### 7 Aplicação das metodologias

Um dos mais relevantes problemas em química analítica é a estimativa da concentração das espécies em misturas através das características espectrais dos componentes (SCARMINIO *et al.*, 1998). Na busca de soluções, vários métodos analíticos têm sido descritos para análise de misturas, incluindo os que utilizam prévia separação físico-química de componentes e os que não se baseiam na separação e sim na utilização de artifícios experimentais e instrumentais para seleção de condições para determinação seletiva, além de várias combinações de técnicas (VIDOTTI; ROLLEMBERG, 2006).

Um exemplo de recurso instrumental que pode ser utilizado para viabilizar a determinação seletiva de componentes em misturas por fosforimetria é a varredura sincronizada derivativa. A derivação dos espectros permite separar sinais sobrepostos e eliminar o sinal de fundo causado pela presença de outras espécies na amostra, tornando-se desnecessária uma etapa preliminar de separação das espécies a serem determinadas, simplificando o procedimento analítico e aumentando a velocidade da análise.

As técnicas derivativas consistem na representação da razão da variação do sinal analítico (fosforescência no caso desse trabalho) com o comprimento de onda, em função do comprimento de onda. A diferenciação da lei de Beer-Lambert ( $d^{n}Ip/d\lambda^{n}=c.b.(d^{n}\varepsilon/d\lambda^{n})$ ) mostra que as derivadas são sempre proporcionais às concentrações do analito, sendo as aplicações analíticas baseadas nesta relação (VIDOTTI; ROLLEMBERG, 2006).

Por outro lado, uma série de técnicas estatísticas tem sido utilizadas para se desenvolver metodologias multivariadas e para extrair informações dos espectros com o objetivo de identificar as espécies presentes e determinar quantitativamente as concentrações de algumas ou todas elas sem a necessidade de recursos adicionais (separação ou eliminação de sinal de um dos componentes) (SCARMINIO *et al.*, 1998).

Vários métodos multivariados têm sido aplicados e, dentro destes, a regressão nas componentes principais e métodos similares têm sido usados com maior freqüência (SCARMINIO *et al.*, 1998). Como já comentado, a análise de componentes principais é uma metodologia baseada na decomposição de um

conjunto de dados em autovalores e autovetores, observando-se apenas que os espectros das misturas sejam uma combinação linear dos espectros das espécies, ponderados por suas concentrações (a Lei de Beer ou alguma expressão semelhante deve ser obedecida).

Nesse capítulo pretende-se descrever a aplicação da fosforimetria para determinar seqüencialmente e/ou simultaneamente os analitos de interesse em uma matriz simulada (iso-octano), em uma matriz de derivado de petróleo (gasolina) e em uma matriz ambiental (sedimento), utilizando as características fosforescentes dos compostos estudados aliada a métodos de derivação espectral e métodos mutivariados.

Para alcançarmos os objetivos traçados, três abordagens analíticas foram propostas para a determinação de um analito específico na presença de outros que, neste caso, podem atuar como interferentes:

- a) Determinação seqüencial através da seleção de condições experimentais e instrumentais específicas e particulares ao analito de interesse;
- b) Determinação simultânea através da aplicação de arranjos instrumentais tais como a varredura sincronizada e a aplicação de técnica derivativa (SDP);
- c) Determinação simultânea através de regressão nas componentes principais (PCR).

Naturalmente, vale ressaltar que nem sempre todas as abordagens podem ser empregadas. Cada caso merece um estudo prévio detalhado em que se considere o tipo de problema analítico que se pretende resolver. Desta forma, a primeira abordagem (a) é capaz de permitir a determinação de um único analito na presença dos demais (interferentes) desde que exista uma condição capaz de induzir fosforescência apenas no analito de interesse. Esta condição deverá, portanto, ser específica e garantir um espectro livre de sobreposições de bandas espectrais. Para tal, conta-se com o banco de dados gerado nos estudos anteriores das características fosforescentes dos analitos de interesse.

Não existindo esta condição específica (isto é, existindo interferência espectral), pode-se, alternativamente, empregar a fosforimetria sincronizada derivativa e/ou a regressão nas componentes principais. Para tal, será necessário empregar uma condição experimental que garanta a emissão

fosforescente de todos os analitos presentes na mistura (condição de compromisso).

Segundo SCARMINIO e colaboradores (1998), mistura é o termo usado para definir uma formulação ou composição, onde se admite que a medição da resposta é uma função das proporções das espécies e não uma função da quantidade total da mistura. A soma das composições percentuais de todas as espécies presentes numa mistura é unitária, podendo ser representada pela Equação 9.

Equação 9

$$\sum_{i=1}^{q} = 1, \quad 0 \le c_i \le 1,$$

onde c<sub>i</sub> é a fração da i-ésima espécie na mistura de q espécies. Estas frações podem ser expressas como a fração em quantidade de matéria, fração em massa ou em volume, ou mesmo em termos de percentagem em massa ou em volume.

Muitos problemas de interesse químico podem produzir um conjunto de dados consistindo essencialmente em proporções. Este tipo de dados ocorre quando os dados originais são normalizados de alguma maneira que torne a soma sempre uma constante. Se os valores das respostas das q espécies puras são conhecidos e como a soma de todas as frações é constante, somente as concentrações de q-1 espécies podem ser independentes, sendo a outra uma variável dependente (SCARMINIO *et al.*, 1998).

#### 7.1

# Determinação de DBT, BNT, BTF, CB, 78BQ, 79DMBA e DBA em amostras simuladas

O método de superposição de matriz consiste na adição do padrão da substância em diversas concentrações em uma matriz similar à da amostra, isenta da substância, e construção da curva analítica que relaciona as intensidades obtidas com as concentrações dos padrões. Este método é usado para compensar o efeito da matriz ou de possíveis interferentes e é de suma importância em determinações quando a matriz pode interferir na detecção da substância de interesse. Sua principal vantagem sobre o método de padronização externa é que fornece uma melhor correspondência com a composição da amostra.

Segundo RIBANI (2004), alguns autores acreditam que o efeito dos coextratos sobre a resposta da substância de interesse deveria ser avaliado pela comparação do método de superposição de matriz com a padronização externa (padrões preparados nos solventes). Apesar de se obter uma calibração confiável com o método de superposição da matriz, ele apenas compensa efeitos da matriz, mas não elimina situações analíticas típicas em que a intensidade de um efeito e a concentração de interferentes na matriz difere de uma matriz ou amostra para outra. Assim, em amostras nas quais pode ocorrer o efeito da matriz e não se tem disponível uma matriz isenta da substância de interesse para utilizar o método de superposição de matriz, deve-se utilizar o método de adição padrão (RIBANI, 2004). No entanto, o método de adição padrão não corrige interferências espectrais.

Inicialmente, um estudo foi conduzido no sentido de verificar a similaridade entre as curvas analíticas obtidas as soluções carreadoras de analito são etanol. iso-octano (aproximando-se da matriz gasolina do Tipo C) е diclorometano:etanol (sistema em que foi recuperado o sedimento certificado utilizado neste trabalho). Um teste de paralelismo usando o DBT indicou que não existe diferença significativa entre as inclinações das três retas construídas entre  $1,0x10^{-7}$  e  $1,0x10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>, em um nível de confiança de 95%. Tal comportamento já era esperado, pois em SSRTP as amostras são secas por duas horas sob vácuo, o que garante a completa eliminação do solvente da solução carreadora de analito.

Assim, os sistemas estudados consistiram de misturas ternárias contendo os CPA sulfurados (DBT, BNT e BTF), misturas quaternárias contendo os CPA nitrogenados (CB, 78BQ, 79DMBA e DBA) e uma mistura contendo todos os sete CPA. Todas as soluções carreadoras foram preparadas com iso-octano, conforme esquematizado na Figura 27. Nos estudos baseados na determinação seletiva com varredura normal e na derivação de ordem superior (b), misturas equimolares e misturas contendo os interferentes em concentração cinco vezes superior a do analito de interesse foram utilizadas (c).

Nos conjuntos de dados experimentais utilizados para a PCR (d), os espectros das espécies puras são conhecidos e os espectros das misturas foram obtidos como combinações lineares de diferentes proporções dos espectros puros, descritos na Tabela 15.

Todos os ensaios foram realizados em triplicatas autênticas. Os espectros das misturas e dos compostos puros foram registrados entre 200 e 700 nm, de acordo com a melhor condição experimental (seletiva ou de compromisso),

sempre que possível (d). Estas condições experimentais e instrumentais estão também detalhadas na Tabela 15.



Figura 27: Esquema proposto para a determinação dos sulfurados e dos nitrogenados nas misturas.

