

## 6. Parâmetros analíticos de mérito e determinação fosforimétrica do carbazol e do dibenzotiofeno

Uma vez cumpridas todas as etapas do processo de otimização das condições experimentais e instrumentais, foi realizada a validação parcial dos métodos espectrofotométricos propostos para o CBZ e para o DBT, com o objetivo de garantir a confiabilidade da resposta analítica obtida das amostras sob análise. Esta avaliação dos métodos analíticos consistiu na estimativa de alguns parâmetros analíticos de mérito, indicados a seguir: faixa linear de trabalho, parâmetros de sensibilidade, repetitividade e exatidão<sup>9,79,82</sup>. A validação realizada foi do tipo *in house validation*”, a qual é sugerida no caso de métodos novos desenvolvidos localmente<sup>83</sup>. A determinação dos parâmetros de mérito foi feita de acordo com as recomendações do Instituto Nacional de Metrologia (INMETRO)<sup>84</sup> e baseado em diversos artigos e revisões publicados com respeito da validação de métodos analíticos<sup>85-88</sup>.

### 6.1. Faixa linear de trabalho

A linearidade é o parâmetro de um método analítico definido como a sua capacidade de fornecer respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração da substância a ser determinada<sup>83</sup>. A correlação entre o sinal medido e a concentração é obtida experimentalmente e pode ser expressa a partir da equação de reta da curva analítica, cujos coeficientes podem ser determinados a partir da análise por regressão linear. A faixa de resposta considerada linear ( $r \geq 0,90$ , de acordo com o INMETRO) é denominada de faixa linear do trabalho ou faixa linear dinâmica.

As curvas analíticas do CBZ e DBT foram obtidas a partir de determinações repetidas e autênticas de padrões analíticos preparados por diluição das MEM's dos analitos. O melhor ajuste de reta entre os pontos experimentais foi

traçado com ajuda do programa Statistica 6.0. Na Figura 35 podem ser observadas as curvas analíticas dos dois analitos caracterizados.

