o uso dos equipamentos com PCBs até o final de sua vida útil, que é de pelo menos 20 anos. Assim, a substituição do ascarel, principalmente por óleo de silicone, foi gradual e provocou contaminações em alguns transformadores ainda em operação (ANTONELLO et al., 2007).

O uso dos PCBs, a partir de 1929, significou avanço industrial por impedir as catástrofes causadas pelos incêndios elétricos. Mas suas características principais responsáveis por isso -

como baixa reatividade, alta resistência elétrica e estabilidade sob calor e pressão foram também a causa de torna-los persistentes no ambiente, por bioacumulação (BOYLE et al., 1992).

Mesmo com a proibição da produção dos PCBs, há 30 anos, ainda é possível detectá-los em amostras ambientais e biológicas, provavelmente devido às contaminações nas trocas de equipamentos, além dos possíveis vazamentos (TAKASUGA et al., 2005).

Em 50 anos foram produzidas 626.000 toneladas de PCBs em todo o mundo, o que provocou contaminação generalizada desses compostos no ambiente. Sua natureza lipofílica contribui para a sua acumulação em tecidos gordurosos, resultando em magnificação na cadeia alimentar (ABRAMOWICZ, 1990).

Os PCBs são muito pouco ou praticamente insolúveis em água (lipossolúveis) e miscíveis com solventes orgânicos, o que aumenta a facilidade de sua absorção em tecidos gordurosos. Apesar de já ter sido proibida sua produção, ainda é permitido o seu uso em equipamentos antigos até possível substituição, o que causa problemas com descarte e contaminação.

O IBAMA noticiou recentemente a presença de 21 toneladas de ascarel no porto de Rio Grande/RS. Os prováveis impactos ambientais são a contaminação do solo e da água, em especial as águas subterrâneas, o que torna os seres vivos também suscetíveis por estarem expostos aos PCBs direta ou indiretamente, pelo ar, sedimentos, alimentação, além da água (SCHWANZ et al., 2012).

A baixa solubilidade dos PCBs em água e seu carácter lipofílico, somados à resistência para a degradação metabólica, os tornam um risco para a saúde ambiental e humana (HU et al., 2009).

Em alguns estudos com seres humanos verificou-se que os PCBs são compostos potencialmente cancerígenos. Por isso, pessoas que estão expostas a elevadas concentrações de PCBs podem sofrer efeitos como doenças de pele e danos ao fígado (hepatite). Outros efeitos, tais como perda de peso, comprometimento de função imunológica e danos ao sistema nervoso central - como dores de cabeça, depressão, fadiga, vertigem e nervosismo - também podem ocorrer em curto prazo, após a exposição (HATAMIAN-ZARNI et al, 2009).

De acordo com o Documento de Projeto do Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento - PNUD - BRA/08/G32: Brasil – Estabelecimento da gestão de resíduos de PCB e sistema de disposição (Ministério do Meio Ambiente, [2005]), o Brasil, por ser signatário da Convenção de Estocolmo (Ministério do Meio Ambiente, 2005, Anexo B), compromete-se a eliminar e destruir os PCBs até, no máximo, 2025. De acordo com a Convenção, os materiais com alta concentração de PCB são os que contêm concentração maior do que 10%, como por exemplo o ascarel.

Para eliminar ou substituir o fluido de um transformador é necessário saber o teor total de PCBs presentes. Por isso, é importante a determinação dessas substâncias, pois este é um passo importante para a decisão da disposição do material, apesar de ser difícil determinar todos os PCBs presentes, uma vez que há 209 congêneres a serem considerados (SAUVAIN et al., 1994).

É bastante difícil separar os PCBs das outras substâncias que estão presentes no óleo mineral devido a suas características físico-químicas serem muito similares (SHIN; KIM, 2006).

Sabe-se que na maioria dos protocolos de análises a parte mais trabalhosa é a preparação da amostra, que contribui com aproximadamente dois terços do tempo total da determinação;

além disso, alguns métodos para extrair PCBs como Soxhlet, por exemplo, usam grandes volumes de solvente, e o processo é bastante demorado. Por isso, busca-se encontrar métodos que diminuam o tempo de preparação das amostras e o consumo de solventes orgânicos (BJÖRKLUND; VON HOST; ANKLAM, 2002).

A análise dos PCBs por Cromatografia Gasosa com Detector de Captura de Elétrons (CG/DCE) realizada neste trabalho requer o desenvolvimento de técnicas de separação e de isolamento dos analitos presentes nas amostras, bem como o estabelecimento das melhores condições cromatográficas do método usado. As amostras estudadas nesta pesquisa têm origens distintas: o óleo ascarel da Empresa Bandeirante, de São José dos Campos, amostras procedentes de ensaios em reatores anaeróbios em batelada, realizados no trabalho de pós-doutorado de Bruna Gomes Carrer (processo CNPq 150339/2012-7) e amostras de solo.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo principal

Desenvolver e validar método de extração e determinação, por CG/DCE, de bifenilas policloradas.

2.2 Objetivos específicos

Avaliar diferentes métodos de extração e de purificação prévia das amostras para determinação de bifenilas policloradas (PCBs) em três matrizes distintas: óleo ascarel, amostras provenientes de reatores anaeróbios e solo (contaminado com PCBs, fornecido pelo Departamento de Biologia da UFSCar/Sorocaba e não contaminado, coletado no terreno do LPB).

Determinar PCBs por cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons após purificação de amostras reais.

3 REVISÃO DA LITERATURA

A principal fonte de contaminação de PCBs no ambiente é a disposição de resíduos, pois ainda devem estar presentes em sistemas fechados como capacitores e transformadores antigos, embora o uso esteja em declínio com o decorrer dos anos (SROGI, 2008).

Os PCBs, que foram produzidos com base em suas propriedades físicas, foram comercializados com diferentes formulações, variando a sua composição. Tais substâncias podem ser eliminadas por combustão, fotólise, biodegradação e decomposição química, formando os compostos tóxicos, *polychlorinated dibenzofurans* (PCDFs) – os dibenzofuranos policlorados (TAKASUGA et al., 2005).

Nos processos aeróbios os microrganismos usam preferencialmente os congêneres de PCBs com menor número de átomos de cloro, convertendo-os aos ácidos benzoicos correspondentes. Esses ácidos clorobenzoicos podem ser degradados por bactérias indígenas

(naturais do próprio local), resultando na produção de dióxido de carbono, água, cloreto e biomassa. Por outro lado, as bactérias anaeróbias degradam os PCBs com maior número de átomos de cloro por descloração redutiva, removendo os átomos de cloro das posições *meta* e *para*, o que resulta na diminuição do grau de cloração dos PCBs e aumento dos congêneres com menor número de átomos de cloro, *orto*-substituídos (ABRAMOWICZ, 1995).

A descloração anaeróbia traz benefícios com relação à redução do risco potencial de carcinogenicidade dos PCBs pela redução dos graus de coplanaridade dos congêneres de PCBs. Os compostos menos clorados também são mais facilmente degradados por bactérias aeróbias, além de não serem significativamente acumulados na cadeia alimentar. Esses resultados foram objeto de estudos de câncer em ratos, nos quais apenas as misturas com PCBs com maior número de átomos de cloro (arocloro 1260, por exemplo) resultaram em potencial carcinogênico (ABRAMOWICZ, 1995).

Devido ao fato de as composições comerciais de PCBs possuírem mais do que 60 ou até 80 congêneres em níveis detectáveis analiticamente, representam um desafio para a degradação microbiológica. Há relatos de estudos de degradação dos PCBs em que *Nocardia* e *Pseudomonas* spp. degradaram seletivamente desde *mono* até tetraclorobifenilas em Arocloro 1242 (5 ppm), após 10 – 30 dias de incubação. Três culturas mistas degradaram a maioria de *mono*-, *di*- e triclorobifenilas e prováveis tetraclorobifenilas em água saturada com Arocloro 1242 (BEDARD et al., 1987).

O debate sobre os processos de biodegradação dos PCBs em solos e sedimentos sugere que nestas matrizes a velocidade seja bem menor do que em experimentos de incubação otimizados. Mandalakis et al. (2008) verificaram em experimentos de laboratório que os PCBs podem ser biodegradados em solos e sedimentos por dois mecanismos diferentes: descloração redutiva anaeróbia, que envolve a remoção dos átomos de cloro na ausência de

oxigênio e biodegradação aeróbia, pela destruição oxidativa das moléculas de PCBs, formando uma série de intermediários de degradação.

A contaminação da biota por PCBs ocorre, principalmente, pela descarga direta ou indireta no ambiente, onde solos ou sedimentos podem atuar como reservatórios. A entrada desses compostos na cadeia alimentar é facilitada pelas suas propriedades lipofílicas, e pode haver bioconcentração (acúmulo em organismos vivos, quando a velocidade de absorção é maior do que a velocidade de eliminação) e biomagnificação (acúmulo em tecidos de organismos vivos e passagem pelos níveis tróficos).

Para eliminar PCBs em grande quantidade, a incineração a altas temperaturas é o método consagrado; porém, neste processo existe a possibilidade da formação de outros compostos extremamente tóxicos, por combustão incompleta dos PCBs, como por exemplo: *polychlorinated dibenzofuranes* (PCDF) – dibenzofuranos policlorados e *polychlorinated dibenzodioxines* (PCDD) – dibenzodioxinas policloradas (Figura 1). (PENTEADO; VAZ, 2001).

Figura 1 – Estrutura de dioxinas - PCDDs, furanos - PCDFs e PCBs (SROGI, 2008)

Para o controle da concentração de PCBs no ambiente a determinação analítica é uma etapa obrigatória e imprescindível! A cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons (CG/DCE) é um dos métodos mais precisos para isso, e o impacto da matriz é bastante forte no caso de amostras de óleo, devido ao fato de que as suas propriedades químicas são bastante similares às dos analitos de interesse, os PCBs. Por esse motivo existem vários métodos para preparação e *cleanup* (limpeza, para isolar o analito e eliminar o efeito da matriz - LANÇAS, 2004) das amostras, como *Solid Phase Extraction* (SPE), por exemplo (BOGDEVICH; CADOCINICOV, 2004).

3.1 Bifenilas Policloradas

PCBs ou bifenilas policloradas pertencem a uma classe de substâncias organocloradas (Figura 2), inicialmente sintetizadas em torno de 1800, na Alemanha, mas produzidos industrialmente apenas depois de 1922. As muitas possibilidades de substituições dos átomos de H por átomos de cloro (Cl), variando de 1 a 10, podem gerar até 209 compostos diferentes, denominados congêneres (Tabela 1, PENTEADO; VAZ, 2001).

Figura 2 - Estrutura molecular dos PCBs, sendo $x + y \leq 10$ (PENTEADO; VAZ, 2001)

Os PCBs tiveram ampla aplicação industrial como fluidos dielétricos em capacitores e transformadores, fluidos hidráulicos, óleos lubrificantes, plastificantes e aditivos para pesticidas e tintas, devido às suas propriedades como, por exemplo, resistência térmica, a partir dos anos 30 (FOUIAL-DJEBBAR et al., 2010).

PCBs, juntamente com os pesticidas organoclorados - como aldrin, clordano, DDT, dieldrin, endrin, etc. - fazem parte do grupo atualmente definido pela Convenção de Estocolmo como Poluentes Orgânicos Persistentes (*Persistent Organic Pollutants, POPs*). Apesar de já ter sido proibida sua fabricação a partir dos anos 70 e 80, ainda resta o legado do “passivo” desses compostos persistentes, além do resíduo em solos, sedimentos e biota, que representam um risco à vida (MUIR ; SVERKO, 2006).

Tabela 1 - Congêneres de PCBs possíveis, massa molecular e porcentagem de cloro para vários congêneres de PCBs

Bifenila	Congêneres	Massa molecular	% Cloro
Monocloro	3	188,7	18,8
Dicloro	12	223,1	21,8
Tricloro	24	257,5	41,3
Tetracloro	42	292,0	48,6
Pentacloro	46	326,4	54,3
Hexacloro	42	360,9	58,9
Heptacloro	24	395,3	62,8
Octacloro	12	429,8	66,0
Nonacloro	3	464,2	68,7
Decacloro	1	498,7	71,2
Total	209		

Fonte: Penteadó e Vaz (2001)

A partir de 1966 os PCBs foram considerados resíduos perigosos e, desde então, despertaram interesse como poluentes ambientais. Esses compostos são quimicamente estáveis, não inflamáveis, possuem alta constante dielétrica, características que lhes conferiram vantagem econômica. Por outro lado, representam desvantagem e risco em relação ao fator ambiental, pois suas características físico-químicas favorecem a sua bioacumulação e biomagnificação na cadeia alimentar (MARTÍNEZ; RODRÍGUEZ; CASTILLO, 2005); além disso, sua alta lipofilicidade potencializa a acumulação em tecidos gordurosos.

De acordo com o «Guia para o inventário nacional de bifenilas policloradas (PCB)», do Ministério do Meio Ambiente do Governo Federal do Brasil (Outubro, 2012), os transformadores elétricos em operação (Figura 3) devem ser declarados pelos seus detentores e são classificados, de acordo com o teor de PCB, como :

- *Não PCB* ou *não contaminado* (isento de PCB) quando a concentração total de PCB $< 50 \text{ mg kg}^{-1}$;
- *Contaminado por PCB*, quando a concentração de PCB for $\geq 50 \text{ mg kg}^{-1}$ e $< 500 \text{ mg kg}^{-1}$;
- *PCB* (contém PCB), quando a concentração de PCB $\geq 500 \text{ mg kg}^{-1}$.

Para os outros equipamentos elétricos, como capacitores, disjuntores, chaves, religadores - em operação ou não - e transformadores fora de operação, a classificação quanto à quantidade de PCB deve ser declarada como:

- *Não PCB* ou *não contaminado* (isento de PCB), quando a concentração de PCB $< 50 \text{ mg kg}^{-1}$;
- *PCB* (contaminado), quando a concentração de PCB $\geq 50 \text{ mg kg}^{-1}$.

A classificação deve ser realizada inicialmente por um teste rápido, com o *PCB Screening Kit*, da Dexsil, que consiste na verificação da quantidade de cloro na amostra ; é considerado « positivo » quando a concentração de cloro é superior a 21 mg L^{-1} , baseado na porcentagem de cloro do arocloro menos halogenado (1242), ou seja, 50 mg L^{-1} de arocloro 1242 contém, pelo menos, 21 mg L^{-1} de cloro (MILLS e RHOADS, 1985). Além disso, esse teste também tem a finalidade de reduzir o número de amostras para confirmação por cromatografia. É possível usar outro método rápido para aplicação em campo ou laboratório, desde que este apresente validação científica com intervalo de confiança $> 99\%$ para resultado falso negativo.

A estocagem de resíduos, partes de equipamentos, roupas, botas e outros materiais contaminados por PCB (rotulados) segue a norma ABNT NBR 8371, prevenindo que os mesmos escapem para o meio ambiente e entrem em contato com pessoas, sendo mantidos sob estocagem segura até futura eliminação, em local fechado, situado a pelo menos 100 m de pontos críticos, como corpos d'água, aquedutos, escolas, hospitais, instalações para a guarda e

preparação de alimentos, plantas de tratamento de água, ventilação de edifícios; também deve ser afastado (mínimo de 3 m) de zonas de pedestres, plantas industriais etc.

Figura 3 - Transformador preenchido com óleo ascarel, potencialmente PCB (Lorencini Brasil, acesso em 06 mai. 2013)

Tiedje et al. (1993) consideram os compostos orgânicos clorados como responsáveis por metade dos problemas causados por poluentes orgânicos no ambiente, em todo o mundo. A possibilidade de degradação dessas substâncias por microrganismos aeróbios é limitada pelo bloqueio do sítio de ataque enzimático causado pelo cloro, o que torna os compostos orgânicos clorados persistentes no ambiente. Por outro lado, tem-se estudado a capacidade dos microrganismos anaeróbios para descloração redutiva dessas substâncias, com as seguintes vantagens: a) reduzir o número de átomos de cloro nas moléculas; b) reduzir a toxicidade dos compostos assim gerados; c) facilidade e possibilidade tecnológica e economicamente viável de realizar remediação *in situ*, em condições anaeróbias.

Rysavy, Yan e Novak (2005) verificaram que há poucas opções de tratamento de PCBs - e as que existem são, geralmente, economicamente inviáveis, o que leva os pesquisadores a estudar o potencial da descloração biológica como opção para remediação *in situ*. A descloração anaeróbia pode reduzir a toxicidade de compostos altamente clorados,

principalmente quando remove os átomos de cloro das posições *meta* e *para*. Isto foi notado em sítios contaminados com PCBs e também em microcosmos com sedimentos. Mas pouco se sabe sobre os mecanismos de descloração anaeróbia de PCBs.

Georgii et al. (1994) verificaram, em importante estudo sobre a contaminação de 80 raposas por PCBs na Alemanha, redução da concentração desses compostos com maior número de átomos de cloro, como os de números 138, 153 e 180 – *hexa* e *hepta*cloros (estas substâncias estão presentes na solução padrão *PCB Congener MIX 1*, objeto de estudo da presente pesquisa) e aumento da contaminação por PCBs com menor número de átomos de cloro, como os PCBs 28, 49 e 52 – *tri* e *tetra*cloros (28 e 52 também presentes na solução *MIX 1*), de 1983 a 1991. A partir das diferenças das concentrações de PCBs encontrados nos animais pode-se inferir mudanças temporais nas concentrações de PCBs no ambiente; por exemplo, que houve maior liberação de PCBs com maior número de átomos de cloro para o ambiente, derivados de várias fontes. Os autores observaram enorme quantidade de PCB 180, em relação ao PCB 153, em amostras de tecido gorduroso das raposas.

Segundo estudos toxicológicos comparativos com cachorros da raça Beagle, esse fenômeno sugere a possibilidade de as raposas possuírem uma isoenzima similar ao citocromo P-450, capaz de degradar compostos aromáticos 2,4,5-tricloro substituídos. As raposas foram escolhidas porque no passado eram indicadores biológicos para detectar a presença do pesticida hexaclorobenzeno, uma vez que se posicionam no topo de uma cadeia alimentar composta por pequenos mamíferos, invertebrados terrestres e plantas.

3.2 Legislação Brasileira sobre os PCBs

Em 2009 surgiu o Programa Executivo entre a Organização das Nações Unidas (ONU) e o governo do Brasil para a execução do projeto “Desenvolvimento de um Plano Nacional de Implementação (NIP) no Brasil como primeira etapa do cumprimento da Convenção de Estocolmo sobre poluentes orgânicos persistentes (POPS)”. O objetivo desse programa foi prestar assistência técnica, supervisionar, disponibilizar especialistas de acordo com as atividades e recursos definidos no projeto e gerenciar os recursos financeiros.

Conforme Documento de Projeto do Programa das Nações Unidas para o meio ambiente (acesso em 21 mar. 2013), mesmo após ter sido proibido o uso de PCBs pelo Ato administrativo Interministerial 19/1981, equipamentos contendo PCBs ainda eram importados e, em 1982, o Comitê Brasileiro para a Indústria Elétrica (COBEI), da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) estimou que, de 1945 a 1981, 21.000 toneladas de fluidos de transformadores de PCBs e 5.000 toneladas de fluidos de capacitores com PCBs haviam sido importados.

A partir de 1982 os proprietários de óleos e equipamentos contendo PCB foram obrigados a registrar as quantidades nas agências ambientais e reguladoras pertinentes. Mas nem todos os equipamentos contaminados estavam confirmados. No Brasil existem três empresas com licença para incinerar líquidos de PCB e outra, para sólidos. Mas não há impedimento legal para a exportação de resíduos de PCB com o propósito de destruição ambientalmente adequada.

A Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) desenvolve e mantém inventário de áreas potencialmente contaminadas há alguns anos. Esse inventário lista 1500 áreas e implementa um programa de remediação delas, visando 510 das áreas listadas, mas nem todas estão completamente caracterizadas. Dentre essas áreas podem ser citadas: Columbian Chemicals Brasil Ltda – Cubatão (em processo de remediação);

Eletropaulo Metropolitana; Gerdau S. A. – Sapucaia do Sul; Rede Ferroviária Federal S/A, Iperó; SPAL Ind. Brasileira de Bebidas S/A, Jurubatuba.

De acordo com a Convenção de Estocolmo (Anexo B, acesso em 24 mar. 2013), “as *Partes* da Convenção são obrigadas a reduzir o total das liberações decorrentes de fontes antropogênicas, com o objetivo de sua contínua minimização e, sempre que possível, sua eliminação total”. Em relação aos PCBs, alguns dos objetivos do Projeto são os seguintes: *desenvolver medidas, de acordo com as obrigações das Partes estabelecidas na Convenção; desenvolver uma infraestrutura sustentável que permita ao Brasil implementar a Convenção de Estocolmo nos níveis Federal e estadual.* Sobre os produtos e artigos em uso, resíduos e áreas contaminadas, a Convenção estabelece, para os PCBs, que *a produção de novos produtos deve cessar após a vigência da Convenção; os equipamentos em uso que possuem PCBs devem ser eliminados até 2025 - aqui há uma exceção específica, que permite o uso desses equipamentos, desde que sejam feitos esforços para identificar, rotular e removê-los do uso; promovam-se medidas para reduzir a exposição e o risco; faça-se uso de PCBs apenas em equipamentos à prova de vazamentos e em áreas onde o risco de liberação para o meio ambiente seja minimizado e rapidamente remediado; seja proibido o uso próximo à produção e processamento de alimentos e ração; e, quando usados em áreas povoadas (escolas, hospitais, etc.), deve-se tomar todas as medidas razoáveis para inspeção regular de vazamentos nos equipamentos e proteção contra falhas elétricas que possam provocar incêndio.*

Ainda de acordo com a Convenção, *os equipamentos de PCBs que não sejam importados ou exportados, exceto para o propósito de gerenciamento ambientalmente adequado de resíduos e líquidos com mais de 0,005% de PCBs, não devem ser recuperados para reutilização em outro equipamento; também se deve tomar medidas gerais para prevenir ou*

minimizar a exposição humana e a liberação de PCBs para o meio ambiente. O gerenciamento ambientalmente adequado de resíduos com mais de 0,005% de PCBs deve ser atingido até 2028. O Brasil tem, ao longo das últimas duas décadas, colocado em prática uma série de medidas legislativas e regulatórias que proíbem a produção e comércio de PCBs, restringem sua disposição e orientam seu gerenciamento em equipamentos que permanecem em uso. Um inventário preliminar descreve cerca de 100.000 t de equipamentos, sem contar os que possam ter sido contaminados com PCBs.

O Plano Nacional de Implementação (NIP) da Convenção de Estocolmo sobre os Poluentes Orgânicos Persistentes POPs, de 23/03/2010 (acesso em 24 mar. 2013) é um projeto que pretende, entre outras medidas, *preparar o inventário nacional de PCBs, de equipamentos contendo PCBs e de outros artigos contendo PCBs; desenvolver mecanismos e estratégias para gerenciamento adequado, sistemas de disposição e eliminação dos PCBs e equipamentos com PCB; enfim, desenvolver política nacional, legal, regulatória e os arranjos de divulgação, para atender os requisitos da Convenção.* Algumas ações encontram-se em andamento, tais como convênio com a CETESB para implementação do laboratório de dioxinas e furanos, tradução do texto da Convenção de Estocolmo e parceria Ministério do Meio Ambiente/Fundação Oswaldo Cruz (MMA/FIOCRUZ) para coleta e análise de leite materno (Programa de Monitoramento Global). As principais barreiras encontradas pelos grupos de trabalho que atuam no NIP são: *ausência de legislação e normas técnicas específicas para o gerenciamento de componentes de equipamentos contaminados com PCB; dificuldade de identificação de aplicações difusas contendo PCB; e restrições operativas quanto ao desligamento dos equipamentos imposta pelo órgão regulador.*

3.3 Métodos de determinação e de biodegração de PCBs

É fundamental, para um laboratório que realiza análises cromatográficas, dispor de meios e critérios objetivos para demonstrar, através da validação, que os métodos de ensaio que executam conduzem a resultados confiáveis e adequados à qualidade requerida (INMETRO – DOQ-CGCRE-008, Revisão 02 – junho/2007).

De acordo com Ribani et al. (2004), a validação de um método é um processo contínuo que começa no planejamento da estratégia analítica e continua ao longo de todo o seu desenvolvimento e transferência. O tipo do programa de validação depende do método em particular e de suas propostas de aplicação. Alguns dos parâmetros analíticos normalmente encontrados para validação de métodos de separação são os seguintes: linearidade e faixa de aplicação; precisão do método e instrumental; limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ), além da recuperação do método de extração.

A validação de um método é um processo para confirmar que o procedimento analítico empregado está adequado e é eficiente para o seu uso. É importante ressaltar as características das amostras estudadas, como a matriz e a sua procedência, para poder trabalhar com parâmetros que estejam de acordo com as particularidades de cada caso. De qualquer forma, deve-se sempre usar o bom senso para estabelecer quais critérios são suficientes para as necessidades em questão. A validação de um método específico deverá ser demonstrada em experimentos de laboratório, usando amostras e padrões similares à matriz das amostras desconhecidas a serem analisadas.

Os métodos mais comumente usados para determinar PCBs empregam a cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons ou detector (espectrômetro) de massas (CG/DCE; CG/EM) - ou mesmo ambos - e, para garantir o fornecimento de resultados confiáveis, é necessária a validação do método estudado. Os critérios podem ser estabelecidos para os diferentes tipos de amostras, e os parâmetros considerados são, geralmente: linearidade, precisão, repetibilidade, limites de detecção e de quantificação (SCHWANZ et al., 2012).

Para extrair os PCBs de diferentes matrizes, como água, alimentos, solo, óleo, etc., existem vários métodos descritos na literatura. Em uma revisão sobre várias técnicas de extração, Björklund, Von Host e Anklam (2002) concluíram que Extração Assistida por Micro-ondas (*MAE – Microwave-assited extraction*) é uma técnica que pode ser aplicada para análises rápidas, principalmente quando combinada com outras técnicas de *cleanup*; Extração com Fluido Supercrítico (*SFE - Supercritical Fluid Extraction*) diminui o tempo de extração, com menos interferentes; a combinação de extração em fase sólida com florisil ou alumina para reter as gorduras também é importante para matrizes complexas; por meio da aplicação de Extração Acelerada por Solvente (*ASE – Accelerated Solvent Extraction*) obtém-se aumento no rendimento e redução do tempo de extração; a adição de ácido sulfúrico diretamente na amostra remove os lipídeos e aumenta a rapidez da análise de PCBs em alimentos; Extração em Fase Sólida e Micro-extração em Fase Sólida (*SPE e SPME – Solid Phase Extraction e Solid Phase Micro Extraction*) são técnicas vantajosas para matrizes líquidas, em comparação com os procedimentos de extração líquido-líquido (*L-L*).

Bedard et al. (1987) usaram 1% de triton (detergente não-iônico, agente dispersante; The Merck Index, 1996), ácido perclórico (0,7%) e 4 volumes hexano para extrair os PCBs

de células de *Alcaligenes eutrophus* H850 e *Corynebacterium* sp. MB, capazes de degradar alguns arocloros. Os autores usaram esse procedimento antes da aplicação de CG/DCE, usada para identificar os principais componentes dos arocloros 1242 e 1254. Por meio dos cálculos da quantidade de degradação de cada substância (pelo menos 39 dos 60 congêneres foram degradados), os autores verificaram redução de 81% de PCBs para Arocloro 1242 e 35% para arocloro 1254 (10 mg L^{-1}) em 2 dias.

Fava, Gentilucci, Zanaroli (2003) estudaram a degradação anaeróbia de PCBs em três sedimentos contaminados em Veneza (Itália) em meio mineral (25% v/v), por bactérias fermentativas e arqueias metanogênicas marinhas ou em água, sob condição anaeróbia estrita. Nesse caso a extração foi feita em éter etílico na presença de mercúrio e octacloronaftaleno para determinação por CG/DCE (em duplicata). A análise qualitativa dos PCBs foi feita por comparação dos tempos de retenção com padrões de arocloros 1242 e 1254, e a curva de calibração foi feita com 4 pontos (faixa de concentração de $0,5 - 10,0 \text{ mg L}^{-1}$). Os processos de descloração dos PCBs parecem ser mediados pelas bactérias redutoras de sulfato e/ou metanogênicas, similarmente ao que ocorre *in situ*.

Sobiecka e Cedzynska (2005) estudaram a degradação aeróbia e anaeróbia dos PCBs presentes na solução *MIX 1* – SUPELCO usando óleo de transformador, por 3 meses, a 30°C . A determinação dos componentes foi feita por CG/DCE após extração com acetona/*n*-hexano (1:3) seguida de discos J. T. Baker e cartuchos Bakerbond (SPE), usando padrões SUPELCO PCBs *Congeners MIX*. A diferença entre as concentrações dos congêneres de PCBs antes e após o processo, nas culturas, foi considerada como o grau de biodegradação. Os efeitos mais altos de degradação, para os PCBs menos clorados, foram observados no processo aeróbio (83%). A combinação de degradação anaeróbia e aeróbia foi mais efetiva para os compostos menos clorados (acima de 93%).

Hatamian-Zarmi et al. (2009) fizeram extração L-L com *n*-hexano diretamente do meio de cultivo usado para estudar a degradação de arocloro 1242 pela bactéria *Pseudomonas aeruginosa* e a determinação foi feita por CG/DCE. Os resultados foram calculados pela comparação dos picos das quantidades residuais de cada congênere com os respectivos picos referentes aos sinais do controle. A análise da transformação dos congêneres individuais de PCBs no arocloro 1242, tanto na presença quanto na ausência de bifenila, representa uma redução na contagem total das áreas – que, para o conteúdo de PCB, foi de 73,3% e 57,5%, respectivamente. Os picos correspondentes a substituições de 5 e 6 cloros foram eliminados sem a necessidade da presença de bifenila. A relação entre a substituição dos cloros e a quebra dos PCBs pelos microrganismos foi determinada pelas posições relativas dos substituintes no núcleo aromático, ao invés do número de átomos de cloro presente no anel.

PCBs foram determinados em águas de manguezais, oceano e lixiviado de solo contaminado; a extração foi feita por SPME, e a análise, por CG/DCE (YANG; MILLER; HAWTHORNE, 1998). Ocorreu “dessorção incompleta”, ou seja, após cada amostra, ainda restavam analitos na fibra, mesmo com fibras novas, causando a necessidade de fazer brancos entre uma amostra e outra para evitar erros na quantificação.

Dupont et al. (1999) determinaram PCBs em lodo de esgoto municipal na França, com hexano/acetona (1:1), por MAE em um sistema para extração com solvente por micro-ondas *Soxwave* na presença de barras de cobre ativado (para remover enxofre), em triplicata; filtrados e ambos os extratos foram passados em cartuchos de sílica para retirar as gorduras e lipídeos antes de injetar em CG/EM. Os resultados foram comparados com extrações feitas em Soxhlet. Apesar dos melhores resultados obtidos por Soxhlet, a

eficiência do MAE foi satisfatória, cujas perdas foram associadas com o passo de filtração, considerando os tempos de análise (10 min para MAE contra 6 h para Soxhlet).

Shu et al. (2003) desenvolveram método por *headspace* (espaço que compreende a fase de vapor da amostra) HS-SPME assistida por micro-ondas (MA-HS-SPME – *Microwave assisted headspace solid phase microextraction*) para determinar PCBs em amostras aquosas por CG/DCE. De acordo com os autores, por meio da aplicação desse método obteve-se a melhor eficiência de extração nas condições otimizadas, ou seja, 20 mL de amostra com 40 mL de *headspace*, sem adição de NaCl ou MeOH.

Derouiche et al. (2007) analisaram PCBs em amostras de água de rio por *headspace* - Solid Phase Micro Extraction (HS-SPME), com fibra de polidimetilsiloxano (PDMS) e polidimetilsiloxano-divinilbenzeno (PDMS-DVB) e CG/DCE e CG/EM, em concentrações abaixo de $0,1 \text{ ng mL}^{-1}$. Os autores concluíram que essa técnica é uma poderosa ferramenta para análise multi-resíduos de PCBs em amostras aquosas, com detecção em nível de ppb ($\mu\text{g L}^{-1}$) para amostras reais.

Silva, Alves e Santos (2009) determinaram PCBs em água por SPME-CG-DCE. A identificação dos compostos foi feita por CG/EM. A aplicação deste método (SPME) tem como vantagem a simplicidade de tratamento da amostra e evita o uso de solventes orgânicos perigosos, além dos passos de pré-concentração; porém, os limites de detecção são mais altos.

Song et al. (2012) determinaram PCBs cuja estrutura contém de 1 a 8 átomos de cloro em amostras de água do mar usando HS-SPME e CG/EM, após oxidação com KMnO_4 em pH 6 para remover substâncias húmicas, o que favoreceu a recuperação dos PCBs.

Herrera et al. (2005) determinaram PCBs juntamente com pesticidas em amostras de mel dissolvidas em metanol-água após extração (SPE) em cartuchos de ENV mais copolímero de poliestireno-divinilbenzeno eluídos com acetato de etila, seguida de análise por CG-DCE/detector de nitrogênio e fósforo (CG-DCE/DNP), para verificar a possível relação entre a concentração de compostos organoclorados com o câncer de mama. A extração por SPE é uma boa alternativa para a determinação de resíduos porque não necessita de partição líquido-líquido com solventes. Esse método também permite determinar várias substâncias (15 pesticidas organoclorados e 6 congêneres de PCB) simultaneamente.

A investigação de PCBs, dibenzo-*p*-dioxinas (PCDDs) e dibenzo-*p*-furanos (PCDFs) em leite de búfala e queijo *mozzarella* foi feita por Santelli et al. (2006). Após *cleanup* em colunas de vidro de sílica gel com sulfato de sódio, carbono e alumina (diclorometano e *n*-hexano como eluentes), as amostras foram analisadas individualmente e em série, e a determinação foi feita por CG/EM. As amostras vieram de áreas contaminadas por resíduos de incineradores e/ou combustão a céu aberto de vários materiais. Para as amostras de leite provenientes de áreas na vizinhança de incineradores de resíduos, os autores verificaram maiores níveis de PCDFs, enquanto a contaminação das áreas onde o queijo de muzzarella de búfala é produzido vem da combustão a céu aberto de vários produtos.

Costopoulou et al. (2010) determinaram PCDDs em azeitonas e óleo de oliva provenientes de áreas afetadas por incêndios florestais na Grécia, após dissolução da amostra em diclorometano e coluna de *Carbosphere* em refluxo com diclorometano e tolueno, outras colunas de sílica ácida e alumina (hexano e hexano/diclorometano) em série e análise por CG/EM. Para a quantificação usaram-se soluções de padrões marcados com ¹³C. Os autores verificaram que as concentrações dos analitos foram normais em todas as amostras de azeitonas, coletadas no verão de 2007, na Grécia, provavelmente devido aos

fortes ventos que podem ter dispersado os poluentes para áreas mais amplas, de forma que não foram significativamente absorvidos pelas azeitonas em locais próximos às áreas de queimadas.

Em estudo sobre a presença de PCBs em alimentos como carne de porco, frango e frutos do mar, Huo et al. (2012) empregaram a extração com *n*-hexano (ultrassom), seguida de *clean-up* em SPE com cartucho de florisil (*n*-hexano/acetona) para injeção em CG/EM. Removeram-se as peles, ossos e vísceras das amostras, que foram congeladas antes da análise. Agitou-se com *n*-hexano e deixou-se em ultrassom por 20 min antes de centrifugar. Esse procedimento foi repetido, e os extratos, combinados e evaporados à secura, antes de serem ressuspensos com *n*-hexano e *cleanup* em cartucho de florisil – CG/EM. Esse método foi viável, rápido e conveniente para a determinação de PCBs em carnes e frutos do mar.

Schwanz et al. (2012) desenvolveram um método para extração e determinação de PCBs como indicadores de poluição ambiental em amostras de milho (Rio Grande do Sul, Brasil) com a utilização de ultrassom (*n*-hexano/acetona 1:1), filtração e evaporação do solvente. Em seguida adicionou-se HCl 1 M, e a fase orgânica foi passada em cartucho SPE – Florisil, dissolvida em isoctano e CG/EM. Por meio dessa análise verificou-se a presença de contaminação em alimentos de origem vegetal no estado do RS. Mas novos estudos são necessários para determinar as causas da contaminação.

A determinação de 7 congêneres de PCBs em leite materno foi feita por Dewailly et al. (1996) após misturá-lo com oxalato de sódio, com éter etílico e etanol e, em seguida, extração com *n*-hexano. O extrato hexânico foi aplicado em coluna de sílica gel (CG/DCE). Três congêneres de PCBs (n. 138, 153 e 180) foram detectados em todas as amostras, bem como dicloro-difenil-dicloroetileno (DDE). A contaminação pode ser devida ao consumo

de peixes. O consumo de álcool também está associado com a concentração de ambos (PCB e DDE; observou-se menor concentração de PCBs em mulheres que nunca consumiram álcool) na gordura do leite; essa relação é mais marcante para as populações que dependem dos produtos do mar para a subsistência.

Kowalski et al. (2010) também determinaram PCBs em leite materno por CG/DCE e CG/EM usando SPME com fibra de PDMS (poli-dimetil-siloxano), com adição de NaCl e MeOH. O método é simples, rápido e uma ferramenta adequada para determinação simultânea de 12 congêneres de PCBs em amostras de leite humano. Todas as amostras coletadas em Vitória-ES foram contaminadas com alguma espécie de PCB, sendo que o mais comum foi o PCB 170, que esteve presente em 80% das amostras. Essa contaminação pode ser devida à proximidade de siderúrgicas e empresas de mineração, bem como à alimentação com peixes do mar e crustáceos pelo menos uma vez por semana.

