



## ESTUDOS DE PARÂMETROS DE OTIMIZAÇÃO DE EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA NA ADSORÇÃO DE HPAs EM MEIO APOLAR

Nathália C. da Silva<sup>1</sup>; Albina Mikhralieva<sup>1</sup>; Carlos G. Massone<sup>1</sup>; Volodymyr Zaitsev<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio), Departamento de Química, Rua Marquês de São Vicente, 225, Gávea, 22451-000, Rio de Janeiro - RJ, Brasil*

**Palavras-Chave:** SPE, adsorventes, solventes

### Introdução

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são uma classe de compostos poluentes que contêm dois ou mais anéis aromáticos fundidos em sua estrutura e são altamente estáveis e amplamente dispersos em diversas matrizes: água, solo ou partículas de poeira, podendo ser formados durante processos biológicos ou antropogênicos (LUCCI et al., 2012). Esses compostos são divididos de acordo com sua massa molecular, sendo que os mais pesados possuem maior número de anéis aromáticos em sua estrutura, sendo mais estáveis e apresentam um maior caráter lipofílico, característica que facilita sua absorção pelo corpo (REY-SALGUEIRO et al., 2009).

Devido à sua natureza lipofílica, os HPAs podem contaminar facilmente óleos, mamíferos e organismos marinhos, e quando presentes nos alimentos, esses compostos contaminam todos os tecidos do corpo humano, principalmente os que contêm óleos e gorduras (LIGUORI et al., 2006). Os óleos vegetais comestíveis comumente utilizados podem apresentar elevado teor de HPA. Os autores Dost e Ideli (2012) avaliaram a contaminação de nove tipos relevantes de HPAs (fluoreno (Flu), fenantreno (Fen), antraceno (Ant), fluoranteno (Flt), pireno (Pir), benzo(b)fluoranteno (BbF), benzo(a)antraceno (BaA), benzo(k)fluoranteno (BkF) e benzo(a)pireno (BaPi)) em amostras de óleos vegetais de milho, girassol e oliva e verificaram níveis de contaminação alarmantes no óleo de milho para o benzo(a)pireno, cuja concentração foi 10 vezes maior do que o valor de referência ( $2,0 \mu\text{gkg}^{-1}$ ) para óleos e gorduras (EFSA, 2008).

Esses compostos podem causar danos não somente para o meio ambiente, mas também para a saúde humana, visto que alguns possuem propriedades cancerígenas, porém a remoção e a quantificação de poliaromáticos em meios não aquosos vem sendo um desafio para os pesquisadores, visto que a principal limitação se deve ao preparo da amostra, a qual requer altas habilidades experimentais (FANG et al., 2002).

Algumas metodologias clássicas utilizadas no preparo de amostras têm se mostrado eficientes na extração de HPAs de óleos e alguns desses métodos envolvem procedimentos árduos e demorados que demandam grandes volumes de solventes e gastos consideráveis com materiais de laboratório, além de requerer um número considerável de etapas que aumentam as possibilidades de perdas de analito ao longo do processo (SÁNCHEZ-ARÉVALO et al., 2020). Assim, para superar essas desvantagens, novas abordagens precisam ser desenvolvidas.

Dentro desse contexto, a extração em fase sólida (SPE) com adsorvente específico surge como uma metodologia que poderia ajudar a evitar algumas interferências, sendo o método mais popular para a limpeza e permite pré-concentrar e separar os analitos da matriz

(CHEN et al., 2013). A seletividade do cartucho SPE e a eficiência da extração é determinada por um adsorvente que apresente afinidade específica para o grupo alvo de compostos (MACIEL et al., 2019). Os principais parâmetros que influenciam na SPE são: funcionalidade de adsorvente, solventes usados para condicionar o adsorvente, vazão da amostra durante a etapa de extração, tipo e volume do solvente de eluição (VYVIURSKA ; SPANIK, 2020).

Muitos adsorventes hidrofóbicos vêm sendo amplamente utilizados na remoção de HPAs em fontes de água, porém esses materiais infelizmente não possuem resultados satisfatórios para a purificação de óleos, uma vez que estes não possuem seletividade para HPAs (XU et al., 2015). Estudos recentes mostram que cartuchos SPE com adsorventes contendo sílica vêm sendo utilizados e também novas categorias de adsorventes híbridos com nanomateriais de carbonos, como nanotubos de carbono (CNTs, MWNTs), óxido de grafeno (GO), nanopontos de carbono (CNDs) vêm sendo investigados (LI et al., 2020). A superfície hidrofílica do gel de sílica pode ser modificada para se tornar lipofílica para absorver HPAs. Uma série de compostos hidrofóbicos revestem o gel de sílica para garantir que as moléculas sejam ligadas à superfície por meio de ligações de hidrogênio ou interações dipolo-dipolo do grupo funcional Si-OH (MOLLE et al., 2017).