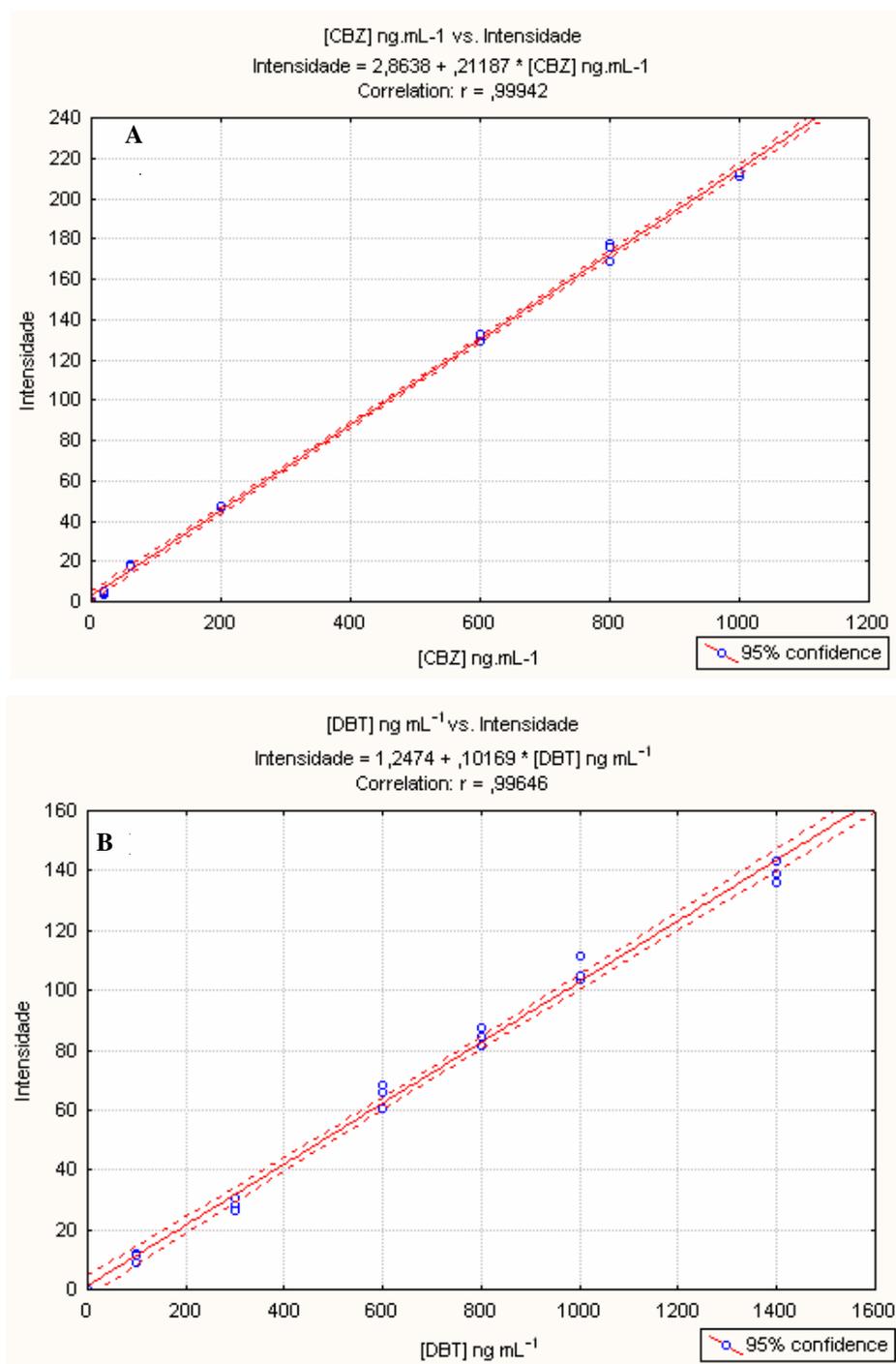


Figura 35. Curvas analíticas do CBZ (A) e DBT (B).

Com o intuito de verificar se as equações de regressão obtidas descrevem satisfatoriamente o comportamento dos valores experimentais, efetuaram-se os

testes de ajuste do modelo linear, validade da regressão e eficiência da regressão, a partir da análise de variância. Isso foi feito utilizando a opção de análises de dados do programa Microsoft Excel versão 7,0. Na Tabela 26 apresentam-se os resultados<sup>88-89</sup>.

Tabela 26. Testes de verificação de linearidade e eficiência da regressão.

CBZ	
Linearidade	“a” é diferente de zero?
$F_{\text{calculado}} = \text{MQReg}/\text{MQRes} = 12879,09$	$t_{\text{calculado}} = b/S_b = 113,48$
$F_{1,16; 0,05} = 4,49$	$t_{1,16; 0,05} = 1,75$
$F_{\text{calculado}} > F_{\text{crítico}}$	$t_{\text{calculado}} > t_{\text{crítico}} \rightarrow a \neq 0$
Eficiência	
$R^2 = \text{SQReg}/\text{SQT} = 0,9994$	
$R^2 > 0,95$	
Intervalos de 95% confiança	
$\alpha = 3 \pm 2$	
$\beta = 0,212 \pm 0,004$	
DBT	
Linearidade	“a” é diferente de zero?
$F_{\text{calculado}} = \text{MQReg}/\text{MQRes} = 1781,05$	$t_{\text{calculado}} = b/S_b = 42,20$
$F_{1,16; 0,05} = 4,49$	$t_{1,16; 0,05} = 1,75$
$F_{\text{calculado}} > F_{\text{crítico}}$	$t_{\text{calculado}} > t_{\text{crítico}} \rightarrow a \neq 0$
Eficiência	
$R^2 = \text{SQReg}/\text{SQT} = 0,9965$	
$R^2 > 0,95$	
Intervalos de 95% confiança	
$\alpha = 0$	
$\beta = 0,102 \pm 0,005$	

MQReg = média quadrática da regressão; MQRes = média quadrática do resíduo; SQReg = somatória quadrática da regressão; SQT = somatória quadrática total.  
 $\alpha$  = coeficiente do intercepto,  $\beta$  = coeficiente da inclinação da curva.

Segundo os resultados dos diferentes testes aplicados, a regressão linear é altamente significativa para o modelo linear na faixa de concentrações avaliadas para os dois analitos. Isto também fica claro quando são examinados os gráficos dos resíduos apresentados na Figura 36. Os valores mostram uma distribuição

aleatória indicando que as medições de intensidade fosforescente foram independentes da concentração das soluções dos analitos utilizadas.

As faixas lineares de trabalho ficaram compreendidas entre 0 e 1000 ng mL<sup>-1</sup> no caso do CBZ e entre 0 e 1400 ng mL<sup>-1</sup> no caso do DBT.