Das 12 propostas mostradas na Figura 27 (e), a que envolve a determinação de BTF em misturas dos três sulfurados pela simples manipulação das condições experimentais e instrumentais (III) não foi viável, já que esta condição específica, segundo os estudos realizados neste trabalho, não existe para este analito. Neste caso, todas as condições que permitem a indução de fosforescência do BTF também induzem fosforescência de um potencial interferente (DBT e/ou BNT).

Neste tipo de problema analítico fica claro, portanto, a importância da aplicação de técnicas derivativas ou multivariadas para determinação de analitos

que sofram interferência espectral sem que se empregue prévia separação do analito dos interferentes.

No caso dos compostos nitrogenados, misturas sintéticas contendo os quatro compostos de interesse podem ter os analitos discriminados desde que condições específicas sejam empregadas. Para todos os nitrogenados, o efeito externo do átomo pesado mostrou-se seletivo o suficiente para permitir a quantificação. Em alguns casos, esse efeito foi incrementado pelo uso de modificador de superfície (DBA) e pela aplicação de luz UV (79DMBA e DBA), reforçando o que já foi descrito sobre o grande potencial analítico e seletivo da técnica fosforimétrica.

Alternativamente, condições experimentais de compromisso permitiram a quantificação simultânea dos compostos sulfurados em misturas ternárias (VIII e X). Neste caso, tanto a fosforimetria sincronizada derivativa quanto a regressão dos componentes principais permitiram a obtenção de recuperações bastante satisfatórias.

Como pode ser verificado nos estudos e otimizações anteriores, não existe uma condição experimental de compromisso capaz de permitir a determinação simultânea de todos os analitos em misturas contendo os quatro nitrogenados (IX e XI). Neste caso, empregando-se TINO<sub>3</sub> é possível determinar apenas três dos compostos (CB, 78BQ e 79DMBA).

Da mesma forma, avaliando-se todas as condições experimentais exploradas neste trabalho na busca daquela que permita a indução de fosforescência nos sete analitos de interesse, verifica-se que esta condição de compromisso não existe. A condição que mais se aproxima da ideal (uso combinado de SDS e TINO<sub>3</sub>) permite a determinação simultânea de seis dos analitos de interesse (com exclusão da 79DMBA), o que sem o emprego de técnicas de separação, julgamos ser muito atrativo do ponto de vista analítico.

As Figuras 28, 29 e 30 mostram as sobreposições espectrais nos espectros puros e nas misturas, onde se pode observar que esta é quase total pela não especificidade do átomo pesado utilizado (condição de compromisso). Segundo SCARMINIO e colaboradores (1998), devido à sobreposição das bandas espectrais, seria impossível determinar a composição química destas misturas, sem utilizar métodos baseados em estatística multivariada. Entretanto, este trabalho não concorda com a afirmação dos autores e demonstra que com a utilização da fosforimetria derivativa sincronizada este tipo de problema analítico pode, em muitos casos, ser resolvido.



Figura 28: Espectros fosforescentes dos 3 sulfurados e da mistura dos 3 sulfurados (DBT, BNT e BTF 1,0 x  $10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) em iso-octano e na presença de 100 µg de SDS e 133 µg de TINO<sub>3</sub> (*smooth* de 10 pontos). Velocidade de varredura: 600 nm min<sup>-1</sup>. Bandas espectrais de passagem de excitação e emissão: 10 nm. Tempo de retardo do detector: 0,1 ms e tempo de abertura do detector: 9 ms.



Figura 29: Espectros fosforescentes dos 3 nitrogenados e da mistura dos 3 nitrogenados (CB, 78BQ e 79DMBA 1,0 x  $10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) em iso-octano e na presença de 133 µg de TINO<sub>3</sub> (*smooth* de 10 pontos). Velocidade de varredura: 600 nm min<sup>-1</sup>. Bandas espectrais de passagem de excitação e emissão: 10 nm. Tempo de retardo do detector: 0,1 ms e tempo de abertura do detector: 9 ms.



Figura 30: Espectro fosforescente da mistura dos 6 compostos (DBT, BNT, BTF, CB, 78BQ e DBA) nas proporções de 10, 30, 20, 20, 10 e 10%, respectivamente, em isooctano e na presença de 100  $\mu$ g de SDS 0,07 mol L<sup>-1</sup> e 133  $\mu$ g de TINO<sub>3</sub> (*smooth* de 10 pontos). Velocidade de varredura: 600 nm min<sup>-1</sup>. Bandas espectrais de passagem de excitação e emissão: 10 nm. Tempo de retardo do detector: 0,1 ms e tempo de abertura do detector: 9 ms.

Segundo RIBANI (2004), a recuperação é definida como a proporção da quantidade da substância de interesse, presente ou adicionada na porção analítica do material teste, que é extraída e passível de ser quantificada. A informação de recuperação pode ser estimada a partir de materiais de referência certificados em que a quantidade de substância é previamente conhecida, quando disponíveis, ou de um composto substituto. Neste caso, o substituto é definido como um composto ou elemento puro adicionado ao material teste, no qual o comportamento químico e físico é representativo da substância de interesse na forma nativa (RIBANI, 2004). Segundo o autor, este é um substituto porque é transferido para a amostra e pode não estar efetivamente no mesmo equilíbrio que se encontra a substância na forma nativa. Esta adição pode se dar pela incorporação do padrão da substância adicionado à matriz isenta da substância ou à amostra, em um procedimento conhecido como fortificação, incorporação, dopagem ou enriquecimento (*spiking*).

A limitação do procedimento de recuperação é a de que a substância adicionada não está, necessariamente, na mesma forma que a presente na amostra. Além disso, pelo fato de outros componentes da matriz poderem interferir na separação, detecção ou na quantificação da substância, efeitos de matriz devem ser investigados. Adicionalmente, é importante considerar como a eficiência do método varia em função da concentração da substância. Na maioria dos casos, a dispersão dos resultados aumenta com a diminuição da concentração e, segundo RIBANI (2004), a recuperação pode diferir quando se variam as concentrações. Isto fica claro pela visualização das hipérboles que representam os limites de confiança (95%) das curvas analíticas traçadas, cujas extremidades são mais amplas.

As medições de recuperação são as mais comuns devido à dificuldade em se obterem materiais de referência certificados (que, para as aplicações em gasolina propostas neste trabalho, não existem) e são expressas em termos de porcentagem da quantidade medida da substância em relação à quantidade adicionada na matriz (branco), em um determinado número de ensaios.

Para a determinação dos sulfurados e dos nitrogenados através da abordagem seqüencial (propostas I a VII da Figura 27), foram construídas seis curvas analíticas independentes na condição ótima e específica para um dado analito (Figura 31). Neste caso, os demais componentes da mistura foram tomados como interferentes, sempre em concentrações equimolares ou cinco vezes superior, conforme detalhado na Tabela 15.



5000

4000

3000

1000

0

7000

6000

5000

4000

)00

)00

)00

0

)00

)

10000

5000

0

<u>d</u>

PUC-Rio - Certificação Digital Nº 0310275/CA

<u>a</u> 2000

0,0000 0,0001 0,0002 0,0003 0,0004 0,0005 [79DMBA] / (mol L<sup>-1</sup>) [DBA] / (mol L<sup>-1</sup>)

Figura 31: Regressão linear (curvas analíticas) para o DBT, BNT, CB, 78BQ, 79DMBA e DBA obtidas em iso-octano nas condições otimizadas. As linhas curvas são as hipérboles que definem os intervalos de confiança (95%) da reta de regressão. O intervalo de confiança para a concentração estimada a partir de um sinal observado Ip, pode ser obtido no eixo x.

135

A Tabela 15 mostra a composição original das misturas e as recuperações obtidas, bem como os desvios-padrão das medições, a partir das propostas esquematizadas na Figura 27 para a determinação seqüencial.

Tabela 15: Recuperações obtidas para a análise seqüencial em misturas sintéticas contendo (A) os CPA's sulfurados e (B) os CPA's nitrogenados (preparadas em iso-octano).

