



Gabriela Costa Stoll

**Desenvolvimento de Método Analítico
para a Determinação de Resíduos de
Bifenilas Policloradas (PCBs) em Águas
Superficiais por Cromatografia Gasosa
Acoplada à Espectrometria de Massas em
Tandem**

Dissertação de Mestrado

Dissertação apresentada como requisito parcial
para obtenção do grau de Mestre pelo Programa de
Pós-Graduação em Química da PUC-Rio.

Orientador: Prof. Carlos German Massone

Rio de Janeiro
Julho de 2018



Gabriela Costa Stoll

Desenvolvimento de Método Analítico para a Determinação de Resíduos de Bifenilas Policloradas (PCBs) em Águas Superficiais por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas em Tandem

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Química da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada.

Prof. Carlos German Massone

Orientador
Departamento de Química - PUC-Rio

Prof. Tatiana Dillenburg Saint'Pierre

Departamento de Química - PUC- Rio

Prof. José Lailson Brito Junior

UERJ

Dr. Arthur de Lemos Scofield

Departamento de Química - PUC- Rio

Prof. Marcio da Silveira Carvalho

Coordenador Setorial do Centro
Técnico Científico - PUC-Rio

Rio de Janeiro, 30 de julho de 2018

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da universidade, do autor e do orientador.

Gabriela Costa Stoll

Graduou-se em Engenharia Química pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) em 2012. É Analista em Geociências – Engenheira Química na Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais (CPRM).

Ficha Catalográfica

Stoll, Gabriela Costa

Desenvolvimento de Método Analítico para a Determinação de Resíduos de Bifenilas Policloradas (PCBs) em Águas Superficiais por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas em Tandem / Gabriela Costa Stoll; orientador: Carlos German Masson. – Rio de Janeiro: PUC, Departamento de Química, 2018.

120f. : il. color. ; 30 cm

Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Química.

Inclui referências bibliográficas.

1. Química – Teses. 2. PCBs. 3. ASE. 4. SPE. 5. GC-MS/MS. I. Massone, Carlos German. II. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Química. III. Título.

CDD: 540

Agradecimentos

Agradeço, em primeiro lugar, às duas pessoas mais importantes da minha vida, aos meus pais, Mirela e Sérgio, por terem me ensinado que a felicidade está na simplicidade, que tudo o que desejo fortemente eu posso alcançar, que valores como respeito e compaixão devem sempre guiar nossas ações. Obrigada pelo apoio irrestrito, por estarem lado a lado encorajando minhas motivações, pela amizade e pelo companheirismo sempre presentes.

Às minhas avós, Lia e Edith, que vibram comigo a cada pequeno passo meu. Por toda a sabedoria e doçura que trazem à minha vida.

Ao meu orientador, Carlos Massone, pelas valiosas contribuições, pelas discussões, por toda a paciência e, especialmente, por me inspirar confiança e me manter tranquila.

Aos amigos que os estudos na PUC-Rio me trouxeram, agradeço em especial ao Igor, à Elizanne, à Laís Helena e à Cassiana, pelas trocas constantes de conhecimento e de afeto que tornaram essa caminhada mais leve.

Ao apoio dos colegas e amigos do LABMAM: Lorrana, Letícia Lazzari, Giulia, Laura, Otoniel, Milena, Ricardo, Arthur Scofield, Lilian, Camilla, Eline e Carolina.

Aos professores do Departamento de Química, pelos sólidos ensinamentos e pela dedicação em colaborar com a minha formação.

À Fátima Almeida, por toda a assistência e pelo carinho oferecidos aos alunos.

À Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio), pela bolsa de isenção de taxas acadêmicas e pela oportunidade de fazer parte desta grande instituição.

À Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais (CPRM), pela oportunidade de crescimento profissional constante.

À Doutora Maria Alice Ibañez Duarte, pelo incentivo na elaboração deste estudo.

A todos os meus colegas de trabalho do LAMIN, pelo convívio diário. À Alessandra Mundy, ao Alexandre Luís Santos, ao Américo Pinto, à Ana Barandas, à Cabrini de Souza, à Élide Teixeira, à Pamela de Souza, ao Paulo Brabo, ao Sandro Siqueira e ao Vinícius Moraes, pelo auxílio nos ensaios de rotina e nos questionamentos técnicos relativos a esta pesquisa.

A todos aqueles que nesses últimos dois anos se mostraram presentes e, de alguma maneira, influenciaram na construção deste trabalho.

Resumo

Stoll, Gabriela Costa; Massone, Carlos German. **Desenvolvimento de Método Analítico para a Determinação de Resíduos de Bifenilas Policloradas (PCBs) em Águas Superficiais por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas em Tandem.** Rio de Janeiro, 2018. 120p. Dissertação de Mestrado - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

Este trabalho consistiu na implementação, e consequente validação, de metodologia para determinação de bifenilas policloradas (PCBs) em amostras de água e material particulado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas em tandem (GC-MS/MS). O método de análise de água superficial foi desenvolvido para a determinação simultânea de 41 PCBs; utilizando a Extração Acelerada por Solvente (ASE) para o material particulado em suspensão e a Extração em Fase Sólida (SPE) para a fração dissolvida. A quantificação foi realizada no modo de Monitoramento Seletivo de Reação (SRM), com monitoramento de dois padrões de fragmentação m/z precursor-produto. A linearidade das curvas analíticas foi confirmada pelo valor do coeficiente de determinação (R^2), além do comportamento aleatório do gráfico de resíduos e pelo teste F na análise da variância (ANOVA) da regressão. A homocedasticidade dos dados foi confirmada pelo teste de Cochran. O Limite de Detecção (LD) para cada um dos dois métodos de extração utilizados variou de 0,06 a 0,50 ng L^{-1} para o SPE e 0,01 a 0,12 ng L^{-1} para o ASE. A repetibilidade, expressa através dos coeficientes de variação (CV), apresentou valores inferiores a 20 %. A recuperação média dos analitos variou de 60 % a 118 % quando da extração em fase sólida (SPE) e de 65 a 106 % para o material particulado suspenso. A seletividade do método foi avaliada pelo Teste F (Snedecor) de homogeneidade de variâncias e pelo Teste t (*Student*) de comparação de médias. Possíveis perdas durante o processo foram monitoradas pelo uso do padrão *surrogate* e encontraram-se em limites aceitáveis. O método validado foi aplicado para a análise da água do Canal do Mangue, região central do Rio de Janeiro, e o intervalo encontrado para o somatório de PCBs totais variou de 2,17 ng L^{-1} a 5,29 ng L^{-1} .

Palavras-chave

PCBs; ASE; SPE; GC-MS/MS.

Abstract

Stoll, Gabriela Costa; Massone, Carlos German (Advisor). **Method Development for Determination of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in Surface Water by Gas Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry**. Rio de Janeiro, 2018. 120p. Dissertação de Mestrado - Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

The aim of this work consists of the implementation and validation of a methodology for determination of polychlorinated biphenyls (PCBs) in water samples and particulate matter by gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry (GC-MS/MS). The surface water analysis method was developed for the simultaneous determination of 41 PCBs; using the Solvent Accelerated Extraction (ASE) for the suspended particulate matter and the Solid Phase Extraction (SPE) for the dissolved fraction. Quantification was performed in Selective Reaction Monitoring (SRM) mode, with monitoring of two m/z precursor-product fragmentation patterns. The linearity of the analytical curves was confirmed by the coefficient of determination (R^2), the random behavior of the residual plots and by the F test in the analysis of variance (ANOVA) for the regression. The homoscedasticity of the data was confirmed by the Cochran test. The limit of detection (LD) for each one of the two extraction methods used vary in a range of 0.06 to 0.50 ng L⁻¹ for the SPE and 0.01 to 0.12 ng L⁻¹ for the ASE. Regarding the repeatability studies, the coefficients of variation (CV) found were less than 20 %. The average recovery of the analytes ranged from 60 % to 118 % on Solid Phase Extraction (SPE) and from 65 to 106 % for the suspended particulate matter. The Method selectivity was evaluated by the F (Snedecor) test of homogeneity of variances and by the t-Test (Student) of means comparison. Possible losses during the process were monitored by using surrogate standards that were within acceptable limits. The validated method was further applied to analyze the surface water of Mangue Canal, central region of Rio de Janeiro, and the sum of total PCBs ranged from 2.17 ng L⁻¹ to 5.29 ng L⁻¹.

Keywords

PCBs; ASE; SPE; GC-MS/MS.

Sumário

1 Introdução	17
2 Objetivos	20
2.1. Objetivos Gerais	20
2.2. Objetivos Específicos	20
3 Revisão Bibliográfica e Fundamentos Teóricos	21
3.1. Bifenilas Policloradas (PCBs)	21
3.1.1. PCBs: Definição e Histórico	21
3.1.2. Nomenclatura e Propriedades Físico-químicas	24
3.1.3. Fontes de Exposição Humana e Ambiental	25
3.1.4. Efeitos dos PCBs à Saúde dos Seres Vivos	28
3.2. Área de Estudo	31
3.3. Metodologia Analítica para Determinação de PCBs em Água Superficial	35
3.3.1. PCBs no Material Particulado em Suspensão: Extração Acelerada por Solvente (ASE)	37
3.3.2. PCBs Dissolvidos na Solução Aquosa (Filtrado): Extração em Fase Sólida (SPE)	40
3.3.3. Análise dos Extratos por GC-MS/MS	45
4 Materiais e Métodos	48
4.1. Padrões, Reagentes e Solventes	48
4.2. Equipamentos e Acessórios	49
4.3. Implementação da Metodologia Analítica	50
4.3.1. Análise instrumental	50
4.3.2. Coleta e Preservação da Amostra	57
4.3.3. Preparação de Amostra	58
4.4. Validação do Método	64
4.4.1. Parâmetros de Desempenho do Processo de Validação Quantitativa	64
5 Resultados e Discussão	73
5.1. Parâmetros de Validação	73

5.1.1. Linearidade e Faixa Linear de Trabalho	73
5.1.2. Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)	82
5.1.3. Precisão (Repetibilidade)	84
5.1.4. Exatidão (Recuperação)	87
5.1.5. Seletividade	88
5.2. Aplicação do Método Validado	95
6 Conclusão	108
7 Referências bibliográficas	110

Lista de abreviaturas e siglas

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANA	Agência Nacional de Águas
ANOVA	Análise de Variância
Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
ASE	Extração Acelerada por Solvente
AWQC	<i>Ambient Water Quality Criteria</i>
BKF	<i>Backflush</i>
C₁₈ ec	<i>Octadecyl-modified Silica, Endcapped</i>
CMD	Concentração Média Determinada
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CV	Coefficiente de Variação
DCM	Diclorometano
DIC	Dissociação Induzida por Colisão
DL₅₀	Dose Letal Mediana
DNAPLs	Líquidos Densos de Fase não Aquosa
DPR	Desvio Padrão Relativo
ECD	Detector de Captura de Elétrons
LLE	Extração Líquido-Líquido
FWHM	<i>Full Width at Half Maximum</i> – Largura à Meia Altura
GC-MS-MS	Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas em Tandem
HPAs	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
HRGC-HRMS	Cromatografia Gasosa de Alta Resolução Acoplada à Espectrometria de Massa de Alta Resolução
Inmetro	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
K_{ow}	Coefficiente de Partição Octanol-água
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
LVI	Injeção de Grande Volume
MOD	Matéria Orgânica Dissolvida

MPS	Material Particulado em Suspensão
MRCs	Materiais de Referência Certificados
MRM	Monitoramento de Múltiplas Reações
NOAA	Administração Oceânica e Atmosférica Nacional dos EUA
OCDE	Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico
OCs	Organoclorados
PAHs	Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos
PCBs	Bifenilas Policloradas
PCDDs	Dioxinas
PCDFs	Furanos
PI	Padrão Interno
POPs	Poluentes Orgânicos Persistentes
PS	Padrão <i>Surrogate</i>
PTFE	Politetrafluoretileno
QqQ	Analizador do tipo Triplo Quadrupolo
SIM	Monitoramento de Íon Seleccionado
SPE	Extração em Fase Sólida
SPME	Microextração em Fase Sólida
SRM	Monitoramento Seletivo de Reação
USEPA	Agência de Proteção Ambiental dos EUA

Lista de figuras

Figura 1: Representação Genérica da Estrutura Molecular dos PCBs	21
Figura 2: Estimativa do uso global cumulativo de PCBs em toneladas entre os anos 1930 e 1993. Extraído de: (BREIVIK et al., 2002).	22
Figura 3: Mecanismo de Formação de PCDF a partir de bifenilas policloradas. Adaptado de: (PEREIRA, 2004).	27
Figura 4: Erupções acneiformes (cloracne) e pigmentação das unhas e gengivas causadas por exposição a PCBs. Extraído de: (URABE; ASAHI, 1985).	30
Figura 5: População da Bacia da Guanabara entre os anos de 1940 e 2000. Fonte: PDRH-BG (2003).	31
Figura 6: Mapa de Uso do Solo da Região da Bacia Hidrográfica da Baía de Guanabara. Fonte: INEA/ AABG.	33
Figura 7: Localização da baía de Guanabara no litoral sudeste brasileiro. A seta indica o Porto do Rio de Janeiro (HRJ). Extraído de: (SOARES-GOMES et al., 2016).	34
Figura 8: Ilustração do Sistema de Extração Acelerada por Solvente (ASE) e seus Principais Recursos operacionais. Fonte: ASE® 200 <i>Accelerated Solvent Extractor Operator's Manual</i> .	39
Figura 9: Comparação entre extração líquido-líquido (LLE) e extração em fase sólida (SPE) na análise de micropoluentes em água. Extraído de: (LANÇAS, 2004).	41
Figura 10: Etapas envolvidas na SPE: condicionamento do sorvente, adição da amostra, remoção dos interferentes e eluição do analito. Extraído de: SOUZA CALDAS et al. (2011).	42
Figura 11: Exemplo de interação entre um analito apolar (butil benzeno) e uma fase quimicamente ligada (C-18) operando no modo “fase reversa”. Extraído de: LANÇAS (2004).	44
Figura 12: Esquema de um Triplo Quadrupolo operando no modo Monitoramento Seletivo de Reação. Fonte: < https://www.slideshare.net/Chrom_Solutions/pesticide-residue-analysis-webinar-series-part-3-of-4-maximizing-analysis-efficiency-through-gcms-approaches >. Acesso em: 20 de junho de 2018.	47
Figura 13: Cromatogramas extraídos de íons, mostrando os congêneres	

de PCBs com graus de cloração de tri a decaclorados do padrão Mix (C-QME-01) com 41 PCBs (1 ng na coluna).	53
Figura 14: Representação da Estrutura Molecular do Padrão Interno (4,4'-dibromobifenil).	55
Figura 15: Representação das Estruturas Moleculares dos Padrões <i>Surrogate</i> 2,2',4,5',6-pentaclorobifenil (PCB 103) e 2,2',3,3',4,5,5',6-octaclorobifenil (PCB 198).	56
Figura 16: Sistema de extração em fase sólida em funcionamento, com utilização de um <i>manifold</i> .	60
Figura 17: Fluxograma Resumido do Processo de SPE.	63
Figura 18: Avaliação da homocedasticidade para os dados da curva analítica do PCB 205.	74
Figura 19: Avaliação da homocedasticidade para os dados da curva analítica do PCB 171.	74
Figura 20: Avaliação da homocedasticidade para os dados da curva analítica do PCB 87.	75
Figura 21: Avaliação da homocedasticidade para os dados da curva analítica dos PCBs 28 e 31.	75
Figura 22: Exemplos de curvas analíticas utilizadas nesse estudo.	76
Figura 23: Planilha desenvolvida em Microsoft Excel® para análise de dados por regressão para o PCB 74.	78
Figura 24: Planilha desenvolvida em Microsoft Excel® para análise de dados por regressão para o PCB 191.	79
Figura 25: Planilha desenvolvida em Microsoft Excel® para análise de dados por regressão para o PCB 170.	80
Figura 26: Planilha desenvolvida em Microsoft Excel® para análise de dados por regressão para o PCB 205	81
Figura 27: Perfil de pico cromatográfico para 6 analitos distintos para o ponto correspondente de 1 ng L ⁻¹ da curva de calibração na mesma corrida cromatográfica.	94
Figura 28: Comparação da resposta cromatográfica para os PCB 52 e PCB 149 na presença da matriz (análise do material particulado em suspensão -MPS) e na ausência de matriz (ponto da curva).	94
Figura 29: Principais rios tributários do Canal do Mangue; onde as linhas azuis representam os rios tributários e as linhas vermelhas o Canal do Mangue. Extraído de: DA SILVA (2017).	96

Figura 30 : Local das Coletas no Canal do Mangue. Fonte: Google Maps.	97
Figura 31: Padrão de distribuição médio dos PCBs encontrados nas amostras do Canal do Mangue em função do grau de cloração.	102
Figura 32: Padrão de distribuição percentual dos congêneres de PCBs nas misturas Aroclor 1254 e Aroclor 1260 em função do grau de cloração. Extraído de: (YOGUI, 2002).	102
Figura 33: Intervalos de concentração e valor médio de PCBs na água de estudos de diferentes rios, estuários e costas no mundo.	104

Lista de tabelas

Tabela 1: Configurações Instrumentais do GC-MS/MS	51
Tabela 2: Transições SRM Monitoradas e Energias de Colisão.	54
Tabela 3: Transições SRM monitoradas para o Padrão Interno (PI)	56
Tabela 4: Condições do Método para Extração Acelerada por Solvente	59
Tabela 5: Exemplo de critério de aceitação para repetibilidade.	68
Tabela 6: Exemplo de critério de aceitação para recuperação.	70
Tabela 7: Valores encontrados para o LD e LQ do Método para as duas diferentes extrações.	83
Tabela 8: Resultados de repetibilidade para os 41 PCBs utilizando Extração em Fase Sólida (SPE).	85
Tabela 9: Resultados de repetibilidade para os 41 PCBs utilizando Extração Acelerada por Solvente (ASE).	86
Tabela 10: Resultados de ensaios de recuperação para os 41 PCBs utilizando Extração em Fase Sólida (SPE).	87
Tabela 11: Resultados de ensaios de recuperação para os 41 PCBs utilizando Extração Acelerada por Solvente (ASE).	88
Tabela 12: Teste F para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 17 + PCB 18 utilizando Extração Acelerada por Solvente (ASE).	89
Tabela 13: Teste t para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 17 + PCB 18 utilizando Extração Acelerada por Solvente (ASE).	89
Tabela 14: Teste F para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 17 + PCB 18 utilizando Extração em Fase Sólida (SPE).	89
Tabela 15: Teste t para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 17 + PCB 18 utilizando Extração em Fase Sólida (SPE).	90
Tabela 16: Teste F para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 33 utilizando Extração Acelerada por Solvente (ASE).	90
Tabela 17: Teste t para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 33 utilizando Extração Acelerada por Solvente (ASE).	90
Tabela 18: Teste F para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 33 utilizando Extração em Fase Sólida (SPE).	90
Tabela 19: Teste t para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 33 utilizando Extração em Fase Sólida (SPE).	91
Tabela 20: Teste F para avaliação do efeito matriz na determinação do	

PCB 82 utilizando Extração Acelerada por Solvente (ASE).	91
Tabela 21: Teste t para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 82 utilizando Extração Acelerada por Solvente (ASE).	92
Tabela 22: Teste F para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 82 utilizando Extração em Fase Sólida (SPE).	92
Tabela 23: Teste t para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 82 utilizando Extração em Fase Sólida (SPE).	92
Tabela 24: Teste F para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 105 utilizando Extração Acelerada por Solvente (ASE).	92
Tabela 25: Teste t para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 105 utilizando Extração Acelerada por Solvente (ASE).	93
Tabela 26: Teste F para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 105 utilizando Extração em Fase Sólida (SPE).	93
Tabela 27: Teste t para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 105 utilizando Extração em Fase Sólida (SPE).	93
Tabela 28: Resultados da Coleta 1.	98
Tabela 29: Resultados da Coleta 2.	99
Tabela 30: Resultados da Coleta 3.	100

1 Introdução

Em 2001 na cidade de Estocolmo na Suécia, 152 países assinaram um tratado internacional, conhecido como Convenção de Estocolmo sobre os Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs), que incluiu as bifenilas policloradas (PCBs) entre os doze contaminantes banidos pela convenção. O tratado determina que os países signatários, entre eles o Brasil, adotem medidas de controle com monitoramento regular desses contaminantes prioritários (UNEP, 2001; RISSATO et al., 2006).

As bifenilas policloradas constituem um grupo de poluentes orgânicos caracterizados pela sua persistência, bioacumulação, bioampliação na biota, alta toxicidade e potencial de transporte à longa distância para regiões onde nunca foram utilizadas ou produzidas. Os PCBs são principalmente de origem industrial e foram intencionalmente produzidos e usados globalmente em transformadores e condensadores; como fluidos isolantes dielétricos resistentes a chamas; na mineração como óleos hidráulicos; na tinta de impressão, colas, resinas, plastificantes, etc. Tais poluentes possuem efeitos carcinogênicos, mutagênicos e teratogênicos e, em virtude de seus impactos deletérios no desenvolvimento e reprodução de todas as espécies biológicas, têm sido foco de extensa pesquisa e acompanhamento no ambiente. Soma-se a isso o fato de produtos comerciais contendo PCBs serem potencialmente capazes de gerar, por queima ineficiente, compostos ainda mais tóxicos, como dioxinas e furanos (PEREIRA, 2004; RISSATO et al., 2006; GAKUBA et al., 2015).

Os PCBs podem ser uma das classes mais apropriadas de substâncias químicas a serem empregadas para modelar o comportamento ambiental de poluentes orgânicos persistentes, uma vez que eles compreendem 209 congêneres de PCBs com uma ampla gama de propriedades físico-químicas e, também, porque são onipresentes no meio ambiente. Apesar de restritos, seus resíduos ainda podem ser encontrados em diferentes matrizes ambientais. Além disso, dados sobre sua distribuição espacial e particionamento são úteis para verificar concentrações previstas por modelos de destino ambiental (KOBAYASHI et al., 2010; GAKUBA et al., 2015).

A contaminação organoclorada é monitorada pela medição dos níveis nos compartimentos do ecossistema inorgânico (água, ar e sedimento) e/ou na biota. O primeiro tem a vantagem de produzir uma medida imediata e geograficamente localizada de contaminação. Os sistemas de água drenam através da captação toda a superfície da terra e os grandes rios são geralmente o receptáculo final de poluentes, incluindo compostos orgânicos. Assim, a investigação de PCBs em ambientes aquáticos é a principal fonte de informações sobre o impacto antropogênico no meio ambiente e as concentrações servem como indicadores de carga contaminante (RISSATO et al., 2006; MONTUORI et al., 2016). Os cursos d'água dos rios quando atravessam grandes cidades em geral perdem a capacidade de autopurificação levando a mudanças profundas na biota aquática, onde a consequência principal pode ser a perda da biodiversidade (BRITO et al., 2018).

A água é um recurso finito fundamental para a manutenção da vida e, segundo a UNESCO (2015), a falta desse recurso já afeta aproximadamente 40% da população mundial. Nos países em desenvolvimento, a conjunção de fatores como demanda e degradação da qualidade da água resulta em um problema crítico. Além da disponibilidade em quantidade suficiente, os recursos hídricos precisam atender a requisitos de qualidade em termos de parâmetros físicos, químicos e biológicos necessários aos múltiplos usos como o abastecimento público, dessedentação de animais, irrigação, produção industrial, proteção de comunidades aquáticas, entre outros (BRASIL, 2005; MENDES et al., 2011; BRITO et al., 2018).

Devido ao elevado número de isômeros envolvidos, a identificação e a quantificação de PCBs requerem técnicas instrumentais sofisticadas, que sejam capazes de alcançar baixos limites de detecção que atendam às legislações rigorosas para os POPs em análises ambientais. Durante anos, a técnica analítica de determinação de PCBs mais utilizada foi a cromatografia gasosa (GC) acoplada ao detector de captura de elétrons (ECD). Embora o ECD seja um sistema de detecção muito sensível para compostos halogenados, a identificação inequívoca é dificultada, em se tratando de uma técnica de detecção não específica que produz sinal para compostos não-alvo, gerando frequente interpretação incorreta. Um grande número de publicações resultou de pesquisas sobre aplicações ambientais de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS), permitindo, além da quantificação, a confirmação estrutural do composto. Técnicas novas ou aprimoradas foram desenvolvidas para fortalecer a capacidade de medição e hoje a técnica de cromatografia gasosa de alta

resolução acoplada à espectrometria de massa de alta resolução (HRGC-HRMS) permite a quantificação simultânea dos 209 congêneres de PCBs com alta seletividade e baixos limites de detecção (SANTOS; GALCERAN, 2003; PEREIRA, 2004; FOCANT et al., 2008; TANG, 2013).

Novas pesquisas apontam a espectrometria de massa em tandem (MS/MS) como uma alternativa atraente à HRGC-HRMS, na medida em que oferece precisão e baixos limites de quantificação, ainda que aquém da alta resolução, com requisitos técnicos e custos operacionais muito menores. A especificidade da técnica de GC-MS/MS, usando analisador do tipo triplo quadrupolo (QqQ), permite minimizar ou mesmo eliminar interferências da matriz, melhorando a seletividade e a sensibilidade devido à possibilidade de aplicar monitoramento seletivo de reação (SRM). Neste tipo de varredura, para cada composto analisado é monitorada a fragmentação de íons precursores selecionados no primeiro quadrupolo aos seus correspondentes íons produtos, gerados com diferentes energias de colisão (SANTOS; GALCERAN, 2003; ZHANG et al., 2004; CHIARADIA et al., 2008).

2 Objetivos

2.1. Objetivos Gerais

O presente trabalho teve como objetivo desenvolver uma metodologia analítica confiável e robusta para a determinação simultânea de 41 bifenilas policloradas (PCBs) em águas superficiais através de detecção e quantificação por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas em tandem (GC-MS/MS).

2.2. Objetivos Específicos

- Seguir a diretiva quadro europeia sobre a água (DQA, Diretiva 2000/60/CE) que exige investigação de toda a amostra de água superficial, incluindo o material particulado em suspensão (MPS); mediante procedimento para determinação de PCBs, tanto na fração dissolvida quanto no MPS.

- Desenvolver metodologia de preparo de amostra que promova o isolamento e a concentração dos analitos de forma eficiente; Empregando Extração Acelerada por Solvente (ASE) para o material particulado em suspensão e Extração em Fase Sólida (SPE) para a fração dissolvida.

- Comprovar o potencial da técnica de GC-MS/MS, operando no modo Monitoramento Seletivo de Reação (SRM), na determinação de resíduos de PCBs em água superficial de maneira a fornecer limites de detecção baixos e alta sensibilidade e seletividade.

- Garantir a qualidade dos resultados analíticos através da validação do método desenvolvido; por exame e fornecimento de evidência objetiva de que os requisitos específicos para um determinado uso pretendido são atendidos com a escolha de parâmetros de desempenho adequados.

- Aplicar o método validado a um estudo de caso que determine o somatório dos 41 PCBs no Canal do Mangue, localizado na região central da cidade do Rio de Janeiro.

3

Revisão Bibliográfica e Fundamentos Teóricos

3.1.

Bifenilas Policloradas (PCBs)

3.1.1.

PCBs: Definição e Histórico

As Bifenilas Policloradas (PCBs) são compostos orgânicos sintetizados pelo Homem que consistem em dois anéis de benzeno ligados por uma ligação simples carbono-carbono, com 1 a 10 dos átomos de hidrogênio substituídos por cloro nas posições disponíveis de 2 a 6 e de 2' a 6' dos anéis aromáticos, conforme mostrado na Figura 1. A massa molecular desses compostos compreende a faixa de 188 g mol^{-1} a 494 g mol^{-1} e sua fórmula molecular é representada por $\text{C}_{12}\text{H}_{(10-n)}\text{Cl}_n$, na qual n pode apresentar valores entre 1 e 10 (WHO, 2003). A síntese de PCBs envolve a cloração de estruturas bifenilas na presença de um catalisador, dependendo o grau de cloração das condições da reação (BREIVIK et al., 2002).

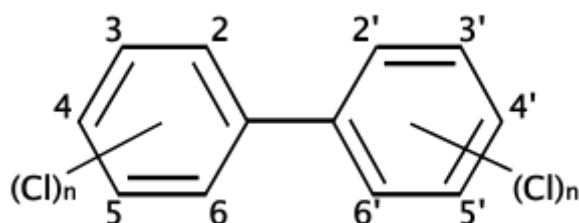


Figura 1: Representação Genérica da Estrutura Molecular dos PCBs

Esse grupo de produtos químicos foi produzido pela primeira vez em torno de 1880 por Schmidt & Schulz na Alemanha, entretanto somente a partir de 1929 sua produção em escala industrial iniciou. Desde a última metade da década de 1950, a produção de PCBs nos países membros da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE) aumentou drasticamente e atingiu seu pico no final da década de 1960, contribuindo substancialmente para a produção mundial (TANABE, 1988).

A utilização industrial generalizada de produtos de PCBs deveu-se às suas propriedades físico-químicas especiais, tais como estabilidade química e térmica, baixa volatilidade, propriedades dielétricas, não inflamabilidade, alto ponto de ebulição e miscibilidade com solventes orgânicos. Com base nessas vantagens, os PCBs foram utilizados em centenas de aplicações industriais e comerciais, incluindo fluidos de transferência de calor, lubrificantes hidráulicos, fluidos dielétricos para transformadores e capacitores, plastificantes, extensores de cera, adesivos, diluentes orgânicos, agentes dispersantes, papel de reprodução autocopiativo e retardadores de chama. Além disso, eles foram usados para muitos produtos domésticos, como vernizes e tintas, e ainda como pesticidas nos Estados Unidos (CHATEL et al., 2017).

Segundo Breivik et al (2002) as estimativas representam uma produção global de aproximadamente 1,3 milhões de toneladas de PCBs, dos quais mais de 70 % são bifenilas tri, tetra e pentacloradas. Os resultados sugerem ainda que quase 97 % do uso histórico global de PCBs ocorreu no Hemisfério Norte. A Figura 2 mostra o padrão estimado de consumo global acumulado para PCBs totais e compreende estimativas para 114 países individuais, durante o período compreendido entre os anos 1930 e 1993. Avalia-se que os EUA tenham sido responsáveis por aproximadamente 46 % do consumo total de PCBs. Outros países consumidores importantes incluem a Rússia (7,9 %), a Alemanha (7,1 %), o Japão (4,1 %), a França (4,1 %), o Canadá (3,0 %), a Ucrânia (2,4 %), a Espanha (2,4 %), a Itália (2,1 %) e Reino Unido (2,0 %).

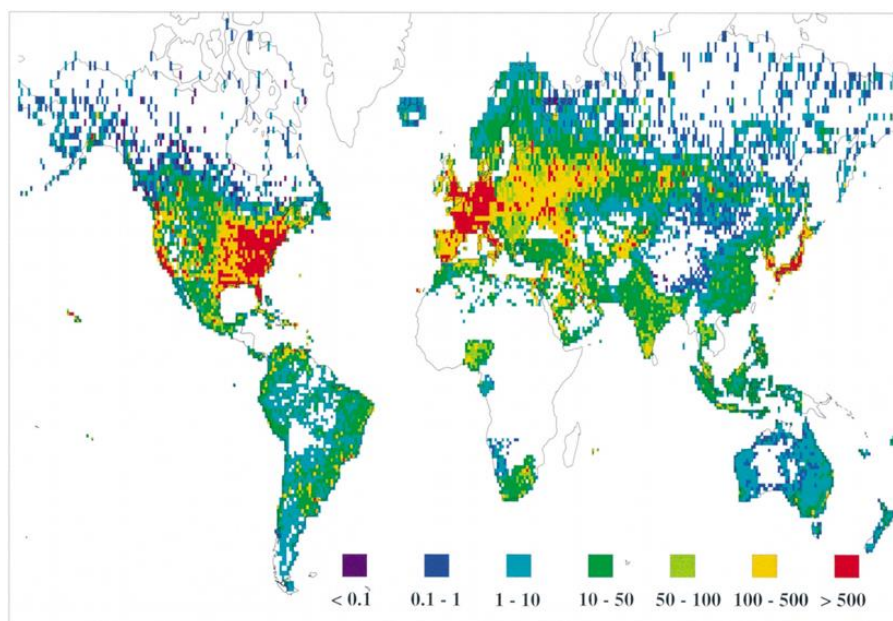


Figura 2: Estimativa do uso global cumulativo de PCBs em toneladas entre os anos 1930 e 1993. Extraído de: (BREIVIK et al., 2002).