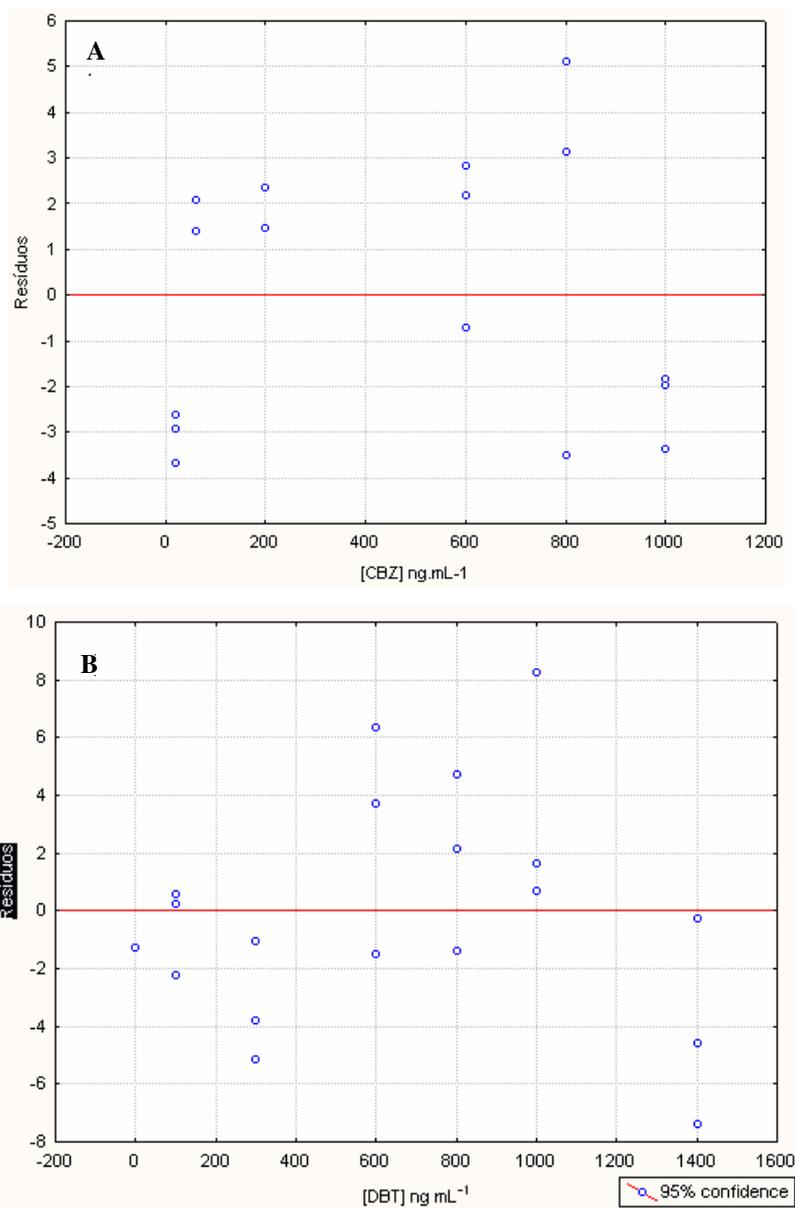


Figura 36. Distribuição dos resíduos em função da concentração do CBZ (A) e DBT (B).

## 6.2. Parâmetros relacionados com a sensibilidade

Outro parâmetro determinado a partir das curvas analíticas construídas para os testes de linearidade é a sensibilidade. Este parâmetro demonstra a

variação da resposta em função da concentração do analito e pode ser expressa pela inclinação da curva de regressão linear ( $m$ ). Sensibilidades de  $0,212 \pm 0,004$  e  $0,102 \pm 0,005$  foram obtidas para o CBZ e DBT, respectivamente.

Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), dependentes da inclinação da curva analítica, também foram calculados. Esses parâmetros foram calculados segundo as equações 10 e 11 abaixo, onde  $S_b$  é o desvio padrão da medição de sinal de 10 brancos. Na Tabela 27, a seguir, os valores obtidos são apresentados:

$$LD = 3 S_b / m \quad (4)$$

$$LQ = 10 S_b / m \quad (5)$$

Tabela 27. Limites de determinação e de quantificação obtidos para os métodos desenvolvidos para o CBZ e DBT.

	CBZ	DBT
LD em ng mL <sup>-1</sup>	2,9	7,8
LQ em ng mL <sup>-1</sup>	8,9	23,6

### 6.3. Repetitividade

É uma das formas mais comuns de expressar a precisão e pode ser definida como o grau de concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo mensurando, efetuadas nas condições de repetitividade (mesmo analista, laboratório, equipamento e período curto de tempo).

Na FTAS inúmeros fatores associados com a etapa de preparação das MED's de padrões e amostras podem afetar a precisão das medições, tais como presença de oxigênio, impurezas, diluições necessárias para ajustar as concentrações à faixa linear, entre outras. O valor da repetitividade foi expressa através da estimativa do desvio padrão relativo (DPR) de dez MED's preparadas em dois níveis de concentração para cada um dos analitos. Na Tabela 28 se apresentam os resultados.

