

# *Documentos*

---

ISSN 1516-4691

Julho, 2009

79

**Métodos de extração de  
hidrocarbonetos policíclicos  
aromáticos em amostra de  
solo, sedimento e lodo**





ISSN 1516-4691

Julho, 2009

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Centro Nacional de Pesquisa de Monitoramento e Avaliação de Impacto Ambiental  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

## **Documentos 79**

### **Métodos de extração de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em amostra de solo, sedimento e lodo**

**Sonia C. N. Queiroz  
Vera Lúcia Ferracini  
Débora R. Cassoli de Souza**

Embrapa Meio Ambiente  
Jagariúna, SP  
2009

Exemplares dessa publicação podem ser solicitados à:

Embrapa Meio Ambiente  
Rodovia SP 340 - km 127,5 - Tanquinho Velho  
Caixa Postal 69 13820-000, Jaguariúna, SP  
Fone: (19) 3311-2650 Fax: (19) 3311-2640  
sac@cnpma.embrapa.br  
www.cnpma.embrapa.br

#### **Comitê de Publicação da Unidade**

Presidente: *Ariovaldo Luchiarí Júnior*

Secretário-Executivo: *Luiz Antônio S. Melo*

Secretário: *Sandro Freitas Nunes*

Bibliotecária: *Maria Amélia de Toledo Leme*

Membros: *Ladislau Araújo Skorupa, Heloisa Ferreira Filizola, Adriana M. M. Pires, Emília Hamada e Cláudio M. Jonsson*

Normalização Bibliográfica: *Maria Amélia de Toledo Leme*

Editoração Eletrônica: *Alexandre Rita da Conceição*

**1ª edição eletrônica**  
(2009)

#### **Todos os direitos reservados.**

A reprodução não-autorizada desta publicação, no seu todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

---

Queiroz, Sonia C. N.

Métodos de extração de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em amostra de solo, sedimento e lodo / Sonia C. N. Queiroz, Vera Lúcia Ferracini, Débora R. Cassoli de Souza. – Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009.

15 p. : il. — (Embrapa Meio Ambiente. Documentos; 79)

1. Contaminantes orgânicos. 2. Métodos de extração. I. Queiroz, Sônia C. N. II. Ferracini, Vera Lúcia. III. Souza, Débora R. Cassoli de. IV. Título. V. Série.

---

CDD 547.01

© Embrapa 2009

## **Autores**

### ***Sonia C. N. Queiroz***

Química, Ph. D em Química, Embrapa Meio Ambiente,  
Rodovia SP 340 - Km 127,5 - Caixa Postal 69,  
Tanquinho Velho, 13.820-000, Jaguariúna, SP.  
sonia@cnpma.embrapa.br

### ***Vera Lúcia Ferracini***

Química, Ph. D. em Química, Embrapa Meio Ambiente,  
Rod. SP 340, km 127,5 - Caixa Postal 69, Tanquinho  
Velho, 13.820-000 Jaguariúna, SP.  
veraf@cnpma.embrapa.br

### ***Débora R. Cassoli de Souza***

Química, Doutora em Química, Embrapa Meio  
Ambiente, Rodovia SP 340 - Km 127,5 - Caixa Postal  
69, Tanquinho Velho, 13.820-000 Jaguariúna, SP.  
debora@cnpma.embrapa.br

# Sumário

<b>Introdução .....</b>	<b>06</b>
<b>Métodos de extração .....</b>	<b>08</b>
<b>Conclusão .....</b>	<b>11</b>
<b>Referências .....</b>	<b>12</b>

