

**NATANNY ALMEIDA SANTOS**

**DETERMINAÇÃO DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS  
AROMÁTICOS EM LODO DE ESGOTO POR CROMATOGRAFIA GASOSA  
ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Produção Vegetal, área de concentração em Produção Vegetal, do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Produção Vegetal.

Área de concentração: Produção Vegetal

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Gevany Paulino de Pinho

Montes Claros – MG

2016

Santos, Natanny Almeida.

S237d 2016 Determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em lodo de esgoto por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas/ Natanny Almeida Santos. Montes Claros, MG: Instituto de Ciências Agrárias/UFMG, 2016.  
122 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal de Minas Gerais, 2016.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Gevany Paulino de Pinho.

Banca examinadora: Leila Moreira Bittencourt Rigueira, Gevany Paulino de Pinho, Douglas Lopes Cassimiro e Flaviano Oliveira Silvério.

Referências: f: 112-122.

1. Lodo de esgoto. 2. HPAs. 3. Solos. I. Pinho, Gevany Paulino. II. Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais. III. Título.

CDU: 628.3

NATANNY ALMEIDA SANTOS

DETERMINAÇÃO DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS  
EM LODO DE ESGOTO POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A  
ESPECTROMETRIA DE MASSAS

---

Prof<sup>a</sup>. Gevany Paulino de Pinho  
Orientadora (ICA/UFMG)

Aprovada em 12 de fevereiro de 2016.

Montes Claros – MG  
2016

## **Dedico**

Ao meu adorado Deus, pois seu  
fôlego de vida em mim, sempre  
me foi sustento; aos meus  
amados pais, Sinésio e Nelci,  
que incessantemente me  
revestiram de muito amor e a  
todos aqueles que contribuem  
para um meio ambiente  
saudável.

Com todo amor.

## AGRADECIMENTOS

O meu coração exulta de tanta alegria e satisfação por mais esta etapa vencida! Agradeço ao Senhor Supremo, que é o grande dono dessa vitória! Minha eterna gratidão por ter me capacitado nesses dois anos e por sempre ter me dado forças para prosseguir.

Aos professores Gevany Paulino de Pinho e Flaviano Oliveira Silvério, agradeço imensamente pela orientação e por todo o conhecimento transmitido. Contribuíram de forma significativa para o meu crescimento profissional.

Aos meus amados pais! Não existem palavras para descrever o quanto são perfeitos. Tê-los como base de tudo que sou foi sem dúvidas o gatilho para que eu corresse atrás do meu sonho e chegasse até o fim. Porque eu cresci com uma mulher forte, guerreira, determinada e valente. Aprendi com um homem batalhador e incrível o significado de honestidade.

À minha querida amiga Rizia, que sempre foi a minha cúmplice, companheira e dupla fiel. Esteve ao meu lado nos momentos de choro, desespero e medos. Foi capaz de me entender por olhares, de me fazer sorrir e ficar tranquila diante das dificuldades! A levarei sempre comigo.

Ao ser humano especial, Ane Cacique, que transcende o significado da palavra sabedoria. Poder partilhar da sua amizade foi algo grandioso em minha vida! Desejo que Deus continue fazendo-a sábia e dando-a forças para ser quem ela é.

À Cristiele, de forma especial, pelo carinho de sempre e por todo o apoio durante a etapa final dos experimentos.

Ao Douglas, por ter se mostrado sempre atencioso e disponível, contribuindo de forma imensurável na finalização do meu trabalho.

À todos os amigos do LPA que sempre se fizeram presentes, me incentivando e me fortalecendo. Agradeço ainda por todos os risos compartilhados, pela amizade construída, por todos os momentos de doação, de amor. Foi sem dúvidas enriquecedor conviver com pessoas tão dignas e gentis. Desejo que Deus abençoe todos de forma grandiosa.

Ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (ICA-UFMG) pela oportunidade de realização do mestrado e infraestrutura disponibilizada.

À FAPEMIG pelo auxílio financeiro, permitindo a condução desta pesquisa.

"Porque dEle, e por Ele, e para  
Ele, são todas as coisas; glória,  
pois, a Ele eternamente. Amém."

*(Romanos 11:36)*

## RESUMO

Lodo de esgoto é um resíduo sólido gerado durante o tratamento das águas residuárias nas Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs). Depois de tratado e processado, este material pode ser utilizado na agricultura. No entanto, essa prática pode levar à contaminação e acumulação de poluentes tóxicos em vários compartimentos ambientais. Dentre esses contaminantes, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) constituem uma classe de compostos químicos comumente presentes em lodo de esgoto. Neste estudo, a extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura (ESL-PBT) modificada foi validada para o monitoramento de 16 HPAs. As análises foram realizadas por cromatografia gasosa e espectrometria de massas. Para o desenvolvimento e validação do método proposto é necessária a utilização de amostras de lodo isentas de HPAs, denominado branco. Em vista disso, amostras de diferentes estações de tratamento de esgoto foram avaliadas empregando a ESL-PBT e análise por CG-EM. Entretanto, em todas as amostras foi detectada a presença de HPAs e vários interferentes da matriz. A alternativa encontrada foi obter em laboratório amostras de lodo isentas de HPAs para posterior aplicação da técnica ESL-PBT. Dessa forma, amostras de lodo de esgoto foram tratadas em soxtec com acetato de etila por 1 hora. A ESL-PBT foi conduzida utilizando 4,0000 g de lodo tratado, 7,00 mL de acetonitrila, 1,00 mL de acetato de etila, 4,00 mL de água (pH 11), 0,1 g de NaCl e 5 min em vórtex. As porcentagens de extração variaram de 37% (benzo[k]fluoranteno) a 129% (naftaleno) e desvio-padrão relativo  $\leq 13\%$  para a maioria dos HPAs. Os limites de quantificação foram de 0,0025 mg kg<sup>-1</sup> a 0,025 mg kg<sup>-1</sup>. O método para a determinação de HPAs foi aplicado em amostras de lodo de esgoto coletadas no leito de secagem da estação de tratamento de esgoto (ETE) da cidade de Juramento (MG, Brasil). Foram detectados e quantificados 9 HPAs. Portanto, o método é eficiente para a determinação de HPAs em lodo de esgoto com potencial utilização na agricultura.

**PALAVRAS-CHAVE:** HPAs, lodo de esgoto, ESL-PBT, validação.



## ABSTRACT

Sewage sludge is a solid residue generated during the treatment of wastewater in sewage treatment plants (STPs). After treated and processed, this material can be used in agriculture. However, this practice can lead to contamination and accumulation of toxic pollutants in various environmental compartments. Among these contaminants, the polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) constitute a class of chemicals compounds commonly present in sewage sludge. In this study, the solid-liquid extraction with purification at low temperature (ESL-PBT) modified has been validated for monitoring of 16 PAHs. The analyzes were performed by gas chromatography and mass spectrometry. For the development and validation of the proposed method is necessary the use of sludge samples free of PAHs, called white. In view of this, samples of different sewage treatment plants were evaluated using the ESL-PBT and analysis by GC-MS. However, in all samples was detected the presence of PAHs and various interfering of the matrix. The alternative found was obtain, in laboratory, sludge samples free of PAHs for subsequent application of ESL-PBT technique. Thus, sewage sludge samples were treated in soxtec with ethyl acetate for 1 hour. The ESL-PBT was conducted using 4.0000 g of sludge treated, 7.00 ml of acetonitrile, 1.00 mL of ethyl acetate, 4.00 ml of water (pH 11), 0.1 g NaCl, and 5 min in vortexing. The extraction percentages ranged from 37% (benzo[k]fluoranthene) to 129% (naphthalene) and relative standard deviation  $\leq 13\%$  for most PAHs. The limits of quantification were from 0.0025 mg kg<sup>-1</sup> to 0.025mg kg<sup>-1</sup>. The method for determination of PAHs was applied in sewage sludge samples collected in the drying bed of the sewage treatment plant (STP) of the city of Juramento (MG, Brazil). They were detected and quantified 9 PAHs. Therefore, the method is efficient for the determination of PAHs in sewage sludge with potential use in agriculture.

**KEYWORDS:** PAHs, sewage sludge, ESL-PBT, validation.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1-	Representação das estruturas químicas dos 16 HPAs prioritários segundo a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos.....	26
Figura 2-	Representação do cromatograma da solução padrão dos 16 HPAs em extrato da matriz a $50 \mu\text{g L}^{-1}$ , obtido por CG-EM no modo MIS.....	49
Figura 3-	Comparação entre o cromatograma do extrato da matriz obtido após a ESL-PBT sem fortificação (branco) com o cromatograma do extrato da matriz após a ESL-PBT fortificado com solução padrão contendo os 16 HPAs a $50 \mu\text{g L}^{-1}$ .....	50
Figura 4-	Representação dos cromatogramas dos extratos obtidos após a ESL-PBT de amostras de lodo de esgoto submetidas ao pré-tratamento em soxtec com hexano, clorofórmio, acetonitrila e acetato de etila .....	51
Figura 5-	Representação dos cromatogramas dos extratos obtidos após a ESL-PBT de amostras de lodo de esgoto submetidas ao pré-tratamento em soxtec com acetato de etila durante 1, 2, 3 e 4 horas.....	52
Figura 6 -	Representação da marcha analítica aplicada para a extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura de 16 HPAs em lodo de esgoto. As etapas destacadas foram as adaptadas.....	54
Figura 7 -	Gráfico das porcentagens de recuperação obtidas para os 16 HPAs a partir da ESL-PBT modificada.....	55
Figura 8 -	Representação dos cromatogramas no modo MIS dos extratos obtidos após a ESL-PBT de amostras de lodo de esgoto pré-tratadas em soxtec: A) Extrato sem fortificação (branco) B) Extrato fortificado com solução padrão contendo os 16 HPAs na concentração de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ .....	56
Figura 9-	Gráficos exploratórios dos resíduos da regressão das curvas dos 16 HPAs em extrato de lodo, após exclusão de valores dispersos diagnosticados pelo teste de resíduos padronizados Jackknife.....	59
Figura 10-	Gráficos de probabilidade normal das curvas dos 16 HPAs em extrato de lodo de esgoto.....	62

Figura 11-	Gráficos de Durbin-Watson das curvas dos 16 HPAs em extrato de lodo de esgoto.....	71
Figura 12-	Representação dos cromatogramas da análise no modo MIS da solução padrão contendo os 16 HPAs em acetonitrila na concentração de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ , sendo (A) antes e (B) após saturação do sistema cromatográfico. Programação da temperatura do forno: $50^{\circ}\text{C}$ (0,4 min), $25^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até $195^{\circ}\text{C}$ (1,5 min), $8^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até $265^{\circ}\text{C}$ , $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até $300^{\circ}\text{C}$ (4min)...	77
Figura 13-	Valores de áreas obtidos nas análises por CG-EM para soluções padrão dos 16 HPAs preparadas em extrato da matriz e em acetonitrila.....	78

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas dos 16 hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) considerados prioritários pela agência de proteção ambiental dos Estados Unidos - <i>Environment Protection Agency</i> .....	29
Tabela 2 - Concentrações máximas permitidas de HPAs prioritários pela EPA, em solos agrícolas (CONAMA) e em lodo de esgoto (UE).....	33
Tabela 3 - Tempos de retenção dos 16 HPAs e íons selecionados para análise no CG-EM no modo MIS.....	43
Tabela 4 - Limites de quantificação dos 16 HPAs obtidos no extrato da matriz e os limites máximos de resíduos permitidos (LMR).....	57
Tabela 5 - Equações das curvas de calibração obtidas para os 16 HPAs em extrato de lodo de esgoto, na faixa de concentração entre 10 a 130 $\mu\text{g L}^{-1}$ e seus respectivos coeficientes de determinação ( $R^2$ ).....	58
Tabela 6 - Representação da homogeneidade das variâncias dos resíduos da regressão das curvas analíticas dos 16 HPAs 'pelo teste de Levene modificado.....	70
Tabela 7 - Estatística da análise de variância da regressão para as curvas dos 16 HPAs.....	74
Tabela 8 - Exatidão e precisão do método para determinação de 16 HPAs em lodo de esgoto.....	76
Tabela 9 - Equações das curvas de calibração obtidas para os 16 HPAs em acetonitrila, na faixa de concentração entre 10 a 130 $\mu\text{g L}^{-1}$ e seus respectivos coeficientes de determinação ( $R^2$ ).....	80

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ACE</b>	Acenafteno
<b>ANT</b>	Antraceno
<b>ATI</b>	Acenaftileno
<b>BAA</b>	Benzo[ <i>a</i> ]antrac1eno
<b>BAP</b>	Benzo[ <i>a</i> ]pireno
<b>BBF</b>	Benzo[ <i>b</i> ]fluoranteno
<b>BKF</b>	Benzo[ <i>k</i> ]fluoranteno
<b>BPER</b>	Benzo[ <i>g,h,i</i> ]perileno
<b>CG</b>	Cromatografia gasosa
<b>CLAE</b>	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
<b>CRI</b>	Criseno
<b>CONAMA</b>	Conselho Nacional de Meio Ambiente
<b>DBA</b>	Dibenzo[ <i>a,h</i> ]antraceno
<b>DP</b>	Desvio Padrão
<b>DPR</b>	Desvio Padrão Relativo
<b>EM</b>	Espectrometria de Massas
<b>EPA</b>	Environmental Protection Agency
<b>ESL-PBT</b>	Extração Sólido-Líquido com Purificação em Baixa Temperatura
<b>ETE</b>	Estação de Tratamento de Esgoto
<b>EUA</b>	Estados Unidos da América
<b>FET</b>	Fenantreno
<b>FLE</b>	Fluoreno
<b>FLT</b>	Fluoranteno
<b>HPA</b>	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
<b>IND</b>	Indeno[ <i>1,2,3-cd</i> ]pireno
<b>INMETRO</b>	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade
<b>IUPAC</b>	União Internacional de Química Pura Aplicada
<b>LD</b>	Limite de Detecção
<b>LMR</b>	Limite Máximo de Resíduo
<b>LQ</b>	Limite de Quantificação
<b>MIS</b>	Monitoramento de íon seletivo

<b>MMQO</b>	Método dos Mínimos Quadrados Ordinários
<b>NAF</b>	Naftaleno
<b>NaCL</b>	Cloreto de Sódio
<b>PER</b>	Pireno
<b>UE</b>	União Européia
<b>USEPA</b>	Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos
<b>WEF</b>	Water Environment Federation

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>2.</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>19</b>
2.1	Estações de tratamento de esgoto.....	19
2.2	Lodo de esgoto.....	20
2.3	Alternativas para a destinação final do lodo de esgoto.....	21
2.4	Aplicação do lodo de esgoto em solos agrícolas.....	23
2.5	Composição do lodo de esgoto.....	24
2.6	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos.....	24
2.7	Principais fontes de HPAs.....	27
2.8	Propriedades físico-químicas dos HPAs e seu comportamento no ambiente.....	28
2.9	Os efeitos tóxicos e carcinogênicos dos HPAs.....	31
2.10	Aspectos legais para o uso agrícola do lodo.....	32
2.11	Métodos de extração e identificação dos HPAs em lodo.....	33
2.12	Extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura..	34
2.13	Validação de métodos analíticos.....	35
2.13.1	Seletividade.....	36
2.13.2	Limite de detecção e limite de quantificação.....	36
2.13.3	Linearidade.....	37
2.13.4	Exatidão e precisão.....	37
2.13.5	Efeito de matriz.....	38
<b>3.</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>39</b>
3.1	Objetivo geral.....	39
3.2	Objetivos específicos.....	39
<b>4.</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>40</b>
4.1	Amostras de lodo esgoto.....	40
4.2	Preparo de amostras de lodo de esgoto.....	40
4.3	Materiais.....	40
4.4	Limpeza das vidrarias.....	41
4.5	Preparo das soluções padrão.....	41
4.6	Instrumentação.....	42

4.7	Condições cromatográficas.....	42
4.8	Obtenção de amostras de lodo de esgoto isentas de HPAs.....	43
4.9	Fortificação da amostra.....	44
4.10	Extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura..	44
4.11	Validação.....	45
4.11.1	Seletividade.....	45
4.11.2	Limite de quantificação (LQ).....	45
4.11.3	Linearidade de resposta do detector.....	45
4.11.4	Precisão.....	46
4.11.5	Exatidão.....	46
4.11.6	Efeito de matriz.....	46
4.12	Amostras reais.....	47
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>48</b>
5.1	Análises cromatográficas.....	48
5.2	Obtenção de amostras de lodo de esgoto isentas de HPAs .....	49
5.3	Extração sólido-líquido com purificação com baixa temperatura	52
5.4	Validação.....	56
5.4.1	Seletividade.....	56
5.4.2	Limites de quantificação.....	57
5.4.3	Linearidade.....	58
5.4.4	Exatidão e precisão.....	75
5.4.5	Efeito de matriz.....	76
5.5	Aplicação em amostras reais.....	80
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>82</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>83</b>



## 1. INTRODUÇÃO

Um dos principais problemas da atualidade ocasionados pelo desenvolvimento das sociedades são as questões relacionadas com o meio ambiente, sendo um dos mais predominantes a poluição das águas. Nas áreas urbanas, o principal agente poluidor da água é o esgoto sanitário, que ao ser lançado no corpo hídrico sem tratamento, além de promover a sua degradação, prejudica a qualidade de vida da população. Nessas condições, há que se tratem os esgotos sanitários (CIESLIK *et al.*, 2015). Portanto, para que o esgoto possa ser encaminhado a um corpo d'água, sem prejudicar o meio ambiente e o bem estar social, é fundamental que ele passe pelas estações de tratamento de esgoto (ETEs) (BETTIOL; CAMARGO, 2006). No entanto, o processo de tratamento pode gerar milhões de toneladas de resíduos a cada ano, denominados de lodo de esgoto, um material rico em matéria orgânica, cuja disposição final exige planejamento e execução adequada para que os benefícios esperados pelo serviço de saneamento sejam plenamente alcançados (PASSUELLO *et al.*, 2012). Entre as diversas alternativas de disposição final do lodo, incentiva-se a aplicação em áreas agrícolas, que se apresenta como uma prática econômica e ambientalmente correta (ZEITOUNI, 2005; SUTHAR, 2010).

No entanto, as estações de tratamento de esgoto podem acumular contaminantes provenientes de várias fontes, que tendem a concentrar em proporções variáveis no lodo de esgoto. Sendo diversos os contaminantes, como os poluentes orgânicos, metais tóxicos e micro-organismos patogênicos (CAI *et al.*, 2007). Dessa maneira, essa prática pode levar à contaminação e acumulação de poluentes tóxicos em solos, plantas e animais, além disso, podem entrar na cadeia alimentar ou ser transportado para águas superficiais e/ou subterrâneas (SMITH, 2009; PASSUELLO *et al.*, 2010). Dentre esses contaminantes, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos constituem uma classe de compostos químicos comumente presentes em lodo de esgoto. Esses poluentes orgânicos apresentam ação carcinogênica, são altamente tóxicos e alguns são propensos à bioacumulação em organismos vivos

(ALMEIDA; CENTENO *et al.*, 2007; QUEIROZ *et al.*, 2009). Por isso, faz-se necessário o monitoramento dessas substâncias em lodo de esgoto.

Entre os métodos tradicionais de extração de HPAs em diferentes matrizes, destacam-se o soxhlet, a ultrassonicação e a agitação mecânica (EPA). Porém, essas são técnicas laboriosas e que geram grandes quantidades de resíduos de solventes que podem resultar em um inconveniente ambiental (PENA *et al.*, 2008). Para facilitar essas análises é importante adotar metodologias que sejam simples, rápidas, de baixo custo e que, ao mesmo tempo, reproduza bons resultados, tornando assim a investigação mais acessível.

Portanto, no presente estudo, foi adaptado e validado um método alternativo para análise de 16 HPAs em amostras de lodo de esgoto. Esse método consistiu na modificação e validação da técnica de extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura (ESL-PBT) e quantificação por cromatografia gasosa e espectrometria de massas (CG-EM).

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Estações de tratamento de esgoto

Com o crescimento populacional veio o aumento desordenado da urbanização em várias regiões, o que gerou cidades carentes em serviços básicos capazes de assistir com qualidade toda a população (SUTHAR, 2010). Nesse contexto, ao longo dos últimos anos, os efluentes industriais e domésticos vinham sendo despejados diretamente nos cursos hídricos, o que contribuiu sobremaneira para sua degradação, pois o lançamento do esgoto “*in natura*” nos corpos d’água provoca perturbações diretas no ambiente aquático, afetando suas características físicas, químicas e biológicas (CIESLIK *et al.*, 2015).

Para solucionar o problema, foram criadas no país políticas de incentivo ao saneamento, as quais estabeleceram, entre outras responsabilidades, a obrigatoriedade de implantação de estações de tratamento de esgoto (ETEs) nas cidades (BETTIOL; CAMARGO, 2006). A partir disso, em diversos locais, as águas residuárias domésticas passaram a ser coletadas e levadas até as ETEs, onde são devidamente tratadas e posteriormente devolvidas com melhor qualidade sanitária aos corpos d’água (VON SPERLING, 2001). O tratamento visa adequar os efluentes aos padrões de lançamento impostos pela legislação vigente, removendo ou reduzindo as concentrações de substâncias presentes no esgoto que poderiam causar impacto negativo ao ambiente (CIESLIK *et al.*, 2015).

Esse impacto ocorre em função, principalmente, do acréscimo na disponibilidade de matéria orgânica, que causa o desequilíbrio das interações estabelecidas no ecossistema aquático. Por essa razão, uma das principais finalidades do tratamento das águas residuárias é a remoção da matéria orgânica presente (BATISTA, 2015). Contudo, desse tratamento resulta um resíduo denominado lodo de esgoto (PASSUELLO *et al.*, 2012; HONG *et al.*, 2013), que embora represente em média 1% a 2% do volume total do esgoto tratado, o setor de saneamento enfrenta grandes dificuldades no seu

gerenciamento (ANDREOLI *et al.*, 2006), por isso foi uma atividade frequentemente negligenciada (FEDRIZZI, 2012).