Tabela 28. Repetitividade expressa pelo DPR das soluções preparadas seguindo os métodos desenvolvidos para o CBZ e DBT.

CBZ		
	200 ng mL <sup>-1</sup>	600 ng mL <sup>-1</sup>
DPR	4 %	7 %
DBT		
	100 ng mL <sup>-1</sup>	1000 ng mL <sup>-1</sup>
DPR	5 %	10 %

Como se pôde observar, os DPR's variaram entre 4 e 10 %, valores estes considerados dentro do esperado para técnicas luminescentes em solução aquosa.

#### 6.4. Seletividade (avaliação parcial)

A seletividade de um método esta diretamente relacionada ao evento de detecção e pode ser definida como a capacidade que o método tem de distinguir a resposta do analito de interesse da resposta de outros analitos que não se querem quantificar.

As interferências geralmente podem ser classificadas como espectrais e não-espectrais. No caso específico da luminescência molecular, as interferências espectrais são observadas unicamente no caso de houver sobreposição parcial ou total das bandas de emissão e excitação do analito com as da substância interferente. Quando acontece este tipo de interferência um aumento do sinal do analito é esperado, e dito efeito não pode ser superado por adição-padrão, devido à dificuldade de se obter um branco adequado para correção do sinal analítico.

Já no caso das interferências não-espectrais, existem duas possibilidades de se afetar o sinal do analito: (i) por efeito filtro e (ii) por desativação do estado excitado. No primeiro caso, à radiação utilizada para a excitação do analito é parcial ou totalmente absorvida pela banda de absorção da substância concomitante. No segundo, as moléculas da substância interferente colidem com as moléculas do analito, favorecendo a troca de energia entre as mesmas com decorrente desativação do estado excitado da molécula do analito para o estado fundamental sem emissão de radiação. Estes dois tipos de interferência não-espectral se caracterizam por causar um decréscimo do sinal esperado para o

analito de interesse, e podem ser contornadas pelo método de calibração (adição do analito ou assemelhação de matriz), mudança no pré-tratamento e separação de componentes.

Nesse trabalho foi realizado um breve estudo do efeito interferente de quatro HPA's que poderiam estar presentes na matriz e causar grande impacto no desempenho da medição do CBZ e DBT. Os mesmos são: Acridina, benzo[h]acridina, 9-metilacridina e benzo[b]nafto[2,3-d] tiofeno. Não existe a intenção de se fazer um estudo exaustivo de interferentes, apenas indicar que a abordagem fosforimétrica pode ser utilizada para os analitos de interesse na presença de substâncias da mesma classe, ou seja, outros HPAN's e HPAS's. O efeito de uma matriz complexa poderá ser avaliado na próxima seção, onde as exatidões dos métodos serão avaliadas em matrizes complexas.

A avaliação das interferências foi realizada comparando os sinais fosforescentes do CBZ e DBT com os sinais obtidos de MED's contendo a mesma concentração do analito e quantidades diferentes dos potenciais interferentes (quantidade equimolar e dez vezes mais concentrado). As concentrações relativas do analito e dos concomitantes se encontram reportados nas Tabela 29, onde as razões entre as intensidades fosforescentes do analito ( $I_{\text{analito}}$ ) e das misturas ( $I_{\text{analito+interferente}}$ ) são indicadas. As razões entre  $I_{\text{analito+interferente}}$  e  $I_{\text{analito}}$  próximos da unidade indicam a ausência de interferência. Porém, nesse estudo preliminar, considerando-se um desvio padrão das medições de fosforescência, se considerará como resultado satisfatório de não interferência a faixa de valores entre 0,80 e 1,20.

Tabela 29. Influencia de possíveis interferentes no sinal fosforescente do CBZ o do DBT.

CBZ		
Interferente	Razão molar	$I_{\text{analito+interferente}} / I_{\text{analito}}$
Acridina	1:1	$0,95 \pm 0,08$
	1:10	$0,70 \pm 0,05$
benzo[h]acridina	1:1	$0,91 \pm 0,07$
	1:10	$0,54 \pm 0,03$
9-metilacridina	1:1	$0,54 \pm 0,05$
	1:10	$0,02 \pm 0,06$
benzo[b]nafto[2,3-d] tiofeno	1:1	$1,19 \pm 0,08$
	1:10	$1,16 \pm 0,07$
DBT		
Interferente	Razão molar	$I_{\text{analito+interferente}} / I_{\text{analito}}$
Acridina	1:1	$0,48 \pm 0,08$
	1:10	$0,28 \pm 0,03$
benzo[h]acridina	1:1	$0,28 \pm 0,02$
	1:10	$0,22 \pm 0,07$
9-metilacridina	1:1	$0,95 \pm 0,03$
	1:10	$0,95 \pm 0,05$
benzo[b]nafto[2,3-d] tiofeno	1:1	$1,02 \pm 0,09$
	1:10	$0,99 \pm 0,09$