Demers et al. (2000) determinaram PCBs por CG/DCE em plasma sanguíneo para verificar a relação com o câncer de mama (Canadá), após extração com *n*-hexano e *cleanup* dos lipídeos em coluna de florisil. Foram quantificados 14 congêneres de PCBs, além de pesticidas e seus metabólitos. De acordo com os resultados obtidos, as concentrações de pesticidas clorados e seus metabólitos em mulheres diagnosticadas com câncer de mama não foram estatisticamente diferentes das registradas na população-controle. O nível médio de PCB-153 no plasma também foi essencialmente o mesmo no hospital ou na população-controle.

Korrick et al. (2000) analisaram PCBs em sangue de cordão umbilical de bebês nascidos em cidades próximas a sítios contaminados com PCB pela extração dos analitos do plasma com *n*-hexano/éter (1:1) após desnaturação com metanol e passagem por coluna de sílica gel e, finalmente, CG/DCE. As concentrações encontradas foram menores do que

as da maioria dos estudos já publicados para congêneres de PCBs em sangue de cordão umbilical.

Keller et al. (2009) estudaram cinco métodos para extrair PCBs de amostras de plasma sanguíneo: extração L-L, MAE, *Focused Microwave Assisted* (FME – extração assistida por micro-ondas focalizada), SPE e *Pressurized Fluid Extraction* (PFE – extração com fluido pressurizado), seguidos de coluna com alumina antes de CG/EM. De acordo com os resultados obtidos, o método mais confiável para extrair PCBs de soro é FME.

No Brasil (Santa Maria/RS) Mohr et al. (2011) estudaram a presença de PCBs em soro obtido de sangue coletado em cordão umbilical após digestão ácida (ácido sulfúrico e *n*-hexano) e injeção em CG/microdetector de captura de elétrons (CG/ μ DCE) com confirmação por CG/EM. A digestão ácida minimizou a presença dos interferentes em CG, e o PCB 138 foi o que apresentou maior frequência, em 66,7% das amostras analisadas. Os níveis de PCBs detectados nas 132 amostras analisadas apresentaram altos índices de contaminação, comparados com os de países da Europa, mas ainda são necessários mais estudos para determinar as prováveis causas de contaminação.

Oliveira, Tavares e Beretta et al., (2005) descrevem a determinação, por CG-EM/EM, de arocloros em moluscos coletados na Bahia, Brasil, após extração com éter de petróleo/ultrassom, tratamento com ácido sulfúrico para eliminação dos lipídeos e purificação da fase orgânica em coluna de florisil, eluída com diclorometano. Os limites de detecção obtidos foram adequados para a determinação de PCBs em moluscos ($4,0 \text{ ng g}^{-1}$), e os resultados sugerem que a contaminação dos moluscos por PCBs na Baía de Todos os Santos em 2001 foi semelhante à que foi registrada em 1988 por Tavares, na mesma região.

Namiesnik et al. (2010) estudaram a presença de PCBs em moluscos (*Rapana thomasiana*) como indicador de poluição no Mar Negro na costa da Bulgária, após extração

com ciclo-hexano e coluna de sílica gel de amostras previamente hidrolisadas com solução metanólica de KOH e injeção em CG/EM.

Lambropoulou, Konstatinou e Albanis (2006) descreveram um método para determinação de PCBs em fígado de aves baseado em extração ultrassônica (n-hexano/acetona/ CH_2Cl_2 3:1:1), tratamento com H_2SO_4 concentrado e CG/EM com SPME ou coluna de florisil antes de SPME e CG/EM ou SPE após extração ultrassônica (ENVI-Carb SPE). Os autores verificaram que esse método é confiável sob as condições operacionais propostas e eficiente para verificar os níveis perigosos de PCBs em amostras biológicas.

Em estudo sobre a determinação de PCBs em golfinhos na Baía de Guanabara, Brasil, Dorneles et al. (2008) empregaram a extração por líquido pressurizado (PLE - *Pressurized Liquid Extraction*) com hexano e hexano/ CH_2Cl_2 , além de um sistema para *cleanup* de multi-colunas, com análise dos isótopos estáveis por CG/EM. A concentração dos PCBs encontrados esteve na faixa de estudos já reportados na literatura, de 8 – 16 $\mu\text{g g}^{-1}$, para os machos; e entre 5 e 14 $\mu\text{g g}^{-1}$, para as fêmeas.

Munshi et al. (2009) usaram cartuchos de C-18 e de florisil (SPE), eluídos com diclorometano e ressuspendidos em hexano, antes de analisar PCBs e pesticidas por CG/ μDCE (microdetector de captura de elétrons) para extrair PCBs de tecidos de peixes. As concentrações dos organoclorados diminuíram com a distância da fonte antropogênica de contaminação, de poluição atmosférica e devido à diluição.

Poli et al. (2009) determinaram os PCBs 126 e 153 em tecidos de ratos (cérebro e plasma) para verificar a toxicidade (inclusive *in vivo*) e testaram SPME e extração líquido-líquido com pentano, isoctano e diclorometano, além de SPE com cartucho de florisil, antes

de CG/EM. A técnica SPME é mais interessante para aplicação, em relação aos métodos convencionais, pela combinação de extração, concentração e limpeza em uma única vez.

Quensen, Boyd e Tiedje (1990) usaram extração líquido-líquido (acetona e *n*-hexano) e cromatografia em coluna de vidro com florisil para determinar PCBs em sedimentos em estudo de descloração de PCBs por microrganismos anaeróbios, por CG/DCE. Por meio dos resultados obtidos os autores verificaram que há vários microrganismos capazes de desclorar os PCBs nas diferentes áreas estudadas. Para cada inóculo observou-se que a velocidade da descloração diminui com o aumento do grau de cloração de arocloro, principalmente para o arocloro 1260.

Sapozhnikova, Bawardi e Schlenk (2004) determinaram PCBs e pesticidas em sedimentos na Califórnia (EUA), após extração com acetona e hexano, seguida de cartucho de florisil e em peixes, por extração com hexano em um disruptor ultrassônico, também com micro-colunas de florisil e análise por CG/DCE. As concentrações de PCBs e alguns pesticidas nos sedimentos excederam as *probable effect concentrations* (PEC) – concentrações de prováveis efeitos estabelecidas para ecossistemas de água doce.

Fu e Wu (2006) estudaram a presença de PCBs em sedimentos e peixes em um estuário contaminado em Taiwan: inicialmente as amostras foram reduzidas a um pó fino antes da extração em Soxhlet (acetona/*n*-hexano 1:1), concentrado, tratado com H₂SO₄ concentrado, extraído com *n*-hexano e passado por coluna de sílica ácida, nitrato de prata e florisil e finalmente analisados por CG/DCE. Os resultados apontam que o padrão dos congêneres de PCBs são um indicador das origens e do percurso dos PCBs; os PCBs de contaminação recente poderiam ter sido levados a ecossistemas estuarinos e, dessa forma, foram concentrados nos organismos que se alimentam nas partes mais profundas, as tainhas.

A aplicação de técnicas como extração com TENAX e SPME foi usada para determinar PCBs em sedimento de lago após extração ultrassônica com acetona/diclorometano (seco com Na_2SO_4 e MgSO_4), tratado com H_2SO_4 concentrado e CG/DCE, TENAX: sedimento com HgCl_2 e cobre, junto com pérolas de TENAX, água moderadamente dura. Os PCBs das pérolas de TENAX foram extraídos por sonicação com acetona e hexano – SPME: sedimento, água moderadamente dura, cobre e HgCl_2 , seguido de extração por ultrassom com hexano; e o extrato, tratado com H_2SO_4 (TRIMBLE; YOU; LYDY, 2008). A técnica SPME foi considerada a melhor por causa da sua habilidade de prever diretamente os resíduos de PCBs na biota exposta e seu potencial uso para aplicações *in situ*, eliminando a necessidade de coleta e transporte das amostras de sedimentos para análise posterior.

Konieczka e Namieśnik (2008) descreveram um método de determinação de PCBs em sedimentos marinhos por extração líquida pressurizada ou ASE e Soxhlet, com *n*-hexano e acetona antes da injeção em CG/EM. Segundo os autores, esse método foi adequado para determinar PCBs em matrizes sólidas. É relativamente rápido e fornece resultados precisos.

Hu et al. (2009) combinaram Microextração Dispersiva Líquido-Líquido (DLLME) com CG/DCE para a determinação de PCBs em solo, usando acetona e clorobenzeno como solventes de extração. As principais vantagens desse método são a rapidez, o alto fator de enriquecimento, bem como a alta taxa de recuperação e boa repetibilidade.

PCBs foram determinados em sedimentos marinhos da costa do Mar Mediterrâneo por Fouial-Djebbar et al. (2010) após extração assistida por micro-ondas (com diclorometano), purificação com ácido sulfúrico e sílica gel e CG/DCE. Os níveis de contaminação de PCBs encontrados foram relativamente altos em amostras coletadas no porto de Tamentfoust (15

– 70 ng g⁻¹ peso seco), e concentrações menores nas estações fora do porto (0 – 26 ng g⁻¹ peso seco).

A determinação de PCBs em componentes da cadeia alimentar – como, por exemplo, forragem - além de amostras de óleo de transformador foi feita na Polônia por Ligor, Zebrowski e Buszewski (2007). Empregou-se extração com solvente assistida por ultrassom para a forragem (hexano) e *cleanup* com SPE (ácido aril-sulfônico e sílica gel) e CG/EM. As taxas de recuperação para cinco congêneres de PCBs foram de 75 – 85% e os limites de detecção, na faixa de 85 a 130 µg kg⁻¹.

Hellman e Puhakka (2001) determinaram PCBs em blocos selantes de construção civil na Finlândia por extração com *n*-hexano em vórtex e ultrassom (para as amostras de solo usaram hexano-acetona 1:1), seguida de SPE em cartucho de florisil antes de injeção em CG/EM.

Amostras de cinzas foram usadas para determinação de PCBs por extração assistida por micro-ondas com DMSO (dimetil sulfóxido), seguida de SPME e determinação por CG/DCE e CG/EM (CRIADO; PEREIRO; TORRIJOS, 2004). A aplicação deste método evita longo tempo de análise como, por exemplo, evaporação de solvente e *clean up* para os extratos, sem perdas aparentes de seletividade e melhora dos limites de detecção, além de ampliar a aplicação da técnica SPME para a detecção de PCBs diretamente em matrizes sólidas altamente adsorventes.

Kim, Kyoung-Soo, Kim, Kyeo-Keun. e Kim, Jong-Gulk (2007) estudaram a presença de dibenzo-dioxinas policloradas (*polychlorinated dibenzo-dioxins* – PCDDs) em gases e solos próximos a incineradores na Coréia, após ASE, tratamento ácido e coluna de sílica e alumina, com determinação por CG/EM. Os congêneres predominantes eliminados pelos incineradores foram *hepta* e *octaclorados*.

Tanaka (2003) desenvolveu um método para determinação de PCBs em óleo de transformadores usando colunas de vidro com sílica gel e sílica modificada com ciano-propila e amino-propila (na mesma coluna) e hexano como eluente. O autor verificou que a aplicação desse método foi válida para medidas de PCB em óleo.

Takada, Toda e Uchida (2001) determinaram PCBs em óleo de transformador a partir de uma extração líquido-líquido inicial com dimetil sulfóxido (DMSO) seguida de SPE em cartucho de C18 (eluição com *n*-hexano) e análise por CG/EM. Esse método foi considerado rápido e não requer habilidades “extras” para obter alta reprodutibilidade, além do baixo consumo de reagentes.

Bogdevich e Cadocinikov (2004) extraíram PCBs de óleo de transformador pela passagem da amostra diluída em hexano por cartucho para extração em fase sólida (SPE) - C18 e injeção em CG/ μ DCE. Com este método obteve-se muito boa recuperação (84 – 109%) e usou-se pouca quantidade de solvente, com rapidez.

Criado, Pereiro e Torrijos (2004) desenvolveram um método para determinar PCBs em óleos por extração L-L (*n*-hexano e ácido sulfúrico), seguida de extração com DMSO antes da extração por SPME – *headspace* e análise por CG/detector por emissão atômica (CG/DEA). Para a aplicação desse método em amostra de óleo de transformador usou-se o método da adição de padrão (arocloro 1254), nas concentrações de 10, 20 e 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os autores obtiveram coeficiente de correlação de 0,995, e a concentração total da amostra foi $80,5 \pm 1,6 \mu\text{g mL}^{-1}$ como arocloro 1254.

Takasuga et al. (2005) também estudaram a caracterização química de PCBs em formulações técnicas como *Kanechlor* pela diluição isotópica e análise por CG/EM após passar por colunas de alumina e sílica gel. A análise isotópica de compostos específicos

contendo cloro (CSIA-Cl - *Compound-specific chlorine isotope analysis*) é um método para monitorar a degradação de compostos organoclorados *in situ*.

Mandalakis et al. (2008) determinaram $\delta^{37}\text{Cl}$ (isótopo) de 18 congêneres em misturas técnicas de PCBs em tubo de combustão fechado e espectrometria de massas por ionização térmica. A aplicação dessa técnica deve ser uma poderosa ferramenta para monitorar *in situ* a degradação de PCBs. Por meio de sua aplicação tem-se um ponto de partida para futuros estudos para decifrar a degradação microbiológica e abiótica dos PCBs usando dados isotópicos do composto específico cloro.

Kodba e Voncina (2009) usaram SPE *Sulfoxide* SUPELCO com amostras de óleo diluídas em hexano para determinar PCBs por CG/ μ DCE. O uso dessa nova sílica ligada com sulfóxido permite melhor separação dos PCBs dos hidrocarbonetos alifáticos.

Malone e Haas (2010) da Horiba Scientific apresentaram um método para determinar PCBs em óleo de transformador por fluorescência de raios-X (R-X). Com essa técnica os autores obtiveram rapidez na medição de cloro em óleo de transformador, em nível de mg L^{-1} .

Huang et al. (2011) determinaram PCBs em amostras de óleo isolante de capacitores elétricos armazenados na China empregando a técnica usada por Takasuga et al. (2006). Por meio dessa técnica faz-se a diluição da amostra em *n*-hexano e decano ou tolueno, extrai-se com *n*-hexano saturado com DMSO após a adição de padrões de PCBs marcados com ^{13}C e, em seguida, transfere-se para coluna cromatográfica com sulfato de sódio, sílica gel, sílica ácida, sílica com KOH e *n*-hexano como eluente e análise por CG/EM. Nestas condições obteve-se perfil detalhado de padrões de PCBs, PCDDs e PCDFs em óleos de capacitores elétricos chineses.

Toader, Grigoriu e Meghea (2011) desenvolveram um método por SPME para determinar PCBs em óleo de transformador após passar a amostra por coluna de florisil (hexano), evaporar à secura, adicionar água e HS-SPME seguida de CG/EM. O perfil cromatográfico apresentou um cromatograma mais “limpo” (com menor número de componentes), comparado ao obtido sem o pré-tratamento descrito, devido à eficiência da limpeza da amostra. Esse método apresenta pouco gasto de solventes e é rápido, sem perda de precisão e exatidão.

A extração líquido-líquido, além da descloração por luz visível (adição de azul de metileno e boroidreto de sódio, com irradiação de lâmpada fluorescente) dos PCBs extraídos (melhor solvente: DMSO) de óleo de transformador foi descrita por Kong, Achari e Langford (2013), após injeção em CG/DCE. O padrão usado foi arocloro 1254, e o DMSO extraiu 87% dos PCBs e mais de 99,9% foram extraídos após 3 ciclos de extração. Após a descloração, o DMSO purificado pode ser reciclado ou reusado.

A *United States Environmental Protection Agency* (EPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos) descreve vários métodos para determinar PCBs em óleos, usando diversas técnicas de *cleanup*, como por exemplo lavagem com ácido sulfúrico, coluna cromatográfica de vidro com florisil, alumina, sílica gel, permeação em gel e partição com acetonitrila e análise por fluorescência de Raios X (medida dos halogênios totais), CG/DCE ou CG/EM (EPA *Test Method* 600/4-81-045, 1982). O método 8082 para determinação de PCBs por CG/DCE ou detector de condutividade eletrolítica como arocloros ou congêneres individuais usa extração líquido-líquido com diclorometano ou extração contínua para amostras aquosas e extração líquido-líquido ou Soxhlet para amostras sólidas (hexano/acetona ou diclorometano/acetona 1:1), seguida por *cleanup* com ácido sulfúrico/permanganato de potássio.

O *EPA Victoria Method Number: 6013* propõe tratamentos ácidos combinados com cromatografia de adsorção (Florisil e sílica gel) em amostras de óleo diluídas com hexano ou isoctano antes de injetar em CG/DCE. O método EPA 1668B usa SPE para a extração dos PCBs, extração L-L contínua e Soxhlet para amostras aquosas, solo, sedimentos, biossólidos e tecidos para a determinação dos analitos por CG/EM; para a extração de PCBs de sedimentos de rio o método EPA SW-846 *Method 3540C* (2002) de determinação de PCBs em sedimentos por CG/DCE sugere primeiro tratamento ácido, seguido de remoção de enxofre com mercúrio e posterior coluna de florisil, após extração em Soxhlet (*n*-hexano/acetona – 1:1). O *Method 505 USEPA (United States Environmental Protection Agency)* aplica-se à determinação de PCBs em água de abastecimento por extração com *n*-hexano e injeção em CG/DCE.

A extração por SPME é uma técnica simples que consiste em um suporte (*holder*) para a fibra, de sílica fundida recoberta com um filme de polímero (por exemplo, Poli-dimetil-diloxano – PDMS) – geralmente são os mesmos usados como fase estacionária de colunas para cromatografia gasosa (Figura 4). A extração pode ser por *headspace* ou diretamente no líquido. Os analitos de interesse são adsorvidos na fibra, durante certo tempo, sob aquecimento e agitação e dessorvidos por aquecimento diretamente no injetor do CG. É bastante útil para matrizes complexas, como lodo, fluidos biológicos, alimentos ou amostras sólidas (VAS; VÉKEY, 2004).

Figura 4 - Esquema de um suporte com a fibra para SPME (KING; READMAN; ZHOU, 2003)

3.4 Parâmetros de validação

a) Linearidade

A linearidade está relacionada com a capacidade do método em proporcionar a obtenção de resultados diretamente proporcionais à concentração dos analitos em estudo, dentro de determinada faixa de aplicação. A relação matemática entre a resposta obtida e a concentração (ou massa) é determinada experimentalmente, a partir dos sinais obtidos com concentrações conhecidas, expressa como *curva analítica*. Aplicando o método matemático da regressão linear obtêm-se os coeficientes de regressão **a** e **b**, além do coeficiente de correlação, **R²** (RIBANI et al, 2004). Quanto mais próximo de 1,0 for o **R²**, menor é a dispersão dos pontos experimentais.

b) Análise de resíduos

Outra maneira para avaliar desvios da linearidade do ajuste da curva de calibração é a análise do gráfico de resíduos. Quando se ajusta uma equação matemática pelo método dos mínimos quadrados a melhor curva será a que fornecer valores menores para a soma dos resíduos (Q) entre a resposta analítica medida (y_i) e o sinal analítico previsto ($\hat{y}_i$) para N pontos (RIBEIRO et al. 2008; Figuras 5 e 6).

Figura 5 – Estimativa do resíduo da resposta analítica usando o método dos mínimos quadrados (RIBEIRO et al., 2008)

Quando o modelo foi adequadamente ajustado o gráfico dos resíduos sugere que eles foram produzidos por uma distribuição normal, sem indícios de anormalidade, aleatórios (ou seja, quando há homoscedasticidade, que é a variação constante); no caso de heteroscedasticidade observa-se aumento da variância com o aumento da concentração (PIMENTEL; BARROS NETO, 1996).

Figura 6 – Exemplos de gráficos de resíduo: (a) quando não há linearidade, (b) quando há heteroscedasticidade e (c) com homoscedasticidade e normalmente distribuídos (PIMENTEL; BARROS NETO, 1996)

c) Limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ)

O LD representa a menor quantidade do analito (concentração) que o método é capaz de detectar (não necessariamente quantificar). Pode ser calculado de três formas: visualmente, quando se consideram concentrações cada vez menores e observa-se o sinal obtido, de forma que ele possa se distinguir entre o ruído do aparelho e o sinal analítico pela visualização da menor concentração; pela relação sinal/ruído, comparando-se o sinal da

amostra em baixa concentração e um branco (a relação sinal/ruído pode ser 3:1 ou 2:1) e por parâmetros da curva analítica (RIBANI et al., 2004).

LD depende da dispersão da resposta obtida na calibração e dos riscos de se detectar o analito quando ele não está presente ou não detectá-lo quando ele está presente na amostra. Esses valores de risco são estabelecidos como 5% (*default*, padronizado) e, considerando distribuição gaussiana e dispersão da resposta constante na faixa entre o LD e o branco (sem a presença do analito), LD pode ser determinado como se segue (VIAL; JARDY, 1999):

$$LD = 3,3 \times (s/S),$$

Sendo:

s = estimativa do desvio padrão da resposta (ou do branco, ou da linha de regressão ou do coeficiente linear da curva analítica);

S = inclinação ou coeficiente angular da curva analítica.

OBS.: também se usa 3,0, ao invés de 3,3 – e isto é apenas uma aproximação.

LQ refere-se à menor concentração do analito que pode ser quantificada a partir de um método experimental. Quanto menor o LQ, menor a precisão do método. Usam-se os mesmos critérios considerados para LD, com uma relação 10:1 referente à relação sinal/ruído ou entre a relação entre o desvio padrão da resposta analítica (pode-se

considerar o branco, a equação da reta de regressão ou o coeficiente linear da equação da reta de calibração) e a inclinação da curva analítica, como segue:

$$LQ = 10 \times (s/S)$$

Tanto para LD quanto para LQ é mais conveniente usar o método que considera os parâmetros da curva analítica, por ser mais confiável estatisticamente, uma vez que a relação sinal/ruído pode ser afetada pelo tamanho dos picos, podendo, portanto, ser subjetiva (RIBANI et al., 2004).

d) Precisão

É a dispersão dos resultados entre ensaios diferentes, repetições de uma mesma amostra ou padrão, em condições definidas. Para análise de traços aceita-se até valor de 20% de coeficiente de correlação (C.V.). Para melhorar a precisão, uma opção é aumentar o número de replicatas. É avaliada pelo desvio padrão absoluto ou por meio do desvio padrão relativo, conhecido como C.V. (RIBANI et al., 2004):

$$C.V.(%) = (s/\bar{x}) \times 100,$$

Onde $\bar{x}$ é a média entre as respostas consideradas.

e) Precisão instrumental

Conjunto de injeções repetitivas da mesma solução (tipicamente 10 vezes) e cálculo da média dos valores da resposta e determinação do desvio padrão relativo ou C.V., que avalia a resposta do equipamento àqueles analitos considerados (RIBANI et al., 2004).

f) Método do padrão interno

Após preparar as soluções para as curvas de calibração, adiciona-se a cada uma delas (e posteriormente, às amostras a serem analisadas também) uma concentração conhecida de um padrão interno, que deve ter estrutura química semelhante à dos analitos em estudo e apresentar tempo de retenção (TR) próximo ao deles, sem interferir na análise. Após a análise, constrói-se um gráfico relacionando a razão entre as áreas obtidas (área do analito/área do padrão interno), que é chamada de fator de resposta (FR), ao invés de somente considerar as áreas cromatográficas, com as concentrações das soluções padrão dos analitos. Esse método é extremamente útil para minimizar erros experimentais, principalmente em cromatografia gasosa, com pré-tratamento das amostras (RIBANI et al., 2004).

g) Método do padrão externo

Para fazer os cálculos usando este método, após a preparação das soluções padrão com concentrações conhecidas e injeção no cromatógrafo, plotam-se as áreas cromatográficas *versus* as concentrações e, com a equação resultante da curva de calibração, calcula-se a concentração da substância a partir da sua área em uma amostra desconhecida (RIBANI et al., 2004).

h) Método da adição de padrão

Consiste em adicionar quantidades conhecidas do analito à amostra inicial. Constroem-se as curvas (pode-se usar padrão interno também) relacionando as áreas ou FR obtidos com as concentrações adicionadas. Para calcular o valor dos analitos na amostra original faz-se uma extrapolação da reta, que define, no eixo das abcissas, a concentração procurada (Figura 7). É um método trabalhoso, principalmente quando há muitas amostras, mas é útil quando a matriz é bastante complexa – e seu efeito é considerável para a quantificação dos analitos.

Figura 7 – Exemplo de cálculo por adição de padrão (RIBANI et al., 2004)

i) Análise estatística

Em um processo analítico é necessário fazer-se a calibração, e o método mais empregado para se construir a curva de calibração, de forma que ela se aproxime ao máximo dos pontos experimentais, é o método dos mínimos quadrados, que fornece resultados com mínima variância (PIMENTEL; BARROS NETO, 1996).

Almeida, Castel-Branco e Falcão (2002) explicam que a condição em que as variâncias são iguais ou muito próximas, chamada de homoscedasticidade, nem sempre é obtida para os dados analíticos. Desvios maiores presentes nas faixas de concentração mais altas tendem a influenciar a linha de regressão mais fortemente do que os desvios menores, associados às faixas de concentrações mais baixas, o que prejudica a precisão no final da faixa mais baixa. Uma maneira de minimizar esse efeito é usar a regressão linear dos mínimos quadrados ponderada (*wighted least squares linear regression*). No modelo simples da regressão linear, a relação entre as variáveis é estabelecida por uma linha reta,

matematicamente descrita por: $y = ax + b$, sendo y a variável dependente; x , a variável independente; a , o intercepto de y e b a inclinação da equação de regressão. Por outro lado, é comum o valor de x ser alterado pelo desvio padrão da medida, o que é chamado de heteroscedasticidade. Considerando-se que uma das principais causas do erro aleatório é o ruído do aparelho e que o ruído também pode ser uma função da concentração, dentre outros fatores, deve-se observar diferentes comportamentos, e o que acontece mais comumente como heteroscedasticidade é um aumento da variância em função da concentração. Para contornar esta influência das faixas de concentrações maiores usa-se a regressão linear dos mínimos quadrados ponderada. Para testar a homoscedasticidade plotam-se os resíduos *versus* a concentração, e aplica-se um teste F (F_{exp}), que é expresso como a razão entre as variâncias obtidas nos níveis de concentração mais baixo e mais alto, respectivamente e o valor de F é comparado com um valor tabelado (F_{tab}):

$$F_{\text{exp}} = S^2_2 / S^2_1,$$

$$F_{\text{tab}} = (f_1, f_2; 0,99)$$

Sendo: S^2_1 a variância obtida para a concentração mais baixa, e S^2_2 , a variância para a concentração mais alta. F tabelado é um valor com confiança de 99% para $f_1 = f_2 = (h-1)$ graus de liberdade, sendo que h é o número de parâmetros da equação.

Ainda de acordo com ALMEIDA et al. (2002), para escolher o fator de ponderação em caso de heteroscedasticidade, estudam-se os pesos empíricos, tais como: $1/x^{1/2}$, $1/x$, $1/x^2$,

$1/y^{1/2}$, $1/y$ e $1/y^2$. O fator de ponderação mais adequado é escolhido pelo cálculo da porcentagem do erro relativo (%ER), comparando-se a concentração encontrada pela regressão ($C_{\text{encontrada}}$) com a concentração nominal do padrão (C_{nominal}):

$$\%ER = (C_{\text{encontrada}} - C_{\text{nominal}})/C_{\text{nominal}} \times 100$$

Para verificar um indicador da qualidade do ajuste avalia-se o melhor modelo de ponderação (w) após fazer o gráfico de %ER *versus* a concentração ou a soma dos %ER calculados. O melhor w será o que fornecer uma estreita faixa horizontal distribuída aleatoriamente em torno do eixo da concentração e a menor soma de %ER em toda a faixa de concentração considerada (Figura 8, ALMEIDA; CASTEL-BRANCO; FALCÃO, 2002).

Figura 8 – Diagrama geral da análise da regressão linear ponderada (ALMEIDA; CASTEL-BRANCO; FALCÃO, 2002)

3.5 Tratamento de amostras

Como a quantificação dos PCBs é geralmente realizada por análise cromatográfica, é importante poder usar o método do padrão interno, principalmente quando se trata de amostras com matrizes complexas, pois isto ameniza os erros experimentais. Adiciona-se uma substância com concentração conhecida (a mesma concentração sempre) nos padrões e nas amostras. Ao invés de levar em conta as áreas para quantificação, consideram-se os Fatores de

Resposta (FR), que são as razões entre as áreas dos analitos e a área do padrão interno. A substância escolhida como padrão interno deve ter estrutura química semelhante à dos analitos em estudo, ser estável, não interferir na análise, mas apresentar tempo de retenção próximo ao dos analitos (LIGIERO et al., 2009).

Além do padrão interno, também é comum monitorar o processo analítico pela adição de uma substância denominada *surrogate* (substituto), ou seja, também quimicamente similar aos analitos de interesse; ela é adicionada às amostras e padrões antes da extração para indicar o desempenho do método. Essa substância deve possuir características químicas semelhantes às dos analitos e não interferir na análise, similar ao padrão interno (DING et al, 1999).

O tratamento prévio de amostras provenientes de matrizes complexas, como é o caso deste óleo ascarel é um desafio, por vezes difícil de vencer. A baixa solubilidade do óleo e dos PCBs em solventes orgânicos, juntamente com a falta de informações sobre a composição do óleo, torna o *cleanup* mais difícil. Então, pretendeu-se, neste trabalho, desenvolver um *cleanup* eficiente para extrair os PCBs do óleo ascarel, uma vez que a injeção desse óleo diretamente, sem pré-tratamento, pode danificar a coluna usada em CG.

As amostras provenientes de reator anaeróbio em batelada também são matrizes bastante complexas, contendo espuma de poliuretano e lodo anaeróbio, além do meio de cultivo, que é uma solução aquosa, inadequada para injeção direta em cromatografia gasosa (CG) para evitar danos à coluna cromatográfica. Por esses motivos estudaram-se, nesta pesquisa, além da determinação dos PCBs, métodos de extração e purificação prévia das amostras antes da injeção em CG, a fim de preservar os sistemas cromatográficos (injetor, coluna e detectores) e de eliminar os interferentes presentes nas matrizes, para evitar a possibilidade de estes mascararem os resultados obtidos.

Os métodos de tratamento prévio testados para as diferentes matrizes (óleo, amostras provenientes de reatores anaeróbios em batelada e solo) foram extração líquido-líquido (L-L),

purificação por cromatografia em coluna de vidro com diferentes adsorventes (florisil, sílica, alumina e carvão ativo), extração em fase sólida (SPE) e microextração em fase sólida (SPME). A determinação dos analitos foi feita por CG/DCE.

Os gráficos de regressão foram obtidos através do programa OriginPro 8.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido em duas etapas (Figura 9).

Na primeira etapa deste trabalho estudou-se a possibilidade de extrair os PCBs existentes (arocloros) em óleo de transformador e também em amostras provenientes de reator anaeróbio horizontal de leito fixo (RAHLF) alimentado com óleo ascarel (CORRÊA, 2011), por CG/DCE. Para isso estabeleceram-se as melhores condições cromatográficas para a determinação dos PCBs em forma de arocloros presentes no óleo por CG/DCE, e testaram-se diferentes métodos de extração, com posterior tentativa de confirmação da presença dos PCBs por CG/EM (determinação feita na UFSCar). Esta confirmação é importante, pois o perfil cromatográfico do ascarel apresenta muitos sinais, sendo que poderia haver atribuição de picos como PCBs, sem que estes os fossem de fato. Não foi possível a confirmação dos PCBs por CG/EM, provavelmente devido à baixa concentração dos mesmos após os testes de extração por cromatografia em coluna de vidro e SPE. Além disso, houve grande dificuldade em isolar e identificar os PCBs, apenas por tempo de retenção (TR) nos cromatogramas obtidos por CG/DCE. Assim, apesar da semelhança de alguns perfis cromatográficos das amostras com alguns padrões de arocloros (os quais possuem muitos congêneres em cada padrão), partiu-se para a 2.^a etapa do trabalho.

Nesta etapa estudou-se a determinação dos PCBs em solução padrão comercial *PCB Congener MIX 1* – SUPELCO, que possui apenas seis congêneres de PCBs (Tabela 2) em óleo de transformador (ascarel), seguida da determinação dos referidos padrões em amostras provenientes de reatores em batelada para caracterização da microbiota envolvida na degradação desses PCBs (projeto de pós-doutorado da Dr.^a Bruna C. Gomes) e em amostras de solo.

Os métodos que apresentaram melhor linearidade e eficiência de extração foram validados pela avaliação dos seguintes parâmetros: linearidade, limites de detecção e de quantificação, precisão do método e instrumental e recuperação. Os cálculos das concentrações foram baseados nos métodos da adição de padrão, padronização interna e externa.

Figura 9 – Fluxograma experimental

Tabela 2 - PCBs presentes no padrão PCB Congener *MIX 1* - SUPELCO

Nome	Número do congêner	Estrutura
2,6-diclorobifenila	PCB 10
2,4,4'-triclorobifenila	PCB 28
2,2',5,5'-tetraclorobifenila	PCB 52
2,2',3,4,4',5'-hexaclorobifenila	PCB 138
2,2',4,4',5,5'-hexaclorobifenila	PCB 153
2,2',3,4,4',5,5'-heptaclorobifenila	PCB 180

4.1 Primeira etapa: extração dos PCBs (arocloros) de óleo ascarel por cromatografia em coluna de vidro e cartucho SPE – alumina

Usou-se óleo ascarel cedido pela empresa Bandeirante, de São José dos Campos/SP (ETD JAC, TR 01 e 02, ano 1977, concedida em 23/09/2009). Fizeram-se vários testes para extrair os PCBs do óleo, a partir de cromatografia em coluna de vidro usando florissil, sílica e alumina como suportes e diferentes solventes para eluição dos PCBs e cartucho de SPE

(C-18 e alumina) a partir da amostra de óleo. Os padrões usados para determinação dos PCBs foram os arocloros 1260, 1248, 1254, 1221, 1242, 1016 e 1232 e uma mistura dos arocloros 1260 e 1016, para a verificação dos PCBs nas amostras provenientes de RAHLF usado na remoção do óleo.

Na Figura 10 está o esquema dos testes realizados nesta etapa do trabalho.

Figura 10 - Fluxograma experimental da extração dos PCBs do óleo asfáltico por cromatografia em coluna de vidro, com diferentes suportes e eluentes e cartucho SPE

4.1.1 Determinação das condições cromatográficas para análise dos PCBs em padrões de arocloros

a) CG/DCE

Realizaram-se vários testes para determinar as melhores condições cromatográficas, a partir das soluções dos padrões de arocloros (2 mg L^{-1}) e de mistura padrão de PCBs ($0,5 \text{ mg L}^{-1}$), variando-se a temperatura inicial do forno e a respectiva velocidade de aquecimento. Também foram injetadas soluções dos seguintes padrões: (a) 1,3,5-triclorobenzeno, (b) 2,4,5,6-tetracloro *m*-xileno e (c) octacloronaftaleno (OCTN) para verificar a possibilidade de usá-los como *surrogate* (substituto) e/ou padrão interno (Figura 11).

Figura 11- Estruturas de: (a) 1,3,5-triclorobenzeno, (b) 2,4,5,6-tetracloro *m*-xileno e (c) octacloronaftaleno

As determinações foram feitas em cromatógrafo HP5890, *Series* 150, equipado com detector de captura de elétrons e coluna Elite 5 - Perkin Elmer, de 30 m x 0,32 mm (diâmetro interno) x 0,25 μm de espessura de filme, para determinação de PCBs.

Condições cromatográficas: temperatura do injetor (T_{inj}): 280°C, pressão na cabeça da coluna: 6 psi, volume injetado: 1,0 μL , modo *splitless* (sem divisão do volume injetado). Gás de arraste: hidrogênio. Temperatura do detector (T_{det}): 300°C, gás auxiliar (*make-up*): nitrogênio, a 30 mL min^{-1} . Temperatura do forno: 100°C (2 min), até 160°C, a 15 °C/min, até 235°C (3 min), a 5°C/min e até 270°C, a 5°C/min, totalizando 36 min de corrida.

As amostras de ascarel foram submetidas a agitação em vórtex com 10 ml de acetona contendo octacloronaftaleno como padrão interno e 10 mL de *n*-hexano-acetona (9:1;v/v) ou apenas dissolvidas em *n*-hexano.

b) CG/EM

Os testes para confirmar os PCBs presentes nas amostras foram realizados em Sistema Shimadzu para CG/EM, no Laboratório de Bioquímica Micromolecular de Microrganismos, do Departamento de Química da UFSCar.

Cromatógrafo gasoso Shimadzu CBMS QP2010 Plus, coluna Rtx-5MS, de 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm , Restek. T_{inj} : 250°C, temperatura do forno: 100°C (2 min) até 260°C (2 min), a 4°C/min. Temperatura da interface: 250°C, temperatura da fonte: 200°C (impacto de elétrons).

4.1.2 Testes para extração dos PCBs (arocloros) do óleo ascarel e de amostras provenientes de reatores anaeróbios

4.1.2.1 Cromatografia em coluna de vidro e extração com cartucho SPE – C-18 e alumina

Inicialmente testaram-se alguns solventes para verificar a miscibilidade do óleo ascarel, a saber: *n*-hexano, acetona, etanol, metanol, *n*-hexano/acetona 9:1.

Para se ter uma idéia do perfil cromatográfico do óleo em estudo preparou-se uma amostra com 2 mL do óleo puro com 10 mL de *n*-hexano e injetou-se em CG/DCE.

Injetaram-se em CG/DCE (no Laboratório de Processos Biológicos - LPB) algumas amostras provenientes dos testes de extração e também se selecionaram amostras que foram injetadas em CG/EM, na UFSCar.