Diante disso, se faz necessário o uso de adsorventes de natureza hidrofílica com alta afinidade para os HPAs na recuperação seletiva desses poluentes da matriz hidrofóbica. Recentemente, alguns estudos demonstraram que diferentes tipos de nanomateriais de carbono são capazes de se ligar firmemente aos HPAs, devido às interações extramoleculares pi-pi e também como nanopartículas individuais imobilizadas podem ser reduzidas quimicamente (MIKHRALIEVA, 2020). Como exemplos de solventes que são utilizados para condicionar cartuchos de sílica e para extração podem-se citar as misturas de hexano/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (70:30, v/v) (GHARBI et al., 2017), MeOH, água (MOLLE et al., 2017), hexano (SHI et al., 2016), diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) (HOSSAIN; SALEHUDDIN, 2012) e ciclohexano, acetonitrila, acetona são usados como solventes de eluição. A otimização do par sorvente-eluyente está relacionada à natureza da amostra e, até certo ponto, ao método analítico final (PURCARO; BARP; MORET, 2016).

Diante disso, o objetivo deste trabalho é o estudo da otimização de alguns parâmetros que influenciam no processo de extração em fase sólida na adsorção de HPAs em sistema apolar.

## Material e Métodos

### 1. Materiais e instrumentos

#### 1.1 Materiais

Todos os reagentes utilizados são de grau analítico. Foram utilizados os solventes acetonitrila, acetona, hexano, heptano, diclorometano, todos padrão HPLC, além de água destilada, álcool etílico cereal 70%, solução de HPAs 50 ngml<sup>-1</sup>. A solução de HPAs utilizada teve em sua composição química as seguintes substâncias: Naftaleno (Naf), Di-bromonaftaleno (Naf-Br), Acenaftileno (Aceft), Acenafteno (Ace), Flu, Fen, Ant, Flt, Pir, BaA, Criseno (Cri),

BbF, BkF, Benzo(e)pireno (BePi), BaPi, Indeno-Pireno (I-Pi), Dibenzo(a,h)antraceno (DBahA) e Benzo(g,h,i)perileno (BghiPer).

## 1.2 Instrumentos

Bomba peristáltica Agilent 1200 Series HPLC System, Cromatógrafo Gasoso acoplado ao Espectrômetro de Massas (CG-MS): Marca Thermo Scientific, modelo Trace 1300, coluna GC 30m 0,25 mm x 0,25 mm DB-5MS, temperatura do injetor: 300°C, volume de injeção: 1 µL, 42 min. por amostra, velocidade do fluxo: 1 mL min<sup>-1</sup>, com programa de temperatura 50 °C durante 5 min; 50 °C min<sup>-1</sup> até 80 °C; 6 °C min<sup>-1</sup> até 280 °C durante 20 min e 12 °C min<sup>-1</sup> até 305 °C durante 10 min.

## 2. Procedimento experimental

Para a realização dos experimentos, foram utilizados dois cartuchos SPE com diferentes adsorventes: etilenodiaminosílica modificada com nanopontos de carbono (SiO<sub>2</sub>-EDA/CNDs) (MIKHRALIEVA et al., 2020) e sílica gel funcionalizada com C18 (C18). Além disso, foram testados diferentes solventes de adsorção e de dessorção afim de avaliar o processo. Para o cartucho com C18 o solvente hexano foi utilizado na adsorção e a acetona na dessorção. Já para o cartucho com SiO<sub>2</sub>-EDA/CDs foram testados diferentes sistemas para adsorção: hexano na adsorção e acetona para dessorção; b) heptano na adsorção e acetona na dessorção; c) diclorometano na adsorção e acetona na dessorção; Na dessorção também variou-se os solventes: a) hexano na adsorção e diclorometano na dessorção e b) hexano na adsorção e acetonitrila na dessorção.

### 2.1 Preparo dos cartuchos SPE

Inicialmente, foram pesados 200 mg de adsorvente (C18 e SiO<sub>2</sub>-EDA/CDs) em um béquer com 1,5 mL de metanol (MeOH), formando uma suspensão. Pegou-se duas fritas de polipropileno e colocou em contato com MeOH em um béquer para umedecer. Feito isso, o cartucho SPE vazio (3 mL, polipropileno) foi colocado em um suporte apropriado e foi adicionada uma das fritas na parte inferior do mesmo e todo o volume da suspensão contido no béquer foi transferido para o cartucho. No momento em que foi observada a formação da fase sólida (precipitação do adsorvente), foi adicionada a segunda frita e foi aplicada uma sutil pressão manual usando uma haste de vidro cilíndrica, para tornar o empacotamento compacto. O cartucho preparado ficou armazenado sob solvente antes do uso.