Α	Esperado (mol L <sup>-1</sup> ) Predito (mol L <sup>-1</sup> )					Recuperação (%)		
	DBT	BNT	BTF		DBT <sup>a</sup>	BNT <sup>b</sup>	BTF <sup>c</sup>	
	1,0.10 <sup>-5</sup>	1,0.10 <sup>-5</sup>	1,0.10 <sup>-5</sup>		1,12.10 <sup>-5</sup>	1,07.10 <sup>-5</sup>		112, 107
	1,0.10 <sup>-5</sup>	5,0.10 <sup>-5</sup>	5,0.10 <sup>-5</sup>		9,7.10 <sup>-6</sup>			97
	5,0.10 <sup>-5</sup>	1,0.10 <sup>-5</sup>	5,0.10 <sup>-5</sup>			1,02.10 <sup>-5</sup>		102
	5,0.10 <sup>-5</sup>	5,0.10 <sup>-5</sup>	1,0.10 <sup>-5</sup>					
В	Esperado (mol L <sup>-1</sup> )				Predito (mol L <sup>-1</sup> )			Recuperação (%)
СВ	78BQ	79DMBA	DBA	CB <sup>d</sup>	78BQ <sup>e</sup>	79DMBA <sup>†</sup>	DBA <sup>g</sup>	
1,0.10 <sup>-5</sup>	1,0.10 <sup>-5</sup>	1,0.10 <sup>-5</sup>	1,0.10 <sup>-5</sup>	1,03.10 <sup>-5</sup>	1,05.10 <sup>-5</sup>	1,01.10 <sup>-5</sup>	9,8.10 <sup>-6</sup>	103, 105, 101, 98
1,0.10 <sup>-5</sup>	5,0.10 <sup>-5</sup>	5,0.10 <sup>-5</sup>	5,0.10 <sup>-5</sup>	9,6.10 <sup>-6</sup>				96
5,0.10 <sup>-5</sup>	1,0.10 <sup>-5</sup>	5,0.10 <sup>-5</sup>	5,0.10 <sup>-5</sup>		1,03.10 <sup>-5</sup>			103
5,0.10 <sup>-5</sup>	5,0.10 <sup>-5</sup>	1,0.10 <sup>-5</sup>	5,0.10 <sup>-5</sup>			1,03.10 <sup>-5</sup>		103
5,0.10 <sup>-5</sup>	5,0.10 <sup>-5</sup>	5,0.10 <sup>-5</sup>	1,0.10 <sup>-5</sup>				9,5.10 <sup>-6</sup>	95

condições experimentais seletivas: <sup>a</sup> 829 µg de KI e solução vetora de etanol/NaOH

	mol	1 1.	
0,5	mor	с,	

<sup>b</sup> 425  $\mu$ g de AgNO<sub>3</sub> ;

<sup>c</sup> esta condição não existe;

- <sup>d</sup> 829 µg de KI ;
- <sup>e</sup> 271 µg de Hg<sub>2</sub>CL<sub>2</sub>;

<sup>f</sup> 133  $\mu$ g de TINO<sub>3</sub> e 30 min de irradiação com UV;

 $^{g}$  829 µg de KI, 100 µg de SDS e 30 min de irradiação com UV.

Outras condições: Velocidade de varredura: 600 nm min<sup>-1</sup>. Bandas espectrais de passagem de excitação e emissão: 10 nm. Tempo de retardo do detector: 0,1 ms e tempo de abertura do detector: 9 ms.

Para a determinação dos sulfurados e dos nitrogenados através da abordagem simultânea (propostas VIII e IX da Figura 27), foram construídas curvas analíticas independentes (uma para cada composto, nas condições de compromisso) baseadas nas derivadas de segunda ordem dos espectros obtidos com a varredura sincronizada dos monocromadores.

Os espectros fosforescentes das misturas propostas traçados nas condições de compromisso apresentam sobreposição de bandas, não permitindo a discriminação dos componentes individuais da mistura. Entretanto, a varredura sincronizada, que varia simultaneamente ambos os monocromadores de excitação e de emissão, mantendo uma diferença constante de comprimento de onda ( $\Delta\lambda = \lambda_{em} - \lambda_{ex}$ ), coincidente com a diferença entre os máximos de excitação

e de emissão do analito de interesse minimizou o sinal dos concomitantes, que não possuem o mesma diferença entre os comprimentos máximos de excitação e de emissão ( $\Delta\lambda$ ) do analito de interesse. Neste caso, esta abordagem explorou a especificidade das diferenças de energia entre as bandas de emissão fosforescente (T<sub>1</sub>  $\rightarrow$  S<sub>0</sub>) e as bandas de absorção (S<sub>1</sub>  $\leftarrow$  S<sub>0</sub> ou S<sub>n</sub>  $\leftarrow$  S<sub>0</sub>).

Adicionalmente, a técnica da 2<sup>a</sup> derivada (d<sup>2</sup>) foi usada para aumentar a seletividade das análises de modo a separar espacialmente os sinais fosforescentes dos analitos cujas bandas não são coincidentes, mas se sobrepõem significantemente. Os sinais d<sup>2</sup> foram obtidos e mostraram-se eficientes por amplificar as intensidades de sinal originais (sincronizadas) e por reduzir a largura das bandas espectrais, permitindo a visualização de um espectro diferenciado mais rico em detalhes.

O  $\Delta\lambda$  ótimo foi obtido traçando-se vários espectros sincronizados e pôdese observar que uma condição de compromisso entre máxima intensidade de emissão fosforescente, largura da banda e separação entre as bandas espectrais existe quando  $\Delta\lambda$  = 200 nm para os sulfurados e  $\Delta\lambda$  = 250 nm para os nitrogenados. Nestes  $\Delta\lambda$ , a sobreposição espectral das bandas ainda impede a discriminação e a quantificação das espécies.

Os espectros sincronizados e os sincronizados derivados (2ª ordem) para os três sulfurados são mostrados na Figura 32, onde se pode identificar pontos iso-diferenciais a 303 nm (DBT), 313 nm (BNT) e 233 nm (BTF). Para a mistura dos três nitrogenados (não existe condição de compromisso para induzir a fosforescência nos quatro nitrogenados), 133 µg de TINO<sub>3</sub> foi usado como sal de átomo pesado e, da mesma forma, os espectros sincronizados derivados (2ª ordem) permitiram identificar pontos iso-diferenciais (Figura 33) a 290 nm (CB), 300 nm (78BQ) e 327 nm (79DMBA). Estes pontos são de interesse analítico porque a contribuição da amplitude da derivada de dois dos analitos é zero com relação ao terceiro, o que faz com que, nas misturas, medições feitas a partir destes pontos sejam independentes da concentração das espécies que possuem contribuição zero.

137



Figura 32: (A) Espectros fosforescentes sincronizados ( $\Delta\lambda = 200 \text{ nm}$ ) do DBT (46 µg), do BNT (58 µg) e do BTF (33 µg) usando solução vetora de iso-octano em substrato contendo 100 µg SDS e 133 µg de TINO<sub>3</sub> (*smooth* de 10 pontos) e (B) derivadas de 2<sup>a</sup> ordem dos espectros mostrados em A. Velocidade de varredura: 600 nm min<sup>-1</sup>. Bandas espectrais de passagem de excitação e emissão: 10 nm. Tempo de retardo do detector: 0,1 ms e tempo de abertura do detector: 9 ms.



Figura 33: Derivadas de 2<sup>a</sup> ordem dos espectros fosforescentes sincronizados ( $\Delta\lambda = 250$  nm) do CB (8,4 ng), da 78BQ (9,0 ng) e da 79DMBA (12,8 ng) usando solução vetora de iso-octano e na presença de 133 µg de TINO<sub>3</sub>. Velocidade de varredura: 600 nm min<sup>-1</sup>. Bandas espectrais de passagem de excitação e emissão: 10 nm. Tempo de retardo do detector: 0,1 ms e tempo de abertura do detector: 9 ms.

Assim, assumindo-se que a Lei de Beer é obedecida no intervalo de massas de analitos representadas pelas concentrações dos 5  $\mu$ L das soluções dos analitos estudadas (1,0x10<sup>-7</sup> a 5,0x10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup>) e que a derivada da banda espectral da mistura é a soma das derivadas das bandas individuais dos compostos, foram construídas curvas analíticas sincronizadas e derivadas baseadas nos pontos iso-diferenciais previamente identificados.

A intensidade da fosforescência é dada pela Equação 10

Equação 10 
$$I_P = 2, 3\phi_P I_0 \varepsilon bc$$

Onde  $I_p$  é a intensidade de fosforescência,  $\phi_p$  é a eficiência quântica fosforescente característica do analito,  $I_0$  é a intensidade da radiação incidente,  $\varepsilon$  é a absortividade molar característico do analito, *b* é o caminho óptico e *c* é a concentração em mol L<sup>-1</sup>, sendo a expressão válida se  $\varepsilon bc < 0,01$ .