Os primeiros testes de extração dos PCBs do óleo ascarel (Figura 12) foram baseados na descrição de Quensen, Boyd e Tiedje (1990) e de Rysavy, Yan e Novak (2005), a partir de alíquotas de 1 mL e 2 mL de óleo, adicionando-se 2 mL de acetona/*n*-hexano 1:1, agitação/1min em vórtex, seguida da adição de 2 mL de solução 2% de NaCl, agitação novamente e centrifugação antes de aplicar em coluna de vidro com adsorventes.

Figura 12 - Amostra de óleo ascarel

Como *cleanup* usou-se uma coluna de vidro de 22,5 cm de comprimento por 12 mm de diâmetro interno, com lã de vidro silanizada embaixo, para impedir a passagem da fase estacionária (florisil e sílica gel, ativadas após permanecer em estufa a 100°C por mais de 24 h para retirar a umidade). As amostras foram aplicadas na coluna com o auxílio de pipeta *Pasteur*. Independente da fase estacionária usada, as colunas foram sempre empacotadas e condicionadas com *n*-hexano.

A coluna de purificação testada inicialmente consistia de 2,5 g de florisil misturada com 0,8 g de cobre ativado (após lavagens sucessivas com solução 10% de H₂SO₄ até que sumisse a coloração azul, seguidas de lavagens com H₂O e acetona, secagem em estufa a 60°C ou filtração a vácuo em membrana de 0,45 µm de tamanho de poro). O cobre foi usado para retirar compostos de enxofre, que são detectados por CG/DCE. Com esta mistura empacotou-se a coluna de vidro, com lã de vidro silanizada para impedir a passagem da fase estacionária (FE), a partir de uma suspensão do adsorvente em *n*-hexano. A amostra foi aplicada no topo da coluna após adição Na₂SO₄ anidro, eluída com 12 mL de *n*-hexano como fase móvel (FM) e coletou-se uma única fração. Em seguida, a amostra foi evaporada à secura e adicionaram-se 2 mL de *n*-hexano antes da injeção em CG/DCE.

Testou-se também adaptação do método descrito por Tanaka (2003) com 2,5 g florissil com cobre ativado e 0,8 g sílica gel no topo da coluna.

Foram feitos vários testes para extração dos Arocloros do óleo por cromatografia em coluna de vidro de 22 cm x 12 mm, variando alguns parâmetros, tais como: (a) adsorvente: florissil (60 – 100 *mesh*, Baker) e sílica gel (60 – 200 *mesh*, Baker), com: 0,8 g, 2,5 g, 5,0g; (b) eluente: *n*-hexano, *n*-hexano/acetona 9:1 e 70:30; CH₂Cl₂/*n*-pentano 10:90; (c) pré-lavagem ou sem pré-lavagem com solução de H₂SO₄ 30%: 1,3 mL, 4,0 mL; (d) adição ou sem adição de solução de NaCl 10% para extração líquido-líquido prévia: 1,6 mL, 3,3 mL, 10 mL.

Para as amostras aquosas provenientes de reatores anaeróbios (ensaios em batelada) fez-se um teste inicial (depois se testaram outros solventes, como está descrito em 4.1.2.2) para extração líquido-líquido com *n*-hexano: 2 mL de amostra do reator e 10 mL *n*-hexano, após adição de 10 mL solução 10% de NaCl e 4 mL solução 30% de H₂SO₄ – agitação em vórtex/1min, centrifugação a 4.000 rpm/2 min, freezer *overnight* (durante a noite toda) e aplicação da fase orgânica na coluna de vidro, após secar com Na₂SO₄.

Primeiramente simulou-se a matriz das amostras do ensaio realizado por Regiane Corrêa para definir a melhor fonte de carbono e avaliação do potencial metanogênico na degradação de PCBs presentes em óleo ascarel em diferentes suportes, a partir de 50 mL (volume final), *headspace* com 70% N₂ e 30% CO₂ e meio Angelidaki (ANGELIDAKI et al., 1990), com 0,26 g de espuma de poliuretano, fonte de carbono (0,3 mL solução 680 mg L⁻¹ de formiato ou etanol) e 0,5 mL do óleo ascarel.

Na Tabela 3 encontra-se a descrição da preparação das amostras para um dos testes de extração realizados para o óleo, padrões e amostras provenientes de RAHLF, sendo: (a) amostras A, óleo com adição de solução de H₂SO₄ 30%; amostras B, óleo sem adição de solução de H₂SO₄ 30%; (b) as amostras “Afluente do reator A e B” referem-se a amostras

provenientes de RAHLF; (c) todas as amostras foram diluídas em 10 mL *n*-hexano; (d) agitação em vórtex/1 min, 15 min no ultrassom, freezer *overnight* (durante toda a noite); (e) aplicação da fase orgânica em coluna de florisil coperizado/sílica gel/sulfato de sódio anidro.

A coluna de florisil foi condicionada com *n*-hexano e foram coletadas 2 ou 3 frações, sendo: a 1.^a, da eluição com *n*-hexano, a 2.^a, com *n*-hexano/acetona 70:30 (Figura 13).

A solução de H₂SO₄ não foi adicionada às amostras que não continham óleo, como no caso das soluções de padrões, pois o ácido é usado para retirar interferentes presentes no óleo.

Para a purificação das amostras que não tinham óleo coletou-se apenas uma fração eluída com *n*-hexano e outra, com a mistura *n*-hexano/acetona 70:30.

As frações foram evaporadas à secura (somente com a exaustão da capela) e em seguida, adicionou-se 1 mL de *n*-hexano em cada frasco antes da injeção em CG/DCE.

Tabela 3 - Preparação das amostras para *cleanup* com florisil em coluna de vidro

Amostra	Volume (mL) e massa de amostra (g)	Eluente
Ascarel A (óleo puro)	5 (4,28 g)	1) <i>n</i> -hexano; 2) <i>n</i> -hex/acet 70:30
Ascarel B (óleo puro)	5 (4,22 g)	1) <i>n</i> -hexano; 2) <i>n</i> -hex/acet 70:30
Entrada do reator A	5	1) <i>n</i> -hexano; 2) <i>n</i> -hex/acet 70:30
Entrada do reator B	5	1) <i>n</i> -hexano; 2) <i>n</i> -hex/acet 70:30
Mistura de padrões de arocloros 1260 e 1016, 10 mg L ⁻¹ em isoctano cada	5	1) <i>n</i> -hexano; 2) <i>n</i> -hex/acet 70:30
MIX PCBs 10 mg L ⁻¹	2	1) <i>n</i> -hexano; 2) <i>n</i> -hex/acet 70:30

Figura 13 - (a) Óleo retido no topo da coluna; (b) Óleo eluído com *n*-hex/acet 70:30

Em outro teste descrito a seguir usou-se coluna de florisil e sílica gel como fases estacionárias, com cobre ativado e Na₂SO₄ anidro após a amostra ter sido previamente passada por cartuchos de extração em fase sólida (*SPE – Solid Phase Extraction*) de C-18 e alumina. Para isto aplicaram-se 2 mL da fase orgânica da amostra de óleo dissolvida em *n*-

hexano (5 mL de óleo e 10 mL *n*-hexano, agitação em vórtex/1min, 4 mL de solução 30% H₂SO₄ – agitação em vórtex/1min, banho de ultrassom/15min), após permanecer no freezer *overnight*, em um cartucho de SPE C-18, SampliQ C18, Agilent. O cartucho foi previamente condicionado com MeOH. A fração eluída deste cartucho foi aplicada em uma coluna de florisil e sílica gel (2,5 g de cada um) como fase estacionária (sílica gel no topo da coluna, sobre florisil), com cobre ativado e Na₂SO₄ anidro e eluída com 10 mL de *n*-hexano.

Utilizou-se também coluna de florisil e sílica gel como fase estacionária, com cobre ativado e Na₂SO₄ anidro com a amostra previamente passada por cartucho de extração em fase sólida (*SPE – Solid Phase Extraction*) de alumina. Aplicaram-se 2 mL da fase orgânica da amostra dissolvida em *n*-hexano conforme foi descrito acima (após permanecer em freezer *overnight*), em cartucho de SPE *SampliQ Alumina N 6 mL, 1000 mg, cartridge Agilent*. O cartucho foi previamente condicionado com CH₂Cl₂. A fração eluída desse cartucho foi aplicada em coluna de florisil e sílica gel como fase estacionária, com cobre ativado e Na₂SO₄ anidro e eluída com 10 mL de *n*-hexano.

As frações únicas eluídas das colunas foram evaporadas à secura, e adicionou-se 1,0 mL de *n*-hexano.

As amostras provenientes dos testes de extração descritos no item Tabela 3 foram enviadas à UFSCar para serem analisadas por CG/EM, uma vez que nesses testes aumentou-se a quantidade de amostra de óleo ascarel (antes eram 2 mL e nesses testes usaram-se 5 mL) para verificar se a concentração final dos PCBs aumentava, a fim de que fosse possível observar a presença dos PCBs nos espectros de CG/EM. Essas mesmas amostras também foram injetadas em sistema de CG/DCE, para possível comparação dos resultados obtidos com os dois detectores.

Os testes para confirmar os PCBs presentes nas amostras foram realizados em Sistema Shimadzu para CG/EM, no Laboratório de Bioquímica Micromolecular de Microrganismos, do Departamento de Química da UFSCar.

Cromatógrafo gasoso Shimadzu CBMS QP2010 Plus, coluna Rtx-5MS, de 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m, Restek.

Tinj: 250°C, temperatura do forno: 100°C (2 min) até 260°C (2 min), a 4°C/min.

Temperatura da interface: 250°C, temperatura da fonte: 200°C.

4.1.2.2 Extração líquido-líquido (L-L) para amostras provenientes de RAHLF tratando ascarel

Para avaliar a possibilidade de usar a extração L-L para as amostras do afluente do RAHLF, nas quais havia 0,5 mL de óleo ascarel em 50 mL de meio de cultura, testou-se a adição ou não de NaCl para o efeito *salting out* (quando se adicionam sais – compostos iônicos – à solução a extração é mais eficiente devido ao aumento da força iônica, que diminui a solubilidade dos compostos orgânicos; NEZHADALI; SHIRVAN, 2010) e os solventes: *n*-hexano, ciclo-hexano, *n*-pentano, benzeno, tolueno e éter etílico. Usaram-se 10 mL de amostra em todos os testes.

Para todas as amostras o procedimento foi o mesmo, mudando apenas o solvente usado, como descrito a seguir:

- 10 mL de amostra (frasco de antibiótico de 100 mL com tampa de butila revestida com Teflon - Figura 14)

- 1,0 g NaCl
- 2,0 mL de H₂SO₄ conc.
- agitação em vórtex/1 min
- 5 mL de solvente
- agitação em vórtex/1min
- freezer/4 h
- transferência da fase orgânica, adição de Na₂SO₄ e evaporação à secura
- adição de 0,5 mL de *n*-hexano e injeção em CG/DCE.

Os solventes usados nestes testes foram: (a) *n*-hexano; (b) *n*-hexano/CH₂Cl₂ 70:30; (c) *n*-hexano/acetona 70:30, (d) ciclo-hexano; (e) *n*-pentano; (f) benzeno; (g) tolueno; (h) éter etílico.

Figura 14 - Frasco de antibiótico de 100 mL e tampa de butila revestida com teflon

Como não foi possível a confirmação dos PCBs por CG/EM e pela dificuldade em identificar os analitos apenas por TR para poder quantificá-los sem cometer erros, apesar da similaridade entre os perfis cromatográficos entre as amostras e os padrões de arocloros,

partiu-se para a segunda etapa do trabalho, ou seja, a determinação dos PCBs presentes na solução *MIX 1* SUPELCO.

4.2 Segunda etapa: determinação dos seis congêneres presentes em solução comercial PCB Congener *MIX 1* SUPELCO em três matrizes diferentes: óleo ascarel, amostras provenientes de reatores anaeróbios em batelada e solo

Esta etapa envolveu o desenvolvimento e a validação de métodos para extração dos PCBs presentes na solução padrão comercial PCB *Congener MIX 1* SUPELCO (PCBs n. 10, 28, 52, 138, 153 e 180; Tabela 2) e não mais os arocloros, nas seguintes matrizes: óleo, amostras provenientes de reatores anaeróbios em batelada para avaliação da microbiota envolvida na provável degradação destes PCBs e solo (Figura 15).

Inicialmente otimizaram-se as condições cromatográficas (CG/DCE) a partir de várias injeções de uma solução 0,5 mg L⁻¹ *MIX 1* de PCBs diluída com *n*-hexano, para diminuir o tempo de corrida, sem prejuízo da separação e resolução dos picos. A seguir determinou-se o melhor solvente para extrair os PCBs para os testes de cromatografia em coluna e extração L-L.

Figura 15 - Esquema do desenvolvimento da 2.^a etapa do trabalho: métodos para extração dos PCBs da solução *MIX* do óleo ascarel, de amostras de reatores anaeróbios em batelada e solo

4.2.1 Otimização das condições cromatográficas para determinação dos PCBs por CG/DCE

Injetou-se uma solução de padrões de PCBs, *MIX* 0,5 mg L⁻¹ sob diferentes condições cromatográficas para diminuir o tempo da corrida, variando-se a velocidade de aquecimento e as temperaturas inicial e final da rampa de aquecimento da coluna.

Depois de estabelecidas as condições cromatográficas (descritas abaixo) que permitiram sensível diminuição no tempo da corrida cromatográfica, sem prejudicar a separação e resolução dos picos de interesse, escolheu-se o melhor solvente para os PCBs após um teste de extração líquido-líquido. A partir daqui todas as injeções em CG foram feitas nas seguintes condições:

$$T_{inj} = 280^{\circ}\text{C}, \text{ splitless}$$

Pressão na cabeça da coluna: 5 psi

$$T_{det} = 300^{\circ}\text{C}$$

$$T_{forno} = 160^{\circ}\text{C a } 200^{\circ}\text{C}, 20^{\circ}\text{C/min, até } 270^{\circ}\text{C (1 min), } 30^{\circ}\text{C até } 290^{\circ}\text{C (6 min), } 30^{\circ}\text{C/min.}$$

4.2.2 Escolha do melhor solvente para extrair os PCBs presentes na solução padrão *MIX*

Testaram-se os solventes *n*-hexano puro e *n*-hexano/acetona (70:30), pois os solventes clorados apresentam boa resposta no DCE e, para usá-los, seria necessário evaporá-los e trocar por outro solvente que não fosse detectado, antes da injeção no cromatógrafo, para não interferir no cromatograma, o que implicaria gasto de tempo e de solventes. O esquema do teste realizado está delineado na Figura 16. Para tanto preparou-se solução do padrão *MIX* em acetonitrila (ACN), retiraram-se 6 alíquotas de 1 mL cada e colocou-se tudo em frascos de vidro de 10 mL, com tampa rosqueável e septo de Teflon, adicionou-se 0,5 g NaCl a cada um deles (efeito *salting out*). Para os frascos nomeados de (a) até (c) adicionou-se 0,5 mL de *n*-hexano (triplicata); nos frascos (d) a (f) adicionou-se mistura de *n*-hexano/acetona (*n*-hex/acet 70:30), em triplicata. Todos os frascos foram agitados em

vórtex por 1 min e, em seguida, colocados em freezer por pelo menos 30 min – injeção de 1,0 μL da fase orgânica (*n*-hexano ou *n*-hex/acet) no CG/DCE para verificar qual solvente seria mais eficiente para a extração dos PCBs da solução padrão *MIX*.

Injetou-se também o padrão *MIX* 0,5 mg L^{-1} , uma solução de octacloronaftaleno 2 mg L^{-1} e uma solução de 1,3,5-tetraclorobenzeno 2 mg L^{-1} para verificar os respectivos tempos de retenção.

Figura 16 - Esquema do teste para escolher o melhor solvente para extração dos PCBs da solução *MIX*

4.2.3 Testes para extração dos PCBs após contaminar o óleo com solução *MIX* por cromatografia em coluna de vidro

A primeira matriz estudada foi o óleo ascarel, e o próximo passo foi a determinação da melhor fase estacionária a ser usada para cromatografia em coluna de vidro para extração dos PCBs presentes na solução *MIX* após a contaminação do óleo. Testaram-se os seguintes adsorventes:

- a) Sílica gel (60 – 200 *mesh*, Baker)
- b) Florisil (60 – 100 *mesh*, Baker)
- c) Florisil/sílica
- d) Alumina (Sigma A – 8733 – Tipo wA-1: *acid*)
- e) Florisil/alumina/sílica/carvão ativo (Sigma)

A uma alíquota de 95 mL do óleo ascarel (medidos em proveta) adicionaram-se 5 mL de solução *MIX* de PCBs 10 mg L⁻¹ (pipeta de vidro de 10 mL), resultando em 0,5 mg L⁻¹ dos PCBs no óleo. Esse óleo foi usado para os testes com diferentes métodos de extração, como está descrito a seguir.

Como branco usou-se o óleo puro, sem a contaminação com solução *MIX* de PCBs.

Antes da realização desse teste diluiu-se o óleo com *n*-hexano: 20 mL do óleo com 6 mL de *n*-hexano (separadamente, para o óleo puro e para o óleo com os PCBs).

4.2.3.1 Extração após tratamento prévio com ácido sulfúrico (para eliminar possíveis interferentes presentes no óleo) e coluna de sílica gel

Em frascos de antibiótico de 50 mL adicionaram-se 5 mL de H₂SO₄ concentrado e 13 mL do óleo diluído, em duplicata. Agitou-se em vórtex por 1 min e deixou-se em repouso por 2

h para haver a separação de fases. Como a fase superior (orgânica, *n*-hexano) ficou muito escura, passou-se por coluninha de sílica gel antes da injeção no CG.

A coluninha de sílica foi montada em pipeta Pasteur, com 2,5 cm de sílica ativada (24 h a 100° C), 0,5 cm de Na₂SO₄ no topo e eluída com *n*-hexano. As frações obtidas foram:

- a) branco (óleo puro);
- b) branco (óleo puro);
- c) *MIX* (óleo contaminado com PCBs *MIX* – 0,5 mg L⁻¹);
- d) *MIX* (óleo contaminado com PCBs *MIX* – 0,5 mg L⁻¹).

Após passar pela coluninha de sílica, as amostras foram evaporadas sob exaustão de capela.

4.2.3.2 Extração com florisil

Usaram-se colunas de vidro de 22 cm x 12 mm, às quais se adicionaram 2,5 g de florisil ativado (24 h a 100°C), 0,7 g de cobre tratado e 0,6 cm Na₂SO₄. As colunas foram condicionadas com *n*-hexano, batendo-se com um pedaço de mangueira de silicone para uniformizar o empacotamento. Colocou-se uma alíquota de 2 mL de óleo sem diluir no topo da coluna, 3 mL de *n*-hexano (homogeneizou-se para diluição da amostra a fim de não entupir a coluna), e eluiu-se com ~15 mL de *n*-hexano (em duplicata). Coletou-se uma única fração, que foi evaporada sob exaustão em capela. Amostras:

- Florisil B 1 (óleo puro; “branco”);
- Florisil B 2 (óleo puro; “branco”);

- Florisil *MIX* 1 (óleo contaminado com PCBs *MIX* – 0,5 mg L⁻¹);
- Florisil *MIX* 2 (óleo contaminado com PCBs *MIX* – 0,5 mg L⁻¹).

Após evaporação em capela, as amostras foram colocadas em geladeira por pelo menos 1 h e injetadas em CG/DCE.

4.2.3.3 Extração com sílica gel

Usaram-se colunas de vidro de 22 cm x 12 mm, às quais se adicionaram 2,5 g de sílica gel ativada (24 h a 100°C), 0,7 g de cobre tratado e 0,6 cm Na₂SO₄. As colunas foram condicionadas com *n*-hexano, batendo-se com um pedaço de mangueira de silicone para uniformizar o empacotamento. Colocou-se uma alíquota de 2 mL de óleo sem diluir no topo da coluna, 3 mL de *n*-hexano (homogeneizou-se para diluição da amostra a fim de não entupir a coluna), e eluiu-se com ~15 mL de *n*-hexano (em duplicata). Coletou-se uma única fração de cada uma das colunas, que foi evaporada sob exaustão em capela. Amostras:

- Sílica B 1 (óleo puro);
- Sílica B 2 (óleo puro);
- Sílica *MIX* 1 (óleo contaminado com PCBs *MIX* – 0,5 mg L⁻¹);
- Sílica *MIX* 2 (óleo contaminado com PCBs *MIX* – 0,5 mg L⁻¹).

Após evaporação em capela, as amostras foram colocadas em geladeira por pelo menos 1 h e injetadas em CG/DCE.

4.2.3.4 Extração com florisil e sílica gel

Usaram-se colunas de vidro de 22 cm x 12 mm, às quais se adicionou 2,5 g de florisil, 2,5 g de sílica gel ativada (24 h a 100° C), 1,0 g de cobre e 0,6 cm Na₂SO₄. As colunas foram condicionadas com *n*-hexano, batendo-se com um pedaço de mangueira de silicone para uniformizar o empacotamento. Colocou-se uma alíquota de 2 mL de óleo sem diluir no topo da coluna, 3 mL de *n*-hexano (homogeneizou-se para diluição da amostra a fim de não entupir a coluna), e eluiu-se com ~15 mL de *n*-hexano (em duplicata).

Coletou-se uma única fração de cada coluna, que foi evaporada sob exaustão em capela.

Amostras:

- Sílica B 1 (óleo puro);
- Sílica B 2 (óleo puro);
- Florisil e Sílica *MIX* 1 (óleo contaminado com PCBs *MIX* – 0,5 mg L⁻¹)
- Florisil e Sílica *MIX* 1 (óleo contaminado com PCBs *MIX* – 0,5 mg L⁻¹).

Após evaporação em capela, as amostras foram colocadas em geladeira por pelo menos 1 h e injetadas no CG.

4.2.3.5 Extração com alumina neutra

Usaram-se colunas de vidro de 22 cm x 12 mm, às quais se adicionaram 5 g de alumina neutra (24 h a 100°C), 1,0 g de cobre tratado e 0,6 cm Na₂SO₄. As colunas foram

condicionadas com *n*-hexano, batendo-se com um pedaço de mangueira de silicone para uniformizar o empacotamento. Colocou-se uma alíquota de 2 mL de óleo sem diluir no topo da coluna, 3 mL de *n*-hexano (homogeneizou-se para diluição da amostra a fim de não entupir a coluna), e eluiu-se com ~15 mL de *n*-hexano (em duplicata). Coletou-se uma única fração de cada coluna, que foi evaporada sob exaustão em capela. Foram obtidas 4 frações:

- Sílica B 1 (óleo puro);
- Sílica B 2 (óleo puro);
- Florisil e Sílica *MIX* 1 (óleo contaminado com PCBs *MIX* – 0,5 mg L⁻¹);
- Florisil e Sílica *MIX* 2 (óleo contaminado com PCBs *MIX* – 0,5 mg L⁻¹).

Após evaporação em capela, as amostras foram colocadas em geladeira por pelo menos 1 h e injetadas no CG.

OBS.: tentou-se fazer uma coluna com 2,5 g de florisil, 2,5 g de alumina neutra e 2,5 g de sílica gel e 1,0 g de carvão ativo no topo da coluna, mas não foi possível eluir com *n*-hexano porque o fluxo ficou extremamente lento, provavelmente por causa do excesso da quantidade de carvão.

4.2.3.6 Extração com florisil, carvão e sílica gel em coluna de vidro, de 26 cm x 2 cm

12,6 g de florisil, 0,4 cm de carvão ativo, 3,1 g de sílica gel, 0,2 cm de cobre tratado e 0,34 g de Na₂SO₄. A coluna foi condicionada com *n*-hexano; colocaram-se 5 mL de óleo ascarel contaminado (0,5 mg L⁻¹ com solução *MIX* PCBs). Coletaram-se 3 frações, cada uma com eluição de aproximadamente 20 mL de *n*-hexano.

4.2.3.7 Extração com florisil, carvão, alumina neutra e sílica gel em coluna de vidro (intercalados na mesma coluna), de 26 cm x 2 cm

5,0 g de florisil, 0,2 mm de carvão ativo, 5,0 g de alumina neutra, 0,2 mm de carvão ativo, 0,4 cm de carvão ativo, 5,0 g de sílica gel, 0,2 cm de cobre tratado e 0,34 g de Na_2SO_4 . A coluna foi condicionada com *n*-hexano; colocaram-se 5 mL de óleo ascarel contaminado ($0,5 \text{ mg L}^{-1}$ com solução *MIX* PCBs). Coletaram-se 3 frações, cada uma com eluição de aproximadamente 20 mL de *n*-hexano.

4.2.3.8 Extração em 3 etapas: florisil, alumina neutra e sílica, em colunas subsequentes

Foram feitas 3 extrações, com as seguintes fases estacionárias, usando a fração eluída de cada uma das anteriores para a próxima coluna (22 x 1,0 cm): a primeira coluna, confeccionada em vidro, com 6,6 g de florisil, 2 mm de carvão, 2 mm de cobre tratado e Na_2SO_4 , com 5 mL de ascarel contaminado com $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de solução *MIX* de PCBs. Eluiu-se com aproximadamente 20 mL de *n*-hexano, evaporou-se a fração única sob exaustão em capela e aplicou-se na próxima coluna (22 x 1,0 cm): 11,6 g alumina neutra, 2 mm de carvão ativo, 1 mm de cobre tratado e Na_2SO_4 .

4.2.4 Teste para extração dos PCBs do óleo por partição com *n*-hexano e acetonitrila

Seguindo instruções do *Test Method EPA-600/4-81-045* (BELLAR et al. 1982), tentou-se fazer uma partição do óleo com acetonitrila e *n*-hexano, como se segue:

- 6 mL amostra de óleo
- 10 mL *n*-hexano
- extração 3 vezes com *n*-hexano saturado com acetonitrila (300 mL de *n*-hexano e 100 mL de acetonitrila em funil de separação, com agitação por 5 min e utilização da fase hexânica)
- como não se observou separação entre as fases, colocaram-se 20 mL (2 vezes) da acetonitrila que foi recolhida na preparação do *n*-hexano saturado com ACN, e coletaram-se as fases da acetonitrila em outro funil, de 500 mL
- adição de 200 mL de água destilada e aproximadamente 2 g NaCl
- agitação vigorosa por 30 segundos
- coleta da fase hexânica
- evaporação do *n*-hexano sob exaustão da capela.

Após a evaporação do *n*-hexano, restou óleo puro novamente. Então, não se injetou no CG/DCE para evitar danos à coluna cromatográfica.

4.2.5 Extração dos PCBs do óleo em cartucho de Extração em Fase Sólida – SPE (*Solid Phase Extraction*)

Inicialmente testou-se a extração do óleo puro, aplicado diretamente no cartucho, após solubilização com *n*-hexano e, depois, aplicação no cartucho *Supelclean Sulfoxide* – SUPELCO (3 g/6 mL) da amostra de óleo após sofrer tratamento prévio com ácido sulfúrico concentrado (Figura 17).

Figura 17 - Esquema da extração em cartucho SPE *Sulfoxide* para o óleo ascarel

4.2.5.1 Extração direta, sem pré-tratamento da amostra

O cartucho foi condicionado com 10 mL de acetona (para remover umidade) e 20 mL de *n*-hexano (de acordo com as instruções do fabricante), com aproximadamente 0,7 g de

sulfato de sódio no topo do cartucho. Os cartuchos foram eluídos em *manifold* (suporte) Agilent, ligado a uma bomba de vácuo, a fim de facilitar e tornar a eluição uniforme para todos os cartuchos – aproximadamente 2 gotas/min (Figura 18). Em seguida, colocaram-se 250 µL da amostra de óleo diluída (1:1 com *n*-hexano), de acordo com as instruções fornecidas pelo fabricante e sem a adição de padrão interno, pois o objetivo era apenas verificar a presença ou não dos PCBs em questão. Após lavar as paredes do cartucho com *n*-hexano, adicionaram-se 5,5 mL de *n*-hexano para lavar os compostos interferentes que poderiam estar presentes no óleo (hidrocarbonetos, principalmente) e coletou-se a primeira fração, F1; seguindo instruções do fabricante, esta fração elui os contaminantes do óleo, enquanto os PCBs de interesse permanecem retidos no cartucho. A seguir adicionaram-se 13 mL de *n*-hexano e coletou-se esta fração como F2, onde deveriam estar presentes os PCBs extraídos do óleo. Para finalizar adicionaram-se mais 10 mL de *n*-hexano, 5 mL de acetona e 10 mL de *n*-hexano ao cartucho, todos coletados em uma única fração, F3, para limpá-lo. As frações foram coletadas em frascos de 20 mL - *Wheaton* (Figura 19).

As frações foram evaporadas à secura sob exaustão de capela e, em seguida, ressuspensas com 250 µL de *n*-hexano. Adicionaram-se 200 mg de Na₂SO₄ para eliminar possível presença de água, transferiu-se o hexano para frasco âmbar de 1,5 mL (Figura 20) e injetou-se F2 em CG/DCE, após a amostra e a seringa de injeção permanecerem em geladeira por pelo menos 30 min, devido à volatilidade do *n*-hexano.

Figura 18 - *Manifold* com os cartuchos para extração em fase sólida - SPE *Sulfoxide*

Figura 19 - Frasco *Wheaton* de 20 mL usado para coleta das frações eluídas por SPE

Figura 20 - Frasco de 1,5 mL usado para armazenar as amostras após ressuspender em *n*-hexano

A fim de verificar a possibilidade de aumentar a quantidade de óleo na primeira fração e diminuí-la na fração de interesse, F2, repetiu-se o procedimento acima, lavando-se inicialmente os possíveis interferentes com 8 mL de *n*-hexano e, em seguida, eluindo-se os PCBs com 13 mL de *n*-hexano em F2. Como se observou (visualmente) a presença do óleo na fração F1, semelhante à eluição inicial, com 5,5 mL de *n*-hexano, esse volume foi escolhido como eluente desta fração.

Para confirmar a presença dos PCBs em estudo na fração F2 repetiu-se esse teste com óleo ascarel (0,722 µL) previamente contaminado com solução padrão *MIX* 1 (200 µL da solução 10 mg L⁻¹, concentração final: 2 mg L⁻¹); octacloronaftaleno (padrão interno, 8 µL de uma solução 100 mg L⁻¹, concentração final: 0,8 mg L⁻¹); 1,3,5-triclorobenzeno para verificar a possibilidade de usá-lo como *surrogate* (20 µL de solução 100 mg L⁻¹, concentração final: 2 mg L⁻¹), diluído com *n*-hexano (1:1, v/v). O volume para coleta de F1 foi de 5,5 mL de *n*-hexano, e F2 foi eluída com 13 mL de *n*-hexano, como está descrito abaixo.

O cartucho foi condicionado de acordo com as instruções do fabricante com acetona e *n*-hexano (10 mL e 20 mL, respectivamente) e, em seguida, colocaram-se 250 µL da amostra de óleo ascarel diluída com *n*-hexano (1:1, v/v), fortificada com o *MIX*. Coletaram-se 4 frações, de forma que, segundo instruções do fabricante do cartucho, os PCBs deveriam estar presentes em F2, eluída com 13 mL de *n*-hexano, após a coleta de F1, com 5,5 mL de *n*-hexano, onde deveriam estar os hidrocarbonetos de cadeia longa que compõem o óleo. F3 foi coletada com a lavagem final do cartucho (10 mL de acetona e 20 mL de *n*-hexano) para a possível reutilização do mesmo posteriormente; e F4, coletada com 5 mL de *n*-hexano, para verificar se a lavagem do cartucho foi eficiente. Todas as frações foram evaporadas à secura sob exaustão de capela, ressuspensas com 250 µL de *n*-hexano, adição de Na₂SO₄ para retirar umidade e injeção em CG/DCE.

Fizeram-se 3 extrações do óleo contaminado em um mesmo cartucho, lavando-se o mesmo com acetona (10 mL) e *n*-hexano (30 mL) após a eluição de cada alíquota de 250 μ L de amostra, para verificar a possibilidade de reutilização dos cartuchos. Todas as frações foram evaporadas à secura, sob a exaustão de capela. Em seguida, ressuspenderam-se as mesmas com 250 μ L de *n*-hexano, e injetou-se 1,0 μ L no CG/DCE.

A fim de minimizar a retenção dos analitos de interesse do óleo no cartucho e tornar a extração mais eficiente, procedeu-se a extração em SPE após tratamento prévio do óleo ascarel com ácido sulfúrico concentrado.

4.2.5.2 Extração após pré-tratamento da amostra de óleo com ácido sulfúrico concentrado

Conforme foi descrito por MOTLADIILE et al. (2011), antes da extração no cartucho de SPE *Sulfoxide* fez-se um tratamento prévio na amostra com ácido sulfúrico concentrado para verificar a possibilidade de eliminar os interferentes do óleo e obter maior eficiência na extração, a fim de que as substâncias de interesse não ficassem retidas no cartucho após a eluição dos PCBs em F2.

Usaram-se 2 mL de óleo fortificado com 0,4 mL de solução *MIX* 1 (concentração final dos PCBs = 2 mg L⁻¹), 40 μ L solução de octacloronaftaleno 100 mg L⁻¹ (concentração final = 2 mg L⁻¹) e 40 μ L solução de 1,3,5-triclorobenzeno 100 mg L⁻¹ (concentração final = 2 mg L⁻¹) para verificar se por meio deste tratamento seria possível eliminar a retenção após a eluição de F4. A essa amostra adicionaram-se 50 ml de *n*-hexano e, após homogeneização da solução, retirou-se uma alíquota de 2 mL para funil de separação de 60

mL, colocaram-se 5 mL de ácido sulfúrico concentrado e agitou-se por 1 min (Figura 21). Descartou-se a fase ácida, e lavou-se a fase hexânica com 5 mL de água ultrapurificada por 2 vezes (Figura 22).

Adicionou-se sulfato de sódio à fase orgânica para eliminar a água restante, e usaram-se 2 mL desta solução para fazer a extração no cartucho SPE como foi descrito anteriormente, usando-se 5,5 mL de *n*-hexano para a primeira lavagem (F1) e 13 mL para a eluição dos PCBs (F2). Também se coletaram 2 outras frações subsequentes, para verificar a eficiência da extração e a possibilidade de posterior utilização dos mesmos cartuchos, caso fosse necessário (F3, após a eluição de 20 mL de *n*-hexano e F4, após 5 mL de *n*-hexano).

Todas as frações foram evaporadas à secura, ressuspensas com 1 mL de *n*-hexano, adição de sulfato de sódio para eliminar a umidade e injeção de 1 µL em CG/DCE.

Figura 21 – Funil de separação com óleo ascarel, ácido sulfúrico e *n*-hexano

Figura 22 - Tratamento do óleo ascarel com ácido sulfúrico concentrado após descartar a fase ácida e lavar a fase hexânica com água

Repetiu-se esse mesmo procedimento para amostras de óleo puro e amostras de óleo com adição do padrão *MIX* nas concentrações de 1, 2, 3 e 4 mg L⁻¹, sem adição de 1,3,5-triclorobenzeno que seria usado como *surrogate* (o óleo apresentou um pico com o mesmo TR correspondente a ele) como está descrito abaixo:

- P0 – 2 mL de óleo puro (também pesados em balança analítica) + 50 mL de *n*-hexano + 40 µL solução de octacloronaftaleno 100 mg L⁻¹ (padrão interno), sem adição de *MIX* (quintuplicata);
- P1 – 1,8 mL de óleo puro (também pesados em balança analítica) + 50 mL de *n*-hexano + 40 µL solução de octacloronaftaleno 100 mg L⁻¹ (padrão interno) + 0,2 mL solução padrão *MIX* PCBs 10 mg L⁻¹ (duplicata);
- P2 – 1,6 mL de óleo puro (também pesados em balança analítica) + 50 mL de *n*-hexano + 40 µL solução de octacloronaftaleno 100 mg L⁻¹ (padrão interno) + 0,4 mL solução padrão *MIX* PCBs 10 mg L⁻¹ (quintuplicata);

- P3 – 1,4 mL de óleo puro (também pesados em balança analítica) + 50 mL de *n*-hexano + 40 µL solução de octacloronaftaleno 100 mg L⁻¹ (padrão interno) + 0,6 mL solução padrão *MIX* PCBs 10 mg L⁻¹ (duplicata);
- P4 – 1,2 mL de óleo puro (também pesados em balança analítica) + 50 mL de *n*-hexano + 40 µL solução de octacloronaftaleno 100 mg L⁻¹ (padrão interno) + 0,8 mL solução padrão *MIX* PCBs 10 mg L⁻¹ (quintuplicata).

Na Tabela 4 estão os valores das massas obtidas das amostras de óleo.

Tabela 4 – Volumes e massas das amostras de óleo usadas para o tratamento com H₂SO₄

Pontos		Volume de óleo (mL)	Massa (g)	Volume de solução <i>MIX</i> 10 mg L ⁻¹ (mL)
P 0	a	2,0	1,7534	0
	b		1,7495	
	c		1,7298	
	d		1,7551	
	e		1,7039	
P 1	a	1,8	1,4931	0,2
	b		1,5217	
P 2	a	1,6	1,3837	0,4
	b		1,3723	
	c		1,3711	
	d		1,3772	
	e		1,3853	
P 3	a	1,4	1,2508	0,6
	b		1,1874	
P 4	a	1,2	1,0580	0,8
	b		1,0633	
	c		1,0476	
	d		1,0297	
	e		1,0567	

Aplicou-se 1,0 mL de cada amostra nos cartuchos, que foram condicionados de acordo com as instruções do fabricante já descritas anteriormente (4.2.5.1). As frações coletadas foram as seguintes, para: F1, F2, F3 e F4: 5,5 mL; 13 mL; 10 mL acetona e 20 mL e 5 mL de *n*-hexano, respectivamente.