No entanto, atualmente o seu gerenciamento vem ganhando cada vez mais expressão, devido ao aumento das estações de tratamento de esgotos instaladas e à necessidade de se atender as exigências ambientais (VAN HAANDEL; SOBRINHO, 2006). Em uma ETE, o gerenciamento do lodo de esgoto passa por diferentes etapas, cada uma com um objetivo específico. Os tratamentos necessários envolvem processos de adensamento, desidratação, estabilização e higienização (VON SPERLING, 2001). Para cada tratamento, devem-se levar em consideração as características desejáveis para o lodo, os requisitos de qualidade exigidos com vistas à alternativa de destinação eleita e a redução de volume (TSUTIYA, 2001). O adensamento e desidratação visam à redução do volume de água e à redução do volume do lodo. A estabilização tem por finalidade reduzir a quantidade de patógenos, eliminar os maus odores e inibir, reduzir ou eliminar o potencial de putrefação. A higienização busca garantir um nível adequado de patogenicidade (VON SPERLING, 2001).

Os processos de tratamento, aos quais o lodo é submetido, visam obter um material o mais sólido e estável possível, para facilitar e reduzir os custos da sua manipulação e transporte e ainda garantir uma disposição mais segura, diminuindo os riscos ao meio ambiente e à saúde humana (VAN HAANDEL; SOBRINHO, 2006).

## **2.2 Lodo de esgoto**

O lodo de esgoto é um dos subprodutos do setor de saneamento produzido durante os processos de tratamento das águas residuárias nas ETEs, variando conforme as tecnologias empregadas e as etapas intermediárias do processo (PASSUELLO *et al.*, 2012). Dessa maneira, quanto mais complexo for o fluxograma de uma estação, maior será a variabilidade do lodo produzido (BATISTA, 2015). O lodo proveniente do tratamento primário, em que os sólidos se separam do líquido por gravidade é constituído pelos sólidos sedimentáveis removidos do esgoto bruto e

denominado lodo bruto/primário. O lodo formado no tratamento biológico, em que os sólidos são separados após a ação biológica do tratamento é constituído principalmente pelos micro-organismos (biomassa) que se reproduzem às custas da matéria orgânica dos esgotos e recebe o nome de lodo biológico/secundário. Se os lodos primário e secundário forem enviados para o tratamento conjuntamente, tem-se o lodo misto e assim por diante (FONTES, 2003).

Apesar de não ser o único resíduo gerado nas ETEs, o lodo assume posição de destaque, recebendo maior atenção, devido a sua crescente produção, o seu potencial poluidor e, principalmente, pela complexidade de seu tratamento e disposição final que exigem alto rigor técnico, além de demandar custos elevados (JORDÃO; PESSOA, 2005).

Quando devidamente tratado e processado, suas características físico-químicas o tornam um excelente condicionador do solo, podendo auxiliar na melhoria das práticas agrícolas. Nessa ótica, o lodo de esgoto passa a ser entendido como bio-sólido, conforme preconiza a Water Environment Federation (WEF), embora alguns pesquisadores e profissionais da área prefiram manter a denominação lodo de esgoto. Esse material pode apresentar-se na forma sólida, semissólida/pastosa ou líquida, tem odor desagradável, cor escura, alto teor de umidade e contém grandes concentrações de micro-organismos e sólidos orgânicos e inorgânicos (MIRANDA, 2010).

### **2.3 Alternativas para a destinação final do lodo de esgoto**

A preocupação com o descarte correto do lodo de esgoto é algo relativamente recente no Brasil. Até poucos anos, fazia-se pouca referência ao lodo nos projetos das ETEs, por isso o planejamento e execução do destino final desse resíduo ocorriam de forma bastante indiscriminada (ANDREOLI *et al.*, 2006).

Entretanto, atualmente existe uma preocupação crescente com a poluição ambiental, resultante de determinações legais impostas por legislações ambientais que se tornam cada vez mais restritivas, exigindo das

ETEs um comportamento ambiental mais ativo, responsabilizando-as pela completa gestão dos seus resíduos (FEDRIZZI, 2012).

As alternativas aceitáveis para o aproveitamento ou disposição final do lodo de esgoto são: disposição em aterro sanitário (aterro exclusivo ou em codisposição com resíduos sólidos urbanos); reuso industrial (produção de agregado leve, fabricação de tijolos e cerâmica e produção de cimento); incineração (exclusiva e coincineração com resíduos sólidos urbanos); conversão em óleo combustível; *landfarming*; recuperação de solos (recuperação de áreas degradadas e de mineração) e uso agrícola e florestal (BETTIOL; CAMARGO, 2006). Há referência também à disposição oceânica, porém, com a busca contínua pela preservação do meio ambiente, a descarga oceânica não é mais utilizada, sendo inclusive proibida nos EUA e na Europa (ANDREOLI, 2001). Dessas alternativas, as mais recorrentes em diversos países são os aterros, a incineração e os usos agrícolas e florestais (APARÍCIO *et al.*, 2009). No entanto, a incineração é uma prática que causa inúmeros impactos ambientais negativos e requer cuidados operacionais sofisticados, demandando investimentos ainda maiores na operação (FONTES, 2003; HONG *et al.*, 2013). O descarte em aterros sanitários agrava o problema de resíduos sólidos urbanos (CUKJATI *et al.*, 2012). Por isso, nos últimos anos, incentivam-se apenas as alternativas seguras de reuso e reciclagem, que visam à reintegração de um produto de descarte ao ciclo produtivo (CIESLIK *et al.*, 2015).

Pesquisas realizadas no país tem mostrado que o reaproveitamento agrícola do lodo de esgoto apresenta uma perspectiva animadora. Apesar disso, a disposição final do lodo continua sendo um grande desafio, em função dos riscos inerentes à saúde humana e para o meio ambiente. Por essa razão é preciso critério e cautela na escolha dos processos a serem adotados com propósito de satisfazer os resultados ambientais e sociais esperados (ROIG *et al.*, 2012; CIESLIK *et al.*, 2015).

## 2.4 Aplicação do lodo de esgoto em solos agrícolas

A aplicação do lodo de esgoto na agricultura é uma prática que vem sendo amplamente recomendada na literatura, porque, além de aliada ao baixo custo e ambientalmente mais correta, apresenta efeitos benéficos ao solo (SUTHAR, 2010). Pela composição rica em matéria orgânica, fósforo e nitrogênio, os benefícios obtidos com sua aplicação, são, entres outros: a reciclagem da matéria orgânica; o aporte de nutrientes no solo, que melhora suas características físicas, químicas e biológicas, favorecendo a formação de agregados e facilitando a penetração das raízes e a vida microbiana; além disso, esses nutrientes ficam disponíveis para as plantas e para os organismos do solo (MARSCHNER *et al.*, 2003; ANNABI *et al.*, 2011). De maneira geral, ocorre o aumento no teor de matéria orgânica, na disponibilidade de nutriente e no nível de fertilidade com grandes reflexos na produtividade agrícola (BETTIOL; CAMARGO, 2006).

No entanto, o lodo pode apresentar elevadas concentrações de contaminantes e essa prática pode resultar em adição direta de diversos patógenos e substâncias químicas não desejadas no solo agricultável e, conseqüentemente, nos organismos do solo, plantas, cadeia alimentar, águas superficiais e/ou subterrâneas (SMITH, 2009; PASSUELLO *et al.*, 2012). Devido a isso, a reciclagem agrícola do lodo de esgoto deve, necessariamente, estar condicionada a exigências que definam a qualidade do material a ser reciclado (ROIG *et al.*, 2012).

Dessa maneira para viabilizar o uso do lodo de esgoto na agricultura, como fertilizante e/ou condicionador do solo, é necessário corrigir as suas características indesejáveis, considerando cuidadosamente os riscos ambientais e sanitários decorrentes, de forma a garantir a sustentabilidade do processo, para que os resultados ambientais, sociais e sanitários esperados dos serviços de saneamento sejam plenamente alcançados (SUTHAR, 2010).

## 2.5 Composição do lodo de esgoto

Esse material pode ser de composição bastante variável em função da origem do efluente, ou seja, se proveniente de uma área predominantemente residencial ou industrial, do processo de tratamento ao qual é submetido o esgoto, do caráter sazonal e das peculiaridades da região onde é produzido (VON SPERLING, 2001). Normalmente, apresenta uma composição rica em matéria orgânica, uma mistura complexa de gorduras, proteínas, carboidratos, lignina, aminoácidos, açúcares, celulose, material húmico e ácidos graxos, além de ser uma fonte de micro e macro nutrientes (CUKJATI *et al.*, 2012). Por outro lado, apesar de apresentarem em sua composição elementos de grande valor, podem conter também componentes indesejáveis e perigosos, que são os metais tóxicos, organismos patogênicos e contaminantes orgânicos (HONG *et al.*, 2013).

Dos contaminantes orgânicos, mais de 300 compostos químicos já foram identificados em lodo de esgoto. Dentre eles estão os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, bifenilas policloradas, ésteres de ácido ftálico, dibenzo-*p*-dioxinas e furanos, agrotóxicos organoclorados, clorobenzenos, aminas, nitrosaminas e fenóis (APARÍCIO *et al.*, 2009; WERLE; DUDZIAK, 2014).

## 2.6 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) constituem um grupo de compostos orgânicos que apresentam em sua estrutura molecular apenas átomos de carbono (C) e de hidrogênio (H). São formados por dois ou mais anéis aromáticos fundidos em arranjos, lineares ou angulares; podem estar ou não substituídos por grupos alquilas ou conter heteroátomos, formando derivados nitrados ou oxigenados (ZANDER, 1980; BAEK *et al.*, 1991; LIMA, 2006; LUZ, 2010; PENG *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 2012). Devido às possibilidades de fusão, ao número variável de anéis e das posições em que esses anéis podem se ligar entre si, existem atualmente mais de 100

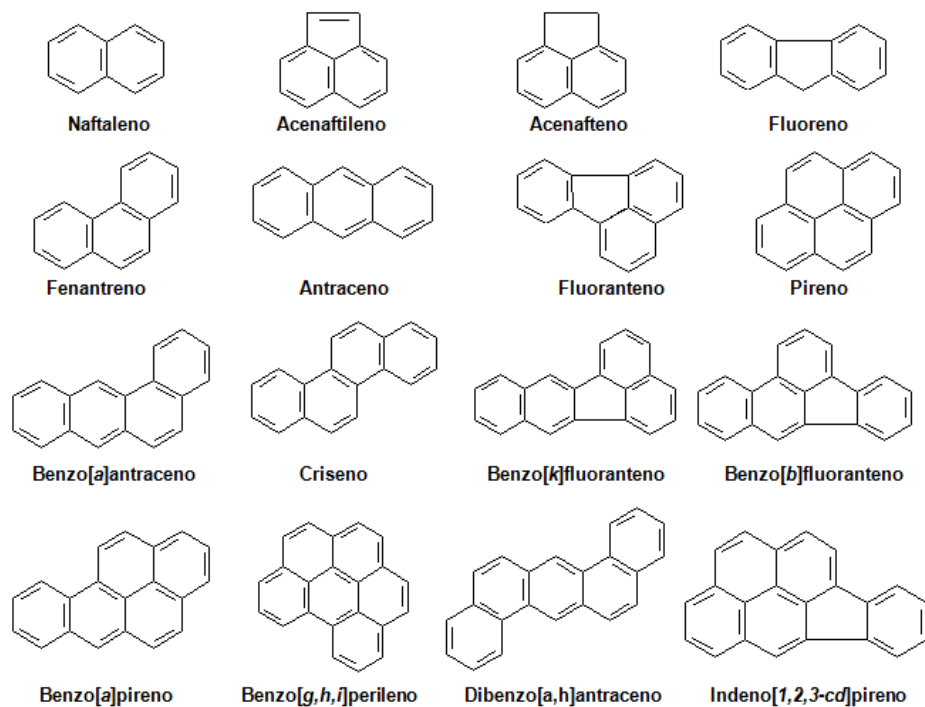


HPAs caracterizados na natureza e reconhecidos pela União Internacional de Química Pura Aplicada (IUPAC) (MARTINEZ *et al.*, 2004).

Desses HPAs já identificados, 16 deles (Figura1) são considerados pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) como poluentes orgânicos prioritários passíveis de monitoramento ambiental, em razão da incidência elevada desses compostos associada à sua toxicidade e ao poder carcinogênico e/ou mutagênico para homens e animais (QUEIROZ *et al.*, 2009; PLAZA-BOLANOS *et al.*, 2010; OLMOS-ESPEJEL *et al.*, 2012). Esses HPAs são classificados em dois grupos. O primeiro é constituído por sete compostos potencialmente carcinogênicos: benzo[*a*]antraceno, benzo[*a*]pireno, benzo[*b*]fluoranteno, benzo[*k*]fluoranteno, criseno, dibenzo[*a,h*]antraceno e indeno[*1,2,3-cd*]pireno. O segundo grupo corresponde a nove compostos que isoladamente não são poluentes, mas quando presentes no meio podem inibir ou aumentar as respostas de outros HPAs carcinogênicos: acenafteno, acenaftileno, antraceno, benzo[*g,h,i*]perileno, fluoranteno, fluoreno, naftaleno, fenantreno e pireno (CAI *et al.*, 2007; QUEIROZ *et al.*, 2009).

Conforme a massa molar, os HPAs podem ser divididos também em dois subgrupos: compostos de baixa massa molar, formados por 2 ou 3 anéis aromáticos como antraceno, acenafteno, acenaftaleno, fluoreno, naftaleno e fenantreno; e compostos de alta massa molar com 4, 5 e 6 anéis aromáticos, tais como fluoranteno, pireno, benzo[*a*]antraceno, criseno, benzo[*b*]fluoranteno, benzo[*k*]fluoranteno, benzo[*a*]pireno, benzo[*g,h,i*]perileno, dibenzo[*a,h*]antraceno e o indeno[*1,2,3-cd*]pireno. Os HPAs de baixa massa molar são mais facilmente degradados, enquanto que os HPAs com massa molar mais alta são mais persistentes no meio (LEE *et al.*, 2001; ALMEIDA; CENTENO, 2007).

**Figura 1** - Representação das estruturas químicas dos 16 HPAs prioritários segundo a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos



**Fonte:** Elaborada pela autora.

Os HPAs constituem uma numerosa e diversificada família de poluentes orgânicos potencialmente tóxicos, que têm como principais características a baixa solubilidade em água, alta persistência no ambiente e baixa biodegradabilidade, o que confere a eles a capacidade de se acumularem no meio ambiente (SÁNCHEZ-BRUNETE, 2007; YIN *et al.*, 2008; PLAZA-BOLANOS *et al.*, 2010; RHIND *et al.*, 2011; OLMOS-ESPEJEL *et al.*, 2012; PURCARO *et al.*, 2013).

Esses compostos são amplamente distribuídos nos ecossistemas e raramente ocorrem individualmente, são sempre encontrados como constituintes de misturas complexas em todos os compartimentos ambientais (atmosfera, água, solo, sedimento, etc.), podendo estar presentes na forma gasosa, particulada e/ou dissolvida (SIMCIK *et al.*, 1998; QUEIROZ *et al.*,

2009; OLMOS-ESPEJEL *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2012). Contudo, a sua distribuição no meio ambiente pode variar muito de um local para outro, pois a sua concentração em áreas urbanas e industrializadas é, geralmente, muito maior que em áreas menos desenvolvidas (GARBAN *et al.*, 2002; PEREIRA *et al.*, 2002).

## **2.7 Principais fontes de HPAs**

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos são poluentes originados tanto por fontes naturais quanto por fontes antropogênicas, porém as fontes antrópicas são as principais responsáveis pela introdução dessas substâncias no meio ambiente (DABESTANI *et al.*, 1999). As fontes antrópicas predominantes são classificadas de acordo com o tipo de processo ou evento em petrogênicas e pirogênicas (LI *et al.*, 2001; BODNAR *et al.*, 2005).

As emissões de HPAs por fontes pirogênicas ocorrem a partir de processos de combustão incompleta da matéria orgânica a altas temperaturas, como a queima do carvão mineral, gás natural, derivados do petróleo e madeira para a geração de energia, aquecimento e para a movimentação de embarcações, veículos terrestres e aeronaves. Essas emissões são provenientes ainda de atividades industriais que utilizam derivados de combustíveis fósseis como matéria-prima; incineração controlada de resíduos; fumaça do cigarro; etc. (CHEN *et al.*, 2005; ENE *et al.*, 2012; OLMOS-ESPEJEL *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2012).

As fontes petrogênicas estão associadas principalmente a óleos crus e a produtos derivados de petróleo. Essas emissões ocorrem por meio da produção, transporte, estocagem e refino de petróleo, derrames acidentais de petróleo ou derivados envolvendo abastecimento e lavagem de tanques de navios petroleiros em zonas portuárias (MANOLI; SAMARA, 1999; YUNKER *et al.*, 2002).

A contribuição das fontes naturais restringe-se às emissões a partir de processos biológicos naturais, também chamados de processos biogênicos, que são as emissões vulcânicas, os incêndios florestais que ocorrem espontaneamente e a síntese por bactérias, plantas e fungos (BAEK *et al.*, 1991; EIROA *et al.*, 2000; LI *et al.*, 2001; OLMOS-ESPEJEL *et al.*, 2012).

## **2.8 Propriedades físico-químicas dos HPAs e seu comportamento no ambiente**

As propriedades físico-químicas dos HPAs são determinadas por seus sistemas de duplas conjugadas, que variam conforme o número de anéis benzênicos (ZANDER, 1980; CONCAWE, 1998). A Tabela 1 apresenta algumas dessas propriedades que são importantes para se compreender o comportamento ambiental dessas substâncias.

**Tabela 1** - Propriedades físico-químicas dos 16 hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) considerados prioritários pela agência de proteção ambiental dos Estados Unidos - *Environment Protection Agency*

HPAs	Nº de anéis Aromáticos	Fórmula Molecular	Massa Molar (g mol <sup>-1</sup> )	Ponto de Ebulição (°C)	Ponto de Fusão (°C)	Pressão de Vapor (Pa, 25 °C )	Solubilidade em água (mg L <sup>-1</sup> )
Naftaleno	2	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub>	128	218	80	1x10 <sup>1</sup>	30
Acenaftileno	3	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub>	152	265	92	9x10 <sup>-1</sup>	3,93
Acenafteno	3	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub>	154	279	96	3x10 <sup>-1</sup>	3,47
Fluoreno	3	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub>	166	293	116	8x10 <sup>-2</sup>	1,98
Fenantreno	3	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub>	178	340	101	2x10 <sup>-2</sup>	7x10 <sup>-2</sup>
Antraceno	3	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub>	178	340	216	8x10 <sup>-4</sup>	1,29
Fluoranteno	4	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub>	202	393	111	1,2x10 <sup>-3</sup>	2,6x10 <sup>-1</sup>
Pireno	4	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub>	202	360	149	6x10 <sup>-4</sup>	1,4x10 <sup>-1</sup>
Benzo[a]antraceno	4	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub>	228	400	158	2,8x10 <sup>-5</sup>	1,4x10 <sup>-2</sup>
Criseno	4	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub>	228	448	255	8,4x10 <sup>-5</sup>	2x10 <sup>-3</sup>
Benzo[b]fluoranteno	5	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>	252	393	167	1,3x10 <sup>-7</sup>	1,2x10 <sup>-3</sup>
Benzo[k]fluoranteno	5	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>	252	480	217	1,3x10 <sup>-7</sup>	5,5x10 <sup>-4</sup>
Benzo[a]pireno	5	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>	252	496	179	7,3x10 <sup>-7</sup>	3,8x10 <sup>-3</sup>
Indeno[1,2,3-cd]pireno	6	C <sub>22</sub> H <sub>12</sub>	276	534	163	1,3x10 <sup>-8</sup>	2,6x10 <sup>-4</sup>
Dibenzo[a,h]antraceno	5	C <sub>22</sub> H <sub>14</sub>	278	535	262	1,3x10 <sup>-8</sup>	6,2x10 <sup>-2</sup>
Benzo[g,h,i]perileno	6	C <sub>22</sub> H <sub>12</sub>	276	542	222	1,4x10 <sup>-8</sup>	5x10 <sup>-3</sup>

**Fonte:** Adaptado CONCAWE, 1998.

Os HPAs são caracterizados por serem sólidos à temperatura ambiente, possuem baixa pressão de vapor (alto ponto de fusão e ebulição), baixa solubilidade em água, à exceção do naftaleno que é relativamente solúvel. Em geral, a solubilidade diminui com o aumento do número de anéis. Esses compostos apresentam também altos valores de coeficientes de partição octanol/água, demonstrando, dessa forma, grande afinidade lipofílica que aumenta com o número de anéis aromáticos da molécula (NETTO, 2000; BRITO *et al.*, 2005; LIMA, 2006). Por outro lado, a volatilidade desses compostos diminui com o aumento da massa molar e, conseqüentemente, HPAs de massas molares mais baixas são mais voláteis e apresentam maiores pressões de vapor que os HPAs mais pesados (NETTO, 2000; BRITO *et al.*, 2005; SANCHEZ-BRUNETE *et al.*, 2007).

Após a emissão, os HPAs, substâncias lipofílicas, podem persistir no ambiente e serem encontrados em diferentes matrizes ambientais, dispersos nas fases gasosas e aquosas ou ainda adsorvidos em materiais sólidos (LIMA, 2006). A maneira como isso ocorre depende das propriedades físico-químicas dos HPAs e das características de cada compartimento (YAMADA, 2006).

Uma vez na atmosfera, essas substâncias podem ser encontradas tanto na fase gasosa quanto adsorvidas no material particulado, podendo neste último caso ser transportado a longas distâncias. A concentração desses compostos em ambas as fases depende de sua volatilidade e de sua afinidade pelas superfícies das partículas atmosféricas. A remoção dos HPAs da atmosfera ocorre principalmente pela deposição seca e úmida, que acaba agindo como uma fonte difusa desses poluentes para corpos aquáticos e outros ambientes (GARBAN *et al.*, 2002; ROSE; RIPPEY, 2002).

Nas superfícies das águas, os HPAs podem sofrer uma série de processos que vão desde sua volatilização, oxidação, bio e/ou fotodegradação. Podem ainda associar ao material particulado, serem depositados no sedimento ou ainda acumularem-se nos organismos aquáticos. Devido ao seu caráter hidrofóbico e alta afinidade com o carbono orgânico, os HPAs no sistema aquático são encontrados, preferencialmente,

associados ao sedimento ou a partículas em suspensão (VINAS *et al.*, 2009; FERRIZZI, 2011).

No solo, os HPAs encontram-se geralmente adsorvidos no material constituinte e ficam retidos nas camadas superiores. Os tempos de meia vida dos compostos de maior massa molar são relativamente elevados e indicam que sua degradação é lenta (FERRIZZI, 2011).