Pelos resultados da tabela se pode inferir que quando a acridina, benzo[h]acridina e 9-metilacridina se encontram em proporções acima de 10 vezes a concentração do analito provocam interferências do tipo não-espectral sobre o sinal do CBZ. Já no caso do benzo[b]nafto[2,3-d] tiofeno se pode dizer que sua presença no meio não gera efeito nenhum sobre a resposta fosforescente do analito. O DBT, por sua parte, se mostra como um analito muito sensível ao ambiente, pois a presença da acridina e benzo[h]acridina na sua mesma proporção no meio provoca uma diminuição de aproximadamente 70 % do sinal. As outras substâncias concomitantes, 9-metilacridina e benzo[b]nafto[2,3-d] tiofeno, não geraram nenhuma diminuição da intensidade do sinal na proporção estudada.

É importante frisar que em nenhum das substâncias estudadas produziram sinais fosforescentes nas condições experimentais otimizadas para o DBT e para o CBZ. Esse fato tem como consequência que nos estudos com as misturas, nenhum valor de  $I_{\text{analito+interferente}} / I_{\text{analito}}$  indicou o aparecimento de interferência espectral, cujas correções exigiriam recursos adicionais de varreduras especiais de espectro e calibrações

multivariadas. No caso das interferências não-espectrais observadas, o uso de calibração por adição do analito pode, a princípio resolver esse problema de forma simples.

## **6.5. Exatidão**

Um dos processos utilizados para avaliar a exatidão de um método analítico é a realização de ensaios de recuperação. A recuperação do analito pode ser estimada através da análise de amostras adicionadas com quantidades conhecidas do mesmo. No caso foram utilizados amostras de gasolina, querosene, água e sedimento no intuito de testar os métodos de FTAS propostos para a determinação do CBZ e o DBT. Três diferentes concentrações do analito foram adicionadas nas distintas amostras. As recuperações dos analitos foram calculadas a partir da seguinte equação 12:

$$\text{Recuperação (\%)} = \left( \frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) \times 100 \quad (6)$$

Onde  $C_1$  = concentração determinada na amostra adicionada;  $C_2$  = concentração determinada na amostra não adicionada;  $C_3$  = concentração adicionada.

A seguir são mostradas as aplicações dos métodos nos ensaios de recuperação para cada tipo de amostra (combustíveis fósseis e amostras ambientais). Todas as amostras foram fortificadas com quantidades conhecidas dos analitos e os brancos (amostras não fortificadas) foram monitorados com o intuito de compensar qualquer sinal analítico original da amostra.

### **6.5.1. Combustíveis fósseis**

O objetivo de testar a aplicabilidade dos métodos fosforimétricos desenvolvidos neste tipo de amostra esteve relacionado com a necessidade atual de propor métodos para a determinação de compostos de nitrogênio e de enxofre nos combustíveis fósseis líquidos. Estes tipos de analitos podem ter efeito relevante na qualidade e estabilidade desses derivados do petróleo e indicar o potencial desses produtos em termos de poluição ambiental. Compostos como o

CBZ e o DBT, substâncias aromáticas heterocíclicas recalcitrantes, são responsáveis pelo caráter corrosivo dos produtos do petróleo e envenenamento de catalisadores dos processos de refinação. Geralmente eles se encontram no petróleo bruto convencional entre 0,04 e 5 % (m/m).

Por tal motivo, amostras de gasolina, tipo comum e aditivada, coletadas no dia da análise, foram divididas em dois grupos de três frações de 10 mL, um para a análise do CBZ e outro para o DBT. Essas frações foram fortificadas com  $0,0092 \pm 0,0001$  g de CBZ e  $0,0101 \pm 0,0001$  g de DBT, respectivamente. MEM's foram preparadas a partir da adição de um mililitro das gasolinas ou querosene fortificados em substituição do iso-octano na formulação da MEM otimizada. MED's foram obtidas pela adição de 220  $\mu$ L da MEM junto com os volumes otimizados de KI e de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ . No entanto, nenhum sinal fosforescente foi obtido nestas condições.

Diferentes testes associados ao preparo da MEM foram realizados com o intuito de viabilizar a observação do sinal fosforescente dos analitos na MED. Entre essas mudanças incluíram a mudanças no fator de diluição da MEM, mudanças na concentração de analito adicionada na gasolina e diminuição no volume de gasolina empregado na preparação da MEM (de 10 para 1 % do volume total da MEM). Mesmo com essas mudanças, nenhum resultado satisfatório foi obtido. Esses resultados indicaram que a matriz (gasolina ou querosene) definitivamente atenuou totalmente o sinal fosforescente dos dois analitos. Essa interferência se deu provavelmente pela presença de uma substância desativadora do estado excitado tripleto na amostra líquida, provocando um efeito “quenching dinâmico”. Essa afirmação é baseada nos sinais fosforescentes observados de CBZ e DBT em gasolina depositadas em substrato sólido, onde não existe difusão de interferentes.