As frações foram evaporadas à secura sob a exaustão da capela, sem aquecimento ou exposição a fluxo de nitrogênio. Em seguida, ressuspendeu-se o volume para 0,5 mL com

n-hexano para concentrar melhor os analitos de interesse, adicionou-se aproximadamente 0,30 mg de Na₂SO₄, e o *n*-hexano foi transferido para frasco de 1,5 mL com pipeta *Pasteur*, colocado em geladeira por pelo menos 30 min antes da injeção de 1,0 µL em CG/DCE. A seringa de injeção no cromatógrafo também foi mantida em geladeira para evitar volatilização do *n*-hexano.

Também foram feitas 5 repetições a partir do mesmo tratamento ácido (4.2.5.2) com 2 amostras: P0d e P4c, para verificar a precisão instrumental.

Para os cálculos das concentrações usou-se FR, considerando o octacloronaftaleno como padrão interno, e avaliou-se, também, a linearidade obtida pelo método do padrão externo, que considera apenas os dados puros, ou seja, correlaciona as áreas com as concentrações das soluções-padrão injetadas para as curvas de calibração, comparando os resultados obtidos com a média entre as áreas e as áreas que forneceram melhor ajuste. Também se avaliou a calibração ponderada, para o método da adição de padrão, onde o resultado final da determinação dos analitos na amostra original é obtido quando se extrapola a equação da reta, considerando $y = 0$.

O critério de escolha do método mais adequado baseou-se na avaliação da linearidade (valores de R^2) e nas concentrações reais que mais se aproximaram do valor nominal, usando as equações das retas obtidas, ou calibração inversa (CASSIANO et al., 2009):

$$x = (y - b)/a$$

4.2.6 Testes para extração dos PCBs em colunas de alumina, florisil e sílica gel após tratamento do óleo com ácido sulfúrico concentrado

Alíquotas de 1,0 mL de cada uma das amostras de óleo P0c, P0e, P4c e P4e, que foram submetidas ao tratamento ácido (4.2.5.2) foram submetidas a colunas cromatográficas de vidro (22 cm x 1,2 cm d.i.) com 5 g dos adsoventes alumina, florisil e sílica gel ativados previamente (em estufa a 100°C por pelo menos 24 h) e aproximadamente 0,30 g de Na₂SO₄ no topo da coluna, condicionadas e eluídas com *n*-hexano para verificar a possibilidade de isolar os PCBs do *MIX* por cromatografia em coluna de vidro após a amostra ter sido submetida a lavagem com ácido sulfúrico. Coletaram-se 2 frações de cada coluna: F1 (10 mL de *n*-hexano), onde estariam os contaminantes do óleo e F2 (20 mL de *n*-hexano), onde deveriam estar presentes os PCBs. Após a eluição, cada fração foi evaporada à secura, sob a exaustão de capela, e ressuspensa com 0,5 mL de *n*-hexano, adição de 0,7 g de Na₂SO₄, e o *n*-hexano, transferido para frasco âmbar de vidro (1,5 mL), que permaneceu em geladeira por pelo menos 30 min antes da injeção de 1,0 µL em CG/DCE. Devido ao melhor resultado obtido com coluna de sílica gel, repetiram-se as amostras referentes a P0a, P0c, P0e, P2a, P2c, P2e, P4a, P4c e P4e, que sofreram o tratamento ácido descrito em 4.2.5.2 (Figura 23) com coluna de sílica gel.

Figura 23 - Esquema da extração de PCBs de óleo ascarel por colunas cromatográficas de vidro

4.2.6.1 Repetições da extração dos PCBs em coluna de sílica gel após tratamento do óleo com ácido sulfúrico concentrado

Prepararam-se colunas de vidro (22 cm x 1,2 cm d.i.) com 5 g sílica gel (Figura 24) previamente ativada (em estufa a 100 °C por, pelo menos, 24 h) e 0,34 g Na₂SO₄ no topo da coluna, condicionadas e eluídas com *n*-hexano: F1, com 10 mL; F2, com 20 mL e F3, com 20 mL. Aplicou-se 1,0 mL das seguintes amostras: P0a, P0c, P0e, P2a, P2c, P2e, P4a, P4c e P4e (amostras de óleo após tratamento ácido descrito em 4.2.5.2). Os PCBs presentes no óleo deveriam estar em F2, mas injetaram-se as 3 frações para verificar possíveis perdas. Após a eluição, as frações foram evaporadas à secura sob exaustão de capela e ressuspendidas com 0,5 mL de *n*-hexano. Adicionou-se 0,4 g de Na₂SO₄, e o hexano com os analitos foi transferido para frasco âmbar de 1,5 mL e deixado em geladeira por pelo menos 30 min antes da injeção em CG/DCE (1,0 µL), juntamente com a seringa de injeção.

Figura 24 - Colunas de sílica gel eluídas com *n*-hexano

Os cálculos das concentrações dos analitos no óleo original foram feitos a partir das equações das retas de calibração obtidas com a média de FR e por extrapolação, considerando $y = 0$.

4.2.7 Extração dos PCBs do óleo com a técnica *Solid Phase Microextraction* (SPME, Micro-extração em Fase Sólida)

4.2.7.1 Amostras sem pré-tratamento e após lavagem com ácido sulfúrico concentrado

Para testar condições iniciais de trabalho preparou-se um padrão da solução *MIX* com concentração 2,75 mg L⁻¹ em MeOH e, a partir desta, preparou-se outra solução 0,5 mg L⁻¹ dos PCBs em água. Em frasco de 10 mL para amostrador automático de *headspace*, com tampa de alumínio e septo de Teflon (Figura 25) colocaram-se 2 mL de amostra, 0,6 g NaCl (efeito *salting out*) e uma pequena barra magnética (0,8 cm) para manter a agitação sobre um agitador magnético (Fisatom, modelo 752A) e 13 cm de fita veda-rosca na rosca do frasco para melhorar a vedação. Para que a temperatura se mantivesse constante e uniforme usou-se uma interface que se trata de uma serpentina adaptada, por onde circula água proveniente de um banho-maria termostatizado, com uma bomba para a água circular aquecida pela interface que aquece o frasco com a amostra (Figuras 26, 27 e 28). Usou-se fibra de PDMS de 100 µm (exposição de 2,2 cm), que foi condicionada a 250°C/30 min no injetor do cromatógrafo antes de ser usada. No primeiro teste manteve-se a temperatura do banho em 60°C, com exposição da fibra ao *headspace* da amostra por 30 min, após os quais os analitos foram dessorvidos termicamente da fibra por 5 min no injetor do cromatógrafo, para detecção por DCE. As condições cromatográficas usadas para detectar os PCBs foram as seguintes:

$T_{inj} = 250^{\circ}\text{C}$, *splitless*

Pressão na cabeça da coluna: 5 psi

$T_{\text{det}} = 300^{\circ}\text{C}$

$T_{\text{forno}} = 160^{\circ}\text{C}$ a 200°C , $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$, até 270°C (1 min), 30°C até 290°C (6 min), $30^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

Figura 25 - Frasco de 10 mL para amostrador automático por *headspace* com tampa rosqueável e septo de Teflon

(a)

(b)

Figura 26 – (a) Interface de cobre com circulação de água aquecida do banho-maria para manter o aquecimento da amostra uniforme e constante; (b) envolvida com isopor

Figura 27 - Banho-maria com circulação da água para aquecimento da amostra

Figura 28 - Sistema completo para SPME: (a) banho-maria para aquecimento da amostra com recirculação de água, (b) agitador magnético, (c) interface para aquecimento e amostra, d) *holder* e a fibra em exposição no *headspace* da amostra

Na tabela a seguir (Tabela 5) encontram-se as condições testadas para o óleo puro e para as amostras que sofreram o tratamento ácido descrito em **4.2.5.2**.

Tabela 5 - Condições em que foram realizados os testes com amostras de óleo puro e após tratamento ácido para extração por SPME

Amostra	Volume de amostra (mL)	Quantidade de NaCl (g)	Temperatura do banho (°C)	Tempo de aquecimento (min)
Óleo puro	1 ml óleo + 1 mL hexano	0,5	60	30
Óleo puro	3 mL óleo + 0,5 mL acetona	0,5	70	40
Óleo puro	5 mL óleo + 0,5 mL acetona	1,0	70	60
P0a (4.2.5.2)	2	0,5	60	30
P0a	5	1,0	70	60
P4a (4.2.5.2)	5	1,0	70	120
Óleo puro	5	0,0	75	60
Óleo puro	2 mL óleo + 2 mL MeOH	0,0	75	60
Óleo puro	2 mL óleo + 2 mL ACN	0,0	75	60

4.2.7.2 Amostras após passar por cromatografia em coluna de vidro

Adaptou-se o método descrito por TOADER et al. (2011) para a extração por SPME após passar a amostra de óleo por cartucho de SPE Florisil. Submeteram-se as amostras de óleo ascelar a pré-tratamento em colunas de vidro (22 cm x 12 mm) com florisil, sílica gel e alumina (separadamente), eluídas com *n*-hexano e coleta de 2 frações, como está descrito abaixo.

a) Florisil (Figura 29):

- 5 g florisil ativado previamente em estufa a 100°C/> 24 h
- 0,34 g Na₂SO₄ anidro no topo da coluna, para reter umidade
- condicionamento da coluna com *n*-hexano
- 2 mL de amostra (1,747 g)
- F1 – 10 mL de *n*-hexano
- F2 – 20 mL de *n*-hexano
- frações evaporadas à secura sob exaustão de capela
- adição de 2 mL de H₂O ultrapurificada
- 0,5 g NaCl
- extração por SPME, com fibra de PDMS, com 60 min de exposição a 75°C
- injeção em CG/DCE nas mesmas condições descritas em **4.2.6.1**.

Figura 29 - Óleo em coluna de florisil – (a) início da eluição e (b) coluna seca, com retenção da “cor” do óleo

b) Sílica gel (Figura 30):

- 5 g sílica gel ativada previamente em estufa a 100°C/> 24 h
- 0,34 g Na₂SO₄ anidro no topo da coluna, para reter umidade
- condicionamento da coluna com *n*-hexano
- 2 mL de amostra (1,677 g)
- F1 – 10 mL de *n*-hexano
- F2 – 20 mL de *n*-hexano
- frações evaporadas sob exaustão de capela
- adição de 2 mL de H₂O ultrapurificada
- 0,5 g NaCl
- extração por SPME, com fibra de PDMS, com 60 min de exposição a 75°C.

Figura 30 - Óleo em coluna de sílica gel – (a) início da eluição e (b) coluna seca

c) **Alumina** (Figura 31):

- 5 g alumina ativada previamente em estufa a 100°C/>24 h
- 0,34 g Na₂SO₄ anidro no topo da coluna, para reter umidade
- condicionamento da coluna com *n*-hexano
- 2 mL de amostra (1,683 g)
- F1 – 10 mL de *n*-hexano
- F2 – 20 mL de *n*-hexano
- frações evaporadas sob exaustão da capela
- adição de 2 mL de H₂O ultrapurificada
- 0,5 g NaCl
- extração por SPME, com fibra de PDMS, com 60 min de exposição a 75°C.

Figura 31 - Óleo em coluna de alumina – (a) início da eluição e (b) coluna seca

Como a coluna de sílica apresentou melhor resultado, refizeram-se as amostras de óleo puro em triplicata para verificar se havia repetibilidade. O procedimento para as colunas foi o mesmo já descrito acima, com a diferença de que se adicionaram 10 µL de solução de

octacloronaftaleno 100 mg L⁻¹ e coletou-se apenas uma única fração, eluída com 30 mL de *n*-hexano.

Para as repetições, as quantidades de óleo de cada replicata foram as seguintes:

- óleo puro (1): 1,770 g
- óleo puro (2): 1,980 g
- óleo puro (3): 1,980 g

Após evaporação do *n*-hexano sob exaustão de capela, fez-se a extração por SPME:

- amostra proveniente de coluna de sílica (sem solvente orgânico)
- 0,5 g de NaCl
- 1,0 mL de água ultrapurificada
- exposição da fibra no *headspace* do frasco com amostra por 60 min a 75°C.

4.3 Extração dos PCBs do padrão MIX 1 de amostras provenientes de reatores anaeróbios em batelada

Estudou-se a determinação dos congêneres presentes na solução *PCB Congener MIX 1* em amostras geradas a partir de reatores anaeróbios em batelada, resultantes do projeto de pós-doutorado intitulado: “Caracterização da microbiota envolvida na degradação de padrões de bifenilas policloradas em reatores em batelada”, de Bruna C. Gomes (processo CNPq 150339/2012-7).

Os ensaios foram realizados em meio Angelidaki (Angelidaki, Petersen e Ahring, 1990), lodo proveniente de UASB (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket* - Reator Anaeróbio de Manta de Lodo) da Avícola Dacar (Tietê, SP), com e sem espuma de poliuretano para imobilização

dos microrganismos responsáveis pela degradação dos PCBs. Adicionou-se $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de *MIX* PCBs aos reatores anaeróbios em batelada, matidos sob agitação de 150 rpm, a 30°C . O ensaio teve duração de 60 dias, sendo coletadas amostras em $T = 0$ (inicial), $T = 30$ (após 30 dias de incubação) e $T = 60$ (após 60 dias de incubação).

4.3.1 Extração líquido-líquido (L-L) com *n*-hexano e curvas de calibração

Usou-se *n*-hexano como solvente extrator para a extração L-L (líquido-líquido) e octacloronaftaleno ($0,1 \text{ mg L}^{-1}$) como padrão interno.

Testaram-se várias possibilidades para a extração dos PCBs da fase líquida com *n*-hexano, como mencionado a seguir (meio Angelidaki com PCBs juntamente com o lodo):

- a) Testes de solubilização dos PCBs em meio aquoso (eles estão em uma solução de isoctano, 10 mg L^{-1} , todos imiscíveis em água), com triton e EtOH;
- b) Determinação da concentração dos PCBs a ser usada nos ensaios, para que a concentração não fosse altamente tóxica aos microrganismos e nem impossível de detectar por CG/DCE;
- c) Volume de solvente (*n*-hexano, que foi escolhido por já haver sido comprovado como bom solvente para extrair os PCBs em questão, 4.2.2) usado para a extração do volume total de 25 mL de amostra: 5, 10 ou 20 mL de *n*-hexano;
- d) Quantidade e número de adições de NaCl (efeito *salting out*): 2 e 3 g, em uma vez ou em 2 vezes, com agitação em vórtex;

- e) Colocar ou não as amostras em banho de ultrassom por 1 min após a agitação pela segunda vez;
- f) Deixar as amostras em freezer por apenas 2 h após a extração e antes de transferir a fase hexânica para ser evaporada ou deixa-las por uma noite (*overnight*);
- g) Volume de *n*-hexano para ressuspender a amostra após evaporação da fase hexânica à secura.

Os testes para a extração dos PCBs da espuma de poliuretano foram os seguintes:

- a) Separação entre a espuma e o líquido: apenas verter o líquido naturalmente ou pressionar a espuma com uma espátula após verter o líquido;
- b) Volume de *n*-hexano usado para extrair os PCBs da espuma: 10 ou 20 mL.

Por fim, testou-se a concentração de solução de octacloronaftaleno (0,1 e 0,2 mg L⁻¹) a ser usada como padrão interno para o líquido e para a espuma.

Devido à complexidade da matriz das amostras foi necessário repetir as curvas 3 vezes até encontrar uma forma de obter coeficientes de variação (C.V.) mais baixos para os fatores de resposta (FR) dos analitos, o que se obteve após adicionar o NaCl duas vezes, deixar as amostras no freezer *overnight* (inicialmente eram apenas 2 h) e colocar no ultrassom por 1 min, antes da retirada da fase hexânica. Também se testou a possibilidade de se colocar triton (0,1%), para melhorar a separação das fases.

Prepararam-se as curvas de calibração para quantificação e também as curvas para o cálculo da recuperação absoluta e relativa.

Os cálculos de recuperação foram realizados de acordo com a Resolução 899/2003 da ANVISA, de 29 de maio de 2003, em função da relação de área ou FR do padrão extraído e não extraído. Devem ser realizados comparando-se os resultados analíticos de três concentrações: baixa, média e alta, dentro da faixa de linearidade do método, em que as soluções de padrão não extraídos representam 100%.

As curvas de calibração foram preparadas na mesma matriz das amostras, ou seja, padrões diluídos com meio Angelidaki, com lodo e sem espuma, da seguinte forma: 25 mL de meio Angelidaki (volume final) mais os co-substratos (etanol, 460 mg L⁻¹ e formiato, 680 mg L⁻¹), 2,5 g de lodo inativado (em autoclave por 60 min/121 °C, 3x) em 6 concentrações diferentes de PCBs: 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 e 0,5 mg L⁻¹. As extrações foram realizadas com 20 mL de *n*-hexano adicionados ao volume total da amostra (25 mL) e 25 µL de solução de octacloronaftaleno 100 mg L⁻¹ (concentração final de 0,1 mg L⁻¹); 3 g de NaCl em 2 vezes (efeito *salting out*) e agitação em vórtex/1 min após cada adição; 1 min em banho ultrassônico e freezer *overnight*. A seguir a fase hexânica foi transferida para outro frasco e evaporada à secura, sob exaustão de capela. Adicionou-se 0,3 mL de *n*-hexano e 0,15 g de Na₂SO₄ antes da injeção de 1,0 µL em CG/DCE após permanecer em geladeira por pelo menos 30 min (juntamente com a seringa de injeção).

As amostras contendo espuma de poliuretano como material suporte foram extraídas em 2 etapas: o líquido e a espuma, separadamente. A fase líquida foi transferida para outro frasco (apenas vertendo o frasco com a amostra total), e a extração foi feita como está descrito acima. Os PCBs aderidos à espuma foram extraídos com 20 mL de *n*-hexano após a adição de 25 µL de solução de octacloronaftaleno 100 mg L⁻¹ (concentração final de 0,1 mg L⁻¹); 3 g NaCl e 1 min de agitação em vórtex (2 vezes) e filtração em funil de Büchner. O filtrado foi evaporado e ressuspendido em 0,3 mL de *n*-hexano, com adição de 0,15 g de Na₂SO₄ e, pelo menos 30 min em geladeira antes da injeção em CG/DCE (Figura 32).

Figura 32 – Esquema da extração dos PCBs (*n*-hexano) das amostras de reatores anaeróbios em batelada com e sem espuma de poliuretano

A validação deste método foi avaliada a partir dos seguintes parâmetros: linearidade (coeficiente de correlação, R^2), limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), precisão do método e instrumental, coeficientes de variação (C.V.) entre os fatores de resposta (FR) e dos tempos de retenção (TR) e recuperação absoluta (padrões diluídos em *n*-hexano), para as curvas de calibração e para 10 injeções da solução padrão 0,5 mg L⁻¹, respectivamente, de acordo com Ribani et al. (2004).

4.3.2 Preparação das curvas para recuperação absoluta

As soluções de padrões de PCBs para o cálculo da recuperação absoluta (Bressolle, Bromet-Petit e Audran, 1996) foram preparadas nas mesmas concentrações das curvas de calibração feitas com os padrões preparados na matriz das amostras (em triplicata), porém diluídas com *n*-hexano, diretamente e sem extração, para 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 e 0,5 mg L⁻¹. Os cálculos das taxas de recuperação foram realizados de acordo com a Resolução no. 899 da ANVISA, de 29 de maio de 2003, da seguinte forma:

$$\%REC = [FR \text{ (analitos extraídos)} / FR \text{ (analitos diluídos em } n\text{-hexano)}] * 100$$

4.3.3 Teste para avaliar a adsorção dos PCBs em espuma de poliuretano

As espumas de poliuretano foram cortadas em cubos de 0,5 cm de aresta e lavadas com água destilada (300 mL, 3 x); em seguida, com acetona P. A. (300 mL, 3x) e por fim, com *n*-hexano grau UV para CLAE (300 mL, 3x) para remoção de contaminantes orgânicos da superfície das mesmas, conforme especificado por Lawrence e Tosine (1976). As espumas foram secas à temperatura ambiente.

Prepararam-se os ensaios como as amostras, porém com 10% (p/v) de lodo inativado (esterilização em autoclave a 121°C/30 min, 3x), volume final de 25 mL, 0,7 mg L⁻¹ de

PCBs, juntamente com co-substratos etanol (460 mg L^{-1}) e formiato de sódio (680 mg L^{-1}), em duplicata.

Os frascos foram mantidos a 30°C sob agitação de 150 rpm durante 48 horas.

As amostras foram analisadas em 3 tempos: $T = 0$ e $T = 48$ horas.

A extração dos PCBs foi feita como descrito em **4.3.1**, para o líquido e para as espumas.

4.3.4 Determinação da ordem de eluição dos padrões, por CG/EM

Após análise do padrão *MIX 1* por CG/EM, no Laboratório do Grupo de Processos Eletroquímicos e Ambientais (GPEA) do Instituto de Química de São Carlos/USP – campus 2, foi possível determinar a ordem de eluição dos padrões presentes na solução. As condições cromatográficas foram as seguintes:

Cromatógrafo gasoso equipado com detector de massas (CG-EM 5500 - Shimadzu, Japão); coluna capilar SLB 5MS, de $30 \text{ m} \times 250 \text{ } \mu\text{m} \times 0.25 \text{ } \mu\text{m}$ de espessura de filme (SUPELCO, EUA); injetor em modo splitless com temperatura constante de 250°C . Temperatura do forno: de 160°C a 200°C a 20°C por minuto, até 270°C (1 min) a $30^{\circ}\text{C}/\text{min}$, até 290°C (10 min) a $30^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Gás de arraste: hélio, com fluxo constante de $1,2 \text{ mL}/\text{min}$. O espectrômetro de massas operou nas seguintes condições: energia de ionização por impacto eletrônico, temperatura da interface: 280°C . A identificação dos seis congêneres de PCBs foi efetuada comparando-se o espectro de massas obtido para cada pico com os dados da biblioteca NIST 05 *Mass Spectral Library*, 2005.

4.4 Extração dos PCBs presentes no padrão *MIX 1* por *HS-SPME* em amostras de solo

As amostras de solo cedidas pelo Departamento de Biologia da UFSCar/Sorocaba foram coletadas na subestação de energia elétrica Taubaté em 2010 e submetidas a remoção e degradação em reator vertical de fluxo descendente por 75 dias, em pesquisa da professora Dr.^a Iolanda Cristina Duarte, do Departamento de Biologia da UFSCar /Sorocaba. Para essas amostras avaliou-se a possibilidade de determinação dos PCBs por SPME, com fibra de PDMS (poli-dimetil-siloxano) de 100 μm . As amostras eram de dois tipos: solo 2, controle I (que deveria estar contaminado com $270.000 \mu\text{g kg}^{-1}$ de PCBs totais, de acordo com as informações fornecidas com as amostras) e solo 5, controle II, sem contaminação.

O teste inicial foi realizado como se segue: pesaram-se 2 g do solo 2, adicionaram-se 0,5 g NaCl e 2 mL de água ultrapurificada em frasco para amostrador de *headspace* de 10 mL. A fibra ficou em exposição à amostra mantida sob agitação magnética a 75°C por 45 min. Em seguida, a dessorção foi feita nas condições cromatográficas descritas em **4.2.7.1**.

A seguir pesou-se 3,07 g do solo 5, adicionaram-se 0,5 g de NaCl e 2 mL de água ultrapurificada e a fibra ficou em exposição a esta amostra a 75°C por 45 min, sob agitação.

Além destas, também se analisou uma amostra que não tivesse contaminação de PCBs. Para isto coletaram-se aproximadamente 900 g de solo no terreno próximo ao LPB, após ter chovido (Figura 33).

Figura 33 - Amostra de solo coletado no terreno próximo ao LPB

Para verificar se a amostra não estava contaminada com PCBs pesou-se 1,99 g de solo, adicionaram-se 0,5 g NaCl e 2 mL de água ultrapurificada. Deixou-se a amostra sob agitação magnética e a fibra em exposição ao *headspace* a 75°C por 45 min. Em seguida, injetou-se a fibra em CG/DCE nas mesmas condições descritas em **4.2.7.1**.

Para tentar retirar os interferentes que apareceram no cromatograma referente ao solo do LPB lavou-se a amostra de solo com *n*-hexano e acetona, e em seguida a amostra foi seca em estufa a 65°C por 60 min.

Antes da fortificação da amostra para verificar a eficiência da extração dos PCBs presentes no *MIX* por HS-SPME preparou-se nova amostra do solo puro, com 2 g de solo, 0,5 g de NaCl e 2 mL de água e adição de 40 µL de solução de octacloronaftaleno 100 mg L⁻¹ (padrão interno) para verificar sua resposta em CG/DCE e se os interferentes tinham sido eliminados.

Prepararam-se os padrões fortificados de duas maneiras: uma, fortificando as replicatas no mesmo frasco, ou seja, para 0,2 mg L⁻¹ pesou-se 5,001 g de solo, aos quais se adicionou 0,360 mL de solução *MIX* 2,75 mg L⁻¹, agitação em vórtex/30 s. Coletaram-se 2 g desta mistura (duplicata), adicionaram-se 20 µL de solução de padrão interno, agitação em vórtex/30 s, 2 mL de água ultrapurificada, 0,5 g NaCl, e fez-se a exposição da fibra a 75°C/30 min para testar a repetibilidade dos resultados e verificar se 30 min seriam suficientes para a extração. A outra maneira foi a fortificação em cada um dos frascos, separadamente: pesaram-se 2 g do solo em cada um deles (duplicata), adicionou-se 0,150 mL de solução *MIX* (0,21 mg L⁻¹), agitação em vórtex/30 s, adição de 20 µL de padrão interno, 2 mL de água e 0,5 g NaCl e exposição da fibra como o seu par.

Para a avaliação desse método de extração escolheu-se a fortificação do solo com a solução *MIX* e as replicatas no mesmo frasco: preparou-se cada concentração de uma única vez (Tabela 6), e depois pesaram-se 2 g de cada um deles para as replicatas e exposição da

fibra, com adição de 20 μL de solução 100 mg L^{-1} de octacloronaftaleno, deixando-se 30 s sob agitação em vórtex, 2 mL de água e 0,5 g NaCl; antes da exposição da fibra deixou-se a amostra pronta, sob agitação magnética por 5 min. A exposição da fibra foi feita por 30 min a 75°C.

Tabela 6 - Preparação do solo fortificado com *MIX* nas concentrações para verificação da extração dos PCBs por HS-SPME e CG/DCE

Ponto	Massa de solo (g)	Volume (mL) de solução <i>MIX</i> 2,75 mg L^{-1} (em MeOH)	Concentração final (mg L^{-1})
1	5,00 (duplicata)	0,36	0,2
2	11,0 (triplicata)	2,00	0,5

Verificou-se, por meio desses testes, a ocorrência de “dessorção incompleta” dos PCBs da fibra após a injeção da fibra sem nenhuma exposição, a partir do ponto 2 (concentração 0,5 mg L^{-1}). Deste modo, verificou-se a necessidade de se otimizar o método, como por exemplo, usar concentrações mais baixas, por menor tempo de exposição e talvez maior tempo de corrida cromatográfica. Para isto, testou-se uma “diluição” do ponto 2 para confirmar essa hipótese, da seguinte forma: em um frasco para amostrador de *headspace* de 10 mL pesou-se 0,5 g do solo (coletado no LPB) fortificado com 0,5 mg L^{-1} e 1,5 g de solo puro (0,17 mg L^{-1}). Adicionaram-se 20 μL solução de padrão interno, agitou-se por 30 s em vórtex, adicionou-se 2 mL de água, 0,5 g NaCl, deixou-se a mistura equilibrar sob agitação magnética por 5 min e colocou-se a fibra a 75°C/15 min.

Além disso, as concentrações de *MIX* (em mg L^{-1}) deveriam ser de 0,2; 0,5; 0,7; 1,0 e 1,3. Mas, como logo na injeção das duas primeiras concentrações os coeficientes de

variação (C.V.) dos fatores de resposta (FR) foram de 21% a 98%, decidiu-se preparar os padrões por um novo procedimento para tentar homogeneizar a fortificação do solo, adicionando-se *n*-hexano antes do padrão. Fizeram-se novas fortificações com concentrações menores da solução *MIX*, e diminuiu-se o tempo de exposição da fibra (de 30 min para 15 min) para verificar se havia diminuição dos coeficientes de variação (C.V.) dos FR dos analitos e também da “dessorção incompleta” dos PCBs da fibra.

Procedeu-se da seguinte forma: pesou-se 10 g de solo (LPB) em frascos de vidro de 10 mL (Wheaton). Em cada frasco colocaram-se 6 mL de *n*-hexano (volume suficiente para cobrir toda a amostra), fortificou-se cada um deles com a quantidade de solução *MIX* necessária para as novas concentrações dos analitos (Tabela 7), adicionaram-se 100 µL de solução de octacloronaftaleno (padrão interno), e agitou-se cada um deles por 1 min em vórtex. A seguir deixaram-se todos os frascos abertos, sob exaustão de capela, em banho de ultrassom por 40 min, para evaporação do *n*-hexano. Pesaram-se 2 g de cada um dos frascos fortificados (em triplicata), adicionou-se 2 mL de água e 0,5 g NaCl e deixou-se 5 min sob agitação magnética antes da exposição da fibra, a 75°C/15 min e injeção em CG/DCE.

Tabela 7 - Fortificação de solo com solução *MIX* nas concentrações 0,2 a 1,3 mg L⁻¹ para verificação da extração dos PCBs por HS-SPME e CG/DCE

Ponto	Volume (µL) de solução <i>MIX</i> 2,75 mg L ⁻¹ (em MeOH)	Concentração final (mg L ⁻¹)
1	36	0,01
2	182	0,05
3	255	0,07
4	364	0,10
5	474	0,13
6	545	0,15

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Primeira etapa

5.1.1. Condições cromatográficas para a separação dos PCBs em padrões de arocloros por CG/DCE

As melhores condições cromatográficas para determinação dos PCBs por CG/DCE foram com a temperatura do forno iniciando em 100°C (2 min), até 160°C, a 15°C/min, até 235°C (3 min), a 5°C/min e até 270°C, a 5°C/min, totalizando 36 min de corrida, por apresentarem melhor resolução dos picos (Rysavy, Yan e Novak, 2005).

O 1,3,5-triclorobenzeno (1,3,5-TCB) foi escolhido para ser o provável padrão *surrogate* e octacloronaftaleno, o padrão interno, com tempos de retenção de 6,0 min e 34,4 min, respectivamente (Figuras 34 e 35). Esses tempos de retenção não correspondem a nenhum dos picos observados nos cromatogramas das amostras de ascarel (Figura 45).

As amostras provenientes dos testes de extração foram injetadas em CG/DCE e, posteriormente, em CG/EM.

Antes das frações provenientes dos testes de extração injetaram-se as soluções dos padrões para verificar quais seriam as melhores condições cromatográficas para melhor resolução dos picos, que foram as que estão descritas acima.

Nas figuras correspondentes aos Apêndices A, B e C encontram-se os cromatogramas dos padrões da mistura de PCBs (PCB *MIX*), dos padrões de Arocloros 1016 e 1260, injetados

diretamente, sem fazer extração prévia, respectivamente. Todas as soluções de padrões de arocloros (1221, 1232, 1242, 1248, 1254) também foram injetadas (Apêndice D, E, F, G e H). Todavia, comparando-se os perfis cromatográficos com os das amostras de ascarel dos testes de extração obtidos por CG/DCE, decidiu-se usar apenas uma mistura dos arocloros 1016 e 1260 (Figura 36) como padrão. Martínez, Rodríguez e Castillo (2005) usaram uma mistura de arocloros 1254 e 1260 para determinação em óleo, por CG/EM, na tentativa de determinar esses PCBs no óleo, por apresentarem perfis cromatográficos semelhantes ao perfil do óleo puro.

Figura 36 - Cromatograma da mistura de soluções dos padrões arocloros 1260 e 1016, 10 mg L⁻¹ em metanol, obtido por CG/DCE após coluna de florisil e eluição com *n*-hexano

Verificou-se que os perfis cromatográficos das soluções padrão dos Arocloros apresentaram muitos picos, com intensidades diferentes, tornando difícil a análise com identificação apenas por tempos de retenção (TR).

5.1.2 Extração de PCBs (arocloros) do óleo ascarel e de amostras provenientes de reatores anaeróbios

5.1.2.1 Cromatografia em coluna de vidro e extração com cartucho SPE – alumina

O óleo ascarel não é miscível com solventes polares como metanol, etanol e acetona; assim, observou-se que os solventes mais adequados para solubilizá-lo são *n*-hexano puro ou com acetona, por exemplo: *n*-hexano/acetona 9:1, conforme sugerido por Quensen et al.(1990).

O perfil cromatográfico do óleo foi obtido pela injeção de uma solução do óleo puro em *n*-hexano em CG/DCE (Figura 37).

Figura 37 - Cromatograma obtido por CG/DCE do óleo puro dissolvido em *n*-hexano, sem pré-tratamento

Os resultados dos primeiros testes de extração do óleo em coluna com florisil (QUENSEN, BOYD; TIEDJE, 1990; RYSAVY, YAN; NOVAK, 2005) não foram satisfatórios, pois ainda era visível a presença de óleo na única fração obtida com eluição de 12 mL de *n*-hexano, após a evaporação à secura sob exaustão em capela. Por meio da análise do cromatograma obtido verificaram-se áreas pequenas dos prováveis picos de interesse (Figura 38).

A coluna sugerida por Tanaka (2003), com florisil e sílica gel, também não reteve o óleo. Mesmo assim injetou-se em CG/DCE para verificar a possível presença dos PCBs (Figura 39). Nestes cromatogramas verificou-se um pico considerável em 2,4 min que, por comparação com TR dos padrões disponíveis, não pareceu tratar-se de nenhuma substância em estudo. Verificou-se também que os prováveis picos referentes aos PCBs ao longo do cromatograma apresentavam intensidades pequenas e perfis semelhantes.

Figura 38 - Cromatograma (CG/DCE) da fração obtida no primeiro teste de extração de PCBs de ascarel em coluna com florissil, eluída com *n*-hexano

Figura 39 - Cromatograma (CG/DCE) da fração obtida no teste de extração de PCBs de ascarel, com florissil e sílica em pipeta Pasteur

Nos vários testes citados em 4.1.2.1 para extração do óleo, nos quais se variaram os parâmetros envolvidos na extração (lavagem prévia com H_2SO_4 , adsorvente, adição de solução de NaCl e eluente), verificou-se a presença do óleo após a evaporação do solvente de eluição e, mesmo assim, injetaram-se algumas amostras para verificar o resultado. Como se pode observar nos cromatogramas abaixo (Figuras 40 a 42), em alguns testes foi possível observar picos referentes aos PCBs; porém, devido à ausência de confirmação por CG/EM

(necessária para a atribuição correta dos PCBs, sem incorrer em erros), seria possível haver co-eluição de analitos, causando atribuições equivocadas.

Figura 40 - Cromatograma obtido por CG/DCE no teste para extração de PCBs de 5 mL de óleo em 10 mL de *n*-hexano, sem ácido, após coluna de florisil/Cu, eluída com *n*-hexano

Figura 41 - Cromatograma obtido por CG/DCE no teste para extração de PCBs de 0,15 mL de óleo em 15 mL de *n*-hexano, sem ácido, após coluna de sílica gel no topo e florisil/Cu, eluída com *n*-hexano

Figura 42 - Cromatograma obtido por CG/DCE no teste para extração de PCBs de 10 mL de óleo em 15 mL de *n*-hexano, lavagem ácida, após coluna de sílica gel no topo e florisil/Cu (2 mL amostra), eluída com *n*-hexano

Os testes de *cleanup* com florisil em coluna de vidro (Tabela 8) não foram eficientes para eliminar o óleo, mas algumas frações foram injetadas e, nos cromatogramas obtidos por CG/DCE, por exemplo, para as frações eluídas com *n*-hexano do Ascarel A (Figuras 43 e 44) e Ascarel B (Apêndice I), observam-se perfis cromatográficos semelhantes ao da mistura dos arocloros 1260 e 1016 (Apêndice Q); mas quando se observou os cromatogramas obtidos por CG/EM para possível confirmação da presença de PCBs (Figura 45; Apêndices 56 e 58) verificou-se que estes não foram detectados nas condições analisadas. O mesmo aconteceu com as amostras “Afluente do reator A e B” (Apêndices N e P): após injeção em CG/EM, não se detectou a presença de nenhum PCB.

Tabela 8 - Preparação das amostras para *cleanup*

Amostra	Volume (mL) e massa de amostra (g)	Eluente	Cromatograma correspondente (Figuras)
Ascarel A (óleo puro)	5 (4,28 g)	1) <i>n</i> -hexano; 2) <i>n</i> -hex/acet 70:30	43 e 44
Ascarel B (óleo puro)	5 (4,22 g)	1) <i>n</i> -hexano; 2) <i>n</i> -hex/acet 70:30	Apêndices I e K
Afluente do reator A	5	1) <i>n</i> -hexano; 2) <i>n</i> -hex/acet 70:30	Apêndices M e N
Afluente do reator B	5	1) <i>n</i> -hexano; 2) <i>n</i> -hex/acet 70:30	Apêndices O e P
Mistura de padrões de arocloros 1260 e 1016, 10 mg L ⁻¹ em isoctano	5	1) <i>n</i> -hexano; 2) <i>n</i> -hex/acet 70:30	Apêndice Q
MIX PCBs 10 mg L ⁻¹	2	1) <i>n</i> -hexano; 2) <i>n</i> -hex/acet 70:30	Apêndice R

Figura 43 - Cromatograma obtido por CG/DCE no teste para extração de PCBs – ascarel A – fração 1) *n*-hexano

Figura 44 - Cromatograma obtido por CG/DCE no teste para extração de PCBs – ascarel A – fração (2) *n*-hexano/acetona 70:30

Figura 45 - Cromatograma obtido por CG/EM no teste para extração de PCBs – ascarel A – fração (2) *n*-hexano/acetona 70:30

A passagem das amostras por cartucho SPE C-18 (a), conforme foi descrito em **4.1.2.1**, como pré-tratamento para extração de PCBs na forma de arocloros de óleo ascarel também não foi eficiente para isolar os analitos de interesse, como é possível observar no cromatograma da Figura 46; ou seja, os PCBs ficaram retidos no cartucho. A Figura 47 refere-se ao cromatograma obtido por CG/DCE do óleo após SPE – alumina (b) e coluna de sílica e florissil. Observa-se o perfil cromatográfico semelhante ao da mistura dos padrões de arocloros 1260 e 1016 (Figura 36), porém com tempos de retenção um pouco diferentes (Tabela 9). Para se atribuir cada um dos componentes da mistura de padrões ao correspondente componente do óleo seria necessário primeiramente fazer uma análise por CG/EM a fim de não incorrer em erros, como poderia acontecer, caso se considerasse apenas TR.