## **2.9 Os efeitos tóxicos e carcinogênicos dos HPAs**

Já foram caracterizados mais de 100 HPAs na natureza e a maioria deles podem apresentar efeitos toxicológicos no crescimento, metabolismo e reprodução de vários componentes da biota, mesmo encontrados em pequenas concentrações (ALEXANDROV *et al.*, 2010). Os HPAs de menor massa molar formados por dois ou três anéis aromáticos (naftaleno, fenantreno e antraceno) possuem elevada toxicidade aguda, em contrapartida, baixo ou nenhum potencial carcinogênico, enquanto que aqueles de maior massa molar contendo quatro, cinco ou seis anéis (benzo(a)pireno) apresentam baixa toxicidade aguda, no entanto um maior potencial carcinogênico (ALMEIDA; CENTENO, 2007; ENE *et al.*, 2012; PENA-ABAURREA *et al.*, 2012).

Entretanto, os HPAs pertencem à classe de substâncias denominadas pró-carcinogênicas, ou seja, necessitam sofrer ativação metabólica para formar o carcinógeno ativo capaz de reagir com o DNA e outras moléculas. O mecanismo de toxicidade passa pela oxidação dos anéis aromáticos, realizada por enzimas da família do citocromo P450, gerando intermediários epóxidos que se ligam de forma covalente a sítios críticos do DNA, causando erros de replicação e levando a mutação (CONNEY 1982; HALL *et al.*, 1989; NETTO *et al.*, 2000; WANG *et al.*, 2012).

Alguns estudos envolvendo ensaios biológicos *in vitro* e *in vivo* mostram que os HPAs podem promover também alterações no sistema endócrino. Isso ocorre porque esses compostos podem atuar como interferentes e ligar-se aos receptores hormonais, provocando uma ação biológica antagonista no organismo (GHISELLI; JARDIM, 2007; JIANG *et al.*,

2011; RHIND *et al.*, 2011). Além disso, quando presentes na atmosfera, podem causar problemas respiratórios e desencadear uma bronquite, comprometendo a função pulmonar (TOBISZEWSKI; NAMIESNIK, 2012).

Devido ao seu caráter lipofílico, a exposição humana aos HPAs pode ocorrer por inalação, por absorção dérmica ou por ingestão, sendo rapidamente absorvidos pelo organismo. No entanto, a principal via desses poluentes tóxicos é a cadeia alimentar. Em virtude da grande distribuição ambiental desses compostos, o risco de contaminação humana é significativo (NETTO *et al.*, 2000; KHAN; CAO, 2012).

## **2.10 Aspectos legais para o uso agrícola do lodo**

O lodo de esgoto é uma potencial fonte de contaminantes, entre eles estão os poluentes orgânicos e isso se apresenta como fator limitante no uso desse material em áreas agrícolas. Nesse sentido, alguns países estabeleceram instrumentos normativos para regulamentar a utilização do lodo de esgoto na agricultura, para fins de controle e caracterização dessas substâncias prejudiciais ao meio ambiente e à saúde humana (MAILLER *et al.*, 2014).

No Brasil, a Resolução nº 375 de 2006 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), apresenta os requisitos mínimos de qualidade do lodo de esgoto ou produto derivado destinado à agricultura. No escopo geral da resolução, o lodo é tratado como um material que, em virtude dos seus riscos, deve ser gerenciado adequadamente para que seus constituintes atendam a padrões específicos, a fim de que esses riscos sejam minimizados ou até mesmo eliminados. Embora essa Resolução não estabeleça os limites máximos permissíveis de contaminantes orgânicos no lodo de esgoto, entre os compostos especificados, os HPAs são considerados como substâncias orgânicas potencialmente tóxicas a serem determinadas no lodo de esgoto e, além disso, estabelece as concentrações máximas aceitáveis no solo, para seis HPAs (CONAMA, 2006).

A regulamentação da União Europeia (UE) define como permissível a concentração máxima de 6 mg kg<sup>-1</sup> em uma massa de 11 HPAs no lodo de



esgoto destinado a uso agrícola. Na Tabela 2 são descritos os limites máximos de concentrações dos HPAs de ambas as normativas.

**Tabela 2** - Concentrações máximas permitidas de HPAs prioritários pela EPA, em solos agrícolas (CONAMA) e em lodo de esgoto (UE)

HPAs	USEPA	CONAMA (mg kg <sup>-1</sup> )	UNIÃO EUROPÉIA ( $\Sigma = 6$ mg kg <sup>-1</sup> )
1 Naftaleno	U	0,12	-
2 Acenaftileno	U	-	.
3 Fluoreno	U	-	P
4 Acenafteno	U	-	P
5 Fenantreno	U	3,3	-
6 Antraceno	U	-	-
7 Fluoranteno	U	-	P
8 Pireno	U	-	P
9 Criseno	U	-	-
10 Benzo[a]antraceno	U	0,025	P
11 Benzo[b]fluoranteno	U	-	P
12 Benzo[k]fluoranteno	U	0,38	P
13 Benzo[a]pireno	U	0,052	P
14 Dibenzo[a,h]antraceo	U	-	-
15 Indeno[1,2,3-cd]pireno	U	0,031	P
16 Benzo[g,h,i]perileno	U	-	P
17 Benzo[j]fluoranteno	-	-	P

**Notas:** U: HPAs estabelecidos como prioritários pela USEPA

P: HPAs presentes no somatório que resulta no total de 6 mg Kg<sup>-1</sup>

**Fonte:** Elaborada pela autora.

### 2.11 Métodos de extração e identificação dos HPAs em lodo

A determinação de contaminantes orgânicos em amostras ambientais é um grande desafio, pois na maioria das vezes ocorrem em níveis baixos de

concentração (CAO *et al.*, 2012). Face aos inúmeros efeitos negativos que essas substâncias podem causar ao meio ambiente e ao ser humano, uma atenção especial foi dedicada ao desenvolvimento de metodologias analíticas altamente seletivas e de elevada sensibilidade para a extração e determinação desses compostos (NETTO *et al.*, 2000). Para isso, normalmente são seguidas três importantes etapas, que consistem na (1) extração do analito de interesse da matriz; (2) purificação dos extratos através da remoção de interferentes (*clean up*) e (3) identificação e quantificação do contaminante presente na amostra por técnicas instrumentais, como a cromatografia gasosa (CG) e a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Todas essas etapas são críticas e podem influenciar nos resultados das análises (QUEIROZ *et al.*, 2009).

Como os HPAs são compostos altamente hidrofóbicos e, conseqüentemente, encontram-se fortemente adsorvidos na matriz, a sua extração é uma etapa crucial. Entre os métodos tradicionais de extração de HPAs em diferentes matrizes destacam-se o soxhlet, a ultrassonicação e a agitação mecânica (EPA). Porém, essas são técnicas laboriosas e que geram grandes quantidades de resíduos de solventes que podem resultar em um inconveniente ambiental (PENA *et al.*, 2008). Recentemente, foram aplicadas técnicas mais rápidas e que utilizam menores quantidades de solventes orgânicos, como extração por fluido supercrítico, extração por solvente pressurizado e extração por micro-ondas. Entretanto os equipamentos apresentam um custo considerável (CAVALCANTE *et al.*, 2008).

## **2.12 Extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura**

A extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura (ESL-PBT) foi inspirada no princípio descrito por Anglin e Mckinley (1960), em que isolaram pesticidas em plantas e tecidos animais através da partição por abaixamento de temperatura. Entretanto, a temperatura necessária para que ocorresse a separação era muito baixa (-78 °C), dificultando a aplicação da técnica. Em 1964, Mcculley e Mckinley empregaram a purificação em baixa temperatura para análise de organoclorados em óleo. Em 1997, Juhler

congelou amostras de carne e gorduras a  $-10^{\circ}\text{C}$  para a extração de organofosforados. Posteriormente, Lentza-rizos *et al.* (2001) aplicaram a técnica na determinação de resíduos de pesticidas em óleo de oliva. Em 2004, Goulart adaptou a metodologia de Mcculley e Mckinley com a extração líquido-líquido para análise de deltametrina e cipermetrina em leite. Essa técnica permitiu determinar piretroides em leite por cromatografia gasosa, sem a necessidade de etapas de *clean up*. A partir de então, diversas modificações foram testadas, resultando na aplicação da técnica para amostras sólidas denominada de extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura.

O método consiste na adição de um solvente orgânico menos denso que a água e com ponto de fusão abaixo de  $-20^{\circ}\text{C}$  à amostra sólida. Em seguida, o sistema é homogeneizado e submetido a baixas temperaturas ( $-20^{\circ}\text{C}$ ), por um tempo suficiente para promover a separação da fase orgânica. Geralmente, a fase extratora utilizada é composta por solventes orgânicos miscíveis, com temperatura de congelamento inferior à água e com polaridade compatível com o analito de interesse. Após o congelamento, o material sólido é aprisionado na fase aquosa congelada e os analitos migram, preferencialmente, para a fase orgânica, ainda líquida, a qual é isolada e depois analisada. (VIEIRA *et al.*, 2007; GOURLART *et al.*, 2008; GOULART *et al.*, 2012).

A ESL-PBT é uma técnica promissora e tem ganhado destaque como uma técnica alternativa que combina as etapas de extração e *clean up*. Esta técnica demonstra diversas vantagens se comparada a outras, pois é um método simples, prático, de elevada frequência analítica e com baixo consumo de solventes e amostras (PINHO, 2007; GOULART *et al.*, 2010).

### **2.13 Validação de métodos analíticos**

Para garantir que um método analítico esteja gerando informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra, esse deve ser submetido a uma avaliação denominada validação. Assim, deve-se selecionar, estudar e

monitorar constantemente os parâmetros mínimos necessários para confirmar a interpretação inequívoca dos resultados (LEITE, 2002; RIBANI *et al.*, 2004).

Diversos parâmetros analíticos são testados no processo de validação e devem se adequar aos objetivos de uso do método. Os parâmetros analíticos normalmente encontrados para validação de métodos são: seletividade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), linearidade, efeito de matriz, exatidão e precisão. Esses termos são conhecidos como parâmetros de desempenho analítico e, algumas vezes, como figuras analíticas de mérito (RIBANI *et al.*, 2004).

### 2.13.1 Seletividade

A seletividade é a capacidade de avaliar, de forma inequívoca, as substâncias investigadas na presença de componentes que podem interferir na sua determinação. Portanto, a seletividade avalia o grau de interferência de impurezas e componentes da matriz. A seletividade garante que o sinal de resposta seja exclusivamente do composto de interesse (VESSMAN *et al.*, 2001). Assim, a seletividade é o primeiro passo no desenvolvimento e validação de um método instrumental de separação e deve ser reavaliada continuamente durante a validação e subsequente uso do método (USPC, 1999).

### 2.13.2 Limite de detecção e limite de quantificação

O limite de detecção (LD) é definido como a menor concentração de um analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, utilizando um determinado procedimento analítico. Já o limite de quantificação (LQ) constitui a menor concentração do analito capaz de ser quantificada com um nível aceitável de precisão e exatidão (RIBANI *et al.*, 2004). Os limites de detecção e quantificação podem ser obtidos com base na avaliação visual, na relação sinal-ruído, no desvio padrão da resposta e da inclinação, no desvio padrão do branco e na curva de calibração (ICH, 1995).

### 2.13.3 Linearidade

A linearidade refere-se à capacidade do método de gerar resultados que sejam diretamente proporcionais à concentração do analito dentro de um determinado intervalo de concentração (SHABIR, 2003). Entretanto, a equação produzida pela regressão dos dados não é suficiente para averiguar a linearidade, fazendo-se necessária a aplicação do método dos mínimos quadrados ordinários (MMQO). Essa ferramenta estatística estima a consistência dos dados da regressão. Para isso, a dispersão dos valores é investigada e tratada pelo método dos resíduos padronizados de Jackknife, com exclusão máxima de 22,2% dos dados. As premissas dos resíduos da regressão e o ajuste ao modelo linear são validados através da verificação da normalidade dos resíduos pelo teste de Ryan-Joiner, homoscedasticidade dos resíduos pelo teste de Brown-Forsythe, independência dos resíduos pelo teste de Durbin-Watson e teste F para verificar a significância da regressão e ajuste do modelo linear (SOUZA, 2007).

### 2.13.4 Exatidão e precisão

A exatidão de um método analítico expressa o grau de concordância entre os resultados obtidos em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro (ICH, 1995). Os processos mais utilizados para avaliar a exatidão de um método são: materiais de referência; comparação de métodos; ensaios de recuperação e adição de padrão (THOMPSON *et al.*, 2002; RIBANI *et al.*, 2004). A precisão de um método analítico é a medida da concordância entre os valores experimentais de ensaios independentes e repetidos de uma mesma amostra sob condições definidas, normalmente, é expressa através do desvio padrão (DP) ou do desvio padrão relativo (DPR) (THOMPSON *et al.*, 2002). A precisão é considerada em três níveis diferentes: repetitividade; precisão intermediária e reprodutibilidade (LEITE, 2002; RIBANI *et al.*, 2004).

### 2.13.5 Efeito de Matriz

Efeito de matriz é a interferência dos componentes da matriz na quantificação dos analitos na análise cromatográfica (GONZALEZ *et al.*, 2007). Esse efeito é verificado quando ocorre a extração de vários componentes da matriz, além dos analitos de interesse. Com o efeito de matriz pode ocorrer uma superestimação dos resultados, pois quando as soluções padrão são preparadas em solvente puro e analisadas por cromatografia, mais sítios ativos do liner estão disponíveis para interagir com os analitos. E quando são realizadas as análises dos extratos, os analitos competem com os componentes da matriz pelos sítios ativos do liner. Com isso, mais analitos são introduzidos na coluna cromatográfica, sendo detectados e obtendo uma maior resposta em relação ao padrão no solvente (HAJSLVA; ZROSTLIKOVA, 2003). A intensidade do efeito de matriz pode variar de uma amostra para outra, ou de acordo com a concentração do analito na matriz. Além disso, o próprio sistema cromatográfico pode influenciar na intensidade do efeito de matriz (PINHO, 2007).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

- Validar a técnica de extração sólido-líquido, com purificação em baixa temperatura para 16 hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em lodo de esgoto, com quantificação por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.

#### 3.2 Objetivos específicos

- Otimizar as condições de análise cromatográfica simultânea para 16 hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo[*a*]antraceno, criseno, benzo[*k*]fluoranteno, benzo[*b*]fluoranteno, benzo[*a*]pireno, benzo[*g,h,l*]perileno, dibenzo[*a,h*]antraceno e indeno[1,2,3-*cd*]pireno) em lodo de esgoto, por cromatografia gasosa;
- Obter amostras de lodo de esgoto isentas de HPAs utilizando soxtec;
- Modificar a técnica de ESL-PBT;
- Validar a técnica de ESL-PBT;
- Aplicar a metodologia validada em amostras reais.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Amostras de lodo de esgoto**

As amostras de lodo de esgoto utilizadas durante a etapa de modificação e validação da técnica de ESL-PBT foram coletadas no leito de secagem da estação de tratamento de esgoto (ETE) da cidade de Juramento (MG, Brasil). Também foram coletadas amostras de lodo de esgoto das ETES das cidades de Jaíba (MG, Brasil), Janaúba (MG, Brasil), Montes Claros (MG, Brasil), Claro dos Poções (MG, Brasil), Coração de Jesus (MG, Brasil) e Curvelo (MG, Brasil) para avaliar o grau de contaminação do lodo.

### **4.2 Preparo das amostras de lodo de esgoto**

Em laboratório, as amostras de lodo de esgoto foram peneiradas em tamiz com tela de 1 mm e também foram submetidas ao teste de umidade por gravimetria após secagem de 2,0000 g de amostra, com cinco repetições, em estufa a 105 °C até massa constante. Em seguida, as amostras de lodo de esgoto foram armazenadas na geladeira em frascos de vidro com tampa.

### **4.3 Materiais**

Os padrões analíticos dos HPAs naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo[*a*]antraceno, criseno, benzo[*k*]fluoranteno, benzo[*b*]fluoranteno, benzo[*a*]pireno, benzo[*g,h,i*]perileno, dibenzo[*a,h*]antraceno e indeno[*1,2,3-cd*]pireno foram obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, USA).

Os solventes orgânicos utilizados foram acetonitrila, acetato de etila, clorofórmio e hexano (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) grau HPLC. Os reagentes usados foram o cloreto de sódio (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) com grau de pureza superior a 99%, o sulfato de sódio (Dinâmica, Diadema, Brasil) e a sílica-gel (Carvalhaes, Alemanha).



#### 4.4 Limpeza das vidrarias

Todas as vidrarias utilizadas no desenvolvimento do trabalho foram previamente lavadas com detergente e água corrente. Em seguida, foram imersas em solução de ácido nítrico a 10% (v/v) e, depois, levadas para o banho ultrassom por 15 min, a fim de eliminar qualquer resíduo orgânico. Posteriormente, foram abundantemente enxaguadas com água corrente e, em seguida, com água destilada e acetona. Após a secagem, foram guardadas em caixa fechada.

#### 4.5 Preparo das soluções padrão

As soluções usadas para a execução do trabalho foram preparadas por meio da solubilização dos padrões analíticos em solventes orgânicos adequados. Inicialmente, foram preparadas soluções estoque com concentração de 500,0 mg L<sup>-1</sup> para cada padrão de HPA. Os HPAs acenafteno, acenaftileno, antraceno, fenantreno, fluoranteno, naftaleno e pireno, com grau de pureza superior a 91,4% (m/m) foram preparados em acetonitrila. Os HPAs benzo[*a*]antraceno, benzo[*a*]pireno, benzo[*b*]fluoranteno, benzo[*g,h,i*]perileno, benzo[*k*]fluoranteno, criseno, dibenzo[*a,h*]antraceno, fluoreno e indeno[*1,2,3-cd*]pireno com grau de pureza superior a 96,0% (m/m) foram preparados em diclorometano. A partir das soluções estoque, foi preparada uma solução de trabalho em acetonitrila, contendo os 16 HPAs na concentração de 25,0 mg L<sup>-1</sup>. Para evitar a fotodegradação dos HPAs, todas as soluções foram armazenadas em frascos âmbar a 4°C na geladeira.

#### 4.6 Instrumentação

Para o preparo de amostras foi utilizado um vórtex (Scilogex modelo MX-S, Alemanha); pHmetro micro processado (Quimis, São Paulo, Brasil); centrífuga (Kindly KC5, São Paulo, Brasil); estufa (Ethik Technology, São Paulo, Brasil) e uma balança analítica (Shimadzu, São Paulo, Brasil). Para a limpeza do lodo de esgoto foi empregado a extração em soxtec (Marconi modelo MA-491, São Paulo, Brasil), utilizando cartuchos de celulose com 20 mm d.i. e 80 mm comprimento.

#### 4.7 Condições cromatográficas

As análises cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo a gás da Agilent Technologies (GC 7890A), acoplado a um detector espectrômetro de massas (MS 5975C) e coluna capilar DB-5 MS (Agilent Technologies), com fase estacionária 5% fenil e 95% metilpolisiloxano (30 m comprimento x 0,32 mm diâmetro interno x 0,25 µm espessura do filme interno). Nas condições otimizadas, o hélio (99,9999% de pureza) foi utilizado como gás de arraste a uma taxa de 2,0 mL min<sup>-1</sup>. O injetor *split/splitless* foi mantido a 320 °C. A temperatura do forno foi programada para 100°C, 10°C min<sup>-1</sup> até 200°C, 7°C min<sup>-1</sup> até 250°C por 6,0 min, 20°C min<sup>-1</sup> até 300°C por 4,0 min. O volume da amostra injetado foi de 1 µL no modo de injeção com divisão de fluxo (*split*) a uma razão de 1:5, utilizando um injetor CombiPAL. O espectrômetro de massas foi operado com ionização por impacto de elétrons a 70 eV. A interface foi mantida a 280 °C e a fonte de íons a 230 °C. O controle do instrumento e a aquisição de dados foram feitos com o software ChemStation (E.02.02.1431 copyright © 1989-2011) da Agilent Technology. As análises foram realizadas no modo monitoramento de íons seletivo (MIS) e a aquisição de dados foi dividida em onze grupos de íons, conforme a Tabela 3.

**Tabela 3** – Tempos de retenção dos 16 HPAs e íons selecionados para análise no CG-EM no modo MIS

Composto	Tempo de Retenção (min)	Íons Selecionados ( <i>m/z</i> )
NAF	4,13	127,1; 128,1; 129,1
ATI	7,28	150,1; 151,1; 152,1
ACE	7,68	152,1; 153,1; 154,1
FLE	8,86	163,1; 165,1; 166,1
FET	11,07	176,1; 178,1; 179,1
ANT	11,20	176,1; 178,1; 179,1
FLT	14,15	200,1; 202,1; 203,1
PER	14,77	200,1; 202,1; 203,1
BAA	18,45	226,1; 228,1; 229,1
CRI	18,54	226,1; 228,1; 229,1
BBF	23,10	150,1; 252,1; 253,1
BKF	23,26	150,1; 252,1; 253,1
BAP	24,79	150,1; 252,1; 253,1
IND	27,84	274,1; 276,1; 277,1
DBA	27,98	276,1; 278,1; 279,1
BPER	28,48	274,1; 276,1; 277,1

**Fonte:** Elaborada pela autora.

#### 4.8 Obtenção de amostras de lodo de esgoto isentas de HPAs

Em cartuchos de celulose foram adicionados 6,0000 g de amostras de lodo de esgoto, extraídas com 150,00 mL de solvente orgânico, durante 4 horas em aparelho soxtec. Os solventes avaliados foram hexano, clorofórmio, acetonitrila e acetato de etila. A extração foi repetida utilizando apenas o solvente acetato de etila nos tempos de 1, 2, 3 e 4 horas. Os experimentos foram realizados em duplicata.

#### **4.9 Fortificação da amostra**

Para a ESL-PBT massas de 4,0000 g de amostras de lodo isentas de HPAs (item 4.8), foram fortificadas com 160,00  $\mu\text{L}$  de solução de trabalho, contendo os 16 HPAs na concentração de 25,0 mg L<sup>-1</sup>. Após a fortificação, as amostras foram deixadas em repouso por três horas. As amostras fortificadas foram utilizadas para modificação e validação do método.