A comercialização de PCBs ocorreu em forma de misturas e, dependendo da formulação e do país onde foram produzidas, receberam denominações diferentes das quais podemos exemplificar: na França com a marca “Phenoclor®”; no Japão “Kanechlor®”; na Alemanha “Clophen®”, na Itália “Fenclor®” e nos Estados Unidos pela Monsanto, que foi o principal produtor mundial, com a marca “Aroclor®”, sendo comercializado no Brasil com nome “Ascarel®”. As misturas comercializadas pela Monsanto possuíam uma variedade de formulações diferentes entre si em relação à quantidade e tipos de congêneres presentes. Cada Aroclor pode ser identificado por um código de quatro dígitos. Em geral, os dois primeiros dígitos significam o número de átomos de carbono nos dois anéis benzênicos, enquanto os dois últimos dígitos representam a porcentagem em massa de cloro presente na estrutura. O Aroclor 1254, por exemplo, contém 12 átomos de carbono na estrutura bifenil e 54 por cento de cloro em massa da molécula (PENTEADO; VAZ, 2001; KUEPER et al., 2003).

O primeiro reconhecimento da contaminação ambiental por bifenilas policloradas (PCBs) foi feito por Sören Jensen, do Instituto de Química Analítica da Universidade de Estocolmo na Suécia em 1966. Jensen encontrou PCBs em amostras de peixe, de água e de cabelo humano. Desde então, os PCBs foram reconhecidos como um dos poluentes mais recalcitrantes no meio ambiente (OSEMWENGIE; SOVOCOL, 2013). Dessa maneira, após sua toxicidade ser reconhecida e, devido às complicações à saúde dos seres vivos e ao impacto ao meio ambiente, o uso e produção de PCBs foram severamente restritos ou banidos em muitos países. Os pioneiros foram Japão e Suécia em 1972, os Estados Unidos o fizeram em 1977, a Noruega em 1980, a Finlândia em 1985 e a Dinamarca em 1986 (SILVA et al., 2007).

A Convenção Internacional de Estocolmo sobre Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) reconhece os PCBs entre os produtos químicos mais perigosos do mundo e os classificam entre os doze primeiros grupos de contaminantes a serem proibidos pela convenção, com o objetivo de reduzir e/ou eliminar esses poluentes persistentes e tóxicos (UNEP, 2001).

O Brasil proibiu a produção, a comercialização e o uso de PCBs, por meio da Portaria Interministerial 19, de 2 de janeiro de 1981. Todavia, ainda permite o funcionamento de equipamentos já instalados, até sua substituição integral ou a troca do fluido dielétrico por produto isento de PCBs. Dois anos depois, o Ministério do Interior estabeleceu a Instrução Normativa 001 SEMA/STC/CRC, de

10 de junho de 1983, que disciplina as condições de armazenamento, manuseio e transporte de PCBs e/ou resíduos contaminados (PENTEADO; VAZ, 2001).

3.1.2. Nomenclatura e Propriedades Físico-químicas

Uma vez que se observa diversas formas de substituição e diferentes graus de cloração na estrutura bifenila; poderá existir, portanto, 209 congêneres de PCBs diferentes, dependendo da posição e do número de cloros na molécula. Nem todos os congêneres foram identificados em produtos comerciais ou misturas técnicas. De acordo com estudos, apenas 130 congêneres são prováveis de ocorrer em misturas comerciais (UNEP, 2001; SILVA; FERREIRA, 2003; SILVA et al., 2007).

O sistema de numeração proposto pela IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada) considera a posição relativa dos átomos de cloro na estrutura bifenila, observando que a posição 1 é reservada à ligação entres os anéis. A contar da posição 1, no anel da esquerda, as posições são numeradas em ordem crescente no sentido anti-horário. Por outro lado, no anel da direita as posições são numeradas em ordem crescente também, porém em sentido horário e apresentam um índice para diferenciar do outro anel. Essa nomenclatura adotada para denotar os padrões de substituição de cloro nas 209 bifenilas policloradas (PCBs) é relativamente complexa. Os nomes para compostos distintos podem incluir listas longas de substituintes, diferindo apenas por um único dígito ou a colocação de um índice. Para facilitar essa classificação, Ballschmiter e Zell criaram um sistema no qual os congêneres individuais de PCB recebem um número, que vai desde PCB 1 (2-clorobifenil) até PCB 209 (2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-decaclorobifenil) (BREIVIK et al., 2002; MILLS et al., 2007).

Os anéis de benzeno possuem a capacidade de rotacionar em torno da ligação que os une, atingindo duas conformações extremas: a planar ou coplanar e a não planar, na qual os planos onde os anéis estão inseridos encontram-se perpendiculares. O grau em que os anéis podem torcer entre essas duas situações limites é estabelecido em função do impedimento estérico dos átomos eletronegativos de cloro, substituídos em diferentes posições em cada molécula. A orientação não-planar é gerada por múltiplas substituições nas posições *orto* (2, 2', 6, e 6'). Em contrapartida, moléculas que não possuem substituições nas posições *orto* ou ainda são mono *orto* substituídas são consideradas planares.

Além disso, somente moléculas *orto* substituídas, em um ou ambos os anéis, podem ser moléculas polares com a capacidade de formar pontes de hidrogênio e, por conseguinte, podem apresentar maior solubilidade em água. Os congêneres considerados mais tóxicos são os coplanares que, por vezes, se assemelham às dioxinas (WHO, 2003).

Os PCBs possuem caráter lipofílico e, em geral, sua solubilidade em água diminui com o aumento do número de cloros na molécula. Ademais, átomos de cloro na posição *para* parecem contribuir mais para a lipofilicidade dos PCBs do que átomos de cloro na posição *orto* e *meta*, sendo a ordem de importância para o aumento da lipofilicidade a seguinte: *para*, *meta* e *orto*. Por conseguinte, o número de átomos de cloro na molécula, mas também a posição e proximidade destes substituintes são determinantes para o valor do coeficiente de partição octanol-água K_{ow} . Esse coeficiente mede a razão da concentração, quando em equilíbrio, após a dissolução do composto em um sistema de duas fases imiscíveis, no caso a água e o octanol (SILVA; FERREIRA, 2003).

3.1.3. Fontes de Exposição Humana e Ambiental

Os PCBs foram produzidos em escala industrial durante mais de cinquenta anos e foram exportados como produtos químicos para praticamente todos os países do mundo, mas sua presença no meio ambiente não foi aparente até o detector de captura de elétrons (ECD) ser amplamente aplicado em análises cromatográficas a gás. Isso se deve ao fato de o detector ECD ser bastante sensível e apresentar especificidade para compostos halogenados. As investigações posteriores à sua primeira detecção mostraram que esses poluentes são onipresentes (LANG, 1992; CHATEL et al., 2017).

Contaminações ambientais graves de PCBs foram documentadas em áreas urbanas e altamente industrializadas como, por exemplo, os Grandes Lagos, o Mar Báltico e a Baía de Tóquio. A contaminação generalizada de PCBs também foi evidenciada pela sua detecção em várias amostras ambientais de regiões polares tais como no ar, na água, incluindo neve e gelo, em peixe, em aves e ainda em mamíferos. Os achados de PCBs na atmosfera do oceano aberto, nas águas superficiais e águas subterrâneas e em vários organismos também garantiram sua penetração em todo o ambiente global. A ubiquidade ambiental dos PCBs sugere a importância da atmosfera como meio de transporte para áreas remotas, processo chamado de destilação global (TANABE, 1988).

Evidências indicam que a maioria dos poluentes orgânicos persistentes (POPs) são voláteis o suficiente para evaporar e depositar entre o ar, a água e o solo em temperaturas ambientais comuns. As temperaturas quentes favorecem a evaporação da superfície da Terra em regiões tropicais e subtropicais. Temperaturas frias em latitudes mais altas favorecem a deposição, a partir da atmosfera, no solo e na água. Vários fatores estão envolvidos na tendência dos POPs a se condensar, depositar e acumular nos ecossistemas frios. Temperaturas frias, por exemplo, favorecem uma maior adsorção desses compostos ao material particulado atmosférico, que então se deposita na superfície. Reações naturais de decomposição também diminuem no frio, permitindo que os POPs permaneçam intactos por mais tempo e se tornem ainda mais persistentes. POPs de volatilidades diferentes migram através da atmosfera global a diferentes velocidades, o que provoca o chamado fracionamento global, semelhante à destilação fracionada, durante sua jornada em direção aos polos (WANIA; MACKAY, 1996).

Modelos de destino químico dos POPs no ambiente global sugerem que três fenômenos relacionados devem ser observados. Primeiro, as concentrações de POPs relativamente móveis no solo, na água e em outros meios não gasosos aumentam em um gradiente a partir dos pontos de liberação quentes no ambiente para pontos de migração frios. Na verdade, haverá um gradiente de concentração "invertido", com baixas concentrações nos trópicos e altas concentrações nas regiões polares. Em segundo lugar, as misturas contaminantes podem mudar de composição, com os constituintes mais voláteis sendo mais prevalentes em latitudes mais altas. Terceiro, se houver uma liberação de "pulso" de poluentes nos trópicos, o produto químico se moverá em direção aos polos, mas essa migração levará certo tempo. Na realidade, no entanto, a maioria dos POPs sofrerá retenção e/ou degradação em suas áreas de origem ou em sua rota, e nunca chegarão às regiões polares. Entretanto, altas concentrações podem ocorrer mesmo se uma pequena parte do inventário global migrar para as regiões polares por se tratarem de regiões pequenas em área, e representando apenas 13,4 % de toda a superfície global (WANIA; MACKAY, 1996).

No passado, os PCBs eram frequentemente misturados com fluidos transportadores, tais como clorobenzenos e óleo mineral, antes de sua distribuição. Dependendo da combinação particular de congêneres presentes e do tipo de fluido transportador, a densidade da maioria dos óleos de PCBs encontrados na prática varia de aproximadamente 1.100 a 1.500 kg m⁻³, enquanto a viscosidade varia de aproximadamente 10 a 50 cP. A densidade relativamente

alta de óleos de PCBs indica que a escala de tempo da migração pode ser relativamente curta, mas sua viscosidade relativamente alta resulta em uma faixa intermediária de escalas temporais de migração, demonstrando antagonismo de efeitos. Isso significa que os líquidos densos de fase não aquosa (DNAPLs) de PCBs ainda podem estar migrando em alguns locais onde foram introduzidos na subsuperfície nas últimas décadas (KUEPER et al., 2003).

Atualmente, uma das principais vias de acesso de PCBs no meio ambiente advém do descarte inadequado de equipamentos eletroeletrônicos obsoletos. Uma vez no meio ambiente, essas substâncias são bastante persistentes e podem ser transportados para ambientes aquáticos por descargas fluviais, escoamento continental e ainda por deposição atmosférica, seca ou úmida. Por outro lado, a partir do solo e/ou de corpos hídricos, os PCBs dispõem da possibilidade de voltar ao ar por volatilização, especialmente aqueles menos clorados, como demonstrado por estudos de cinética de evaporação. Os organismos aquáticos são muito eficientes na acumulação desses produtos químicos em consequência de suas fontes de dieta e do ambiente onde vivem, resultando em concentração extremamente alta em seu corpo (DERCOVÁ et al., 1996; WU et al., 2008; YU et al., 2014).

A contaminação ambiental também pode ser evidenciada a partir da incineração de lixo industrial e/ou municipal. A queima ineficiente de PCBs pode produzir subprodutos de combustão ainda mais perigosos que seus geradores, como, por exemplo, os furanos (PCDFs), conforme reação representada na Figura 3. Além disso, a combustão de produtos comerciais contendo PCBs e benzenos clorados em sua formulação, no caso de alguns fluidos dielétricos, pode dar origem às dioxinas (PCDDs) (SCHWANZ, 2011).

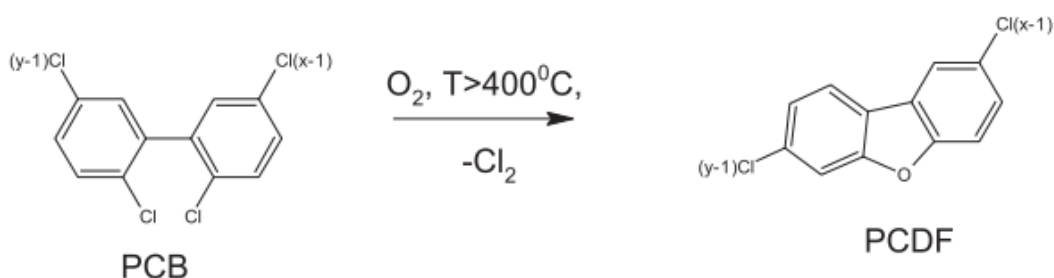


Figura 3: Mecanismo de Formação de PCDF a partir de bifenilas policloradas. Adaptado de: (PEREIRA, 2004).

As bifenilas policloradas são absorvidas pelo Homem e por animais através da pele, dos pulmões e do trato gastrointestinal. Uma vez dentro do corpo, os PCBs são transportados através da corrente sanguínea e propiciam o processo de bioacumulação no fígado, em músculos e nos tecidos adiposos (BORJA et al., 2005).

A maior parte da população está exposta aos PCBs através do ar, da ingestão de água e alimentos. Não obstante, a principal forma de exposição acredita-se ser através do consumo de alimentos contaminados, em especial carne, peixe e frango. O consumo de peixes em áreas contaminadas com organoclorados revela ser uma importante fonte de exposição aos humanos. As bifenilas policloradas conseguem atravessar a barreira da placenta, causando significativa exposição pré-natal. Soma-se a isso o fato de serem excretadas no leite materno, expondo recém-nascidos a concentrações relativamente altas do poluente (SILVA et al., 2007).

Dois acidentes significativos envolvendo contaminação de alimentos por PCBs e conseqüente exposição direta de humanos, serviram para consolidar a percepção de seus riscos à saúde ambiental. O primeiro desses envenenamentos ocorreu no Japão em 1968 (Yusho) e um segundo episódio semelhante ocorreu em Taiwan em 1979 (Yu- Cheng). Em ambos os casos, ingeriu-se óleo de arroz contaminado com PCBs através do vazamento de fluido de transferência de calor do equipamento durante o processamento (ROSS, 2004).

3.1.4. Efeitos dos PCBs à Saúde dos Seres Vivos

Os PCBs podem sofrer bioacumulação e biomagnificação ao longo da teia alimentar. Bioacumulação é o mecanismo pelo qual ocorre armazenamento do contaminante no organismo, resultante da diferença entre a taxa de absorção e a de eliminação. Já a Biomagnificação resulta do processo de acúmulo progressivo do contaminante nos tecidos dos organismos vivos na passagem de cada nível trófico da cadeia alimentar. Dessa maneira, o Homem por ocupar o topo da cadeia trófica está suscetível a um maior risco de exposição a estes contaminantes (PENTEADO; VAZ, 2001).

As taxas de assimilação e de excreção dos PCBs pelos seres vivos variam conforme o número de átomos de cloro e sua distribuição espacial na molécula congênere, demonstrando a influência de fatores, tais como impedimento estérico e a hidrossolubilidade das moléculas nessas taxas. Os PCBs com poucos átomos

de cloro e baixo valor K_{ow} são mais rapidamente excretados, enquanto PCBs com grande quantidade de átomos de cloro na molécula são excretados mais lentamente e, entre os motivos, se destaca a diminuição de sítios ativos disponíveis para o ataque metabólico (PENTEADO; VAZ, 2001; WHO, 2003).

As bifenilas policloradas possuem baixa à moderada toxicidade. Estudos em amostras de animais apresentaram DL_{50} , dose letal mediana, variando de $0,5 \text{ g kg}^{-1}$ a $11,3 \text{ g kg}^{-1}$ de peso corporal. A maioria dos efeitos causados por esses poluentes advém da exposição repetitiva ou crônica somada à incapacidade ou baixa taxa de depuração, que acarretam nos fenômenos supracitados, bioacumulação e biomagnificação. Pesquisas mostram que os PCBs causam uma variedade de efeitos adversos para a saúde; dependendo da via de exposição, de variações na população, como idade, sexo ou susceptibilidade individual e da área do corpo onde estão concentrados (BORJA et al., 2005).

A relação entre a exposição a PCBs e os efeitos na saúde humana está sujeita à grande variedade de congêneres que podem ser encontrados nas formulações. Evidências indicam que, entre os efeitos dos PCBs sobre a saúde estão: o aumento do risco de câncer no sistema digestivo, principalmente câncer no fígado e melanoma maligno; deficiências reprodutivas, como taxas de crescimento reduzidas, retardos no desenvolvimento e efeitos neurológicos (embora algumas deficiências neurológicas em idade precoce possam desaparecer mais tarde durante a infância); alterações imunológicas, como aumento das taxas de infecção e alterações nas populações de linfócitos circulantes; e alterações dermatológicas, incluindo cloracne e distúrbios de pigmentação na pele, nas unhas e nas gengivas, bem como a deformação das unhas após a exposição a congêneres altamente clorados (Figura 4). Dados sugerem que o potencial tumorigênico decresce com a diminuição da cloração e, também, sugerem que a posição dos cloros na molécula de PCB é determinante na carcinogenicidade (WHO, 2003; ROSS, 2004).

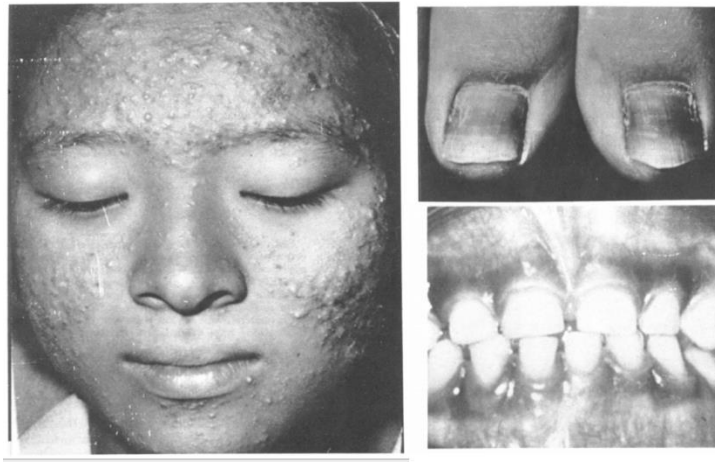


Figura 4: Erupções acneiformes (cloracne) e pigmentação das unhas e gengivas causadas por exposição a PCBs. Extraído de: (URABE; ASAHI, 1985).

3.2. Área de Estudo

A Região Metropolitana do Rio de Janeiro possui a segunda maior densidade demográfica entre as regiões metropolitanas do Brasil, aproximadamente 2100 hab km⁻² e um alto grau de urbanização (INEA, 2009). Entre as décadas de 1950 e 1980, a bacia da Guanabara sofreu um crescimento populacional acelerado, em consequência do aumento da taxa de natalidade, bem como do aumento do fluxo migratório, devido ao desenvolvimento industrial ao redor da baía de Guanabara, conforme mostrado na Figura 5. Infelizmente, várias formas de impactos antropogênicos ameaçam o meio ambiente desde o início da colonização europeia. Hoje em dia, os arredores da baía são fortemente urbanizados e a baía de Guanabara recebe insumos de esgoto industrial e doméstico, assim como resíduos de culturas agrícolas com elevada carga poluidora (KJERFVE et al., 2001; XAVIER DE BRITO et al., 2002; MAUAD, 2014).

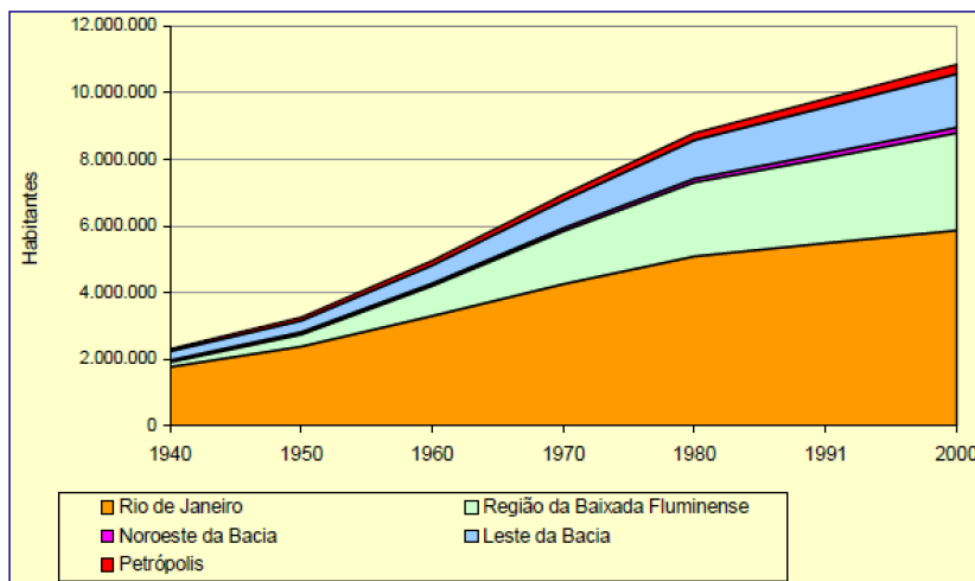


Figura 5: População da Bacia da Guanabara entre os anos de 1940 e 2000.

Fonte: PDRH-BG (2003).

A Região Hidrográfica da Guanabara possui em torno de 4.080 km², com aproximadamente 11,5 milhões de habitantes, equivalente a aproximadamente 73 % da população do Estado do Rio de Janeiro, de acordo com o Censo de 2010. A atividade industrial na região metropolitana é tradicional e contava com cerca de 14.483 empresas em 2012, representando 60,4 % das unidades do estado,

com perfil altamente diversificado em tipos e tamanhos, indicando forte potencial poluidor. Dessas empresas, 98 estão relacionadas a indústrias de extração de petróleo e gás, 50 empresas de fabricação de produtos de coque, petroquímicos e biocombustíveis e 518 empresas de produtos químicos em geral. A maioria dessas empresas está situada nas bacias hidrográficas das baías de Guanabara e Sepetiba, bem como em sistemas adjacentes; sendo suas águas frequentemente o destino final de resíduos industriais (IBGE, 2010; IBGE, 2014).

Atualmente, a Baía de Guanabara possui superfície de 348 km², com volume médio de 1,87 x 10⁹ m³ e perímetro de 131 km. Da superfície contínua de água, 40 km² são ocupados por ilhas, sendo de 11,4 dias o tempo médio de renovação de 50 % das águas da baía. Em direção ao interior da baía este tempo é mais longo, favorecendo a criação de zonas de eutrofização altamente poluídas. A baía possui profundidade média de 6 m, atingindo mais de 30 m no canal central (JICA, 1994; COELHO, 2007).

Os rios e canais que deságuam na baía atravessam áreas altamente urbanizadas, recebendo todos os tipos de efluentes. A qualidade da água dos rios reflete o tipo e a intensidade da ocupação do solo (Figura 6). Por conseguinte, os rios da porção oeste da baía apresentam nível de integridade condicionado à forte ocupação dos limites geográficos de cada sub-bacia, com grande influência dos esgotos sanitários. Em contrapartida, em sua grande maioria, os rios ao norte refletem condições menos intensas de ocupação urbana e industrial (JICA, 1994; PDRH-BG, 2003; BORGES et al., 2014).

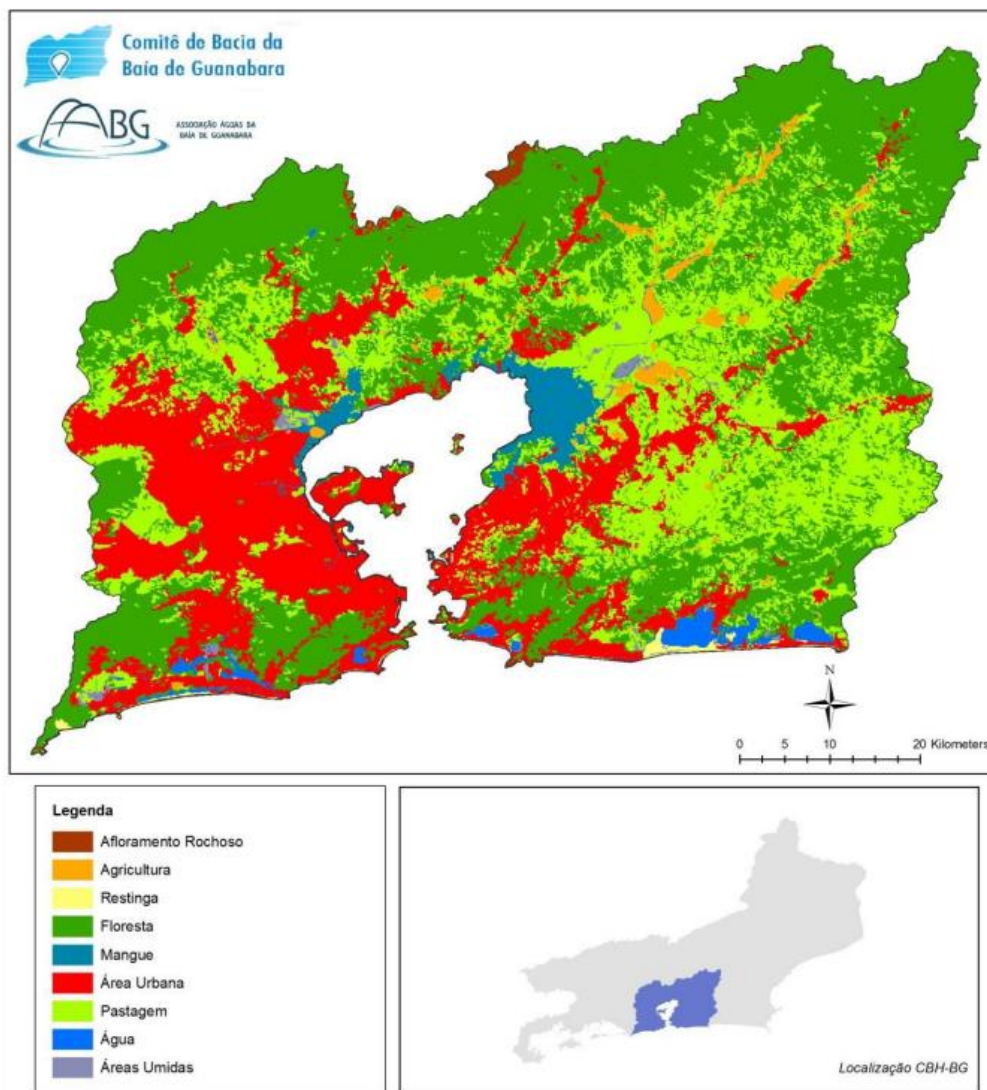


Figura 6: Mapa de Uso do Solo da Região da Bacia Hidrográfica da Baía de Guanabara. Fonte: INEA/ AABG.

A principal área portuária da Baía de Guanabara é o Porto do Rio de Janeiro, inserido em um contexto urbano bastante complexo no coração da área metropolitana do Rio de Janeiro, a maior concentração urbana da região costeira e o segundo centro econômico e populacional no Brasil (Figura 7). O porto opera o transporte de automóveis, de recipientes genéricos (eletrônicos, petroquímicos, peças automotivas, rolos de papel, produtos siderúrgicos e cargas a granel, como ferro-gusa e trigo) e o turismo (SOARES-GOMES et al., 2016).

A Baía de Guanabara possui extrema importância ambiental e socioeconômica para seus municípios. Seu atual estado de degradação ambiental compromete sua biodiversidade e expõe as populações humanas de seus arredores a riscos, quando do uso de suas águas para lazer, transporte ou para

sua subsistência (SOARES-GOMES et al., 2016). A investigação de PCBs em ambientes aquáticos é a principal fonte de informação sobre o impacto antropogênico no meio ambiente e as concentrações servem como indicadores de carga de contaminantes (MONTUORI et al., 2016b).

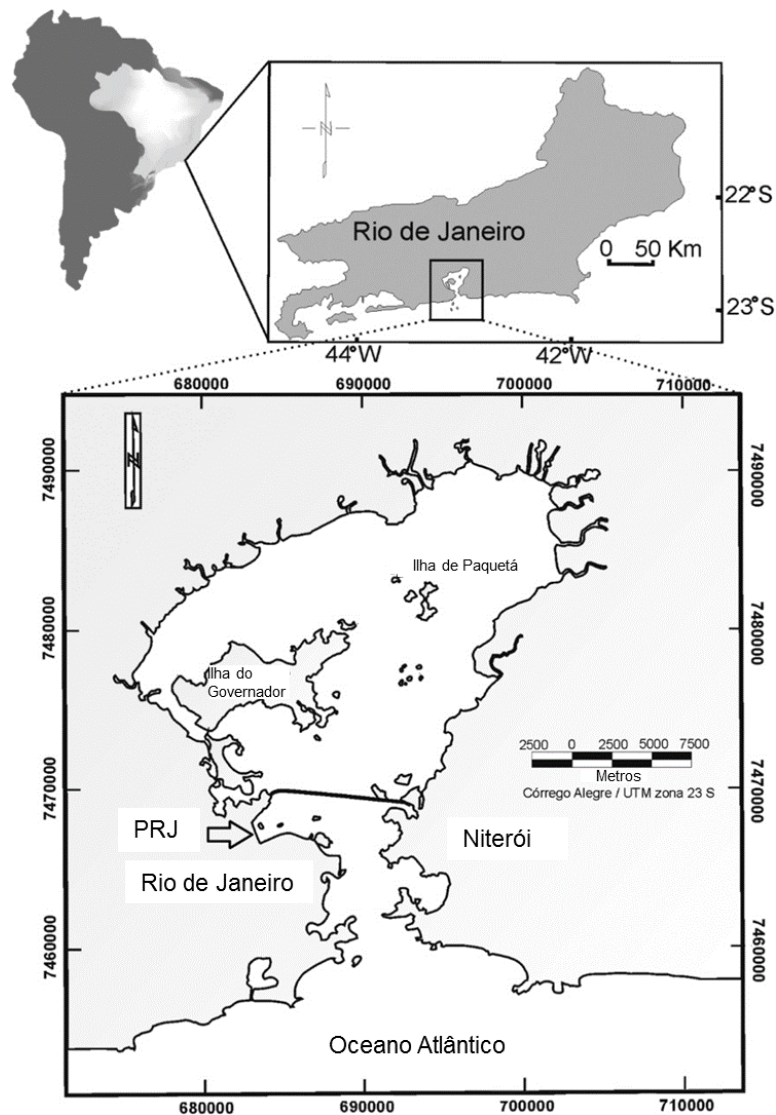


Figura 7: Localização da baía de Guanabara no litoral sudeste brasileiro. A seta indica o Porto do Rio de Janeiro (PRJ). Adaptado de: (SOARES-GOMES et al., 2016).

3.3. Metodologia Analítica para Determinação de PCBs em Água Superficial

Com a finalidade de obter êxito em uma análise qualitativa ou quantitativa, além da escolha da técnica analítica a ser utilizada, é fundamental a realização de uma correta amostragem, transporte e armazenamento da amostra. Outro aspecto que merece atenção é o preparo da amostra que, em geral, é a primeira etapa de uma análise química e visa eliminar impurezas ou interferentes. Uma das etapas mais críticas envolvidas na análise de misturas presentes em matrizes complexas consiste na extração e isolamento dos analitos de interesse; sendo essa etapa responsável pelas maiores fontes de erro como perdas do analito, contaminação pelo ambiente, extração incompleta do analito da amostra, entre outras (LANÇAS, 2004; STRELAU, 2013).

A extração de compostos orgânicos de matrizes ambientais pode ser realizada de várias maneiras como utilizando solventes polares, apolares, pouco polares, fluido supercrítico ou ainda hidrólise enzimática. Além disso, a extração, frequentemente, também exerce a função de uma pré-concentração, que poderá ser alcançada pela extração em fase sólida (SPE), microextração em fase sólida (SPME), extração líquido-líquido (LLE), extração com resinas de troca iônica e catiônica, etc (STRELAU, 2013).