Figura 46 - Cromatograma obtido por CG/DCE no teste para extração de PCBs – óleo submetido a coluna de sílica e florissil eluída com *n*-hexano após passar por cartucho SPE C-18 (a)

Figura 47 - Cromatograma obtido por CG/DCE no teste para extração de PCBs – óleo submetido a coluna de sílica e florisil eluída com *n*-hexano após passar por cartucho SPE alumina (b)

Tabela 9 - Tempos de retenção de componentes de mistura de arocloros 1260 e 1016 comparados com óleo ascarel

TR Mistura de padrões (min)	TR óleo (min)
22,35	22,57
22,39	23,64
24,74	24,96
25,53	28,04
26,64	-
27,89	29,33
31,95	-

5.1.2.2 Extração líquido-líquido (L-L) para amostras provenientes de RAHLF

Na Tabela 10 encontram-se as descrições das figuras correspondentes aos cromatogramas dos testes de extração líquido-líquido para amostras provenientes de RAHLF.

Tabela 10 - Solventes usados nos testes para extração líquido-líquido das amostras do RAHLF

Teste	Solvente	Cromatograma correspondente (Figuras)
(a)	<i>n</i> -hexano	Figura 48
(b)	<i>n</i> -hexano/CH ₂ Cl ₂ 70:30	Apêndice S
(c)	<i>n</i> -hexano/acetona 70:30	Apêndice T
(d)	ciclo-hexano	Apêndice U
(e)	<i>n</i> -pentano	Apêndice V
(f)	benzeno	Apêndice X
(g)	tolueno	Apêndice Y
(h)	éter etílico	Figura 49

Figura 48 - Cromatograma obtido por CG/DCE para extração L-L – teste (a) *n*-hexano

Figura 49 - Cromatograma obtido por CG/DCE para extração L-L – teste (h) éter etílico

Na verificação dos cromatogramas das frações extraídas com os diferentes solventes observa-se que os picos relativos aos perfis cromatográficos dos padrões e do óleo (entre 19

min e 31 min) apresentaram baixas intensidades de áreas com todos os solventes testados, provavelmente devido à baixa concentração de óleo usado no reator ($0,5 \text{ mg L}^{-1}$), sendo que o éter etílico foi o que apresentou maior quantidade de contaminantes no início do cromatograma, até 16 minutos (Figura 49).

As propriedades físico-químicas, juntamente com a grande diversidade de congêneres presentes no óleo ascarel, que possui diferentes formulações, tornam a análise de PCBs bastante difícil, conforme relato de Martínez, Rodríguez e Castillo (2005), que estudaram a determinação de PCBs em óleo de transformador, e o monitoramento por CG/EM permitiu identificar 80 congêneres de PCBs.

Por isso, é muito importante analisar os PCBs por CG/EM em amostras de óleo, principalmente quando se investiga grande número de congêneres, como é o caso dos arocloros, pois EM é uma técnica com alta seletividade para distinguir os níveis de cloração dos compostos e, principalmente, discriminar substâncias que sejam contaminantes. Também é importante usar congêneres individuais como padrões, quando possível, apesar do alto custo envolvido.

O fato de não dispormos de um sistema com CG/EM impossibilitou a identificação dos PCBs e a distinção entre eles e os interferentes presentes no óleo, pois a escolha de um critério para considerar quais são congêneres de PCBs deve ser baseada na comparação entre os espectros de massas com bibliotecas de dados e não apenas por tempos de retenção, que são extremamente suscetíveis a erros, além da possibilidade de co-eluição de substâncias, o que só é possível constatar por CG/EM.

Como consequência, decidiu-se usar como padrão a solução de *MIX 1*, que contém apenas seis congêneres de PCBs (PCBs 10, 28, 52, 138, 153 e 180).

5.2 Segunda etapa

Nesta segunda etapa estudou-se a determinação dos PCBs presentes na solução *MIX* 1 em óleo, amostras de reatores anaeróbios e solo, por CG/DCE.

5.2.1 Otimização das condições cromatográficas para determinação dos PCBs por CG/DCE

Após sucessivas injeções de solução $0,5 \text{ mg L}^{-1}$, sob diferentes velocidades de aquecimento e variação das temperaturas inicial e final do forno, as melhores condições obtidas foram as seguintes:

$T_{\text{inj}} = 280^{\circ}\text{C}$, *splitless*

Pressão na cabeça da coluna: 5 psi

$T_{\text{det}} = 300^{\circ}\text{C}$

$T_{\text{forno}} = 160^{\circ}\text{C}$ a 200°C , 20°C/min , até 270°C (1 min), 30°C até 290°C (6 min), 30°C/min .

Nestas condições obteve-se um cromatograma com os sinais dos seis componentes do *MIX* bem resolvidos e com tempo de corrida cromatográfica bastante reduzido, 12 min (Figura 50).

Figura 50 - Cromatograma com as condições cromatográficas otimizadas para a solução *MIX* ($0,5 \text{ mg L}^{-1}$) e octacloronaftaleno (padrão interno, 10,7 min) $0,1 \text{ mg L}^{-1}$

5.2.2 Escolha do melhor solvente para os PCBs presentes na solução padrão *MIX*

Na Tabela 11 constam os resultados das áreas cromatográficas obtidas para as soluções (a), (b), (c), (d), (e) e (f) referentes aos testes para escolha do solvente que melhor extraiu os PCBs, por CG/DCE (SCHWANZ et al., 2012) usando *n*-hexano/acetona 1:1 para extrair PCBs de milho em banho de ultrassom).

Tabela 11 - Áreas cromatográficas dos PCBs extraídos com *n*-hexano (*a*, *b* e *c*) e *n*-hexano/acetona 70:30 (*d*, *e* e *f*)

PCB SOLUÇÃO	10	28	52	138	153	180
(a)	14057,5	34687,0	27511,6	74649,7	79103,9	111533,0
(b)	14895,4	34746,2	28668,9	76754,0	81060,8	114545,0
(c)	17003,8	34562,0	29715,6	71985,8	77725,8	109220,0
(d)	16212,7	16044,0	17132,8	17649,8	23253,1	21651,0
(e)	14438,0	14556,5	14924,4	15257,1	20535,1	19050,1
(f)	14564,0	14637,4	15385,0	16704,0	21590,9	20941,7

As maiores áreas obtidas para todos os PCBs presentes na solução *MIX* foram as correspondentes às soluções (a), (b) e (c), as quais foram extraídas com *n*-hexano, que, desta forma, foi eleito o melhor solvente (Figura 51).

Figura 51 - Cromatograma da fração contendo 1 mL solução PCB *MIX* 0,67 mg L⁻¹ em ACN extraída com 0,3 mL de *n*-hexano nas condições descritas em 4.2.1

5.2.3 Testes para extração dos PCBs após contaminar o óleo com solução *MIX*, por extração líquido-líquido e cromatografia em coluna de vidro

5.2.3.1 Extração após tratamento prévio com ácido sulfúrico (para eliminar possíveis interferentes presentes no óleo) e coluna de sílica gel

Após as frações eluídas com *n*-hexano permanecerem por 24 h sob exaustão de capela, não se observou nenhuma diminuição de volume da amostra, o que sugeriu, pela aparência amarelada e alta viscosidade, que se tratava de óleo praticamente puro. Por esse motivo, estas amostras não foram injetadas no CG para não danificar a coluna cromatográfica.

5.2.3.2 Extração com florissil

Nenhuma das frações coletadas (óleo puro ou contaminado com *MIX*) evaporou à secura, restando pequeno volume (aproximadamente 1 mL) de um líquido amarelo claro e viscoso, sugerindo a presença de óleo. Injetou-se uma fração do óleo puro e uma fração do óleo contaminado com o *MIX*.

Em ambas as frações observaram-se perfis cromatográficos semelhantes, tanto do óleo puro quanto do óleo contaminado com solução *MIX*, com vários picos entre TR 2,57 e 10, 68 min, de intensidades semelhantes (Figuras 52 e 53). Mas, como a purificação do óleo

não foi eficiente, ou seja, este método não foi eficiente para eliminar o óleo, decidiu-se testar outros adsorventes.

Figura 52 - Cromatograma do branco, correspondente ao óleo sem contaminação com a solução *MIX*, após passar por coluna de florisil

Figura 53 - Cromatograma do óleo após contaminação com a solução *MIX* e passar por coluna de florisil

5.2.3.3 a 5.2.3.8 Extrações por cromatografia em coluna, usando sílica gel, florisil, alumina neutra e carvão

Nenhum desses sistemas foi eficiente para reter o óleo, pois as frações coletadas após a eluição com *n*-hexano não foram evaporadas à secura, indicando a presença de óleo. Nem mesmo quando se usou o efluente de uma coluna aplicado em coluna seguinte, não se observou a retenção do óleo pelos adsorventes testados.

5.2.4 Testes para extração dos PCBs do óleo por partição com *n*-hexano e acetonitrila

Após as adições do *n*-hexano saturado com acetonitrila à amostra de óleo dissolvida com *n*-hexano, não se observou separação entre as fases; então, adicionou-se acetonitrila pura e se coletaram as fases de acetonitrila em outro funil. Após a extração e evaporação dos solventes sob exaustão de capela restou o óleo, novamente. Isto mostra que esse método não é eficiente para separar o óleo, como desejávamos. Para evitar danos à coluna cromatográfica não se injetou esse óleo restante.

5.2.5 Extração dos PCBs com cartucho de Extração em Fase Sólida – SPE (*Solid Phase Extraction*) Supelclean Sulfoxide – SUPELCO (3 g/6 mL)

5.2.5.1 Extração direta, sem pré-tratamento

Nas frações das amostras coletadas como foi descrito em 4.2.5 (segundo a sugestão do fabricante), após a evaporação do *n*-hexano foi possível observar-se visualmente a presença de óleo em F1 e muito pouco óleo em F2. F3 apresentou um resíduo de coloração amarela, sugerindo a presença do óleo nesta fração. No cromatograma de F2 observou-se perfil cromatográfico correspondente aos PCBs presentes no óleo, como se supunha (Figura 54).

Verificou-se que, mesmo aumentando de 5,5 mL para 8 mL o volume de *n*-hexano usado para lavagem dos possíveis interferentes do óleo em F1, as maiores áreas dos picos de interesse em F2 foram obtidas quando se usaram 5 mL, ao invés de 8 mL para eluir os componentes do óleo – como hidrocarbonetos, por exemplo, presentes em F1 (Tabela 12). Assim, o volume usado para lavagem dos prováveis contaminantes do óleo (F1) foi de 5,5 mL. PCB 10 não foi detectado em três das frações coletadas (2a, 2b e 2d), pois possui baixa resposta ao DCE, devido ao fato de a molécula possuir apenas 2 átomos de cloro, e a concentração deve estar baixa para a detecção.

Figura 54 - Cromatograma obtido por CG/DCE com amostra de óleo ascarel após passar por cartucho SPE *Sulfoxide* – F2

Tabela 12 - Áreas cromatográficas obtidas por CG/DCE da fração F2 de extração dos PCBs de óleo com cartucho *Supelclean Sulfoxide* SUPELCO

PCB	Área	2a*	2b*	2c*	2 d**
10		N. D.	N. D.	27279,6	N. D.
28		104638,5	195178,9	153284,3	52961,8
52		16478,07	346090,7	150700	58909,4
138		81331,70	188189,6	149844	39577,2
153		132478,6	334738,8	368255	207799,3
180		113793,9	175557,0	178503,4	76344,5

2a, b e c: F2 coletadas após lavagem dos interferentes com 5,5 mL de *n*-hexano e 2d**, coletada após passar 8 mL para F1

Injetou-se uma solução de 1,3,5-triclorobenzeno 2 mg L^{-1} para confirmar TR e as frações F1, F2, F3 e F4 dos testes realizados com o óleo contaminado com a solução *MIX* PCBs (2 mg L^{-1}), passado pelo cartucho SPE, para verificar se houve retenção dos compostos de interesse no cartucho, além de F2 (Figuras 55 a 59). Em F4, a última fração após a lavagem do cartucho, ainda restaram alguns analitos que deveriam ter eluído em F2, sugerindo que essa extração ainda não está sendo eficiente.

Figura 55 - Cromatograma obtido por CG/DCE de 1,3,5-triclorobenzeno 2 mg L^{-1} para confirmar TR (7,9 min)

Figura 56 - Cromatograma obtido por CG/DCE da fração F1 do óleo após passar por SPE *Sulfoxide*, fortificado com solução padrão *MIX* 2,0 mg L⁻¹, octacloronaftaleno 0,8 mg L⁻¹ e 1,3,5-triclorobenzeno 2,0 mg L⁻¹

Figura 57 - Cromatograma obtido por CG/DCE da fração F2 do óleo após passar por SPE *Sulfoxide*, fortificado com solução padrão *MIX* 2,0 mg L⁻¹, octacloronaftaleno 0,8 mg L⁻¹ e 1,3,5-triclorobenzeno 2,0 mg L⁻¹

Figura 58 - Cromatograma obtido por CG/DCE da fração F3 do óleo após passar por SPE *Sulfoxide*, fortificado com solução padrão *MIX* 2,0 mg L⁻¹, octacloronaftaleno 0,8 mg L⁻¹ e 1,3,5-triclorobenzeno 2,0 mg L⁻¹ em *n*-hexano

Figura 59 - Cromatograma obtido por CG/DCE da fração F4 do óleo após passar por SPE *Sulfoxide*, fortificado com solução padrão *MIX* 2,0 mg L⁻¹

Após 3 extrações seguidas no mesmo cartucho observou-se – nos cromatogramas referentes à fração F4 (última fração, após passar 30 mL dos solventes usados para condicionar o cartucho e 5 mL de *n*-hexano para verificar se o cartucho ficou limpo), – a presença do pico referente ao 1,3,5-triclorobenzeno (7,9 min, Figura 60). Diante disso, para reutilizar os cartuchos é necessário lavá-los com maior quantidade de solvente: por exemplo, mais 10 mL de acetona e 20 mL de *n*-hexano, antes do condicionamento normal, e verificar se ainda assim restou algum analito retido.

Devido à persistência dos analitos no cartucho após a eluição de 4 frações, decidiu-se usar as amostras que passaram por tratamento ácido.

Figura 60 - Cromatograma obtido por CG/DCE da fração F4 do óleo após passar por SPE *Sulfoxide*, fortificado com solução padrão *MIX* 2,0 mg L⁻¹ e 1,3,5-triclorobenzeno 2,0 mg L⁻¹

5.2.5.2 Extração após pré-tratamento da amostra de óleo com ácido sulfúrico concentrado

No teste inicial da amostra de óleo fortificada com *MIX* 2 mg L⁻¹ e tratada previamente com ácido sulfúrico, colocou-se o 1,3,5-triclorobenzeno (provável *surrogate*); mas, como se verificou retenção no cartucho após a eluição de F4, descartou-se a ideia de usá-lo neste processo. Por esse motivo, usou-se apenas o octacloronaftaleno como padrão interno, e não se usou nenhuma substância como *surrogate*. Devido à verificação da eficiência de eluição dos PCBs de interesse, principalmente concentrados em F2 (Figuras 61 a 64), procedeu-se a extração do óleo puro e fortificado (4.2.5.2) para calcular a concentração dos analitos do *MIX* presentes no óleo ascarel original pelo método da adição de padrão.

Figura 61 - Cromatograma obtido por CG/DCE da fração F1 do óleo tratado com H₂SO₄ após passar por SPE *Sulfoxide*, fortificado com solução padrão *MIX* 2,0 mg L⁻¹, octacloronaftaleno 2,0 mg L⁻¹ e 1,3,5-triclorobenzeno 2,0 mg L⁻¹

Figura 62 - Cromatograma obtido por CG/DCE da fração F2 do óleo tratado com H_2SO_4 após passar por SPE *Sulfoxide*, fortificado com solução padrão *MIX* $2,0 \text{ mg L}^{-1}$, octacloronaftaleno $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ e 1,3,5-triclorobenzeno $2,0 \text{ mg L}^{-1}$

Figura 63 - Cromatograma obtido por CG/DCE da fração F3 do óleo tratado com H_2SO_4 após passar por SPE *Sulfoxide*, fortificado com solução padrão *MIX* $2,0 \text{ mg L}^{-1}$, octacloronaftaleno $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ e 1,3,5-triclorobenzeno $2,0 \text{ mg L}^{-1}$

Figura 64 - Cromatograma obtido por CG/DCE da fração F4 do óleo tratado com H_2SO_4 após passar por SPE *Sulfoxide*, fortificado com solução padrão *MIX* $2,0 \text{ mg L}^{-1}$, octacloronaftaleno $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ e 1,3,5-triclorobenzeno $2,0 \text{ mg L}^{-1}$

Nas Tabelas 13 e 14 estão os valores das médias, desvio padrão e coeficiente de variação para os fatores de resposta (FR) obtidos por CG/DCE, com octacloronaftaleno como padrão interno, para a realização das curvas de calibração pelo método da adição de padrão.

Tabela 13 - Média, Desvio Padrão (D.P.) e Coeficiente de Variação (C.V.) de FR para os pontos da curva por adição do padrão *MIX* ao óleo, por SPE após tratamento ácido – P0 e P1

PCB	Ponto 0 (óleo puro)			Ponto 1 (óleo com 1,0 mg L ⁻¹ <i>MIX</i>)		
	Média FR	D.P.	C.V. (%)	Média FR	D.P.	C.V. (%)
10	0,39	-	-	0,284	0,067	23,70
28	2,765	0,382	13,81	3,045	0,519	17,06
52	3,375	0,661	32,66	2,460	0,454	18,45
138	2,263	1,017	44,93	3,185	0,562	17,64
153	4,946	1,055	22,32	5,474	2,314	42,27
180	3,538	0,653	18,45	4,821	1,426	29,57

Tabela 14 - Média, Desvio Padrão (D.P.) e Coeficiente de Variação (C.V.) de FR para os pontos da curva por adição do padrão *MIX* ao óleo, por SPE após tratamento ácido – P2, P3 e P4

PCB	Ponto 2 (óleo com 2,0 mg L ⁻¹ <i>MIX</i>)			Ponto 3 (óleo com 3,0 mg L ⁻¹ <i>MIX</i>)			Ponto 4 (óleo com 4,0 mg L ⁻¹ <i>MIX</i>)		
	Média FR	D.P.	C.V. (%)	Média FR	D.P.	C.V.	Média FR	D.P.	C.V. (%)
10	1,253	0,264	21,10	1,209	0,639	52,86	2,326	1,455	62,55
28	4,464	1,985	44,46	4,313	1,122	26,02	4,582	1,143	24,94
52	2,693	0,645	23,95	3,606	0,917	25,43	4,782	1,705	35,66
138	4,356	2,359	54,15	4,587	0,905	19,73	4,588	2,138	46,61
153	8,202	0,888	10,83	7,718	2,083	26,98	10,575	4,917	46,50
180	8,635	4,700	54,43	7,740	1,673	21,62	9,933	2,841	28,60

Os valores de C.V. para FR variaram entre 10,8% e 62,6% e, considerando que o óleo é uma matriz extremamente complexa, além dos tratamentos prévios que provocam perdas, usou-se FR para testar a linearidade das curvas de calibração.

Também se calcularam os valores da média, D.P. e C.V. para os tempos de retenção (TR) dos analitos nas replicatas consideradas (Tabelas 15 e 16).

Tabela 15 - Média, Desvio Padrão (D.P.) e Coeficiente de Variação (C.V.) de TR para os pontos da curva por adição do padrão *MIX* ao óleo, por SPE após tratamento ácido – P0 e P1

PCB	Ponto 0 (óleo puro)			Ponto 1 (óleo com 1,0 mg L ⁻¹ <i>MIX</i>)		
	Média TR	D.P.	C.V. (%)	Média TR	D.P.	C.V. (%)
10	3,969	-	-	3,959	0,008	0,20
28	5,043	0,025	0,50	5,054	0,008	0,15
52	5,347	0,026	0,48	5,289	0,100	1,90
138	6,948	0,019	0,28	6,970	0,008	0,12
153	7,292	0,029	0,40	7,302	0,009	0,13
180	8,109	0,033	0,41	8,120	0,011	0,13
OCTN	10,694	0,048	0,45	10,710	0,015	0,14

OBS.: o PCB 10 só foi detectado em uma das replicatas do ponto 0 (óleo puro).

Tabela 16 - Média, Desvio Padrão (D.P.) e Coeficiente de Variação (C.V.) de TR para os pontos da curva por adição do padrão *MIX* ao óleo, por SPE após tratamento ácido – P2, P3 e P4

PCB	Ponto 2 (óleo com 2,0 mg L ⁻¹ <i>MIX</i>)			Ponto 3 (óleo com 3,0 mg L ⁻¹ <i>MIX</i>)			Ponto 4 (óleo com 4,0 mg L ⁻¹ <i>MIX</i>)		
	Média TR (min)	D.P.	C.V. (%)	Média TR (min)	D.P.	C.V.	Média TR (min)	D.P.	C.V. (%)
10	3,933	0,007	0,17	3,927	0,001	0,02	3,892	0,072	1,85
28	5,026	0,008	0,15	5,018	0,001	0,03	5,022	0,015	0,31
52	5,325	0,008	0,14	5,316	0,003	0,05	5,308	0,009	0,17
138	6,938	0,008	0,12	6,927	0,004	0,06	6,924	0,004	0,05
153	7,269	0,009	0,12	7,258	0,005	0,07	7,240	0,027	0,37
180	8,082	0,010	0,12	8,069	0,006	0,07	8,056	0,016	0,20
OCT	10,654	0,014	0,13	10,635	0,008	0,08	10,623	0,008	0,08

Os valores da média, D.P. e C.V. de FR e de TR para 10 injeções da mesma fração F2, do ponto P4 (com concentração de 4 mg L⁻¹ dos padrões presentes no *MIX*), representam a precisão instrumental (Tabela 17). Os valores de C.V. para FR e TR foram baixos (de 3,57 a 14,66 e de 0,7 a 0,9, respectivamente) e, portanto, conclui-se que a precisão instrumental é satisfatória. O maior valor referente ao PCB 10 deve estar relacionado com a resposta ao detector, que é mais baixa do que as respostas dos outros analitos devido ao fato do PCB 10 possuir apenas 2 átomos de cloro em sua molécula – e, ainda, ao aumento de sensibilidade do detector de captura de elétrons com o aumento do número de átomos de halogênio na molécula (Tobiszewskie Namieśnik, 2011).

Tabela 17 - Média, D.P. e C.V. de FR e de TR para 10 injeções da mesma fração F2, do ponto P4 após passar por tratamento ácido e cartucho SPE *Sulfoxide*

PCB	Ponto P4 (óleo com 4,0 mg L ⁻¹ <i>MIX</i>)					
	Média FR	D.P.	C.V. (%)	Média TR	D.P.	C.V. (%)
10	1,117	0,164	14,66	3,926	0,003	0,08
28	5,020	0,214	4,26	5,014	0,003	0,07
52	4,059	0,174	4,29	5,311	0,004	0,07
138	1,390	0,081	5,81	6,996	0,005	0,07
153	9,857	0,422	4,29	7,245	0,005	0,07
180	10,800	0,385	3,57	8,054	0,006	0,07
OCTN	-	-	-	10,608	0,009	0,09

Para os cálculos das concentrações usando o método da adição de padrão é necessário que a massa da matriz seja a mesma para todos os pontos. Como neste caso as massas do óleo para os vários pontos foram diferentes devido à consideração do volume medido para a fortificação com o *MIX*, fez-se uma correção dos valores de FR para que todos fossem equiparados, de acordo com a porcentagem de cada um relativa ao óleo puro, P0.

As equações das retas obtidas a partir de FR corrigidos apresentaram coeficientes de correlação (R^2) com valores entre 0,80 e 0,89 e os valores do teste F, entre 14,6 e 27,7 (Tabela18).

Tabela 18 - Equações das retas obtidas e de F para os PCBs com tratamento ácido, após SPE *Sulfoxide*, considerando-se FR dos PCBs presentes no *MIX*

PCB	Equação da reta	R ²	Valor de F
10	$y = 0,51694x + 0,13908$	$R^2 = 0,8268$	17,1
28	$y = 0,75462x + 2,89649$	$R^2 = 0,8864$	32,2
52	$y = 0,61666x + 2,04723$	$R^2 = 0,8034$	17,3
138	$y = 0,66596x + 2,5212$	$R^2 = 0,8151$	18,6
153	$y = 1,43161x + 4,55649$	$R^2 = 0,8697$	27,7
180	$y = 1,52649x + 4,04275$	$R^2 = 0,8169$	18,8

Nas curvas de calibração a partir das médias entre FR (Figuras 65 e 66) observou-se que os coeficientes de correlação (R^2) das retas obtidas variaram entre 0,80 e 0,89, ou seja, valores que podem ser considerados baixos. Isto se deve, provavelmente, à grande interferência da matriz na determinação, pois contém muitas substâncias que são detectadas pelo DCE. Mas a maioria dos pontos encontra-se dentro da faixa de distribuição normal no intervalo de confiança de 95%, e os resíduos, aleatoriamente distribuídos, o que atesta linearidade. Além disso, para a aplicação de ANOVA (Análise de Variância), os modelos mais adequados apresentaram valor de F superior ao F_{tab} (**10,128**), mesmo com pouca diferença entre eles, o que comprova a linearidade das equações na faixa de concentração estudada. De acordo com CASTRO et al. (2008), quando se aplica o teste em que a hipótese nula considera o coeficiente angular da reta de regressão, $b = 0$, se $F_{\text{obtido}} > F_{\text{tabelado}}$, rejeita-se a hipótese nula e é evidenciada a linearidade.

A fim de obter resultados mais confiáveis verificou-se a possibilidade de melhor linearidade, a partir dos dados puros, ou seja, das áreas cromatográficas (padronização externa), sem considerar o padrão interno. As curvas realizadas com as médias entre as áreas apresentaram valores de R^2 piores ($< 0,7$) do que os obtidos com FR.

Figura 65 - Curvas de calibração e resíduos dos PCBs 10, 28 e 52 após SPE com cartucho *Sulfoxide* eluído com *n*-hexano, considerando FR (concentração em mg L^{-1})

Figura 66 – Curvas de calibração e resíduos dos PCBs 138, 153 e 180 após SPE com cartucho *Sulfoxide* eluído com *n*-hexano, considerando FR (concentração em mg L^{-1})

Para verificar se havia a possibilidade de escolha entre áreas que apresentassem valores mais adequados à linearidade proposta pelas curvas de calibração preparadas, tabelaram-se os valores das equações das retas obtidas, bem como os respectivos valores de F para áreas com melhor ajuste (Tabela 19 e Figuras 67 e 68). Os valores dos coeficientes de correlação (R^2) ficaram mais próximos de 1,0 (entre 0,81 e 0,98) do que quando se usou FR (entre 0,80 e 0,89).

Tabela 19 - Equações das retas obtidas e de F para os PCBs presentes no MIX considerando-se áreas cromatográficas com melhor ajuste

PCB	Equação da reta	R^2	F
10	$y = 3171,57x + 1950,23$	$R^2 = 0,8144$	18,6
28	$y = 5888,45x + 17592,41$	$R^2 = 0,8106$	18,1
52	$y = 6036,17x + 9284,26$	$R^2 = 0,9691$	126
138	$y = 7004,71x + 18232,10$	$R^2 = 0,9810$	207
153	$y = 12900,38x + 29862,49$	$R^2 = 0,9465$	71,8
180	$Y = 12382,51x + 28200,24$	$R^2 = 0,9149$	44

Figura 67 - Curvas de calibração e resíduos dos PCBs 10, 28 e 52 após tratamento ácido e SPE com cartucho *Sulfoxide* eluído com *n*-hexano, considerando áreas cromatográficas com melhor ajuste (concentração em mg L⁻¹)

Figura 68 - Curvas de calibração e resíduos dos PCBs 138, 153 e 180 após tratamento ácido e SPE com cartucho *Sulfoxide* eluído com *n*-hexano, considerando áreas cromatográficas com melhor ajuste (concentração em mg L⁻¹)

Verificou-se a calibração ponderada para avaliação do melhor método de cálculo. A escolha do modelo de ajuste pela calibração ponderada, considerando FR e áreas

cromatográficas (Tabela 20), foi baseada nos critérios de menor soma de erros relativos (%ER) e nos valores das concentrações reais obtidas pela equação da reta correspondente ao modelo cujos resultados mais se aproximaram das concentrações nominais (1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mg L⁻¹).

As diferenças entre os valores reais e nominais refletem a grande influência da matriz nos resultados obtidos e são menores para os dados puros (áreas cromatográficas, padronização externa) do que para FR, considerando o padrão interno, mesmo levando em conta a calibração ponderada e com a maioria dos valores de F sendo menores do que F_{tab} (**10,128**).

Tabela 20 – Calibração ponderada e escolha do modelo mais adequado, considerando FR e áreas com melhor ajuste após SPE *Sulfoxide*

PCB	Modelo escolhido	Concentrações reais (mg L ⁻¹) – FR	Modelo escolhido	Concentrações reais (mg L ⁻¹) - áreas
10	x ²	0,986	x ²	0,929
		2,568		2,497
		2,554		2,672
		4,386		3,726
28	x	0,752	x ^{0,5}	0,867
		2,775		2,386
		2,902		2,746
		3,570		4,014
52	x	0,697	x ^{0,5}	0,829
		2,957		2,41
		2,853		2,882
		3,493		3,898
138	x ²	0,863	x ²	0,979
		2,860		2,189
		2,822		2,716
		3,064		4,084
153	x ²	0,815	x ²	0,962
		3,335		2,296
		2,039		2,705
		3,371		3,955
180	x	0,770	x ²	0,935
		2,841		2,463
		2,550		2,683
		3,839		3,758

As equações das retas obtidas pela calibração ponderada, juntamente com valores de R² e teste F estão na Tabela 21.

Tabela 21 - Equação das retas obtidas e valores de F para os PCBs presentes no *MIX* considerando-se áreas cromatográficas com melhor ajuste para a calibração ponderada

	Equação da reta	R²	F
10	$y = 4798,245x - 2374,626$	$R^2 = 0,9791$	0,51
28	$y = 8107,871x + 10989,723$	$R^2 = 0,9888$	12,9
52	$y = 5892,199x + 9783,561$	$R^2 = 0,9886$	22,5
138	$y = 7340,846x + 17339,302$	$R^2 = 0,9951$	56,6
153	$y = 15616,554x + 22510,788$	$R^2 = 0,9915$	15,8
180	$y = 16220,008x + 18402,832$	$R^2 = 0,9817$	9,9

Na Tabela 22 estão os valores das concentrações dos analitos que compõem o *MIX* na amostra de óleo ascarel original, calculados a partir das equações das retas usando FR, áreas cromatográficas com melhor ajuste e áreas com calibração ponderada.

Tabela 22 - Valores das concentrações dos analitos que compõem o *MIX* na amostra de óleo ascarel original usando FR, áreas cromatográficas com melhor ajuste e calibração ponderada das melhores áreas

PCB	CONCENTRAÇÃO (mg L⁻¹)		
	Cálculo com FR	Cálculo com áreas cromatográficas	Cálculo com áreas – calibração ponderada
10	0,269	0,615	0,495
28	0,174	2,988	1,355
52	3,320	1,538	1,660
138	3,786	2,603	2,362
153	3,183	2,315	1,441
180	2,648	2,277	1,135

Os valores entre as concentrações obtidas pelos dois métodos diferentes (padrão interno e externo) diferem pouco entre si; porém, ao verificar a linearidade das curvas de calibração a partir das quais eles foram obtidos, pode-se considerar que os resultados obtidos a partir

dos dados puros (áreas cromatográficas) representam valores mais próximos da realidade. Assim, conclui-se que é sempre recomendável examinar as duas possibilidades, mesmo que tenha sido usado um padrão interno.

De acordo com o critério de escolha do melhor método para o cálculo das concentrações dos analitos no óleo original (calibração inversa), o método que apresentou resultados de concentrações reais mais próximos das concentrações nominais (1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mg L⁻¹) foi o método da calibração ponderada, usando as áreas que forneceram melhor ajuste. Os limites de detecção podem ser considerados como sendo as concentrações correspondentes aos extremos da curva, ou seja, dentro da faixa de concentração estudada, de 0,0 a 4,0 mg L⁻¹, pois uma das formas de expressá-lo é o método visual, no qual seja possível distinguir a menor concentração detectável (RIBANI et al., 2004).

Assim, considera-se que os valores das concentrações dos analitos estudados, no óleo original, pelo método de extração com cartucho SPE *Sulfoxide* após tratamento ácido, são: 0,495; 1,355; 1,660; 2,362; 1,441; 1,135 mg L⁻¹, respectivamente, para os PCBs 10, 28, 52, 138, 153 e 180.

5.2.6 Testes para extração dos PCBs em colunas de alumina, florisil e sílica gel após tratamento do óleo com ácido sulfúrico concentrado

Por meio da análise dos perfis cromatográficos obtidos por CG/DCE após passar as amostras P0c e P4e (óleo tratado com ácido sulfúrico - **4.2.5.2**; P0 corresponde ao óleo puro e P4, ao óleo fortificado com 4 mg L⁻¹ de *MIX*) por colunas de vidro com os adsorventes alumina, florisil e sílica gel, verificou-se que o melhor adsorvente para extrair os PCBs de

interesse foi a sílica (Figura 69), porque extraiu maior quantidade dos PCBs. Esse aspecto pode ser confirmado visualmente pela contagem do sinal do detector, correspondente à altura de pico, que foi da ordem de 35.000 para a sílica, de 24.000 para alumina e 26.000 para florisil, sendo que nesse caso o alto sinal foi referente a apenas um dos picos, em 3,3 min, que não corresponde a nenhum dos PCBs em estudo. Por este motivo, a sílica foi escolhida para testar esse método de extração.

Figura 69 - Cromatogramas das frações F2 referentes a P0 (óleo puro) e P4 (óleo com adição de 4,0 mg L⁻¹ de MIX) após tratamento ácido e cromatografia em coluna de vidro com alumina, florisil e sílica como adsorventes e eluição com *n*-hexano

As médias, D.P. e C.V. entre FR e TR obtidos para P0, P2 e P4 (após lavagem com ácido e coluna de vidro com sílica gel), representados nas Tabelas 23 e 24, mostram que houve uma variação bem menor de C.V. para FR (de 1,0% a 15%) do que para a extração em cartucho SPE *Sulfoxide* (entre 11% e 63%, **5.2.5.2**). Observou-se pequena variação de TR, com C.V. de 0,01% a 0,63%, o que revela boa precisão instrumental.

Outra observação é que o PCB 10 (TR = 3,9 min) não foi detectado por esse método no óleo original e nem na concentração 2 mg L⁻¹, somente na concentração 4 mg L⁻¹, provavelmente devido à baixa concentração e à pequena quantidade de amostra aplicada na coluna, somadas ao fato de que a sensibilidade do detector é mais baixa para compostos com menor número de halogênios na molécula, como já foi citado em **5.2.5.2**.

Uma sugestão para detectá-lo nas concentrações menores seria aplicar uma quantidade maior de amostra na coluna de sílica gel, por exemplo, 2 mL ou 3 mL, em uma coluna com dimensões maiores do que as que foram usadas (22 cm x 1,2 cm) para permitir o uso de maior quantidade de sílica, por exemplo, 7 g ou 10 g.

Tabela 23 - Média, Desvio Padrão (D.P.) e Coeficiente de Variação (C.V.) de FR para os pontos da curva por adição do padrão *MIX* ao óleo, após tratamento ácido e coluna de sílica – P0, P2 e P4

PCB	Ponto 0 (óleo puro)			Ponto 2 (óleo com 2,0 mg L ⁻¹ <i>MIX</i>)			Ponto 4 (óleo com 4,0 mg L ⁻¹ <i>MIX</i>)		
	Média FR	D.P.	C.V. (%)	Média FR	D.P.	C.V.	Média FR	D.P.	C.V. (%)
10	*N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0,587	0,045	7,65
28	1,315	0,135	10,29	2,195	0,305	13,89	2,827	0,117	4,13
52	0,879	0,078	8,88	1,528	0,209	13,68	2,054	0,075	3,65
138	2,442	0,231	9,46	3,485	0,472	13,56	4,38	0,044	1,01
153	3,598	0,309	8,59	4,437	0,604	13,62	4,877	0,096	1,97
180	3,076	0,417	13,56	4,789	0,718	14,99	6,164	0,193	3,13

* N.D. – Não detectado

Tabela 24 - Média, Desvio Padrão (D.P.) e Coeficiente de Variação (C.V.) de TR para os pontos da curva por adição do padrão *MIX* ao óleo, após tratamento ácido e coluna de sílica – P0, P2 e P4

PCB	Ponto 0 (óleo puro)			Ponto 2 (2,0 mg L ⁻¹ de <i>MIX</i>)			Ponto 4 (2,0 mg L ⁻¹ de <i>MIX</i>)		
	Média TR (min)	D.P.	C.V. (%)	Média TR (min)	D.P.	C.V.	Média TR (min)	D.P.	C.V. (%)
10	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	3,941	0,0250	0,63
28	5,031	0,0150	0,30	5,016	0,0017	0,03	5,0367	0,0285	0,57
52	5,334	0,0155	0,29	5,314	0,0015	0,03	5,334	0,0291	0,54
138	6,944	0,0185	0,27	6,922	0,0010	0,01	6,944	0,0322	0,46
153	7,273	0,0195	0,27	7,252	0,0015	0,02	7,274	0,0347	0,48
180	8,086	0,0215	0,27	8,061	0,0020	0,02	8,087	0,0382	0,47
OCT	10,656	0,0327	0,31	10,620	0,0036	0,03	10,658	0,0563	0,53

Também se injetou 10 vezes a mesma fração P4 – F2a, para verificar a precisão instrumental. Os valores da média, D.P. e C.V. de FR e de TR para 10 injeções da mesma fração F2, do ponto P4a (com concentração de 4 mg L⁻¹ dos padrões presentes no *MIX*), encontram-se na Tabela 25. Os valores dos C.V. são extremamente baixos (de 3,3 a 7,0, para FR e de 0,31 a 0,41 para TR), o que significa que a resposta do detector está uniforme e confiável, confirmando a precisão experimental.