Esse efeito, causado pela presença de agentes desativadores, pode ser quantificado pela relação de Stern-Volmer (Equação 7).

$$\frac{I^0}{I_L} = 1 + K_q[Q] \quad (7)$$

onde  $I_L^0$  e  $I_L$  são as intensidades das luminescências na ausência e na presença do agente desativador Q,  $K_q$  é a constante de Stern-Volmer, que por sua vez é a razão entre a constante de velocidade do quenching ( $k_q$ ) e o somatório das outras constantes de velocidade dos processos de desativação do estado excitado tripleto. A relação entre  $K_q$  e  $k_q$  é dada pela Equação 8, onde  $\tau_0$  é o tempo de vida do evento luminescente na ausência do agente desativador.

$$K_q = k_q \tau_0 \quad (8)$$

Considerando que a taxa para colisão bimolecular em solução na temperatura ambiente é da ordem de  $10^{10} \text{ L mol}^{-1}\text{s}^{-1}$ , e que todas as colisões resultam em desativação, o valor máximo para  $k_q$  será  $10^{10} \text{ L mol}^{-1}\text{s}^{-1}$ . No caso da fluorescência, cujo tempo de vida é da ordem de ns (por exemplo,  $\tau_0 = 1 \text{ ns}$ ), o valor esperado para  $K_q$  é  $10 \text{ L mol}^{-1}$ , que ao ser substituído na Equação de Stern-Volmer, implica em um quenching dinâmico da fluorescência quase negligenciável para concentrações de agente desativador na ordem de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$ . Para efeito de comparação, no caso da fosforescência (que tem  $\tau_0$  da ordem de ms),  $k_q$  pode alcançar  $10^7 \text{ L mol}^{-1}$ , o que implica em total desativação da luminescência com concentrações de agente desativador na ordem de  $1 \text{ mmol L}^{-1}$ . Assim, no caso da fosforescência, a presença de pequenas quantidades de uma ou mais espécies desativadoras irá ocasionar considerável diminuição de sinal<sup>49,61</sup>.

Visando encontrar uma estratégia que possibilitasse a observação do sinal fosforescente do CBZ e do DBT, avaliaram-se possibilidades para minimização do quenching dinâmico. Uma opção seria a separação da substância(s) desativadora(s) da solução de onde a fosforescência do analito será medida. Nesse caso, um procedimento simples de isolamento deve ser usado para não se aumentar o grau de complexidade da marcha analítica. Assim, o volume de gasolina utilizado na preparação da MEM foi evaporado sob um fluxo de nitrogênio e re-dissolvido com iso-octano (um solvente “limpo” já testado com sucesso na obtenção de fosforescência nas MED's). Nesse caso, volumes de 1 e 10 mL de gasolina foram evaporados e retomados em 1 mL de iso-octano. Foi observada uma grande quantidade de resíduos após a evaporação da gasolina. Parte desses resíduos não pode ser re-dissolvido com iso-octano, o que a princípio

poderia ser uma boa indicação de sucesso do procedimento, se o analito de interesse fosse separado da parte problemática da matriz durante o processo.

Uma segunda opção para minimização de interferências de agentes desativadores seria a diluição dos mesmos, pois como pode ser visto na equação de Stern-Volmer, esse tipo de desativação é proporcional à concentração dessas espécies. Um ponto crítico desse procedimento é a consequente diluição do analito na MED's diminuindo o poder de quantificação do método. No entanto, pelos valores de LD e de LQ proporcionados pelo método esse efeito colateral poderia ser tolerado. Nesse caso, decidiu-se preparar as MEM-s a partir de 100  $\mu$ L da gasolina enriquecida. O procedimento de evaporação foi incorporado no processo, pois o tempo necessário para evaporação desse volume é mínimo (menos de 5 min) proporcionando em parte a separação de resíduos que poderiam ser prejudiciais mesmo nesse nível de quantidade de amostra. O material evaporado foi re-dissolvido um mililitro de iso-octano. A partir desse material as MED's, de onde os sinais fosforescentes serão medidos, foram então preparadas. Este procedimento foi repetido três vezes em dias diferentes. Por se considerar que o efeito da matriz seria minimizado após esse procedimento, curvas analíticas foram usadas na quantificação dos analitos.