A escolha do método de preparo de amostra e do equipamento a ser utilizado para qualificação e/ou quantificação final dependerá de uma série de fatores, tais como: disponibilidade, adaptabilidade, capacidade total do método, tempo de análise, facilidade de recuperação, custos envolvidos, sensibilidade, exatidão, precisão, repetibilidade, faixa linear, limites de detecção e quantificação, características química da matriz, bem como dos analitos, dentre outros. Atualmente, existe um elevado número de técnicas analíticas disponíveis com o propósito de realizar a extração de formas orgânicas do ambiente (STRELAU, 2013; LACHTER, 2017).

A presença de material particulado em suspensão (MPS) muitas vezes perturba a análise da água superficial por métodos convencionais, como extração líquido-líquido (LLE) ou extração em fase sólida (SPE); resultando em extração insuficiente ou em obstrução dos cartuchos, por exemplo. O material particulado em suspensão (MPS) consiste em partículas orgânicas e inorgânicas flutuando na água. As características de superfície do MPS podem variar significativamente, desde partículas de pequena área superficial específica, como a areia, até

partículas de superfícies muito bem desenvolvidas, tais como partículas provenientes da combustão (WOLSKA et al., 1999; ERGER et al., 2012).

Devido à sua baixa solubilidade em água e ao seu carácter hidrofóbico, os PCBs são facilmente adsorvidos pelo material particulado suspenso, bem como absorvidos por ácidos húmicos e fúlvicos, lipídios e proteínas, formando nesse segundo caso a matéria orgânica dissolvida (MOD). O resultado da extração realizada na presença de MPS depende da combinação de diferentes processos como: equilíbrio de sorção dos analitos entre a fase aquosa e a suspensão durante o transporte e armazenamento da amostra; eficiência da extração de analito da fase aquosa; eficiência da extração de analito a partir da matéria em suspensão (quando da extração da fase aquosa). Invariavelmente, o resultado da determinação da concentração de PCBs na água depende sempre das propriedades do material particulado em suspensão e do conteúdo de MPS de uma amostra. A diretiva quadro europeia sobre a água (DQA, Diretiva 2000/60/CE) exige explicitamente uma investigação de toda a amostra de água, incluindo o material particulado em suspensão, porque muitas substâncias perigosas prioritárias adsorvem substancialmente ao MPS (WOLSKA et al., 1999; ERGER et al., 2012).

Em virtude de todas essas ressalvas, julga-se necessário que o procedimento para determinação de PCBs em águas superficiais deva incluir o isolamento do material particulado em suspensão. Sem esse passo, é praticamente impossível extrair todos os analitos das partículas. No caso da extração líquido-líquido, o solvente orgânico não pode efetivamente entrar em contato com as partículas cercadas por água. Já no caso da extração em fase sólida (SPE), o tempo de contato entre o material particulado preso no cartucho e o solvente é muito curto para extração efetiva. Em vista disso, com o objetivo de obter recuperações quantitativas de analitos do MPS é necessário isolar o material particulado, remover a água e então realizar a extração com um solvente sob condições otimizadas. Além disso, a separação de MPS elimina muitos problemas técnicos, incluindo o entupimento de cartuchos de SPE. Por fim, o conteúdo analítico pode ser determinado de forma independente para as duas fases envolvidas (WOLSKA et al., 1999; ERGER et al., 2012).

Conforme evidenciado pelos valores de coeficientes de partição octanol-água para os PCBs ($K_{ow} > 4$), os níveis de concentração desses poluentes na água são tipicamente muito baixos (ng L^{-1} ou inferiores), o que torna necessário incorporar um passo de concentração no procedimento analítico. Este passo é muitas vezes combinado com troca de matriz para uma que é mais compatível

com o método de determinação final, geralmente cromatografia líquida ou gasosa. A Extração em fase sólida é uma opção de técnica de extração fácil, rápida e eficiente, que utiliza pequenos volumes de solvente orgânico e tem potencial para automação (WOLSKA et al., 1999; SILVA; FERREIRA, M., 2003; ERGER et al., 2012).

A quantificação de muitos poluentes orgânicos persistentes (POPs), em diversos meios e matrizes, é tradicionalmente realizada usando-se técnicas cromatográficas, em função da facilidade para efetuar separações, identificar, quantificar e confirmar de forma inequívoca níveis muito baixos desses poluentes. O legado dos POPs, incluindo os PCBs, são geralmente semivoláteis e, portanto, passíveis de cromatografia gasosa. A cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas em série (*tandem mass spectrometry*, MS/MS) é uma técnica relativamente nova para identificar e quantificar contaminantes orgânicos em amostras ambientais. O GC-MS/MS fornece seletividade e sensibilidade aprimoradas em comparação com o GC/MS convencional. Especificamente, a utilização de MS em tandem pode efetivamente reduzir a interferência de compostos extraídos concomitantemente e os efeitos da matriz de amostra; resultando em aumento da relação sinal-ruído e, finalmente, limites robustos de detecção (CHIARADIA et al., 2008; ZHANG et al., 2015; LACHTER, 2017).

Estudos recentes indicam que a técnica de GC-MS/MS é uma alternativa atraente para a cromatografia gasosa de alta resolução/espectrometria de massas de alta resolução (HRGC/ HRMS), pois fornece precisão e baixos limites de quantificação, embora aquém da alta resolução, com requisitos técnicos e custos operacionais muito menores àqueles associados à HRGC/HRMS (ZHANG et al., 2015).

3.3.1. PCBs no Material Particulado em Suspensão: Extração Acelerada por Solvente (ASE)

A extração acelerada por solvente (ASE) é uma técnica de preparo de amostras que oferece uma série de vantagens como baixo custo de extração, menor consumo de solvente, menor tempo de procedimento e protocolos de extração simplificados. A ASE possibilita um aumento da eficiência de extração, uma vez que opera automaticamente, a pressão e temperatura elevadas, usando pequenos volumes de solventes orgânicos tradicionais para extrair compostos de amostras sólidas ou semissólidas (WANG et al., 1999).

O uso de temperaturas mais altas aumenta a capacidade dos solventes para solubilizar os analitos. Além disso, a solubilidade da água em solventes orgânicos também aumentará com o aumento da temperatura, facilitando o acesso a possíveis poros da amostra selados com água e aos analitos neles contidos. O aumento da temperatura de extração também proporciona taxas de difusão de massa mais rápidas. Soma-se aos fatores já citados, o fato de que temperaturas altas podem interromper as fortes interações soluto-matriz causadas pelas forças de van der Waals, ligações de hidrogênio e interações dipolo entre as moléculas de soluto e sítios ativos da matriz. Dessa maneira, as energias térmicas diminuem a energia de ativação necessária para o processo de dessorção. Por fim, as temperaturas elevadas também diminuem a viscosidade e a tensão superficial do solvente, permitindo assim uma melhor penetração e “molhabilidade” da matriz, facilitando o contato com os analitos e sua consequente extração (RICHTER et al., 1996).

O uso da pressão elevada sobre o solvente se justifica para que possam ser utilizadas temperaturas acima do ponto de ebulição. O emprego de temperaturas elevadas e as vantagens associadas a isso seriam excluídos sem o uso de pressões elevadas para manter os solventes como líquidos. O aumento de pressão também facilita extrações de amostras nas quais os analitos encontram-se presos nos poros da matriz e que, sob pressão atmosférica, não seriam alcançados pelo solvente extrator (RICHTER et al., 1996).

Na ASE, a amostra é colocada em uma célula de extração feita, em geral, de aço inoxidável, conforme ilustra a Figura 8. Após a adição do solvente, a célula é pressurizada, aquecida até a temperatura desejada e a amostra é extraída estaticamente por um período de tempo específico. Dessa forma, o solvente permanece em contato com a amostra por tempo suficiente para promover o aumento da transferência de massa e resultar em maior recuperação dos analitos. O ciclo pode ser repetido com a introdução de solvente fresco e essa renovação do solvente na célula melhora a transferência de massa, uma vez que o gradiente de concentração é maior entre o solvente fresco e a superfície da matriz da amostra. (ROMANIK et al., 2007; CHO et al., 2008). ASE é uma técnica de extração totalmente automatizada e confiável, com muitas vantagens em relação às técnicas de extração tradicionais, por isso pode ser especialmente útil para análises de rotina. Entre essas vantagens estão boas recuperações, rapidez, precisão adequada e menor uso de solventes. Além do mais, por ser realizada de forma automática, observa-se uma redução de perda e/ ou contaminação devido

à manipulação da amostra. Como desvantagem podemos citar o elevado custo do equipamento (LAU et al., 2010; SUN et al., 2012).

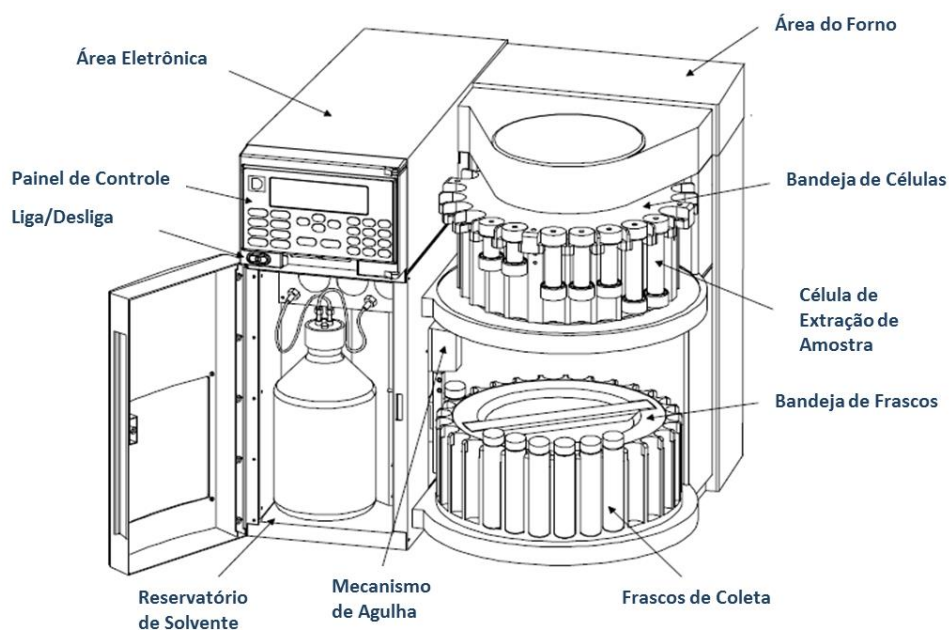


Figura 8: Ilustração do Sistema de Extração Acelerada por Solvente (ASE) e seus Principais Recursos operacionais. Fonte: ASE® 200 *Accelerated Solvent Extractor Operator's Manual*.

Um dos parâmetros de fundamental influência na eficiência da ASE é a escolha do solvente de extração; que deve ser capaz de solubilizar os analitos de interesse bem como deve minimizar a coextração de outros componentes da matriz. Ao escolher o solvente de extração, também é importante ponderar a compatibilidade com as possíveis etapas de tratamento posteriores (por exemplo, o *clean up*, a pré-concentração do analito alvo ou ainda a técnica analítica a ser utilizada), bem como a volatilidade do solvente deve ser averiguada quando necessária a concentração do extrato. A polaridade do solvente deve ser próxima a do composto alvo (CARABIAS-MARTÍNEZ et al., 2005).

Tradicionalmente, a recuperação de PCBs de matrizes ambientais vinha sendo realizada por extração de Soxhlet ou técnicas de sonicação. Essas técnicas são muitas vezes demoradas e requerem grandes volumes de solvente orgânico, adicionando custos ao processo devido a taxas associadas à compra e à disposição desses solventes tóxicos. Mediante o exposto, técnicas de extração alternativas que reduzam o volume de uso de solvente e o tempo de extração devem ser consideradas. Por exemplo, algumas das técnicas mais recentes são

extração com micro-ondas, extração com fluido supercrítico e extração acelerada por solvente. Os resultados da recuperação de PCBs para matrizes orgânicas estudadas demonstraram recuperações via ASE comparáveis ou ligeiramente superiores aos resultados de recuperação na extração em Soxhlet (ABRHA; RAGHAVAN, 2000).

3.3.2.

PCBs Dissolvidos na Solução Aquosa (Filtrado): Extração em Fase Sólida (SPE)

A determinação direta de micropoluentes orgânicos em água pelos métodos disponíveis atualmente é dificultada pelo fato desses poluentes estarem presentes na fase aquosa em concentrações extremamente baixas. A natureza hidrofóbica dos PCBs exige um preparo da amostra de água que inclui diferentes passos, os quais permitem a extração e o enriquecimento de PCBs com alta seletividade. De acordo com a orientação da Agência de Proteção Ambiental dos EUA (USEPA), a concentração de PCBs deve ser inferior a 14 ng L^{-1} para que a água seja considerada segura para a saúde aquática e humana (FONT et al., 1996; LANÇAS, 2004; ZHANG et al., 2004).

Métodos tradicionais de preparo da amostra, tal como a extração líquido-líquido, demandam grandes volumes de solventes orgânicos, possuem custo elevado, são de difícil automação, são trabalhosos e geralmente apresentam pequena repetibilidade e reprodutibilidade em decorrência das várias etapas requeridas envolvendo o analito de interesse. Além da extração líquido-líquido, várias outras técnicas têm sido aplicadas com finalidade semelhante; incluindo destilação, filtração, centrifugação, cromatografia líquida preparativa em coluna aberta, entre outras. Nesse sentido, novas técnicas que consomem menos tempo, que são efetivas e que requerem uma menor quantidade de solventes vêm sendo desenvolvidas e aplicadas para a extração de compostos orgânicos em amostras aquosas. Destacam-se, entre essas técnicas, a extração em fase sólida, a microextração em fase sólida, a extração sortiva em barra magnética e a microextração líquido-líquido dispersiva. A Figura 9 ilustra um comparativo entre as etapas envolvidas na extração líquido-líquido e na extração em fase sólida para a análise de pesticidas clorados em uma amostra de água (LANÇAS, 2004; CALDAS et al., 2011).

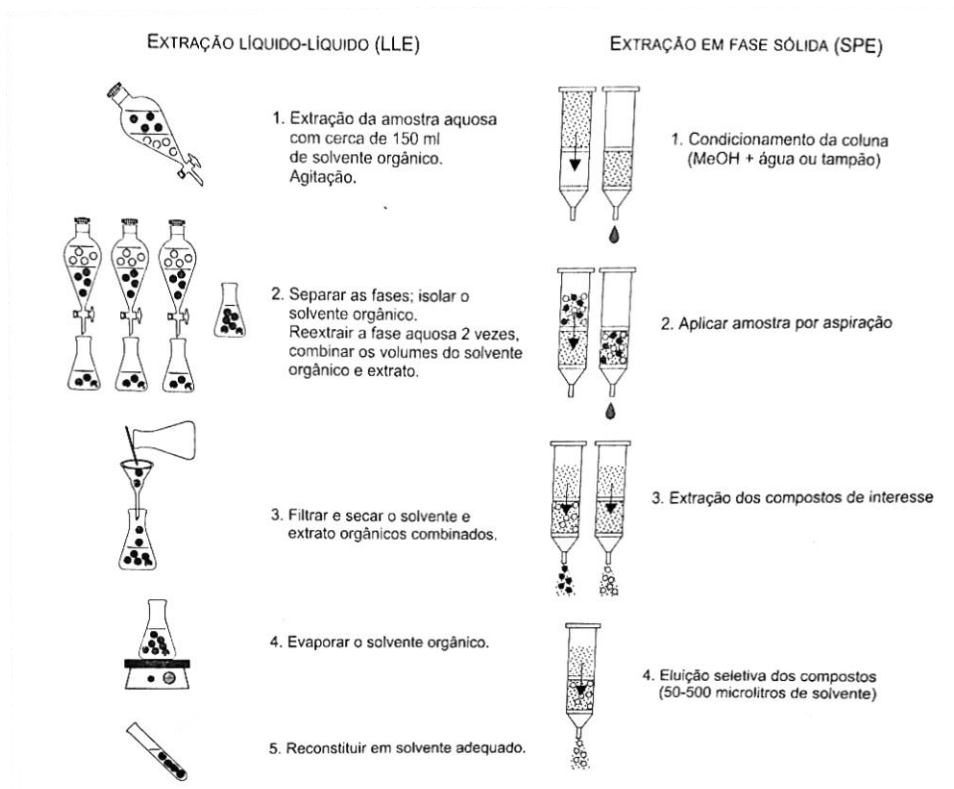


Figura 9: Comparação entre extração líquido-líquido (LLE) e extração em fase sólida (SPE) na análise de micropoluentes em água. Extraído de: (LANÇAS, 2004).

Na técnica de extração em fase sólida (SPE), introduzida em meados da década de 1970, um composto é isolado de uma amostra líquida por diferença de solubilidade relativa entre uma fase móvel líquida e uma fase estacionária sólida. Do ponto de vista prático, a SPE, em sua forma mais simples e conhecida, comporta-se como uma cromatografia líquida de baixa pressão, utilizando-se uma pequena coluna aberta, denominada cartucho de extração, a qual contém a fase estacionária sólida. A amostra contendo os analitos de interesse é passada através do cartucho sob pequeno vácuo ou pressionada levemente com uma seringa ou gás. Depois de escoada toda a solução líquida, os analitos de interesse retidos no cartucho são eluídos com solvente de força apropriada e em pequena quantidade, com a finalidade de obter o analito em concentração já compatível com a técnica analítica subsequente (FONT et al., 1996; LANÇAS, 2004).

As principais etapas do SPE resumem-se no condicionamento do cartucho, percolação da amostra/sorção dos analitos no material sorvente, eliminação dos interferentes da matriz (*clean up*), eluição dos analitos e posterior concentração do composto de interesse, conforme exemplificado na Figura 10.

Dependendo do objetivo do experimento, algumas etapas podem ser adaptadas, modificadas ou até mesmo suprimidas (LANÇAS, 2004; CALDAS et al., 2011).

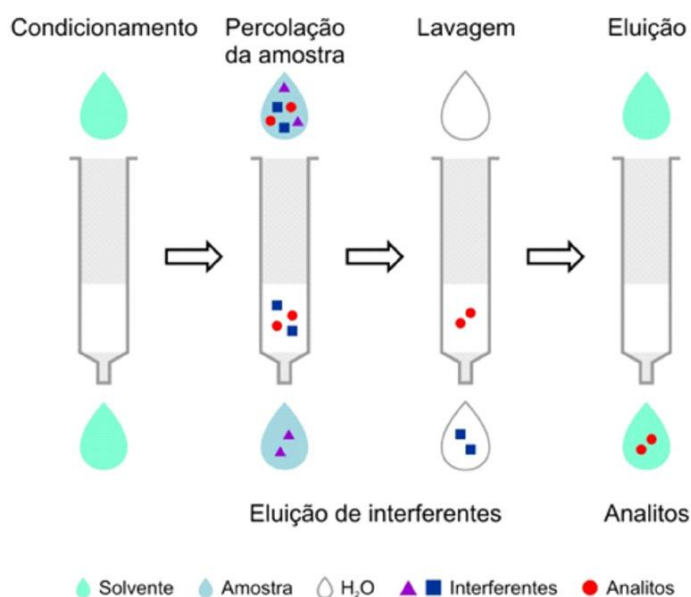


Figura 10: Etapas envolvidas na SPE: condicionamento do sorvente, adição da amostra, remoção dos interferentes e eluição do analito. Extraído de: SOUZA CALDAS et al. (2011).

A etapa de condicionamento destina-se a ativar o material sorvente, perpassando solventes orgânicos ou água através dos cartuchos com a finalidade de aumentar a área de superfície efetiva e, também, reduzir interferências. É importante não permitir que o cartucho seque com o intuito de evitar possíveis problemas, dentre os quais a formação de caminhos preferenciais que poderiam vir a comprometer a separação. Em seguida a amostra é transferida através do cartucho de forma quantitativa, garantindo resultados reprodutíveis. A taxa de aplicação da amostra é um fator importante para a eficácia da extração e deve ser lenta com o objetivo de assegurar altas recuperações dos analitos. Se houver necessidade de remoção de interferentes antes da eluição do analito de interesse, uma etapa de *clean up* poderá ser utilizada. Nessa etapa uma lavagem visa a eliminação desses interferentes com um solvente que não possua força suficiente para arrancar o analito de interesse do material de empacotamento. Por fim, procede-se com a eluição dos analitos através da escolha de um solvente apropriado que deve eluir os analitos e minimizar a eluição de interferentes que não tenham sido eliminados na etapa anterior, por estarem muito retidos no

sorvente (LANÇAS, 2004; ERGER; SCHMIDT; TORSTEN, 2014; ANDRADE-EIROA et al., 2016).

A escolha do solvente de eluição é um parâmetro relevante e está diretamente relacionado com a polaridade do analito de interesse, com as características da matriz e dos interferentes e com o sorvente usado na SPE. Na prática, observa-se que o uso de duas alíquotas do eluente, em vez de uma única em volume maior, aumenta a eficiência da extração. A eluição deve ser feita lentamente para permitir a umidificação do sorvente e a completa transferência de fase para o solvente. O ideal é eluir o analito de interesse em um pequeno volume de eluente, de maneira que a solução coletada já esteja em uma concentração adequada para posterior análise. Recomenda-se que o volume de eluição seja de 2 a 5 vezes o volume do cartucho (LANÇAS, 2004; CALDAS et al., 2011; ERGER; SCHMIDT; TORSTEN, 2014; SABIK et al., 2015).

As interações do analito-sorvente se dividem em três categorias: não-polares, polares e iônicas; e dependem da natureza do grupo ligado à sílica ou do copolímero que constitui a fase sólida do cartucho. A escolha da fase sólida apropriada depende da natureza do analito a ser isolado e da matriz na qual ele se encontra. Os principais mecanismos de separação atualmente em uso em SPE são adsorção, partição (fase normal ou fase reversa), troca iônica e exclusão por tamanho. Esses mecanismos estão relacionados a processos químicos e processos físicos que operam durante a separação. Dentre as principais forças químicas atuantes entre as moléculas do material sorvente e do analito, destacam-se as forças iônicas, ligações de hidrogênio, interações do tipo dipolo-dipolo, dipolo-dipolo induzido e dipolo induzido- dipolo induzido (LANÇAS, 2004; SABIK et al., 2015).

O sorvente mais usual é a sílica modificada com C_{18} , empregada principalmente para a extração de compostos não-polares em matrizes aquosas; tais como pesticidas organoclorados, pesticidas organofosforados, herbicidas, inseticidas, bifenilas policloradas, ésteres de ftalato, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos entre outros. O principal mecanismo de separação observado é o mecanismo da partição. Neste caso, a fase estacionária pode ser considerada um líquido que é imobilizado em um suporte sólido e o princípio é semelhante ao da extração líquido-líquido (LLE), envolvendo uma partição de solutos ou processos de distribuição entre a amostra líquida e o líquido imobilizado em uma fase estacionária. De forma análoga à cromatografia líquida, quando a fase estacionária é menos polar que a fase móvel, como no caso do C_{18} e amostras aquosas, o termo fase reversa é empregado. Sempre que os analitos de interesse

forem menos polares que as impurezas, uma fase sólida operando no modo fase reversa é recomendada; a Figura 11 mostra um exemplo desse tipo de interação (LANÇAS, 2004; ERGER; SCHMIDT, TORSTEN, 2014; ANDRADE-EIROA et al., 2016).

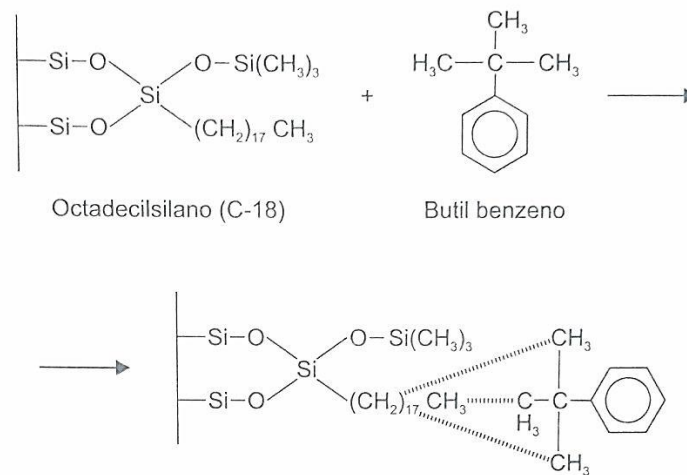


Figura 11: Exemplo de interação entre um analito apolar (butil benzeno) e uma fase quimicamente ligada (C₁₈) operando no modo “fase reversa”. Extraído de: LANÇAS (2004).

3.3.3. Análise dos Extratos por GC-MS/MS

As metodologias analíticas devem ser capazes de determinar com precisão os níveis de concentração muito baixos estabelecidos pela legislação e também devem fornecer evidências inequívocas para confirmar a identidade e a magnitude de qualquer poluente detectado. A cromatografia gasosa (GC) tem sido a técnica escolhida para a análise de amostras ambientais contendo compostos orgânicos semivoláteis e voláteis, em razão de sua combinação favorável de alta seletividade e resolução, boa precisão e exatidão, ampla faixa de concentração dinâmica e alta sensibilidade (HERNÁNDEZ et al., 2005; PITARCH et al., 2007).

A cromatografia gasosa com detecção por captura de elétrons (GC-ECD) vem sendo amplamente empregada para a determinação de organoclorados, entre os quais podemos incluir os PCBs, porém atualmente, a espectrometria de massa (MS) emergiu como uma das ferramentas mais poderosas para a aquisição de informações sobre composição e estrutura de compostos orgânicos, a fim de verificar a identidade do pico cromatográfico em uma variedade de matrizes ambientais e alimentares. Existem inúmeras aplicações na análise de água com base em GC acoplada à MS; como a determinação de HPA's, pesticidas, PCBs, fenóis e alguns procedimentos multirresíduo para a determinação de poluentes orgânicos prioritários e persistentes. Embora o GC/MS, operando em modo de monitoramento de íons selecionados, seja bastante utilizado na determinação de micropoluentes orgânicos em amostras ambientais, a análise em nível traço em matrizes complexas, como amostras biológicas, torna-se problemática devido às interferências por componentes da matriz. A especificidade da espectrometria de massa em tandem (MS/MS), usando analisadores de armadilha de íons ou analisadores do tipo triplo quadrupolo (QqQ), nos permite minimizar ou mesmo eliminar muitas dessas interferências, melhorando a seletividade, bem como a sensibilidade, devido à possibilidade de seleção adequada de precursores e produtos, com ruído químico muito menor nos cromatogramas (HERNÁNDEZ et al., 2005; PITARCH et al., 2007).

A utilidade dos espectros de íons do produto para a identificação absoluta em níveis de traço em amostras ambientais juntamente com a facilidade de uso e baixo custo, em comparação com o analisador QqQ, fez dos analisadores de armadilha de íons uma técnica amplamente utilizada para a determinação de compostos orgânicos na água. No entanto, o uso de duas etapas de análise de massa em sistemas MS/MS com base em detecção por triplo quadrupolo (QqQ)

oferece a possibilidade de aplicar Monitoramento Seletivo de Reação (SRM), uma das abordagens mais seletivas e sensíveis para quantificação e confirmação, especialmente na análise de traços na qual normalmente existe alto ruído químico de fundo envolvido (HERNÁNDEZ et al., 2005; PITARCH et al., 2007).

A análise de compostos orgânicos pela técnica de GC-MS/MS com analisadores triplo quadrupolo vem motivando estudos devido a suas vantagens evidentes. Os primeiros trabalhos sobre o uso de analisadores triplo quadrupolo foram publicados nos anos 80 e 90, nos quais o QqQ foi testado para a determinação de orgânicos, dioxinas e dibenzofuranos no meio ambiente. No entanto, a primeira aplicação com a nova geração de instrumentos triplo quadrupolo data de 2003, onde o potencial da técnica foi investigado para a análise de dioxinas e furanos em peixes e moscas vermelhas. Nos últimos anos, esta abordagem tem sido aplicada principalmente à determinação de pesticidas em frutas e vegetais, alimentos, gorduras e óleos e PCBs em amostras ambientais. Esses estudos enfatizaram o fato de que o GC-MS/MS (QqQ) oferece excelente seletividade, sensibilidade e ganho no tempo de análise total, permitindo a identificação e quantificação simultâneas de analitos (HERNÁNDEZ et al., 2005; PITARCH et al., 2007).

A espectrometria de massas em tandem (MS/MS), no lugar de utilizar apenas um analisador de massas para discriminar os íons de mesma razão m/z gerados na fonte de ionização, utiliza dois estágios de espectrometria de massas (MS1 e MS2), dos quais um deles é usado para isolar o íon de interesse e o outro para estabelecer uma relação entre este íon de interesse isolado e outros íons que foram gerados a partir da sua decomposição induzida (CHIARADIA et al., 2008).

Entre os analisadores de massas em tandem está o triplo quadrupolo (Figura 12) que é constituído por três quadrupolos em série, sendo que o segundo quadrupolo não é utilizado para discriminar íons de mesma razão m/z , mas sim como cela de colisão, na qual ocorre a fragmentação dos íons selecionados no primeiro quadrupolo geralmente por dissociação induzida por colisão com um gás inerte (*collision-induced dissociation*- DIC) utilizando diferentes energias de colisão. O segundo quadrupolo também é responsável por direcionar os íons produzidos ao terceiro quadrupolo. Na DIC, o íon precursor proveniente do primeiro quadrupolo é acelerado por um potencial elétrico para uma região de alto vácuo no interior do segundo quadrupolo, onde sofre repetidas colisões com um gás inerte de elevada energia (geralmente Ar, He ou N₂), o que ocasiona um

aumento na energia potencial deste íon até culminar em sua fragmentação, conduzindo à formação dos íons produto (CHIARADIA et al., 2008).

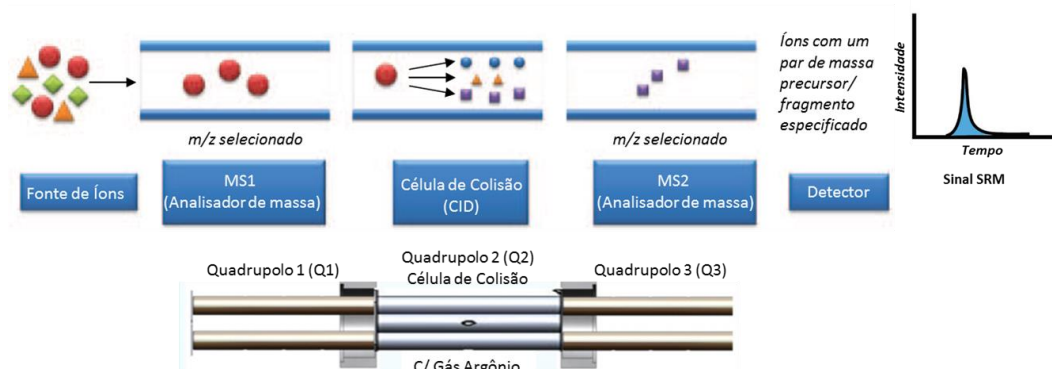


Figura 12: Esquema de um Triplo Quadrupolo operando no modo Monitoramento Seletivo de Reação. Adaptado de: <https://www.slideshare.net/Chrom_Solutions/pesticide-residue-analysis-webinar-series-part-3-of-4-maximizing-analysis-efficiency-through-gcms-approaches>. Acesso em: 20 de junho de 2018.

Dessa maneira, conforme explanado acima, esta técnica permite a quantificação mesmo em misturas complexas e segue o protocolo de confirmação para cada composto com pelo menos dois monitoramentos precursor-produto. A implementação da análise no modo Monitoramento Seletivo de Reação, também conhecido como Monitoramento de Múltiplas Reações, em que cada analito possui diferentes íons precursores e íons produtos, formados com diferentes energias de colisão; é bastante complexa, tendo em vista a otimização da fragmentação dupla de cada composto e adequação das condições do método (LACHTER, 2017).

4 Materiais e Métodos

4.1. Padrões, Reagentes e Solventes

Os materiais de referência certificados (MRCs) possuem ampla estabilidade, frente à possível degradação causada por fenômenos como temperatura, luz, oxigênio, umidade, atividade microbológica e etc; e são suficientemente homogêneos em relação às suas especificações e propriedades. Tais materiais são a base para a verificação da exatidão de medições analíticas, com o objetivo de garantir a confiabilidade dos resultados obtidos (CARDOSO et al., 2010).