# Métodos de extração de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em amostra de solo, sedimento e lodo

---

*Sônia C. N. Queiroz  
Vera Lúcia Ferracini  
Débora R. Cassoli de Souza*

## Introdução

A aplicação de lodo de esgoto na agricultura tem sido um caminho econômico de reaproveitamento e destino desse material desde 1980 para muitos países. Entretanto, há preocupação sobre seu uso devido à presença de metais pesados e contaminantes orgânicos, dentre eles os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs). O interesse pelos HPAs é devido a sua persistência no solo, sua baixa biodegradabilidade, alta lipofilicidade, possível efeito prejudicial à biota e carcinogenicidade em humanos (PÉREZ et al., 2001; BRUNETE, 2007). Os HPAs são compostos formados pela fusão de um ou mais anéis benzênicos condensados, e são gerados por processos naturais (vulcões, por exemplo) e antropogênicos (derramamento de petróleo, queima de combustíveis, resíduos industriais, etc.) e muitos processos térmicos dão origem a essas substâncias, como por exemplo, a combustão de biomassa vegetal (BLUMMER; YOUNGLOAD, 1975). Após a emissão, os HPAs, que são substâncias lipofílicas, podem persistir no ambiente e as suas distribuições nos compartimentos ambientais (ar, água, solo, sedimento, biota aquática e planta) dependem de suas propriedades físico-químicas e das características de cada compartimento. Há mais de cem diferentes HPAs, e 16 deles são considerados como poluentes prioritários segundo o CWA (Clean Water Act) da EPA (Environmental Protection Agency). O grupo I inclui os 7 mais conhecidos como 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 grupo II inclui os 9 não considerados poluentes separadamente, mas podem inibir ou aumentar a

respostas de HPAs carcinogênicos, eles são: acenafteno, acenaftileno, antraceno, benzo[g,h,i]perileno, fluoranteno, fluoreno, naftaleno, fenantreno e pireno (EPA, 2007).

**Tabela 1.** Classificação dos HPAs prioritários segundo EPA e quanto a sua carcinogenicidade (IARC).

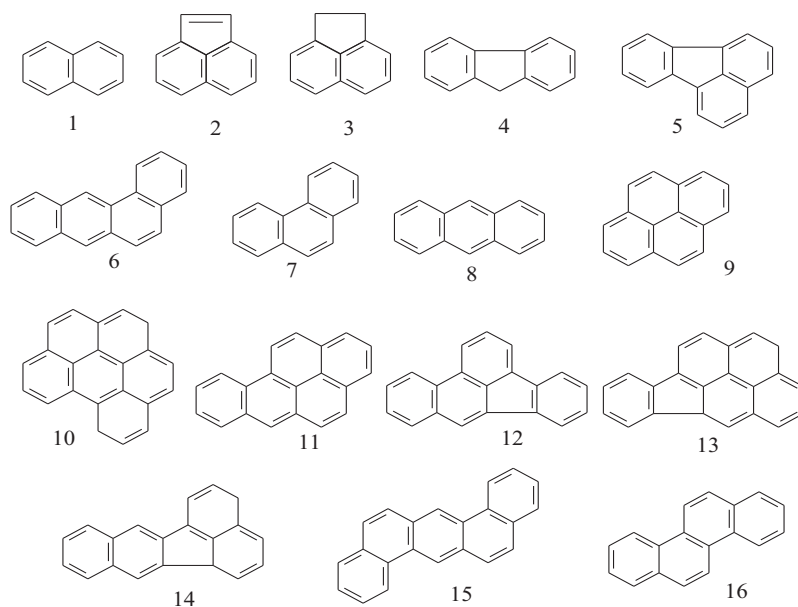
HPAs	IARC	EPA
Naftaleno	2B	P
Acenaftileno	NC	P
Acenafteno	3	P
Fenantreno	3	P
Antraceno	3	P
Fluoreno	3	P
Pireno	3	P
Fluoranteno	3	P
Benzo[a]antraceno	2B	P
Criseno	2B	P
Benzo[b]fluoranteno	2B	P
Benzo[k]fluoranteno	2B	P
Benzo[a]pireno	1	P
Indeno[1,2,3-cd]pireno	2B	P
Dibenzo[a,h]antraceno	2A	P
Benzo[g,h,i]perileno	3	P

IARC – International Agency for Research on Cancer; EPA = Environmental Protection Agency; 1 = carcinogênico para humanos; 2A = provável carcinogênico para humanos – limitada evidência em humanos e suficiente em animais; 2B = possível carcinogênico em humanos – limitada evidência em humanos e insuficiente em animais; 3 = não é classificada como carcinogênico em humanos. P = prioritário; NC = não consta (acesso em 21/08/2008).