Com a utilização desse procedimento, resultados satisfatórios foram conseguidos para o CBZ na gasolina comum, em todos os níveis de concentração do analito testados. No caso das gasolinas aditivadas (F1M e F1MP), recuperações reprodutíveis, mas em torno de 30 % foram alcançadas. Esses resultados podem ser vistos na Tabela 29. As diferenças químicas entre as gasolinas deveriam gerar um efeito sobre o sinal fosforescente do CBZ, como foi observado. Este efeito poderia estar relacionado à presença de agentes dispersantes que diferencia a gasolina comum da aditivada. Na gasolina aditivada, por exemplo, existem substâncias como o tricarbonil metilciclopentadienil manganês (MMT) que podem ser responsáveis pela atenuação do sinal analítico do CBZ.

Tabela 29. Percentuais de recuperação para o CBZ nas amostras de gasolina comum e aditivada fortificadas usando curva analítica.

Nível de concentração do CBZ na amostra (ng mL <sup>-1</sup> )	% Recuperação		
	Comum	F1M	F1MP
100	90 ± 4	32 ± 3	33 ± 6
500	94 ± 6	30 ± 5	24 ± 2
700	91 ± 3	28 ± 3	30 ± 2

Uma nova estratégia para quantificação de CBZ em gasolina aditivada teve que ser testada. Assim, fez-se um teste de recuperação com procedimento de assemelhação de matriz, usando a adição de padrões diretamente à gasolina não-enriquecida para produção de uma curva de calibração (Figura 37), cujo teste de verificação de linearidade e de eficiência da regressão são mostrados na Tabela 30. Recuperação acima de 95 % foi alcançada para uma amostra teste enriquecida quantificada pela curva preparada por assemelhação de matriz. Esse resultado indicou que o procedimento de adição do analito poderia ser utilizado com sucesso na quantificação prática do CBZ nessas amostras.

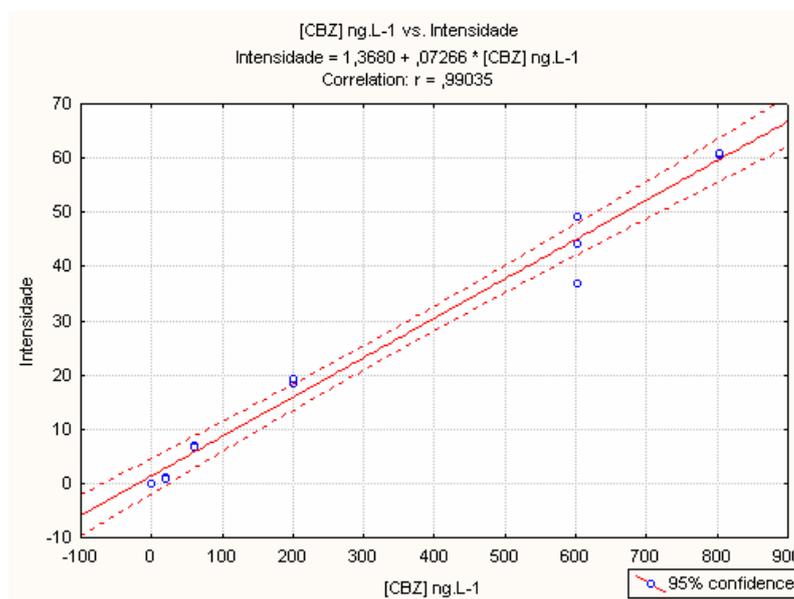


Figura 37. Curva analítica do CBZ.

Tabela 30. Testes de verificação de linearidade e eficiência da regressão para a curva analítica do CBZ.

Linearidade	“a” é diferente de zero?
$F_{\text{calculado}} = \text{MQReg}/\text{MQRes} = 510,97$	$t_{\text{calculado}} = b/S_b = 22,61$
$F_{1,11; 0,05} = 4,84$	$T_{1,11; 0,05} = 1,79$
$F_{\text{calculado}} > F_{\text{crítico}}$	$t_{\text{calculado}} > t_{\text{crítico}} \rightarrow a \neq 0$
Eficiência	
$R^2 = \text{SQReg}/\text{SQRes} = 0,9788$	
$R^2 > 0,95$	
Se Aceita a eficiência	
Intervalos de 95% confiança	
$\alpha = 1,36 \pm 1,45 = 0$	
$\beta = 0,073 \pm 0,003$	

MQReg = média quadrática da regressão; MQRes = média quadrática do resíduo; SQReg = somatória quadrática da regressão; SQRes = somatória quadrática da resíduo.

$\alpha$  = coeficiente do intercepto,  $\beta$  = coeficiente da inclinação da curva.