Para o desenvolvimento do método foi utilizado o padrão certificado com ISO Guide 34 descrito como Quebec *Ministry of Environment Congener Mix* (C-QME-01), da Accustandard®, o qual contém uma mistura de 41 congêneres de PCBs, com diferentes concentrações em ng mL^{-1} e dissolvidos com solvente isooctano.

Como padrão *surrogate* foram utilizados o 2,2',4,5',6-pentaclorobifenil (C-103N contendo 10 mg/ CAS number: 60145-21-3) e o 2,2',3,3',4,5,5',6-octaclorobifenil (C-198-N contendo 5 mg/ CAS number: 68194-17-2) ambos da marca AccuStandard®. O padrão interno utilizado foi o 4,4'-dibromobifenil (CAS number: 92-86-4) customizado em metanol na concentração de $2000 \mu\text{g mL}^{-1}$ da marca SPEX CertiPrep.

Os solventes e reagentes utilizados neste estudo foram:

- Tiosulfato de Sódio – P.A – ACS- Marca: Dinâmica;
- Álcool Isopropílico HPLC/ UV ($\geq 99,7 \%$) - Marca: J T Baker;
- 95 % n-hexano – Grau Pesticida- Marca: Biosyde;
- Metanol para análise de pesticida ($\geq 99,9 \%$)- Marca: Panreac;
- Diclorometano para análise de resíduo de pesticida (99,9 %)- Marca: Vetec;
- Acetona SupraSolv® para CG ($\geq 99,8 \%$)- Marca: Merck;
- 2,2,4-Trimetilpentano (Isooctano) - Adequado para Cromatografia Líquida e Espectrofotometria UV ($\geq 99,5 \%$)- Marca: Macron

4.2. Equipamentos e Acessórios

Os equipamentos e acessórios utilizados no presente estudo foram:

- Cromatógrafo a gás Trace GC Ultra da Thermo Scientific acoplado a um espectrômetro de massas TSQ Quantum XLS da Thermo Scientific- Software: XCalibur;
- Equipamento de extração acelerada por solvente – Modelo: ASE™ 200 – Marca: Dionex™;
- Dispositivo para extração em fase sólida do tipo *manifold* com câmara de vácuo – Marca: Varian;
- Liofilizador – Modelo: ModulyoD – Marca: Thermo Scientific;
- Balança eletrônica microanalítica de precisão nominal de 1 µg – Modelo: MX5 – Marca: Mettler Toledo;
- Balança analítica- Modelo: AS200S- Marca: OHAUS;
- Balança analítica – Modelo: AT 261 DeltaRange- Marca: Mettler Toledo;
- Evaporador de Amostras – Modelo: TurboVap® LV – Marca: Caliper;
- Evaporador de Amostras – Modelo: Rotavapor® R-215 – Marca: Buchi;
- Purificador de água Milli-Q – Modelo: Integral 5 – Marca: Merck Millipore;
- Microseringas Hamilton com certificado de calibração da Rede Brasileira de Calibração (RBC);

4.3. Implementação da Metodologia Analítica

4.3.1. Análise instrumental

4.3.1.1. Condições do Instrumento

A identificação e quantificação dos analitos alvos foram realizadas utilizando um cromatógrafo a gás Trace GC Ultra acoplado a um espectrômetro de massas TSQ Quantum XLS da Thermo Scientific. O espectrômetro de massa foi operado no modo Monitoramento Seletivo de Reação (SRM), também conhecido como Monitoramento de Múltiplas Reações (MRM). Gás hélio (>99,999 %) foi empregado como gás de arraste, enquanto gás argônio (>99,995 %) desempenhou a função de gás de colisão. A aquisição dos dados foi efetuada com o *software* Thermo Xcalibur e com a biblioteca NIST 2.0. A coluna capilar utilizada, da marca Agilent Technologies, foi uma DB-5MS com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura de filme cuja fase consiste em (5 %-fenil)-metilpolisiloxano. As condições cromatográficas e espectrométricas são detalhadas na Tabela 1.

Tabela 1: Configurações Instrumentais do GC-MS/MS

<i>Trace GC Ultra</i>	
Injetor	Split/splitless, 250 ° C, 0,38min splitless (modo sem divisão de fluxo).
Gás de Arraste	He, fluxo constante, 1,0 mL/min
Temperatura Programada	90 ° C, 4min 15 ° C/min, 160 ° C 4 ° C/min, 225 ° C 7 ° C/min, 305 ° C
Tempo Total de Corrida	40 min
<i>Transfer Line</i>	290 ° C
<i>TriPlus Amostrador Automático</i>	
Volume de Injeção	2 µL
<i>TSQ Quantum XLS</i>	
Temperatura da Fonte	250 ° C
Ionização	EI, 40 eV
Corrente de Emissão	100 µA
Resolução	Q1 e Q3: 0,7 Da (FWHM)
Gás de Colisão	Argônio, 2,0 mTorr

4.3.1.2. Identificação e Quantificação de Analitos Alvos

O método USEPA 1668C, que serviu como base para este estudo, descreve uma metodologia para a determinação de congêneres de PCBs, e foi desenvolvido pelo escritório de ciência e tecnologia da Agência de Proteção Ambiental dos EUA (USEPA) para a determinação específica de congêneres de bifenilas policloradas (PCBs), designados como tóxicos pela Organização Mundial da Saúde. O método 1668C é aplicável a matrizes aquosas, solo, sedimentos, biossólidos e tecidos (KRUMWIEDE; HUEBSCHMANN, 2008; EPA, 2010).

Enquanto o Método USEPA 1668C requer que os analitos sejam separados pelo GC e detectados por um espectrômetro de massa de alta resolução (R 10.000), com dois valores m/z exatos, monitorados em cada nível de cloração ao longo de uma janela de tempo de retenção pré-determinada; o método descrito neste trabalho emprega um espectrômetro de massas triplo quadrupolo, como

uma abordagem alternativa para o HRMS. De acordo com a Diretiva 96/23/EC da Comissão Europeia, métodos confirmatórios adequados para resíduos orgânicos ou contaminantes devem ser técnicas de varredura completa ou métodos que utilizem pelo menos quatro pontos de identificação para técnicas que não registram os espectros de massa total, como no caso de Monitoramento Seletivo de Reação. Ao empregarmos MS/MS de dois íons precursores do PCB alvo e detectarmos os íons produtos individuais para cada grau de cloração, estaremos seguindo a Diretiva 96/23/EC da Comissão Europeia e fornecendo cinco pontos de identificação para cada PCB. As transições de íons monitoradas são baseadas nos íons precursores moleculares em relação aos seus isótopos monossubstituídos por ^{37}Cl para formar os íons produtos com a perda de 2 cloros durante o processo de fragmentação por dissociação induzida por colisão (DIC) (KRUMWIEDE; HUEBSCHMANN, 2008; EPA, 2010).

Ao escolhermos os íons precursores a serem monitorados devemos notar que os íons precursores moleculares dão origem a um único íon produto, enquanto que seus isótopos monossubstituídos transportam um ^{37}Cl , o que leva estatisticamente a dois íons de produto diferentes. Este efeito isotópico resulta em menores intensidades de íons do produto à medida que o grau de cloração aumenta (KRUMWIEDE; HUEBSCHMANN, 2008).

A sequência de análise no modo de monitoramento seletivo de reação (SRM) desenvolvida neste trabalho usa quatro janelas de tempo de retenção com massas sobrepostas para os diferentes níveis de cloração. Dois graus de cloração foram sempre monitorados em paralelo, devido à ordem de eluição escalonada dos congêneres. Uma diminuição na intensidade do pico pode ser observada com o aumento do número de transições monitoradas. Procuramos manter um padrão semelhante em todas as janelas de monitoramento ao mantermos o mesmo número de reações monitoradas em cada uma delas (WALORCZYK, 2007; KRUMWIEDE; HUEBSCHMANN, 2008).

A Figura 13 abaixo mostra os resultados gerados usando as transições de SRM descritas na Tabela 2. Todos os 41 congêneres aqui estudados podem ser detectados em uma alta resposta para cada transição de SRM.

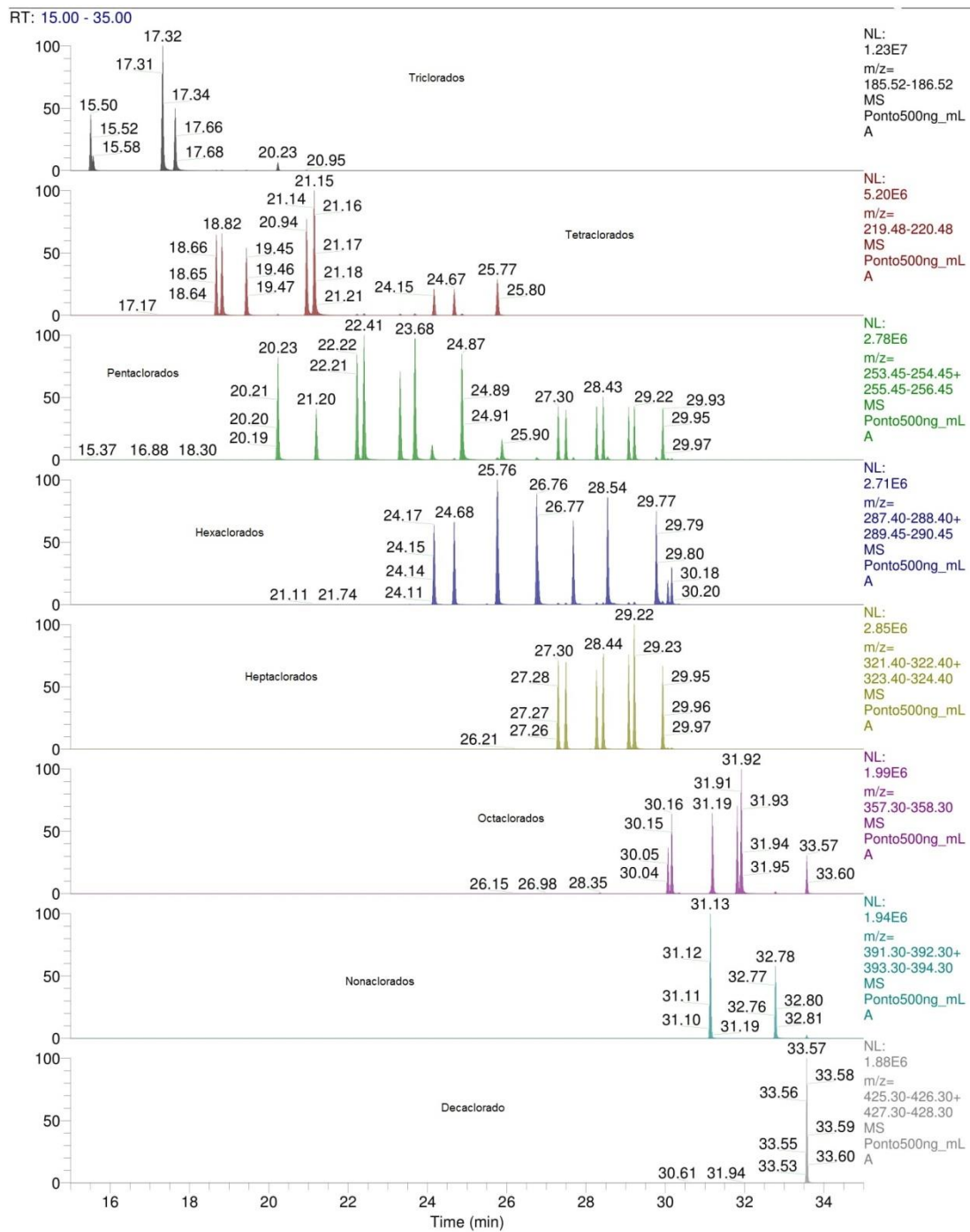


Figura 13: Cromatogramas extraídos de íons, mostrando os congêneres de PCBs com graus de cloração de tri a decaclorados do padrão Mix (C-QME-01) com 41 PCBs (1 ng na coluna).

Tabela 2: Transições SRM Monitoradas e Energias de Colisão.

PCBs	Precursor 1 m/z	Precursor 2 m/z	Produto 1 m/z	Produto 2 m/z	Energia do Gás de Colisão
Triclorados	255,96	257,96	186,02	186,02	22 eV
Tetraclorados	289,92	291,92	219,98	219,98	22 eV
Pentaclorados	323,90	325,90	253,95	255,95	22 eV
Hexaclorados	357,80	359,80	287,90	289,95	22 eV
Heptaclorados	391,80	393,80	321,90	323,90	22 eV
Octaclorados	427,80	429,80	357,80	357,80	22 eV
Nonaclorados	461,70	463,70	391,80	393,80	22 eV
Decaclorado	495,70	497,70	425,80	427,80	22 eV

Considerações relevantes para a otimização da operação do Triplo Quadrupolo MS/MS incluíram a escolha dos íons precursores e íons produtos e a otimização das energias de colisão para melhor resposta. Além desses parâmetros, otimizou-se o valor do *scan time* através de testes de injeções de padrão com diferentes valores de tempo de varredura.

O chamado *scan time* (tempo de varredura) é o tempo entre dois pontos onde são processados dados cromatográficos; por exemplo, com um tempo de varredura de 0,5 s, dois pontos de dados por segundo são coletados para definir um pico cromatográfico. Para análise quantitativa, o formato do pico é importante, particularmente quando as quantificações são feitas utilizando áreas de pico. A diminuição excessiva do *scan time*, apesar de poder ser favorável ao formato do pico, pode levar à perda de sensibilidade, em virtude da diminuição da razão sinal/ruído (WALORCZYK, 2007). Dessa maneira, foi necessário buscar um compromisso entre sensibilidade e formas de pico para garantir a escolha adequada do *scan time*, que foi fixado em 0,08 s no presente trabalho.

Chu e Hong (2004) demonstraram existir uma dependência linear do tempo de retenção de cada PCB com seu respectivo número de átomos de cloro na análise programada por temperatura. Embora todos os 209 padrões PCB estejam agora disponíveis em distribuidores comerciais, ainda é um processo caro e demorado obter dados de retenção para todos eles em um determinado sistema cromatográfico. Por esse motivo, os dados de retenção de referência são muito

úteis para a identificação de congêneres individuais de PCBs. Um grande número de dados de retenção, incluindo tempos de retenção relativos, ordens de eluição e índices de retenção, foram publicados e são amplamente utilizados na identificação de PCBs. Os 41 PCBs determinados nesse trabalho tiveram seus picos cromatográficos atribuídos por comparações com dados padronizados de retenção e coeluição.

A quantificação dos compostos de interesse foi realizada pelo método de padronização interna. Um padrão interno é uma substância adicionada em uma quantidade constante a todas as amostras, branco analítico e padrões de calibração em uma análise. A calibração envolve, então, a razão entre o sinal do analito e o sinal do padrão interno como uma função da concentração do analito nos padrões. Dessa maneira, se os sinais do analito e do padrão interno responderem proporcionalmente a flutuações aleatórias instrumentais e/ou de método, a proporção desses sinais será independente de tais flutuações. Além disso, se os dois sinais são influenciados da mesma maneira pelos efeitos da matriz, a compensação desses efeitos também ocorre. Idealmente, o padrão interno escolhido deve ter propriedades físico-químicas similares aos analitos de interesse, ter tempo de retenção próximo aos analitos, não deve estar presente originalmente nas amostras e não deve reagir com qualquer componente da matriz (INGLE; CROUCH, 1988).

O padrão interno (PI) utilizado foi o 4,4'-dibromobifenil. Além do padrão interno, adicionou-se às amostras padrão *surrogate* (PS) com a finalidade de monitorar perdas de analito ao longo do processo de preparação da amostra. Como *surrogate* foram utilizados os compostos 2,2',4,5',6-pentaclorobifenil (PCB 103) e 2,2',3,3',4,5,5',6-octaclorobifenil (PCB 198). As Figuras 14 e 15 mostram as estruturas moleculares dos padrões citados acima e a Tabela 3 apresenta as transições SRM monitoradas no caso do padrão interno, bem como a energia de colisão utilizada.

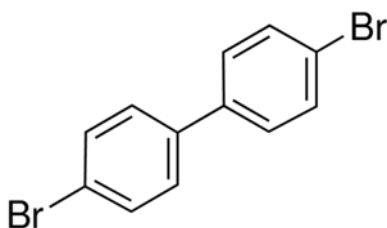


Figura 14: Representação da Estrutura Molecular do Padrão Interno (4,4'-dibromobifenil).

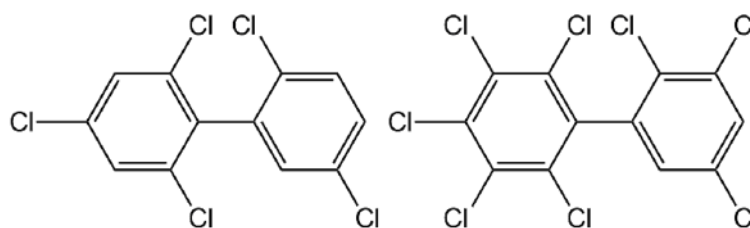


Figura 15: Representação das Estruturas Moleculares dos Padrões *Surrogate* 2,2',4,5',6-pentaclorobifenil (PCB 103) e 2,2',3,3',4,5,5',6-octaclorobifenil (PCB 198).

Tabela 3: Transições SRM monitoradas para o Padrão Interno (PI)

	Precursor 1 m/z	Produto 1 m/z	Energia do Gás de Colisão	Precursor 2 m/z	Produto 2 m/z	Energia do Gás de Colisão
4,4'-dibromobifenil (PI)	312,00	152,30	14 eV	152,30	126,20	24 eV

4.3.1.3.

Preparo da Curva Analítica

A partir do padrão certificado de PCBs, C-QME-01, foram preparadas nove soluções em hexano de concentrações alvo 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200 e 500 ng mL⁻¹. As concentrações reais individuais de cada um dos 41 PCBs foram calculadas a partir do certificado de análise e consideradas no cálculo de regressão linear para cada curva analítica separadamente.

Os padrões sólidos *surrogates*, PCB 103 e PCB 198, foram pesados e soluções estoque foram preparadas em isooctano nas concentrações de 2 µg mL⁻¹ e 0,1 µg mL⁻¹. Aos nove pontos com concentrações crescentes de PCBs foram adicionados os *surrogates* com a finalidade de se obter concentrações iguais aos PCBs em estudo, ou seja; 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200 e 500 ng mL⁻¹.

Por fim, a cada 1 mL das soluções de padrões de cada um dos nove pontos de concentrações a serem medidas para a confecção da curva analítica, foi

adicionado igual volume de padrão interno; 50 μL de uma solução de 2 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de 4,4'-dibromobifenil. Cada ponto foi injetado em duplicata no GC-MS/MS.

Para a avaliação dos resultados, as curvas foram divididas em curva alta (de 50 a 500 ng mL^{-1}) e curva baixa (de 1 a 50 ng mL^{-1}). Devido a características das amostras analisadas neste estudo se utilizou para quantificação das amostras apenas a curva de baixa concentração.

4.3.2. Coleta e Preservação da Amostra

A amostragem de água é dificultada pelas concentrações geralmente muito baixas de PCBs causadas pela natureza hidrofóbica destes compostos. A distribuição de tais contaminantes na água é heterogênea; existe um gradiente de concentração que ocorre das fontes de água fresca em direção ao mar. A amostra de água coletada deve ser representativa do ambiente aquático (FONT et al., 1996)

Nas amostras de água do mar ou de rios, a concentração de PCBs é preeminente nas camadas superficiais. A interface ar-água é um ponto de interesse, uma vez que pode acumular uma quantidade significativa de PCBs. No entanto, para obter uma amostra representativa, é necessário excluir a possível contaminação pela penetração do amostrador através desta camada superficial (FONT et al., 1996).

Um problema derivado da baixa solubilidade das bifenilas policloradas em água é a sua possibilidade de adsorver em suportes sólidos, com um potencial efeito substancial sobre os resultados. Devido à adsorção, o uso de polímeros geralmente deve ser evitado durante as análises de PCBs (FONT et al., 1996).

As amostras líquidas para análises de PCBs devem ser coletadas em vidro (borossilicato) a fim de não sofrerem interferência durante a amostragem, uma vez que esse material é indicado para todas as análises de compostos orgânicos por ser inerte a esses compostos. Considerando que alguns compostos orgânicos são fotodegradáveis, é necessário utilizar frascos de vidro de cor âmbar ou, na impossibilidade, envolver os frascos transparentes em papel alumínio ou "kraft". Dessa maneira, as amostras aquosas devem ser mantidas no escuro e a menos de 6 °C desde o momento da coleta até a recepção no laboratório e, também, durante o armazenamento. Quando acondicionadas sob essas condições, as amostras podem ser armazenadas por até um ano. Para eliminação de possível cloro residual, deve-se adicionar 80 mg de tiosulfato de sódio por litro de água.

Por fim, como regra geral, as tampas e os batoques devem garantir uma boa vedação da amostra, especialmente durante o transporte (EPA, 2010; CETESB; ANA, 2011).

As amostras de água destinadas a determinação de PCBs foram coletadas em garrafas âmbar de 4 L e armazenadas sob refrigeração até a sua recepção no laboratório para posterior filtração. As garrafas de vidro foram imersas fechadas através da coluna d'água e, abertas na profundidade da coleta para evitar a contaminação pelo filme superficial, mais enriquecido em compostos hidrofóbicos. Foram utilizados filtros de fibra de vidro de 142 mm de diâmetro e 0,7 µm de tamanho de poro (Marca: Macherey-Nagel) previamente lavados e descontaminados (450 °C por 6h) e pesados. Após o procedimento de filtração, os filtros foram então congelados, liofilizados e novamente pesados até a obtenção de massa constante para determinação da massa de material particulado contida em cada filtro. O filtro com o material particulado foi submetido ao processo de extração acelerada por solvente (ASE). O volume de água filtrado foi também reservado e mantido em geladeira para subsequente processo de extração em fase sólida (SPE).

4.3.3. Preparação de Amostra

4.3.3.1. PCBs no Material Particulado em Suspensão: Extração Acelerada por Solvente (ASE)

O método utilizado como base para a extração de bifenilas policloradas (PCBs) do material particulado contido nas amostras fluviais foi o USEPA 3545A (*Pressurized Fluid Extraction*). Os filtros, anteriormente pesados, contendo o material particulado foram então dispostos cada um em uma célula de extração de 33 mL e, a cada filtro, foram adicionados 25 µL de uma solução dos *surrogates*, 2,2',4,5',6-pentaclorobifenil (PCB 103) e 2,2',3,3',4,5,5',6-octaclorobifenil (PCB 198), de concentração igual a 2 µg L⁻¹. O volume vazio restante foi preenchido com peças inertes de aço inoxidável com o propósito de otimizar o volume de solvente durante esta etapa.

O Extrator Acelerado por Solvente foi programado de acordo com as condições do método listadas na Tabela 4 (EPA, 2007). O pré-aquecimento representa o tempo em que a célula é mantida no forno à temperatura selecionada

antes do solvente ser adicionado, para garantir que a célula esteja na temperatura fixa. O processo estático começa com o aquecimento da célula com a amostra para uma temperatura apropriada durante o tempo de equilíbrio, no nosso caso 5 min, seguido por um processo chamado de extração estática. Durante este processo, os analitos são isolados da amostra sob condições estáveis. O volume de *flush* é a porcentagem de volume de solvente fresco introduzido na célula após o término de um ciclo estático, a cada novo início de ciclo. Esse volume deve garantir que todos os analitos sejam eluídos e estará intimamente relacionado ao volume final do extrato obtido (SUN et al., 2012). No final da extração, todo o sistema é purgado com nitrogênio. Essa etapa visa o deslocamento de solvente remanescente no sistema, a fim de melhorar a recuperação do analito (GIERGIELEWICZ-MOZAJSKA et al., 2001). Os extratos foram coletados em frascos de 60 mL.

Tabela 4: Condições do Método para Extração Acelerada por Solvente

<i>ASE 200 Dionex</i>	
Solvente	Diclorometano
Temperatura	100 ° C
Pressão	1500 psi
Pré-aquecimento	1 min
Aquecimento	5 min
Modo de Extração Estática	5 min
<i>Flush</i> %	60 vol
Purga	60 s
Ciclos	3

Após a extração, a fase orgânica foi concentrada no Rotavapor R-215 da Büchi, sendo o banho de aquecimento mantido na temperatura de 40 ° C e a pressão inicialmente fixada em 1013 mBar para a evaporação do solvente diclorometano. Posteriormente, procedeu-se à troca de solvente para o hexano, com a pressão de vácuo levada à 335 mBar para evaporação desse último solvente até a obtenção de 1 mL de volume de extrato. Por fim, a cada extrato concentrado foram adicionados 50 µL de uma solução de concentração igual a 2 µg mL⁻¹ do padrão interno (PI), 4,4'-dibromobifenil, e então cada extrato foi submetido à análise por GC-MS/MS, conforme condições descritas no item 4.4.1.

4.3.3.2.

PCBs Dissolvidos na Solução Aquosa (Filtrado): Extração em Fase Sólida (SPE)

A concentração e a purificação do filtrado foram realizadas por Extração em Fase Sólida (SPE), utilizando cartuchos CHROMABOND® C₁₈ ec, de volume igual 3 mL e 500 mg de material adsorvente. Uma vez que a sílica não modificada é polar devido aos grupos silanol presentes, sua modificação com cadeias C₁₈ promove a retenção de compostos apolares como no caso dos PCBs. Além disso, pelo fato da sílica modificada com C₁₈ ainda possuir grupos silanol residuais ela ainda poderá ser submetida a uma reação de metilação, sendo estas sílicas sem grupos silanol livres geralmente denominadas por “endcap” e representadas pela sigla ec (AVÓ, 2015).

O sistema utilizado na extração foi um dispositivo tipo *manifold*, que compreende uma caixa mantida a vácuo durante a operação de passagem da amostra, que é realizada por intermédio da diferença de pressão gerada, através de tubulações de politetrafluoretileno (PTFE), conforme demonstrado na Figura 16. A vazão de amostra aquosa que percola pelo cartucho é controlada através das torneiras em cada cartucho e das válvulas da bomba.



Figura 16: Sistema de extração em fase sólida em funcionamento, com utilização de um *manifold*.

O procedimento de SPE proposto nesse estudo para extração de PCBs em água teve como base os métodos USEPA 1668C e USEPA 3535A; bem como sugestões do fabricante do cartucho (Macherey-Nagel) obtidas da *Application 301340 – PAH and PCB from water*.

Previamente ao início do processo de extração, o pH da amostra deve ser verificado e deve estar na faixa de pH entre 5 e 9. Uma vez que os cartuchos de extração são compostos de materiais hidrofóbicos que não permitem a passagem de água, é necessário que esses sejam pré-molhados com um solvente miscível com água antes do uso para a extração da amostra. Dessa forma, a primeira etapa realizada foi o condicionamento dos cartuchos com 2 x 1,5 mL de metanol seguido de 2 x 1,5 mL de uma solução de água Milli-Q / 2-propanol (85 : 15, v / v). Durante o condicionamento, cuidou-se para não secar o cartucho antes da aplicação da amostra.

Subsequentemente, 500 mL de amostra de água pré-tratada com 75 mL de 2-propanol e fortificadas com os padrões *surrogate* foram transferidas através dos cartuchos a uma vazão aproximada de 3 mL min⁻¹. Após a passagem da amostra, 50 mL de água Milli-Q foram adicionados aos recipientes das amostras, a fim de ressuspender os sólidos (se presentes); bem como realizar uma lavagem dos cartuchos. Em seguida, os cartuchos foram secos por fluxo de nitrogênio sob vácuo por 30 min.

Por fim, procede-se à etapa de eluição dos analitos retidos no cartucho de SPE. Uma eluição inicial com um solvente miscível em água, nesse caso a acetona, melhora a recuperação dos analitos aprisionados em poros do material sorvente que ainda possam conter água. Utilizou-se 2 x 1,5 mL de diclorometano / acetona (1 : 1, v / v) e, na sequência, 2 x 1,5 mL de diclorometano (DCM) puro.

Uma vez que analitos orgânicos são hidrofóbicos e podem preferencialmente aderir às superfícies do recipiente da amostra, o método USEPA 3535A *Solid-phase Extraction* (SPE) sugere que se enxágue o material de vidro que continha a amostra com o segundo solvente de eluição. Para tal fim, 5 mL de diclorometano (DCM) foram utilizados e, com o auxílio de uma pipeta Pasteur, as paredes do frasco foram lavadas e o solvente transferido para os cartuchos. Qualquer água remanescente no eluato foi removida pela passagem através de aproximadamente 3 g de sulfato de sódio anidro (EPA, 2007).

Ao final da extração em fase sólida, os extratos foram concentrados no TurboVap® LV da Caliper por fluxo de nitrogênio, com banho de imersão mantido à temperatura constante de 45 ° C. Realizou-se troca de solvente para o hexano

e o volume final foi ajustado para 0,5 mL. Adicionou-se 25 μL de uma solução de concentração igual a 2 $\mu\text{g mL}^{-1}$ do padrão interno (PI) 4,4'-dibromobifenil e, então, cada extrato foi submetido à análise por GC-MS/MS para determinação dos analitos alvos. Os procedimentos de preparação e extração pré-concentraram os analitos 1000 vezes em relação à amostra original. A Figura 17 mostra um fluxograma resumido do procedimento descrito acima.

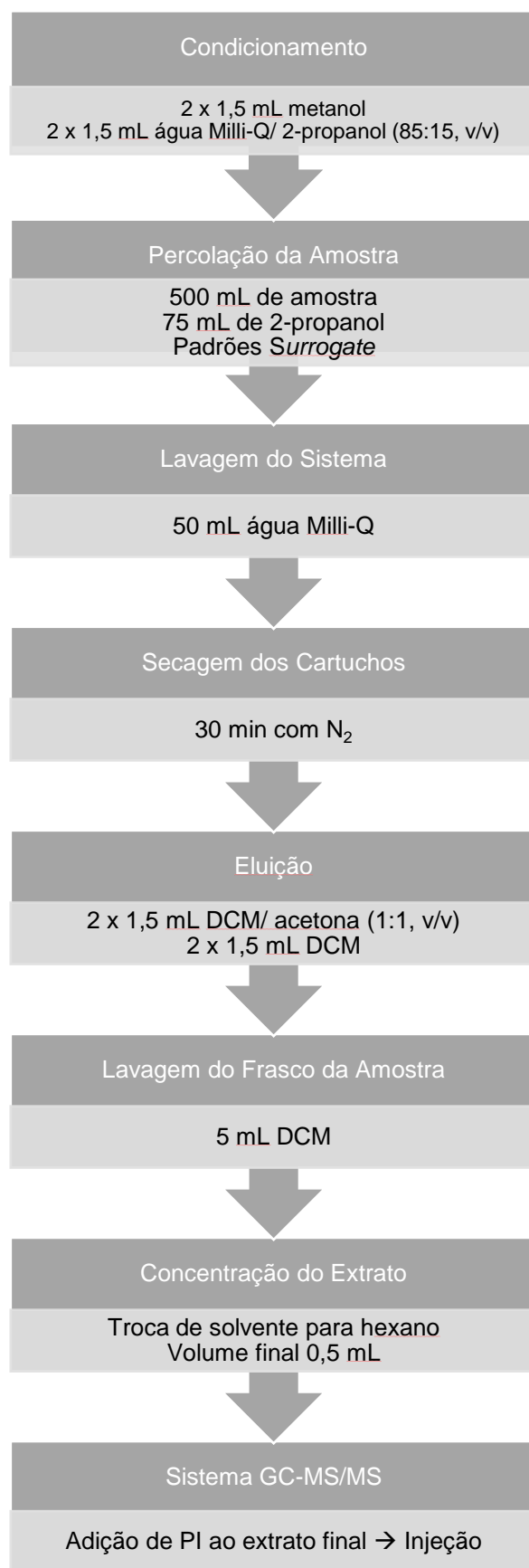


Figura 17: Fluxograma Resumido do Processo de SPE.