Tabela 25 - Média, D.P. e C.V. de FR e de TR para 10 injeções da mesma fração F2, do ponto P4a, após passar por tratamento ácido e coluna de sílica gel

PCB	Ponto P4 (óleo com 4,0 mg L ⁻¹ MIX)					
	Média FR	D.P.	C.V. (%)	Média TR	D.P.	C.V. (%)
3,8	0,530	0,038	7,07	3,949	0,016	0,41
4,9	2,666	0,183	6,88	5,043	0,018	0,36
5,3	1,938	0,098	5,05	5,340	0,019	0,35
6,9	4,178	0,172	4,12	6,950	0,022	0,31
7,2	4,632	0,203	4,38	7,280	0,023	0,31
8,0	5,755	0,188	3,26	8,092	0,026	0,32
OCTN	-	-	-	10,665	0,038	0,36

Apesar de existirem apenas três pontos com diferentes concentrações, obtiveram-se as curvas de calibração para verificar a tendência dos pontos representados pelos FR, uma vez que estes apresentaram C.V. entre 1,0% e 15,0% apenas. Novamente, para os cálculos das concentrações usando o método da adição de padrão, fez-se uma correção dos valores dos FR para que todos fossem equiparados, de acordo com a porcentagem de cada um relativa ao óleo puro, P0, pois as massas do óleo para os pontos em questão foram diferentes devido à consideração do volume medido para a fortificação com o *MIX* (curvas de calibração nas Figuras 70 e 71).

A linearidade das equações obtidas com FR, como é possível observar pelos coeficientes de correlação entre 0,9938 e 0,9998, também foi confirmada pelos valores de F (Tabela 26), bem maiores do que F_{tabelado} (**39,861**).

Tabela 266 - Equações das retas obtidas considerando-se FR dos PCBs presentes no *MIX* após tratamento ácido e coluna de sílica

PCB	Equação da reta	R ²	F
28	$y = 0,65734x + 1,32176$	$R^2 = 0,9998$	12669
52	$y = 0,49681x + 0,86958$	$R^2 = 0,9995$	3996
138	$y = 0,91801x + 2,41811$	$R^2 = 0,9990$	2036
153	$y = 0,80175x + 3,65018$	$R^2 = 0,9938$	318,8
180	$y = 1,38125x + 3,05681$	$R^2 = 0,9997$	7391

Figura 70 - Curvas de calibração e resíduos dos PCBs 28, 52 e 138 após tratamento ácido e coluna de vidro com sílica gel eluída com *n*-hexano, considerando FR (concentração em mg L^{-1})

Figura 71 - Curvas de calibração e resíduos dos PCBs 153 e 180 após tratamento ácido e coluna de vidro com sílica gel eluída com *n*-hexano, considerando FR (concentração em mg L^{-1})

Também foram avaliadas as curvas considerando apenas os dados puros, ou seja, as áreas cromatográficas (Figuras 72 e 73). As equações das retas e os valores dos coeficientes correlação e de F estão na Tabela 27.

Para os cálculos das concentrações usando o método da adição de padrão considerando a média entre áreas cromatográficas, fez-se uma correção dos valores das áreas a fim de que todos fossem equiparados, de acordo com a porcentagem de cada um relativa ao óleo puro, P0.

Tabela 277 - Equações das retas obtidas e F, considerando-se a média entre as áreas cromatográficas dos PCBs presentes no *MIX*

	Equação da reta	R ²	F
28	$y = 6666,28408x + 24241,37134$	R ² = 0,9401	32
52	$y = 5174,04267x + 16118,54047$	R ² = 0,9655	57
138	$y = 8542,02435x + 44016,56787$	R ² = 0,9580	47
153	$y = 5703,53477x + 65210,85319$	R ² = 0,7590	7,3
180	$y = 13651,92097x + 55834,66128$	R ² = 0,9563	45

Figura 72 - Curvas de calibração e resíduos dos PCBs 28, 52 e 138 após tratamento ácido e coluna de vidro com sílica gel eluída com *n*-hexano, considerando média entre as áreas cromatográficas (concentração em mg L⁻¹)

Figura 73 - Curvas de calibração e resíduos dos PCBs 153 e 180 após tratamento ácido e coluna de vidro com sílica gel eluída com *n*-hexano, considerando média entre as áreas cromatográficas (concentração em mg L⁻¹)

Fez-se também o cálculo das curvas de calibração com as áreas cromatográficas que forneceram melhor ajuste (Tabela 28).

Tabela 28 - Equações das retas e valores de F para os PCBs presentes no *MIX* considerando-se as áreas cromatográficas que forneceram melhor ajuste após coluna de sílica

	Equação da reta	R ²	F
28	$y = 7877,68408x + 23180,87134$	R ² = 0,9979	971
52	$y = 5950,35934x + 15651,19603$	R ² = 0,9956	450
138	$y = 8512,07711x + 46764,97834$	R ² = 0,9758	81,7
153	$y = 5983,03572x + 67832,53784$	R ² = 0,9701	65,8
180	$y = 16391,28129x + 52907,05847$	R ² = 0,9935	307

Os valores das concentrações dos analitos no óleo original, a partir das equações das retas de calibração usando FR, média entre as áreas e áreas cromatográficas com melhor ajuste, podem ser vistos na Tabela 29. O PCB 10 não foi detectado, pois possui baixa resposta ao detector de captura de elétrons e, provavelmente, seria necessário que a concentração fosse maior para detecção, uma vez que essa molécula possui apenas dois átomos de cloro, por exemplo, aplicando 2 mL da amostra após tratamento ácido, em uma coluna com maior quantidade de sílica (> 10 g).

As concentrações calculadas a partir das áreas (média ou áreas com melhores ajustes) são maiores (entre 2,63 e 11,34 mg L⁻¹) do que os valores obtidos a partir de FR (1,75 e 4,55 mg L⁻¹) e também após extração com SPE *Sulfoxide* (entre 0,50 e 2,36 mg L⁻¹). Além disso, os coeficientes de correlação (R²) para os cálculos com as áreas (média e áreas com melhor ajuste) são menores do que os correspondentes, a partir de FR.

Tabela 29 – Valores das concentrações dos analitos que compõem o *MIX* na amostra de óleo ascarel original, após tratamento ácido e coluna de sílica, considerando FR, médias entre as áreas (Média) e áreas cromatográficas com melhor ajuste (Áreas)

PCB	CONCENTRAÇÃO (mg L ⁻¹)		
	FR	Média	Áreas
28	2,011	3,636	2,943
52	1,750	3,115	2,630
138	2,634	5,153	5,494
153	4,553	11,433	11,337
180	2,213	4,090	3,228

Pela comparação entre os valores dos coeficientes de correlação (R²) e de F (comparados com valores tabelados) entre as três formas de cálculo descritas (FR, média entre as áreas e áreas cromatográficas com melhor ajuste) conclui-se que, neste caso, com apenas 3 pontos,

em triplicata, o método que fornece os resultados mais confiáveis é o que usa FR, que forneceu valores de R^2 todos acima de 0,99 e valores de F muito maiores (entre 318,96 e 12.669,80) do que F_{tabelado} (**39,861**), comprovando a linearidade das equações obtidas.

A comparação entre os resultados das concentrações dos analitos em estudo obtidos pelos dois métodos testados (SPE *Sulfoxide* e coluna de sílica) pode ser vista na Tabela 30.

Tabela 30 – Valores das concentrações dos analitos presentes no *MIX* após tratamento ácido, com SPE *Sulfoxide* (calibração ponderada das melhores áreas) e coluna de sílica (FR)

PCB	CONCENTRAÇÃO (mg L ⁻¹)	
	SPE <i>Sulfoxide</i>	Coluna de sílica
10	0,495	N.D.
28	1,355	2,011
52	1,660	1,750
138	2,362	2,634
153	1,441	4,553
180	1,135	2,213

N.D.: não detectado

Para obter resultados numa faixa de concentração mais ampla seria necessário testar o método da coluna de sílica com mais pontos, ou seja, com outros valores de concentração (menores e maiores, no mínimo 5 níveis) além de 0,0; 2,0 e 4,0 mg L⁻¹ para fortificação dos PCBs e com uma maior quantidade de amostra e de sílica, como já foi sugerido anteriormente. Outra forma de melhorar o limite de detecção para concentrações menores poderia ser o aumento da quantidade de óleo inicialmente usado na lavagem ácida, por exemplo, 5 mL, ao invés de apenas 2 mL de óleo.

Mas os coeficientes de correlação ($R^2 > 0,99$) correspondentes às curvas de calibração (Tabela 26) obtidos com o método da coluna de sílica sugerem que estes resultados estejam

mais próximos da realidade, uma vez que os altos coeficientes de correlação, tanto com cálculos a partir de FR, quanto por cálculos de áreas (médias ou as que forneceram melhor ajuste), demonstram que esse método sofreu menor efeito da matriz do que o método com o cartucho SPE, uma vez que a coluna de sílica parece ter purificado mais eficientemente a amostra e retido os interferentes presentes no óleo, quando se compara com os valores dos coeficientes de correlação e a tendência dos pontos obtidos com o método que utiliza cartucho SPE.

5.2.7 Extração dos PCBs usando a técnica *Solid Phase Microextraction* (SPME – Micro-extração em Fase Sólida)

5.2.7.1 Amostras de óleo sem pré-tratamento

O primeiro teste realizado por SPME foi com padrão *MIX* 0,5 mg L⁻¹ em água, a partir de uma solução 3 mg L⁻¹ em MeOH (Figura 74). Observa-se que a fibra de SPME concentrou os analitos, pois os valores das áreas estão bem maiores do que os da injeção de solução 0,5 mg L⁻¹ diretamente, sem extração (verificou-se inclusive o aumento do valor da intensidade dos picos no eixo y do cromatograma).

Figura 74 - Cromatograma do padrão *MIX* 0,5 mg L⁻¹ em água, obtido pela extração por HS-SPME (fibra PDMS 100 µm), em CG/DCE (condições descritas em 5.2.1)

A seguir realizaram-se os testes com amostras de óleo puro, diluído em *n*-hexano e acetona, e também com as amostras de óleo após o tratamento ácido (descrito em 4.2.5.2; Figuras 75 a 84).

Logo após a primeira injeção do óleo puro (a, Tabela 31) colocou-se a fibra novamente no injetor e fez-se uma nova corrida cromatográfica para verificar se havia ficado algum material adsorvido na fibra após a exposição ao óleo puro. A permanência da fibra no injetor para dessorção dos analitos, que era de 5 min, passou a ser de 10 min devido à permanência dos compostos na fibra.

Tabela 31 - Condições em que foram realizados os testes com as amostras de óleo puro e após tratamento ácido para extração por SPME e os cromatogramas correspondentes (CG/DCE)

Amostra	Volume de amostra (mL)	Quantidade de NaCl (g)	Temperatura do banho (°C)	Tempo de aquecimento (min)	Figura do cromatograma correspondente
(a) Óleo puro	1 ml óleo + 1mL hexano	0,5	60	30	Figura 75
(b) Óleo puro	3 mL óleo + 0,5 mL acetona	0,5	70	40	Figura 77
(c) Óleo puro	5 mL óleo + 0,5 mL acetona	1,0	70	60	Figura 78
(d) P0a (4.2.5 .2)	2	0,5	60	30	Figura 79
(e) P0a	5	1,0	70	60	Figura 80
(f) P4a	5	1,0	70	120	Figura 81
(g) Óleo puro	5	0,0	75	60	Figura 82
(h) Óleo puro	2 mL óleo + 2 mL MeOH	0,0	75	60	Figura 83
(i) Óleo puro	2 mL óleo + 2 mL ACN	0,0	75	60	Figura 84

Figura 75 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de (a)

Figura 76 – Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE apenas da fibra, sem exposição a nenhuma amostra, após injeção de (a)

Figura 77 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de (b)

Figura 78 - Cromatograma obtido por HS-SMPME e CG/DCE de (c)

Figura 79 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de (d)

Figura 80 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de (e)

Figura 81 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de (f)

Figura 82 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de (g)

Figura 83- Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de (h)

Figura 84 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de (i)

Como pode ser observado nas figuras acima, não houve extração dos PCBs por SPME nas condições descritas, provavelmente devido à forte interação entre os PCBs e esta matriz (o óleo), razão pela qual se tornou útil como isolante térmico em transformadores elétricos pela sua alta estabilidade química. Por esse motivo, fez-se uma purificação prévia do óleo por cromatografia em coluna com sílica gel, florissil e alumina.

5.2.7.2 Amostras após passar por cromatografia em coluna de vidro

As figuras 85 a 90 referem-se aos cromatogramas obtidos com as frações F1 e F2 a partir de 2 mL de óleo passados por (a) florisil, (b) sílica gel e (c) alumina. Observou-se que as frações eluídas em alumina permaneceram amarelas.

Figura 85 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de óleo após passar por coluna de vidro com florisil (a) – F1

Figura 86 – Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de óleo após passar por coluna de vidro com florisil (a) – F2

Figura 87 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de óleo após passar por coluna de vidro com sílica gel (b) – F1

Figura 88 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de óleo após passar por coluna de vidro com sílica gel (b) – F2

Figura 89 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de óleo após passar por coluna de vidro com alumina (c) – F1

Figura 90 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de óleo após passar por coluna de vidro com alumina (c) – F2

Os resultados observados nos cromatogramas acima indicam melhor extração dos PCBs do óleo com o uso da coluna de vidro com sílica gel antes da técnica SPME.

Repetiram-se as colunas de sílica com óleo puro em triplicata para verificar a repetibilidade dos resultados.

As Figuras 91 a 96 referem-se aos cromatogramas da replicatas (1), (2) e (3), cada uma com um cromatograma subsequente referente a uma corrida com a fibra no injetor, sem exposição a nenhuma amostra (apenas disparando o método cromatográfico) para verificar se a dessorção dos PCBs foi eficiente.

Figura 91 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de óleo após passar por coluna de vidro com sílica – replicata (1)

Figura 92 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE somente da fibra, após a injeção da replicata (1)

Figura 93 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de óleo após passar por coluna de vidro com sílica – replicata (2)

Figura 94 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE somente da fibra, após a injeção da replicata (2)

Figura 95 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de óleo após passar por coluna de vidro com sílica – replicata (3)

Figura 96 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE somente da fibra, após a injeção da replicata (3)

Os cromatogramas informam que o tempo de dessorção dos PCBs da fibra foi pequeno, uma vez que os resultados referentes apenas à fibra, sem exposição à amostra (Figuras 92, 94 e 96), apresentam picos semelhantes aos dos cromatogramas da fibra após exposição à amostra (“dessorção incompleta” dos PCBs da fibra) – e, portanto, seria necessário deixá-la por um tempo maior para que a dessorção ocorresse em uma única vez, sem perdas. Mas, como o

tempo da corrida cromatográfica é de 12 min, seria preciso desenvolver novo método, com condições cromatográficas que permitissem a dessorção completa dos PCBs – ou ainda, deixar a fibra em um forno entre uma injeção e outra. Isto mostra que as condições usadas para esse método não foram adequadas para a extração dos PCBs em estudo por SPME, nessas condições.

O mesmo efeito foi observado por Yang, Miller e Hawthorne (1998) em águas de manguezais, oceano e lixiviado de solo.

5.3 Extração dos PCBs do padrão *MIX 1* de amostras provenientes de reatores anaeróbios em batelada

5.3.1 Extração líquido-líquido (L-L) com *n*-hexano e curvas de calibração

5.3.1.1 Extração com *n*-hexano (sem espuma)

Conforme teste descrito em **4.2.2**, usou-se *n*-hexano para extrair os PCBs das amostras, pois apresentou melhor eficiência de extração dos PCBs. As melhores condições de extração foram as descritas em **4.3.1**, após algumas tentativas, pois a adição de apenas 1 g de NaCl (uma única vez), não deixar as amostras no banho de ultrassom por 1 min e deixá-las apenas 2 h no freezer antes da remoção da fase hexânica não foi eficiente para a separação entre as fases aquosa e hexânica. Assim, a extração foi feita da seguinte maneira:

- adição de 25 mL de *n*-hexano ao total da amostra
- adição de 25 μL de solução 0,1 g L⁻¹ de octacloronaftaleno
- 3 g NaCl
- agitação em vórtex/1min
- 3 g NaCl
- agitação em vórtex/1min
- 1 min em banho de ultrassom
- freezer por uma noite
- transferência da fase hexânica para frasco Wheaton de 20 mL
- evaporação do *n*-hexano à securasob exaustão de capela
- adição de 0,3 mL de *n*-hexano
- 0,15 g Na₂SO₄
- injeção de 1,0 μL no CG/DCE, após pelo menos 30 min em geladeira

OBS.: a seringa também deve ser mantida em geladeira, bem como a amostra.

A Figura 97 representa as amostras com lodo, onde é possível verificar a dificuldade da separação entre as fases aquosa e hexânica. No frasco (a) adicionou-se triton, mas a separação ficou mais difícil ainda. Por esta razão optou-se por não colocar triton para a extração L-L.

Figura 97 - Amostras extraídas com *n*-hexano: (a) com triton e (b) sem triton

5.3.1.2 Extração com *n*-hexano de amostras contendo espuma

Transferência da fase aquosa para outro frasco e a extração como foi descrito em **5.3.1.a**.

A extração dos PCBs adsorvidos na espuma foi feita como está descrito em **4.3.1**, procedimento que apresentou melhor eficiência para a extração.

5.3.1.3 Curvas de calibração e validação do método

A seguir encontram-se os resultados das médias entre os fatores de resposta (FR) obtidos para os PCBs após a extração, por CG/DCE (Tabela 32), as equações das retas de calibração obtidas a partir de FR, com os devidos LD e LQ (Tabela 33) e as médias entre FR, os desvios-padrão e os coeficientes de variação para a avaliação da precisão instrumental (Tabela 34), a partir de 10 injeções sucessivas do padrão 0,5 mg L⁻¹ de uma solução de *MIX 1*, de acordo com Ribani et al. (2004).

Por tratar-se de uma matriz extremamente complexa, com lodo (que possui grande quantidade de matéria orgânica), meio de cultivo e espuma de poliuretano (pela qual os PCBs possuem grande afinidade), os C.V. de FR variaram entre 3,71% e 94% (Tabelas 35 a 40), sendo as maiores variações ocorridas para os PCBs com menor número de átomos de cloro na molécula, o que representa menor sensibilidade do detector a estas substâncias. O mesmo não aconteceu com TR, com baixos C.V. (entre 0,01% e 0,30%). O efeito da matriz também pode ser verificado nos coeficientes de correlação (R^2), que variaram entre 0,9340 e 0,9607 (Tabela 33).

Tabela 32 - Média entre os fatores de resposta obtidos para as retas de calibração dos PCBs

Concentração (mg L ⁻¹)	Média entre FR					
	PCB 10	PCB 28	PCB 52	PCB 138	PCB 153	PCB 180
0,05	0,02131	0,01812	0,02155	0,03718	0,04773	0,05795
0,10	0,06001	0,11373	0,10588	0,14755	0,18189	0,21961
0,20	0,45551	0,64477	0,45656	0,60534	0,74228	0,83813
0,30	0,90365	1,30725	0,86957	1,10658	1,26954	1,57346
0,40	1,20359	2,44969	1,66681	2,32102	2,93172	3,33163
0,50	1,27771	2,48653	1,83683	2,54308	3,25821	3,96751

Tabela 33 - Equações das retas de calibração obtidas para os *MIX* PCBs a partir das curvas com lodo e meio Angelidaki, com os fatores de resposta (FR) das substâncias, obtidos por CG/DCE, limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ)

PCB	Equação da reta	R ²	F	LD (mg L ⁻¹)	LQ (mg L ⁻¹)
10	y = 3,1327x - 0,1556	R ² = 0,9568	112	0,298	0,902
28	y = 6,2007x - 0,4318	R ² = 0,9467	89,7	0,115	0,348
52	y = 4,3948x - 0,3091	R ² = 0,9607	123	0,124	0,375
138	y = 6,0696x - 0,4412	R ² = 0,9470	90,4	0,063	0,192
153	y = 7,7167x - 0,5883	R ² = 0,9340	71,8	0,060	0,181
180	y = 9,2096x - 0,7144	R ² = 0,9494	94,9	0,048	0,145

A precisão instrumental, com C.V. para FR entre 8,1% e 22,3%, juntamente com C.V. para TR de 0,06% a 0,09% (Tabela 34) foi satisfatória, considerando-se a complexidade da matriz envolvida.

Tabela 34 – Precisão instrumental (10 injeções sucessivas do padrão 0,5 mg L⁻¹), com relação a FR e TR

PCB	FR			TR (min)		
	Média	D.P.	C.V.	Média	D.P.	C.V.
10	1,45285	0,32334	22,26	3,9405	0,003	0,06
28	2,60973	0,50018	19,17	5,0385	0,004	0,07
52	1,75544	0,31014	17,67	5,3361	0,004	0,08
138	2,89432	0,28962	10,01	6,9516	0,006	0,08
153	3,71838	0,33361	8,97	7,2846	0,006	0,09
180	4,44431	0,35969	8,09	8,1006	0,007	0,09

A avaliação do método foi feita a partir dos parâmetros: média, D.P. e C.V. de FR e TR para os seis analitos presentes no padrão *MIX 1* e também para o octacloronaftaleno, usado como padrão interno, na concentração de 0,1 mg L⁻¹ (Tabelas 35 a 41).

Tabela 35 - Média, desvio-padrão e coeficiente de variação (C.V.) entre FR e TR para o PCB 10 (TR = 4,0 min)

Conc. (mg L ⁻¹)	FR			TR (min)		
	Média	D.P.	C.V.	Média	D.P.	C.V.
0,05	0,0213	0,0066	30,88	3,9815	0,0120	0,30
0,10	0,0600	0,0243	40,41	3,9597	0,0021	0,05
0,20	0,4555	0,2723	59,79	3,9517	0,0015	0,04
0,30	0,9037	0,67884	75,12	3,9490	0,0020	0,05
0,40	1,2036	0,0606	5,031	3,9450	0,0010	0,03
0,50	1,2777	0,07506	5,87	3,9423	0,0006	0,01

Tabela 36 - Média, desvio-padrão e coeficiente de variação (C.V.) entre FR e TR para o PCB 28 (TR = 5,0 min)

Conc. (mg L ⁻¹)	FR			TR (min)		
	Média	D.P.	C.V. (%)	Média	D.P.	C.V. (%)
0,05	0,0181	0,0170	93,99	5,0820	0,0132	0,26
0,10	0,1137	0,0347	30,47	5,0600	0,0010	0,02
0,20	0,6448	0,3193	49,52	5,0513	0,0021	0,04
0,30	1,3073	0,8892	68,02	5,0480	0,0026	0,05
0,40	2,4497	0,4079	16,65	5,0443	0,0006	0,01
0,50	2,4865	0,0922	3,71	5,0410	0,0010	0,02

Tabela 37 - Média, desvio-padrão e coeficiente de variação (C.V.) entre FR e TR para o PCB 52 (TR = 5,4 min)

Conc. (mg L ⁻¹)	FR			TR (min)		
	Média	D.P.	C.V.	Média	D.P.	C.V.
0,05	0,0215	0,0145	67,07	5,3970	-	0,00
0,10	0,1059	0,0318	30,00	5,3607	0,0015	0,03
0,20	0,4566	0,2134	46,74	5,3493	0,0021	0,04
0,30	0,8696	0,5481	63,03	5,3460	0,0026	0,05
0,40	1,6668	0,1880	11,28	5,3423	0,0006	0,01
0,50	1,8368	0,4044	22,02	5,3387	0,0012	0,02

*OBS.: este PCB não foi detectado nas replicatas b e c.

Tabela 38 - Média, desvio-padrão e coeficiente de variação (C.V.) entre FR e TR para o PCB 138 (TR = 7,0 min)

Conc. (mg L ⁻¹)	FR			TR (min)		
	Média	D.P.	C.V.	Média	D.P.	C.V.
0,05	0,0372	0,0185	49,78	7,0010	0,0159	0,23
0,10	0,1475	0,0566	38,33	6,9773	0,0006	0,01
0,20	0,6053	0,2395	39,56	6,9667	0,0025	0,04
0,30	1,10658	0,4252	38,42	6,9623	0,0038	0,05
0,40	2,3210	0,1629	7,02	6,9573	0,0021	0,03
0,50	2,5431	0,2302	9,05	6,9530	0,0017	0,02

Tabela 39 - Média, desvio-padrão e coeficiente de variação (C.V.) entre FR e TR para o PCB 153 (TR = 7,3 min)

Conc. (mg L ⁻¹)	FR			TR (min)		
	Média	D.P.	C.V.	Média	D.P.	C.V.
0,05	0,0477	0,0260	54,37	7,3363	0,0167	0,23
0,10	0,1819	0,0718	39,48	7,3113	0,0006	0,01
0,20	0,7423	0,2948	39,72	7,2997	0,0025	0,03
0,30	1,2695	0,3555	28,00	7,2953	0,0038	0,05
0,40	2,9317	0,2045	6,974	7,2907	0,0025	0,03
0,50	3,2582	0,3261	10,01	7,2860	0,0017	0,02

Tabela 40 - Média, desvio-padrão e coeficiente de variação (C.V.) entre FR e TR para o PCB 180 (TR = 8,1 min)

Conc. (mg L ⁻¹)	FR			TR (min)		
	Média	D.P.	C.V.	Média	D.P.	C.V.
0,05	0,0579	0,0501	86,48	8,1583	0,0183	0,22
0,10	0,2196	0,1004	45,70	8,1300	0,0010	0,01
0,20	0,8381	0,3198	38,16	8,1167	0,0035	0,04
0,30	1,5735	0,5134	32,63	8,1117	0,0049	0,06
0,40	3,3316	0,0745	2,24	8,1060	0,0026	0,03
0,50	3,9675	0,3818	9,62	8,1010	0,0017	0,02

Tabela 41 - Média, desvio-padrão e coeficiente de variação (C.V.) entre TR para OCTN, usado como padrão interno (TR = 10,7 min), com concentração constante: 0,1 mg L⁻¹

Conc. (mg L ⁻¹) da solução padrão considerada	TR (min)		
	Média	D.P.	C.V.
0,05	10,7700	0,0279	0,26
0,10	10,7280	0,0020	0,02
0,20	10,7077	0,0045	0,04
0,30	10,7000	0,0070	0,07
0,40	10,6910	0,0046	0,04
0,50	10,6847	0,0032	0,03

Nas curvas de calibração a partir das médias entre FR (Figuras 98 e 99) observou-se que, apesar de os coeficientes de correlação (R^2) das retas obtidas variarem entre 0,9340 e 0,9607, ou seja, valores que pode ser considerados relativamente baixos, todos os pontos encontram-se dentro da faixa de distribuição normal dos pontos no intervalo de confiança de 95%.

Além disso, na aplicação de ANOVA (Análise de Variância), os modelos mais adequados (Tabela 43) apresentaram valores de F superiores a F_{tab} (**7,7087**; F Test Tables, [2013?]), comprovando a linearidade das equações na faixa de concentração estudada. Os resíduos apresentam-se de forma aleatória, o que corrobora a linearidade das equações.

Figura 98 - Curvas de calibração com as médias entre FR (OCTN como padrão interno) e resíduos obtidos após determinação por CG/DCE dos PCBs 10, 28 e 52 diluídos em meio de cultivo e lodo inativado e extração com *n*-hexano (concentrações: 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 e 0,5 mg L⁻¹)

Figura 99 - Curvas de calibração com as médias entre FR (OCTN como padrão interno) e resíduos obtidos após determinação por CG/DCE dos PCBs 138, 153 e 180 diluídos em meio de cultivo e lodo inativado e extração com *n*-hexano (concentrações: 0,05; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 e 0,5 mg L⁻¹)

Os valores das concentrações reais obtidas com FR (Tabela 42) estão bastante próximos das concentrações nominais.

Tabela 42 – Concentrações obtidas (reais) e valores do teste F para os PCBs, considerando FR

Conc. Nominal (mg L ⁻¹)	Concentração real a partir das retas de calibração – FR (mg L ⁻¹)					
	PCB 10	PCB 28	PCB 52	PCB 138	PCB 153	PCB 180
0,05	0,06	0,07	0,08	0,08	0,08	0,08
0,10	0,07	0,09	0,09	0,10	0,10	0,10
0,20	0,20	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17
0,30	0,34	0,28	0,27	0,26	0,24	0,25
0,40	0,43	0,46	0,45	0,46	0,46	0,44
0,50	0,46	0,47	0,49	0,49	0,50	0,51

Testou-se o ajuste pela calibração ponderada, na qual se avalia a soma dos Erros Relativos (%ER), considerando a variação entre a concentração nominal e a concentração observada com o uso do referido modelo (Tabela 43).

Tabela 43 - Modelo escolhido para calibração ponderada e valores do teste F para os PCBs, considerando FR

PCB	Modelo escolhido	Valor de F	R ²
10	y	1,3	0,9845
28	y ^{0,5}	73,2	0,9909
52	y ^{0,5}	95,4	0,9847
138	y ^{0,5}	68,6	0,9896
153	y ^{0,5}	52,0	0,9864
180	y ^{0,5}	35,4	0,9882

Além da soma dos %ER considerados para cada um dos modelos avaliados, também se observaram os valores das concentrações reais obtidas com a calibração do referido modelo e, em cada caso, firmou-se um compromisso para a escolha do melhor modelo considerando os dois critérios – e nem sempre prevaleceu o critério da soma de %ER. As concentrações nominais foram: 0,05; 0,10; 0,20; 0,3; 0,40 e 0,5 mg L⁻¹.

Apesar de o modelo y^2 ter apresentado menor valor da soma de %ER (1.374,488) para o PCB 10, os valores das concentrações observadas pelo modelo y foram mais próximos (0,058; 0,071; 0,203; 0,353; 0,454 e 0,479 mg L⁻¹) das concentrações nominais; então, este último foi o escolhido.

O melhor modelo de calibração ponderada para o PCB 28 foi o $y^{0,5}$, também a partir do compromisso assumido com as concentrações reais mais próximas das concentrações nominais (0,061; 0,077; 0,169; 0,282 0,478 e 0,485 mg L⁻¹).

Para o PCB 52 o modelo escolhido para a calibração ponderada foi o y , apesar de também não ter sido o menor valor da soma de %ER = 2.959,930, com concentrações reais: 0,055; 0,077; 0,170; 0,279; 0,489; e 0,534 mg L⁻¹.

O modelo escolhido para o PCB 138 foi x , com soma de erros 2.879,967 e concentrações reais 0,064; 0,084; 0,165; 0,255; 0,471 e 0,511 mg L⁻¹.

O valor da soma de %ER para o PCB 153 foi 3.194,509, as concentrações, 0,073; 0,09; 0,167; 0,238; 0,464 e 0,508 mg L⁻¹, e o modelo escolhido, x^2 .

Os melhores valores das concentrações reais (0,066; 0,085; 0,159; 0,247; 0,458 e 0,534 mg L⁻¹) para o PCB 180 estão de acordo com o modelo x , com soma de %ER 2.848,524.

Para efeito de comparação entre os resultados das curvas de calibração também foram considerados os dados puros, ou seja, apenas as médias entre as áreas cromatográficas (padronização externa), sem o cálculo de FR. Os valores das áreas encontram-se na Tabela 44, e as curvas obtidas, nas Figuras 100 e 101. Apesar de os coeficientes de correlação (R^2)

para FR considerando a calibração ponderada (0,9845 a 0,9909; Tabela 43) estarem mais próximos de 1,0 do que sem a ponderação, os valores das concentrações reais ficaram mais distantes das concentrações nominais.

Portanto, os valores dos coeficientes de correlação (R^2) para FR (0,9340 a 0,9607) são mais próximos de 1,0 do que para os que foram obtidos a partir dos dados puros (0,8543 a 0,9305), comprovando maior linearidade para FR (Tabela 45).

Tabela 44 - Áreas cromatográficas (médias) usadas para calcular as curvas de calibração dos PCBs presentes no *MIX*

mg L ⁻¹	PCB					
	10	28	52	138	153	180
0,05	6561,50	8144,37	3165,70	10875,7	14434,5	18764,2
0,10	22257,1	41926,2	43031,2	54245,5	66911,3	80170,8
0,20	161252	225066	159218	214739	263727	298270
0,30	277663	421866	287957	419887	513907	618462
0,40	451338	886787	611410	861016	1087780	1251732
0,50	776951	1511883	1120151	1541790	1974541	2404262

Figura 100 - Curvas de calibração traçadas com as médias entre as áreas e os resíduos obtidos após determinação por CG/DCE dos PCBs 10, 28 e 52 (concentração em mg L^{-1})

Figura 101 - Curvas de calibração traçadas com as médias entre as áreas e os resíduos obtidos após determinação por CG/DCE dos PCBs 138, 153 e 180 (concentração em mg L^{-1})

Tabela 45 - Equações das retas obtidas considerando-se apenas as médias entre as áreas cromatográficas dos PCBs presentes no *MIX*

PCB	Equação da reta	R ²	F
10	$y = 1.637.090x - 140.245,45$	R ² = 0,9305	67,9
28	$y = 3.202.940x - 311.480,45$	R ² = 0,8936	42,9
52	$y = 2.318.180x - 228042,24$	R ² = 0,8682	33,9
138	$y = 3.213.310x - 313.012,60$	R ² = 0,8783	37,1
153	$y = 4.101.110x - 405.902,71$	R ² = 0,8689	34,1
180	$y = 4.932.330x - 495.576,24$	R ² = 0,8543	30,3

Apesar de os valores de F serem maiores do que F_{tab} (7,7087), os coeficientes de correlação foram menores do que os obtidos para as retas usando FR.

Testou-se o ajuste pela calibração ponderada, na qual se avalia a soma dos Erros Relativos (%ER), considerando a variação entre a concentração nominal e a concentração observada com o uso do referido modelo (Tabela 46).

Tabela 46 - Modelo escolhido para calibração ponderada, R² e valores do teste F para os PCBs considerando médias entre áreas cromatográficas

PCB	Modelo escolhido	R ²	F
10	x^2	0,9785	2,9
28	$x^{0,5}$	0,9772	2,1
52	$x^{0,5}$	0,9725	2,1
138	$x^{0,5}$	0,9742	2,1
153	$x^{0,5}$	0,9720	2,2
180	x	0,9671	2,9

Nenhum dos modelos de calibração ponderada testados com as médias entre as áreas cromatográficas forneceu resultados das concentrações observadas próximos do valor

nominal, além de os valores de F serem todos menores (entre 2,174 e 2,961) do que F_{tab} (7,7087) para todos os PCBs considerados.

Em face desses resultados, considerou-se que o melhor método para o cálculo dos PCBs presentes em amostras provenientes de reatores anaeróbios em batelada é com o uso de FR, que forneceu linearidade comprovada pela distribuição dos pontos das curvas dentro do intervalo de confiança de 95%, com coeficientes de correlação (R^2) entre 0,93 e 0,96, gráfico de resíduos com distribuição aleatória e valores de teste F (71,76 a 11,18) bem superiores a F_{tab} (7,7087). Além disso, a maioria dos valores das concentrações reais (Tabela 42) com FR estão próximos das concentrações nominais.

Apesar de a extração L-L ser um método trabalhoso, que gasta um grande volume de solvente orgânico (neste caso, *n*-hexano), capaz de causar impactos no ambiente, para a extração dos PCBs presentes no *MIX* em amostras provenientes de reatores anaeróbios em batelada essa técnica foi eficiente e possibilitou o monitoramento dos analitos em estudos de degradação anaeróbia de PCBs, com curvas de calibração comprovadamente lineares na faixa de concentração estudada (de 0,05 a 0,5 mg L⁻¹) e que forneceram resultados confiáveis para as extrações de PCBs das amostras propostas.

5.3.2 Recuperação absoluta

Os gráficos das curvas de calibração (concentração em mg L⁻¹) com as médias entre FR e dos resíduos obtidos após determinação por CG/DCE dos PCBs 10, 28, 52, 138, 153 e 180 diluídos em *n*-hexano, sem extração, podem ser vistos nas Figuras 102 e 103. Os valores dos coeficientes de correlação (R^2) das equações, com valores bastante próximos de 1,0 (de

0,9943 a 0,9971) e os valores de $F \gg \text{valor } F_{\text{tab}} (7,7087)$ confirmam a linearidade (Tabela 46), que também pode ser comprovada pela distribuição dos pontos dentro dos limites de confiança de 95%, assim como a distribuição aleatória dos resíduos, uma vez que nesse caso não há efeito de matriz, pois os PCBs estão dissolvidos em *n*-hexano, o que acarretou valores de C.V. bastante baixos para FR (entre 1,64% e 15,12%, Tabelas 47 a 50).