O nível permissível dos HPAs fluoranteno, benzo[b]fluoranteno e benzo[a]pireno em lodo foi estabelecido pela União Européia como 5.55, 6.20, e 2.13 mg/Kg de massa seca, respectivamente (BARAN; OLESZCZUK, 2003). De acordo com os padrões austríacos, a concentração máxima de 6 HPAs (fluoranteno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[g,h,i]perileno e indeno[1,2,3-cd]pireno) em lodo utilizado na agricultura não pode exceder 9.6 mg/kg (FÜRHACKER; HABERL, 1995). Dessa forma, é de vital importância o desenvolvimento de métodos analíticos, devidamente validados, para determinação destes 16 prioritários HPAs em níveis baixos de concentração.

### Métodos de extração

Para se determinar contaminantes orgânicos em níveis baixos de concentração em amostras ambientais as seguintes etapas devem ser seguidas: extração do(s) analito(s) da matriz; purificação dos extratos através da remoção de interferentes (*clean-up*); pré-concentração dos extratos a fim ajustar as concentrações dos analitos ao nível de detecção dos aparelhos; identificação e quantificação do(s) contaminante(s) presente(s) nas amostras por técnicas instrumentais, sendo as principais a cromatografia gasosa (CG) e a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Todas estas etapas são críticas e, portanto podem influenciar nos resultados das análises.



**Fig. 1.** Estruturas moleculares dos 16 HPAs prioritários segundo a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US EPA). 1. Naftaleno, 2. Acenaftileno, 3. Acenafteno, 4. Fluoreno, 5. Fluoranteno, 6. Benzo[a]antraceno, 7. Fenantreno, 8. Antraceno, 9. Pireno, 10. Benzo[g,h,i]perileno, 11. Benzo[a]pireno, 12. Benzo[b]fluoranteno, 13. Indeno[1,2,3-cd]pireno, 14. Benzo[k]fluoranteno, 15. Dibenzo[a,h]antraceno e 16. Criseno



Há uma variedade de técnicas de extração com solventes comumente utilizadas para extrair HPAs de amostras sólidas (solo, lodo e sedimento). Os processos tradicionais de extração incluem Soxhlet (WONG; WILLIAMS, 1980; GRIMALT et al., 1984; LEE et al., 1987; CASTRO; GARCÍA-AYUSO, 1998; GUERIN, 1998; SAUVAIN et al., 2001), ultrassonicação (GRIMALT et al., 1984; KRAHN et al., 1991; SUN et al., 1998; GUERIN, 1998; PÉREZ et al., 2001; BARAN; OLESZCZUK, 2002; BARAN; OLESZCZUK, 2003; SISSINO et al., 2003; LUQUE-GARCÍA; LUQUE DE CASTRO, 2003; HELALEH et al., 2005; BANJOO; NELSON, 2005; BRUNETE et al., 2007), agitação mecânica (MACLEOD et al., 1985; BERSET et al., 1999) e refluxo com KOH metanólico (WONG et al., 1980; BANJOO; NELSON, 2005). Outras técnicas mais modernas incluem extração por fluido supercrítico (SCF – *super critical fluide*) (REINDL; HÖFLER 1994; BARNABAS et al., 1995; BENNER, 1998; MORSELLI et al., 1999; LUQUE DE CASTRO; JIMÉNEZ-CARMONA, 2000), extração por líquido pressurizado (PLE – *pressure liquid extraction*) ou ASE (*accelerated solvent extraction*) - nome comercial da Dionex (HELALEH et al., 2005), extração assistida por microondas (MAE – *microwave assisted extraction*) e extração assistida por microondas focalizada (FMAE – *focused microwave assisted extraction*). Cada uma das técnicas tem o seu mérito e a escolha depende de vários fatores, incluindo custo do equipamento, custo operacional, quantidade de solvente orgânico requerida, número de amostras que podem ser extraídas por unidade de tempo e disponibilidade de métodos padronizados.