A derivada de segunda ordem da Equação 10 fornece a expresão mostrada na Equação 11:

Equação 11 
$$d^2 I_P / d\lambda^2 = 2,30 \phi_P I_0 bc d^2 \varepsilon / d\lambda^2$$
 ou  $k \phi_P c d^2 \varepsilon / d\lambda^2$ 

Para uma mistura de três componentes no primeiro ponto iso-diferencial  $(\lambda_{1 iso})$  temos que (Equação 12):

Equação 12 
$$d^{2}I_{P}/d\lambda_{1}^{2} = k\phi_{P1}cd^{2}\varepsilon/d\lambda_{1}^{2} + k\phi_{P2}cd^{2}\varepsilon/d\lambda_{1}^{2} + k\phi_{P3}cd^{2}\varepsilon/d\lambda_{1}^{2}$$

no segundo ponto iso-diferencial ( $\lambda_{2 iso}$ ) temos (Equação 13):

Equação 13 
$$d^2 I_P / d\lambda_2^2 = k \phi_{P1} c d^2 \varepsilon / d\lambda_2^2 + k \phi_{P2} c d^2 \varepsilon / d\lambda_2^2 + k \phi_{P3} c d^2 \varepsilon / d\lambda_2^2$$

e, finalmente, no terceiro ponto iso-diferencial ( $\lambda_{3 iso}$ ) temos (Equação 14):

Equação 14 
$$d^2 I_P / d\lambda_3^2 = k \phi_{P1} c d^2 \varepsilon / d\lambda_3^2 + k \phi_{P2} c d^2 \varepsilon / d\lambda_3^2 + k \phi_{P3} c d^2 \varepsilon / d\lambda_3^2$$

Quando  $d^2 \varepsilon / d\lambda_2^2 = 0$  e  $d^2 \varepsilon / d\lambda_3^2 = 0$  (ou iguais a um valor constante), a contribuição dos componentes 2 e 3 neste ponto (amplitude do componente 1) é zero e, neste caso, o componente 1 pode ser mensurado livre de interferências. O mesmo se aplica ao componente 2 quando  $d^2 \varepsilon / d\lambda_1^2 = 0$  e  $d^2 \varepsilon / d\lambda_3^2 = 0$  e ao componente 3 quando  $d^2 \varepsilon / d\lambda_2^2 = 0$  e  $d^2 \varepsilon / d\lambda_1^2 = 0$ .

Mesmo sendo a SSRTP uma técnica que usa meio sólido ao invés de soluções transparentes, esse raciocínio é válido, pois nesse caso, a intensidade fosforescente, dentro da faixa de obediência da lei de Beer,  $I_p = Kc$ , onde K é a constante de proporcionalidade que inclui fatores como absortividade do analito no substrato e fatores de espalhamento de luz. Após construídas as curvas analíticas, as relações entre  $d^2 I_p / d\lambda^2$  e a concentração dos sulfurados obtidas nos pontos iso-diferenciais que permitiram a quantificação dos analitos em misturas ternárias equimolares e em misturas ternárias contendo dois dos componentes em concentrações cinco vezes acima da do analito de interesse foram:

$$d^{2}I_{P}/d\lambda^{2} = 1,0.10^{6}[DBT] - 7,02$$
 (R<sup>2</sup>=0,9969)



A partir dos resultados obtidos na determinação dos sulfurados em misturas sintéticas (Tabela 16), pode-se verificar que a metodologia fosforimétrica sincronizada combinada com o recurso da derivatização de ordem superior fornece bons resultados de recuperação.

Tabela 16: Recuperações obtidas para a análise simultânea dos sulfurados e dos nitrogenados em misturas sintéticas (iso-octano).

Esperado (mol L <sup>-1</sup> )				Predito (mol L <sup>-1</sup> )				Rocuporação (%)			
DBT		BNT BTF		BTF	DBT <sup>a</sup>		BN	IT <sup>a</sup>		BTF <sup>a</sup>	Recuperação (78)
1,0.10 <sup>-5</sup>	1	,0.10 <sup>-5</sup>		1,0.10 <sup>-5</sup>	1,15.10 <sup>-5</sup>		9,7.	.10 <sup>-6</sup> 9,6		9,6.10 <sup>-6</sup>	115, 97, 96
1,0.10 <sup>-5</sup>	Ę	5,0.10 <sup>-5</sup>		5,0.10 <sup>-5</sup>	1,16.10 <sup>-6</sup>						116
5,0.10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-5</sup> 1,0.10 <sup>-5</sup>			5,0.10 <sup>-5</sup>			1,08	.10 <sup>-5</sup>			108
5,0.10 <sup>-5</sup>	5	,0.10 <sup>-5</sup>	1,0.10 <sup>-5</sup>					9,2.10 <sup>-6</sup>		92	
Esperado (mol L <sup>-1</sup> )				Predito (mol L <sup>-1</sup> )					Recuperação (%)		
СВ	78BQ	79DM	BA	DBA	СВ <sup>b</sup>	7	'8BQ <sup>b</sup>	79DM	ЗА <sup>b</sup>	DBA <sup>c</sup>	······································
1,0.10 <sup>-5</sup>	1,0.10	1,0.1	0-5	1,0.10 <sup>-5</sup>	1,10.10 <sup>-5</sup>	1,	13.10 <sup>-5</sup>	1,13.1	0-5		110, 113, 113
1,0.10 <sup>-5</sup>	5,0.10-	5,0.1	0-5	5,0.10 <sup>-5</sup>	1,16.10 <sup>-5</sup>						116
5,0.10 <sup>-5</sup>	1,0.10-	5,0.1	0 <sup>-5</sup>	5,0.10 <sup>-5</sup>		1,	33.10 <sup>-5</sup>				133
5,0.10 <sup>-5</sup>	5,0.10-	1,0.1	0 <sup>-5</sup>	5,0.10 <sup>-5</sup>				1,19.1	0 <sup>-5</sup>		119

condições experimentais de compromisso: <sup>a</sup> 133 µg de TINO<sub>3</sub> e 100 µg de SDS <sup>b</sup> 133 µg de TINO<sub>3</sub>; <sup>c</sup> a DBA não pode ser determinada nesta condição de compromisso (b). Outras condições: Velocidade de varredura: 600 nm min<sup>-1</sup>. Bandas espectrais de passagem de excitação e emissão: 10 nm. Tempo de retardo do detector: 0,1 ms e tempo de abertura do detector: 9 ms.

Como as condições experimentais e instrumentais são diferentes daquelas obtidas como ótimas para cada analito individualmente, a partir das curvas analíticas usadas nas determinações mostradas na Tabela 16, pode-se verificar os limites de detecção absolutos para os CPA nessas novas condições (Tabela 17).

Analito	LDA	LQA	Faixa de aplicação (ng)
DBT	550 pg	2,5 ng	0,55 a 460
BNT	740 pg	2,7 ng	0,74 a 586
BTF	110 pg	1,0 ng	0,11 a 33
CB	78 pg	0,4 ng	0,08 a 418
BQ	310 pg	0,9 ng	0,31 a 448
79DMBA	350 pg	0,7 ng	0,35 a 643
DBA	25 pg	12,0 pg	0,02 a 703

Tabela 17: Limites de detecção absolutos para os CPA's utilizando as condições experimentais e instrumentais para determinação usando fosforimetria sincronizada e derivada de 2ª ordem.

Para a determinação dos compostos pela regressão nas componentes principais (propostas X, XI e XII da Figura 27), foi construído um modelo de calibração a partir de um conjunto de amostras com os analitos em proporções que variaram entre 10 e 100% (Tabela 18) que forneceram os espectros que constituíram as matrizes de dados.

A etapa de construção do modelo de calibração começa com a seleção de um conjunto de amostras cuidadosamente escolhidas para que sejam representativas de toda a região a ser modelada. Estas serão os padrões (conjunto de calibração) utilizados na construção de um modelo apropriado para relacionar as respostas instrumentais com a concentração, conforme mostrado na Equação 15.

Equação 15

$$y = X \beta$$

onde  $\beta$  é o vetor de regressão, que se deseja calcular.

Tabela 18: Planejamento dos experimentos para a análise pela regressão dos componentes principais (PCR). A Tabela mostra as diferentes proporções (%) dos analitos nas misturas. A concentração final é, em todos os casos, igual a 5,0x10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>.