4.4. Validação do Método

O processo de validação apresenta-se como um componente integrante da gestão de qualidade em laboratórios, da garantia de qualidade e da acreditação. Segundo a norma ABNT NBR ISO/IEC 17025, “Validação de métodos é a confirmação por exame e fornecimento de evidência objetiva de que os requisitos específicos para um determinado uso pretendido são atendidos”. Esta confirmação sucede-se pelo fornecimento de provas objetivas que demonstrem o cumprimento de critérios e, dessa forma, conduzam à aceitação e garantam que determinado método pode ser aplicado à determinada finalidade (NETO; BARROS, 2005; INMETRO, 2012; ALBANO; RAYA-RODRIGUEZ, 2015).

A validação atesta precisamente a qualidade inerente de um método analítico, pois inclui os possíveis fatores que influenciam o resultado final e possibilita o julgamento quanto à consistência, a confiabilidade e a qualidade dos resultados analíticos (ALBANO; RAYA-RODRIGUEZ, 2015).

4.4.1. Parâmetros de Desempenho do Processo de Validação Quantitativa

No decorrer do desenvolvimento do processo de validação, uma etapa bastante relevante e indispensável é a escolha dos parâmetros a serem estudados e analisados. A escolha está intimamente relacionada ao tipo de ensaio, isto é, se tem caráter quantitativo ou qualitativo, e, principalmente, aos requisitos pedidos pelo cliente ou mesmo pelo órgão regulador (NETO; BARROS, 2005; INMETRO, 2012).

4.4.1.1. Linearidade e Faixa Linear de Trabalho

A linearidade dos métodos analíticos quantitativos é a capacidade do método de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração da substância em estudo na amostra, dentro de um intervalo especificado. Em qualquer técnica instrumental, a relação linear simples, descrita pela equação $y = ax + b$, só é válida em um determinado intervalo de massa ou concentração da espécie medida. Este intervalo específico, no qual se pode construir uma curva analítica linear, representa a chamada faixa linear dinâmica (RIBANI et al., 2004; ALBANO; RAYA-RODRIGUEZ, 2015).

Matematicamente, a estimativa dos coeficientes de uma curva analítica a partir de um conjunto de medições experimentais pode ser efetuada usando o método dos mínimos quadrados ordinários não ponderados, a fim de obter a equação da regressão linear; desde que o sistema seja homecedástico. A verificação da homocedasticidade, isto é, da homogeneidade da variância dos resíduos, é realizada através do teste de Cochran. Além dos coeficientes de regressão, a e b , também é possível calcular, a partir dos pontos experimentais, o coeficiente de correlação, r . Este parâmetro permite uma estimativa da qualidade da curva obtida, pois quanto mais próximo de 1,0, menor a dispersão do conjunto de dados experimentais e menor a incerteza dos coeficientes de regressão estimados (RIBANI et al., 2004). A ANVISA recomenda um coeficiente de correlação igual a 0,99 e o INMETRO um valor acima de 0,90. É importante mencionar que, antes do uso dos modelos estatísticos, é necessária a verificação da ausência de valores discrepantes para cada nível de concentração (NETO; BARROS, 2005; INMETRO, 2016).

Conforme discutido acima, o coeficiente de correlação linear (r) é um bom indicativo do quanto a reta pode ser considerada adequada como modelo matemático, porém não é conclusivo. Dessa maneira, devem ser avaliados os resíduos, que são determinados pela diferença entre a variável resposta observada e a variável resposta estimada, para verificar essa adequação. Os resíduos devem ser representados graficamente e deve ser observado se existe comportamento aleatório. Caso se observe alguma tendência no gráfico de resíduos, pode haver indício de que o modelo linear seja inadequado. Deve-se também avaliar a linearidade por meio do teste F (também conhecido como F-Snedecor) na análise da variância (ANOVA) da regressão (INMETRO, 2016).

Ainda, o INMETRO defende a necessidade de, no mínimo, cinco concentrações para a construção da curva analítica.

4.4.1.2. Sensibilidade

A sensibilidade, de acordo com o INMETRO, é relatada junto ao parâmetro da linearidade, em que pela equação linear da curva analítica se pode pressupor a sensibilidade do método. Neste contexto, quanto mais sensível o método for, maior será a inclinação da reta, evidenciando que pequenas variações de concentração resultam em maior variação da resposta (NETO; BARROS, 2005; INMETRO, 2016).

4.4.1.3.

Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

O limite de detecção (LD) representa a menor concentração do analito em estudo que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, utilizando um determinado procedimento experimental (RIBANI et al., 2004). É fundamental assegurar-se de que todas as etapas de processamento do método analítico sejam incluídas na determinação do limite de detecção (INMETRO, 2016).

Para o procedimento de determinação do limite de detecção, o INMETRO defende um mínimo de sete replicatas. São descritos dois métodos para estipular este parâmetro a partir do desvio padrão do branco (INMETRO, 2016):

Metodologia 1: Utiliza-se como matriz o branco da amostra. O cálculo do limite de detecção é descrito pela equação (1).

$$LD = \bar{X} + t_{(n-1,1-\alpha)}S, \quad (1)$$

em que LD é o limite de detecção, \bar{X} é a média dos valores dos brancos da amostra, t é a abscissa de distribuição de Student, que depende do tamanho da amostra (sendo n o número de amostras) e do grau de confiança (sendo α o nível de significância), e S é o desvio padrão amostral dos brancos da amostra. Este método é válido somente quando os valores dos brancos apresentam um desvio padrão diferente de zero.

Metodologia 2: Utiliza-se como matriz o branco da amostra com adição da menor concentração aceitável do analito. Esta concentração seria aquela que poderia ser alcançada com grau aceitável de incerteza. Seu cálculo é feito pela equação (2).

$$LD = t_{(n-1,1-\alpha)}S \quad (2)$$

onde LD é o limite de detecção, t é a abscissa de distribuição de Student e S é o desvio padrão amostral dos brancos da amostra com adição de padrão (NETO; BARROS, 2005; INMETRO, 2016).

Para a análise em nível de traços, é recomendado adotar o LQ (Limite de Quantificação) como a concentração mais baixa da curva analítica. O Limite de Quantificação corresponde à menor concentração do analito que pode ser determinada com um nível aceitável de exatidão e precisão. O LQ representa um limite passível de ser alcançado, prática e rotineiramente, com uma boa

possibilidade de que o valor reportado apresente confiabilidade analítica. Da mesma maneira que o método descrito para o LD, o LQ também poderá ser estimado pelo desvio padrão do branco através de uma das metodologias abaixo (INMETRO, 2016; ALBANO; RAYA-RODRIGUEZ, 2015):

Metodologia 1: Utiliza-se como matriz o branco da amostra. O cálculo do limite de quantificação é descrito pela equação (3).

$$LQ = \bar{X} + 10.S, \quad (3)$$

onde \bar{X} é a média dos valores dos brancos da amostra e S o desvio padrão amostral dos brancos da amostra.

Metodologia 2: Utiliza-se como matriz o branco da amostra com adição da menor concentração aceitável do analito:

$$LQ = 10.S, \quad (4)$$

onde S representa o desvio padrão amostral dos brancos da amostra, com adição.

A IUPAC propõe o valor 10 como valor padrão da equação (4) para cálculo do limite de quantificação. Entretanto, pode-se adotar também os valores 5 ou 6 em função do rigor analítico exigido (INMETRO, 2016).

4.4.1.4. Precisão (Repetibilidade)

A precisão retrata a concordância entre vários valores experimentais obtidos e, conseqüentemente, mostra a tendência de menor ou maior afastamento (erro) entre os resultados dos ensaios. Quanto menor for a variabilidade dos resultados, maior será a precisão (ALBANO; RAYA-RODRIGUEZ, 2015).

Tanto para o INMETRO quanto para a ANVISA, a precisão é expressa por meio do desvio padrão relativo (DPR), também conhecido como coeficiente de variação (CV) da série de medidas. Ela é calculada pela razão entre o desvio padrão (DP) e a concentração média determinada (CMD), como mostrado na equação (5) (BRASIL, 2003; INMETRO, 2016).

$$CV(\%) = DPR = \frac{DP}{CMD} \times 100 \quad (5)$$

A repetibilidade é uma maneira de expressar a precisão, e é definida como a concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo método, realizadas sob as mesmas condições de medição: mesmo procedimento, mesmo analista, mesmo instrumento usado sob as mesmas condições, mesmo local e repetições em um curto intervalo de tempo. Dessa forma, a repetibilidade envolve várias medições da mesma amostra, em diferentes preparações sob as mesmas condições e é, algumas vezes, denominada precisão intra-ensaio ou intracorrida e pode ser expressa através da estimativa do desvio padrão relativo, DPR (RIBANI et al., 2004).

Para a repetibilidade, o INMETRO recomenda sete ou mais repetições para o cálculo da estimativa do desvio padrão (RIBANI et al., 2004). As repetições devem ser independentes, ou seja, incluir todas as etapas de preparo do processo de medição (INMETRO, 2016).

É importante que os laboratórios estabeleçam critérios de aceitação para o desvio padrão relativo. Segundo RIBANI et al.(2004), em métodos de análise de traços ou impurezas, normalmente são aceitos coeficiente de variação (CV) de até 20 %, dependendo da complexidade da amostra. Uma vez que, em geral, os critérios estão atrelados ao nível de concentração a AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*) sugere os valores mostrados na Tabela 5.

Tabela 5: Exemplo de critério de aceitação para repetibilidade.

Analito, %	Razão do Analito	Unidade	DPR (%)
100	1	100 %	1,3
10	10 ⁻¹	10 %	1,9
1	10 ⁻²	1 %	2,7
0,01	10 ⁻³	0,1 %	3,7
0,001	10 ⁻⁴	100 ppm	5,3
0,0001	10 ⁻⁵	10 ppm	7,3
0,00001	10 ⁻⁶	1 ppm	11
0,000001	10 ⁻⁷	100 ppb	15
0,0000001	10 ⁻⁸	10 ppb	21
0,00000001	10 ⁻⁹	1 ppb	30

Extraído de: AOAC (2012).

4.4.1.5. Exatidão (Recuperação)

Representa a fidelidade, isto é, o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro para um mensurando. Os processos mais utilizados para avaliar a exatidão de um método são, entre outros: uso de materiais de referência certificados (MRC), participação em comparações interlaboratoriais, comparação com método de referência (ou método validado) e realização de ensaios de recuperação (INMETRO, 2016).

Em Ensaio de Recuperação, a recuperação, R , é definida como a porcentagem da quantidade da substância de interesse, presente ou adicionada à amostra teste, que é extraída e passível de ser quantificada. A recuperação do analito pode ser estimada pela análise de amostras fortificadas com quantidades conhecidas de padrão do composto (*spike*) (INMETRO, 2016).

Os laboratórios devem estabelecer seus critérios de aceitação para recuperação, de preferência seguindo as orientações normativas da legislação aplicável às áreas de suas atividades, como por exemplo, meio ambiente. De acordo com RIBANI et al. (2004), os intervalos aceitáveis de recuperação para análise de resíduos geralmente estão entre 70 e 120 %, com precisão de até ± 20 %. Entretanto, dependendo da complexidade analítica e da amostra, este valor pode ser de 50 a 120 %, com precisão de até ± 15 %. Posto que, normalmente, os critérios estão atrelados ao nível de concentração a AOAC sugere os critérios tabelados abaixo (Tabela 6).

Tabela 6: Exemplo de critério de aceitação para recuperação.

Analito, %	Razão do Analito	Unidade	Recuperação Média (%)
100	1	100 %	98 - 102
10	10 ⁻¹	10 %	98 - 102
1	10 ⁻²	1 %	97 - 103
0,01	10 ⁻³	0,1 %	95 - 105
0,001	10 ⁻⁴	100 ppm	90 - 107
0,0001	10 ⁻⁵	10 ppm	80 - 110
0,00001	10 ⁻⁶	1 ppm	80 - 110
0,000001	10 ⁻⁷	100 ppb	80 - 110
0,0000001	10 ⁻⁸	10 ppb	60 - 115
0,00000001	10 ⁻⁹	1 ppb	40 - 120

Extraído de: AOAC (2012).

4.4.1.6. Seletividade

A seletividade revela a influência de outras substâncias presentes na matriz durante a determinação analítica (NETO; BARROS, 2005).

Em conformidade com o INMETRO, estão especificados dois tipos de ensaios para verificação da seletividade. O primeiro faz uma comparação da amostra contendo material padrão analisada pelo método a ser validado e por outro já validado. Dessa maneira, observa-se o quão capaz é o método a ser validado em identificar o analito em presença de interferentes. O segundo ensaio sugerido analisa a amostra com vários interferentes junto ao analito de interesse. Esta estratégia é usada para avaliar o efeito dos interferentes durante o processo de identificação (INMETRO, 2016).

A seletividade de um método instrumental de separação é a capacidade de avaliar, de forma inequívoca, as substâncias em estudo na presença de componentes que podem acometer sua determinação em casos de uma amostra complexa. A seletividade pondera o grau de interferência de espécies como, por exemplo, outro ingrediente ativo, excipientes, impurezas e produtos de degradação, bem como outros compostos de propriedades similares que possam estar, porventura, presentes. A seletividade possui a incumbência de garantir que

o pico de resposta seja exclusivamente do composto de interesse. Caso a seletividade não seja assegurada, a linearidade, a exatidão e a precisão do método poderão ser seriamente comprometidas (BRASIL, 2003; RIBANI et al., 2004; NETO; BARROS, 2005; INMETRO, 2016).

Para o tratamento estatístico da seletividade pode ser usado tanto o teste F (Snedecor) que avalia a homogeneidade da variância, quanto o teste t (Student) que faz comparação entre médias (NETO; BARROS, 2005).

Primeiramente, devem-se dividir as amostras em dois grupos com concentrações de analitos iguais, porém um deve conter a matriz e o outro não. O número de amostras deve ser maior ou igual a sete para que possa se adequar ao modelo estatístico. Para o teste F, deve-se comparar o valor F calculado com o tabelado. Se o valor calculado for menor que o valor tabelado, indica que a matriz não exerce efeito significativo sobre a precisão. O mesmo ocorre para o teste t, se o t calculado for menor que o t tabelado, a matriz não interfere na detecção do método (EURACHEM, 2002).

Abaixo são apresentadas as equações e os testes estatísticos utilizados para investigação da seletividade do método:

$$\text{Média:} \quad \bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}, \quad (6)$$

$$\text{Variância Amostral:} \quad s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}, \quad (7)$$

onde:

x_i = valor de cada determinação;

n = quantidade de amostras.

Para testar se a diferença entre duas variâncias de amostras é significativa, isto é para testar $H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2$, o parâmetro F é calculado:

$$F_{\text{calculado}} = \frac{s_1^2}{s_2^2}, \quad (8)$$

onde:

S_1 = maior variância

$S_2 =$ menor variância

F_{tabelado} : $(n_1 - 1)$ graus de liberdade no numerador e $(n_2 - 1)$ graus de liberdade no denominador, com 95 % de confiança.

Para decidir se a diferença entre duas médias de amostras \bar{x}_1 e \bar{x}_2 é significativa, isto é para testar a hipótese nula $H_0: \mu_1 = \mu_2$, o valor de t é calculado:

$$t_{\text{calculado}} = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{s \sqrt{\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)}}, \quad (9)$$

onde s é calculado a partir de:

$$s^2 = \frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{(n_1 + n_2 - 2)}, \quad (10)$$

e t possui $n_1 + n_2 - 2$ graus de liberdade (MILLER & MILLER, 2005).

5 Resultados e Discussão

5.1. Parâmetros de Validação

5.1.1. Linearidade e Faixa Linear de Trabalho

Foi verificada a linearidade de 37 curvas analíticas provenientes dos 41 compostos aqui estudados. É importante atentar ao fato de que os PCBs 17 e 18; PCBs 28 e 31; PCBs 132 e 153; PCBs 138 e 158 foram quantificados juntos, cada par respectivamente em uma única curva, uma vez que coeluem no mesmo pico cromatográfico. Isso se deve ao fato destas substâncias serem isômeros constitucionais e apresentarem estruturas muito parecidas, diminuindo a capacidade de discriminação da fase estacionária (RAMOS, 2014).

O intervalo de trabalho do método e a linearidade foram avaliados por inspeção visual do gráfico dos resultados de resposta em função da concentração do analito, apoiada por estatísticas apropriadas e pelo gráfico de resíduos.

A homocedasticidade, isto é, homogeneidade da variância dos resíduos foi evidenciada pelos testes de Cochran para cada curva analítica. Uma vez que os modelos se mostraram homocedásticos, a obtenção da equação de regressão linear simples através do método dos mínimos quadrados ordinários não ponderados se mostrou adequada. As Figuras 18, 19, 20 e 21 mostram, como exemplos, os cálculos realizados para a avaliação da homocedasticidade dos dados experimentais das curvas analíticas dos PCB 205, PCB 171, PCB 87 e PCBs 28 e 31, os dois últimos quantificados juntos.

PCB 205						
	Conc. Adicionada	Conc. Lida	Média	Desvio Padrão	Variância	RSD (%)
C0	0,997	1,031	1,06	0,044	0,002	4,14
	0,997	1,094				
C1	1,994	2,063	2,08	0,023	0,001	1,12
	1,994	2,095				
C2	4,985	4,323	4,60	0,390	0,152	8,47
	4,985	4,874				
C3	9,970	9,931	9,97	0,057	0,003	0,57
	9,970	10,012				
C4	19,940	19,952	20,27	0,456	0,208	2,25
	19,940	20,596				
C5	49,850	49,665	49,75	0,120	0,014	0,24
	49,850	49,835				
Avaliação da Homocedasticidade						
Comparação de Variâncias						
Teste de Cochran						
$C = S_{Max}^2 / \sum S^2$						
C calculado =			0,546888007			
C tabelado (l=6 e n=2) =			0,781			
(Ccal < Ctab)		Homocedástico				

Figura 18: Avaliação da homocedasticidade para os dados da curva analítica do PCB 205.

PCB 171						
	Conc. Adicionada	Conc. Lida	Média	Desvio Padrão	Variância	RSD (%)
C0	0,996	1,020	1,06	0,062	0,004	5,86
	0,996	1,109				
C1	1,992	1,956	2,01	0,083	0,007	4,12
	1,992	2,073				
C2	4,980	4,582	4,60	0,022	0,000	0,47
	4,980	4,613				
C3	9,960	9,416	9,77	0,496	0,246	5,08
	9,960	10,117				
C4	19,920	20,149	20,60	0,644	0,415	3,13
	19,920	21,060				
C5	49,800	49,304	49,60	0,419	0,176	0,85
	49,800	49,897				
Avaliação da Homocedasticidade						
Comparação de Variâncias						
Teste de Cochran						
$C = S_{Max}^2 / \sum S^2$						
C calculado =			0,489027495			
C tabelado (l=6 e n=2) =			0,781			
(Ccal < Ctab)		Homocedástico				

Figura 19: Avaliação da homocedasticidade para os dados da curva analítica do PCB 171.

PCB 87						
	Conc. Adicionada	Conc. Lida	Média	Desvio Padrão	Variância	RSD (%)
C0	1,001	1,056	1,13	0,102	0,010	9,07
	1,001	1,200				
C1	2,002	1,982	2,05	0,094	0,009	4,60
	2,002	2,116				
C2	5,005	4,731	4,73	0,001	0,000	0,03
	5,005	4,733				
C3	10,010	9,445	9,49	0,062	0,004	0,65
	10,010	9,532				
C4	20,020	20,295	20,84	0,774	0,600	3,72
	20,020	21,390				
C5	50,050	49,451	49,85	0,561	0,315	1,13
	50,050	50,245				
Avaliação da Homocedasticidade						
Comparação de Variâncias						
Teste de Cochran						
$C = S_{Max}^2 / \sum S^2$						
C calculado =			0,639380798			
C tabelado (l=6 e n=2) =			0,781			
(Ccal < Ctab)			Homocedástico			

Figura 20: Avaliação da homocedasticidade para os dados da curva analítica do PCB 87.

PCB 28 + PCB 31						
	Conc. Adicionada	Conc. Lida	Média	Desvio Padrão	Variância	RSD (%)
C0	1,757	1,528	1,58	0,071	0,005	4,48
	1,757	1,627				
C1	3,514	3,328	3,37	0,054	0,003	1,60
	3,514	3,404				
C2	8,785	8,035	8,22	0,260	0,067	3,16
	8,785	8,402				
C3	17,570	16,937	17,05	0,157	0,025	0,92
	17,570	17,160				
C4	35,140	36,766	37,22	0,636	0,405	1,71
	35,140	37,666				
C5	87,850	86,939	87,19	0,356	0,127	0,41
	87,850	87,442				
Avaliação da Homocedasticidade						
Comparação de Variâncias						
Teste de Cochran						
$C = S_{Max}^2 / \sum S^2$						
C calculado =			0,640941144			
C tabelado (l=6 e n=2) =			0,781			
(Ccal < Ctab)			Homocedástico			

Figura 21: Avaliação da homocedasticidade para os dados da curva analítica dos PCBs 28 e 31.

O coeficiente de determinação (R-quadrado ou R^2) pode ser interpretado como a proporção da variação total da variável dependente y que é explicada pela variação da variável independente x. Para todas as curvas analíticas utilizadas para quantificar os 41 PCBs aqui estudados, obteve-se coeficiente de determinação (R^2) maior que 0,99, conforme podemos observar nos exemplos de curvas geradas pelo *software XCalibur* da Figura 22 ; o que é um indicativo de que

a reta pode ser considerada apropriada como modelo matemático (MILLER & MILLER, 2005).

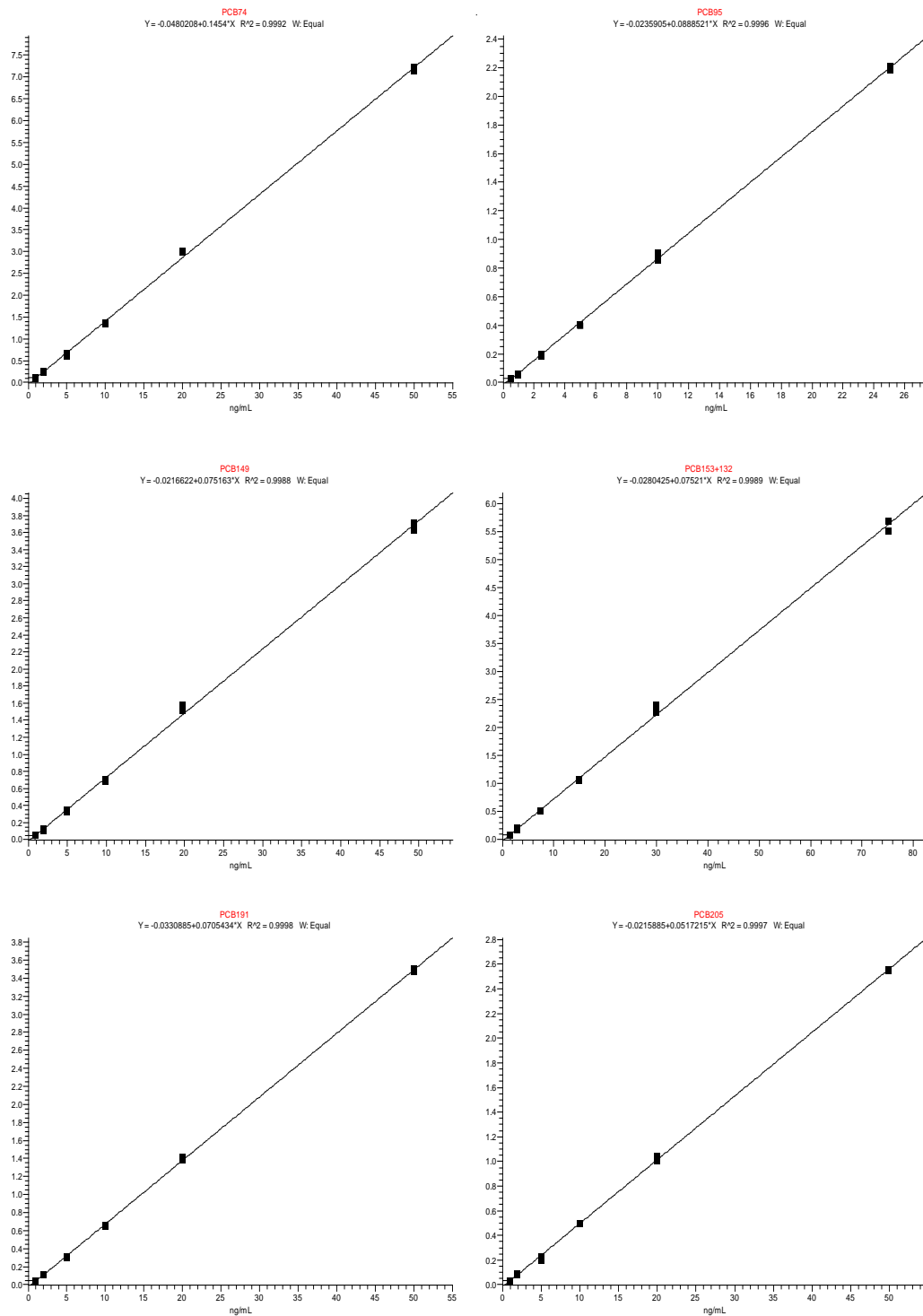


Figura 22: Exemplos de curvas analíticas utilizadas nesse estudo.

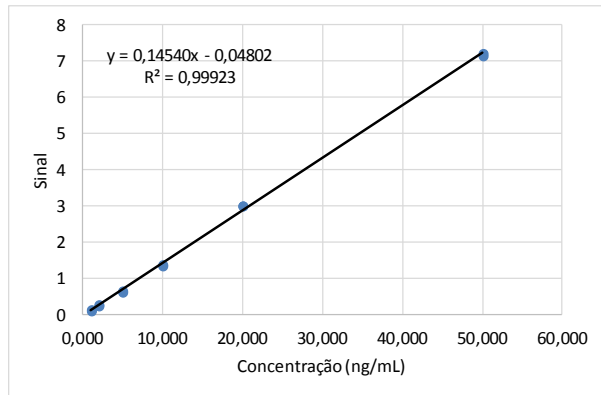
Nas Figuras 23, 24, 25 e 26 abaixo são apresentados exemplos das planilhas desenvolvidas para cada PCB para a análise de dados por regressão. Conforme verificado pelo Teste F da Análise de Variância (ANOVA), uma vez que o F calculado se mostrou maior que o F tabelado para um nível de confiança de 95 % e com graus de liberdade (1, n-2), sendo n o número de observações; podemos concluir que a porção da variância total explicada pela regressão é estatisticamente significativa. Sempre que F de significação for menor que 0,05, a regressão é significativa. Dessa maneira, rejeitamos a hipótese nula H_0 de que a variação de y não depende de x e admitimos que y é função de x (MILLER & MILLER, 2005; SELL, 2005).

Outra informação relevante a ser destacada, obtida nas planilhas abaixo, é o fato de o gráfico dos resíduos apresentar um comportamento aleatório. Caso fosse observada alguma tendência no gráfico de resíduos, poderia existir indício de que o modelo linear era inadequado (INMETRO, 2016).

Dessa maneira, os parâmetros estudados acima comprovaram a adequação da regressão linear utilizada em cada uma das 37 curvas analíticas.

PCB 74 Faixa da Curva= 1,0 a 50,0 ng/mL

Concentração (Cx) ng/mL	Razão de Área (Ax/ Ais)
1,000	0,103591726
1,000	0,110981262
2,000	0,22518256
2,000	0,249797623
5,000	0,610457166
5,000	0,659265907
10,000	1,339279798
10,000	1,355178731
20,000	2,987290166
20,000	3,006226719
50,000	7,14326525
50,000	7,22359021



RESUMO DOS RESULTADOS

Estatística de regressão	
R múltiplo	0,999616154
R-Quadrado	0,999232455
R-quadrado ajustado	0,9991557
Erro padrão	0,075160357
Observações	12

ANOVA

	gl	SQ	MQ	F	F de significação
Regressão	1	73,54279859	73,54279859	13018,54613	6,55782E-17
Resíduo	10	0,056490792	0,005649079		
Total	11	73,59928938			

	Coefficientes	Erro padrão	Stat t	valor-P	95% inferiores	95% superiores
Interseção	-0,04802078	0,028637039	-1,676876644	0,124498809	-0,111828082	0,015786517
Variável X 1	0,145399753	0,001274332	114,0988437	6,55782E-17	0,142560365	0,14823914

RESULTADOS DE RESÍDUOS

Observação	Y previsto	Resíduos
1	0,097378971	0,006212756
2	0,097378971	0,013602291
3	0,242778724	-0,017596163
4	0,242778724	0,007018899
5	0,678977982	-0,068520816
6	0,678977982	-0,019712075
7	1,405976746	-0,066696948
8	1,405976746	-0,050798016
9	2,859974275	0,127315891
10	2,859974275	0,146252444
11	7,221966861	-0,078701611
12	7,221966861	0,001623349

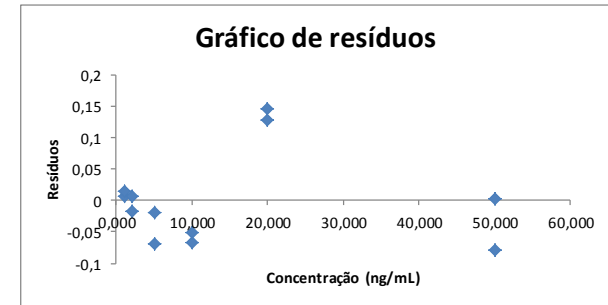
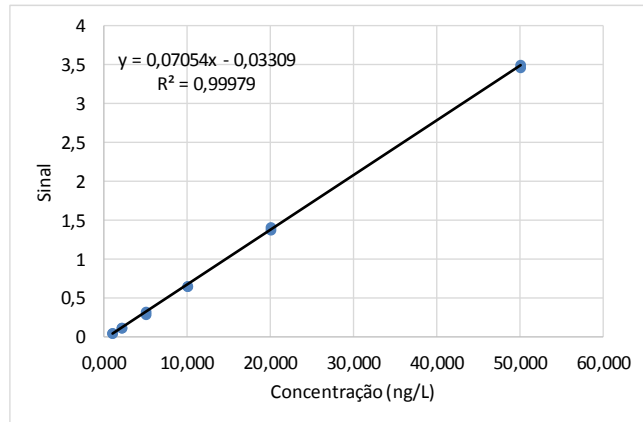


Figura 23: Planilha desenvolvida em Microsoft Excel® para análise de dados por regressão para o PCB 74.

PCB 191 Faixa da Curva= 1,0 a 50,0 ng/L

Concentração (Cx) ng/L	Razão de Área (Ax/ Ais)
1,000	0,047549902
1,000	0,047967881
2,000	0,112382023
2,000	0,1154062
5,000	0,293428007
5,000	0,316948352
10,000	0,646972225
10,000	0,659404619
20,000	1,383525235
20,000	1,413916943
50,000	3,475000748
50,000	3,506079816



RESUMO DOS RESULTADOS

Estatística de regressão	
R múltiplo	0,999894928
R-Quadrado	0,999789867
R-quadrado ajustado	0,999768854
Erro padrão	0,019074609
Observações	12

ANOVA

	gl	SQ	MQ	F	F de significação
Regressão	1	17,31115198	17,31115198	47578,92886	1,00834E-19
Resíduo	10	0,003638407	0,000363841		
Total	11	17,31479038			

	Coefficientes	Erro padrão	Stat t	valor-P	95% inferiores	95% superiores
Interseção	-0,03308849	0,007267666	-4,552835757	0,001053687	-0,049281856	-0,01689512
Variável X 1	0,070543431	0,000323407	218,1259473	1,00834E-19	0,069822835	0,071264026

RESULTADOS DE RESÍDUOS

Observação	Y previsto	Resíduos
1	0,037454943	0,010094959
2	0,037454943	0,010512938
3	0,107998374	0,00438365
4	0,107998374	0,007407826
5	0,319628666	-0,026200659
6	0,319628666	-0,002680314
7	0,672345819	-0,025373594
8	0,672345819	-0,0129412
9	1,377780126	0,005745108
10	1,377780126	0,036136817
11	3,494083048	-0,019082299
12	3,494083048	0,011996769

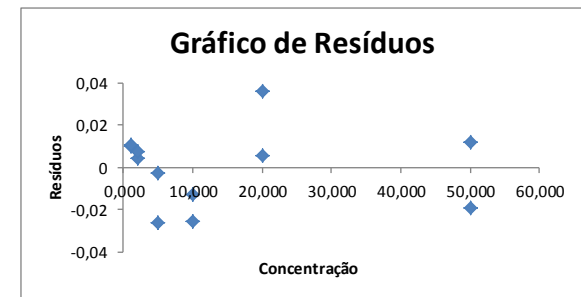
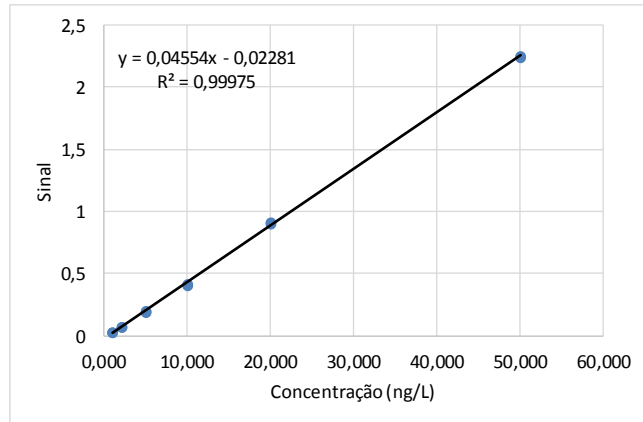


Figura 24: Planilha desenvolvida em Microsoft Excel® para análise de dados por regressão para o PCB 191.