Vários estudos têm sido conduzidos a fim de comparar procedimentos tradicionais com outras técnicas de extração. A extração com Soxhlet é o método recomendado pela EPA para a extração de compostos orgânicos semi-voláteis e não-voláteis de matrizes sólidas. A extração por Soxhlet tem sido muitas vezes preferida por ser uma técnica padronizada, com recuperações aceitáveis, comparadas com técnicas como extração assistida por microondas (MAE), PLE (*Pressurized liquid extraction*) e particularmente extração por fluido supercrítico (*Supercritical Fluid Extraction - SFE*).

Entretanto, a técnica Soxhlet é laboriosa, requer uma grande quantidade de solvente e pode degradar compostos termo-lábeis, além disso, o tempo de extração é longo (em torno de 6 – 24 h). A técnica com uso de KOH metanólico também requer longo tempo de extração, cerca de 12 horas (BANJOO; NELSON, 2005). Já a extração por solvente acelerado (*Accelerated solvent extraction - ASE*) (HEEMKEN, 1997) requer tempo menor de extração (cerca de 30 minutos), menores quantidades de solventes e maior tempo para desenvolvimento de metodologia quando com-

parada com a extração por Soxhlet (HELALEH et al., 2005).

Dependendo das condições, a precisão obtida para extração com ultrassonicação pode ser maior ou menor que as obtidas por Soxhlet. A otimização dos parâmetros de extração ultrassônica, incluindo solvente ou composição de solvente, tempo de extração, quantidade de amostra, e teor de água são requeridas para se obter extrações eficientes e reprodutíveis (BANJOO; NELSON, 2005).

Vários estudos têm sido reportados sobre a eficiência da ultrassonicação para analitos orgânicos em sedimentos e solos utilizando diferentes solventes. Grimalt et al. (1984) reportaram eficiências mais altas com diclorometano-metanol quando comparado com *n*-hexano e clorofórmio para extração de hidrocarbonetos poliaromáticos em sedimentos marinhos. Sun et al., 1998, reportaram a eficiência de extração de vários solventes utilizando ultrassonicação e extração em fase sólida para limpeza de amostras dos 16 HPAs prioritários do US EPA em solos. Acetona foi o solvente investigado que mostrou ser mais eficiente para a extração dos HPAs em solo. A ordem das eficiências de extração dos solventes usados foi a seguinte: acetona > metanol > diclorometano » acetonitrila > 2-propanol > ciclohexano.

A etapa de redução do volume de solvente é também muito crítica, principalmente para os analitos semi-voláteis. Assim, métodos de redução de volume de solventes para concentração de HPAs tem sido estudados (CONSTABLE et al., 1984) e o uso de gelo na evaporação mostrou ser eficiente para evitar perdas por volatilização (QUEIROZ et al., 2008).

Ultrassonicação oferece uma série de vantagens que fazem dele o método ideal para analisar um grande número de amostras. Isto inclui alta eficiência de extração, baixo custo do equipamento e fácil operação, pouco ou nenhum preparo de amostra, baixa temperatura de extração e capacidade de processar várias amostras simultaneamente (BANJOO; NELSON, 2005). Como resultado muitos laboratórios, incluindo o Laboratório de Resíduos e Contaminantes (LRC) da Embrapa Meio Ambiente, tem adotado a ultrassonicação como método padrão para a extração de HPAs em amostras ambientais.