BNT     BTF     DBT       1     100     0     0       2     0     100     0       3     0     0     100       4     75     25     0       5     0     25     75       6     10     30     60       DBT+BNT+BTF     7     15     35     50       8     50     35     15       9     40     40     20       10     20     40     40       11     60     30     10       12     30     45     25       13     25     45     30       CB+78BQ+79DMBA     14     100     0     0     0       15     0     100     0     10       16     0     0     100     10       17     75     25     0     10       18     25     0     75     25       20 <th colspan="2" rowspan="2">Mistura/Amostra</th> <th colspan="7">Proporções (%) na mistura dos 3 sulfurados</th>	Mistura/Amostra		Proporções (%) na mistura dos 3 sulfurados						
1     100     0     0       2     0     100     0       3     0     0     100       4     75     25     0       5     0     25     75       6     10     30     60       DBT+BNT+BTF     7     15     35     50       8     50     35     15       9     40     40     20       10     20     40     40       11     60     30     10       12     30     45     25       13     25     45     30       Mistura/Amostra     Proporções (%) na mistura dos 4 nitrogenados       14     100     0     0       15     0     100     0     0       14     100     0     0     10       15     0     100     0     30     10       22     0     10     60     30     10 <tr< td=""><td colspan="2">BNT</td><td>B</td><td>TF</td><td colspan="2">DBT</td></tr<>			BNT		B	TF	DBT		
$\begin{tabular}{ c c c c c c c } \hline $2$ & 0 & 100 & 0 \\ \hline $3$ & 0 & 0 & 100 \\ \hline $4$ & 75 & 25 & 0 & 5 \\ \hline $5$ & 0 & 25 & 75 & 6 \\ \hline $6$ & 10 & 30 & 60 & 5 \\ \hline $6$ & 10 & 30 & 50 & 50 & 50 & 50 & 50 & 50 & 5$		1	10	0		0		0	
$\begin{tabular}{ c c c c c c c } \hline & & & & & & & & & & & & & & & & & & $		2	0		100		0		
$\begin{tabular}{ c c c c c c c } \hline $4$ & 75 & 25 & 0 \\ $5$ & 0 & 25 & 75 \\ $6$ & 10 & 30 & 60 \\ \hline $10$ & 20 & 35 & 15 \\ $9$ & 40 & 40 & 20 \\ \hline $10$ & 20 & 40 & 40 \\ \hline $11$ & 60 & 30 & 10 \\ \hline $12$ & 30 & 45 & 25 \\ \hline $13$ & 25 & 45 & 30 \\ \hline \hline $Mistura/Amostra$ & \hline $Proporções (\%) na mistura dos 4 nitrogenados \\ \hline $T8BQ$ & $CB$ & $T9DMBA$ \\ \hline $16$ & 0 & 0 & 0 \\ \hline $16$ & 0 & 100 & 0 \\ \hline $16$ & 0 & 100 & 0 \\ \hline $16$ & 0 & 100 & 0 \\ \hline $16$ & 0 & 100 & 0 \\ \hline $16$ & 0 & 0 & 100 \\ \hline $16$ & 0 & 0 & 100 \\ \hline $16$ & 0 & 75 & 25 & 0 \\ \hline $16$ & 0 & 75 & 25 & 0 \\ \hline $20$ & 10 & 60 & 30 & 10 \\ \hline $21$ & 60 & 30 & 10 \\ \hline $22$ & 30 & 10 & 60 \\ \hline $23$ & 60 & 30 & 10 \\ \hline $Mistura/Amostra$ & \hline $Proporções (\%) na mistura dos 6 compostos \\ \hline $Mistura/Amostra$ & \hline $Proporções (\%) na mistura dos 6 compostos \\ \hline $Mistura/Amostra$ & \hline $Proporções (\%) na mistura dos 6 compostos \\ \hline $Mistura/Amostra$ & \hline $Proporções (\%) na mistura dos 6 compostos \\ \hline $Mistura/Amostra$ & \hline $Proporções (\%) na mistura dos 6 compostos \\ \hline $Mistura/Amostra$ & \hline $Proporções (\%) na mistura dos 6 compostos \\ \hline $Mistura/Amostra$ & \hline $Proporções (\%) na mistura dos 6 compostos \\ \hline $Mistura/Amostra$ & \hline $DBT$ & $BTF$ & $BNT$ & $78BQ$ & $CB$ & $DBA$ \\ \hline $24$ & 100 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \hline $25$ & 0 & 100 & 0 & 0 & 0 \\ \hline $26$ & 0 & 0 & 100 & 0 & 0 \\ \hline $26$ & 0 & 0 & 100 & 0 & 0 \\ \hline $26$ & 0 & 0 & 100 & 0 & 0 \\ \hline $26$ & 0 & 0 & 100 & 0 & 0 \\ \hline $26$ & 0 & 0 & 100 & 0 & 0 \\ \hline $26$ & 0 & 0 & 100 & 0 & 0 \\ \hline $26$ & 0 & 0 & 100 & 0 & 0 \\ \hline $26$ & 0 & 0 & 100 & 0 & 0 \\ \hline $26$ & 0 & 0 & 100 & 0 & 0 \\ \hline $26$ & 0 & 0 & 100 & 0 & 0 \\ \hline $26$ & 0 & 0 & 100 & 0 & 0 \\ \hline $26$ & 0 & 0 & 100 & 0 & 0 \\ \hline $26$ & 0 & 0 & 100 & 0 & 0 \\ \hline $27$ & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \hline $27$ & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \hline $28$ & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \hline $28$ & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \hline $28$ & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \hline $29$ & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \hline $20$ & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \hline $20$ & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \hline $20$ & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \hline $20$ & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \hline $20$ & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \hline $20$ & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \hline $20$ & 0 & 0 & 0$		3	0			0	1	00	
5     0     25     75       6     10     30     60       DBT+BNT+BTF     7     15     35     50       8     50     35     15       9     40     40     20       10     20     40     40       11     60     30     10       12     30     45     25       13     25     45     30       Mistura/Amostra     Proporções (%) na mistura dos 4 nitrogenados     75       14     100     0     0       15     0     100     0       16     0     0     100       17     75     25     0       18     25     0     75       20     10     60     30       21     60     30     10       22     30     10     60       23     60     30     10       22     30     10     60     25		4	75	5	2	25		0	
6     10     30     60       DBT+BNT+BTF     7     15     35     50       8     50     35     15       9     40     40     20       10     20     40     40       11     60     30     10       12     30     45     25       13     25     45     30       Mistura/Amostra     Proporções (%) na mistura dos 4 nitrogenados     78BQ     CB     79DMBA       14     100     0     0     0     100       15     0     100     0     0     100       16     0     0     100     100     100       17     75     25     0     15     25     25       20     10     60     30     10     25     25     25       20     10     60     30     10     22     30     10       22     30     10     60     30		5	0		2	25	7	75	
DBT+BNT+BTF     7     15     35     50       8     50     35     15       9     40     40     20       10     20     40     40       11     60     30     10       12     30     45     25       13     25     45     30       Mistura/Amostra     Proporções (%) na mistura dos 4 nitrogenados       14     100     0     0       15     0     100     0     0       15     0     100     0     0       16     0     0     100     100       17     75     25     0     15       20     10     60     30     10       21     60     30     10     25       22     30     10     60     30       22     30     10     60     30     10       22     30     10     60     30     10 <tr< td=""><td></td><td>6</td><td>10</td><td>)</td><td>3</td><td colspan="2">30</td><td>60</td></tr<>		6	10	)	3	30		60	
8     50     35     15       9     40     40     20       10     20     40     40       11     60     30     10       12     30     45     25       13     25     45     30       Mistura/Amostra     Proporções (%) na mistura dos 4 nitrogenados       14     100     0     0       15     0     100     0     100       16     0     0     100     100       17     75     25     0     15       20     10     60     30     10       21     60     30     10     22       23     60     30     10     24       101     0     0     0     0     0       22     30     10     60     30     10     25       23     60     30     10     60     26     10     0     0     0	DBT+BNT+BTF	7	15	5	3	35	ţ	50	
$\begin{array}{c c c c c c c c c c c c c c c c c c c $		8	50	)	3	35		15	
$\begin{array}{c c c c c c c c c c c c c c c c c c c $		9	40	)	4	10		20	
$\begin{array}{c c c c c c c c c c c c c c c c c c c $		10	20	)	4	40	2	40	
$ \begin{array}{c c c c c c c c c c c c c c c c c c c $		11	60	)	3	30		10	
13     25     45     30       Proporções (%) na mistura dos 4 nitrogenados       78BQ     CB     79DMBA       14     100     0     0       15     0     100     0       16     0     0     100       17     75     25     0       18     25     0     75       20     10     60     30       21     60     30     10       22     30     10     60       23     60     30     10       Mistura/Amostra       24     100     0     0     0     0       24     100     0     0     0     0     0       25     0     100     0     0     0     0     0		12	30	)	4	15	2	25	
$\begin{tabular}{ c c c c c c c c c c c c c c c c c c c$		13	25	5	4	15	3	30	
Misura/Aniosita     78BQ     CB     79DMBA       14     100     0     0       15     0     100     0       16     0     0     100       17     75     25     0       18     25     0     75       20     10     60     30       21     60     30     10       22     30     10     60       23     60     30     10       Proporções (%) na mistura dos 6 compostos       Mistura/Amostra     10     0     0     0       24     100     0     0     0     0       25     0     100     0     0     0       26     0     0     100     0     0     0	Micturo/Amostro			Proporções	(%) na mist	ura dos 4 nitr	ogenados		
14     100     0     0       15     0     100     0       16     0     0     100       17     75     25     0       18     25     0     75       20     10     60     30       21     60     30     10       22     30     10     60       23     60     30     10       Proporções (%) na mistura dos 6 compostos       Mistura/Amostra     10     78BQ     CB     DBA       24     100     0     0     0     0       25     0     100     0     0     0     0       26     0     0     100     0     0     0     0	Wilsturd/Amostra	_	78B	Q	C	В	79D	MBA	
$\begin{array}{c c c c c c c c c c c c c c c c c c c $		14	10	0		0		0	
$\begin{array}{c c c c c c c c c c c c c c c c c c c $		15	0		1	00	0		
$\begin{array}{c c c c c c c c c c } CB+78BQ+79DMBA & \begin{array}{c c c c c c c c c } 17 & 75 & 25 & 0 & 75 & 25 & 0 & 75 & 25 & 0 & 75 & 25 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & $		16	0		0		100		
CB+78BQ+79DMBA     18     25     0     75       19     0     75     25       20     10     60     30       21     60     30     10       22     30     10     60       23     60     30     10       Mistura/Amostra     Proporções (%) na mistura dos 6 compostos     DBA       24     100     0     0     0       25     0     100     0     0     0       26     0     0     100     0     0     0		17	75		25		0		
19     0     75     25       20     10     60     30       21     60     30     10       22     30     10     60       23     60     30     10       Mistura/Amostra       Proporções (%) na mistura dos 6 compostos       DBT     BTF     BNT     78BQ     CB     DBA       24     100     0		18	25			0	75		
20     10     60     30       21     60     30     10       22     30     10     60       23     60     30     10       Mistura/Amostra     Proporções (%) na mistura dos 6 compostos       0     0     0     0     0       24     100     0     0     0     0       25     0     100     0     0     0     0       26     0     0     100     0     0     0     0	CD+70DQ+79DIMDA	19	0		75		2	25	
21     60     30     10       22     30     10     60       23     60     30     10       Mistura/Amostra     Proporções (%) na mistura dos 6 compostos     DBA       24     100     0     0     0     0       25     0     100     0     0     0     0     0       26     0     0     100     0		20	10		60		:	30	
22     30     10     60       23     60     30     10       Proporções (%) na mistura dos 6 compostos       Mistura/Amostra     DBT     BTF     BNT     78BQ     CB     DBA       24     100     0		21	60		30			10	
23     60     30     10       Mistura/Amostra     Proporções (%) na mistura dos 6 compostos     DBA       24     100     0     0     0     0     0       25     0     100     0		22	30		10		60		
Mistura/Amostra     Proporções (%) na mistura dos 6 compostos       DBT     BTF     BNT     78BQ     CB     DBA       24     100     0     0     0     0     0       25     0     100     0		23	60		30		10		
DBT     BTF     BNT     78BQ     CB     DBA       24     100     0	Micturo/Amostro		Proporções (%) na mistura dos 6 compostos						
24     100     0	Wilsturd/Amostra	_	DBT	BTF	BNT	78BQ	СВ	DBA	
25     0     100     0     0     0     0       26     0     0     100     0     0     0		24	100	0	0	0	0	0	
26 0 0 100 0 0		25	0	100	0	0	0	0	
		26	0	0	100	0	0	0	
27 0 0 0 100 0 0		27	0	0	0	100	0	0	
28 0 0 0 0 100 0		28	0	0	0	0	100	0	
29 0 0 0 0 0 100		29	0	0	0	0	0	100	
30 75 0 0 25 0 0		30	75	0	0	25	0	0	
DBI+BNI+BIF+	DBI+BNI+BIF+	31	0	0	75	0	0	25	
CB+78BQ+DBA 32 10 30 0 0 60 0	CB+78BQ+DBA	32	10	30	0	0	60	0	
33 0 0 60 10 0 30		33	0	0	60	10	0	30	
34 0 60 20 0 10 10		34	0	60	20	0	10	10	
35 10 10 0 60 20 0		35	10	10	0	60	20	0	
36 0 20 30 10 10 30		36	0	20	30	10	10	30	
37 30 30 20 0 10 10		37	30	30	20	0	10	10	
38 10 20 30 10 20 10		38	10	20	30	10	20	10	