PCB 170 Faixa da Curva= 1,0 a 50,0 ng/L

Concentração (Cx) ng/L	Razão de Área (Ax/ Ais)
1,000	0,025892232
1,000	0,029917015
2,000	0,071002328
2,000	0,072298284
5,000	0,192526219
5,000	0,205820666
10,000	0,40815604
10,000	0,42230048
20,000	0,898855087
20,000	0,913195413
50,000	2,244628325
50,000	2,25741927



RESUMO DOS RESULTADOS

Estatística de regressão	
R múltiplo	0,999875496
R-Quadrado	0,999751008
R-quadrado ajustado	0,999726109
Erro padrão	0,013405548
Observações	12

ANOVA

	gl	SQ	MQ	F	F de significação
Regressão	1	7,215663677	7,215663677	40151,99784	2,35542E-19
Resíduo	10	0,001797087	0,000179709		
Total	11	7,217460764			

	Coefficientes	Erro padrão	Stat t	valor-P	95% inferiores	95% superiores
Interseção	-0,02281192	0,005107682	-4,46619801	0,0012045	-0,034192543	-0,011431294
Variável X 1	0,045544059	0,000227289	200,3796343	2,35542E-19	0,045037628	0,04605049

RESULTADOS DE RESÍDUOS

Observação	Y previsto	Resíduos
1	0,02273214	0,003160092
2	0,02273214	0,007184875
3	0,068276199	0,002726129
4	0,068276199	0,004022084
5	0,204908376	-0,012382158
6	0,204908376	0,00091229
7	0,432628671	-0,024472631
8	0,432628671	-0,010328192
9	0,888069261	0,010785826
10	0,888069261	0,025126152
11	2,254391031	-0,009762706
12	2,254391031	0,003028239

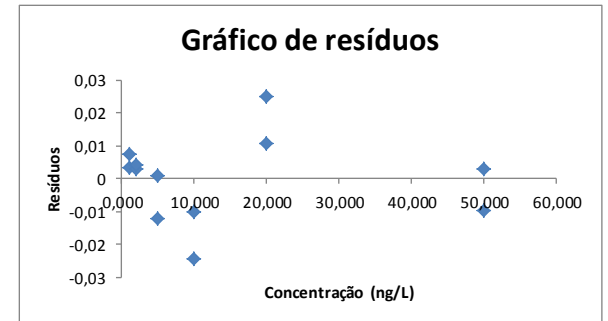
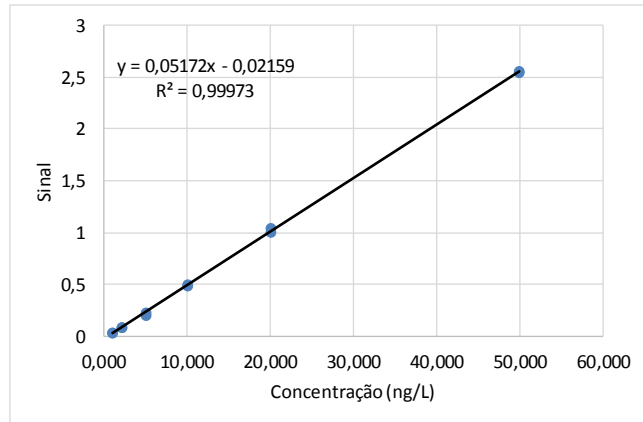


Figura 25: Planilha desenvolvida em Microsoft Excel® para análise de dados por regressão para o PCB 170.

PCB 205 Faixa da Curva= 1,0 a 50,0 ng/L

Concentração (Cx) ng/L	Razão de Área (Ax/ Ais)
0,997	0,031755468
0,997	0,034976331
1,994	0,085087524
1,994	0,08678732
4,985	0,20202258
4,985	0,230513587
9,970	0,492080105
9,970	0,496268915
19,940	1,010340748
19,940	1,04366539
49,850	2,547150486
49,850	2,555957284



RESUMO DOS RESULTADOS

Estatística de regressão	
R múltiplo	0,999863564
R-Quadrado	0,999727146
R-quadrado ajustado	0,99969986
Erro padrão	0,01588901
Observações	12

ANOVA

	gl	SQ	MQ	F	F de significação
Regressão	1	9,25006209	9,25006209	36639,62159	3,72222E-19
Resíduo	10	0,002524606	0,000252461		
Total	11	9,252586696			

	Coefficientes	Erro padrão	Stat t	valor-P	95% inferiores	95% superiores
Interseção	-0,02158849	0,006053912	-3,566040039	0,005129427	-0,03507745	-0,008099536
Variável X 1	0,051721458	0,000270206	191,4147894	3,72222E-19	0,051119401	0,052323515

RESULTADOS DE RESÍDUOS

Observação	Y previsto	Resíduos
1	0,0299778	0,001777668
2	0,0299778	0,00499853
3	0,081544094	0,00354343
4	0,081544094	0,005243226
5	0,236242974	-0,034220394
6	0,236242974	-0,005729387
7	0,494074442	-0,001994337
8	0,494074442	0,002194473
9	1,009737377	0,000603372
10	1,009737377	0,033928013
11	2,556726181	-0,009575695
12	2,556726181	-0,000768898

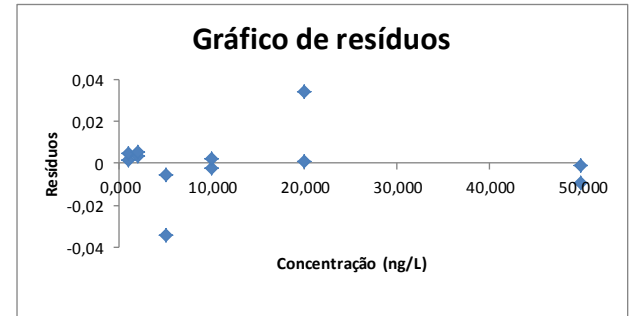


Figura 26: Planilha desenvolvida em Microsoft Excel® para análise de dados por regressão para o PCB 205

5.1.2. Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

Com a finalidade de se obter o Limite de Detecção (LD) e o Limite de Quantificação (LQ) do método foi utilizada a Metodologia 2 descrita no item 4.4.1.3. Para isso foram preparadas e analisadas 8 replicatas de branco da amostra com a adição de analito, correspondente à menor concentração da curva analítica, para cada um dos dois métodos de extração utilizados, ou seja, Extração Acelerada por Solvente (ASE) e Extração em Fase Sólida (SPE). Em vista disso, cada réplica passou por cada etapa do processamento do método analítico, desde o preparo da amostra até a análise instrumental. Na Tabela 7 são apresentados os resultados das estimativas para os valores de LD e o LQ para todos os PCBs determinados, em cada um dos métodos de extração. É importante mencionar que o *t* de *Student* unilateral utilizado para os cálculos é aquele referente a 7 graus de liberdade (8 alíquotas -1), para 99 % de confiança.

Tabela 7: Valores encontrados para o LD e LQ do Método para as duas diferentes extrações.

	Extração em Fase Sólida (SPE)		Extração Acelerada por Solvente (ASE)	
	LD (ng L ⁻¹)	LQ (ng L ⁻¹)	LD (ng L ⁻¹)	LQ (ng L ⁻¹)
PCB 18+17	0,42	1,40	0,09	0,31
PCB 31+28	0,50	1,67	0,12	0,40
PCB 33	0,25	0,84	0,09	0,31
PCB 52	0,20	0,66	0,05	0,16
PCB 49	0,26	0,85	0,07	0,22
PCB 44	0,21	0,71	0,07	0,23
PCB 74	0,21	0,71	0,05	0,17
PCB 70	0,12	0,38	0,07	0,22
PCB 95	0,08	0,25	0,03	0,09
PCB 101	0,12	0,38	0,05	0,17
PCB 99	0,17	0,58	0,04	0,13
PCB 87	0,21	0,69	0,04	0,13
PCB 110	0,13	0,43	0,05	0,16
PCB 82	0,07	0,24	0,01	0,05
PCB 151	0,21	0,71	0,06	0,20
PCB 149	0,12	0,39	0,05	0,17
PCB 118	0,11	0,36	0,06	0,19
PCB 153+132	0,31	1,04	0,08	0,26
PCB 105	0,06	0,21	0,02	0,06
PCB 138+158	0,37	1,24	0,07	0,24
PCB 187	0,15	0,49	0,07	0,22
PCB 183	0,24	0,81	0,06	0,21
PCB 128	0,17	0,57	0,07	0,22
PCB 177	0,18	0,61	0,04	0,13
PCB 171	0,13	0,44	0,07	0,25
PCB 156	0,16	0,54	0,05	0,16
PCB 180	0,14	0,46	0,07	0,23
PCB 191	0,07	0,25	0,08	0,26
PCB 169	0,10	0,33	0,05	0,17
PCB 170	0,16	0,54	0,03	0,11
PCB 199	0,24	0,81	0,04	0,12
PCB 208	0,24	0,79	0,10	0,32
PCB 195	0,23	0,75	0,10	0,32
PCB 194	0,25	0,84	0,11	0,37
PCB 205	0,23	0,75	0,10	0,34
PCB 206	0,23	0,75	0,08	0,28
PCB 209	0,22	0,72	0,08	0,27

5.1.3. Precisão (Repetibilidade)

O estudo da repetibilidade foi realizado pela adição do Mix padrão de PCBs (C-QME-01) para se obter extratos de concentração igual a 25 ng mL⁻¹ ao branco da amostra, para 8 réplicas autênticas que foram submetidas a todo o processamento da amostra exigido pelo método. O critério de aceitação estabelecido para o coeficiente de variação (CV), seguindo as recomendações do item 4.4.1.4, são CVs de até 20 %. As Tabelas 8 e 9 mostram que, para todos os PCBs determinados, bem como para os dois diferentes métodos de preparo de amostra por extração, obtiveram-se coeficientes de variação condizentes com o critério definido; conseqüentemente sob condições de repetibilidade a metodologia aqui desenvolvida é precisa.

Tabela 8: Resultados de repetibilidade para os 41 PCBs utilizando Extração em Fase Sólida (SPE).

	Extração em Fase Sólida (SPE)								Média ng mL ⁻¹	Desvio Padrão ng mL ⁻¹	CV (%)
	ng mL ⁻¹	ng mL ⁻¹	ng mL ⁻¹	ng mL ⁻¹	ng mL ⁻¹	ng mL ⁻¹	ng mL ⁻¹	ng mL ⁻¹			
PCB 18+17	26,32	25,31	24,94	26,43	26,23	26,20	27,25	27,08	26,22	0,79	3,00
PCB 31+28	49,77	49,93	48,24	48,99	52,13	48,37	48,49	51,14	49,63	1,41	2,83
PCB 33	27,30	26,45	25,25	27,10	27,32	27,63	29,01	26,93	27,12	1,06	3,91
PCB 52	19,38	19,41	18,29	20,64	20,23	19,89	21,59	20,14	19,95	0,97	4,88
PCB 49	19,35	19,72	19,85	21,14	20,88	20,94	21,47	20,05	20,43	0,78	3,79
PCB 44	20,74	20,99	21,38	22,54	21,86	22,47	23,47	22,26	21,96	0,91	4,13
PCB 74	26,01	26,93	26,55	29,07	29,07	29,50	29,48	29,30	28,24	1,47	5,21
PCB 70	18,66	18,09	16,74	17,37	19,34	20,76	21,00	19,75	18,96	1,53	8,09
PCB 95	7,24	7,08	7,50	6,92	7,63	8,06	8,06	8,05	7,57	0,46	6,11
PCB 101	17,61	17,05	15,46	16,68	18,96	19,45	19,80	19,13	18,02	1,55	8,60
PCB 99	14,73	14,60	13,36	14,28	16,30	16,67	17,49	16,57	15,50	1,44	9,32
PCB 87	19,09	18,53	17,57	18,05	20,43	21,44	21,44	21,25	19,72	1,60	8,11
PCB 110	17,46	17,28	15,47	16,74	18,80	19,16	19,68	19,42	18,00	1,49	8,29
PCB 82	4,10	4,15	3,87	4,41	4,61	4,70	5,22	4,74	4,48	0,43	9,70
PCB 151	17,85	18,97	16,51	18,03	19,39	19,79	21,03	19,93	18,94	1,42	7,52
PCB 149	18,95	18,63	16,75	17,94	18,87	19,45	20,73	19,61	18,87	1,18	6,27
PCB 118	24,63	23,59	22,06	22,15	26,62	26,98	27,02	25,04	24,76	2,04	8,22
PCB 153+132	27,18	26,02	24,23	26,49	28,60	28,87	29,65	28,65	27,46	1,81	6,61
PCB 105	7,40	6,30	6,47	6,92	6,60	6,95	7,20	6,88	6,84	0,37	5,37
PCB 138+158	23,83	23,63	21,69	24,11	26,04	25,63	27,21	24,79	24,62	1,70	6,91
PCB 187	16,09	16,03	14,64	15,79	16,76	16,98	18,58	17,13	16,50	1,15	7,00
PCB 183	16,81	16,33	14,88	16,76	18,01	19,02	19,63	18,62	17,51	1,59	9,06
PCB 128	20,55	20,67	19,34	20,96	21,93	22,72	23,78	22,37	21,54	1,42	6,60
PCB 177	16,61	15,54	14,96	16,52	16,88	17,44	19,16	17,94	16,88	1,33	7,86
PCB 171	16,28	15,30	14,40	17,00	16,50	17,39	17,97	17,69	16,57	1,22	7,39
PCB 156	29,39	28,32	28,78	29,74	27,86	29,69	28,71	29,77	29,03	0,72	2,49
PCB 180	20,10	19,02	19,00	19,51	20,96	21,31	22,06	22,48	20,56	1,35	6,58
PCB 191	17,15	16,55	15,57	16,50	18,12	18,47	19,24	17,90	17,44	1,21	6,94
PCB 169	30,01	28,95	29,58	28,25	29,00	29,80	30,96	29,21	29,47	0,82	2,77
PCB 170	21,55	19,71	19,02	21,36	21,97	23,21	24,11	22,52	21,68	1,69	7,81
PCB 199	12,10	11,71	10,85	11,02	12,84	14,00	14,40	13,55	12,56	1,35	10,76
PCB 208	22,60	23,57	22,65	24,07	24,77	25,72	25,91	24,77	24,26	1,27	5,22
PCB 195	27,07	27,28	26,76	28,67	27,97	28,17	29,05	28,66	27,95	0,84	3,00
PCB 194	26,99	29,14	26,07	28,43	28,83	29,03	29,68	29,45	28,45	1,27	4,46
PCB 205	28,24	29,54	27,78	27,74	29,67	29,11	29,86	29,11	28,88	0,85	2,94
PCB 206	26,09	27,24	24,50	26,34	29,17	28,14	29,57	28,14	27,40	1,70	6,20
PCB 209	20,84	21,00	17,30	19,85	20,81	21,13	22,96	21,60	20,69	1,63	7,86

Tabela 9: Resultados de repetibilidade para os 41 PCBs utilizando Extração Acelerada por Solvente (ASE).

	Extração Acelerada por Solvente (ASE)								Média ng mL ⁻¹	Desvio Padrão ng mL ⁻¹	CV (%)
	ng mL ⁻¹	ng mL ⁻¹	ng mL ⁻¹	ng mL ⁻¹	ng mL ⁻¹	ng mL ⁻¹	ng mL ⁻¹	ng mL ⁻¹			
PCB 18+17	22,69	21,47	21,96	21,95	20,81	19,99	21,81	21,74	21,55	0,82	3,81
PCB 31+28	36,11	35,24	34,44	35,23	33,25	32,24	34,62	34,37	34,44	1,22	3,53
PCB 33	20,50	19,60	19,26	20,45	18,38	18,97	19,56	19,83	19,57	0,72	3,65
PCB 52	16,74	16,37	16,41	17,34	16,36	16,18	16,85	16,98	16,65	0,39	2,34
PCB 49	17,18	16,02	16,83	17,75	16,51	16,21	17,07	16,84	16,80	0,55	3,30
PCB 44	17,07	16,89	16,97	17,81	16,73	16,50	17,56	16,95	17,06	0,43	2,51
PCB 74	19,13	18,51	18,82	19,63	18,29	18,39	19,09	19,04	18,86	0,45	2,38
PCB 70	18,23	16,77	16,50	16,24	15,07	14,64	15,14	16,39	16,12	1,16	7,17
PCB 95	9,70	8,42	8,41	8,55	7,72	7,56	8,29	8,82	8,44	0,66	7,83
PCB 101	20,66	18,92	18,10	18,61	18,31	17,28	18,35	19,53	18,72	1,02	5,43
PCB 99	17,88	16,55	15,97	16,10	16,40	15,18	15,52	16,89	16,31	0,84	5,14
PCB 87	20,57	18,94	17,80	18,62	17,22	17,34	17,66	19,18	18,41	1,14	6,19
PCB 110	20,37	18,62	17,84	17,73	17,12	17,91	17,51	18,32	18,18	1,00	5,49
PCB 82	5,53	5,16	4,76	5,13	4,72	4,52	5,09	5,24	5,02	0,33	6,54
PCB 151	21,92	20,47	19,09	20,22	19,26	18,56	19,25	20,50	19,91	1,08	5,43
PCB 149	22,34	21,17	20,04	20,80	19,30	19,06	19,73	20,41	20,36	1,07	5,28
PCB 118	23,98	22,10	21,36	20,96	20,30	19,36	20,64	21,87	21,32	1,39	6,51
PCB 153+132	33,68	32,02	29,99	31,67	29,67	28,33	30,22	27,90	30,43	1,94	6,36
PCB 105	6,55	5,65	5,36	5,75	5,42	5,24	5,50	5,87	5,67	0,41	7,27
PCB 138+158	28,54	25,96	25,01	25,99	24,88	23,94	25,32	25,54	25,65	1,34	5,23
PCB 187	21,39	19,65	18,98	20,01	18,94	18,27	19,34	19,55	19,52	0,92	4,73
PCB 183	23,45	21,66	21,26	21,43	21,24	19,99	20,92	21,96	21,49	0,99	4,59
PCB 128	23,14	21,08	20,44	20,87	20,18	19,72	19,85	20,25	20,69	1,09	5,28
PCB 177	20,48	19,10	19,52	19,97	18,50	18,17	18,91	19,13	19,22	0,75	3,92
PCB 171	20,23	18,05	17,92	18,28	17,13	16,74	17,91	18,52	18,10	1,04	5,76
PCB 156	26,91	24,26	23,08	24,20	22,78	21,78	22,92	23,73	23,71	1,53	6,46
PCB 180	22,61	20,86	20,13	20,74	20,20	19,22	20,12	20,65	20,57	0,97	4,74
PCB 191	20,62	19,20	18,77	19,38	18,17	18,21	19,62	19,86	19,23	0,83	4,34
PCB 169	29,05	27,39	26,97	26,22	26,05	24,63	25,63	26,04	26,50	1,32	4,99
PCB 170	23,16	20,51	20,47	22,19	21,63	20,56	20,70	21,11	21,29	0,97	4,57
PCB 199	17,18	14,25	12,88	14,25	13,14	13,23	13,91	14,65	14,19	1,36	9,59
PCB 208	22,79	22,25	22,33	23,53	23,33	21,80	23,08	22,80	22,74	0,58	2,57
PCB 195	24,87	24,18	23,32	24,85	23,40	22,58	23,45	23,12	23,72	0,83	3,49
PCB 194	24,70	24,36	23,43	26,17	24,34	22,61	22,18	22,86	23,83	1,31	5,51
PCB 205	24,91	23,49	22,81	24,46	25,09	21,91	23,58	22,78	23,63	1,13	4,76
PCB 206	24,60	23,72	22,86	25,54	25,62	23,56	26,21	28,45	25,07	1,79	7,15
PCB 209	21,52	21,32	21,26	22,25	21,54	20,78	19,85	21,28	21,23	0,69	3,25

5.1.4. Exatidão (Recuperação)

Para os ensaios de exatidão, quantificou-se a percentagem de recuperação resultante dos ensaios de precisão. Os valores obtidos são mostrados nas Tabelas. Para todos os 41 PCBs a recuperação média das 8 determinações ficou entre 60 a 120 % com precisão de até ± 15 %; valores dentro dos intervalos aceitáveis de exatidão para análise de resíduos traços de PCBs em água e material particulado.

Tabela 10: Resultados de ensaios de recuperação para os 41 PCBs utilizando Extração em Fase Sólida (SPE).

Extração em Fase Sólida (SPE)			
	Recuperação Média (%)		Recuperação Média (%)
PCB 18+17	83,50	PCB 138+158	78,21
PCB 31+28	113,00	PCB 187	66,20
PCB 33	109,48	PCB 183	70,60
PCB 52	79,79	PCB 128	86,07
PCB 49	82,53	PCB 177	67,52
PCB 44	88,30	PCB 171	66,53
PCB 74	112,96	PCB 156	116,36
PCB 70	76,47	PCB 180	82,72
PCB 95	60,43	PCB 191	69,75
PCB 101	71,99	PCB 169	117,88
PCB 99	62,25	PCB 170	86,73
PCB 87	78,82	PCB 199	66,98
PCB 110	71,79	PCB 208	97,03
PCB 82	72,03	PCB 195	111,82
PCB 151	75,44	PCB 194	113,58
PCB 149	76,30	PCB 205	115,87
PCB 118	99,55	PCB 206	109,60
PCB 153+132	73,08	PCB 209	82,75
PCB 105	110,09		

Tabela 11: Resultados de ensaios de recuperação para os 41 PCBs utilizando Extração Acelerada por Solvente (ASE).

Extração Acelerada por Solvente (ASE)			
	Recuperação Média (%)		Recuperação Média (%)
PCB 18+17	68,64	PCB 138+158	81,49
PCB 31+28	78,40	PCB 187	78,30
PCB 33	78,98	PCB 183	86,65
PCB 52	66,61	PCB 128	82,68
PCB 49	67,88	PCB 177	76,89
PCB 44	68,58	PCB 171	72,68
PCB 74	75,45	PCB 156	95,03
PCB 70	65,01	PCB 180	82,76
PCB 95	67,35	PCB 191	76,91
PCB 101	74,81	PCB 169	106,00
PCB 99	65,50	PCB 170	85,16
PCB 87	73,58	PCB 199	75,66
PCB 110	72,50	PCB 208	90,96
PCB 82	80,78	PCB 195	94,88
PCB 151	79,32	PCB 194	95,13
PCB 149	82,33	PCB 205	94,80
PCB 118	85,71	PCB 206	100,28
PCB 153+132	81,00	PCB 209	84,90
PCB 105	91,22		

5.1.5. Seletividade

A Seletividade do método foi avaliada pelo Teste F (Snedecor) de homogeneidade de variâncias e pelo Teste t (Student) de comparação de médias; conforme as equações descritas no item 4.4.1.6.

Foram preparados dois grupos de amostras teste, sete amostras com a matriz isenta de PCBs e outras sete amostras teste sem a matriz (branco da amostra). Ambos os grupos foram fortificados com concentrações dos analitos idênticas, que após processo de extração originaram extratos de concentração alvo de 25 ng mL⁻¹, obviamente corrigida pela concentração especificada no certificado de análise para cada um dos PCBs.

As tabelas a seguir (Tabela 12, Tabela 13, Tabela 14, Tabela 15, Tabela 16, Tabela 17 e Tabela 18) mostram os resultados para os testes (Teste F e Teste t)

para os analitos PCB 17 + PCB 18 e PCB 33; tanto para o preparo de amostra utilizando SPE como para o preparo por ASE, como exemplos dos estudos estatísticos realizados. A mesma avaliação foi aplicada para todos os 41 compostos estudados.

Tabela 12: Teste F para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 17 + PCB 18 utilizando Extração Acelerada por Solvente (ASE).

	<i>Matriz Fortificada</i>	<i>Branco Fortificado</i>
Média	21,55	21,56
Variância	3,16	0,78
Observações	7	7
Graus de Liberdade	6	6
F	4,03	
F crítico	4,28	

Tabela 13: Teste t para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 17 + PCB 18 utilizando Extração Acelerada por Solvente (ASE).

	<i>Matriz Fortificada</i>	<i>Branco Fortificado</i>
Média	21,55	21,56
Variância	3,16	0,78
Observações	7	7
Graus de Liberdade	12	
Módulo de t	0,02	
t crítico bi-caudal	2,18	

Tabela 14: Teste F para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 17 + PCB 18 utilizando Extração em Fase Sólida (SPE).

	<i>Matriz Fortificada</i>	<i>Branco Fortificado</i>
Média	24,64	26,20
Variância	3,00	0,72
Observações	7	7
Graus de Liberdade	6	6
F	4,18	
F crítico	4,28	

Tabela 15: Teste t para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 17 + PCB 18 utilizando Extração em Fase Sólida (SPE).

	<i>Matriz Fortificada</i>	<i>Branco Fortificado</i>
Média	24,64	26,20
Variância	3,00	0,72
Observações	7	7
Graus de Liberdade	12	
Módulo de t	2,14	
t crítico bi-caudal	2,18	

Tabela 16: Teste F para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 33 utilizando Extração Acelerada por Solvente (ASE).

	<i>Matriz Fortificada</i>	<i>Branco Fortificado</i>
Média	20,56	19,56
Variância	2,36	0,60
Observações	7	7
Graus de Liberdade	6	6
F	3,95	
F crítico	4,28	

Tabela 17: Teste t para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 33 utilizando Extração Acelerada por Solvente (ASE).

	<i>Matriz Fortificada</i>	<i>Branco Fortificado</i>
Média	20,56	19,56
Variância	2,36	0,60
Observações	7	7
Graus de Liberdade	12	
Módulo de t	1,53	
t crítico bi-caudal	2,18	

Tabela 18: Teste F para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 33 utilizando Extração em Fase Sólida (SPE).

	<i>Matriz Fortificada</i>	<i>Branco Fortificado</i>
Média	25,30	27,05
Variância	4,02	1,26
Observações	7	7
Graus de Liberdade	6	6
F	3,18	
F crítico	4,28	

Tabela 19: Teste t para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 33 utilizando Extração em Fase Sólida (SPE).

	<i>Matriz Fortificada</i>	<i>Branco Fortificado</i>
Média	25,30	27,05
Variância	4,02	1,26
Observações	7	7
Graus de Liberdade	12	
Módulo de t	2,02	
t crítico bi-caudal	2,18	

Conforme constatado nos exemplos tabelados acima, os dois métodos de extração utilizados no preparo das amostras de material particulado e de água para a determinação de PCBs, ASE e SPE respectivamente, mostraram não sofrer interferência da matriz na análise. Uma vez que o valor de F calculado não excedeu o valor crítico tabelado, a hipótese nula de variâncias iguais é aceita, o que significa que a matriz não causa efeito sobre a precisão do método na faixa de concentração estudada. Soma-se a isso o fato do t calculado também se mostrar menor que o t de Student tabelado; dessa forma as médias para os dois grupos podem ser consideradas estatisticamente iguais. Portanto a matriz não causa interferência sobre o resultado, para um alfa de 0,05 que corresponde a 95 % de confiança no teste estatístico.

Por sua vez, para alguns PCBs, como os que tiveram seus testes estatísticos detalhados nas tabelas abaixo (Tabela 20, Tabela 21, Tabela 22, Tabela 23, Tabela 24, Tabela 25, Tabela 26 e Tabela 27), o teste t para o caso da extração em fase sólida (SPE) apresentou valores de t calculado maiores do que o t tabelado. Esse resultado indica que existe um efeito matriz quando da extração por SPE; entretanto o Teste F para o mesmo caso mostrou que a precisão do método é assegurada mesmo com a presença de interferentes da matriz.

Tabela 20: Teste F para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 82 utilizando Extração Acelerada por Solvente (ASE).

	<i>Matriz Fortificada</i>	<i>Branco Fortificado</i>
Média	5,38	5,09
Variância	0,28	0,08
Observações	7	7
Graus de Liberdade	6	6
F	3,55	
F crítico	4,28	

Tabela 21: Teste t para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 82 utilizando Extração Acelerada por Solvente (ASE).

	<i>Matriz Fortificada</i>	<i>Branco Fortificado</i>
Média	5,38	5,09
Variância	0,28	0,08
Observações	7	7
Graus de Liberdade	12	
Módulo de t	1,31	
t crítico bi-caudal	2,18	

Tabela 22: Teste F para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 82 utilizando Extração em Fase Sólida (SPE).

	<i>Matriz Fortificada</i>	<i>Branco Fortificado</i>
Média	3,73	4,37
Variância	0,08	0,11
Observações	7	7
Graus de Liberdade	6	6
F	1,41	
F crítico	4,28	

Tabela 23: Teste t para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 82 utilizando Extração em Fase Sólida (SPE).

	<i>Matriz Fortificada</i>	<i>Branco Fortificado</i>
Média	3,73	4,37
Variância	0,08	0,11
Observações	7	7
Graus de Liberdade	12	
Módulo de t	3,81	
t crítico bi-caudal	2,18	

Tabela 24: Teste F para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 105 utilizando Extração Acelerada por Solvente (ASE).

	<i>Matriz Fortificada</i>	<i>Branco Fortificado</i>
Média	6,22	5,73
Variância	0,34	0,16
Observações	7	7
Graus de Liberdade	6	6
F	2,06	
F crítico	4,28	

Tabela 25: Teste t para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 105 utilizando Extração Acelerada por Solvente (ASE).

	<i>Matriz Fortificada</i>	<i>Branco Fortificado</i>
Média	6,22	5,73
Variância	0,34	0,16
Observações	7	7
Graus de Liberdade	12	
Módulo de t	1,85	
t crítico bi-caudal	2,18	

Tabela 26: Teste F para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 105 utilizando Extração em Fase Sólida (SPE).

	<i>Matriz Fortificada</i>	<i>Branco Fortificado</i>
Média	6,04	6,76
Variância	0,14	0,10
Observações	7	7
Graus de Liberdade	6	6
F	1,40	
F crítico	4,28	

Tabela 27: Teste t para avaliação do efeito matriz na determinação do PCB 105 utilizando Extração em Fase Sólida (SPE).

	<i>Matriz Fortificada</i>	<i>Branco Fortificado</i>
Média	6,04	6,76
Variância	0,14	0,10
Observações	7	7
Graus de Liberdade	12	
Módulo de t	3,93	
t crítico bi-caudal	2,18	

O efeito matriz pode ser pronunciado tanto no método de extração quanto no método cromatográfico (CAVALCANTE et al., 2012). Um método que produz respostas para vários analitos, mas que pode distinguir a resposta de um analito da de outros, como exemplificado na Figura 27, é chamado seletivo (INMETRO, 2016). Conforme pode ser observado na Figura 28, o perfil para o pico cromatográfico mesmo na presença da matriz mostra o quão seletivo e o quão sensível é o analisador do tipo triplo quadrupolo trabalhando no modo de Monitoramento Seletivo de Reação (SRM). Em vista disso, podemos inferir que o efeito matriz evidenciado pelo Teste t advém da etapa de preparo da amostra por SPE.