Um procedimento de adição do analito foi realizado com o uso de três adições de concentrações diferentes de CBZ em amostras de gasolina enriquecida com o analito de interesse. Os resultados dessas quantificações, para três níveis de concentração de CBZ, são mostrados na Tabela 31, indicando o sucesso dessa estratégia de quantificação. O valor de sinal de uma gasolina não-enriquecida foi avaliado e foi próximo de zero, indicando a não necessidade de desconto de sinal no cálculo final.

Tabela 31. Percentuais de recuperação para o CBZ nas amostras de gasolina aditivada enriquecida usando o procedimento de adição do analito.

Nível de concentração do CBZ na amostra (ng mL <sup>-1</sup> )	% Recuperação	
	F1M	F1MP
100	98 ± 4	97 ± 4
500	101 ± 5	98 ± 3
700	104 ± 3	99 ± 4

Outro combustível fóssil avaliado foi o querosene, onde os mesmos problemas relacionados com a interferência da matriz foram encontrados com o uso do procedimento de preparação de MEM diretamente com o querosene (em substituição do n-hexadecano). O uso do procedimento de evaporação do querosene não foi possível devido à baixa volatilidade desse líquido, o que

tornaria extremamente lento o processo baseado no fluxo de nitrogênio. O aquecimento da amostra para sua evaporação foi descartado devido à possibilidade de decomposição do analito na amostra. Desse modo, a preparação de MEM com 100 µL de amostra foi testado, mas sem a evaporação da mesma. Infelizmente, mesmo assim nenhum sinal foi observado. O que indicou que a evaporação é parte crítica no processo.

No caso do DBT, nenhum sinal fosforescente foi observado em todos os casos e em nenhuma das matrizes, seja nas gasolinas comum e aditivada seja no querosene. Nenhuma estratégia de análise das indicadas acima surtiu efeito, indicando uma grande sensibilidade desse analito em relação às espécies desativadoras presentes na matriz.

Um procedimento adicional, visando à extração do DBT em acetonitrila (solvente imiscível com o querosene), foi tentado. Mas nenhum sinal fosforescente foi observado no solvente de extração mesmo este sendo evaporado e re-dissolvido em n-hexadecano.

### **6.5.2.**

#### **Amostras de extratos orgânicos de água e de sedimento fortificados**

Extratos de água contaminada da Bahia de Guanabara e de sedimento referenciado foram fornecidos pelos laboratórios de estudos ambientais (LEA) e de Estudos Marinhos e Ambientais (LABMAM) da PUC-Rio. A finalidade de se testar os métodos fosforimétricos desenvolvidos para o CBZ e para o DBT nesses tipos de amostras foi fundamentada no fato destes compartimentos ambientais serem suscetíveis à contaminação por petróleo, os quais que podem conter quantidades importantes de CBZ e/ou DBT. O procedimento geral de preparação de amostras desse tipo se baseia na extração dos HPA's em um solvente orgânico (hexano, heptano e outros).

Previamente às medições fosforimétricas, os extratos foram divididos em duas partes, uma foi usada como controle e a outra foi enriquecida com CBZ ou DBT. Em seguida, frações de 100 µL foram coletadas em triplicata em tubos de 10 mL e purgados por 5 minutos com gás N<sub>2</sub> até sua completa evaporação. O material residual foi re-dissolvido usando um mililitro de iso-octano para o respectivo preparo da MEM. Volumes apropriados da mesma junto com os

volumes otimizados de KI e de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> foram usados para o preparo das MED's. A partir das MED's os sinais analíticos do CBZ e DBT foram medidos em três níveis diferentes de concentração. Este procedimento foi repetido três vezes em dias diferentes, sendo a quantificação feita por uso de curvas analíticas. Na Tabela 32 a seguir apresentam-se os percentuais de recuperação obtidos nestas duas amostras.

Tabela 32. Percentuais de recuperação para o CBZ nas amostras de água e sedimento fortificadas.

[CBZ] ng mL <sup>-1</sup>	% Recuperação	
	água	sedimento
100	96 ± 6	106 ± 7
500	96 ± 5	110 ± 9
700	95 ± 3	111 ± 6

Embora tenham sido necessárias pequenas modificações do método inicial para avaliar a recuperação pode se concluir que o método de fosforimetria na temperatura ambiente em solução desenvolvido para o CBZ pode ser aplicado nesses extratos orgânicos.

No caso do DBT, igualmente ao observado nas amostras de combustíveis líquidos, nenhum sinal fosforescente foi observado. Isso de fato confirmou a sensibilidade do DBT quanto à interferência de componentes da matriz, mesmo quando procedimentos para minimização desses efeitos (extração, evaporação, diluição, etc) são realizados.