A análise dos componentes principais teve por objetivo reduzir a dimensão dos dados originais permitindo a visualização das informações mais importantes em um número menor de fatores (componentes principais).

As amostras foram projetadas num novo sistema de eixos de menor dimensão, reduzindo a dimensionalidade do espaço do conjunto dos dados e tornando as informações mais relevantes mais óbvias. Estas componentes foram geradas a partir da combinação linear das 304 variáveis originais (301 comprimentos de onda de 400 nm a 700 nm e 3 concentrações distintas em cada mistura) que são ortogonais entre si. Estas componentes foram construídas em ordem decrescente da variância. A primeira componente principal descreve a direção da maior variação dos dados, a segunda componente principal é ortogonal a primeira e descreve o máximo de variância restante, e assim sucessivamente para as componentes seguintes.

Os escores obtidos após a análise das PCA representam a projeção das amostras no novo sistema de coordenadas, e os pesos atribuídos são os coeficientes que medem a importância de cada variável original em cada componente. Os pesos utilizados estiveram entre 1 e -1, já que representam o co-seno do ângulo entre o eixo da componente principal e o eixo da variável original. Assim, quanto mais próximo de ±1, maior a influência que uma determinada variável tem na descrição desta componente principal e, quanto mais próximo de zero este coeficiente estiver, menor a sua influência. Durante a análise dos dados, foram levados em consideração o número de componentes principais (ou fatores) necessários à descrição do sistema, o quanto da variância total dos dados cada componente foi capaz de descrever e a ocorrência de amostras atípicas. Normalmente, um número pequeno de componentes principais (PC) contém praticamente toda a informação do conjunto original de dados e a quantidade de informação que cada PC descreve é indicada pela percentagem de variância.

A Figura 34 mostra os espectros de emissão fosforescente obtidos entre 400 e 700 nm para o conjunto de dados de padrões de DBT, BNT e BTF usados na construção dos modelos de regressão.

- UC-Rio - Certificação Digital Nº 0310275/CA



Figura 34: Espectros de emissão fosforescente das misturas 1 a 13 da Tabela 18. (DBT+BNT+BTF) na presença de133 µg de TINO<sub>3</sub> e 100 µg de SDS . Outras condições:  $\lambda_{\text{excitação}}$ =255 nm. *Smooth* de 10 pontos. Velocidade de varredura: 600 nm min<sup>-1</sup>. Bandas espectrais de passagem de excitação e emissão: 10 nm. Tempo de retardo do detector: 0,1 ms e tempo de abertura do detector: 9 ms.

Para encontrar o número de componentes principais, o método da validação cruzada foi usado. Nesse método, a calibração foi repetida n vezes (n é o número de amostras no conjunto de calibração) sendo que em cada oportunidade tratou-se uma das amostras do conjunto de calibração como uma amostra da previsão.

Para cada sistema em estudo, o número mais adequado de fatores (componentes principais) é aquele que apresenta o menor valor da soma dos quadrados dos erros de previsão (PRESS).

Para a construção do modelo de regressão foram utilizadas 13 amostras para a mistura dos sulfurados, 10 amostras para a mistura dos nitrogenados e 15 amostras para a mistura dos sulfurados e nitrogenados. O desempenho do modelo foi representado pelo erro-padrão de previsão (SEP), dado pela Equação 16.

$$SEP = \sqrt{\frac{\sum (Cr - Cp)^2}{n}}$$

onde Cr são os valores reais, Cp são os valores previstos de concentração e n é número de amostras. Segundo BELLON-MAUREL e colaboradores (1995), a precisão da calibração é estimada como duas vezes o erro-padrão de previsão.

A partir da análise dos resultados da regressão, verificou-se que, para as misturas 1 a 13 da Tabela 18 (DBT:BNT:BTF) o valor mínimo da soma dos quadrados dos erros de previsão foi obtido com cinco componentes principais. O uso de um número maior de componentes principais não se mostrou conveniente, pois a capacidade de previsão do modelo foi reduzida.

A Tabela 19 apresenta os resultados obtidos pela PCR para o conjunto de calibração das misturas 1 a 13, utilizando-se cinco componentes principais. O erro-padrão de calibração, nas condições do experimento, foi de 0,06573 (BNT), 0,14416 (BTF) e 0,14584 (DBT). As retas de regressão obtidas na etapa de calibração a partir dos dados espectrais mostraram que os pontos apresentaram-se relativamente próximos às retas dos gráficos com um coeficiente de correlação de 0,9870 (BNT), 0,8928 (BTF) e 0,9341 (DBT). O modelo de calibração apresentou baixos valores de desvio-padrão residual, sendo a média igual a 4,48.10<sup>-7</sup> mol L<sup>-1</sup>. Como pode-se verificar, a PCR falhou para o DBT e para o BTF, possivelmente devido aos problemas associados a linha de base, apresentando resultados significativos apenas para o BNT.