#### **4.10 Extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura (ESL-PBT) modificada**

Os ensaios da extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura (ESL-PBT) para análise dos 16 HPAs foram adaptados da técnica descrita para extração dos mesmos HPAs em amostras de lodo de esgoto e análise por cromatografia líquida com o detector ultravioleta (UV-VIS) (BARBOSA *et al.*, 2014). Em frasco de vidro transparente de 22 mL de capacidade, contendo 4,0000g de amostras de lodo de esgoto fortificadas, foram adicionados 4,00 mL de solução aquosa e 8,00 mL da mistura extratora acetonitrila: acetato de etila (7:1). O pH da água foi ajustado para 11 e foi acrescentado 0,1 g de cloreto de sódio. O sistema foi homogeneizado em vórtex por 5 min e levado a temperatura de -20 °C por 1 hora para o completo congelamento da fase aquosa. Após a separação das fases pelo congelamento da fase aquosa e do lodo de esgoto, 2,00 mL da fase orgânica líquida foi transferida para um tubo falcon de 15 mL, contendo 375 mg de sulfato de sódio anidro e 65 mg de sílica gel. O sistema foi homogeneizado em vórtex por 1 min e centrifugado a 4000 rpm durante 10 min. O extrato foi armazenado em frasco de vidro e acondicionado em refrigerador a 4°C até o momento da análise cromatográfica.

## 4.11 Validação

Na etapa de validação, as figuras de mérito avaliadas foram: seletividade, precisão, exatidão, linearidade, limite de quantificação e efeito de matriz.

### 4.11.1 Seletividade

A seletividade do método foi investigada comparando-se os cromatogramas dos extratos obtidos após a ESL-PBT de amostras de lodo submetidas ao pré-tratamento em soxtec, sem fortificação, com os cromatogramas dos extratos fortificados com solução padrão contendo os 16 HPAs na concentração de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ . Esse procedimento foi realizado em seis replicatas independentes (INMETRO, 2010).

### 4.11.2 Limites de quantificação (LQ)

O limite de quantificação (LQ) para cada um dos HPAs foi determinado considerando a menor concentração aceitável em que o sinal analítico apresentasse, no mínimo, dez vezes a relação sinal/ruído. Para isso, foram analisadas três soluções padrão preparadas no extrato da matriz nas concentrações de 1, 5 e  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  (INMETRO, 2010).

### 4.11.3 Linearidade de resposta do detector

A linearidade de resposta do detector foi avaliada construindo uma curva analítica com soluções padrão de HPAs preparadas em extrato da matriz em sete níveis de concentração. As concentrações dos HPAs foram 10, 30, 50, 70, 90, 110 e  $130 \mu\text{g L}^{-1}$  em três replicatas independentes para cada nível. Após a obtenção dos dados experimentais, foi aplicado o método dos mínimos quadrados ordinários (MMQO) para estimar a consistência dos dados da regressão. A dispersão dos valores foi investigada e tratada pelo método dos resíduos padronizados de Jackknife, com exclusão máxima de

22,2% dos dados. As premissas dos resíduos da regressão e o ajuste ao modo linear foram validadas através da verificação da normalidade dos resíduos pelo teste de Ryan-Joiner, homoscedasticidade dos resíduos pelo teste de Brown-Forsythe, independência dos resíduos pelo teste de Durbin-Watson, e teste F para verificar a significância da regressão e ajuste do modelo linear.

#### *4.11.4 Precisão*

A precisão do método foi verificada sob condição de repetitividade. Para isso foi avaliado o desvio padrão relativo (DPR) obtido em experimentos de fortificação/recuperação dos HPAs em lodo. Os ensaios foram realizados na concentração de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ , em sete replicatas. O critério de aceitabilidade para o DPR foi  $\leq 20\%$  (INMETRO, 2010).

#### *4.11.5 Exatidão*

A exatidão foi avaliada por experimentos de fortificação/recuperação. Três níveis de concentração foram estudados  $10$ ,  $25$  e  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  em três replicatas. Em seguida, para cada nível de concentração, os valores de recuperação foram confrontados com os intervalos aceitáveis, que geralmente estão entre  $70\%$  e  $120\%$ , com precisão de até  $\pm 20\%$ . Porém, dependendo da complexidade da amostra e dificuldade analítica, esse valor pode ser de  $50\%$  a  $120\%$ , com precisão de até  $\pm 15\%$  (INMETRO, 2010).

#### *4.11.6 Efeito de matriz*

Para avaliar a influência dos componentes da matriz foram construídas curvas analíticas com soluções padrão de HPAs preparadas em extrato da matriz e em acetonitrila em sete níveis de concentração para cada curva. As concentrações dos HPAs foram  $10$ ,  $30$ ,  $50$ ,  $70$ ,  $90$ ,  $110$  e  $130 \mu\text{g L}^{-1}$  em três replicatas independentes para cada nível. Após a obtenção dos dados

experimentais foi aplicado o método dos mínimos quadrados ordinários (MMQO) para estimar a consistência dos dados da regressão.

#### **4.12 Amostras reais**

O método validado foi aplicado para quantificação dos HPAs presentes na amostra de lodo de esgoto sem a etapa de pré-tratamento em soxtec.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Análises cromatográficas

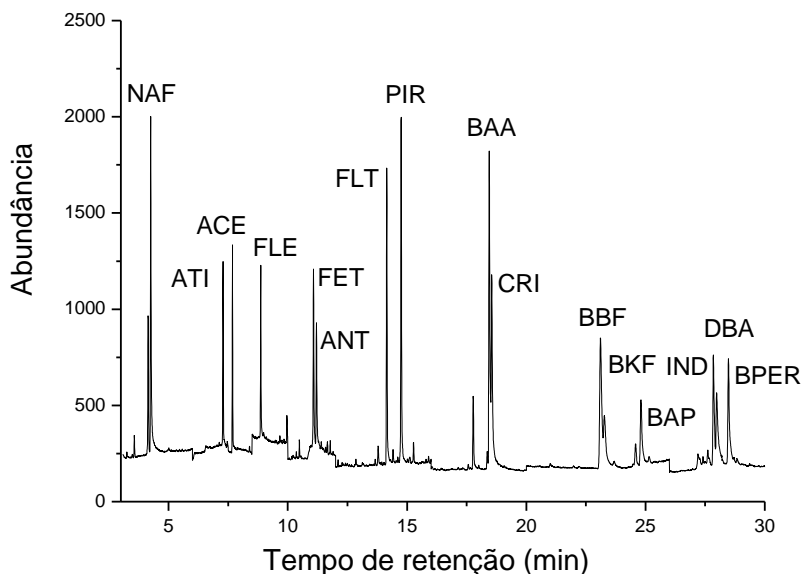
Para a separação e identificação dos 16 HPAs por CG-EM, inicialmente foi realizada a análise de uma solução padrão contendo os 16 HPAs com o detector EM operando no modo de íons totais (SCAN). Com o registro completo da análise, determinou-se os tempos de retenção ( $T_R$ ) de cada HPA e verificou-se seus respectivos íons moleculares. A identificação dos 16 HPAs foi realizada através da comparação dos espectros de massas gerados com os espectros da biblioteca do equipamento (NIST).

Em seguida, para obter maior sensibilidade na detecção das espécies estudadas, foi realizada a análise de uma solução padrão contendo os 16 HPAs no modo monitoramento de íons seletivos (MIS). A aquisição dos dados foi dividida em onze grupos de íons, de acordo está relacionado na Tabela 3. Esses íons foram selecionados por serem mais intensos nos espectros de massas e por serem específicos a esses compostos.

Após definidas as condições de trabalho do espectrômetro de massas, foi realizada uma análise do extrato da matriz fortificado com solução padrão, contendo os 16 HPAs na concentração de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ . Conforme pode ser observado na Figura 2, obteve-se uma boa resolução dos sinais e uma separação satisfatória, permitindo a identificação e quantificação dos 16 HPAs avaliados.



**Figura 2** – Representação do cromatograma da solução padrão dos 16 HPAs em extrato da matriz a  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ , obtido por CG-EM no modo MIS



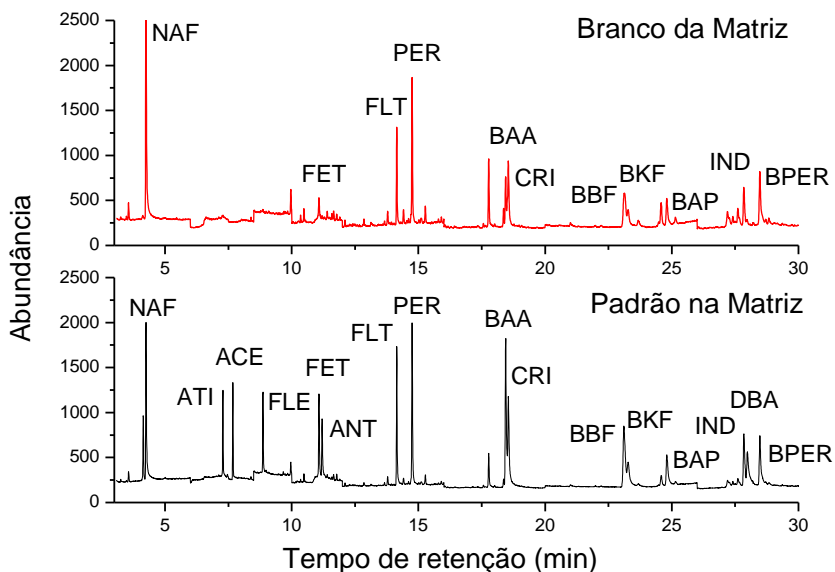
**Fonte:** Elaborada pela autora.

Nessas condições cromatográficas tem-se um tempo total de análise de 30 min. Os HPAs com menores tempos de retenção tratam-se dos HPAs de menor massa molar, caracterizados por serem os mais voláteis. Esses HPAs também apresentaram uma resposta cromatográfica maior, se comparados aos HPAs eluídos posteriormente em maiores temperaturas.

## 5.2 Obtenção de amostras de lodo de esgoto isentas de HPAs

Amostras de diferentes estações de tratamento de esgoto foram avaliadas empregando a ESL-PBT e análise por CG-EM. Entretanto, todas as amostras apresentaram HPAs. Conforme pode ser verificado na Figura 3, nas análises das amostras coletadas na ETE da cidade de Juramento foram detectados 11 HPAs, sendo eles o naftaleno, fenantreno, fluoranteno, pireno, benzo[a]antraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[a]pireno, indeno[1,2,3-cd]pireno e o benzo[g,h,i]perileno.

**Figura 3** – Comparação entre o cromatograma do extrato da matriz obtido após a ESL-PBT sem fortificação (branco) com o cromatograma do extrato da matriz após a ESL-PBT fortificado com solução padrão contendo os 16 HPAs a  $50 \mu\text{g L}^{-1}$



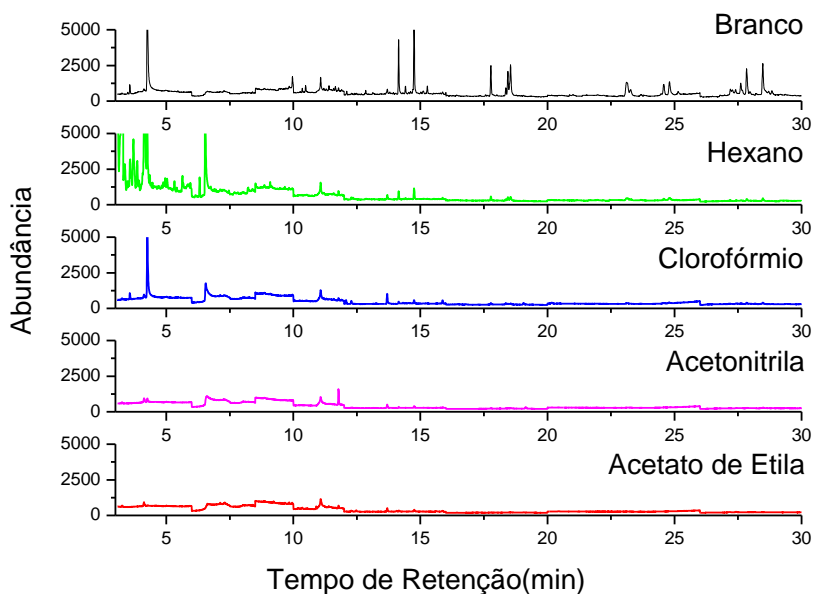
**Fonte:** Elaborada pela autora.

Isso ocorre porque o lodo é uma matriz muito complexa, pois acumula contaminantes químicos provenientes de diversas fontes e em concentrações variáveis. Como a presença desses compostos dificulta a otimização e validação do método proposto, a alternativa encontrada foi obter em laboratório uma amostra de lodo de esgoto isenta de HPAs (branco). Dessa forma, massas de 6,0000 g de amostras de lodo foram submetidas a uma limpeza em soxtec com quatro solventes de diferentes polaridades: hexano, clorofórmio, acetonitrila e acetato de etila.

Os resultados obtidos com o hexano e o clorofórmio não foram satisfatórios, pois alguns sinais ainda intensos permaneceram no início dos cromatogramas, inclusive no mesmo tempo de retenção do naftaleno e fenantreno. O acetato de etila e a acetonitrila apresentaram um comportamento bastante semelhante em relação à remoção dos

componentes da matriz e a intensidade da área dos compostos que não foram removidos completamente (Figura 4). Como o acetato de etila apresenta a melhor relação custo/benefício, foi o solvente escolhido para a limpeza do lodo.

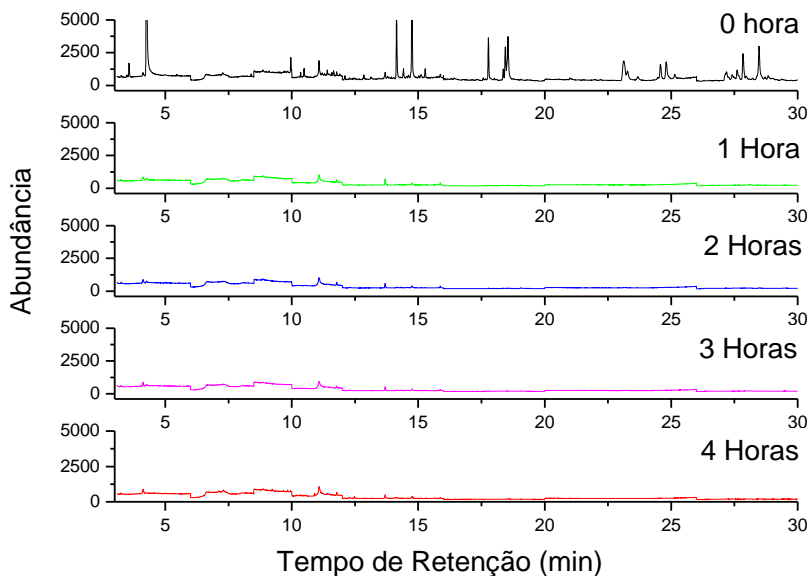
**Figura 4** – Representação dos cromatogramas dos extratos obtidos após a ESL-PBT de amostras de lodo de esgoto submetidas ao pré-tratamento em soxtec com hexano, clorofórmio, acetonitrila e acetato de etila



**Fonte:** Elaborada pela autora.

Também foi avaliado o tempo necessário para o pré-tratamento do lodo no soxtec. Conforme apresentado na Figura 5, os tempos de limpeza testados não apresentaram diferenças significativas.

**Figura 5** – Representação dos cromatogramas dos extratos obtidos após a ESL-PBT de amostras de lodo de esgoto submetidas ao pré-tratamento em soxtec com acetato de etila durante 1, 2, 3 e 4 horas



**Fonte:** Elaborada pela autora.

Como pode ser observado nos cromatogramas, períodos longos de limpeza não proporcionaram benefícios às análises cromatográficas quanto à remoção dos componentes da matriz. Dessa forma optou-se por tratar o lodo por 1 hora no soxtec.

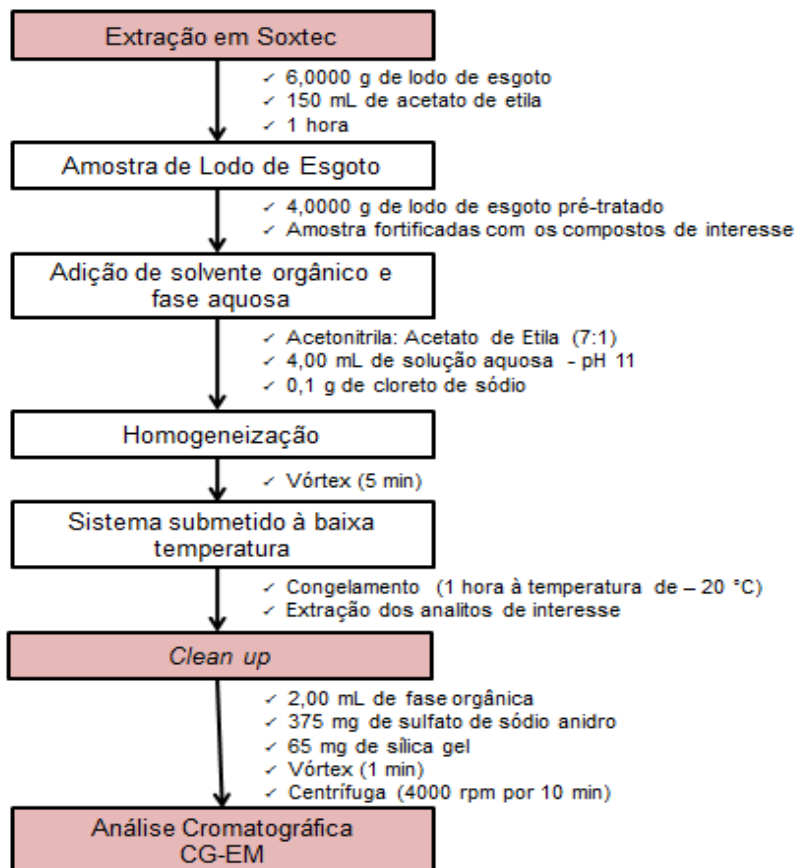
### **5.3 Extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura (ESL-PBT) modificada**

A técnica ESL-PBT proporciona a extração dos HPAs e *clean up* dos extratos durante a etapa de congelamento. Porém, devido à complexidade do lodo de esgoto, foi necessária uma etapa de *clean up* adicional para remover componentes da matriz remanescentes no extrato.

No método descrito por Barbosa *et al.* (2014), para a etapa de *clean up* adicional, após a etapa de congelamento, a fase líquida do sistema bifásico foi vertida em uma coluna de vidro contendo 2,0000 g de sílica. O fluxo foi controlado para 0,5 mL min<sup>-1</sup> e utilizou-se acetonitrila como efluente. Os extratos obtidos foram recuperados em balão de 5,00 mL. Enquanto no método modificado segue-se apenas uma etapa de centrifugação (4000 rpm/10 min), otimizando o tempo de preparo de amostras. Para isso, foi utilizada a sílica como adsorvente. Optou-se pela sílica, pois seu custo é significativamente menor, além de ser o adsorvente recomendado pela EPA para *clean up* de extratos em análise de HPAs. Além disso, o método proposto utiliza uma quantidade de adsorvente significativamente menor que no método original (Figura 6).

Os extratos obtidos na ESL-PBT e *clean up* com sílica foram analisados por CG-EM no modo MIS e com o cromatograma obtido observou-se que essas etapas foram suficientes para remoção dos interferentes.

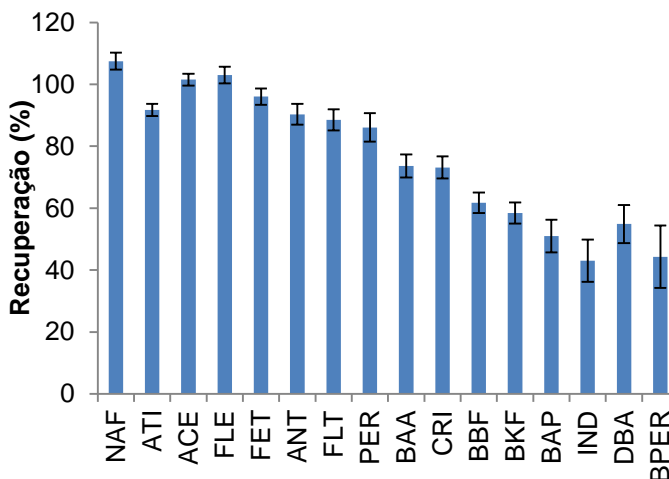
**Figura 6** - Representação da marcha analítica aplicada para a extração sólido-líquido com purificação em baixa temperatura de 16 HPAs em lodo de esgoto. As etapas destacadas foram as adaptadas



**Fonte:** Elaborada pela autora.

A aplicação da ESL-PBT modificada apresentou porcentagens de recuperação que variaram de 43% (indeno[1,2,3-*cd*]pireno) a 107% (naftaleno) (Figura 7), valores superiores aos obtidos pelo método proposto por Barbosa *et al.* (2014), no qual foram obtidas porcentagens de recuperação que variaram entre 32% e 81%.

**Figura 7** – Gráfico das porcentagens de recuperação obtidas para os 16 HPAs a partir da ESL-PBT modificada



**Fonte:** Elaborada pela autora.

Verificou-se que, para os HPAs de menor massa molar, as porcentagens de recuperação foram superiores aos valores obtidos para os HPAs de maior massa molar. Essa tendência de extração pode ter sido promovida em virtude da ampla diferença nos parâmetros físico-químicos dos HPAs. Esses compostos possuem estruturas químicas com anéis aromáticos fundidos, sendo que os de massas molares menores (2 a 4 anéis aromáticos) apresentam menor caráter lipofílico em relação aos de maiores massas molares (CAVALCANTE *et al.*, 2008). Por isso a natureza da polaridade dos solventes escolhidos para a extração dos HPAs é um fator determinante. O acetato de etila apresenta caráter apolar e, por isso, favorece a extração dos HPAs de maior cadeia carbônica, enquanto que a acetonitrila favorece a extração dos demais HPAs.

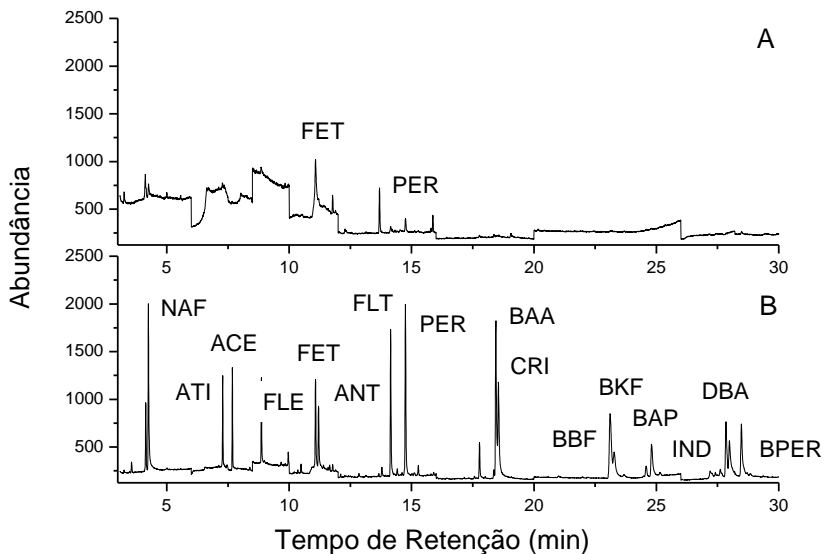
Segundo Blankenhorn *et al.* (1992) e Song *et al.* (2002), a escolha do solvente é um fator decisivo na eficiência da técnica de extração de HPA. Além disso, Sun *et al.* (2006) demonstrou, a partir da comparação dos resultados encontrados, utilizando diferentes métodos de extração, que a massa molar dos HPAs também pode influenciar na eficiência da técnica de extração.