Figura 102 - Curvas de calibração com as médias entre FR e os resíduos obtidos após determinação por CG/DCE dos PCBs 10, 28 e 52 diluídos em *n*-hexano (concentração em mg L^{-1})

Figura 103 - Curvas de calibração com as médias entre FR e os resíduos obtidos após determinação por CG/DCE dos PCBs 138, 153 e 180 diluídos em *n*-hexano (concentração em mg L⁻¹)

Tabela 47 - Equações das retas de calibração obtidas para os *MIX* PCBs diluídos em *n*-hexano, usando FR, para cálculos da recuperação absoluta

PCB	Equação da reta	R ²	F
10	$y = 2,70048x + 0,04476$	R ² = 0,9959	1199
28	$y = 4,36361x - 0,00715$	R ² = 0,9959	1192
52	$y = 3,77262x + 0,06377$	R ² = 0,9943	869,1
138	$y = 5,86249x + 0,06617$	R ² = 0,9948	949,8
153	$y = 6,65476x + 0,02142$	R ² = 0,9960	1257
180	$y = 8,35429x + 0,03798$	R ² = 0,9971	1700

Tabela 48 - Média, desvio-padrão e coeficiente de variação (C.V.) entre FR dos PCBs 10 e 28

Conc. (mg L ⁻¹)	FR PCB 10			FR PCB 28		
	Média	D.P.	C.V.	Média	D.P.	C.V.
0,05	0,1512	0,0072	4,78	0,2120	0,0119	5,62
0,10	0,3314	0,0303	9,16	0,4642	0,0533	11,49
0,20	0,6159	0,0932	15,12	0,8636	0,1272	14,72
0,30	0,8582	0,0207	2,41	1,2593	0,0529	4,20
0,40	1,0876	0,0359	3,30	1,6850	0,0363	2,15
0,50	1,4100	0,1021	7,24	2,2365	0,1426	6,38

Tabela 49 - Média, desvio-padrão e coeficiente de variação (C.V.) entre FR dos PCBs 52 e 138

Conc. (mg L ⁻¹)	FR PCB 52			FR PCB 138		
	Média	D.P.	C.V.	Média	D.P.	C.V.
0,05	0,2092	0,0174	8,30	0,3292	0,0162	4,91
0,10	0,4729	0,0425	8,99	0,7005	0,0728	10,39
0,20	0,8649	0,1217	14,07	1,2807	0,1655	12,92
0,30	1,1903	0,0342	2,87	1,7805	0,0542	3,05
0,40	1,5108	0,0436	2,89	2,3169	0,0488	2,10
0,50	1,9822	0,1448	7,31	3,0760	0,2405	7,82

Tabela 50 - Média, desvio-padrão e coeficiente de variação (C.V.) entre FR dos PCBs 153 e 180

Conc. (mg L ⁻¹)	FR PCB 153			FR PCB 180		
	Média	D.P.	C.V.	Média	D.P.	C.V.
0,05	0,3389	0,0185	5,46	0,4315	0,0217	5,02
0,10	0,7368	0,0763	10,36	0,9334	0,0919	9,84
0,20	1,3722	0,1616	11,78	1,7268	0,1861	10,77
0,30	1,9684	0,0557	2,83	2,5034	0,0700	2,79
0,40	2,5918	0,0520	2,01	3,2766	0,0536	1,64
0,50	3,4353	0,2580	7,51	4,3054	0,3103	7,21

Os valores das taxas de recuperação absoluta dos PCBs (de 14% a 113%, Tabela 51) para o método desenvolvido podem ser considerados aceitáveis, por tratar-se de uma matriz extremamente complexa e com vários interferentes difíceis de serem eliminados. Deve-se ressaltar que os menores valores de recuperação (entre 14% e 18%) referem-se aos PCBs nas concentrações mais baixas, 0,05 mg L⁻¹ e 0,1 mg L⁻¹, sugerindo que para aumentar essa taxa de recuperação nessas concentrações poder-se-ia, por exemplo, usar volumes menores do que 0,3 mL para ressuspender os PCBs após a evaporação de todo *n*-hexano usado na extração líquido-líquido, a fim de concentrar mais os analitos de interesse.

Tabela 51 - Taxa de recuperação absoluta dos PCBs presentes no *MIX*

Conc. (mg L ⁻¹)	Taxa de recuperação absoluta (%)					
	PCB 10	PCB 28	PCB 52	PCB 138	PCB 153	PCB 180
0,05	14,10	14,10	14,10	14,10	14,10	14,10
0,10	18,11	18,11	18,11	18,11	18,11	18,11
0,20	73,95	73,95	73,95	73,95	73,95	73,95
0,30	105,30	105,30	105,30	105,30	105,30	105,30
0,40	110,67	110,67	110,67	110,67	110,67	110,67
0,50	90,61	90,61	90,61	90,61	90,61	90,61

5.3.3 Teste para avaliar a adsorção dos PCBs em espuma de poliuretano

Devido à possibilidade da adsorção nos PCBs na espuma de poliuretano, que é amplamente usada como suporte para imobilização de biomassa em estudos de degradação biológica de matéria orgânica (PEREIRA; ZAIAT, 2009), a diminuição da concentração de PCBs ao final do ensaio pode ser erradamente atribuída à degradação, quando, de fato,

pode ter ocorrido adsorção. Por esse motivo, fez-se o teste de adsorção na espuma de poliuretano usada no presente ensaio.

Pode-se observar nos cromatogramas da Figura 104, relativos às amostras de espuma e de líquido do mesmo frasco no início do teste ($T = 0$) e no final do ensaio ($T = 48$ h) que os PCBs já são adsorvidos na espuma desde que são adicionados ao meio de cultivo, pois as áreas dos picos dos PCBs estão maiores nos cromatogramas referentes à espuma do que no líquido, a partir de $T = 0$. Os picos com TR 3,9; 5,0; 5,3; 6,9; 7,3 e 8,1 min referem-se aos PCBs do *MIX* (PCBs 10; 28; 52; 138; 153 e 180, respectivamente).

Tabela 52 - Resultados de amostras do teste de adsorção dos PCBs em espuma de poliuretano em T=0, T=48 h

PCB	Conc. (mg L ⁻¹)							
	B Esp T0	B Liq T0	C Esp T0	C Liq T0	B Esp T48	B Liq T48	C Esp T48	C Liq T48
10	N. D.	N. D.	0,31	N. D.	0,12	N. D.	0,14	N. D.
28	0,18	0,18	0,43	N. D.	0,29	N. D.	0,35	0,07
52	0,19	0,23	0,41	N. D.	0,31	N. D.	0,35	0,08
138	0,49	0,51	0,51	N. D.	0,34	0,08	0,47	0,09
153	0,51	0,52	0,51	N. D.	0,58	0,08	0,49	0,09
180	0,58	0,62	0,55	0,08	0,62	0,09	0,52	0,10

N. D.: não detectado; Esp: espuma de poliuretano; Liq: líquido

Na Figura 105 estão os cromatogramas de amostras do teste de degradação dos PCBs presentes no *MIX* em T=0 (inicial), T=30 (após 30 dias de incubação) e T=60 (após 60 dias de incubação) para ilustrar a aplicação do método desenvolvido.

A Tabela 53 traz os resultados das concentrações dos PCBs avaliados no estudo da degradação anaeróbia nos reatores em batelada (por Bruna C. Gomes) de 3 amostras nos tempos T = 0 (inicial), T = 30 dias e T = 60 dias (final). Observa-se que a concentração medida em T = 0, que deve ser considerada como a concentração inicial do ensaio, foi em torno de 0,7 mg L⁻¹. Os valores das concentrações dos congêneres de PCBs diminuíram consideravelmente após 60 dias de ensaio, o que sugere que pode ter havido degradação dos analitos pelos microrganismos, mas a constatação da presença de prováveis metabólitos só poderá ser feita por CG/EM.

O método desenvolvido mostrou ser eficiente e adequado à determinação dos PCBs presentes no *MIX* em amostras provenientes de reatores anaeróbios, mesmo se tratando de uma matriz extremamente complexa e heterogênea (pela presença de biomassa e de espuma de poliuretano), além da grande quantidade de matéria orgânica, que pode

interferir na determinação. Os parâmetros avaliados na validação comprovaram que o método é linear na faixa de concentração estudada e que, portanto, fornece resultados confiáveis.

Tabela 53 - Resultados de amostras do teste de degradação dos PCBs em reatores anaeróbios em batelada em T = 0, T = 30 dias e T = 60 dias

PCB	Conc. (mg L ⁻¹)					
	F Esp T0	F Liq T0	F Esp T30	F Liq T30	F Esp T60	F Liq T60
10	0,637	*N. D.	0,735	N. D.	0,050	N. D.
28	0,577	0,080	0,556	0,071	0,070	N. D.
52	0,632	N. D.	0,580	0,072	0,070	0,077
138	0,701	0,089	0,546	0,078	0,073	0,079
153	0,723	0,096	0,553	0,080	0,076	N. D.
180	0,725	0,186	0,519	0,082	0,078	0,083

*N. D. - não detectado

Figura 105 – Cromatogramas (CG/DCE) de amostras provenientes do teste de degradação dos PCBs em reatores anaeróbios em batelada em T = 0 (início do ensaio), T = 30 dias e T = 60 dias, para o líquido e para a espuma

5.3.4 Determinação da ordem de eluição dos padrões, por CG/EM

Na Tabela 54 estão os nomes dos PCBs (e seus respectivos números de congêneres) presentes na solução *MIX* em estudo, com os seus respectivos tempos de retenção (TR), nas condições estudadas (Figura 106). Os resultados foram obtidos por comparação com a biblioteca de espectros NIST 05 *Mass Spectral Library*, 2005.

Observa-se que a ordem de eluição está de acordo com o número de átomos de cloro presentes na molécula (quanto maior o número de átomos de cloro na molécula, maior o TR).

Os picos com TR ~4,9 min e ~6,2 min referem-se a prováveis contaminantes.

Figura 106 - Cromatograma obtido por CG/EM da solução 0,5 mg L⁻¹ de *MIX* 1

Tabela 54 - Nomes e tempos de retenção dos PCBs e seus correspondentes números de congêneres, por CG/EM

PCB	Tempo de retenção (min)	Nome da substância
(1) 10	4,18	2,6-Diclorobifenila
(2) 28	5,52	2,4,4'-Triclorobifenila
(3) 52	5,,81	2,2',5,5'-Tetraclorobifenila
(4) 138	7,46	2,2,3,4,4',5-Hexaclorobifenila
(5) 153	7,76	2,2',4,4',5,5'-Hexaclorobifenila
(6) 180	8,52	2,2',3,4,4',5,5'-Heptaclorobifenila

5.4 Extração por HS-SPME dos PCBs presentes no padrão MIX 1 de amostras de solo

Primeiramente fez-se um teste de extração dos PCBs com duas amostras de solo fornecidas pela UFSCar/Sorocaba (Figuras107 e108).

Figura 107 - Cromatograma obtido por HS-SPME por CG/DCE de amostra de solo 2 (UFSCar/Sorocaba), controle I após 45 min de exposição da fibra a 75 °C

Figura 108 - Cromatograma obtido por HS-SPME por CG/DCE de amostra de solo 5, controle II (UFSCar/Sorocaba) após 45 min de exposição da fibra a 75 °C

A presença de vários picos entre 4,39 min e 7,24 min sugere a possibilidade de que esses sinais sejam referentes a PCBs, pois o perfil cromatográfico assemelha-se ao do cromatograma obtido por CG/DCE com amostra de óleo ascarel após passar por cartucho SPE *Sulfoxide* – F2a (Figura 79). Desta forma, verificou-se que ambas as amostras estavam contaminadas com PCBs.

Mas como os tempos de retenção (TR) são um pouco diferentes dos TR relativos aos PCBs presentes na mistura em estudo, PCB *Congener MIX* 1, ou seja, em torno de: 3,82 min; 4,96 min; 5,26 min; 6,88 min; 7,21 min e 8,02 min (Figura 74: Cromatograma do padrão *MIX* 0,5 mg L⁻¹ em água, obtido pela extração por SPME com fibra PDMS 100 µm, em CG/DCE - condições descritas em 5.2.1) e, principalmente por não dispormos de um equipamento de CG/EM para confirmar a presença desses compostos nesta amostra desconhecida, decidimos fortificar com o padrão *MIX* uma amostra de solo que não estivesse contaminado com PCBs. Para isso usou-se uma amostra coletada no terreno do LPB (Figura 109).

Figura 109- Cromatograma obtido por HS-SPME por CG/DCE de amostra de solo coletado no terreno próximo ao LPB após 45 min de exposição da fibra a 75 °C

Devido à presença de alguns interferentes no solo do LPB lavou-se o mesmo com *n*-hexano e depois, acetona. Adicionaram-se 40 μL de solução de octacloronaftaleno 100 mg L^{-1} , e verificou-se que o volume de solução de octacloronaftaleno deveria ser de 20 μL para que a área do seu pico cromatográfico não ficasse muito diferente das áreas dos PCBs em estudo. Essa lavagem foi eficiente, pois retirou os contaminantes com TR entre 4,79 min e 5,06 min. O contaminante com TR 8,8 min (Figura 110) pode estar presente em algum dos solventes utilizados; mas, como não coincide com nenhum dos PCBs em estudo esse solo foi usado para testar o método.

Figura 110 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE após exposição do solo do LPB lavado com *n*-hexano e acetona, com adição de 40 μL de solução de octacloronaftaleno 100 mg L^{-1}

Os resultados das fortificações realizadas inicialmente, de duas maneiras diferentes (Tabela 55), demonstram que a menor variação foi obtida com a fortificação das replicatas juntamente no mesmo frasco, mesmo ambas apresentando variações grandes. Isto se deve, provavelmente, ao fato de a matriz não ser homogênea e às prováveis fontes de erro desse procedimento, tais como os valores de concentração dos analitos, o tempo de exposição da fibra, o tempo da corrida cromatográfica (e, conseqüentemente, o tempo de dessorção dos analitos no injetor do cromatógrafo), a quantidade de solvente presente nas amostras, citadas a seguir.

Tabela 55 - Fatores de resposta (FR) dos PCBs presentes no *MIX* em teste de fortificação de solo e extração por *HS-SPME* e *CG/DCE*

PCB	Fortificados Juntos			Fortificados Separadamente		
	Média FR	D.P.	C.V.	Média FR	D.P.	C.V.
10	0,1251	0,004	0,39	0,9096	0,296	32,55
28	0,3083	0,022	7,11	1,8673	0,258	13,74
52	0,1967	0,023	11,83	1,1919	0,215	18,00
138	0,2207	0,083	37,64	0,6830	0,091	13,29
153	0,2448	0,078	31,75	0,6279	0,051	8,11
180	0,2156	0,079	36,77	0,5128	0,061	11,90

A partir do ponto 2 (concentração 0,5 mg L⁻¹ de *MIX*) já foi possível observar que houve “dessorção incompleta” dos PCBs da fibra, pois a injeção da fibra imediatamente após a corrida cromatográfica correspondente a este ponto (sem exposição a nenhuma amostra) ainda apresentou alguns sinais referentes ao padrão (Figuras 111 e 112).

Figura 111 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de solo fortificado com $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de *MIX*

Figura 112 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE somente da fibra, sem exposição a nenhuma amostra, após a injeção da amostra de solo fortificado com $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ de *MIX*

Esse método é bastante eficaz para amostras com concentrações mais baixas por possuir a capacidade de concentrar na fibra os analitos de interesse presentes na amostra; neste caso, por exemplo, concentrações abaixo de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ devem evitar a “dessorção incompleta” dos PCBs da fibra, juntamente com maior tempo de dessorção dos analitos no injetor do cromatógrafo.

Isso atesta que esse método é bastante sensível e que seria necessário desenvolver um procedimento em que a fibra ficasse menos tempo exposta à amostra – e a corrida cromatográfica tivesse um tempo maior – para que todo o material adsorvido nela pudesse ser dessorvido de uma única vez a fim de evitar mais esta provável fonte de erro. Para verificar essa possibilidade testou-se uma “diluição” do ponto 2, deixando-se a fibra em exposição por apenas 15 min (Figura 113). Nesse cromatograma com a concentração do *MIX* de $0,17 \text{ mg L}^{-1}$ e 15 min de exposição também se observa uma melhor resolução dos

picos cromatográficos do que nos cromatogramas obtidos com concentrações maiores do que $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ de *MIX* nessas condições. Mas ainda permaneceu a “dessorção incompleta” (Figura 114), o que demonstra a necessidade de explorar as condições ideais para concentração dos analitos, tempo de exposição da fibra, temperatura do banho e condições cromatográficas.

Figura 113 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE de solo fortificado com concentração final de $0,17 \text{ mg L}^{-1}$ de solução *MIX* e exposição da fibra a $75^\circ\text{C}/15 \text{ min}$

Figura 114 - Cromatograma obtido por HS-SPME e CG/DCE apenas da fibra, sem exposição a nenhuma amostra, após extração de solo fortificado com concentração final de $0,17 \text{ mg L}^{-1}$ de solução *MIX* e exposição da fibra a $75^\circ\text{C}/15 \text{ min}$

Outra provável fonte de erro desse método é a fortificação do solo com os padrões. Inicialmente, após a lavagem com *n*-hexano e acetona, a amostra de solo ficou seca. Para a fortificação do solo com os padrões, cada uma das frações correspondentes às diferentes concentrações recebeu um volume diferente de solução de *MIX* $2,75 \text{ mg L}^{-1}$ em metanol

(para corresponder aos diferentes níveis de concentração de padrões), resultando, portanto, em diferentes estados da matriz com relação à presença de solvente. Os resultados da média entre os FR, os desvios-padrão (D.P.) e os coeficientes de variação (C.V.) estão na Tabela 56.

Tabela 56 - Média entre os FR, D.P. e C.V. para a fortificação do solo realizada inicialmente, sem adição de *n*-hexano

PCB	Ponto 1 (0,2 mg L ⁻¹)			Ponto 2 (0,5 mg L ⁻¹)		
	Média FR	D.P.	C.V.	Média FR	D.P.	C.V.
10	0,1251	0,0005	0,39	0,5063	0,4981	98,38
28	0,3083	0,0219	7,11	1,7876	1,1319	63,32
52	0,1967	0,0233	11,83	1,5968	0,9589	60,05
138	0,2207	0,0831	37,64	1,1029	0,4219	38,25
153	0,2448	0,0777	31,75	1,1071	0,4327	39,09
180	0,2156	0,0793	36,77	0,8486	0,1841	21,70

O novo procedimento para homogeneizar a fortificação do solo em concentrações menores da solução de padrão *MIX* e com adição de igual volume de *n*-hexano em todos os frascos, além da diminuição do tempo de exposição da fibra à amostra, também não foi suficiente para diminuir eficientemente os valores de C.V. de FR (Tabelas 57 e 58). Provavelmente a “dessorção incompleta” dos PCBs da fibra contribuiu bastante para isso, uma vez que permaneceu uma quantidade dos analitos na fibra, que se juntou à próxima injeção. Para verificar a possibilidade da eficiência desse método é necessário testar novas condições, como menor tempo de exposição da fibra e maior tempo de corrida cromatográfica ou a possibilidade de a fibra permanecer em um forno no intervalo entre as injeções das amostras.

Tabela 57 - Média entre os FR, Desvios-padrão (D.P.) e C.V. para o novo procedimento de fortificação do solo com a solução *MIX* 2,75 mg L⁻¹ e adição de *n*-hexano – 3 pontos iniciais

PCB	P 1 – 0,01 mg L ⁻¹			P 2 – 0,05 mg L ⁻¹			P 3 – 0,07 mg L ⁻¹		
	Média FR	D.P.	C.V.	Média FR	D.P.	C.V.	Média FR	D.P.	C.V.
10	0,0384	0,022	56,85	0,2367	0,183	77,20	0,243	0,208	85,43
28	0,3348	0,105	31,37	0,399	0,279	69,93	0,437	0,265	60,52
52	0,2091	0,250	119,45	0,274	0,131	47,74	0,314	0,141	44,90
138	0,4199	0,106	25,13	0,216	0,025	11,71	0,248	0,045	18,15
153	0,3507	0,104	29,65	0,196	0,025	12,99	0,229	0,037	16,29
180	0,3671	0,156	42,52	0,168	0,048	28,78	0,178	0,006	3,59

Tabela 58 - Média entre os FR, Desvios-padrão (D.P.) e C.V. para o novo procedimento de fortificação do solo com a solução *MIX* 2,75 mg L⁻¹, com adição de *n*-hexano – 3 pontos finais

PCB	P 4 – 0,10 mg L ⁻¹			P 5 – 0,13 mg L ⁻¹			P 6 – 0,15 mg L ⁻¹		
	Média FR	D.P.	C.V.	Média FR	D.P.	C.V.	Média FR	D.P.	C.V.
10	0,1309	0,094	71,60	0,1046	0,019	17,82	0,123	0,001	0,96
28	0,526	0,350	66,50	0,601	0,171	28,37	0,453	0,130	28,59
52	0,309	0,078	25,26	0,520	0,109	20,92	0,418	0,127	30,28
138	0,491	0,135	27,41	0,627	0,162	25,80	0,531	0,124	23,29
153	0,432	0,125	29,01	0,559	0,141	25,15	0,487	0,065	13,37
180	0,406	0,063	15,54	0,518	0,088	17,02	0,489	0,000	0,08

Observou-se que os valores de FR não apresentaram tendência crescente com o aumento da concentração dos PCBs fortificados no solo, de forma que não há possibilidade de traçar curvas de calibração linear, principalmente devido à comprovação da “dessorção incompleta” da fibra, que faz com que os resultados sejam mascarados. Para resolver esse problema seria necessário possuir um forno onde a fibra permanecesse durante a corrida cromatográfica a fim de eliminar os analitos correspondentes à injeção anterior, com tempo maior entre uma injeção e outra para haver a completa dessorção dos analitos da fibra. Outra forma de corrigir esse efeito seria desenvolver um método com condições cromatográficas que permitissem um tempo de corrida maior para possibilitar a eliminação

da “dessorção incompleta”, além de testar novos tempos de exposição da fibra à amostra, por exemplo, 5 ou 10 minutos, a fim de que a concentração dos analitos na fibra fosse menor, e a dessorção dos mesmos no injetor, mais eficiente.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na primeira parte deste trabalho verificou-se que os métodos testados para extração de PCBs na forma arocloros em óleo de transformador ascarel, tais como cromatografia em coluna com os adsorventes florissil, sílica e alumina; SPE – alumina; extração líquido-líquido com *n*-hexano, *n*-hexano/CH₂Cl₂ 70:30, *n*-hexano/acetona 70:30, ciclo-hexano; *n*-pentano; benzeno; tolueno e éter etílico não foram adequados para a extração dos PCBs para posterior determinação por CG/DCE. Os interferentes da matriz (como o próprio óleo, que danifica a coluna) não foram eliminados pelos processos testados, provocando baixa recuperação para a extração, o que tornou impraticável, sem a disponibilidade de um sistema por CG/EM para monitorar os analitos correspondentes aos PCBs em estudo, estabelecer um critério para determinar inequivocamente, nos cromatogramas com presença de muitos picos, o que seria arocloro. Esse motivo levou à busca pela determinação de seis PCBs individualmente, componentes da solução padrão *PCB Congener MIX 1* – SUPELCO.

Mesmo sem a disponibilidade de monitoramento dos PCBs por CG/EM, como se trata de apenas seis compostos, com C.V. para TR menores do que 1,90% consideraram-se confiáveis os resultados obtidos por CG/DCE.

Entre os métodos de extração testados para determinação dos PCBs que compõem o *MIX* no óleo ascarel, na segunda parte deste trabalho, a saber: extração líquido-líquido; cromatografia em coluna; SPE – *Sulfoxide* e SPME com fibra de polidimetil-siloxano de 100 μm ; a utilização de cartuchos SPE *Sulfoxide* 3 g/6 mL; e a cromatografia em coluna de vidro usando sílica gel como adsorvente foram os métodos que permitiram melhor eliminação dos interferentes da amostra, uma vez que a matriz era extremamente complexa e, portanto, de difícil purificação (*cleanup*). Mas esses *cleanups* só foram eficientes quando usados após lavagem prévia do óleo ascarel com ácido sulfúrico concentrado.

Adição de padrão foi extremamente importante para a determinação dos PCBs em óleo ascarel, pois se tratava de matriz extremamente complexa, além da dificuldade de obter óleo puro, sem os analitos em estudo, com as mesmas características da amostra real para usar como “branco”, uma vez que esse óleo foi comercializado com composições diferentes.

Para o cálculo dos PCBs avaliaram-se os métodos da padronização interna (com octacloronaftaleno como padrão interno), usando FR e externa, levando em conta apenas os dados puros, ou seja, áreas cromatográficas, além da possibilidade da calibração ponderada. Para a extração por SPE *Sulfoxide* obteve-se, para o método de cálculos, a melhor linearidade entre os pontos a partir da calibração ponderada das áreas com melhor ajuste, considerando valores de R^2 (entre 0,97 e 0,99), valores de F maiores do que F_{tabelado} , calibração inversa, ou seja, valores das concentrações reais mais próximos dos valores nominais.

De acordo com a análise dos resultados de extração após lavagem ácida seguida de coluna de sílica, obteve-se linearidade com uso de FR e coeficientes de correlação (R^2) maiores do que 0,99 para todos os analitos; valores de F muito maiores do que F_{tabelado} e, mesmo com apenas três pontos, considerou-se esse método eficiente, uma vez que esses

dados traduzem menor interferência da matriz, refletindo eficiência na purificação da amostra original, o óleo. Muitos métodos descritos na literatura usam florissil como adsorvente em cromatografia com coluna de vidro na determinação de PCBs, por exemplo: Yadav et al (1995); Huo et al (2012); Hellman e Puhakka (2001); Demers et al. (2000) e Levine, Homsher e Sullivan (1983), que realizaram *cleanup* de amostras de alimentos marinhos, estudos de degradação de arocloros por fungos, selante de blocos de construção, plasma sanguíneo e óleo, respectivamente. No presente trabalho o adsorvente mais adequado para *cleanup* de amostras de óleo com cromatografia em coluna de vidro foi sílica gel.

Os métodos com aplicação de SPE *Sulfoxide* e cromatografia em coluna após lavagem ácida foram eficientes para extração e determinação dos analitos presentes no *MIX* por CG/DCE. Dentre os critérios de escolha deve-se avaliar a disponibilidade de recursos, pois a sílica gel é mais viável economicamente do que o cartucho SPE, além da maior linearidade obtida com esse método, mesmo tendo sido considerados apenas três pontos para a curva de calibração.

Verificou-se que microextração em fase sólida (SPME) não foi adequada para determinar os PCBs do *MIX* diretamente em óleo nas condições estudadas, pois não foi possível extrair os PCBs do óleo devido à forte interação desses analitos com a matriz. O uso dessa técnica com amostra de óleo após por coluna de sílica para diminuir o efeito da matriz também não foi adequado porque se observou “dessorção incompleta” dos PCBs da fibra, cujos cromatogramas, obtidos sem a exposição da fibra a nenhuma amostra, apresentaram picos referentes aos analitos em estudo, entre uma injeção e outra. Portanto, as condições testadas para essa técnica não foram adequadas para a determinação em questão.

Para o método da extração líquido-líquido dos PCBs em amostras provenientes de reatores anaeróbios em batelada avaliaram-se as curvas de calibração obtidas com FR

(octacloronaftaleno como padrão interno) e pela média entre as áreas cromatográficas, além da calibração ponderada para ambos. O método com maior linearidade foi com o uso de FR, que forneceu valores de R^2 entre 0,93 e 0,96 e com valores de F (71,8 a 123,1) maiores do que F_{tabelado} (7,71); limites de detecção entre 0,048 e 0,298 mg L⁻¹; precisão instrumental com C. V. entre 8,0% e 22,0% para FR e entre 0,06% e 0,09% para TR; recuperação absoluta entre 14,1% e 110,7%. Com esse método foi possível monitorar a degradação anaeróbia dos PCBs nos reatores em batelada e avaliar a adsorção dos analitos em espuma de poliuretano, que é extensamente usada como suporte para imobilizar biomassa. A matriz era extremamente complexa e heterogênea, por possuir lodo anaeróbio, com grande quantidade de matéria orgânica e espuma de poliuretano, com o agravante de que os analitos são insolúveis no meio de cultivo usado no ensaio. Por meio da análise dos parâmetros estabelecidos na validação verificou-se, para esse método, linearidade na faixa de concentração estudada (0,05 a 0,5 mg L⁻¹) e que, portanto, fornece resultados confiáveis.

As condições testadas para a técnica de SPME não foram adequadas para determinação dos PCBs em solo, pois não foi possível eliminar a “dessorção incompleta” dos PCBs da fibra, ou seja, em cada injeção subsequente ainda permaneciam os analitos da injeção anterior na fibra. Essa técnica é útil quando se trabalha com concentrações baixas, pois, além de extrair os analitos, também é capaz de concentrá-los na fibra. Para conseguir resultados eficientes de extração seria necessário desenvolver novo método, com diferentes tempos de exposição da fibra à amostra, bem como condições cromatográficas que permitissem eliminar a “dessorção incompleta” dos analitos da fibra.

É importante ressaltar que existem várias maneiras de avaliar os parâmetros para determinar qual método de cálculo fornece os resultados mais confiáveis e, conforme os resultados obtidos neste trabalho, verificou-se que um caso pode ser diferente de outro, uma

vez que é preciso considerar, principalmente, o efeito da matriz e o quanto o método analítico foi capaz de diminuí-lo ou eliminá-lo.

Observou-se que, mesmo quando se usa padrão interno, como é amplamente sugerido na literatura sobre cromatografia, sempre é necessário verificar as duas possibilidades de obter os resultados, usando FR ou os dados puros, ou seja, áreas cromatográficas, a fim de conseguir resultados confiáveis e de acordo com as amostras estudadas, considerando efeito da matriz.

7 CONCLUSÕES

Os métodos testados na primeira etapa deste trabalho não foram eficientes para a extração e determinação de PCBs como arocloros em amostras provenientes de RAHLF usado na remoção de óleo ascarel e em óleo ascarel, provavelmente devido à baixa concentração resultante após as extrações por cromatografia em coluna de vidro usando florissil e sílica gel como adsorventes e extração líquido-líquido com *n*-hexano. Devido à recuperação dos PCBs, não foi possível realizar a identificação desses analitos por CG/EM.

Obteve-se maior linearidade para a determinação dos PCBs presentes na solução *MIX 1* SUPELCO por CG/DCE em amostra de óleo ascarel com os métodos: extração em fase sólida (SPE) com adsorvente *Sulfoxide* e cromatografia em coluna de vidro com sílica gel como fase estacionária (ambos após tratamento com ácido sulfúrico concentrado). Maior remoção dos interferentes do óleo foi obtida com cromatografia em coluna de vidro com sílica gel. As condições testadas para a microextração em fase sólida (SPME) não foram adequadas para

determinar os analitos em amostras de óleo e de solo, pois não foi possível eliminar a “dessorção incompleta” dos PCBs da fibra de PDMS.

Para o monitoramento dos analitos em estudo de degradação anaeróbia e adsorção em espuma de poliuretano recomenda-se a extração líquido-líquido dos PCBs com *n*-hexano de amostras provenientes de reatores anaeróbios em batelada. A recuperação absoluta (entre 14,1% e 110,7%) foi adequada, uma vez que os valores mais baixos referem-se aos compostos com menor número de átomos de cloro, para os quais a sensibilidade do detector é menor.

8 SUGESTÕES

Avaliar diferentes quantidades de óleo (por exemplo, 5 ou 10 mL) na lavagem ácida inicial, de forma que a concentração dos analitos nas etapas finais de purificação da amostra seja maior e permita melhor detecção por CG/DCE e CG/EM.

Realizar as curvas de calibração com mais pontos, ou seja, seis ou sete níveis de concentração, em quintuplicata.

Testar cartucho de alumina (Sigma A 8753 – Tipo wA-1 *acid*) com amostras de óleo após lavagem ácida.

A possibilidade de usar SPME para extrair PCBs do óleo pode ser testada, após tratamento ácido da amostra e coluna de sílica, com a adição de outros solventes, como metanol e acetona, em diferentes tempos de exposição e temperatura do banho e com corrida cromatográfica maior do que 12 minutos, para eliminar a “dessorção incompleta” dos PCBs da fibra.

Desenvolver novo método, com diferentes tempos de exposição da fibra, por exemplo, cinco ou dez minutos, com tempo de corrida cromatográfica maior do que 12 minutos para eliminar a “dessorção incompleta” dos PCBs da fibra.

Testar a extração líquido-líquido dos PCBs de amostras de solo, com *n*-hexano em diferentes quantidades e com uso de NaCl para efeito *salting out*.

REFERÊNCIAS

ABRAMOWICZ, D. A. Aerobic and Anaerobic Biodegradation of PCBs: a Review. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 10, n. 3, p. 241-25, 1990.

ABRAMOWICZ, D. A. Aerobic and Anaerobic PCB Biodegradation in the Environment. **Environmental Health Perspectives**, v. 103, n. 5, p. 97-99, 1995.

ALMEIDA, A. M., CASTEL-BRANCO, M. M., FALCÃO, A. C. Linear Regression for Calibration Lines Revisited: Weighting Schemes for Bioanalytical Methods. **Journal of Chromatography B**, v. 774, p. 215-222, 2002.

ANGELIDAKI, I., PETERSEN, S. P., AHRING, B. K. Effects of Lipids on Thermophilic Anerobic Digestion and Reduction of Lipid Inhibition Upon Addition of Bentonite. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 33, n. 4, p. 469-472, 1990.

ANTONELLO, I., HUMERES, E., SOUZA, I. G., DEBACHER, N. A., MARTINS, A. R. Determinação de Ascarel em Óleo Isolante de Transformadores. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 709-711, 2007.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS E TÉCNICAS (ABNT). **Norma Brasileira – ABNT NBR 10004, Resíduos sólidos – Classificação**. 2004, 71 p.

BEDARD, D. L., WAGNER, R. E., BRENNAN, M. J., HABERL, M. L., BROWN JR., J. F. Extensive Degradation of Aroclors and Environmentally Transformed Polychlorinated Biphenyls by *Alcaligenes eutrophus* H850. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 53, n. 5, p. 1094-1102, 1987.

BJÖRKLUND, E., VON HOST, C., ANKLAM, E. Fast Extraction, Clean-up and Detection Methods for the Rapid Analysis and Screening of Seven Indicator PCBs in Food Matrices. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 21, no. 1, p. 39-52, 2002.

BRESSOLLE, F., BROMET-PETIT, M., AUDRAN, M. Validation of Liquid Chromatographic and gas Chromatographic Methods. Applications to Pharmacokinetics. **Journal of Chromaography, B**, v. 686, p. 3-10, 1996.

BOGDEVICH, O. P., CADOCINICOV, O. P. PCBs Determination in Transformer Oil by SPE and Gas Chromatography Analysis. **Moldavian Journal of the Physical Sciences**, v. 3, n. 2, 2004.

BOYLE, A. W., SILVIN, C. J., HASSETT, J. P., Nakas, J.P., TANENBAUM, S. W. Bacterial PCB Biodegradation. **Biodegradation**, v. 3, p. 285-298, 1992.

CASSIANO, N. M., BARREIRO, J. C., MARTINS, L. R. R., OLIVEIRA, R. V., CASS, Q. B. Validação em Métodos Cromatográficos para Análises de Pequenas Moléculas em Matrizes Biológicas. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 1031-1030, 2009.

CASTRO, I. M., ANJOS, M. R., OLIVEIRA, E. S. Determinação de Isotiocianato de Benzila em *Carica papaya* Utilizando Cromatografia Gasosa com Detectores Seletivos. **Química Nova**, v. 31, n. 8, p. 1953-1959, 2008.

CORRÊA, R. C. **Degradação de Bifenila Policlorada e Caracterização da Comunidade Microbiana de Reator Anaeróbio com Biofilme**. 2011. 172 p. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos/SP, 2011.

COSTOPOULOU, D., VASSILIADOU, I., CHRYSAFIDIS, D., BERGELE, K., TZAVARA, E., TZAMTZIS, V., LEONDIADIS, L. Determination of PCDD/F, Dioxin-like PCB and PAH Levels in Olive and Olive oil Samples from Areas Affected by the Fires in Summer 2007 in Greece. **Chemosphere**, v. 79, p. 285-291, 2010.

CRIADO, M. R., PEREIRO, I. R., TORRIJOS, R. C. Selective Determination of Polychlorinated Biphenyls in Waste Oils Using Liquid-Liquid Partition Followed by Headspace Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography with Atomic Emission Detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1056, p. 263-266, 2004.

CRIADO, M. R., PEREIRO, I. R., TORRIJOS, R. C. Determination of Polychlorinated Biphenyls in Ash Using Dimethylsulfoxide Microwave Assisted Extraction Followed by Solid-Phase Microextraction. **Talanta**, v. 63, p. 533-540, 2004.

DEMERS, A., AYOTTE, P., BRISSON, J., DODIN, S. ROBERT, J., DEWAILLY, E. Risk and Aggressiveness of Breast Cancer in Relation to Plasma Organochlorine Concentrations. **Cancer Epidemiology, Biomarkers e Prevention**, v. 9, p. 161-166, 2000.

DEROUICHE, A. DRISS, M. R., MORIZUR, J-P., TAPHANEL, M-H. Simultaneous Analysis of Polychlorinated Biphenyls and Organochlorine Pesticides in Water by Headspace Solid-Phase Microextraction with Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1138, p. 231-243, 2007.

DEWAILLY, E., AYOTTE, P., LALIBERTÉ, C. WEBER, JEAN-PHILIPPE, GINGRAS, S., NANTEL, A. J. Polychlorinated Biphenyl (PCB) and Dichlorophenyl Dichloroethylene

(DDE) Concentrations in the Breast Milk of Women in Quebec. **American Journal of Public Health**, v. 86, n. 9, p. 1241-1246, 1996.