DBT	Variância explicada = 87,2%	Coeficiente de correlação= 0,9341		
	% adicionada na mistura	% predita pela calibração		
1	0	2		
2	0	9		
3	100	80		
4	0	- 3		
5	75	88		
6	60	45		
7	50	55		
8	15	3		
9	20	37		
10	40	40		
11	10	14		
12	25	18		
13	30	33		
	Variância explicada = 97,4%	Coeficiente de correlação= 0,9870		
BNI	% adicionada na mistura	% predita pela calibração		
1	1	91		
2	0	0		
3	0	3		
4	75	82		
5	0	0		
6	10	9		
7	15	10		
8	50	52		
9	40	35		
10	20	23		
11	60	64		
12	30	25		
13	25	31		
	Variância explicada = 80,0 %	Coeficiente de correlação= 0,8928		
BTF	% adicionada na mistura	% predita pela calibração		
1	0	7		
2	100	90		
3	0	17		
4	25	21		
5	25	12		
6	30	45		
7	35	35		
8	35	45		
9	40	27		
10	40	36		
11	30	22		
12	45	57		
13	45	35		
-	-			

Tabela 19: Resultados obtidos na calibração multivariada ( $100\% = 5,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de analito na solução vetora) para o modelo empregando cinco componentes principais (misturas 1 a 13).

Assim como anteriormente, os tratamentos matemáticos e estatísticos foram feitos para um conjunto de experimentos contendo CB, 78BQ e 79DMBA em misturas variadas (Tabela 18). Os espectros de emissão fosforescente foram utilizados para a construção da matriz de dados e a regressão nas componentes principais utilizada na calibração multivariada.

A Figura 35 mostra os espectros de emissão fosforescente obtidos para o conjunto de dados em questão.

![](_page_23_Figure_2.jpeg)

Figura 35: Espectros de emissão fosforescente das misturas 14 a 23 da Tabela 18 (CB+78BQ+79DMBA) na presença de 133 µg de TINO<sub>3</sub> e 100 µg de SDS . Outras condições:  $\lambda_{excitação}$ =255 nm. Smooth de 10 pontos. Velocidade de varredura: 600 nm min<sup>-1</sup>. Bandas espectrais de passagem de excitação e emissão: 10 nm. Tempo de retardo do detector: 0,1 ms e tempo de abertura do detector: 9 ms.

O modelo de calibração foi construído utilizando as amostras 14 a 23 da Tabela 18. Convém salientar que neste estudo há três analitos de interesse e, portanto, o bloco Y pode ser representado como uma matriz  $Y=(10 \times 3)$ .

Inicialmente foi feita a Análise de Componentes Principais (PCA) para se ter uma idéia do número de componentes principais necessários para descrever o conjunto de dados. Pela análise PCA se observa que cinco componentes principais são suficientes para descrever o sistema e os valores previstos estão bem próximos dos reais, indicando que o modelo está bem ajustado e com boa capacidade preditiva.

A Figura 36 mostra as retas de regressão obtidas a partir dos dados espectrais das soluções-padrão de 78BQ, CB e 79DMBA na etapa de calibração.

Para um sistema usando cinco componentes principais, foi verificado que os pontos apresentaram-se bem próximos à reta do gráfico com coeficientes de correlação de 0,9891 (78BQ), 0,9931 (CB) e 0,9921 (79DMBA). Na Tabela 20 são mostrados os resultados da calibração.

![](_page_25_Figure_0.jpeg)

Figura 36: Retas de regressão da etapa de calibração para CB, 78BQ e 79DMBA na presença de 133 µg de TINO<sub>3</sub>. Outras condições:  $\lambda_{excitação}=265$  nm. Velocidade de varredura: 600 nm min<sup>-1</sup>. Bandas espectrais de passagem de excitação e emissão: 10 nm. Tempo de retardo do detector: 0,1 ms e tempo de abertura do detector: 9 ms.

CB	Variância explicada = 96,9 %	Coeficiente de correlação= 0,9931 % predita pela calibração		
<u> </u>	% adicionada na mistura			
14	0	0,6		
15	100	104		
16	0	4		
17	25	26		
18	0	- 3		
19	75	70		
20	60	56		
21	30	35		
22	10	12		
23	30	26		
7880	Variância explicada = 95,1%	Coeficiente de correlação= 0,9891		
76BQ	% adicionada na mistura	% predita pela calibração		
14	100	101		
15	0	-3		
16	0	-5		
17	75	75		
18	25	25		
19	0	2		
20	10	19		
21	60	51		
22	30	36		
23	60	59		
	Variância explicada = 96,4 %	Coeficiente de correlação= 0,9921		
	% adicionada na mistura	% predita pela calibração		
14	0	-2		
15	0	-1		
16	100	100		
17	0	-0.7		
18	75	78		
19	25	29		
20	3	24		
21	10	14		
22	60	52		
23	10	16		

Tabela 20: Resultados obtidos na calibração multivariada ( $100\% = 5,0x10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de analito na solução vetora) para o modelo empregando cinco componentes principais (misturas 14 a 23).

A Figura 37 mostra os espectros de emissão fosforescente obtidos para o conjunto de dados modelado para as misturas 24 a 38 da Tabela 18.

![](_page_27_Figure_0.jpeg)

Figura 37: Espectros de emissão fosforescente das misturas 24 a 38 da Tabela 18 (DBT+BNT+BTF+CB+78BQ+DBA) na presença de 133 µg de TINO<sub>3</sub> e 100 µg de SDS . Outras condições:  $\lambda_{excitação}$ =265 nm. Smooth de 10 pontos. Velocidade de varredura: 600 nm min<sup>-1</sup>. Bandas espectrais de passagem de excitação e emissão: 10 nm. Tempo de retardo do detector: 0,1 ms e tempo de abertura do detector: 9 ms.

Assim como nos casos anteriores, o pré-processamento consistiu em centrar os dados na média. A calibração multivariada revelou a existência de oito componentes principais capazes de descreverem o sistema. Os valores preditos pelo modelo de calibração gerado podem ser vistos na Tabela 21. Conforme facilmente verificado, o modelo não descreve bem o sistema e só pode ser utilizado para a quantificação da 78BQ em presença dos demais analitos. Tal fato não deixa de ser interessante do ponto de vista analítico, mas vale ressaltar que estudos adicionais podem permitir a determinação simultânea dos seis analitos em questão.

Fica claro que neste caso em particular a etapa de construção do modelo de calibração não foi capaz de selecionar um conjunto de amostras representativas de toda a região a ser modelada. Estes padrões (conjunto de calibração), da maneira como foram aplicados neste estudo, não permitiram a construção de um modelo apropriado para relacionar as respostas instrumentais com a concentração. Destaca-se que, em todos os casos, a identificação de possíveis "outliers" e a exclusão destes do tratamento estatístico pode melhorar consideravelmente o poder de predição e permitir o sucesso dessa abordagem.

	Variância explicada = 89,9 %	Coeficiente de correlação= 0,9761		
	% adicionada na mistura	% predita pela calibração		
24	100	109		
25	0	1		
26	0	2		
27	0	3		
28	0	5		
29	0	1		
30	75	58		
31	0	1		
32	10	3		
33	0	-4		
34	0	9		
35	10	12		
36	0	2		
37	30	24		
38	10	9		
BTE	Variância explicada = 19,3 %	Coeficiente de correlação= 0,8087		
DIF	% adicionada na mistura	% predita pela calibração		
24	0	-4		
25	100	70		
26	0	-9		
27	0	-2		
28	0	1		
29	0	2		
30	25	11		
31	0	49		
32	30	28		
33	0	-7		
34	60	42		
35	10	9		
36	20	25		
37	30	28		
38	20	26		
DNIT	Variância explicada = 61,7 %	Coeficiente de correlação= 0,9143		
	% adicionada na mistura	% predita pela calibração		
24	0	-3		
25	0	14		
26	100	87		
27	0	2		
28	0	3		
29	0	-6		
30	0	5		
31	75	39		
32	0	1		
33	60	78		
34	20	32		

Tabela 21: Resultados obtidos na calibração multivariada ( $100\% = 5,0x10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de analito na solução vetora) para o modelo empregando oito componentes principais (misturas 24 a 38).

35	0	-8	
36	30	37	
37	20	26	
38	30	28	
	Variância explicada = 99,4 %	Coeficiente de correlação= 0,9987	
78BQ	% adicionada na mistura	% predita pela calibração	
24	0	1	
25	0	3	
26	0	2	
27	100	99	
28	0	1	
29	0	0	
30	25	23	
31	0	0	
32	0	-2	
33	10	9	
34	0	0	
35	60	62	
36	10	9	
37	0	-1	
38	10	9	
	Variância explicada = 91,7 %	Coeficiente de correlação= 0,9820	
00	% adicionada na mistura	% predita pela calibração	
24	0	-1	
25	0	0	
26	0	11	
27	0	-1	
28	100	92	
29	0	3	
30	0	1	
31	0	1	
32	60	67	
33	0	-9	
34	10	6	
35	20	24	
36	10	9	
37	10	13	
38	20	15	
	Variância explicada = 86,1 %	Coeficiente de correlação= 0,9697	
	% adicionada na mistura	% predita pela calibração	
24	0	-2	
25	0	12	
26	0	6	
27	0	-1	
28	0	-2	
29	100	100	
30	0	2	
31	25	10	
32	0	2	
33	30	32	

34	10	11
35	0	2
36	30	19
37	10	11
38	10	12

### 7.2 Determinação de DBT, BNT, BTF, CB, 78BQ, 79DMBA e DBA em gasolina

Nesta etapa do trabalho, serão apresentados e discutidos os resultados obtidos com o uso das metodologias fosforimétricas em amostras de gasolina comercial do Tipo C visando sua validação pela análise de amostras enriquecidas. Utilizou-se métodos simples de calibração externa associada ou não a arranjos instrumentais (varredura sincronizada derivatizada) ou métodos quimiométricos para a correção das interferências espectrais verificadas nas misturas.