## 5.4 Validação

### 5.4.1 Seletividade

A seletividade do método foi avaliada a partir dos extratos obtidos na ESL-PBT de amostras de lodo de esgoto pré-tratadas em soxtec (branco). Entretanto, as análises por CG-EM apresentaram sinais no tempo de retenção do FET e PER. Para os demais HPAs não foram observados picos de interferentes próximos aos tempos de retenção dos mesmos. Na Figura 8, o cromatograma do extrato obtido na ESL-PBT de amostras de lodo pré-tratadas em soxtec (branco) é comparado com o cromatograma do extrato fortificado.

**Figura 8** – Representação dos cromatogramas no modo MIS dos extratos obtidos após a ESL-PBT de amostras de lodo de esgoto pré-tratadas em soxtec: A) Extrato sem fortificação (branco) B) Extrato fortificado com solução padrão contendo os 16 HPAs na concentração de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$



Fonte: Elaborada pela autora.



#### 5.4.2 Limites de quantificação

Os valores dos limites de quantificação obtidos para os 16 HPAs estão descritos na Tabela 4. Os HPAs apresentaram LQ abaixo do LMR estabelecido pela Resolução Conama nº 375 de 2006 para solo e, ainda, a soma das concentrações do LQ obtido para os 16 HPAs ( $\Sigma = 0,105 \text{ mg kg}^{-1}$ ) foi inferior à concentração máxima determinada pela regulamentação da União Europeia para lodo de esgoto ( $6,0 \text{ mg kg}^{-1}$  a soma de 11 HPAs).

**Tabela 4** - Limites de quantificação dos 16 HPAs obtidos no extrato da matriz e os limites máximos de resíduos permitidos (LMR)

HPAs	LQ ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	LMR * CONAMA nº 375/2006 ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	LMR ** UNIÃO EUROPÉIA ( $\Sigma = 6 \text{ mg kg}^{-1}$ )
NAF	0,0025	0,12	-
ATI	0,0025	-	.
ACE	0,0025	-	P
FLE	0,0025	-	P
FET	0,0025	3,3	-
ANT	0,0025	-	-
FLT	0,0025	-	P
PER	0,0025	-	P
BAA	0,0025	-	-
CRI	0,0025	0,025	P
BBF	0,0125	-	P
BKF	0,025	0,38	P
BAP	0,0125	0,052	P
IND	0,0025	-	-
DBA	0,025	0,031	P
BPER	0,0025	-	P

**Notas:** P: HPAs presentes no somatório que resulta no total de  $6 \text{ mg Kg}^{-1}$

\* LMR estabelecido para solo

\*\* LMR estabelecido para lodo

**Fonte:** Elaborada pela autora.

### 5.4.3 Linearidade

A linearidade de resposta do detector foi avaliada utilizando sete níveis de concentração, que foram igualmente espaçados na faixa avaliada. Replicatas de cada ponto de calibração forneceram informações sobre a variabilidade inerente das medidas das respostas (erro puro). Os dados de calibração foram obtidos por regressão linear; e os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) para as curvas analíticas, preparadas no extrato da matriz, foram superiores a 0,95, valor acima do recomendado pelo INMETRO (0,90) (2010), exceto para o BAP que apresentou coeficiente de determinação de 0,51, indicando não linearidade de resposta na faixa estudada (Tabela 5).

**Tabela 5** - Equações das curvas de calibração obtidas para os 16 HPAs em extrato de lodo de esgoto, na faixa de concentração entre 10 a 130  $\mu\text{g L}^{-1}$  e seus respectivos coeficientes de determinação ( $R^2$ )

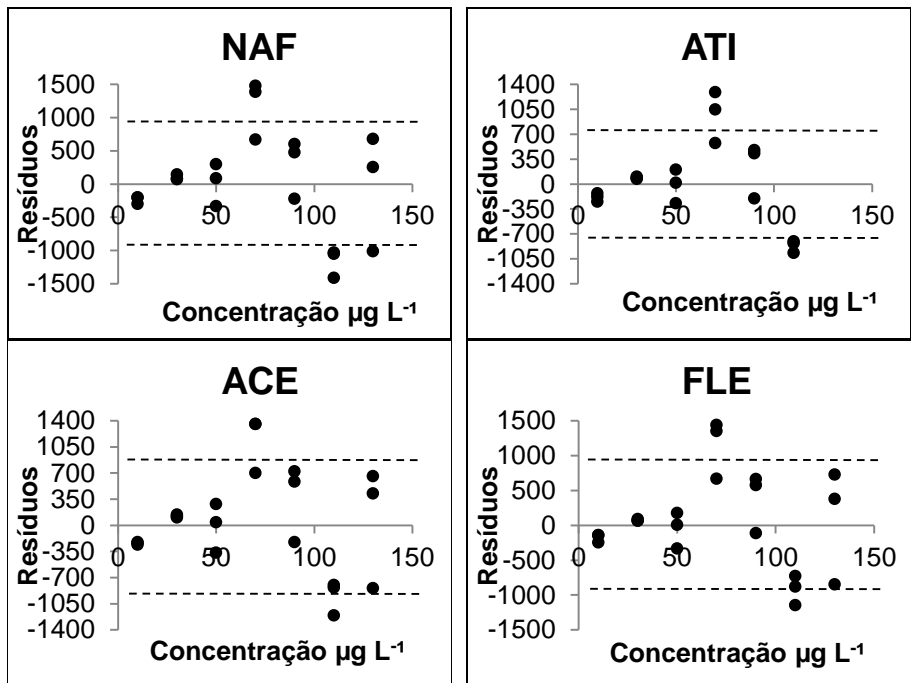
HPAs	Dados da calibração	
	Equação	$R^2$
NAF	$Y=63,67x+334,7$	0,967
ATI	$Y=55,40x+252,9$	0,971
ACE	$Y=64,49x+323,8$	0,967
FLE	$Y=64,51x+420,3$	0,969
FET	$Y=69,45x+604,4$	0,964
ANT	$Y=65,47x+263,5$	0,973
FLT	$Y=82,28x+509,7$	0,975
PER	$Y=84,55x+474,6$	0,976
BAA	$Y=159,9x+322,2$	0,976
CRI	$Y=74,79x+315,7$	0,979
BBF	$Y=100,1x+517,6$	0,970
BKF	$Y=28,46x+254,9$	0,969
BAP	$Y= 56,2x-175,1$	0,511
IND	$Y=53,47x+380,0$	0,972
DBA	$Y=13,07x+83,04$	0,955
BPER	$Y=25,13x+238,6$	0,961

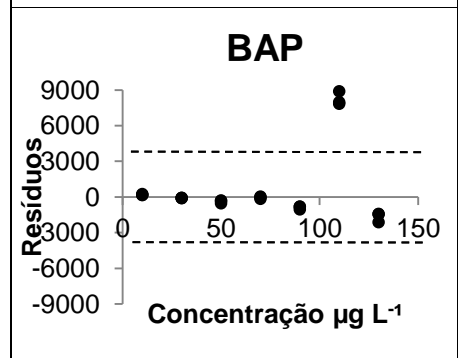
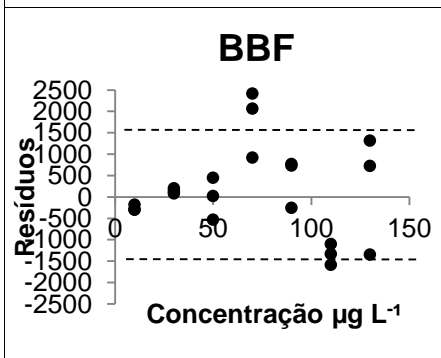
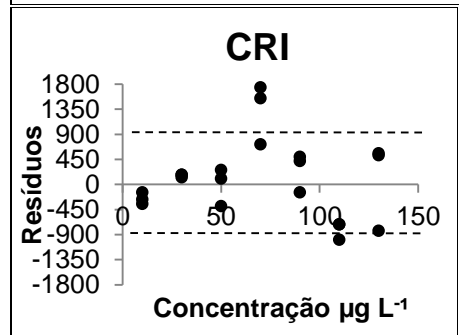
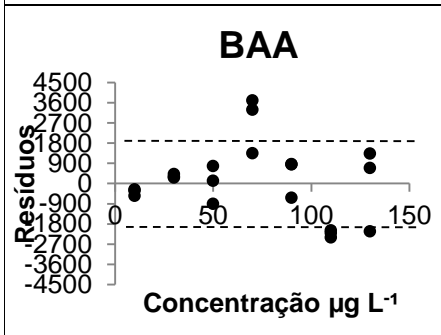
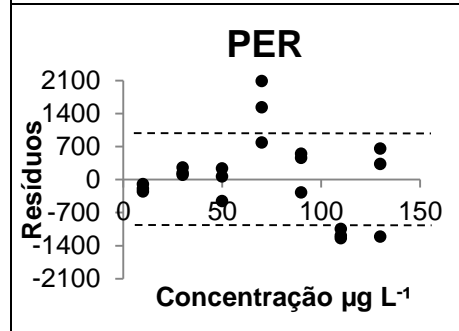
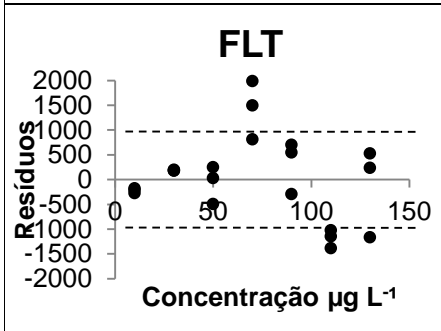
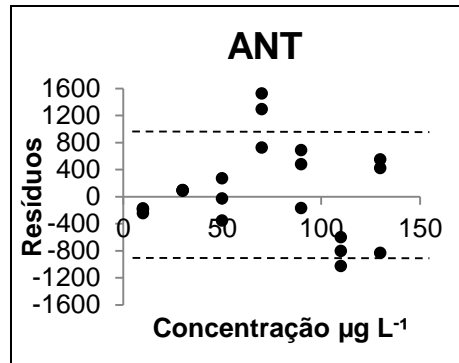
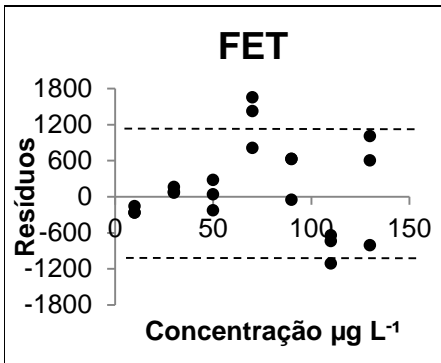
**Fonte:** Elaborada pela autora.

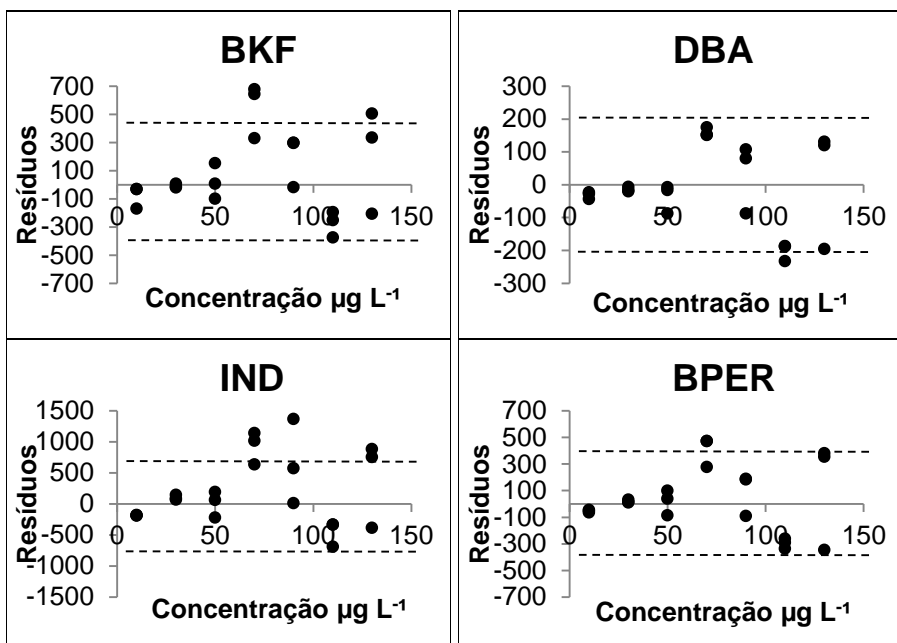
Na segunda etapa do estudo da linearidade, foi aplicado o Método dos Mínimos Quadrados Ordinários (MMQO) para encontrar a função de regressão que minimizasse a soma dos quadrados das distâncias entre a função ajustada e os pontos observados.

Os valores dispersos identificados foram confirmados pelo teste de resíduos padronizados de Jackknife. Os gráficos dos resíduos da regressão, com indicação dos valores extremos detectados, estão apresentados na Figura 9. O número máximo de valores extremos removidos foi cinco, correspondente ao limite de 22,2% dos 21 dados originais. O diagnóstico desses pontos permitiu tratar aqueles que afetavam claramente o ajuste do modelo.

**Figura 9** - Gráficos exploratórios dos resíduos da regressão das curvas dos 16 HPAs em extrato de lodo, após exclusão de valores dispersos diagnosticados pelo teste de resíduos padronizados Jackknife



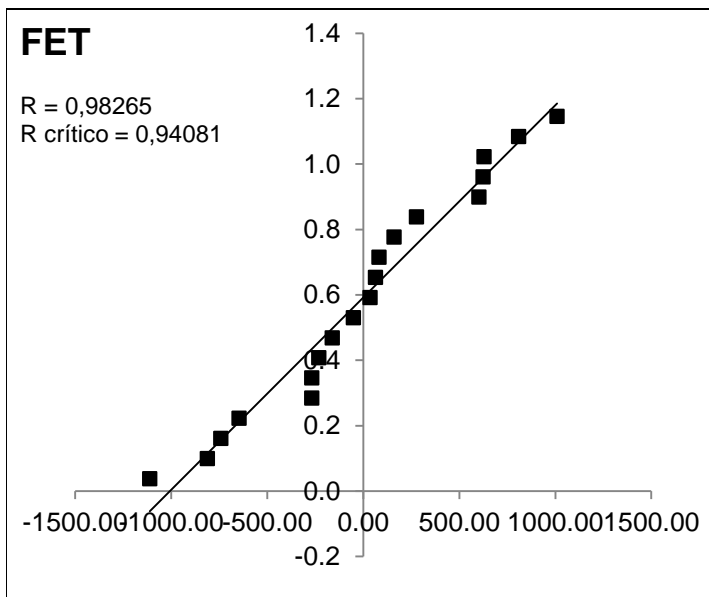
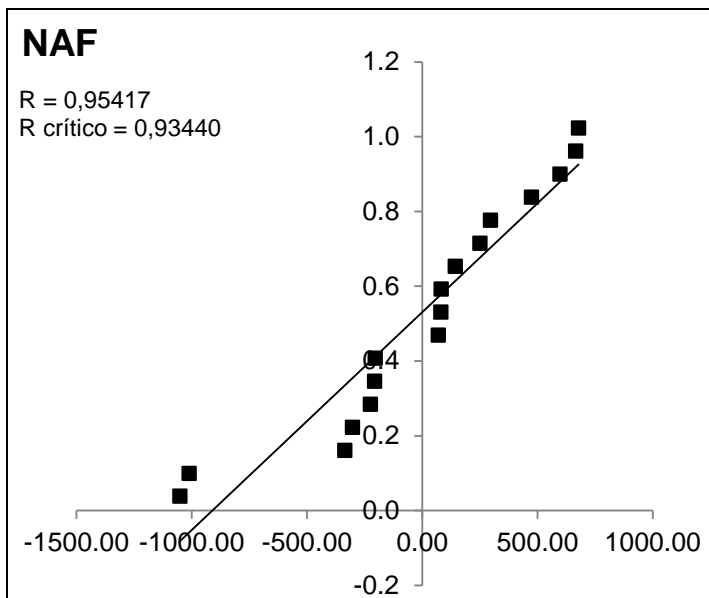


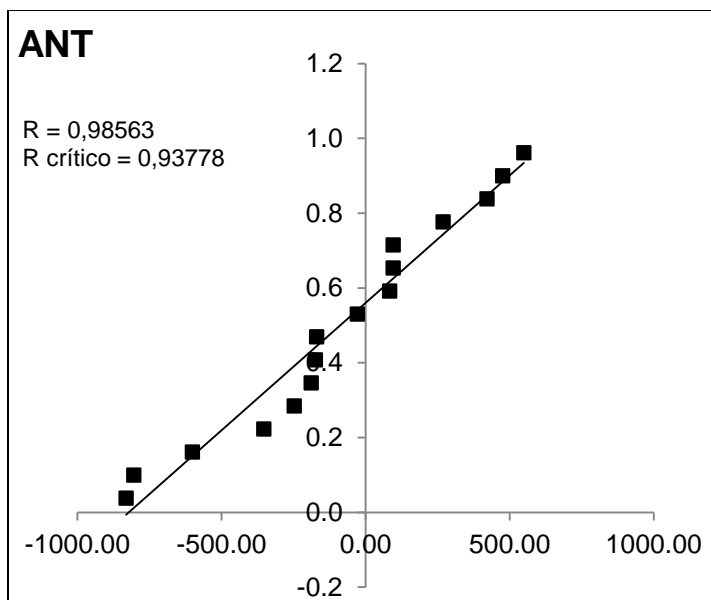
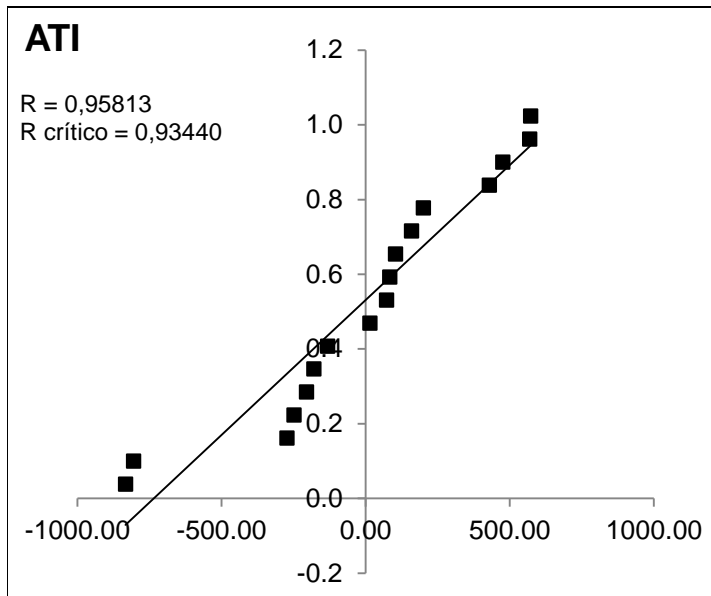


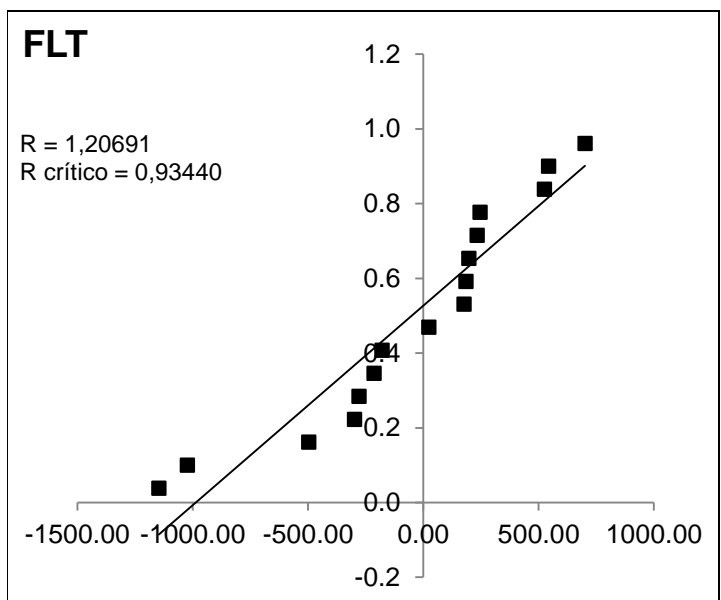
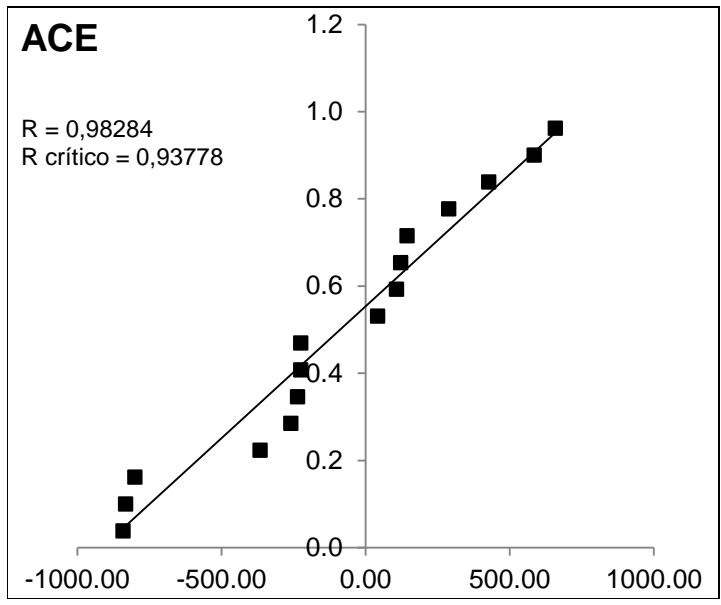
Fonte: Elaborada pela autora.