## Conclusão

O método tradicional por Soxhlet envolve grande consumo de solvente e considerável tempo, enquanto os métodos como extração assistida por microondas (*MAE*), *PLE* (*Pressurized liquid extraction*) e particularmente *extração por fluido supercrítico* (*Supercritical Fluid Extraction - SFE*) embora sejam técnicas mais rápidas, possuem custos maiores nas análises devido aos equipamentos e consumíveis serem mais caros. A técnica de extração com solvente e agitação ultrassônica pode ser utilizada para este fim com a vantagem de consumir menor volume de solvente e tempo de análise, quando comparada ao Soxhlet e KOH metanólico, além do menor custo do equipamento.

## Referências

BANJOO, D. R.; NELSON, P. K. Improved ultrasonic extraction procedure for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1066, n. 1-2, p. 9-18, 2005.

BARAN, S.; OLESZCZUK, P. Chromatography determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in sewage sludge, soil, and sewage sludge-amended soils. **Polish Journal of Environmental Studies**, Olsztyn, v. 11, n. 6, p. 609-615, 2002.

BARAN, S.; OLESZCZUK, P. The concentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludge in relation to the amount and origin of purified sewage. **Polish Journal of Environmental Studies**, Olsztyn, v. 12, n. 5, p. 523-529, 2003.

BARNABAS, I. J.; DEAN, J. R.; TOMLINS, W. R.; OWEN, S. P. Experimental design approach for the extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from soil using supercritical carbon dioxide. **Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 67, p. 2064-2069, 1995.

BENNER, B. A. Summarizing the effectiveness of supercritical fluid extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from natural matrix environmental samples. **Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 70, p. 4594-4601, 1998.

BERSET, J. D.; EJEM, M.; HOLZER, R.; LISCHER, P. Comparison of different drying, extraction and detection techniques for the determination of priority polycyclic aromatic hydrocarbons in background contaminated soil samples. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 383, n. 3, p. 263-275, 1999.

BLUMER, M.; YOUNGBLOOD, W. W. Polycyclic aromatic hydrocarbons in soils and recent sediments. **Science**, New York, v. 188, n. 4183, p. 53-55, 1975.

BRUNETE-SÁNCHEZ, 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**, Amsterdam, v. 1148, p. 219-227, 2007.

CASTRO, L. M. D.; GARCÍA-AYUSO, L. E. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 369, p. 1-10, 1998.

CONSTABLE, D.; SMITH, J. C.; TANAKA, S. R. Comparison of solvent reduction methods for concentration of polycyclic aromatic hydrocarbons solutions. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 18, n. 12, p. 975-978, 1984.

FÜRHACKER, M.; HABERL, R. Composting of sewage sludge in a rotating vessel. **Water Science and Technology**, Oxford, v. 32, p. 121-127, 1995.

GRIMALT, J. O.; MARFIL, C.; ALBAIGÉS, J. Analysis of hydrocarbons in aquatic sediments. I. Sample handling and extraction. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, New York, v. 18, p. 183-194, 1984.

GUERIN, T. The extraction of aged polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) residues from a clay soil using sonication and a Soxhlet procedure: a comparative study. **Journal of Environmental Monitoring**, London, v. 1, p. 63-67, 1999.

HEEMKEN, O. P.; THEOBALD, N.; WENCLAWIAK, B. W. Comparison of ASE and SFE with Soxhlet, sonication, and methanolic saponification extractions for the determination of organic micropollutants in marine particulate matter. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 69, p. 2171-2180, 1997.

HELALEH, M.; AL-OMAIR, I. H.; NISAR, A.; GEVAO, B. Validation of various extraction techniques for the quantitative analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludges using gas chromatography-ion trap mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1083, p. 153-160, 2005.

IARC – International Agency for Research on Cancer. **Agents reviewed by the IARC Monographs, v. 1-99**. Disponível em: (<http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/crthallalph.php>). Acesso em: 21 ago. 2008.