As medições quantitativas requerem um conjunto de padrões para calibração que devem, sempre que possível, ter composição e propriedades físicas bem próximas das amostras a serem analisadas. Como não existem amostras de gasolina certificadas para os objetos de estudo deste trabalho, amostras de gasolina comercial foram enriquecidas com os analitos e analisadas usando as metodologias anteriormente descritas, cuja validação foi feita a partir de testes de recuperação.

A Figura 38 mostra os espectros de excitação e emissão fosforescentes para uma mistura de DBT:BNT:BTF (1:1:1, v/v/v) preparada em iso-octano e para a mesma mistura adicionada na gasolina comercial (Tipo C) diluída (1:1, v/v) com iso-octano. A similaridade dos espectros obtidos (intensidades de emissão fosforescente) a partir dessas duas soluções carreadoras demonstra que a matriz gasolina não interferiu, nas condições estudadas, nas medições, havendo apenas pequeno deslocamento dos comprimentos de onda de excitação e emissão.

As curvas analíticas foram construídas em solução carreadora de isooctano e, em todos os casos, tiveram coeficientes de correlação (R<sup>2</sup>) superiores a 0,9900. Tanto os limites de detecção como os de quantificação atingiram valores absolutos da ordem do ng. Em termos de recuperação (valores entre 93 e 112%), os resultados considerados exatos, dentro do limite de confiança de 95 % (n = 3), foram obtidos para as propostas seqüenciais, baseadas no efeito seletivo do átomo pesado e para as propostas simultâneas, baseadas no mesmo efeito combinado com a técnica da sincronização derivativa. A proposta que fez uso da calibração multivariada pela PCR, mostrou-se eficiente (recuperações entre 90 e 95 %) apenas para a determinação de BNT em misturas contendo os três sulfurados, CB, 78BQ e 79DMBA em misturas contendo os quatro nitrogenados e para a determinação de 78BQ em misturas contendo os sete analitos.

![](_page_31_Figure_1.jpeg)

Figura 38: Espectros fosforescentes da mistura dos 3 sulfurados (DBT, BNT e BTF) 1,0 x  $10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> em solução vetora de iso-octano (A) e em gasolina enriquecida (B). Condições experimentais: l<sup>-</sup> 1,0 mol L<sup>-1</sup> e de NaOH 0,5 mol L<sup>-1</sup> (*smooth* de 50 pontos). Condições instrumentais: Velocidade de varredura: 600 nm min<sup>-1</sup>. Bandas espectrais de passagem de excitação e emissão: 10 nm. Tempo de retardo do detector: 0,1 ms e tempo de abertura do detector: 9 ms.

#### 7.3

# Determinação de DBT, BNT, BTF, CB, 78BQ, 79DMBA e DBA em sedimento certificado (IAEA 417)

Os HPA e os CPA podem ser classificados quanto sua origem em petrogênicos (caracterizada pelos HPA e pelos CPA presentes no petróleo e, por conseguinte, em seus derivados), pirogênicos (HPA e CPA formados durante os processos de combustão) e biológicos (caracterizada pelos HPA e CPA sintetizados por organismos vivos). Esses compostos são ubíquos na natureza e

suas vias de emissão são tanto naturais como antropogênicas. As emissões naturais resumem-se a incêndios florestais, erupções vulcânicas, afloramentos de petróleo e sínteses biológicas. As emissões antropogênicas estão associadas à entrada de petróleo e derivados no mar, através do escoamento urbano, efluentes industriais e domésticos, atividades de embarcações, transporte, produção em áreas *offshore*, processos de combustão de biomassa e combustíveis fósseis, tais como queima de plantações de cana-de-açúcar antes da colheita e emissões automotivas. Outro aporte de caráter antrópico dos HPA ao meio ambiente está relacionado aos acidentes ambientais envolvendo petróleo e derivados, como vazamentos em petroleiros ou tanques de armazenamento de combustíveis em postos de abastecimento.

KERN (1947) publicou um trabalho descrevendo a descoberta de criseno em solo de lavoura utilizando uma metodologia fluorimétrica, dando início à preocupação com este tipo de contaminação ambiental. A partir daí, vários estudos têm sido publicados e a toxicidade destes compostos relacionada extensivamente.

Sedimentos de rios, lagos e oceanos contaminados têm se tornado assunto de interesse (BRADY, 1989). O material inorgânico e orgânico nos sedimentos de rios e lagos pode ser um importante meio de avaliação da poluição já que estão predispostos a rápidas trocas de componentes com a coluna de água logo acima. Os tiofenos são importantes constituintes do petróleo, estando sempre presentes em quantidades diversas que dependem das alterações in situ e da maturação dos reservatórios (SPEIGHT, 2001). As estratégias utilizadas para a quantificação e para a obtenção de impressões digitais de HPA sido baseadas em técnicas que envolvem prévia separação dos componentes da amostra, tais como cromatografia em fase gasosa (GC) ou em fase líquida (LC) acopladas com espectrometria de massas, que são caras e trabalhosas. Alternativamente, trabalhos envolvendo a SSRTP têm sido desenvolvidos com considerável redução do tempo de análise e interessantes abordagens em termos de seletividade. Além das características fosforescentes dos tiofenos serem úteis para sua quantificação, estas podem ser utilizadas para, por exemplo, se obter informações sobre a origem de contaminações por derramamento de óleo. Neste trabalho, após obtidas as características fosforescentes dos CPA sulfurados e nitrogenados na temperatura ambiente e em substrato sólido, demonstrou-se a aplicabilidade da técnica na determinação destes em uma amostra ambiental complexa.

As metodologias desenvolvidas foram testadas utilizando-se um material de referência certificado (sedimento IAEA 417) contendo vários HPA (Anexo I). O extrato de sedimento foi diluído e fortificado com uma quantidade conhecida do analito ou mistura de analitos para que testes de recuperação pudessem ser aplicados. A observação de fosforescência diretamente na amostra de extrato de sedimento depositada em substrato sólido não foi possível devido a interferências não espectrais impostas pela matriz (efeito filtro interno). Como este tipo de interferência pode ser minimizada através da diluição da amostra, um cuidadoso estudo foi conduzido no sentido de encontrar o melhor fator de diluição (Capítulo 2) que permita a utilização da calibração por curva analítica.

Assim, as abordagens seqüenciais e simultâneas puderam ser testadas em extrato do sedimento, desde que respeitadas as condições prévias já descritas para obtenção de seletividade. A Figura 39 ilustra alguns dos espectros obtidos (BNT) nas determinações fosforimétricas em sedimento. Neste caso (BNT em sedimento), optou-se pela utilização de uma condição ainda não explorada, Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>/SDS que emprestou maior seletividade em função das várias espécies químicas presentes na amostra, apesar de fornecer menores intensidades de sinal. Ressalta-se, portanto, a riqueza de condições experimentais geradas nos estudos prévios que podem ser utilizadas de acordo com o problema analítico que se apresente.

As curvas analíticas foram construídas em etanol e, em todos os casos, tiveram coeficientes de correlação ( $R^2$ ) superiores a 0,9900. A determinação foi realizada usando o comprimento de onda de emissão em 593 nm devido ao menor sinal de fundo. Tanto os limites de detecção como os de quantificação atingiram valores absolutos da ordem do nanograma (ALOD = 3,2 e ALOQ = 10,7). Em termos de recuperação os resultados foram bastante satisfatórios (valores entre 96 e 117%), considerando-se a complexidade da matriz.

A proposta que fez uso da calibração multivariada pela PCR, mostrou-se pouco eficiente, assim como anteriormente, permitindo apenas a determinação de BNT em misturas contendo os três sulfurados, CB, 78BQ e 79DMBA em misturas contendo os quatro nitrogenados e a determinação de 78BQ em misturas contendo os sete analitos (recuperações entre 97 e 105%).

![](_page_34_Figure_0.jpeg)

Figura 39: Fosforescência na Temperatura Ambiente do substrato sólido na presença de 414 µg de Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> e 100 µg de SDS (a), do extrato de sedimento não enriquecido na presença de Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>/SDS (b) e do extrato de sedimento enriquecido com 58 ng de BNT na presença de Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>/SDS (c).  $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 274/593$  nm.