A distribuição normal dos resíduos da regressão foi verificada pelo teste de Ryan-Joiner. Os coeficientes de correlação calculados ( $R$ ) foram superiores aos coeficientes críticos ( $R_{\text{crítico}}$ ), indicando que o desvio de normalidade não foi significativo ( $\alpha = 0,10$ ) para as curvas da maioria dos HPAs, exceto para o PER e BAP (Figura 10).

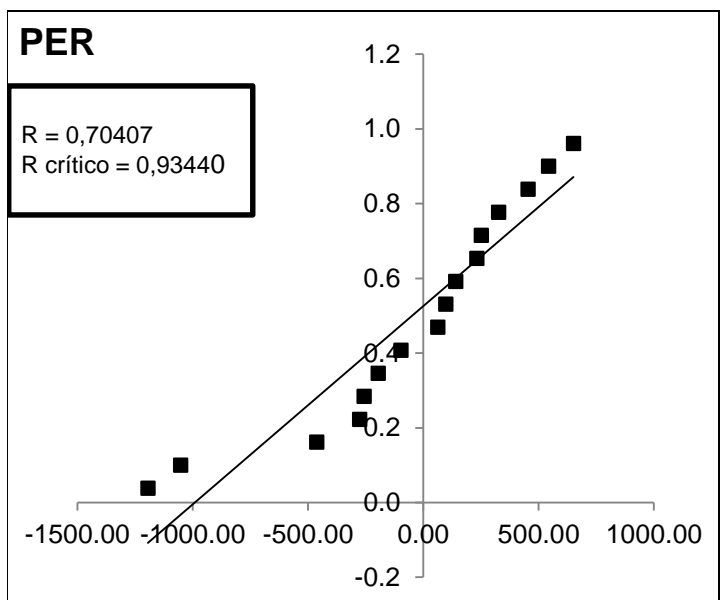
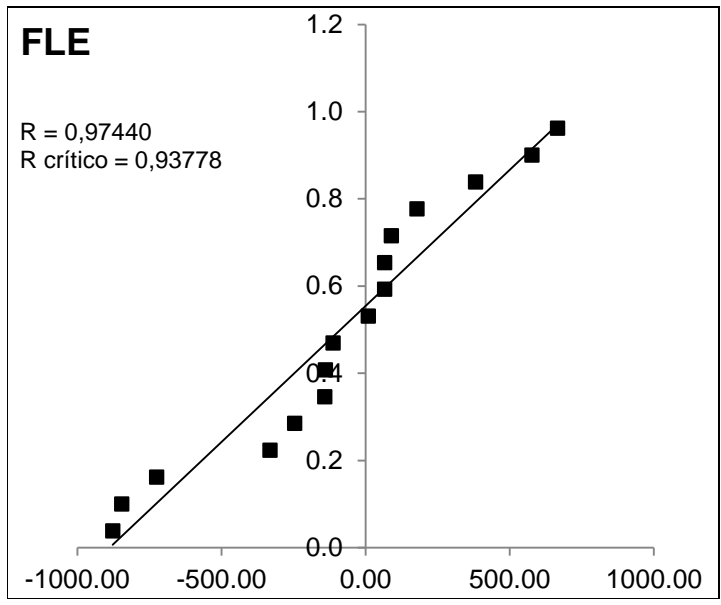
**Figura 10** - Gráficos de probabilidade normal das curvas dos 16 HPAs em extrato de lodo de esgoto

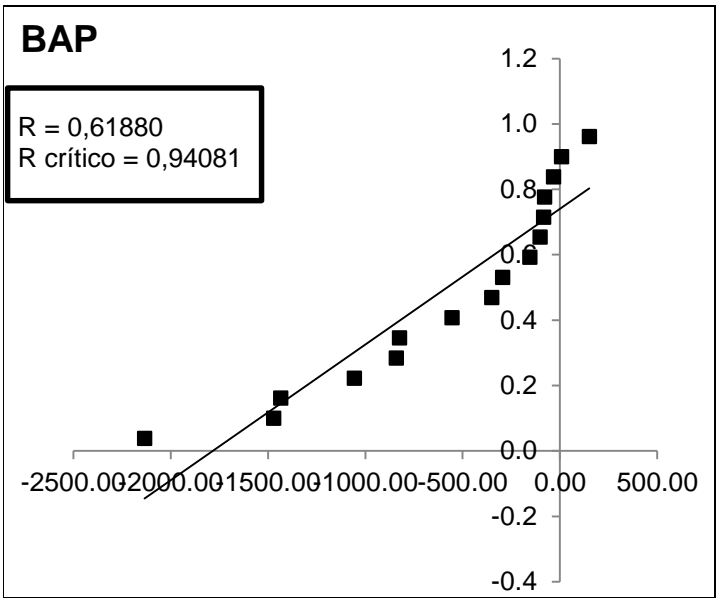
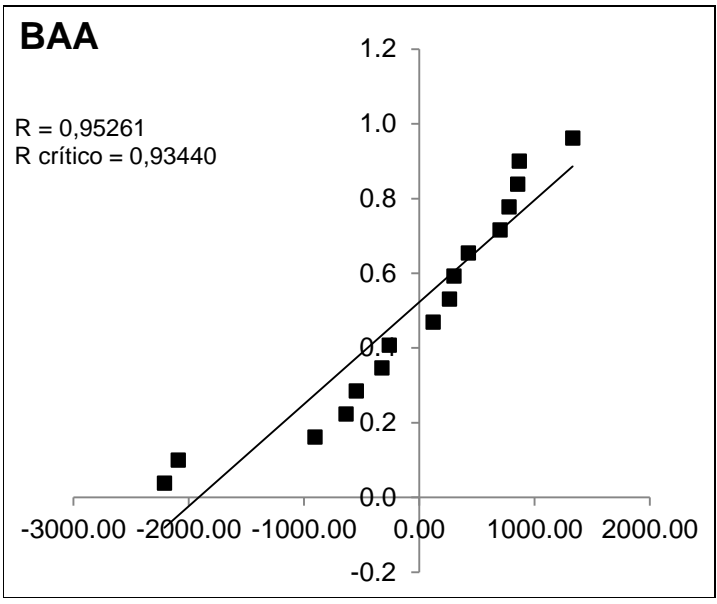


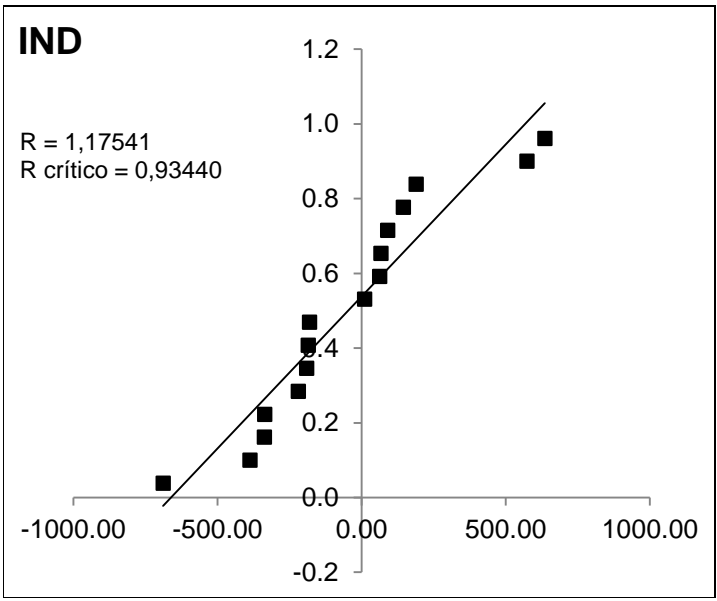
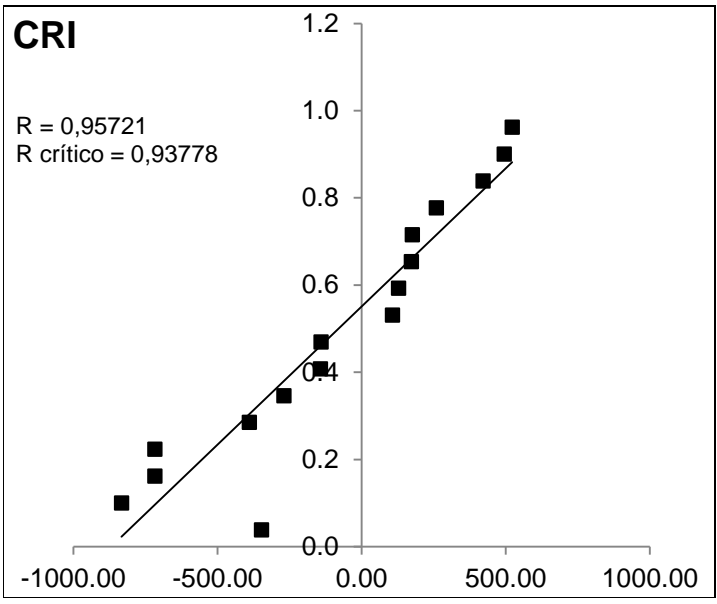


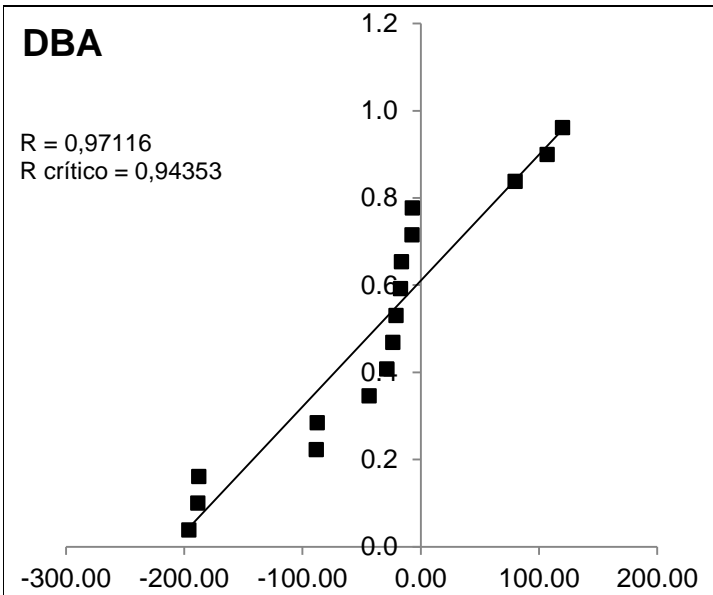
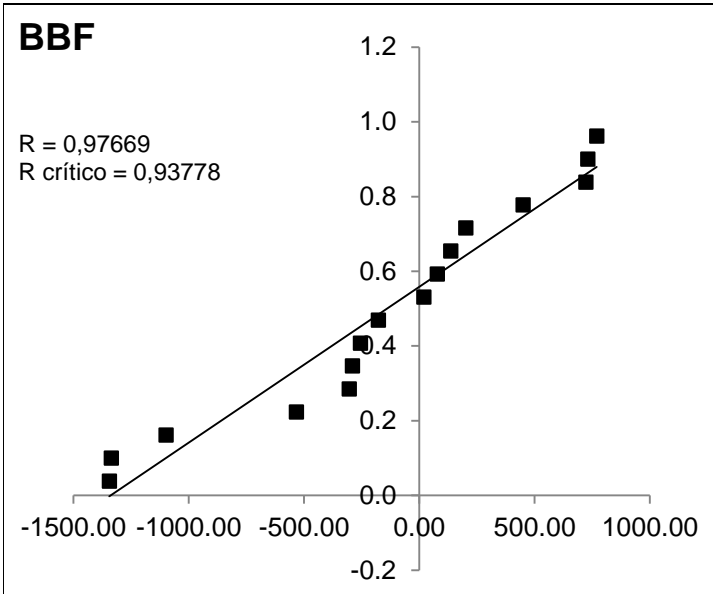


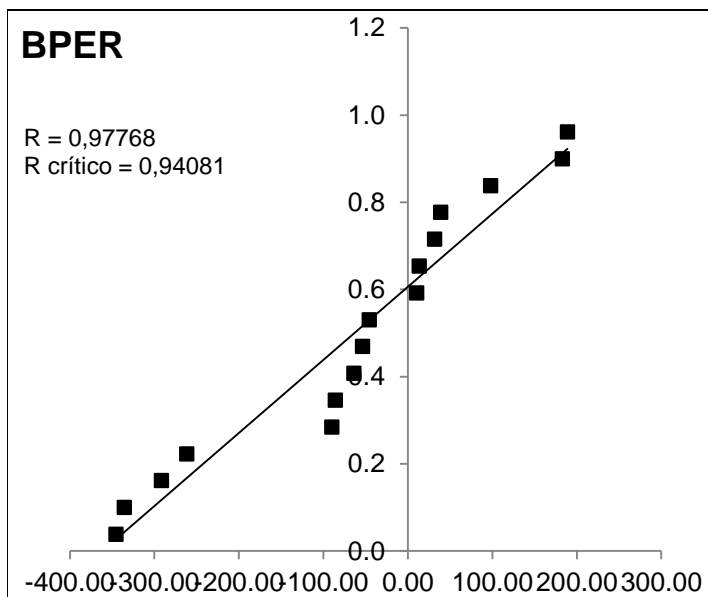
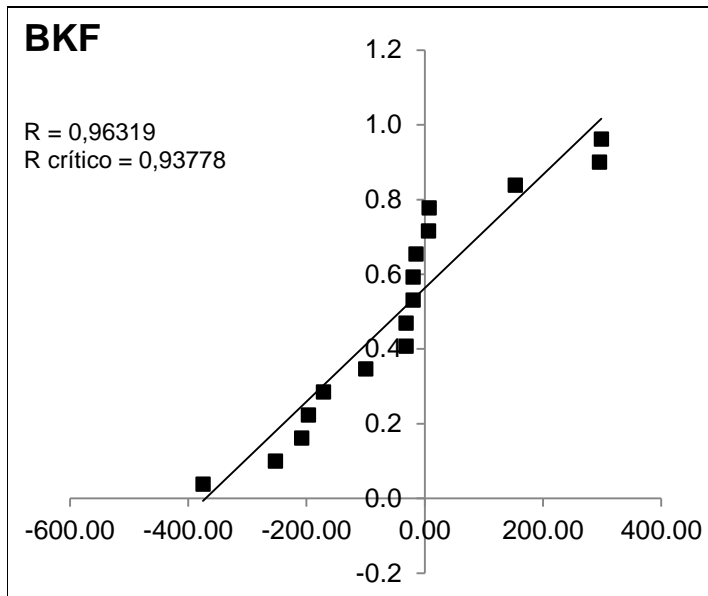












**Notas:** R= coeficiente de correlação de Ryan-Joiner

R crítico= valor crítico estabelecido

**Fonte:** Elaborada pela autora.

A estatística  $t$  de Levene não foi significativa ( $\alpha = 0,05$ ) em todas as curvas examinadas, apresentando  $t$  de Levene inferior ao  $t_{crítico}$ . Isso demonstra que os resíduos da regressão apresentaram variabilidade constante ao longo dos níveis de concentração, confirmando homoscedasticidade para todos os HPAs (Tabela 6).

**Tabela 6** - Representação da homogeneidade das variâncias dos resíduos da regressão das curvas analíticas dos 16 HPAs pelo teste de Levene modificado

HPAs	Estatística		
	$N$	$t_L$	$t_{crítico}$
NAF	17	0,398	2,13
ATI	17	0,422	2,13
ACE	18	0,924	2,12
FLE	18	-0,219	2,12
FET	19	-0,105	2,11
ANT	18	1,036	2,12
FLT	17	1,412	2,13
PER	17	0,420	2,13
BAA	17	0,315	2,13
CRI	17	0,419	2,13
BBF	18	0,476	2,12
BKF	18	-0,004	2,12
BAP	19	0,000	2,11
IND	17	-0,107	2,13
DBA	20	-0,276	2,10
BPER	19	-0,087	2,12

**Notas:**  $N$  = número de observações

$t_L$  = estatística  $t$  de Levene

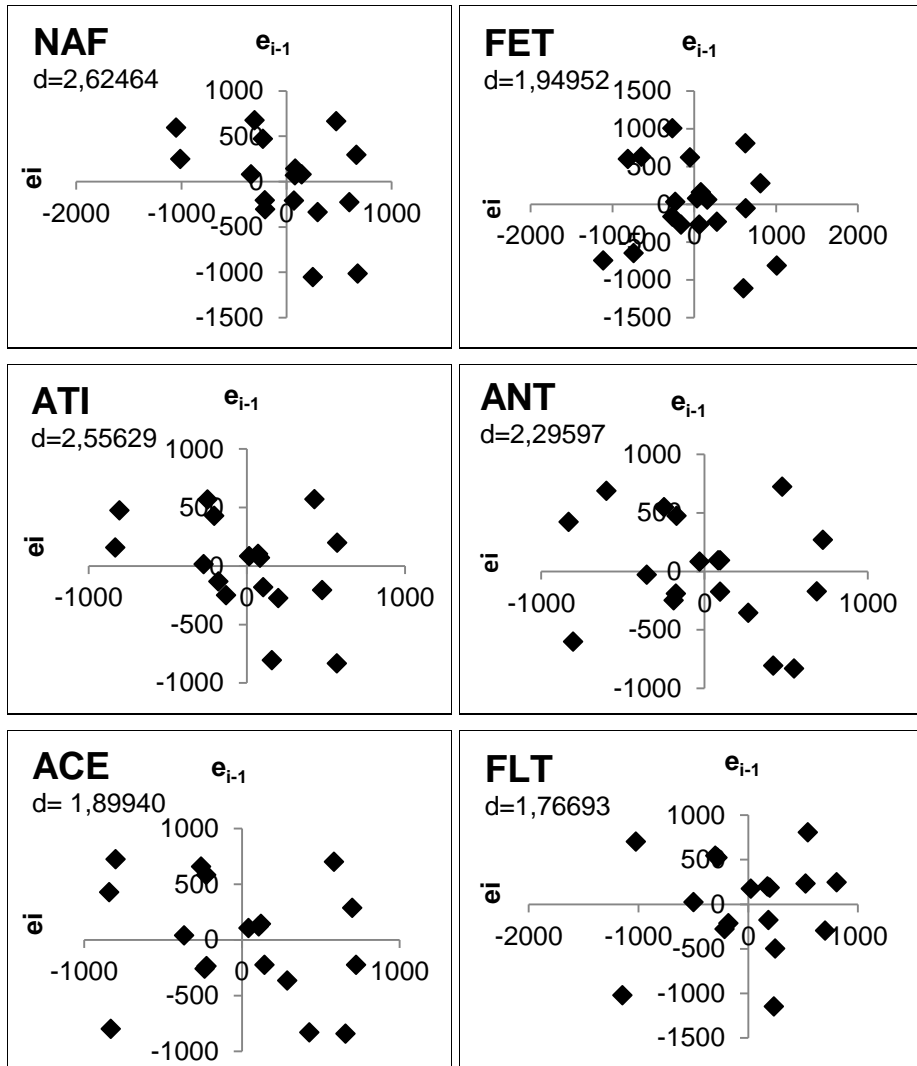
$t_{crítico}$  = valor tabelado para  $\alpha = 0,05$

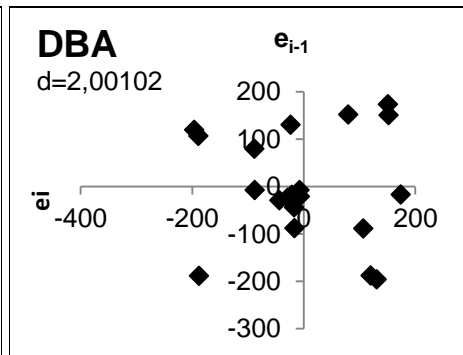
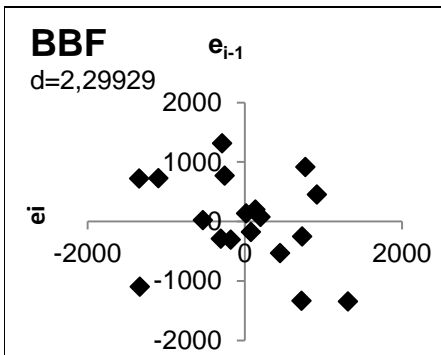
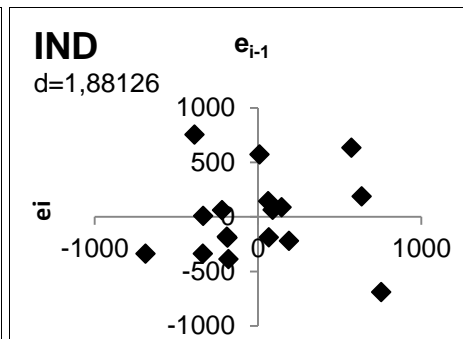
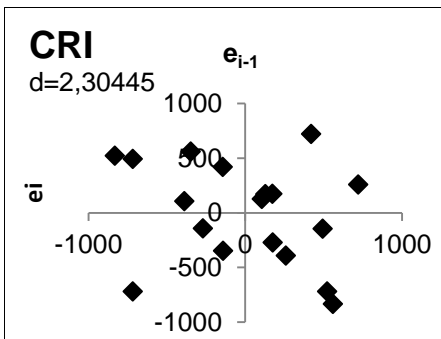
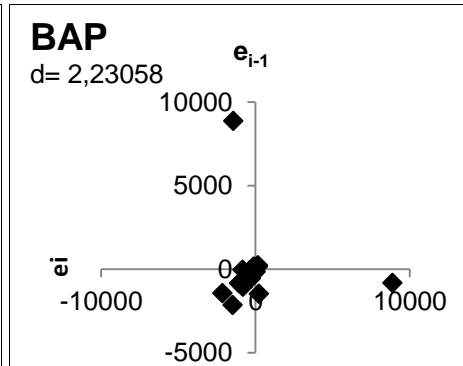
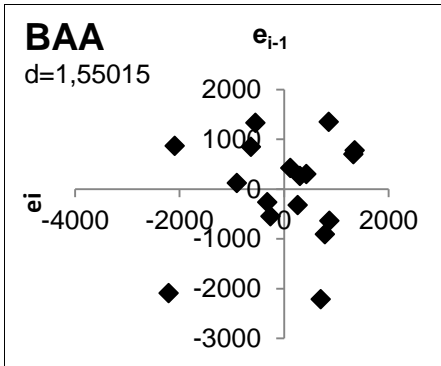
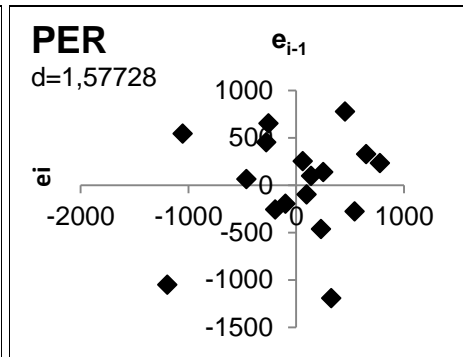
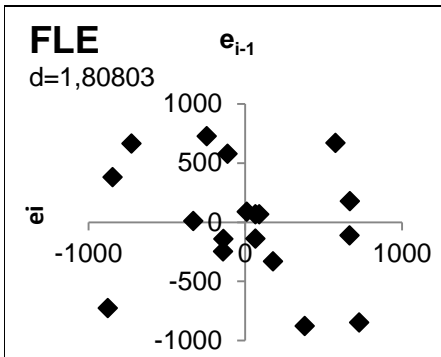
**Fonte:** Elaborada pela autora

A independência dos resíduos de regressão foi evidenciada pelo teste de Durbin-Watson. A distribuição aleatória dos pontos nos quatro quadrantes dos gráficos demonstrou um perfil homogêneo, sem tendências positivas ou negativas para a maioria dos HPAs, exceto para o BAP, em que os pontos se

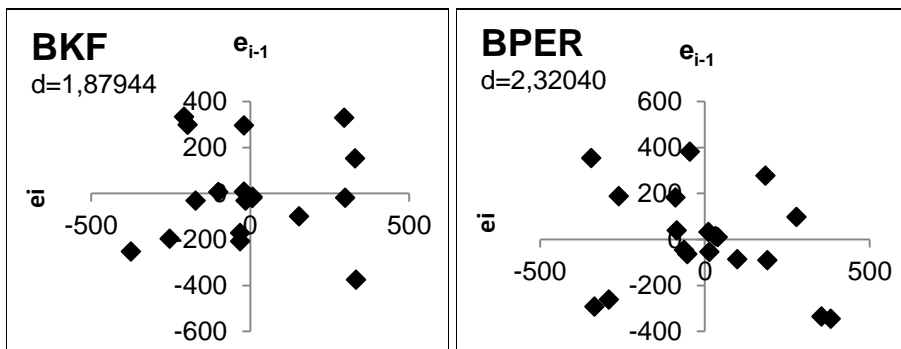
distribuíram predominantemente no primeiro e terceiro quadrante, indicando correlação positiva (Figura 11).