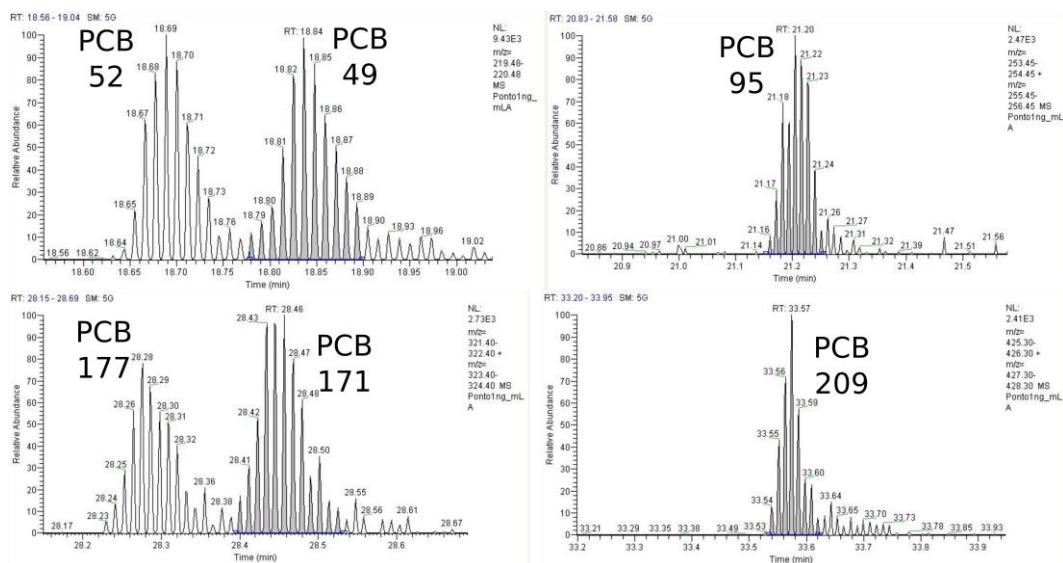


Figura 27: Perfil de pico cromatográfico para 6 analitos distintos para o ponto correspondente de 1 ng L^{-1} da curva de calibração na mesma corrida cromatográfica.

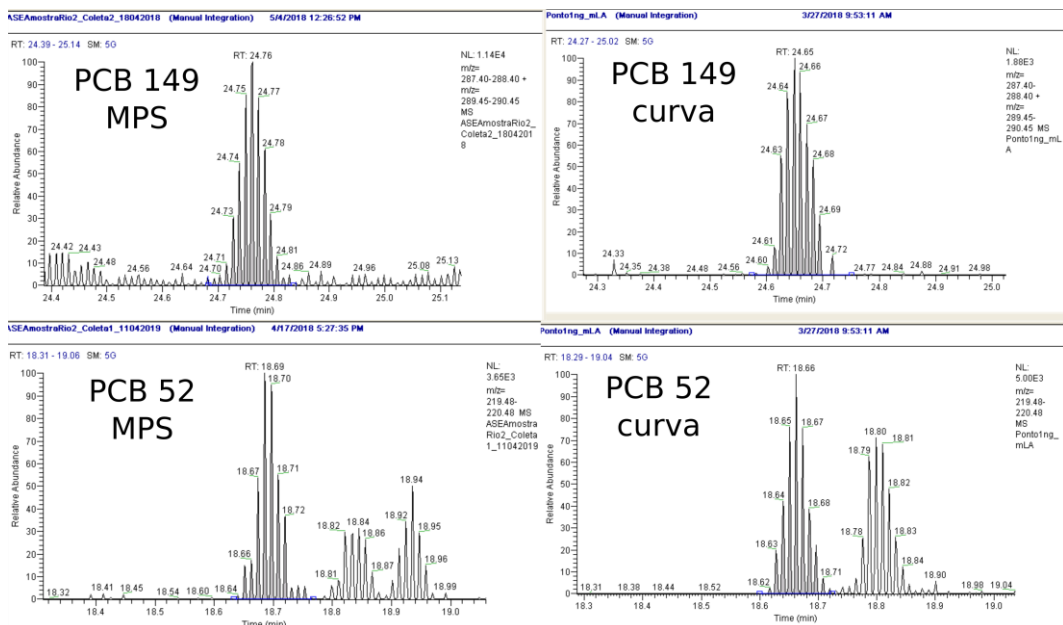


Figura 28: Comparação da resposta cromatográfica para os PCB 52 e PCB 149 na presença da matriz (análise do material particulado em suspensão -MPS) e na ausência de matriz (ponto da curva).

Como constatado nos exemplos de Teste t aplicados para os PCB 82 e PCB 105, quando do preparo das amostras por extração em fase sólida (SPE) as

médias para as amostras testes com e sem a matriz presente apresentaram valores diferentes. As amostras teste com matriz fortificada evidenciaram valores de média menores, o que indica menor recuperação dos analitos. As perdas durante o processo podem ser atribuídas ao efeito matriz, ou seja, às impurezas agregadas, as quais reduzem a eficiência de sorção do material empregado na extração. Possivelmente, frações de matéria orgânica (por exemplo, substâncias húmicas e fúlvicas), que são comumente encontradas no ambiente, podem ser as responsáveis por parcela dessa redução de eficiência de extração (ALMEIDA, 2003; CAVALCANTE et al., 2012).

Como parâmetro de controle de qualidade comumente utilizado para melhorar a exatidão de uma análise de contaminantes orgânicos em matrizes ambientais, empregou-se a adição de padrão *surrogate* com a finalidade de compensar o efeito matriz, bem como qualquer perda de compostos durante o processo de SPE. O emprego de padrão *surrogate* pode efetivamente compensar o efeito matriz no procedimento de SPE uma vez que ele é quimicamente e estruturalmente similar aos seus analitos; respondendo à extração e aos interferentes de maneira análoga (WU et al., 2010; ARBELÁEZ et al., 2015).

Mediante o exposto, as recuperações para os padrões *surrogates* (PCB 103 e PCB 198) foram monitoradas em cada amostra analisada; e como um método de controle de qualidade foram feitas correções nas concentrações dos pesticidas estudados (CAVALCANTE et al., 2012).

5.2. Aplicação do Método Validado

Com a finalidade de aplicar o método aqui desenvolvido, escolheu-se o Canal do Mangue pelos motivos discutidos abaixo.

Segundo Rocha Filho (2000), dentre os quarenta e cinco rios e canais que deságuam na Baía de Guanabara, os rios Caceribu, Guapimirim, Iguaçu, São João de Meriti, Irajá e os canais do Cunha e do Mangue são os responsáveis por 70 % do volume de água descarregado. De acordo com dados do Sistema Nacional de Informações sobre Recursos Hídricos da Agência Nacional de Águas (ANA), o fluxo mensal médio do Canal do Mangue fluindo para a Baía de Guanabara é igual a aproximadamente $5,1 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ (KCI TECHNOLOGIES INC., 2016).

O Canal do Mangue é um importante corpo hídrico situado na região central da cidade do Rio de Janeiro; recebe águas de alguns rios locais e outras contribuições de águas pluviais. Parte do canal situa-se em área urbana em constantes transformações no contexto do projeto Porto Maravilha. O Canal do Mangue recebe contribuição das águas dos rios Joana, Trapicheiros, Papa-Couve, Maracanã, Comprido, principalmente; os quais têm suas nascentes no Maciço da Tijuca ou na Serra do Engenho Novo (vide Figura 29). O canal tem seu ponto inicial na Avenida Presidente Vargas, na altura da Rua Marquês de Sapucaí. Após percorrer uma extensão de 1.400 metros o canal procede a uma curva de 90°, alterando seu curso em direção à Baía de Guanabara, percorrendo uma extensão total de 2.800 metros, e desembocando a sudoeste da Baía de Guanabara, na região do Cais do Porto (DA SILVA, 2017).



Figura 29: Principais rios tributários do Canal do Mangue; onde as linhas azuis representam os rios tributários e as linhas vermelhas o Canal do Mangue. Extraído de: DA SILVA (2017).

As atividades industriais representam um dos principais fatores de contaminação da Baía de Guanabara, sendo responsáveis por aproximadamente 20 % de toda carga orgânica e quase a totalidade da carga de substâncias tóxicas e metais pesados que atingem as águas da Baía (COELHO, 2007). A sub-bacia do canal do mangue é responsável por 0,425 toneladas por dia de carga orgânica industrial (KCI TECHNOLOGIES INC., 2016).

A construção do Canal do Mangue e da Estrada de Ferro Central do Brasil, bem como as vias de acesso unindo o Centro e a Quinta da Boa Vista, em São

Cristóvão (Caminho Aterrado) favoreceram a instalação de uma área industrial naquele bairro, voltada para a produção de bens de consumo, como tecido, vidro, couros, velas e sabões (COELHO, 2007).

Os pontos com maiores concentrações de poluentes localizam-se normalmente próximos à desembocadura do Canal do Mangue e do rio São João do Meriti, que são áreas de menor circulação de água e próximas a lançamentos de efluentes brutos ou parcialmente tratados provenientes das áreas industriais e residenciais do Município do Rio de Janeiro, Duque de Caxias e Municípios adjacentes (CRESPO & LA ROVERE, 2002).

Foram realizadas três coletas ao longo do mês de abril de 2018, espaçadas em uma semana. As coletas foram sempre realizadas em triplicata e em horários de maré vazante, no local indicado na Figura 30.

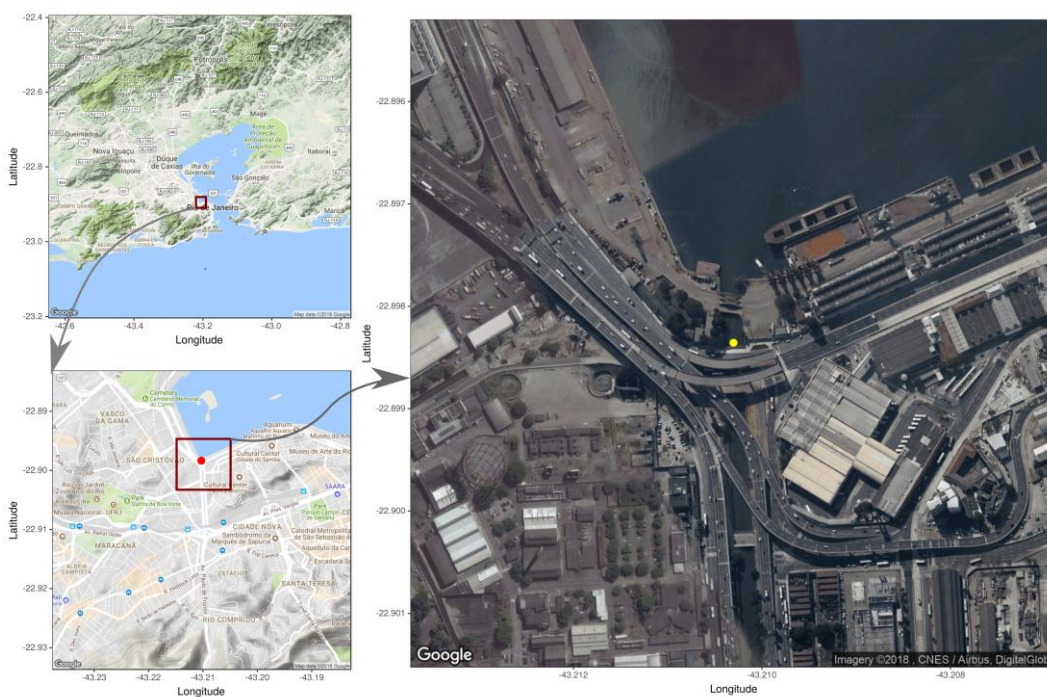


Figura 30: Local das Coletas no Canal do Mangue. Fonte: Google Maps.

Em todas as análises realizadas, as recuperações dos padrões *surrogate* (PCB 103 e PCB 198) variaram em um intervalo entre 65 e 110%. Os resultados das três coletas são apresentados nas tabelas abaixo (Tabela 28, Tabela 29 e Tabela 30).

Tabela 28: Resultados da Coleta 1.

	Coleta 1					
	PCBs Dissolvidos		PCBs no Material Particulado em Suspensão			
	ng L ⁻¹		ng L ⁻¹		ng g ⁻¹	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
PCB 18+17	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 31+28	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 33	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 52	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 49	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 44	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 74	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 70	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 95	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 101	<LQ		0,33	0,08	15,00	3,43
PCB 99	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 87	<LQ		0,17	0,02	6,95	6,02
PCB 110	<LQ		0,36	0,07	16,34	2,66
PCB 82	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 151	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 149	<LQ		0,17	0,15	7,91	7,08
PCB 118	<LQ		0,40	0,14	18,09	6,32
PCB 153+132	<LQ		0,25	0,01	10,73	9,32
PCB 105	0,46	0,04	0,32	0,10	14,72	5,33
PCB 138+158	1,50	0,28	0,42	0,14	19,28	7,18
PCB 187	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 183	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 128	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 177	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 171	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 156	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 180	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 191	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 169	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 170	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 199	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 208	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 195	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 194	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 205	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 206	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 209	<LQ		<LQ		<LQ	
ΣPCBs (soma da fração dissolvida e MPS) = 4,39 ± 0,90 ng L ⁻¹						

Tabela 29: Resultados da Coleta 2.

	Coleta 2					
	PCBs Dissolvidos		PCBs no Material Particulado em Suspensão			
	ng L ⁻¹		ng L ⁻¹		ng g ⁻¹	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
PCB 18+17	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 31+28	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 33	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 52	<LQ		0,21	0,08	6,08	5,63
PCB 49	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 44	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 74	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 70	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 95	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 101	<LQ		0,59	0,21	18,82	3,92
PCB 99	<LQ		0,28	0,07	9,32	2,47
PCB 87	<LQ		0,27	0,06	8,80	2,38
PCB 110	<LQ		0,39	0,09	13,19	4,83
PCB 82	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 151	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 149	<LQ		0,35	0,11	11,37	2,69
PCB 118	<LQ		0,48	0,12	15,83	4,90
PCB 153+132	<LQ		0,60	0,32	18,21	3,13
PCB 105	0,35	0,03	0,52	0,21	16,41	2,30
PCB 138+158	<LQ		0,72	0,32	22,37	3,63
PCB 187	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 183	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 128	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 177	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 171	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 156	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 180	<LQ		0,28	0,14	8,41	0,53
PCB 191	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 169	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 170	<LQ		0,25	0,09	7,89	1,01
PCB 199	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 208	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 195	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 194	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 205	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 206	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 209	<LQ		<LQ		<LQ	

Σ PCBs (soma da fração dissolvida e MPS) = 5,29 ± 1,86 ng L⁻¹

Tabela 30: Resultados da Coleta 3.

	Coleta 3					
	PCBs Dissolvidos		PCBs no Material Particulado em Suspensão			
	ng L⁻¹		ng L⁻¹		ng g⁻¹	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
PCB 18+17	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 31+28	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 33	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 52	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 49	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 44	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 74	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 70	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 95	<LQ		0,20	0,01	9,40	1,54
PCB 101	<LQ		0,34	0,00	15,95	2,09
PCB 99	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 87	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 110	<LQ		0,25	0,01	11,61	1,58
PCB 82	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 151	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 149	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 118	<LQ		0,28	0,01	13,33	1,32
PCB 153+132	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 105	0,30	0,05	0,37	0,04	17,13	0,75
PCB 138+158	<LQ		0,43	0,01	20,53	3,05
PCB 187	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 183	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 128	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 177	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 171	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 156	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 180	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 191	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 169	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 170	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 199	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 208	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 195	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 194	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 205	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 206	<LQ		<LQ		<LQ	
PCB 209	<LQ		<LQ		<LQ	

Σ PCBs (soma da fração dissolvida e MPS) = 2,17 ± 0,07 ng L⁻¹

O intervalo do somatório de PCBs totais para as amostras do Canal do Mangue, fração de PCBs dissolvidos somada à fração associada ao material particulado suspenso, para os 41 congêneres estudados variou de 2,17 ng L⁻¹ a 5,29 ng L⁻¹. O resultado encontra-se abaixo do limite máximo recomendado pela USEPA para o critério de qualidade da água em ambientes aquáticos, que é de 14 ng L⁻¹. Critérios de qualidade de vida aquática para produtos químicos tóxicos são expressos como a concentração máxima de poluentes específicos que não se espera que representem um risco significativo para a maioria das espécies em um dado ambiente. A Administração Oceânica e Atmosférica Nacional dos EUA (*National Oceanic and Atmospheric Administration*, NOAA) estabelece como valores orientadores máximos, para a soma dos congêneres, os mesmos 14 ng L⁻¹, provenientes do USEPA de Critérios de Qualidade da Água Ambiental dos EUA (AWQC), para águas superficiais doce quando da exposição crônica; definida pela NOAA como uma exposição média de 4 dias a não ser excedida mais de uma vez a cada três anos. A NOAA também estabelece como valores orientadores para a concentração máxima do critério o valor de 0,6 µg L⁻¹ (*Tier II Secondary Acute Value*) ou 0,03 µg L⁻¹ (*Australian & New Zealand ECLs and Trigger values*) que corresponde ao nível mais alto para uma exposição média de 1 hora que não deve ser excedida mais de uma vez a cada três anos e é sinônimo de "agudo" (SÜZGEÇ-SELÇUK et al., 2011). Nenhum dos valores orientadores citados acima foi excedido nas análises de água do Canal do Mangue.

No Brasil, a Resolução CONAMA Nº 357/2005 do Ministério do Meio Ambiente, estabelece como valor máximo para o somatório dos congêneres de PCBs em corpos de água doce (classes 1, 2 e 3) o valor de 1 ng L⁻¹; ou seja, os valores encontrados nas amostras analisadas excedem de 2 a 5 vezes o limite da legislação (BRASIL, 2005).

O padrão de distribuição médio das concentrações de PCBs encontradas nas amostras do Canal do Mangue em função do grau de cloração das moléculas está representado na Figura 31. A Figura 32 apresenta o padrão de distribuição percentual dos congêneres de PCBs nas misturas Aroclor 1254 e Aroclor 1260; que foram as principais formulações amplamente comercializadas e utilizadas no Brasil. A mistura Aroclor 1254 era constituída principalmente por congêneres penta, hexa e tetraclorados, respectivamente, mas também possuía em menores proporções os congêneres heptaclorados. Por outro lado, a mistura Aroclor 1260 possuía predominância dos congêneres hexa e heptaclorados que correspondiam a 70% ou mais de sua composição (YOGUI, 2002; LAVANDIER, 2015). Tendo como base a comparação entre os gráficos ilustrados abaixo, podemos inferir uma

relação entre a contaminação das águas superficiais do Canal do Mangue e o perfil das misturas Aroclor 1254 e 1260. O gráfico de distribuição de PCBs por grau de halogenação nas amostras de água neste trabalho muito se assemelham aos gráficos das composições destas duas misturas de PCBs citadas, em especial à mistura 1254.

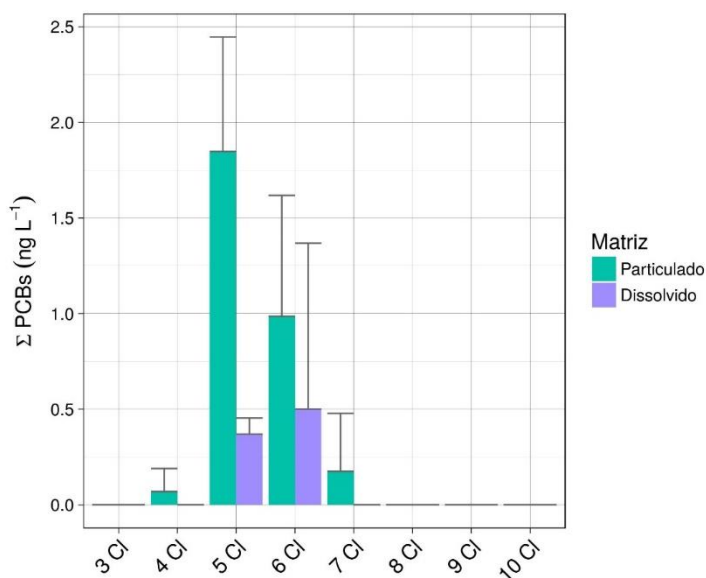


Figura 31: Padrão de distribuição médio dos PCBs encontrados nas amostras do Canal do Mangue em função do grau de cloração.

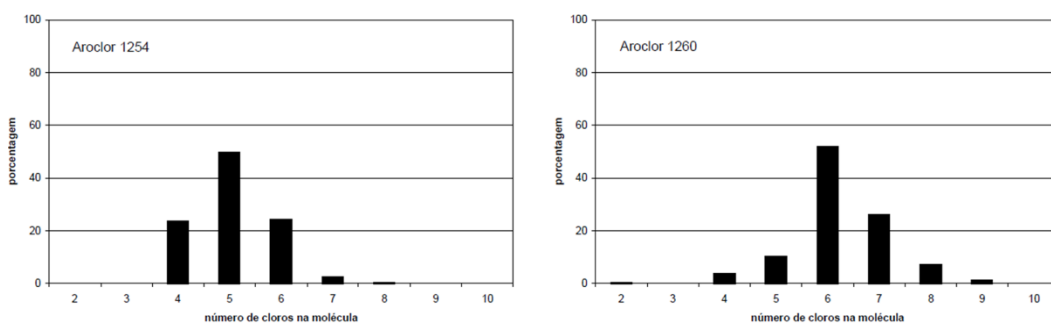


Figura 32: Padrão de distribuição percentual dos congêneres de PCBs nas misturas Aroclor 1254 e Aroclor 1260 em função do grau de cloração. Extraído de: (YOGUI, 2002).

A fotólise é um importante processo de degradação química de PCBs na água. À medida que o número de substituições de cloro aumenta, a banda de absorção de luz se desloca em direção a comprimentos de onda maiores e a taxa

de fotólise para hepta a decaclorobifenilas aumenta. Esse pode ser um dos motivos para não terem sido encontradas concentrações relevantes de congêneres com maior grau de cloração. Além disso, soma-se a isso o fato destes compostos possuírem grande tendência em sofrer adsorção em sedimentos quando comparados aos menos clorados (WHO, 2003). Por sua vez, congêneres com grau de cloração baixo, com três e quatro cloros, também apresentaram baixas concentrações. Uma explicação plausível estaria baseada no fato de, por serem mais solúveis, apresentarem maior dispersão no meio ambiente, podendo ser transportados a locais distantes de sua fonte de emissão (LAVANDIER, 2015).

Com a finalidade de entendermos a magnitude da contaminação do Canal do Mangue por bifenilas policloradas (PCBs), as concentrações deste estudo foram comparadas às de outros estudos de águas superficiais de rios, estuários e costas ao redor do mundo; conforme ilustrado na Figura 33. NIE et al. (2005) encontraram concentrações de PCBs no Estuário do Rio Pearl, na China, extremamente semelhantes às concentrações das amostras do Canal do Mangue; em um intervalo variando de 2,45 ng L⁻¹ a 6,75 ng L⁻¹ para o somatório de 36 congêneres de PCBs. MAHMOOD et al. (2014) obtiveram resultados para as análises de água do Rio Chenab no Paquistão variando em um *range* maior, de 0,2 ng L⁻¹ a 28 ng L⁻¹ para o somatório de 32 congêneres, não obstante seu valor de média de 5,7 ng L⁻¹ se aproxima ao deste trabalho. Os estudos de MENZIES et al. (2013) encontraram valores muito superiores ao deste estudo para o somatório de 19 PCBs em águas do Canal do Panamá e Costa da Califórnia, atingindo uma média de 1164 ng L⁻¹.

MONTUORI et al. (2016), NIE et al. (2005) e MENZIES et al. (2013) utilizaram em suas pesquisas como técnica de análise a cromatografia gasosa com detecção por captura de elétrons (GC-ECD). Tal técnica é capaz de detectar compostos halogenados em concentrações muito baixas, no entanto é uma técnica de detecção não específica, que pode produzir sinal para compostos não-alvo. Como resultado, ao usar o GC-ECD para pesticidas e PCBs em amostras ambientais, outros componentes da amostra podem ser detectados e interferir na identificação e na quantificação. O GC-ECD sofre interferências de matriz, visto que altos níveis de componentes não-alvo na matriz podem coeluir. Os falsos positivos ocorrem se o composto coeluinte responde ao detector, enquanto falsos negativos resultam de compostos coeluintes que extinguem o sinal, são os chamados *quencher*s ou supressores. Por vezes, a aplicação desses métodos pode não ser suficiente para a correta identificação dos analitos, assim sendo, recorre-se a uma etapa adicional de confirmação. Deste modo, para uma

identificação estrutural com maior rigor, procede-se a utilização de um espectrômetro de massas, permitindo além da quantificação, a confirmação estrutural do composto (PRAKASH & LIPPS, 2016; MARQUES, 2016).

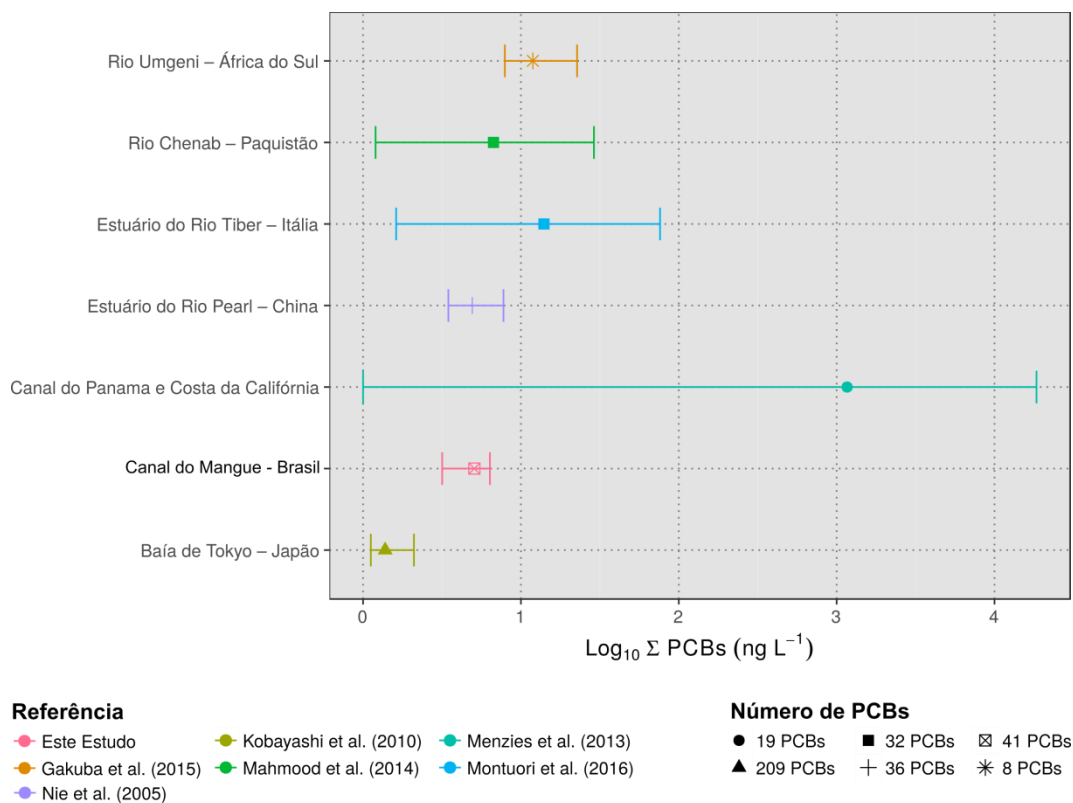


Figura 33: Intervalos de concentração e valor médio de PCBs na água de estudos de diferentes rios, estuários e costas no mundo.

MAHMOOD et al. (2014) e GAKUBA et al. (2015) trabalharam com a técnica de identificação e quantificação GC-MS no modo de monitoramento de íon seletivo. Já no caso do estudo de KOBAYASHI et al. (2010) em que todos os 209 congêneres de PCBs foram determinados, a técnica empregada foi a cromatografia gasosa de alta resolução acoplada à espectrometria de massa de alta resolução (HRGC-HRMS). O maior poder de resolução oferecido pela técnica torna possível a obtenção de cromatogramas de íons extraídos para os valores exatos de relação massa/carga (m/z). Dessa maneira, excluem-se os compostos isóbaros e aumenta-se a relação sinal/ruído (S/N, do inglês *signal/noise ratio*) dos picos cromatográficos de interesse. A maior capacidade de pico, ou seja, a separação de um número maior de compostos em uma mesma análise, é uma

das principais vantagens. Consequentemente, alta seletividade e baixos limites de detecção podem ser alcançados (FOCANT et al., 2008; BATAGLION, 2015).

No Brasil, estudos realizados demonstram a crescente preocupação com o acompanhamento e a quantificação desses compostos reconhecidamente tóxicos e bioacumulativos em matrizes aquosas. DEL GRANDE et al. (2003) amostraram sete pontos ao longo da bacia do rio Piracicaba, situada na região central do estado de São Paulo, e determinaram quatro congêneres de PCBs por GC-ECD. Todas as bifenilas foram detectadas em um ponto de amostragem, no mínimo, porém não foram quantificadas por estarem abaixo dos limites de quantificação (LQ) do método. Os resultados obtidos para os LQs dos PCB 5, PCB 50, PCB 154 e PCB 200 foram, respectivamente, 28,2 ng L⁻¹, 12,0 ng L⁻¹, 90,2 ng L⁻¹ e 190,5 ng L⁻¹; que segundo o próprio autor, apesar de estabelecidos na faixa de ng L⁻¹, não foram suficientemente baixos.

No trabalho de MENDES et al. (2011), amostras de águas do Rio Marombas, no estado de Santa Catarina, foram coletadas em três pontos específicos. O somatório dos 12 congêneres de PCBs determinados se mostrou abaixo de 500 µg L⁻¹, correspondente ao limite de detecção por GC-MS do método de análise empregado, para os três pontos amostrados.

BRITO et al. (2018) estudaram a qualidade da água na Bacia do Alto Iguaçu, no estado brasileiro do Paraná. Os resultados das amostras para os 48 congêneres de bifenilas policloradas (PCBs), para as 6 bifenilas polibromadas (PBDEs), e para os 24 pesticidas organoclorados (OCs) determinados pelos pesquisadores pela técnica de GC-MS no modo SIM, monitoramento de íon selecionado (do inglês, *selected ion monitoring*), apresentaram valores abaixo dos limites de detecção (0,5 - 0,1 µg.L⁻¹).

RISSATO et al. (2006) determinaram 7 congêneres de PCBs, com limite de quantificação de 5 ng L⁻¹ para cada PCB, em rios de duas regiões do Estado de São Paulo; Bauru (região 2) e Piratininga (região 3). O total de PCBs na água determinados por GC-MS no modo SIM na região 2 variou de 0,03 a 0,58 µg L⁻¹, enquanto na região 3 variou de 0,02 a 0,18 µg L⁻¹. Segundo os pesquisadores, a maior concentração desses poluentes na região 2 pode estar associada às indústrias de fusão e de baterias, além das empresas de tratamento de madeira de eucalipto da região. Também de acordo com os autores, esse estudo forneceu os primeiros dados sobre os níveis de pesticidas clorados persistentes e PCBs no solo e nas águas superficiais da região nordeste do Estado de São Paulo.

Os estudos brasileiros referenciados acima evidenciam a importância da metodologia implementada neste trabalho, uma vez que os limites de detecção e

quantificação alcançados se mostraram bastante inferiores aos reportados. A tecnologia GC-MS em tandem operando no modo Monitoramento de Múltiplas Reações (MRM), aqui utilizada, elimina quase todo o ruído, aumentando a sensibilidade do detector e atingindo limites de detecção de cinco a dez vezes menores que os limites de detecção do método de GC-MS simples, operando no modo SIM, aplicado por grande parte dos autores supracitados (PRAKASH & LIPPS, 2016).