KRAHN, M. M.; YLITALO, G. M.; JOSS, J.; CHAN, S.-L. Rapid, semi-quantitative screening of sediments for aromatic compounds using sonic extraction and hplc/fluorescence analysis. **Marine Environmental Research**, Barking, v. 31, n. 3, p. 175-193, 1991.

- 14 | Métodos de extração de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em amostra de solo, sedimento e lodo

LEE, H.-B; DOOKHRAN, G.; CHAU, A. S. Y. Analytical reference materials. Part VI. Development and certification of a sediment reference material for selected polynuclear aromatic hydrocarbons. **The Analyst**, London, v. 112, n. 1, p. 31-35, 1987.

**LUQUE DE CASTRO, M. D.; JIMÉNEZ-CARMONA, M. M. Where is supercritical fluid extraction going?** Trends in Analytical Chemistry, Amsterdam, v. 19, n. 4, p. 223-228, 2000.

LUQUE-GARCÍA, J.L.; LUQUE DE CASTRO, M. D. Ultrasound: a powerful tool for leaching. **Trends in Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 22, n.1, p. 41-47, 2003.

MACLEOD, W. D.; BROWN, D. W.; FRIEDMAN, A. J.; BURROWS, D. G.; MAYNES, O.; PEARCE, R. W.; WIGREN, C. A.; BOGAR, R. G. **Standard analytical procedures of the National Oceanic Atmospheric Administration (NOAA), National Analytical Facility, 1985-1986:** Extractable toxic organic compounds. 2. ed. Seattle: National Marine Fisheries Service, 1985. 121 p. (NOAA Technical Memorandum, NMFS F/NWC-92).

MORSELLI, L.; SETTI L.; IANNUCCILLI, A.; MALY, S.; DINELLI, G.; QUATTRONI, G. Supercritical fluid extraction for the determination of petroleum hydrocarbons in soil. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 845, n. 1-2, p. 357- 363, 1999.

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, n. 1, p. 57-65, 2001.

QUEIROZ, S. C. N.; SOUZA, D. R. C. de; PARAÍBA, L. C.; TAVARES, M. M.; FERRACINI, V. L. Desenvolvimento e validação de método para determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em solo. In: COLACRO XII - CONGRESSO LATINO AMERICANO DE CROMATOGRÁFIA E TÉCNICAS RELACIONADAS, 12., 2008, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: UFSC, 2008. CD-ROM.

REINDL, S.; HÖFLER, F. Optimization of the parameters in supercritical fluid extraction of polynuclear aromatic hydrocarbons from soil samples. **Analytical Chemistry**, Amsterdam, v. 66, p. 1808, 1994.

SAUVAIN, J. J.; VU DUC, T. Development of an analytical method for the simultaneous determination of 15 carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons and polycyclic aromatic nitrogen heterocyclic compounds. Application to diesel particulates. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, Berlin, v. 371, n. 7, p. 966-974, 2001.

SISINNO, C. L. S.; PEREIRA NETTO, A. D.; REGO, E. C. P.; LIMA, G. S. V. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em resíduos sólidos industriais: uma avaliação preliminar do risco potencial de contaminação ambiental e humana em áreas de disposição de resíduos. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 2, p. 671-678, 2003.

SUN, F.; LITTLEJOHN D.; GIBSON, M. D. Ultrasonication extraction and solid phase extraction clean-up for determination of US Epa 16 priority pollutant polycyclic aromatic hydrocarbons in soils by reversed-phase liquid chromatography with ultraviolet absorption detection. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 364, n. 1-2, p. 1-11, 1998.

US EPA - United States Environmental Protection Agency. **Clean Water Act**. Boston, 2007.

WONG, M. K.; WILLIAMS, J. P. B. A study of three extraction methods for hydrocarbons in marine sediment. **Marine Chemistry**, Amsterdam, v. 9, p. 183-192, 1980.