**Figura 11** - Gráficos de Durbin-Watson das curvas dos 16 HPAs em extrato de lodo de esgoto









**Nota:**  $d$ = estatística de Durbin-Watson

**Fonte:** Elaborada pela autora.

Foi observada alta significância da regressão ( $\alpha= 0,001$ ) para todos os HPAs (Tabela 7), indicando ajuste ao modelo linear nos níveis de concentração estudados para todos os compostos, divergindo com os resultados obtidos para o PER e BAP.

**Tabela 7** - Estatística da análise de variância da regressão para as curvas dos 16 HPAs

HPAs	Estatística	
	$F$	$F_{crítico}$
NAF	$4,41 \times 10^{+2}$	$1,56 \times 10^{-12}$
ATI	$5,08 \times 10^{+2}$	$5,54 \times 10^{-13}$
ACE	$4,72 \times 10^{+2}$	$2,68 \times 10^{-13}$
FLE	$5,09 \times 10^{+2}$	$1,49 \times 10^{-13}$
FET	$4,58 \times 10^{+2}$	$9,92 \times 10^{-14}$
ANT	$5,78 \times 10^{+2}$	$5,47 \times 10^{-14}$
FLT	$5,90 \times 10^{+2}$	$1,85 \times 10^{-13}$
PER	$6,31 \times 10^{+2}$	$1,14 \times 10^{-13}$
BAA	$6,10 \times 10^{+2}$	$1,45 \times 10^{-13}$
CRI	$7,53 \times 10^{+2}$	$6,93 \times 10^{-15}$
BBF	$5,07 \times 10^{+2}$	$5,62 \times 10^{-13}$
BKF	$5,16 \times 10^{+2}$	$1,33 \times 10^{-13}$
BAP	$1,78 \times 10^{+1}$	$5,77 \times 10^{-4}$
IND	$5,27 \times 10^{+2}$	$4,27 \times 10^{-13}$
DBA	$3,85 \times 10^{+2}$	$1,33 \times 10^{-13}$
BPER	$4,30 \times 10^{+2}$	$1,66 \times 10^{-13}$

**Notas:**  $F$  = estatística do teste

$F_{crítico}$  = valor de  $F$  tabelado

**Fonte:** Elaborada pela autora.

As três premissas relativas ao MMQO (normalidade, homoscedasticidade e independência) foram confirmadas para a maioria dos HPAs, indicando linearidade de respostas desses compostos nas faixas de concentração estudadas, sem ponderações. Para o PER e BAP não houve confirmação da normalidade e independência dos resíduos. Isso sugere que o modelo utilizado pode ter sido inadequado para esses compostos ou que a faixa de concentração trabalhada deva ser reduzida.

#### 5.4.4 Exatidão e precisão

A exatidão avalia a proximidade dos valores encontrados com o valor verdadeiro (real). A exatidão foi avaliada realizando ensaios de recuperação nas concentrações de 10, 25 e 50  $\mu\text{g L}^{-1}$ . As porcentagens de recuperação variaram entre 37% e 129% para os dezesseis HPAs (Tabela 8). Embora esses resultados não atendam as recomendações da IUPAC de 70% a 120%, foram julgados satisfatórios, considerando a complexidade da matriz, com intervalo de recuperação aceitável entre 50% e 120% (GARP, 1999). Contudo, os HPAs BKF, BAP, IND, DBA e BPER apresentaram porcentagens de recuperação inferiores a 50%.

Os testes de precisão examinam a concordância entre os resultados. A precisão foi verificada sob condições de repetibilidade na concentração de 50  $\mu\text{g L}^{-1}$  e os resultados foram satisfatórios, pois o DPR foi inferior a 13%, exceto para o DBA que apresentou DRP de 25% (Tabela 8).

**Tabela 8** - Exatidão e precisão do método para determinação de 16 HPAs em lodo de esgoto

HPAs	Recuperação (%) média $\pm$ DPR		
	10 $\mu\text{g L}^{-1}$ *	25 $\mu\text{g L}^{-1}$ *	50 $\mu\text{g L}^{-1}$ **
NAF	107 $\pm$ 4	129 $\pm$ 4	110 $\pm$ 7
ATI	82 $\pm$ 8	110 $\pm$ 6	95 $\pm$ 6
ACE	105 $\pm$ 2	132 $\pm$ 4	108 $\pm$ 5
FLE	104 $\pm$ 2	131 $\pm$ 6	111 $\pm$ 5
FET	97 $\pm$ 1	118 $\pm$ 5	105 $\pm$ 5
ANT	90 $\pm$ 4	111 $\pm$ 5	101 $\pm$ 5
FLT	92 $\pm$ 5	108 $\pm$ 4	97 $\pm$ 5
PER	80 $\pm$ 9	97 $\pm$ 8	96 $\pm$ 6
BAA	73 $\pm$ 4	96 $\pm$ 5	79 $\pm$ 7
CRI	70 $\pm$ 4	90 $\pm$ 3	79 $\pm$ 6
BBF	52 $\pm$ 5	75 $\pm$ 5	65 $\pm$ 9
BKF	37 $\pm$ 3	75 $\pm$ 5	59 $\pm$ 9
BAP	48 $\pm$ 8	71 $\pm$ 5	60 $\pm$ 11
IND	41 $\pm$ 3	52 $\pm$ 7	42 $\pm$ 13
DBA	44 $\pm$ 6	59 $\pm$ 10	38 $\pm$ 25
BPER	49 $\pm$ 11	64 $\pm$ 7	45 $\pm$ 13

**Nota:** \* média de 3 repetições \*\* média de 7 repetições

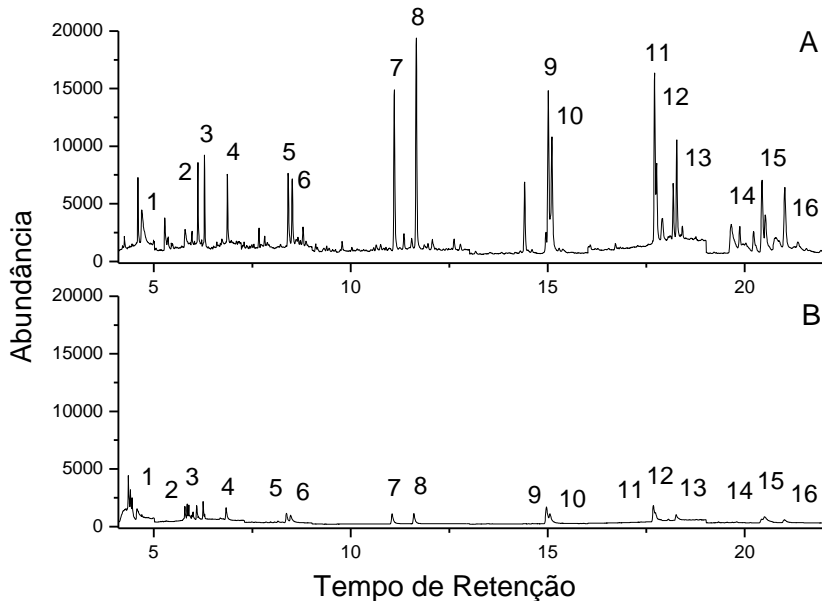
**Fonte:** Elaborada pela autora.

#### 5.4.5 Efeito de matriz

Conforme pode ser observado na Figura 12A, pelas características do cromatograma obtido, as condições de análise estabelecidas permitiram inicialmente uma boa resolução dos sinais e a separação adequada dos 16 HPAs, inclusive dos isômeros de difícil separação: fenantreno/antraceno, criseno/benzo[*a*]antraceno, benzo[*b*]fluoranteno/benzo[*k*]fluoranteno e dibenzo[*a,h*]antraceno/indeno [1,2,3-*cd*]pireno. Entretanto, após a saturação do sistema cromatográfico com os componentes do lodo, a sensibilidade do equipamento diminuiu e a separação dos HPAs foi comprometida, especialmente dos isômeros (Figura 12B). Esse fenômeno é denominado de efeito de matriz e está associado com adsorções e/ou degradações que

podem ocorrer no injetor, coluna ou detector do sistema cromatográfico (ERNEY *et al.*, 1993; PINHO *et al.*, 2010; PINHO *et al.*, 2012).

**Figura 12** – Representação dos cromatogramas da análise no modo MIS da solução padrão, contendo os 16 HPAs em acetonitrila na concentração de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ , sendo (A) antes e (B) após saturação do sistema cromatográfico. Programação da temperatura do forno:  $50^\circ\text{C}$  (0,4 min),  $25^\circ\text{C min}^{-1}$  até  $195^\circ\text{C}$  (1,5 min),  $8^\circ\text{C min}^{-1}$  até  $265^\circ\text{C}$ ,  $20^\circ\text{C min}^{-1}$  até  $300^\circ\text{C}$  (4min)

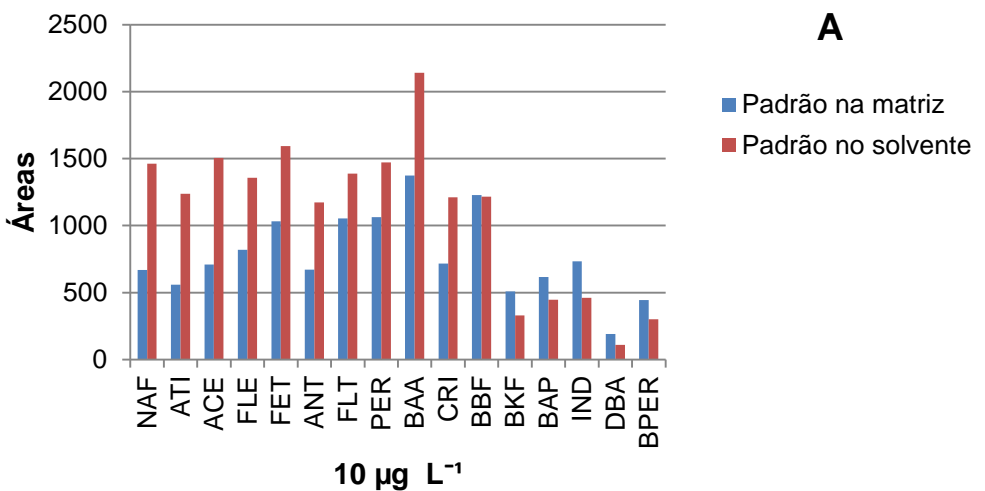


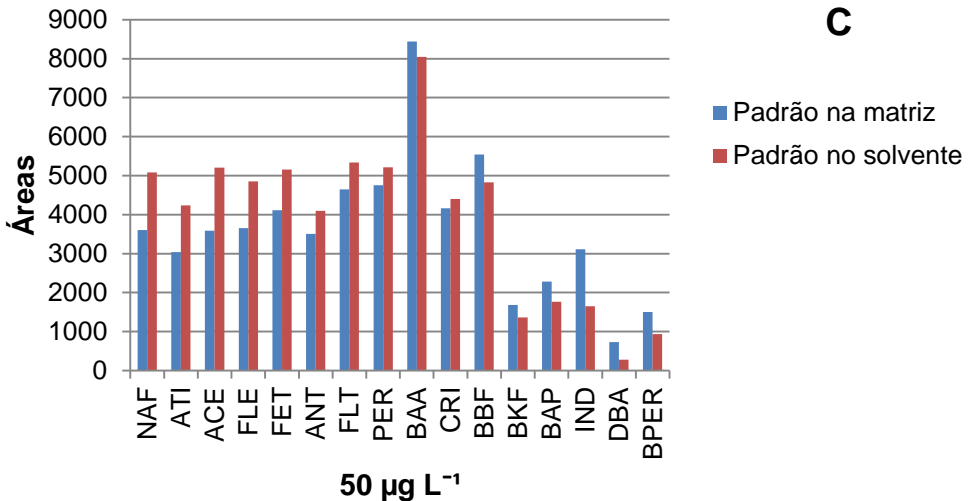
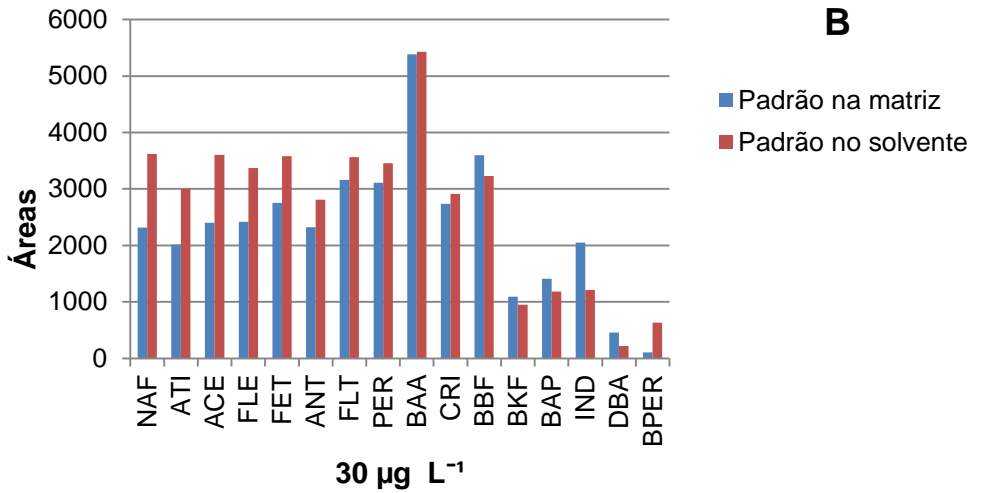
**Fonte:** Elaborada pela autora.

Devido às adsorções e/ou degradações dos HPAs no sistema cromatográfico, as análises da solução padrão preparada em extrato da matriz e as análises da solução padrão em solvente puro apresentaram respostas cromatográficas significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) para a maioria dos compostos. As análises foram realizadas nas concentrações de  $10$ ,  $30$  e  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ . A diferença estatística não foi confirmada na concentração de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  para o BBF; na concentração de  $30 \mu\text{g L}^{-1}$  para o BAA, CRI, BKF e BAP e na concentração de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  para o BAA, CRI e BKF.

Como pode ser observado na Figura 13, a presença dos componentes da matriz reduz a área cromatográfica dos HPAs com menor tempo de retenção, caracterizando um efeito de matriz negativo. Em contrapartida, os HPAs, que saem da coluna cromatográfica no final da análise, apresentam maior resposta cromatográfica, caracterizando um efeito de matriz positivo. Esses resultados mostram também que à medida que aumenta a concentração, a diferença entre as respostas cromatográficas dos 16 HPAs em solvente (acetonitrila) e em extrato da matriz vai diminuindo, revelando um menor efeito de matriz.

**Figura 13** – Valores de áreas obtidos nas análises por CG-EM para soluções padrão dos 16 HPAs preparadas em extrato da matriz e em acetonitrila.





**Fonte:** Elaborada pela autora.

O efeito de matriz também pode ser confirmado através dos dados da calibração obtidos a partir da regressão linear. Conforme pode ser verificado, os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) encontrados para as curvas preparadas em solvente puro foram menores (Tabela 9) se comparados com os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) das curvas preparadas em extrato da matriz (Tabela 5).

**Tabela 9** - Equações das curvas de calibração obtidas para os 16 HPAs em acetonitrila, na faixa de concentração entre 10 a 130  $\mu\text{g L}^{-1}$  e seus respectivos coeficientes de determinação ( $R^2$ )

HPAs	Dados da calibração	
	Equação	$R^2$
NAF	$Y=39,19x+2130$	0,721
ATI	$Y=40,94x+1555$	0,848
ACE	$Y=41,55x+2174$	0,732
FLE	$Y=39,33x-1944$	0,749
FET	$Y=48,71x+1917$	0,855
ANT	$Y=46,34x+1284$	0,894
FLT	$Y=58,74x+1682$	0,885
PER	$Y=56,89x+1641$	0,882
BAA	$Y=106,8x+1987$	0,924
CRI	$Y=55,15x+1198$	0,903
BBF	$Y=65,94x+1073$	0,932
BKF	$Y=17,82x+323,9$	0,924
BAP	$Y=21,59x+470,3$	0,843
IND	$Y=18,24x+486,1$	0,905
DBA	$Y=2,561x+117,1$	0,915
BPER	$Y=11,13x+292,3$	0,925

**Fonte:** Elaborada pela autora.

## 5.5 Aplicação em amostras reais

A amostra de lodo de esgoto analisada foi coletada no leito de secagem da estação de tratamento de esgoto da cidade de Juramento (MG, Brasil). Foram quantificados 9 HPAs, sendo eles o NAF ( $3,95 \text{ mg kg}^{-1}$ ), FET ( $1,64 \text{ mg kg}^{-1}$ ), FLT ( $1,93 \text{ mg kg}^{-1}$ ), BAA ( $1,01 \text{ mg kg}^{-1}$ ), CRI ( $1,63 \text{ mg kg}^{-1}$ ), BBF ( $1,29 \text{ mg kg}^{-1}$ ), BKF ( $1,66 \text{ mg kg}^{-1}$ ), IND ( $1,60 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e BPER ( $3,14 \text{ mg kg}^{-1}$ ). Esses valores estão acima dos limites aceitáveis de HPAs em solo, estabelecidos pela Resolução CONAMA nº 375 de 2006, e também acima da concentração máxima de HPAs em lodo, para utilização agrícola, determinada pela regulamentação da União Europeia.



Foi verificada também a presença do PER e BAP, porém não foi possível fazer a quantificação devido à falta de ajuste do modelo linear às respostas observadas para esses compostos.

A presença de HPAs no lodo de esgoto pode estar associada à deposição de partículas atmosféricas ou à contaminação dos efluentes que chegam até as ETEs. Nas ETEs, durante o tratamento das águas residuárias ocorre a remoção de grande parte dos HPAs presentes nos efluentes (até 90 %) e esse HPAs concentram-se no lodo, devido à baixa solubilidade em água e alta capacidade de adsorção em partículas sólidas.

Por essa razão, podem ser encontrados no lodo de esgoto em concentrações que variam de alguns microgramas até várias centenas de miligramas por quilo de matéria seca, dependendo da origem das águas residuais, bem como, do nível de mineralização da matéria orgânica (PENA *et al.*, 2010).

Dos HPAs quantificados, observa-se uma predominância dos HPAs de maior massa molar e isso pode estar relacionado ao fato de serem mais persistentes no meio e por serem menos solúveis em água, o que favorece a sua associação com as partículas (LEE *et al.*, 2001; PÉREZ *et al.*, 2001).

## 6 CONCLUSÃO

A técnica de ESL-PBT modificada foi validada para determinação de 16 HPAs em lodo de esgoto. A metodologia é eficiente com taxas de recuperação variando entre 37% (benzo[*k*]fluoranteno) a 129% (naftaleno) e desvio padrão relativo abaixo de 13% para a maioria dos HPAs. A seletividade atendeu aos critérios analíticos estabelecidos, exceto para o FET e PER. Os limites de quantificação obtidos foram menores do que os LMR recomendados pela Resolução Conama nº 375 de 2006 e pela regulamentação da União Europeia. A linearidade de resposta na faixa de concentração estudada foi confirmada, exceto para o PER e BAP. O efeito de matriz foi evidenciado nas análises, entretanto, verifica-se que em concentrações maiores a diferença na resposta cromatográfica dos 16 HPAs em solvente e em extrato de lodo de esgoto é menor.

O método proposto é rápido, de fácil execução e apresenta um gasto reduzido de solventes orgânicos e amostras. Conclui-se que o método validado é adequado para o monitoramento de HPAs em lodo de esgoto, com potencial utilização agrícola.

## REFERÊNCIAS

ALEXANDROV, K.; ROJAS, M.; SATARUG, S. The critical DNA damage by benzo(a)pyrene in lung tissues of smokers and approaches to preventing its formation. **Toxicology Letters**, v. 98, p. 63–68, 2010.

ALMEIDA, F. A.; CENTENO, A. J.; BISINOTI, M. C.; JARDIM, W. F. Substâncias tóxicas persistentes (STP) no Brasil. **Química Nova**, v. 30, p. 1976-1985, 2007.

ANDREOLI, C. V. **Resíduos sólidos no saneamento, processos de reciclagem e disposição final**. 1ª ed., Editora Rima: Rio de Janeiro, 2001.

ANDREOLI, C. V.; TAMANIN, C. R.; HOLSBACH, B.; PEGORINI, E. S.; NEVES, P. S. **Uso de lodo de esgoto na produção de substrato vegetal**. In: Biosólidos - alternativas de uso de resíduos do saneamento. Rio de Janeiro: Editora ABES, 2006.