DING, J., XIE, K., LIU, E., ZHANG, Y., HSIA, YU-PING, LUO, ZI-PING. Study of Surrogates for SW846 Method 8330. **Journal of Chromatographic Science**, v. 37, 1999.

DORNELES, P., LAILSON-BRITO, J., , EPPE, G., AZEVEDO, A., AZEVEDO, C. S., TORRES, J., MALM, O., LEPOINT, G., KRISHNA, DAS. PCDD, PCDF and PCB Determination in Dolphins Reveals a World Hotspot for PCBs in Guanabara Bay, Brazil. **Organohalogen Compounds**, v. 70, p. 1255-1258, 2008.

DUPONT, G., DELTEIL, C., CAMEL, V., BERMOND, A. The Determination of Polychlorinated Biphenyls in Municipal Sewage Sludges Using Microwave-Assisted Extraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. **Analyst**, v. 124, p. 453-458, 1999.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **EPA Method 505**: Analysis of Organohalide Pesticides and Commercial Polychlorinated Biphenyl (PCB) Products in Water by Microextraction and Gas Chromatography. Washington D.C., 1995.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. EPA Method 1668B: Chlorinated biphenyl congeners in water, soil, sediment, biosolids, and tissue by HRGC/HRMS. Washington D.C., 2008.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **EPA Method 8082**: Polichlorinated biphenyls (PCBs) by Gas Chromatography. Washington D.C., 1996.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **EPA Method 1668B**: Chlorinated biphenyl congeners in water, soil, sediment, biosolids, and tissue by HRGC/HRMS. Washington D.C., 2008.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **EPA Test Method**: The Determination of Polichlorinated Biphenyls in Transformer Fluid and Waste Oils. EPA-600/4-81-045. Washington, D.C., 1982.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **EPA Method 1668B**: Victoria Method Number: 6013. Determination of polychlorinated biphenyls (PCBs) in waste oils by gas chromatography with electron capture detector, 2003. Washington D.C., 2008.

FAVA, F., GENTILUCCI, S., ZANAROLI, G. Anaerobic Biodegradation of Weathered Polychlorinated Biphenyls (PCB) in Contaminated Sediments of Porto Marghera (Venice

Lagoon, Italy). **Chemosphere**, n. 53, p. 101-109, 2003.

FOUIAL-DJEBBAR, D., AHMED, A. Y. BDAIAH-HADJ, BUDZINSKI, H. Determination of Organochlorine Compounds in Coastal Marine Sediments from the Southern West of the Mediterranean Sea. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 7, n. 2, p. 271-280, 2010.

F Test Tables. [2013?] Disponível em: <http://www.statstodo.com/FTest_Tab.php>. Acesso em: 20 jun. 2013.

FU, CHUNG-TE, WU, SHIAN-CHEE. Seasonal Variation of the Distribution of PCBs in Sediments and Biota in a PCB-Contaminated Estuary. **Chemosphere**, v. 62, p. 1786-1794, 2006.

GEORGII, S., BACHOUR, G., FAILING, K., ESKENS, U., ELMADFA, I., BRUNN, H. Polychlorinated Biphenyl Congeners in Foxes in Germany from 1983 to 1991. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 26, p. 1-6, 1994.

HATAMIAN-ZARMI, A., SHOJAOSADATI, S. A., VASHEGHANI-FARAHANI, E., HOSSEINKHANI, S., EMAMZADEH, A. Extensive Biodegradation of Highly Chlorinated Biphenyl and Aroclor 1242 by *Pseudomonas aeruginosa* RMU56 Isolated from Contaminated Soils. **International Biodeterioration e Biodegradation**, v. 63, p. 788-794, 2009.

HELLMAN, S. J., PUHAKKA, J. A. Polychlorinated Biphenyl (PCB) Contamination of Apartment Building and its Surroundings by Construction block Sealants. *International Conference on Practical Applications in Environmental Geotechnology ECOGEO*, Edited By Reijo Salmine, Geological Survey of Finland, Special Paper, 32, p. 123-127, 2001.

HERRERA, A., PÉREZ-ARQUILLUÉ, C., CONCHELLO, P., BAYARRI, S., LÁZARO, R., YAGÜE, C., ARIÑO A. Determination of Pesticides and PCBs in Honey by Solid-Phase Extraction Cleanup Followed by Gas Chromatography with Electron-Capture and Nitrogen-Phosphorus Detection. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 381, p. 695-701, 2005.

HU, D., MARTINEZ, A., HORNBUCKLE, K. C. Discovery of Non-Aroclor PCB (3,3'-diclorobiphenyl) in Chicago Air. **Environmental Science e Technology**, v. 42, n. 21, p. 7873-7877, 2008.

HU, J., FU, L., ZHAO, X., LIU, X., WANG, H., WANG, X., DAI, L. Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Combined with Gas Chromatography-Electron Capture Detection for the Determination of Polychlorinated Biphenyls in Soils. **Analytica Chimica Acta**, v. 640, p. 100-105, 2009.

HUANG, J., MATSUMURA, T., YU, G., DENG, S., YAMAUCHI, M., YAMAZAKI, N., WEBER, R. Determination of PCBs, PCDDs and PCDFs in Insulating Oil Samples from Stored Chinese Electrical Capacitors by HRGC/HRMS. **Chemosphere**, v. 85, p. 239-246, 2011.

HUO, LU-GE, LI, HUI-DONG, ZHAO, CHANG-LE, WANG, WEN-BO, CHEN, ZI-LEI, DING, RUI-YAN, DONG, Z., WANG, FENG-EN, YANG, GUO-SHENG, LU, X. ABOUL-ENEIN, Y. The Determination of PCBs in Meat and Sea Food by GC-QqQ-MS/MS. **Food Analytical Methods**, v. 5, n. 6, p. 1481-1491, 2012.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS (IBAMA). **Portaria Interministerial n. 19, de 29 de janeiro de 1981**. 1981. Disponível em: <<http://faolex.fao.org/docs/pdf/bra15389.pdf>>. Acesso em: 21 jan. 2012.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA (INMETRO). 2007. **Orientação sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos**. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_02.pdf>. Acesso em: 20 out. 2008.

JUNG, S., BANDEIRA, J. V., LORGEUX, P. B., NASCIMENTO, N. DE O., SOUTCHE, P., TASSIN, B. PCB Inventory Over the Last Two Decades in Sediment Cores from Two Lakes Under Urban Pressure: Lake Bourget (France) and Pampulha Reservoir (Brazil). **11th International Conference on Urban Drainage**, Edinburgh, Scotland UK, 2008.

KELLER, J. M., SWARTHOUT, R. F., CARLSON, B., K., R., YORDY, J., GUICHARD, A., SHANTZ, M., M., KUCKLICK, J. R. Comparison of Five Extraction Methods for Measuring PCBs, PBDEs, Organochlorine Pesticides, and Lipid Content in Serum. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 393, p. 747-760, 2009.

KIM, KYOUNG-SOO, KIM, KYEO-KEUN, KIM, JONG-GULK. The Concentration of PCDD/FS in Flue Gas and Soil Collected in the Vicinity of Various Incinerators, Korea. **Environmental Engineering Research**, v. 12, n. 2, p. 55-63, 2007.

KING, A. J. A., READMAN, J. W., ZHOU, J. L. The Application of Solid-Phase Micro-Extraction (SPME) to the Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). **Environmental Geochemistry and Health**, v. 25, p. 69-75, 2003.

KODBA, Z. e VONCINA, D. B. Validation of an Improved European Standard Method for the Determination of PCBs In Oil Samples. **Nova Biotechnologia**, v.9, n. 3, p. 249-253, 2009.

KONG, J., ACHARI, G., LANGFORD, C. H. Extraction of PCBs from Transformer Oil and its Dechlorination Using Visible Light. **Journal of Environmental Engineering**, v. 139, p. 627-632, 2013.

KONIECZKA, P. e NAMIEŚNIK, J. Determination of PCBs in Marine Sediment Using Pressurised Liquid Extraction-Gas Chromatography-Isotope Dilution Mass Spectrometry – Method Validation. **Chem. Anal. (Warsaw)**, v. 53, p. 785-796, 2008.

KORRICK, S. A., ALTSHUL, L. M., TOLBERT, P. E., BURSE, V. W., NEEDHAM, L. L., MONSON, R. R. Measurement of PCBs, and Hexachlorobenzene in Cord Blood from Infants Born in Towns Adjacent to a PCB-Contaminated Waste Site. **Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology**, v. 10, p. 743-754, 2000.

KOWALSKI, C. H., COSTA, J. G., GODOY, H. T., AUGUSTO, F. Determination of Polychlorinated in Brazilian Breast Milk Samples Using Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography-Electron Capture Detection. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 3, p., 502-509, 2010.

LAMBROPOULOU, D. A., KONSTATINOU, I. K., ALBANIS, T. A. Sample Pretreatment Method for the Determination of Polychlorinated Biphenyls in Bird Liver Using uUltrasonic Extraction Followed by Headspace Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry. **Journal of ChromatographyA**, v. 1124, p. 97-105, 2006.

LANÇAS, F. M. Extração em Fase Sólida (SPE). Métodos Cromatográficos de Análise – 4. São Carlos, RiMa, 96 p.

LAWERENCE, J. e TOSINE, H. M. Adsorption of Polychlorinated Biphenyls from Aqueous Solutions and Sewage. **Environmental Science e Technology**, v. 10, n. 4, 1976.

LEVINE, S. P., HOMSHER, M. T., SULLIVAN, J. A. Comparison of Methods of Analysis of Polychlorinated Biphenyls in Oils. **Journal of Chromatography**, v. 257, p. 255-266, 1983.

LIGIERO, C. B. P., REIS, L. A., PARRILHA, G. L., FILHO, M. B., CANELA, M. C. Comparação entre Métodos de Quantificação em Cromatografia Gasosa: Um Experimento para Cursos de Química. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1338-1341, 2009.

LIGOR, T., ZEBROWSKI, W., BUSZEWSKI, B. Determination of PCBs in Selected Components of a Food Chain by Means of SPE and CG/MS. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 16, n. 4, p. 571-578, 2007.

LORENCINI BRASIL – Soluções em análise de óleos e fluidos isolantes utilizados em transformadores de energia. Disponível em: <<http://www.lorencinibrasil.com.br/>>. Acesso em: 06 mai. 2013.

MANDALAKIS, M., HOLMSTRAND, H., ANDERSON, P. GUSTAFSSON, Ö. Compound-Specific Chlorine Isotope Analysis of Polychlorinated Biphenyls Isolated from Aroclor and Clophen Technical Mixtures. **Chemosphere**, v. 71, p. 299-305, 2008.

MARTÍNEZ, H. A. R., RODRÍGUEZ, G. C., CASTILLO, D. H. Determination of PCs in Transformer Oil Using Gas Chromatography with Mas Spectroscopy and aroclors (A1254:A1260). **Journal of Mexican Chemical Society**, v. 49, n. 3, p. 263-270, 2005.

MILLS, D. W., RHOADS, K. CLOR-N-OIL™ Test Kit as a PCB screening tool. Proceedings: 1985 EPRI PCB Seminar. Utah Power & Light Company. Electric Power Research Institute, Palo Alto, California, USA. TM An Electric Power Research Institute Trademark. Dexsil Corporation. Disponível em: <http://www.dexsil.com/uploads/docs/dtr_0501.pdf>. Acesso em 18 set. 2013.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Resolução RE n. 899/2003 da ANVISA, de 29 de maio de 2003**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/4983b0004745975da005f43fbc4c6735/RE_899_2003_Determina+a+publica%C3%A7%C3%A3o+do+Guia+para+valida%C3%A7%C3%A3o+de+m%C3%A9todos+anal%C3%ADticos+e+bioanal%C3%ADticos.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 17 fev. 2011.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Convenção de Estocolmo**. 2005. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/estruturas/smcq_seguranca/_publicacao/143_publicacao16092009113044.pdf>. Promulgada por Decreto Executivo em 20 de junho de 2005. Acesso em: 24 mar. 2013.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Convenção de Estocolmo Sobre os Poluentes Orgânicos Persistentes POPs – Plano Nacional de Implementação – NIP**. 2010. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/estruturas/smcq_seguranca/_arquivos/2_apresentao_143.pdf>. Acesso em: 23 mar. 2010.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Estudo Sobre as Bifenilas Policloradas – Proposta para Atendimento à “Convenção de Estocolmo”, Anexo A – Parte II**. [2005?]. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/estruturas/sqa_prorisc_upml/_arquivos/estudo_sobre_as_bifenilas_policloradas_82.pdf>. Acesso em: 24 mar. 2013.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Guia para o Inventário Nacional de Bifenilas Policloradas (PCB)**. 2012. 82 p.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Programa Executivo entre a o Programa das Nações Unidas (Organização das Nações Unidas) para o Meio Ambiente e o Governo da República Federativa do Brasil, Fundamentado no Acordo Básico de Assistência Técnica entre os Estados Unidos do Brasil e a ONU, suas Agências Especializadas e a Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA), para a Implementação do Projeto “Desenvolvimento de um Plano Nacional de Implementação no Brasil como Primeira Etapa da Implementação da Convenção de Estocolmo Sobre Poluentes Orgânicos Persistentes (POPS)”**. 2009. Disponível em:

<http://www.mma.gov.br/estruturas/smcq_seguranca/_arquivos/prog_executivo_nip_brasil_143.pdf>. Acesso em: 21 mar. 201.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente - Fundo para o Meio Ambiente Mundial (GEF), Documento do Projeto**. 2011. Disponível em:

<http://www.mma.gov.br/estruturas/smcq_seguranca/_arquivos/prog_executivo_nip_brasil_143_1.pdf>. Acesso em: 21 mar. 2013.

MOHR, S., SCHWANZ, T. G., WAGNER, R., SOLDATELLI, L., COSTABEBER, I. H. Determinação de Bifenilos Policlorados em Soro de Cordão Umbilical Através de Extração por Hidrólise Ácida Seguida de Cromatografia a Gás Acoplada a um Microdetector de Captura de Elétrons. **Química Nova**, v. 34, n. 3, p. 444-449, 2011.

MOTLADIILE, S., KWAAMBWA, H. M., SICHILONG, K. Development and Validation of a Gas Chromatography-Mass Spectrometry Method for the Determination of PCBs in Transformer Oil Samples-Application to Real Samples from Botswana. **Journal of Chromatography Separation Techniques**, v. 2, n. 4, p. 1-8, 2011.

MUIR, D., SVERKO, E. Analytical Methods for PCBs and Organochlorine Pesticides in Environmental Monitoring and Surveillance – a Critical Appraisal. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 386, p. 769-789, 2006.

MUNSHI, A. B., BOARDMAN, G. D., FLICK, G. J., COBB, J., LANE, R. M. Pesticides (OCPs) and Polychlorinated Biphenyls (PCBs) Concentration in Various Fish Species Along the Chesapeake Bay Near Virginia Beach on the Atlantic Coastline. **The Open Oceanography Journal**, v. 3, p. 1-7, 2009.

NAMIESNIK, J., SZEFER, P., SLIWKA-KASZYNSKA, M., MONCHEVA, S., ARANCIBIA-AVILA, P., TOLEDO, F., HAM, KYUNG-SIK, KANG, SEONG-GOOK, GORINSTEIN, S. Determination of PAHs, PCBs, Minerals, Trace Elements, and Fatty Acids

in *Rapana thomasiana* as an Indication of Pollution. **Journal of AOC International**, v. 93, n. 5, 2010.

NEZHADALI, A. E SHIRVAN, Z. Separation, Identification and Determination of Volatile Compounds of *Ziziphora persica Bunge* Using HS-SPME/GC-MS. **International Journal of Environmental Science and Development**, v. 1, n. 2, p. 115-118, 2010.

OLIVEIRA, F. M., TAVARES, T. M., BERETTA, M. Otimização de Método Analítico para Determinação de PCBs por CG-MS-MS em Amostras de Biota. **Revista Analítica**, n. 14, p. 45-53, Dez/Jan 2005.

PENTEADO, J. C. P., VAZ, J. M. O Legado das Bifenilas Policloradas (PCBs). **Química Nova**, v. 24, n. 3, p. 390-398, 2001.

PEREIRA, N. S., ZAIAT, M. Degradation of Formaldehyde in Anaerobic Sequencing Batch Biofilm Reactor (ASBBR). **Journal of Hazardous Materials**, v. 163, p. 777-782, 2009.

PETRO INDUSTRY NEWS. **A fast method for determining PCB/chlorine Contamination in Transformer Oils by Monochromatic X-Ray Fluorescence (MCSRf)**. 2010. Disponível em: <http://www.petro-online.com/articles/analytical-instrumentation/11/david_malone_rudy_haas/a_fast_method_for_determining_pcbchlorine_contamination_in_transformer_oils_by_monochromatic_x-ray_fluorescence_mcxrf/627/>. Acesso em 04 mai. 2013.

PIMENTEL, M. F. e BARROS NETO, B. Calibração: Uma Revisão para Químicos Analíticos. **Química Nova**, v. 19, n. 3, p. 268-277, 1996.

POLI, D., CAGLIERI, A., GOLDONI, M., CASTOLDI, A. F., COCCINI, T., RODA, E., VITALONE, A., CECCATELLI, S., MUTTI, A. Single Step Determination of PCB 126 and 153 in Rat Tissues by Using Solid Phase Microextraction/Gas Chromatography-Mass Spectrometry: Comparison with Solid Phase Extraction and Liquid/Liquid Extraction. **Journal of Chromatography B**, v. 877, p. 773-783, 2009.

PROGRAMA DAS NAÇÕES UNIDAS PARA O DESENVOLVIMENTO GLOBAL ENVIRONMENT FACILITY. **Documento de Projeto do PNUD (Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento – BRA/08/G32: Brasil – Estabelecimento da Gestão de Resíduos de PCB e Sistema de Disposição)**. (2008?) . Disponível em: <http://www.mma.gov.br/estruturas/sqa_prorisc_upml/_arquivos/projeto_pcb_82.pdf>. Acesso em: 03 mar. 2013.

QUENSEN, J. F., BOYD, S. A., TIEDJE, J. M. Dechlorination of Four Commercial Polychlorinated Biphenyl Mixtures (Aroclors) by Anaerobic Microorganisms from Sediments. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 56, n. 8, p. 2360-2369, 1990.

RIBANI, M., BOTTOLI, C. B. G., COLLINS, C. H., JARDIM, I. C. S. F., MELO, L. F. C. Validação em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RIBEIRO, F. A. L., FERREIRA, M. M. C., MORANO, S. C., SILVA, L. R., SCHNEIDER, R. P. Planilha de Validação: Uma Nova Ferramenta para Estimar Figuras de Mérito na Validação de Métodos Analíticos Univariados. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 164-171, 2008.

RYSAVY, J. P., YAN, T., NOVAK, P. J. Enrichment of Anaerobic Polychlorinated Biphenyl Dechlorinators from Sediment With Iron as Hydrogen Source. **Water Research**, v. 39, p. 569-578, 2005.

SANTELLI, F., BOSCAINO, F., CAUTELA, D., CASTALDO, D., MALORNI, A. Determination of Polychlorinated Dibenzo-p-Dioxins (PCDDs), Polychlorinated dDibenzo-p-Furans (PCDFs) and Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in Buffalo Milk and Mozzarella Cheese. **European Food Research and Technology**, v. 223, p. 51-56, 2006.

SAPOZHNIKOVA, Y., BAWARDI, O., SCHLENK, D. Pesticides and PCBs in Sediments and Fish from the Salton Sea, California, USA. **Chemosphere**, v. 55, p. 797-809, 2004.

SAUVAIN, J.-J., ALENCASTRO, L. F., TARRADELLAS, J., CAMENZIND, R., KARLAGANIS, G., VUILLEUMIER, C. Comparison of Four Quantification Methods for the Determination of PCB in Transformer Oils. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, v. 350, p. 555-562, 1994.

SCHWANZ, T.G., MOHR, S., PORTE, L. M. F., ZANATTA, N., BONACORSO, H.G., MARTINS, M. A. P., COSTABER, I. H. Determinação de Bifenilos Policlorados em Milho Através de Extração em Fase Sólida Seguida de Cromatografia a gás Acoplada à Espectrometria de Massas. **Química Nova**, v. 35, n. 3, p. 553-558, 2012.

SHIN, S. K., KIM, T. S. Levels of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in Transformer Oils from Korea. **Journal of Hazardous Materials B**, v. 137, p. 1514-522, 2006.

SHU, Y. Y., WANG, S. S., TARDIF, M., HUANG, Y. Analysis of Polychlorinated Biphenyls in Aqueous Samples by Microwave-Assisted Headspace Solid-Phase Microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1008, p. 1-12, 2003.

SILVA, S. L., ALVES, A., SANTOS, L. Uncertainty Measurement of Chlorophenols and PCBs Analyzed in Aqueous Media by SPME-GC-ECD. **Journal of Chromatographic Science**, v. 47, p. 103-109, 2009.

SOBIECKA, E. E CEDZYNSKA, K. Biodegradation Effects of Waste Transformer Oil Polluted of PCBs in Various Culture Conditions. **Proceedings of the 9th International Conference on Environmental Science and Technology**, A1366-A1370, Rhodes Island, Greece, 1-3 September, 2005.

SONG, X., LI, J., CHEN, L., CAI, Z., LIAO, C., PENG, H., XIONG, H. Determination of Polychlorinated Biphenyls in Seawater Using Headspace Dolid-Phase Microextraction Coupled with Gas Chromatography-Mass Spectrometry with the Aid of Experimental Design. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 1, p. 132-141, 2012.

SROGI, K. Levels and Congener Distributions of PCDDs, PCDF and Dioxin-Like PCBs in Environmental and Human Samples: a Review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 6, p. 1-28, 2008.

SHIM, S. K., KIM, T. S. Levels of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in Transformer Oils from Korea. **Journal of Hazardous Materials B**, v. 137, p. 1514-1522, 2006.

TAKADA, M., TODA, H., UCHIDA, R. A New Rapid Method for Quantification of PCBs in Transformer Oil. **Chemosphere**, v. 43, p. 455-459, 2001.

TAKASUGA, T., KUMAR, K. S., NOMA, Y., SAKAI, S. Chemical Characterization of Polychlorinated Biphenyls, -Dibenzo-p-Dioxins, and -Dibenzofurans in Technical Kanechlor PCB Formulations in Japan. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 49, p. 385-395, 2005.

TAKASUGA, T. SENTHILKUMAR, K., MATSUMURA, T., SHIOZAKI, K., SAKAI, SHIN-ICHI. Isotope Dilution Analysis of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in Transformer Oil and Global Commercial PCB Formulations by High Resolution Gas Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry. *Chemosphere*, v. 62, p. 469-484, 2006.

TANAKA, N. A Simple Preparation Method for Trace PCB Analysis (For Contribution to Dispose (or Process) PCB Waste). *CRIEPI News*, 379. *Central Research Institute of Electric Power Industry (CRIEPI), Public Communications Division*, Tokio, Japan, 2003.

THE Merck Index, an Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. 12.th Edition, #6858. Whitehouse Station, NJ., USA. Merck Research Laboratories Division of Merck & CO., Inc, 1996. 1741 p.

TIEDJE, J. M., QUENSEN III, J. F., CHEE-SANFORD, J., SCHIMEL, J. P., BOYD, S. A. Microbial Reductive Dechlorination of PCs. *Biodegradation*, v. 4, p. 231-241, 1993.

TOADER, C., GRIGORIU, N., MEGHEA, A. SPME Extraction of the PCB's Containing Transformer Oils. *UBP Scientific Bulletin, Series B: Chemistry and Materials Science*, v. 73, n. 2, p. 93-100, 2011.

TOBISZEWSKI, M. e NAMIEŚNIK, J. Determination of Chlorinated Solvents in Industrial Water and Wastewater by DAI-GC-ECD. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 399, p. 3565-3572, 2011.

TRIMBLE, T. A., YOU, J., LYDY, M. J. Bioavailability of PCBs from Field-Collected Sediments: Application of Tenax Extraction and Matrix-SPME Techniques. *Chemosphere*, v. 71, p. 337-344, 2008.

VAS, G. E VÉKEY, K. Solid-Phase Microextraction: a Powerful Sample Preparation Tool Prior to Mass Spectrometric Analysis. *Journal of Mass Spectrometry*, v. 39, p. 233-254, 2004.

VIAL, J., JARDY, A. Experimental Comparison of the Different Approaches to Estimate LOD and LOQ of an HPLC Method. **Analytical Chemistry**, v. 71, p. 2672-2677, 1999.

YADAV, J. S., QUENSEN III, J. F., TIEDHE, J. M., REDDY, C. A. Degradation of Polychlorinated Biphenyl Mixtures (Aroclors 1242, 1254, and 1260) by the White Rot Fungus *Phanerochaete chrysosporium* as Evidenced by Congener-Specific Analysis. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 7, p. 2560-2565, 1995.

YANG, YU, MILLER, D. J., HAWTHORNE, S. B. Solid-Phase Microextraction of Polychlorinated Biphenyls. **Journal of Chromatography A**, v. 800, p. 257-266, 1998.

ANEXOS

ANEXO A - Estudo Sobre as Bifenilas Policloradas – Proposta para Atendimento à “Convenção de Estocolmo”, Anexo A – Parte II (acessado em 24/03/2013), do Ministério do Meio Ambiente, apresenta a legislação brasileira para os PCBs, com os regulamentos editados pelo governo federal:

- Portaria Interministerial (MIC/MI/MME – Ministério da Indústria e Comércio/Ministério do Interior e Ministério das Minas e Energia) N.º 19, de 29 de janeiro de 1981 (acessado em 24/03/2013), que proíbe o uso e a comercialização de PCBs em todo o estado, puro ou em mistura, em qualquer concentração ou estado físico, como fluido dielétrico em transformadores novos, aditivos para tintas, plásticos, lubrificantes e óleo de corte; também proíbe o despejo de PCBs ou produtos que os contenham, em cursos d’água ou locais expostos a intempéries. No Brasil, em 1981, o total do estoque era de 98.000 toneladas.

- Proíbe, em todo o território nacional, a fabricação, comercialização e uso das PCBs, em estado puro ou mistura, e estabelece prazos para cada aplicação.

- Estabelece que os transformadores em operação na data da publicação poderão continuar funcionando até que seja necessário seu esvaziamento, quando não poderão ser reenchidos com o mesmo fluido. Somente com outro que não contenha PCBs.

- Proíbe o descarte em aterros sanitários, cursos e coleções de água, etc. Segundo esta portaria, somente é permitido o armazenamento ou destruição do produto.

- Norma ABNT/NBR-8371:

- Trata-se de um guia de procedimentos e apresenta o mesmo teor da Instrução Normativa Secretaria de Meio Ambiente(SEMA), sendo mais completa quanto à rotulagem, transporte e armazenamento.

- A primeira versão da norma foi publicada em 1987, tendo sido revisada em 1997 e 2005, razão pela qual tornou obsoleto o conteúdo da Instrução Normativa que, no entanto, permanece em vigor.

- *Prescreve os procedimentos para manuseio das PCBs de uma forma geral, além de fornecer instruções para a operação e manutenção de equipamentos elétricos PCB.*

- *Procura estabelecer critérios para a classificação de equipamentos elétricos em função do teor de PCBs em seu fluido isolante e dá indicações quanto à destinação final.*

- *Instrução Normativa SEMA STC/CRS-001 de 15/06/86:*

- *Estabelece os procedimentos para manuseio, primeiros socorros, transporte e armazenamento de materiais contendo PCBs.*

Para a legislação norte-americana os transformadores ou outros equipamentos elétricos são classificados, de acordo com a concentração de PCBs, da seguinte forma:

- menos de 50 ppm/p – Classe NÃO PCB – não sujeito à legislação

- entre 50 e 500 ppm/p – Classe Contaminado por PCBs (sem restrições de uso ou manutenção, desde que não tenham o nível completado com óleo com mais de 500 ppm/p de PCB)

- acima de 500 ppm/p – Classe PCB (podem operar até o fim de sua vida útil, com inspeção trimestral; rotulados e sinalizados; com registros na empresa, na USEPA – *United States Environmental Protection Agency* - e no Corpo de Bombeiros; não deve haver combustíveis, alimentos ou água em locais próximos; devem ter meio de contenção de vazamentos; não devem sofrer manutenção com retirada de bobinas e podem ser reclassificados para NÃO PCB após comprovação de redução do teor de PCBs no líquido isolante. O descarte, é basicamente, por incineração, desde que em instalações aprovadas pela USEPA.

Este estudo também cita algumas técnicas de descontaminação:

Para resíduos em estado líquido:

a) Reação com Na (sódio), muito usada nos Estados Unidos, economicamente viável até 1500 ppm/p:

- óleos isolantes contaminados até 2000 ppm/p podem ser tratados com Na, numa reação que resulta nem NaCl e bifenila:

- b) Reação com polipropileno glicol ou polietileno glicol (Itália)
- c) Percolação por substrato ativo (Universidade Federal do Paraná – UFPR e Instituto de Tecnologia para o Desenvolvimento – Lactec de Curitiba)
- d) Águas e lodos contaminados:
 - para resíduos aquosos, não se pode aplicar o tratamento com Na, então desenvolveu-se uma cepa de bactérias capaz de degradar biologicamente as moléculas de PCB, para contaminações de algumas ppm/p e é de grande importância econômica.
- e) Resíduos sólidos:
 - lavagem com solvente e destilação para remoção dos PCBs e o resíduo, posteriormente tratado (para resíduos metálicos).
- f) Sólidos permeáveis:
 - aterramento (emprego limitado), está sendo substituído por técnicas ambientalmente mais seguras.
- g) Incineração: para resíduos contaminados com alta concentração de PCBs (30 a 40%), tanto líquido quanto sólido.
- h) Oxidação a alta pressão, com elevadas temperaturas.
- i) Redução por hidrogênio.

No Brasil o gerenciamento do problema dos PCBs esteve restrito a:

- Laboratórios de análise: apesar de haver vários capacitados para realizar tais análises a capacitação deles para cada tipo de análise ainda não foi determinada de forma sistemática. A referência é o laboratório do Departamento de Química Aplicada do Instituto de Tecnologia para o Desenvolvimento, localizado no Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná, em Curitiba.

Para a destinação final, estão licenciados os seguintes locais:

- Tratamento de Resíduos Industriais de Belfort Roxo S/A – Tribel Estrada Boa Esperança, 650, Belfort Roxo – Rio de Janeiro – 26110-120. Planta industrial dotada de uma unidade de incineração para resíduos em estado sólido e líquido, aterro industrial para resíduos “Classe I e II” e sistema de tratamento de efluentes.
- Cetrel S/A – Empresa de Proteção Ambiental - Av. Tancredo Neves, 3343, Edifício Cempre, Torre A, Conjuntos 1401 a 1404 Salvador – Bahia – 41820-021 Planta industrial dotada de uma unidade incineradora exclusiva para resíduos em estado líquido e unidade em separado para incineração de resíduos em estado sólido. Possui aterro para resíduos industriais e sistema de tratamento de efluentes.

- Companhia Alagoas Industrial S/A – CINAL - Rodovia Divaldo Suruagy, Km 12 Marechal Deodoro – Alagoas – 57160-000. Empresa responsável pelo tratamento de resíduos industriais do PóloCloroquímico de Alagoas, opera unidade incineradora para resíduos em estado líquido. Possui ainda sistema de tratamento de efluentes.
- WPA Ambiental Ltda - Rodovia PR 469, Km 03, Pato Branco – Paraná – 85503-590. Empresa que possui a capacidade para realizar a destinação final de resíduos PCB em estado sólido, pelo processo de reciclagem de materiais.

ANEXO B - Convenção de Estocolmo

Para os PCBs a Convenção estabelece que cada parte deverá:

a) com referência à eliminação do uso de bifenilaspolicloradas em equipamentos (por exemplo: transformadores, capacitores ou outros receptáculos que contenham líquidos armazenados) até 2025, sujeito a revisão pela Conferência das Partes, agir de acordo com as seguintes prioridades:

i) envidar esforços para identificar, rotular e tirar de uso equipamentos que contenham mais de 10% de bifenilaspolicloradas e volumes superiores a 5 litros;

ii) envidar esforços para identificar, rotular e tirar de uso equipamentos que contenham mais de 0,05% de bifenilaspolicloradas e volumes superiores a 5 litros;

iii) empenhar-se para identificar e tirar de uso equipamentos que contenham mais de 0,005% de bifenilaspolicloradas e volumes superiores a 0,05 litro;

b) em conformidade com as prioridades do subparágrafo (a), promover as seguintes medidas para a redução de exposição e riscos, com a finalidade de controlar o uso de bifenilaspolicloradas:

i) utilizar somente em equipamentos intactos e à prova de vazamento e apenas em áreas onde o risco de liberação para o meio ambiente possa ser minimizado e rapidamente remediado;

ii) não utilizar em equipamentos localizados em áreas associadas com a produção ou processamento de alimento ou ração;

iii) quando utilizado em áreas povoadas, incluindo escolas e hospitais, adotar todas as medidas razoáveis de proteção contra falhas elétricas que possam causar incêndios e inspecionar regularmente o equipamento para verificar a existência de vazamentos;

c) sem prejuízo do disposto no Artigo 3º, parágrafo 2, assegurar que equipamentos que contenham bifenilaspolicloradas, conforme descrito no subparágrafo (a), não sejam exportados nem importados exceto para o propósito do manejo ambientalmente saudável de resíduos;

d) salvo para operações de manutenção e reparo, não permitir a recuperação, com a finalidade de reutilização em outro equipamento, de líquidos que contenham teor maior que 0,005% de bifenilaspolicloradas;

e) envidar esforços determinados visando realizar o manejo ambientalmente saudável de líquidos que contenham bifenilas policloradas e equipamentos contaminados com bifenilas policloradas, com teor de bifenilas policloradas superior a 0,005 %, de acordo com o Artigo 6º, parágrafo 1, assim que possível, mas não após 2028, sujeito à revisão pela Conferência das Partes;

f) no lugar da nota (ii) na Parte I deste Anexo, esforçar-se para identificar outros artigos que contenham mais de 0,005% de bifenilas policloradas (ex. revestimento de cabos, massas para calafetar com conservantes e objetos pintados) e manejá-los de acordo com o Artigo 6º parágrafo 1;

g) preparar, a cada cinco anos, um relatório de progresso sobre a eliminação de bifenilaspolicloradas e submetê-lo à Conferência das Partes em conformidade com o Artigo 15º;

h) os relatórios descritos no subparágrafo g, quando conveniente, devem ser apreciados pela Conferência das Partes nas revisões relacionadas às bifenilaspolicloradas. A Conferência das Partes examinará o progresso relativo à eliminação de bifenilaspolicloradas em intervalos de cinco anos ou a intervalos diferentes, conforme o caso, levando-se em conta tais relatórios.

APÊNDICES (Cromatogramas)

APÊNDICE A - Cromatograma da solução padrão MIX PCBs 0,5 mg L⁻¹ em isoctano: PCB 10 (11,35 min), PCB 28 (15,74 min), PCB 52 (6,98 min), PCB 153 (23,63 min), PCB 138 (24,99 min), PCB 180 (20,15 min), por CG/DCE

APÊNDICE B - Cromatograma da solução padrão Arocloro 1016, 2 mg L⁻¹ em metanol, por CG/DCE

APÊNDICE C - Cromatograma da solução padrão Arocloro 1260, 2 mg L⁻¹ em metanol, por CG/DCE

APÊNDICE D - Cromatograma da solução padrão Arocloro 1221, 2 mg L⁻¹ em metanol, por CG/DCE

APÊNDICE E - Cromatograma da solução padrão Arocloro 1232, 2 mg L⁻¹ em metanol, por CG/DCE

APÊNDICE F - Cromatograma da solução padrão Arocloro 1242, 2 mg L⁻¹ em metanol, por CG/DCE

APÊNDICE G - Cromatograma da solução padrão Arocloro 1248, 2 mg L⁻¹ em metanol, por CG/DCE

APÊNDICE H - Cromatograma da solução padrão Arocloro 1254, 2 mg L⁻¹ em metanol, por CG/DCE

APÊNDICE I - Cromatograma obtido por CG/DCE de teste para extração de PCBs – Ascarel B – fração 1) *n*-hexano

APÊNDICE J - Cromatograma obtido por CG/EM de teste para extração de PCBs – Ascarel B – fração 1) *n*-hexano

APÊNDICE K - Cromatograma obtido por CG/DCE de teste para extração de PCBs – Ascarel B – fração 2) *n*-hexano/acetona 70:30

APÊNDICE L - Cromatograma obtido por CG/EM de teste para extração de PCBs – Ascarel B – fração 2) *n*-hexano/acetona 70:30

**APÊNDICE M - Cromatograma obtido por CG/DCE de teste para extração de PCBs –
Afluente do reator A – fração 1) *n*-hexano**

**APÊNDICE N - Cromatograma obtido por CG/DCE de teste para extração de PCBs –
Afluente do reator A – fração 2) *n*-hexano/acetona 70:30**

**APÊNDICE O - Cromatograma obtido por CG/DCE de teste para extração de PCBs –
Afluente do reator B – fração 1) *n*-hexano**

APÊNDICE S - Cromatograma obtido por CG/DCE para extração L-L – teste (b) *n*-hexano/ CH_2Cl_2 70:30

APÊNDICE T - Cromatograma obtido por CG/DCE para extração L-L – teste (c) *n*-hexano/acetona 70:30

APÊNDICE U - Cromatograma obtido por CG/DCE para extração L-L – teste (d) ciclohexano

APÊNDICE V - Cromatograma obtido por CG/DCE para extração L-L – teste (e) n-pentano

APÊNDICE X - Cromatograma obtido por CG/DCE para extração L-L – teste (f) benzeno

APÊNDICE Y - Cromatograma obtido por CG/DCE para extração L-L – teste (g) tolueno