Uma sugestão de trabalhos futuros seria o estudo e implementação de técnicas que possam baixar ainda mais os limites de quantificação para os analitos, com a finalidade de atender legislações mais rigorosas, bem como trabalhar com uma segurança maior. As técnicas de injeção de grande volume (LVI, *Large Volume Injection*) ganharam ampla atenção com o objetivo de reduzir os limites de detecção do sistema para atender aos regulamentos mais novos e mais rigorosos. Ao introduzir maior quantidade de amostra no sistema, a massa de analito que chega ao detector será proporcionalmente aumentada, resultando em maior área e altura de pico. Se o ruído da linha de base permanecer constante, a altura do pico significa maiores relações sinal-ruído e menores limites de detecção do sistema. Com condições de injeção adequadamente otimizadas, os problemas de cromatografia causados pelo grande volume de amostra, como picos de analito distorcidos e cauda de solvente longa, podem ser minimizados. O problema mais crítico no LVI é um enorme volume de vapor de solvente resultante da expansão do grande volume de líquido do solvente injetado (HOH; MASTOVSKA, 2008; ZHAO; MENG, 2012).

A amostra é geralmente injetada com um amostrador automático de uma só vez ou a uma velocidade controlada. O solvente é ventilado como vapor a uma temperatura inicial do injetor através da linha de *split* (período de separação do solvente). Uma vez que a maior parte do solvente é eliminada, a linha de divisão é fechada e o injetor aquece rapidamente para a transferência da amostra para a coluna (período sem divisão de fluxo, *splitless period*). Após esta fase, a linha de divisão é aberta para purgar o solvente remanescente do injetor (THERMO FISHER SCIENTIFIC INC., 2010).

A injeção de grande volume (LVI) com divisão de fluxo (*split*) e com *backflush* (BKF) é uma configuração particular da separação normal do solvente, que permite realizar a injeção de grandes volumes, evitando a entrada de solvente na coluna durante o período de injeção, e maximizar a recuperação dos analitos voláteis devido às condições suaves de evaporação do solvente. Apenas uma porção muito pequena do solvente permanece no injetor e é transferida com os

compostos a serem analisados. Essa solução permite ao usuário inverter o fluxo dentro do injetor, o que elimina compostos pesados ou indesejados, protege a coluna e o detector, e ao mesmo tempo diminui o tempo da corrida e aumenta a produtividade (CLAY et al., 2004; THERMO FISHER SCIENTIFIC INC., 2010; ZHAO; MENG, 2012).

Por fim, em decorrência do fato dos compostos químicos não polares, tais como os PCBs, tenderem a adsorver nas superfícies de vidro por forças de van der Waals ou interações dipolo-dipolo induzidas; observa-se uma provável fonte de erros por perdas dos analitos durante a amostragem e/ou durante o tratamento de amostra deste trabalho. Ao realizar a amostragem em garrafas de 4 L, filtrar e subamostrar 500 mL do filtrado para posterior extração por SPE; possivelmente uma porcentagem dos analitos permanecerá adsorvida às paredes dos frascos uma vez que apenas a última garrafa foi lavada com solvente extrator (LUNG, 2000).

Desta forma, evidencia-se a importância da técnica de amostragem, bem como a de preparo de amostra, para o sucesso da análise (PARRON et al., 2011). Uma maneira de evitar as limitações descritas no parágrafo anterior seria coletar no campo a água superficial em garrafas que possuam exatamente o volume a ser extraído no SPE e, uma vez que o material particulado em suspensão (MPS) requer isolamento, uma proposta de procedimento seria a filtração com posterior extração em fase sólida do filtrado em série, como forma de minimizar as perdas supracitadas. Um vaso de filtração especialmente projetado e acoplado diretamente a um cartucho de SPE poderia ser utilizado para esse propósito. Separação do MPS e isolamento/concentração dos analitos seriam realizados em um único passo; mitigando perdas por adsorção às superfícies.

6 Conclusão

Uma vez que as bifenilas policloradas (PCBs) são consideradas poluentes orgânicos altamente persistentes e cuja toxicidade aos seres vivos é preocupante; é urgente o desenvolvimento e aprimoramento de métodos analíticos que sejam capazes de monitorar esses compostos nas matrizes ambientais.

A metodologia analítica implementada neste trabalho com a determinação simultânea de 41 PCBs através de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas em tandem (GC-MS/MS) forneceu informação analítica confiável e robusta para a identificação dos analitos. O potencial da técnica de GC-MS/MS com o analisador do tipo triplo quadrupolo para determinação de poluentes orgânicos semivoláteis, neste caso os PCBs, em água superficial foi comprovado neste estudo. A operação do analisador no modo de Monitoramento Seletivo de Reação (SRM) acarretou uma excelente sensibilidade/seletividade, permitindo-nos atingir limites de detecção e de quantificação bastante baixos, condizente com as tolerâncias estabelecidas por recomendações legais. A seletividade foi aprimorada pelo registro de duas transições para cada analito e foi comprovada por intermédio dos testes estatísticos aplicados e pela obtenção de cromatogramas capazes de distinguir a resposta de um analito dos demais.

O procedimento completo que inclui a extração acelerada por solvente (ASE) para o material particulado em suspensão e a extração em fase sólida (SPE) para a fração dissolvida de PCBs no volume de água filtrado foi validado. Foram obtidos valores de exatidão e de precisão satisfatórios, com porcentagens de recuperação e coeficientes de variação aceitos internacionalmente. Possíveis efeitos da matriz na recuperação dos analitos foram controlados acertadamente pelo uso de padrão *surrogate* com perdas aceitáveis durante o processo. A recuperação obtida para os padrões de controle utilizados variou na faixa de 65% a 110%.

A utilidade do método desenvolvido foi testada pela aplicação na análise da água do Canal do Mangue, na região central do Rio de Janeiro. O intervalo encontrado para o somatório de PCBs totais para as amostras, fração de PCBs dissolvidos somada à fração associada ao material particulado suspenso, para os 41 congêneres estudados variou de 2,17 ng L⁻¹ a 5,29 ng L⁻¹. Os resultados

obtidos encontram-se abaixo dos valores orientadores máximos sugeridos pela Administração Oceânica e Atmosférica Nacional dos EUA (National Oceanic and Atmospheric Administration, NOAA); não obstante estão acima do valor máximo para o somatório dos congêneres de PCBs em corpos de água doce superficial (classes 1, 2 e 3) estabelecido pela legislação brasileira, representada pela Resolução CONAMA Nº 357/2005. O perfil de distribuição de PCBs de acordo com o seu grau de cloração sugere a utilização de misturas Aroclor 1254 e 1260, de fato, as mais comercializadas no Brasil com o nome de Ascarel®. Os resultados também corroboram para a importância da exigência da diretiva quadro europeia sobre a água (DQA, Diretiva 2000/60/CE), no que diz respeito à investigação do material particulado em suspensão (MPS), uma vez, que neste estudo, de caso a maior porcentagem de PCBs encontrada nas amostras de água advém do MPS.

Por fim, os achados de contaminação por PCBs nas amostragens realizadas no Canal do Mangue indicam a necessidade de monitoramento frequente desses compostos na Região da Bacia Hidrográfica da Baía de Guanabara; área densamente povoada que pode vir a impactar de maneira negativa na qualidade da água. Mais pesquisas são fundamentais para permitir uma avaliação concreta dos riscos que esses contaminantes oferecem à vida aquática e à saúde da população circundante. A determinação de níveis de concentração de PCBs em demais rios importantes que drenam a baía de Guanabara, bem como na biota aquática podem ajudar a elucidar o grau de contaminação da baía.

7

Referências bibliográficas

ABRHA, Y.; RAGHAVAN, D. Polychlorinated biphenyl (PCB) recovery from spiked organic matrix using accelerated solvent extraction (ASE) and soxhlet extraction [In Process Citation]. **Journal of Hazardous Materials**, v. 80, n. 1–3, p. 147, 2000.

ALBANO, F. DE M.; RAYA-RODRIGUEZ, M. T. **Validação e Garantia da Qualidade de Ensaios Laboratoriais**. 2a Edição ed. Porto Alegre: Rede Metrológica RS, 2015.

ALMEIDA, G. A. DE. Identificação de poluentes orgânicos na represa Billing - São Paulo. , p. 256, 2003.

ANDRADE-EIROA, A.; CANLE, M.; LEROY-CANCELLIERI, V.; CERDA, V. Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review (Part I). **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 80, p. 641–654, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2015.08.015>>. .

ANDRADE BRITO, I. DE; GARCIA, J. R. E.; SALAROLI, A. B.; et al. Embryo toxicity assay in the fish species *Rhamdia quelen* (Teleostei, Heptaridae) to assess water quality in the Upper Iguazu basin (Parana, Brazil). **Chemosphere**, v. 208, p. 207–218, 2018. Pergamon. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653518308518>>.

Acesso em: 1/7/2018.

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

ARBELÁEZ, P.; BORRULL, F.; POCURULL, E.; MARCÉ, R. M. Determination of high-intensity sweeteners in river water and wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography – tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1393, p. 106–114, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2015.03.035>>. .

AVÓ, R. V. M. DE. **Determinação de pesticidas por cromatografia gasosa com detecção por captura eletrônica (GC-ECD) e por cromatografia líquida associada a espectrometria de massa (LC-MS/MS)**, 2015. Universidade de Lisboa.

BATAGLION, G. A. **Caracterização Molecular de Matéria Orgânica Sedimentar**

por **Técnicas Cromatográficas e de Espectrometria de Massas**, 2015. Universidade Estadual de Campinas . Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/bitstream/REPOSIP/248711/1/Bataglion_GiovanaAnceski_D.pdf>. Acesso em: 30/6/2018.

BORGES, R. C.; CALDAS, V. G.; SIMOES, F. F. L.; FERREIRA, M. M.; LAPA, C. M. F. Use of GIS for the evaluation of heavy metal contamination in the Cunha Canal watershed and west the Guanabara Bay, Rio de Janeiro, RJ. **Marine Pollution Bulletin**, v. 89, n. 1–2, p. 75–84, 2014.

BORJA, J.; TALEON, D. M.; AURESENIA, J.; GALLARDO, S. Polychlorinated biphenyls and their biodegradation. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 6, p. 1999–2013, 2005.

BRAHM PRAKASH; WILLIAM LIPPS. Analyzing Pesticides, PCBs with Modern GCMS Technology. Disponível em: <<https://www.laboratoryequipment.com/article/2016/07/analyzing-pesticides-pcbs-modern-gcms-technology>>. Acesso em: 30/6/2018.

BRASIL. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). , 2003.

BRASIL. **Resolução CONAMA 357, de 17 de março de 2005**. 2005.

BREIVIK, K.; SWEETMAN, A.; PACYNA, J. M.; JONES, K. C. Towards a global historical emission inventory for selected PCB congeners -- a mass balance approach: 1. Global production and consumption. **Sci. Total Environ.**, v. 290, n. 1–3, p. 199, 2002. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969701010762%5Cnhttp://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969701010750%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12083709>>. .

CALDAS, S. S.; GONÇALVES, F. F.; PRIMEL, E. G.; et al. Principais Técnicas de Preparo de Amostra para a Determinação de Resíduos de Agrotóxicos em Água por Cromatografia Líquida com Detecção por Arranjo de Diodos e por Espectrometria de Massas. **Quim. Nova**, v. 34, n. 9, p. 1651–1655, 2011.

CARABIAS-MARTÍNEZ, R.; RODRÍGUEZ-GONZALO, E.; REVILLA-RUIZ, P.; HERNÁNDEZ-MÉNDEZ, J. Pressurized liquid extraction in the analysis of food and biological samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1089, n. 1–2, p. 1–17, 2005.

CARDOSO, M. H. W. M.; NÓBREGA, A. W. DA; VITAL, H. D. C.; ABRANTES, S. D. M. P. Preparação de um material de referência certificado para controle de agrotóxicos em hortifrutigranjeiros: estudo da homogeneidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 439–446, 2010.

CAVALCANTE, R. M.; LIMA, D. M.; FERNANDES, G. M.; DUAVÍ, W. C. Relation factor: A new strategy for quality control in the determination of pesticides in environmental aqueous matrices. **Talanta**, v. 93, p. 212–218, 2012.

CETESB; ANA. Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras - Água, Sedimento, Comunidades Aquáticas e Efluentes Líquidos. **Companhia Ambiental do Estado de São Paulo**, p. 326p, 2011.

CHATEL, G.; NAFFRECHOUX, E.; DRAYE, M. Avoid the PCB mistakes: A more sustainable future for ionic liquids. **Journal of Hazardous Materials**, v. 324, p. 773–780, 2017.

CHIARADIA, M. C.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. O ESTADO DA ARTE DA CROMATOGRAFIA ASSOCIADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS NA ANÁLISE DE COMPOSTOS TÓXICOS EM ALIMENTOS. **Quim. Nova**, v. 31, n. 3, p. 623–636, 2008.

CHO, S. K.; ABD EL-ATY, A. M.; CHOI, J. H.; et al. Effectiveness of pressurized liquid extraction and solvent extraction for the simultaneous quantification of 14 pesticide residues in green tea using GC. **Journal of Separation Science**, v. 31, n. 10, p. 1750–1760, 2008.

CHU, S.; HONG, C. S. Retention indexes for temperature-programmed gas chromatography of polychlorinated biphenyls. **Analytical Chemistry**, v. 76, n. 18, p. 5486–5497, 2004.

CLAY, D. E.; WENSKE, R.; ANDERSON, R. **A Programmed Temperature Vaporizing Injector for Large Volume Injections**. 2004.

COELHO, V. M. B. **Baía de Guanabara: uma história de agressão ambiental**. Rio de Janeiro: Casa da Palavra Produção Editorial, 2007.

DERCOVÁ, K.; VRANA, B.; BALAZ, S.; SANDOROVÁ, A. Biodegradation and evaporation of polychlorinated biphenyls (PCBs) in liquid media. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 16, p. 325–329, 1996.

EPA- U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Metod 3535A Solid-phase Extraction (SPE). , v. Revisão 1, p. 1–23, 2007.

EPA - U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Method 3545A-Pressurized Fluid Extraction (PFE). , 2007.

EPA - U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Method 1668C Chlorinated Biphenyl Congeners in Water , Soil , Sediment , Biosolids , and Tissue by HRGC / HRMS. , , n. April, 2010.

ERGER, C.; BALSAA, P.; WERRES, F.; SCHMIDT, T. C. Multi-component trace analysis of organic xenobiotics in surface water containing suspended particular

matter by solid phase extraction/gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1249, p. 181–189, 2012.

ERGER, C.; SCHMIDT, TORSTEN, C. Disk-based solid-phase extraction analysis of organic substances in water. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 61, p. 74–82, 2014.

EURACHEM. Determinando a Incerteza na Medição Analítica. **Versão Brasileira-2ª Edição**, 2002.

FOCANT, J.-F.; EPPE, G.; PAUW, E. Analytical Measurement and Levels of Dioxins and PCBs in Biological Samples. **Impact of Pollution on Animal Products**. p.17–39, 2008. Dordrecht: Springer Netherlands. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4020-8359-4_3>. Acesso em: 30/6/2018.

FONT, G.; MANES, J.; MOLTO, J. C.; PICO, Y. Current developments in the analysis of water pollution by polychlorinated biphenyls. **J Chromatogr A**, v. 733, n. 1–2, p. 449–471, 1996.

GAKUBA, E.; MOODLEY, B.; NDUNGU, P.; BIRUNGI, G. Occurrence and significance of polychlorinated biphenyls in water, sediment pore water and surface sediments of Umgeni River, KwaZulu-Natal, South Africa. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 187, n. 9, 2015.

GIERGIELEWICZ-MOZAJSKA, H.; DABROWSKI, L.; NAMIEŚNIK, J. Accelerated solvent extraction (ASE) in the analysis of environmental solid samples - Some aspects of theory and practice. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 149–165, 2001.

GRANDE, M. DEL; OLIVEIRA REZENDE, M. O.; ROCHA, O. Distribuição de compostos organoclorados nas águas e sedimentos da bacia do rio piracicaba/SP - Brasil. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 678–686, 2003.

HERNÁNDEZ, F.; PORTOLÉS, T.; PITARCH, E. Gas Chromatography Coupled To Triple Quadrupole Mass Spectrometry for Quantification and Confirmation of Organohalogen Xenoestrogen Compounds in Human Breast. **Analytical Chemistry**, v. 77, n. 23, p. 7662–7672, 2005. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac050874%2B>>. .

HOH, E.; MASTOVSKA, K. Large volume injection techniques in capillary gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1186, n. 1–2, p. 2–15, 2008.

IBGE. No Title. Disponível em: <<https://censo2010.ibge.gov.br/>>. .

IBGE. No Title. Disponível em: <<https://seculoxx.ibge.gov.br/>>. .

INEA. **Relatório Anual da Qualidade do Ar do Estado do Rio de Janeiro**. 2009.

INGLE, J. D.; CROUCH, S. R. **Spectrochemical Analysis**. New Jersey: Prentice Hall, 1988.

INMETRO. - INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. Vocabulário Internacional de Metrologia-Conceitos Fundamentais e Termos Associados (VIM 2008). 1ª Edição. Rio de Janeiro. , 2009.

INMETRO. DOQ-CGCRE-008-Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos (Revisão 04- Jul. 2011). , 2011.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA, (INMETRO). Vocabulário Internacional de Metrologia. **Ipq**, 2012.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA, (INMETRO). ORIENTAÇÃO SOBRE VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS, DOQ-CGCRE-008. , 2016.

JICA. **The Study on Recuperation of the Guanabara Bay Ecosystem**. Tokyo: Japan International Cooperation Agency, Kokusai Kogyo Co., Ltd., 1994.

KCI TECHNOLOGIES INC. **P02: Diagnóstico do Estado da Baía de Guanabara**. 2016.

KJERFVE, B.; LACERDA, L. D.; DIAS, G. T. DE M. Baía de Guanabara, Rio De Janeiro, Brazil. **Seeliger, U., Kjerfve, B. (Eds.), Coastal Marine Ecosystems of Latin America.**, p. 107–117., 2001. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/978-3-662-04482-7>>. .

KOBAYASHI, J.; SERIZAWA, S.; SAKURAI, T.; et al. Spatial distribution and partitioning of polychlorinated biphenyls in Tokyo Bay, Japan. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 12, n. 4, p. 838–845, 2010.

KRUMWIEDE, D.; HUEBSCHMANN, H.-J. **Analysis of PCBs in Food and Biological Samples Using GC-Triple Quadrupole MS-MS**. 2008.

KUEPER, B. H.; WEALTHALL, G. P.; SMITH, J. W. N.; LEHARNE, S. A; LERNER, D. N. **An illustrated handbook of DNAPL transport and fate in the subsurface**. 2003.

LACHTER, D. R. **Implementação e validação de método analítico para a determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos provenientes do Estado do Rio de Janeiro por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas tandem.**, 2017. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

LANÇAS, F. M. **Extração em Fase Sólida (SPE)**. Volume 4 ed. São Carlos, 2004.

LANG, V. Review Polychlorinated biphenyls in the environment. , v. 595, 1992.

LAU, E. V.; GAN, S.; NG, H. K. Extraction Techniques for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soils. **International Journal of Analytical Chemistry**, v. 2010, p. 1–9, 2010. Disponível em:

<<http://www.hindawi.com/journals/ijac/2010/398381/>>. .

LAVANDIER, R. C. **Contaminação por Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) em Organismos Marinhos da Costa Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro**, Brasil Ricardo Cavalcanti Lavandier **Contaminação por Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) em Organismos Marinhos da Co**, 2015. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

LUNG, S. Coating effects on the glass adsorption of polychlorinated biphenyl (PCB) congeners. **Chemosphere**, v. 41, n. 12, p. 1865–1871, 2000. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653500000837>>. .

MAHMOOD, A.; MALIK, R. N.; LI, J.; ZHANG, G. Levels, distribution profile, and risk assessment of polychlorinated biphenyls (PCBs) in water and sediment from two tributaries of the River Chenab, Pakistan. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 13, p. 7847–7855, 2014.

MARQUES, J. P. L. D. **Resíduos de pesticidas Organoclorados em leite materno**, 2016. Universidade de Coimbra. Disponível em: <<https://core.ac.uk/download/pdf/156958668.pdf>>. Acesso em: 30/6/2018.

MAUAD, C. R. **Hidrocarbonetos e nitroaromáticos na Baía de Guanabara : Aporte fluvial e estudo geocronológico**, 2014. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

MENDES, B. G.; BUDZIAK, D.; STOLBERG, J.; et al. Estudo da Qualidade das Águas do Rio Marombas (SC/Brasil), Utilizando Parâmetros Físico-Químicos e Bioensaios. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 5, n. 2, p. 43–58, 2011. Disponível em:

<<http://www.revistas.unilasalle.edu.br/index.php/Rbca/article/view/260>>. .

MENZIES, R.; SOARES QUINETE, N.; GARDINALI, P.; SEBA, D. Baseline occurrence of organochlorine pesticides and other xenobiotics in the marine environment: Caribbean and Pacific collections. **Marine Pollution Bulletin**, v. 70, n. 1–2, p. 289–295, 2013. Pergamon. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025326X13001434>>.

Acesso em: 17/6/2018.

MILLER, J. N.; MILLER, J. C. **Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry**. Fifth Edit ed. Pearson Education Limited, 2005.

MILLS, S. A.; THAL, D. I.; BARNEY, J. A summary of the 209 PCB congener nomenclature. **Chemosphere**, v. 68, n. 9, p. 1603–1612, 2007.

MONTUORI, P.; AURINO, S.; GARZONIO, F.; TRIASSI, M. Polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in Tiber River and Estuary: Occurrence, distribution and ecological risk. **Science of the Total Environment**, v. 571, p. 1001–1016, 2016a. Disponível em:

<<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84979619717&doi=10.1016%2Fj.scitotenv.2016.07.089&partnerID=40&md5=b9033e885045a739b10b848c857fc3b2>>. .

MONTUORI, P.; AURINO, S.; GARZONIO, F.; TRIASSI, M. Polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in Tiber River and Estuary: Occurrence, distribution and ecological risk. **Science of the Total Environment**, v. 571, p. 1001–1016, 2016b. Disponível em:

<<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969716315352>>. .

NETO, L. G. A.; BARROS, K. V. G. **Validação Analítica Quantitativa : Comparação entre os parâmetros de desempenho da ANVISA e do INMETRO**. 2005.

NIE, X.; LAN, C.; WEI, T.; YANG, Y. Distribution of polychlorinated biphenyls in the water, sediment and fish from the Pearl River estuary, China. **Marine Pollution Bulletin**, v. 50, n. 5, p. 537–546, 2005.

OSEMWENGIE, L. I.; SOVOCOL, G. W. The mass spectrometric ortho effect studied for all 209 PCB congeners. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 352, p. 51–64, 2013.

PARRON, L. M.; HELOISA DE FREITAS MUNIZ, D.; PEREIRA, C. M. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Florestas Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. , 2011. Disponível em: <www.cnpf.embrapa.br>. Acesso em: 14/7/2018.

PDRH-BG. Plano Diretor de Recursos Hídricos da Região da Baía de Guanabara. Programa de Despoluição da Baía de Guanabara. **Anais...** . p.3087, 2003.

PENTEADO, J. C. P.; VAZ, J. M. 390 Penteado et al. Quim. Nova. **Química Nova**, v. 24, n. 3, p. 390–398, 2001.

PEREIRA, M. D. S. Polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDD), dibenzofurans (PCDF) and polychlorinated biphenyls (PCB): Main sources, environmental behaviour and risk to man and biota. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 934–943, 2004.

PITARCH, E.; MEDINA, C.; PORTOLÉS, T.; LÓPEZ, F. J.; HERNÁNDEZ, F. Determination of priority organic micro-pollutants in water by gas chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 583, n. 2, p. 246–258, 2007.

PO-ON TANG, H. Recent development in analysis of persistent organic pollutants under the Stockholm Convention. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 45, p. 48–66, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2013.01.005>>. Acesso em: 6/7/2018.

RAMOS, A. M. **SEPARAÇÃO DE PIPERONAL CONTIDO EM UMA SOLUÇÃO**

DE SÍNTESE A PARTIR DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper hispidinervum* C. DC POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA COM INJEÇÃO EMPILHADA, 2014. UNICAMP.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. VALIDAÇÃO EM MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS E ELETROFORÉTICOS Marcelo. **Quim. Nova**, v. 27, n. 5, p. 771–780, 2004.

RICHTER, B. E.; JONES, B. A.; EZZELL, J. L.; et al. Accelerated Solvent Extraction: A Technique for Sample Preparation. **Analytical Chemistry**, v. 68, n. 6, p. 1033–1039, 1996. Disponível em:

<<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac9508199>>. .

RISSATO, S. R.; GALHIANE, M. S.; XIMENES, V. F.; et al. Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in soil and water samples in the Northeastern part of São Paulo State, Brazil. **Chemosphere**, v. 65, n. 11, p. 1949–1958, 2006.

ROCHA FILHO, P. **Relatório final de avaliação das condições presentes de funcionamento do complexo industrial REDUC/DTSE sob o ponto de vista de suas implicações ambientais**. Rio de Janeiro, 2000.

ROMANIK, G.; GILGENAST, E.; PRZYJAZNY, A.; KAMIŃSKI, M. Techniques of preparing plant material for chromatographic separation and analysis. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, v. 70, n. 2, p. 253–261, 2007.

ROSS, G. The public health implications of polychlorinated biphenyls (PCBs) in the environment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 59, n. 3, p. 275–291, 2004.

SABIK, H.; JEANNOT, R.; RONDEAU, B. Multiresidue methods using solid-phase extraction techniques for monitoring priority pesticides , including triazines and ... monitoring priority pesticides , including triazines and degradation. , v. 885, n. May, p. 217–236, 2015.

SAMYRA CRESPO;; ROVERE, A. L. N. LA. **Relatorio Ambiental Urbano Integrado**. Rio de Janeiro, 2002.

SANTOS, F. J.; GALCERAN, M. T. Modern developments in gas chromatography – mass spectrometry- based environmental analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 1000, p. 125–151, 2003.

SCHWANZ, T. G. **Bifenilos policlorados (PCBs) em milho e farinha de milho do Estado do Rio Grande do Sul**, 2011. Universidade Federal de Santa Maria.

SELL, I. Utilização da regressão linear como ferramenta de decisão na gestão de custos. **IX Congresso Internacional de Custos**, 2005.

SILVA, C. E. D. A.; TORRES, J. P. M.; MALM, O. Toxicologia das bifenilas

policloradas. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, n. 2, p. 179–187, 2007.

SILVA, L. R. DA; FERREIRA, M. M. C. ESTUDO DO COEFICIENTE DE PARTIÇÃO OCTANOL-ÁGUA DE BIFENILAS POLICLORADAS (PCBs) UTILIZANDO PARÂMETROS TOPOLÓGICOS. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 312–318, 2003.

SILVA, M. M. DA. **Caracterização das águas do Canal do Mangue: Diagnóstico e propostas**, 2017. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Engenharia. Disponível em:

<<http://www.peamb.eng.uerj.br/trabalhosconclusao/2017/PEAMB2017MarisaMagalhaesdaSilva.pdf>>. Acesso em: 19/6/2018.

SOARES-GOMES, A.; GAMA, B. A. P. DA; BAPTISTA NETO, J. A.; et al. An environmental overview of Guanabara Bay, Rio de Janeiro. **Regional Studies in Marine Science**, v. 8, p. 319–330, 2016.

SOUZA CALDAS, S.; FERREIRA GONÇALVES EDNEI GILBERTO PRIMEL, F.; DAMIAN PRESTES, O.; LEONARDO MARTINS RENATO ZANELLA, M. Principais Técnicas de Preparo de Amostra para a Determinação de Resíduos de Agrotóxicos em Água por Cromatografia Líquida com Detecção por Arranjo de Diodos e por Espectrometria de Massas. **Quim. Nova**, v. 34, n. 9, p. 1604–1617, 2011. Disponível em:

<http://www.ppgquimica.furg.br/images/2011_PRINCIPAIS_TÉCNICAS_DE_PREPARO_DE_AMOSTRA_PARA_A_DETERMINAÇÃO_DE_RESÍDUOS_DE_AGROTÓXICOS_EM_ÁGUA.pdf>. Acesso em: 20/6/2018.

STRELAU, J. R. DE M. **Metodologia para Determinação de Agrotóxicos por GC/MS em Pluma e Tecido de Algodão**, 2013. Universidade Federal de Santa Catarina.

SUN, H.; GE, X.; LV, Y.; WANG, A. Application of accelerated solvent extraction in the analysis of organic contaminants, bioactive and nutritional compounds in food and feed. **Journal of Chromatography A**, v. 1237, p. 1–23, 2012.

SÜZGEÇ-SELÇUK, S.; MERİÇLİ, A. H.; GÜVEN, K. C.; et al. Evaluation of Turkish seaweeds for antiprotozoal, antimycobacterial and cytotoxic activities. **Phytotherapy Research**, v. 25, n. 5, p. 778–783, 2011. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/ptr.3330>> .

TANABE, S. PCB problems in the future: Foresight from current knowledge. **Environmental Pollution**, v. 50, n. 1–2, p. 5–28, 1988.

THERMO FISHER SCIENTIFIC INC. Backflush System for PTV Injector. **Installation Manual**, v. H, n. November, p. 1–56, 2010.

UNEP. The Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs). The

- Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs). **Anais...**, 2001.
- UNESCO. **Relatório Mundial das Nações Unidas sobre Desenvolvimento dos Recursos Hídricos. Água para um Mundo Sustentável**. 2015.
- URABE, H.; ASAH, M. Past and current dermatological status of Yusho patients. **Environmental Health Perspectives**, v. VOL, n. 59, p. 11–15, 1985.
- WALORCZYK, S. Development of a multi-residue screening method for the determination of pesticides in cereals and dry animal feed using gas chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1165, n. 1–2, p. 200–212, 2007.
- WANG, G.; LEE, A S.; LEWIS, M.; KAMATH, B.; ARCHER, R. K. Accelerated solvent extraction and gas chromatography/mass spectrometry for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked food samples. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 47, n. 3, p. 1062–1066, 1999.
- WANIA, F.; MACKAY, D. Tracking the distribution of persistent organic pollutants. **Environmental science & technology**, v. 30, n. 9, p. 390A–396A, 1996.
- WHO. Polychlorinated biphenyls : Human health aspects. **Concise international chemical assessment document 55**, 2003.
- WOLSKA, L.; GALER, K.; GÓRECKI, T.; NAMIESNIK, J. Surface water preparation procedure for chromatographic determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls. **Talanta**, v. 50, p. 985–991, 1999.
- WU, J. P.; LUO, X. J.; ZHANG, Y.; et al. Bioaccumulation of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in wild aquatic species from an electronic waste (e-waste) recycling site in South China. **Environment International**, v. 34, n. 8, p. 1109–1113, 2008.
- WU, J.; QIAN, X.; YANG, Z.; ZHANG, L. Study on the matrix effect in the determination of selected pharmaceutical residues in seawater by solid-phase extraction and ultra-high-performance liquid chromatography-electrospray ionization low-energy collision-induced dissociation tandem mass spectr. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 9, p. 1471–1475, 2010.
- XAVIER DE BRITO, A. P.; ANDRADE BRÜNING, I. M. R. DE; MOREIRA, I. Chlorinated pesticides in mussels from Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 44, n. 1, p. 79–81, 2002.
- YOGUI, G. T. Ocorrência de compostos organoclorados (pesticidas e PCBs) em mamíferos marinhos da costa de São Paulo (Brasil) e da Ilha Rei George (Antártica). , p. 139, 2002.
- YU, Y.; LI, Y.; SHEN, Z.; et al. Occurrence and possible sources of organochlorine pesticides (OCPs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) along the Chao River,

China. **Chemosphere**, v. 114, p. 136–143, 2014.

ZHANG, H.; BAYEN, S.; KELLY, B. C. Science of the Total Environment Multi-residue analysis of legacy POPs and emerging organic contaminants in Singapore ' s coastal waters using gas chromatography – triple quadrupole tandem mass spectrometry. , v. 523, n. 1, p. 219–232, 2015.

ZHANG, Z.; HUANG, J.; YU, G.; HONG, H. Occurrence of PAHs, PCBs and organochlorine pesticides in the Tonghui River of Beijing, China. **Environmental Pollution**, v. 130, n. 2, p. 249–261, 2004.

ZHAO, L.; MENG, C.-K. **Optimized Method Development of Large Volume Injection for GC/MS/MS of Food Pesticides**. 2012.