ANGLIN, C.; MCKINLEY, W. P. Insecticide residues, procedure for cleanup of plant extracts prior to analyses for DDT and related pesticides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 8, n. 3, p. 186-189, 1960.

ANNABI, M.; LE BISSONNAIS, Y.; LE VILLIO-POITRENAUD, M.; HOUOT, S. Improvement of soil aggregate stability by repeated applications of organic amendments to a cultivated silty loam soil. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 144, p. 382–389, 2011.

APARICIO, I.; SANTOS, J. L.; ALONSO, E. Limitation of the concentration of organic pollutants in sewage sludge for agricultural purposes: A case study in South Spain. **Waste Management**, v. 29, p. 1747–1753, 2009.

BAEK, S. O.; FIELD, R. A.; GOLDSTONE, M. E.; KIRK, P. W.; LESTER, J. N.; PERRY, R. A review of atmospheric polycyclic aromatic-hydrocarbons - sources, fate and behavior. **Water Air and Soil Pollution**, v. 60, p. 279–300, 1991.

BARBOSA, E. S.; EVANGELISTA, G. F.; PIMENTA, E. M.; SILVERIO, F. O.; PINHO, G. P. Otimização e validação da extração sólido-líquido e purificação em baixa temperatura de HPAs em lodo de esgoto. **Química Nova**, v. 37, p. 404-410, 2014.

BATISTA, L. F. Lodos gerados nas estações de tratamento de esgotos no distrito federal: um estudo de sua aptidão para o condicionamento, utilização e disposição final. 2015. 214p. **Dissertação de Mestrado** – Universidade de Brasília, Brasília.

BETTIOL, W.; CAMARGO, O. A. **A disposição de lodo de esgoto em solo agrícola**. In: Lodo de esgoto: impactos ambientais na agricultura. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2006. 349p.

BLANKENHORN, I.; MEIJER, D.; DELFT, R. J. V. Inter-laboratory comparison of methods used for analysing polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil samples. **Analytical Chemistry**, v. 343, p. 497-504, 1992.

BODNAR, E.; POLYAK, K.; HLAVAY, J. Material transport between the atmosphere and sediment of the Lake Balaton. **Microchemical Journal**, v. 79, p. 221-230, 2005.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional de Meio Ambiente – CONAMA. Resolução n. 375, de 29 de Agosto de 2006. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res06/res37506.pdf>> Acesso em Fevereiro de 2014.

BRITO, E. M. S.; VIEIRA, E. D. R.; TORRES, J. P. M.; MALM, O. Persistent organic pollutants in two reservoirs along the Paraíba do sul-Guandu river system, Rio de Janeiro, Brazil. **Química Nova**, v. 28, p. 941-942, 2005.

CAI, Q. Y.; MO, C. H.; WU, Q. T.; ZENG, Q. Y.; KATSOYIANNIS, A. Occurrence of organic contaminants in sewage sludges from eleven wastewater treatment plants. **Chemosphere**, v. 68, p. 1751–1762, 2007.

CAO, X.; YANG, C.; PEI, H.; LI, X.; XU, X.; ITO, Y. Application of counter-current chromatography as a new pretreatment method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental water. **Journal of Separation Science**, v. 35, p. 596–601, 2012.

CAVALCANTE, R. M.; DE LIMA, D. M.; CORREIA, L. M.; NASCIMENTO, R. F.; SILVEIRA, E. R.; FREIRE, G. S. S.; VIANA, R. B. Técnicas de extrações e procedimentos de clean-up para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em sedimentos da costa do Ceará. **Química Nova**, v. 31, p. 1371-1377, 2008.

CHEN, L.; RAN, Y.; XING, B.; MAI, B.; HE, J.; WEI, X. Contents and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides in vegetable soils of Guangzhou, China. **Chemosphere**, v. 60, p. 879–890, 2005.

CIESLIK, B. M.; NAMIESNIK, J.; KONIECZKA, P. Review of sewage sludge management: standards, regulations and analytical methods. **Journal of Cleaner Production**, v. 90, p. 1-15, 2015.

CONCAWE. Polycyclic aromatic hydrocarbons in automotive exhaust emissions and fuels. report n. 98/55, 138p, Brussels, 1998.

CONNAY, A. H. Introduction of microsomal enzymes by foreign chemicals and carcinogenesis by polycyclic aromatic hydrocarbons: G. H. A. Clowes memorial lecture. **Cancer Research**, v. 42, p. 4875-4917, 1982.

COUNCIL OF THE EUROPEAN COMMUNITY (European Union - EU). **Working document on Sludge**, 3rd Draft, Brussels, p. 13, 2000.

CUKJATI, N.; ZUPANCIC, G. D.; ROS, M.; GRILC, V. Composting of anaerobic sludge: An economically feasible element of a sustainable sewage sludge management. **Journal of Environmental Management**, v. 106, p. 48-55, 2012.

DABESTANI, R.; IVANOVI, I. N. Invited Review a compilations of physical, spectroscopic and photophysical properties of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Photochemistry and Photobiology**, v. 70, p. 10-34, 1999.

EIROA, A. A.; LÓPEZ, M. P.; MUNIATEGUI, L. S.; PRADA, R. D.; FERNÁNDEZ, E. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in a complex mixture by second-derivative constant-energy synchronous spectrofluorimetry. **Talanta**, v. 51, p. 677-684, 2000.

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

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY – EPA. **Method 3630, Silica gel cleanup**. US, Washington, DC, 1996. Disponível em: <http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/pdfs/3630c.pdf>. Acesso em Junho de 2014.

ERNEY, D. R.; GILLESPIE, A. M.; GILVYDIS, D. M.; POOLE, C. F. Explanation of the matrix-induced chromatographic response enhancement of organophosphorus pesticides during open tubular column gas chromatography with spitless or hot on-column injection and flame photometric detection. **Journal of the Chromatography**, v. 638, p. 57-63, 1993.

FEDRIZZI, F. Aproveitamento do lodo de esgoto na produção de artefatos de concreto- tubo de concreto de seção circular. 2012. 205p. **Dissertação de Mestrado** - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

FERRIZZI, V. C. Caracterização de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) em rios da bacia hidrográfica do Turvo/Grande. 2011. 117p. **Dissertação de Mestrado** - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto.

FONTES, C. M. A. Potencialidades da cinza de lodo de estações de tratamento de esgotos como material suplementar para a produção de concretos com cimento portland. 2003. 143p. **Dissertação de Mestrado** - Universidade Federal do Rio De Janeiro, Rio de Janeiro.

GARBAN, B.; BLANCHOU, H.; MOTALAY-MASSEI, A.; CHEVREUIL, M.; OLLIVON, D. Atmospheric bulk deposition of PAHs onto France: trends from urban to remote sites. *Atmospheric Environment*, v. 36, p. 5395-5403, 2002.

GARP- Grupo de Analistas de Resíduos Pesticidas. **Manual de resíduos pesticidas em alimentos**. 1999.

GHISELLI, G; JARDIM, W. F. Interferentes Endócrinos no Ambiente. **Química Nova**, v. 30, p. 695-706, 2007.

GONZÁLEZ, A. G.; HERRADOR, M. Á. A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 3, p. 227-238, 2007.

GOULART, S. M. Extração de deltametrina e cipermetrina de leite e análise por cromatografia. 2004. 60p. **Dissertação de Mestrado** - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

GOULART, S. M.; QUEIROZ, M. E. L. R.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, J. H. Low-temperature clean-up for the determination of pyrethroids in Milk using gás chromatography with eletcron capture detection. **Talanta**, v.75, p. 1320-1323, 2008.

GOULART, S. M.; ALVES, R. D.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, J. H.; ASSIS, T. C.; QUEIROZ, M. E. L. Optimization and validation of liquid-liquid extraction with low temperature partitioning for determination of carbamates in water. **Analytica chimica acta**, v. 671, n. 1-2, p. 41-7, 2010.

GOULART, S.M.; ALVES, R.D.; PAULA, W. X.; QUEIROZ, J. H.; NEVES, A.A.; QUEIROZ, M.E.L.R. Determination of carbamates in beverages by liquid-liquid extraction with low temperature partitioning and liquid chromatography. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, p. 1154-1165, 2012.

Hajslová, J.; Zrostliková, J. Matrix effects in (ultra) trace analysis of pesticide residues in food biotic matrices, **Journal of Chromatography A**, v. 1000, p. 181-197, 2003.

HALL, M.; FORRESTER, L. M.; PARKER, D. K.; GROVER, P. L.; WOLF, C. R. Relative contribution of various forms of cytochrome P450 to the metabolism of benzo[a]pyrene by human liver microsomes. **Carcinogenesis**, v. 10, p. 1815-1821, 1989.

HONG, J.; XU, C.; HONG, J.; TAN, X.; CHEN, W. Life cycle assessment of sewage sludge co-incineration in a coal-based power station. **Waste Management**, v.33, p. 1843-1852, 2013.

ICH - International Conference on Harmonisation. Validation of Analytical Procedures: Methodology, Q2B (CPMP/ICH/281/95), 1995.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientação sobre Validação de métodos analíticos**. DOQ-CGCRE-008, revisão 3, 2010.

JIANG, Y. F.; WANG, X. T.; WU, M. H.; SHENG, G. Y.; FU, J. M. Contamination, source identification, and risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in agricultural soil of Shanghai, China. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 183, p. 139–50, 2011.

JORDÃO, E. P.; PESSÔA, C. A. **Tratamento de esgotos domésticos**. 4ª ed. Rio de Janeiro, 2005. 932p.

JUHLER, R. Optimized method for the determination of organophosphorus pesticides in meat and fatty matrices. **Journal of Chromatography A**, v. 786, n. 1, p. 145-153, 1997.

KHAN, S.; CAO, Q. Human health risk due to consumption of vegetables contaminated with carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons. **Journal of Soils and Sediments**, v. 12, p. 178–184, 2012.

LEE, S.C.; HO, K.F.; CHAN, L.Y.; ZIELINSKA, B.; CHOW, J., C. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and carbonyl compounds in urban atmosphere of Hong Kong. **Atmospheric Environment**, 2 v. 35, p. 5949 – 5960, 2001.

LEITE, F.; **Validação em Análise Química**, 4ª ed., Editora Átomo: Campinas, 2002.

LENTZA-RIZOS, C.; AVRAMIDES, E. J.; CHERASCO, F. Low-temperature clean-up method for the determination of organophosphorus insecticides in olive oil. **Journal of Chromatography A**, v. 912, n. 1, p. 135-142, 2001.

LI, K.; CHRISTENSEN, E. R.; VAN CAMP, R. P.; IMAMOGLU, I. PAHs in dated sediments of Ashtabula River, Ohio, USA. **Environmental Science & Technology**, v. 35, p. 2896-2902, 2001.

LIMA, F. M. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em material particulado atmosférico na região central de Niterói, RJ. 2006. 113p. **Dissertação de Mestrado** - Universidade Federal Fluminense, Niterói.

LUZ, L. P. Estudo da viabilidade de uso da técnica de cromatografia gasosa bidimensional abrangente (GCxGC) no estudo de hidrocarbonetos poliaromáticos (HPA) em sedimentos. 2010. 130p. **Tese de Doutorado** - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

MCCULLY, K. A.; MCKINLEY, W. P. Determination of chlorinated pesticide residues in fat by electron capture gas chromatography. **Journal of the Association of Official Agricultural Chemists**, v. 47, n. 4, p. 652-&, 1964.

MAILLER, R.; GASPERI, J.; CHEBBO, G.; ROCHER, V. Priority and emerging pollutants in sewage sludge and fate during sludge treatment. **Waste Management**, v. 34, p. 1217-1226, 2014.

MANOLI, E.; SAMARA, C. Occurrence and mass balance of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Thessaloniki sewage treatment plant. **Journal of Environmental Quality**. v. 28, p. 176–187, 1999.

MARSCHNER, P.; KANDELER, E.; MARSCHNER, B. Structure and function of the soil microbial community in a long-term fertilizer experiment. **Soil Biology Biochemistry**, v. 35, p. 453–461, 2003.

MARTINEZ, E.; GROS, M.; LACORTE, S.; BARCELÓ, D. J. Simplified procedures for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water, sediments and mussels. **Journal of Chromatography A**, v. 1047, p. 181-188, 2004.

MIRANDA, A. R. Caracterização do lodo da estação de tratamento de esgoto da cidade de Chapecó (SC) visando à reciclagem agrícola. 2010. 115p. **Dissertação de Mestrado** - Universidade Comunitária da região de Chapecó, Chapecó.

NETTO, A. D. P.; MOREIRA, J. C.; DIAS, A. E. X. O.; ARBILLA, G.; FERREIRA, L. F. V.; OLIVEIRA, A. S.; BAREK, J. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAS) e seus derivados nitrados (NHPAS): uma revisão metodológica. **Química Nova**, v. 23, p. 765-773, 2000.

OLMOS-ESPEJEL, J. J.; LLASERA, M. P. G.; VELASCO-CRUZ, M. Extraction and analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons and benzo[a]pyrene metabolites in microalgae cultures by off-line/online methodology based on matrix solid-phase dispersion, solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1262, p. 138-147, 2012.

PASSUELLO, A.; CADIACH, O.; PEREZ, Y.; SCHUHMACHER, M. A spatial multicriteria decision making tool to define the best agricultural areas for sewage sludge amendment. **Environment International**, v. 38, p. 1-9, 2010.

PASSUELLO, A.; CADIACH, O.; PEREZ, Y.; SCHUHMACHER, M. A spatial multicriteria decision making tool to define the best agricultural areas for sewage sludge amendment. **Environment International**, v. 38, p. 1-9, 2012.

PENA, M. T.; CASAIS, M. C.; MEJUTO, M. C.; CELA, R. Development of a matrix solid-phase dispersion method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludge samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 626, p. 155–165, 2008.



PENA, M. T.; CASAIS, M. C.; MEJUTO, M. C.; CELA, R. Development of a sample preparation procedure of sewage sludge samples for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons based on selective pressurized liquid extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, p. 425–435, 2010.

PENA-ABAURREA, M.; YE, F.; J. BLASCO, J.; RAMOS, L. Evaluation of comprehensive two-dimensional gas chromatography–time-of-flight-mass spectrometry for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments. **Journal of Chromatography A**, v. 1256, p. 222– 231, 2012.

PENG, C.; CHEN, W.; LIAO, X.; WANG, M.; OUYANG, Z.; JIAO, W. Polycyclic aromatic hydrocarbons in urban soils of Beijing: status, sources, distribution and potential risk. **Environmental Pollution**, v. 159, p. 802–808, 2011.

PEREIRA , A. D. N.; BARRETO, R. P.; MOREIRA, J. C.; ARBILLA, G. Polycyclic aromatic hydrocarbons in total suspended particulate of Niterói, RJ, Brazil: A comparison of summer and winter samples. **Bulletin Environmental Contamination and Toxicology**, v. 69, p. 173-180, 2002.

PÉREZ, S.; GUILLAMÓN, M.; BARCELÓ, D. Quantitative analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludge from wastewater treatment plants. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 938, p. 57-65, 2001.

PINHO, G. P. Extração de pesticidas em amostras de tomate pelas técnicas de: extração sólido-líquido e purificação em baixa temperatura (ESL-PBT) e dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) para análise em cromatografia gasosa. 2007. 98p. **Dissertação de Mestrado** – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

PINHO, G. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R.; SILVÉRIO, F. O. Pesticide determination in tomatoes by solid–liquid extraction with purification at low temperature and gas chromatography. **Food Chemistry**, v. 121, p. 251-256, 2010.

PINHO, G. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R.; SILVÉRIO, F. O.; MARTE, D. B. Influence of Tomato Components in the Quantification of Four Pesticides by Gas Chromatography. **Journal of the Brazilian Chemistry Society**, v. 23, p. 294-300, 2012.

PLAZA-BOLANOS, P.; GARRIDO-FRENICH, A.; MARTÍNEZ-VIDAL, J. L. Polycyclic aromatic hydrocarbons in food and beverages. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, p. 6303–6326, 2010.

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

QUEIROZ, S. C. N.; FERRACINI, V. L.; DE SOUZA, D. R. C. **Métodos de extração de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em amostra de solo, sedimento e lodo**. Documento 79, Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2009,15 p.

RHIND, S. M.; KYLE, C. E.; KERR, C.; OSPREY, M.; ZHANG, Z. L. Effect of duration of exposure to sewage sludge-treated pastures on liver tissue accumulation of persistent endocrine disrupting compounds (EDCs) in sheep. **Science of the Total Environment**, v. 409, p. 3850–3856, 2011.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, p. 771-780, 2004.

ROIG, N.; SIERRA, J.; MARTI, E.; NADAL, M.; SCHUHMACHER, M.; DOMINGO, J. L. Long-term amendment of Spanish soil with sewage sludge: effects on soil functioning. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.158, p. 41-48, 2012.

ROSE, N. L.; RIPPEY, B. The historical record of PAH, PCB, trace metal and fly-ash particle deposition at a remote lake in north-west Scotland. **Environmental Pollution**, v. 117, p. 121-132, 2002.

SÁNCHEZ-BRUNETE, C.; MIGUEL, E.; TADEO, J. L. Analysis of 27 polycyclic aromatic hydrocarbons by matrix solid-phase dispersion and isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry in sewage sludge from the Spanish area of Madrid. **Journal of Chromatography A**, v. 1148, p. 219-227, 2007.

SHABIR, G. A. Validation of high-performance liquid chromatography methods for pharmaceutical analysis Understanding the differences and similarities between validation requirements of the US Food and Drug Administration, the US Pharmacopeia and the International Conference on Harmonization. **Journal of Chromatography A**, v. 987, p. 57–66, 2003.

SIMCIK, M. F.; FRANZ, T. P.; ZHANG, H.; EISENREICH, S. J. Gas-particle partitioning of PCBs and PAHs in the Chicago urban and adjacent coastal atmosphere: states of equilibrium. **Environmental science & technology**, v. 32, p. 251-257, 1998.

SMITH, S. R. A critical review of the bioavailability and impacts of heavy metals in municipal solid waste composts compared to sewage sludge. **Environment International**, v. 35, p. 142–156, 2009.

SONG, Y. F.; JING, X.; S. FLEISCHMANN, S.; WILKE, B., M. Comparative study of extraction methods for the determination of PAHs from contaminated soils and sediments. **Chemosphere**, v. 48, p. 993–1001, 2002.

SOUZA, S. V. C.; PINTO, C. T.; JUNQUEIRA, R. G. In-house method validation: Application in arsenic analysis. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, n. 3, p. 241-247, 2007.

SUN, P.; WEAVERS, K. L.; TAERAKUL, P.; WALKER, H. W. Characterization of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons on Lime Spray Dryer (LSD) Ash Using Different Extraction Methods. **Chemosphere**, v. 62, p. 265-274, 2006.

SUTHAR, S. Pilot-scale vermireactors for sewage sludge stabilization and metal remediation process: Comparison with small-scale vermireactors. **Ecological Engineering**, v. 36, p. 703-712, 2010.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, p. 835-855, 2002.

TOBISZEWSKI, M.; NAMIEŚNIK, J. PAH diagnostic ratios for the identification of pollution emission sources. **Environmental Pollution**, v. 162, p. 110-119, 2012.

TSUTIYA, M. T. **Características de biossólidos gerados em estações de tratamento de esgoto**. In: Biossólidos na Agricultura. São Paulo: SABESP, 2001. p. 89- 131.

USPC. United States Pharmacopeia Convention; **US Pharmacopeia 24**, Validation of Compendial Methods <1225>, Rockville, 1999.

VAN HAANDEL, A. C.; ALEM SOBRINHO, P. **Produção, composição e constituição de esgoto**. In: Biossólidos – Alternativas de Uso de Resíduos de Saneamento. Rio de Janeiro: Editora ABES, 2006. 417p.

VESSMAN, J.; STEFAN, R. I.; STADEN, J. F. V.; DANZER, K.; LINDNER, W.; BURNS, D. T.; FAJGELJ, A.; MÜLLER, H. Selectivity in analytical chemistry. **Pure and Applied Chemistry**, v. 73, p. 1381-1386, 2001.

VIEIRA, H. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. Otimização da técnica de extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura (ELL-PBT) para piretróides em água e análise por CG, **Química Nova**, v. 30, p. 535-540, 2007.

VINÃS, L.; FRANCO, J. A.; GONZÁLEZ, J. J. Polycyclic aromatic hydrocarbon composition of sediments in the Ría de Vigo (NW Spain). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 57, p. 42-49, 2009.

VON SPERLING, M. **Lodo de esgoto: tratamento e disposição final**. Belo Horizonte: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental – UFMG; Companhia de Saneamento do Paraná, 2001. 484p.

WANG, Y.; TIAN, Z.; ZHU, H.; CHENG, Z.; KANG, M.; LUO, C.; JUN LI, J.; ZHANG, G. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils and vegetation near an e-waste recycling site in South China: Concentration, distribution, source, and risk assessment. **Science of the Total Environment**, v. 439, p. 187–193, 2012.

WEF – Water Environmental Federation (1995). **Waste water residuals stabilization – manual of practice FD-9**. Alexandria, USA, 244p.

WERLE, S.; DUDZIAK, M. Analysis of organic and inorganic contaminants in dried sewage sludge and by-products of dried sewage sludge gasification. **Energies**, v.7, p. 462-476, 2014.

YAMADA, T. M. Determinação de fontes de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e alifáticos em sedimentos de ambientes aquáticos. 2006. 101p. **Dissertação de Mestrado** - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

YIN, C. Q.; JIANG, X.; YANG, X. L.; BIAN, Y. R.; WANG, F. Polycyclic aromatic hydrocarbons in soils in the vicinity of Nanjing, China. **Chemosphere**, v. 73, p. 389–394, 2008.

YUNKER, M. B.; MACDONALD, R. W.; VINGARZAN, R.; MITCHELL, H.; GOYETTE, D.; SYLVESTRE, S. PAHs in the Fraser river basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Organic Geochemistry*, v. 33, p. 489-515, 2002.

ZANDER, M. Polycyclic aromatic and heteroaromatic hydrocarbons. **The Handbook of Environmental Chemistry**, v.3, p.109-131, 1980.

ZEITOUNI, R. F. Análise crítica da norma CETESB P 4.230. Aplicação de lodos de sistemas de tratamento biológico em áreas agrícolas- Critérios para projeto e operação. 2005. 267f. **Dissertação de Mestrado** - Instituto Agrônômico de Campinas, Campinas.