### 2.2 Experimento de SPE de HPAs

Inicialmente, a solução estoque com a mistura de HPAs foi diluída com hexano, heptano e diclorometano para uma concentração final de 10 ng mL<sup>-1</sup>, com volume de 10 ml para ser utilizada no experimento. Após o preparo da solução, preparou-se uma mistura de solventes utilizando 40% de acetona e 60% de hexano com volume total de 20 ml para condicionamento do cartucho. A mistura foi transferida para o cartucho previamente preparado através de uma bomba peristáltica com vazão de 1 mL min<sup>-1</sup> para umedecer o cartucho por pelo menos 5 minutos. Em seguida, apenas o hexano puro foi transferido para o cartucho por 5 min com vazão de 1 mL min<sup>-1</sup> e depois os 10 mL da solução de HPAs com os solventes testados para adsorção com concentração de 10 ng mL<sup>-1</sup>. Feito isso, foram coletados um volume de 10 mL que saiu do

cartucho em um frasco de vidro transparente. Para o processo de dessorção, foram testados os solventes acetona, diclorometano e acetonitrila. Sendo assim, foram transferidos 5 mL de solvente de eluição do cartucho a fim de retirar compostos que ficaram retidos pelo adsorvente. Foram coletados os 5 mL do solvente de eluição em um frasco de vidro transparente. Os frascos foram colocados em chapa aquecedora em um béquer com água e em presença de gás inerte para total evaporação. Após evaporação, transferiu-se aos poucos 1 mL de hexano para cada frasco a fim de tentar recuperar todos os compostos de HPAs adsorvidos pelo cartucho. Após adicionar hexano nos frascos, o conteúdo foi transferido para os vials e armazenados em geladeira para posterior análise por CG-MS.

O percentual de adsorção ou remoção (R%) de HPAs foi calculado de acordo com a equação 1:

$$R, \% = 100 * \frac{C_0 - C_f}{C_0}, \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde  $C_0$  e  $C_f$  – concentração de HPAs antes e após o contato com o adsorvente.

Os percentuais de dessorção e recuperação do experimento para cada composto analisado no experimento também foram obtidos através das equações 2 e 3, respectivamente:

$$\text{Des, \%} = 100 * \frac{m_{\text{des}}}{m_{\text{ads}}} \quad (\text{Eq. 2})$$

$$\text{Rec, \%} = 100 * \frac{m_{\text{des}}}{m_0} \quad (\text{Eq. 3})$$

Onde  $m_{\text{des}}$  é a massa dessorvida (ng),  $m_{\text{ads}}$  é massa adsorvida (ng) e  $m_0$  é a massa inicial (ng) do composto na solução que foi analisada.

## Resultados e Discussão

### 1. Diferentes tipos de adsorventes

#### 1.1 C18

Para esse adsorvente, foi verificada a eficiência do mesmo utilizando somente um único sistema de solventes: hexano para a adsorção e acetona para a dessorção. Com os resultados, foi possível verificar os percentuais de adsorção para o experimento, conforme é apresentado nas equações (1-3).

Na Figura 1 é apresentado o gráfico correspondente aos resultados do experimento para o adsorvente C18.

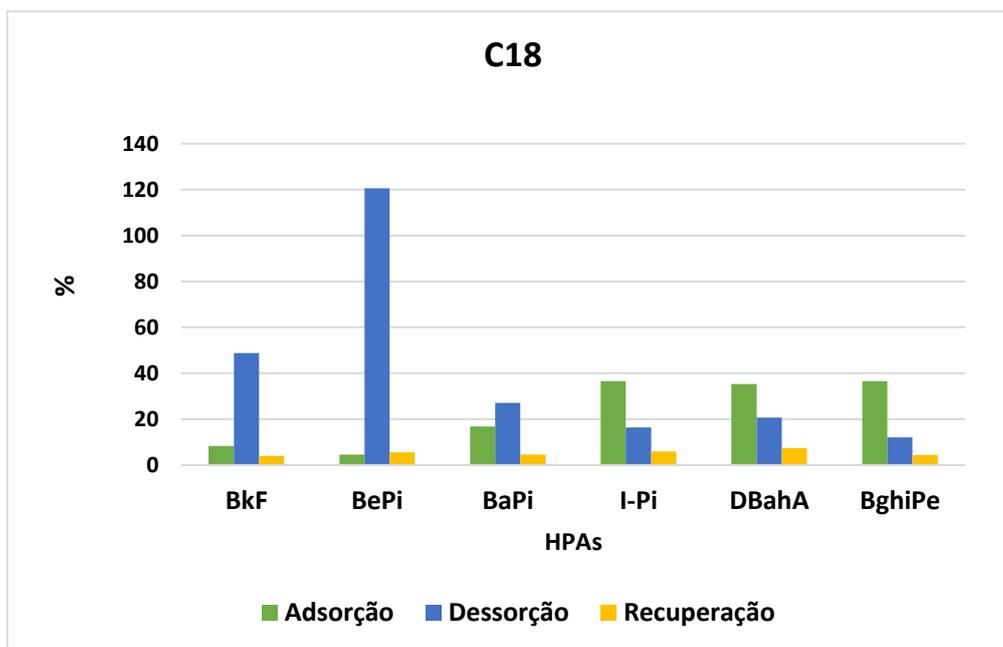


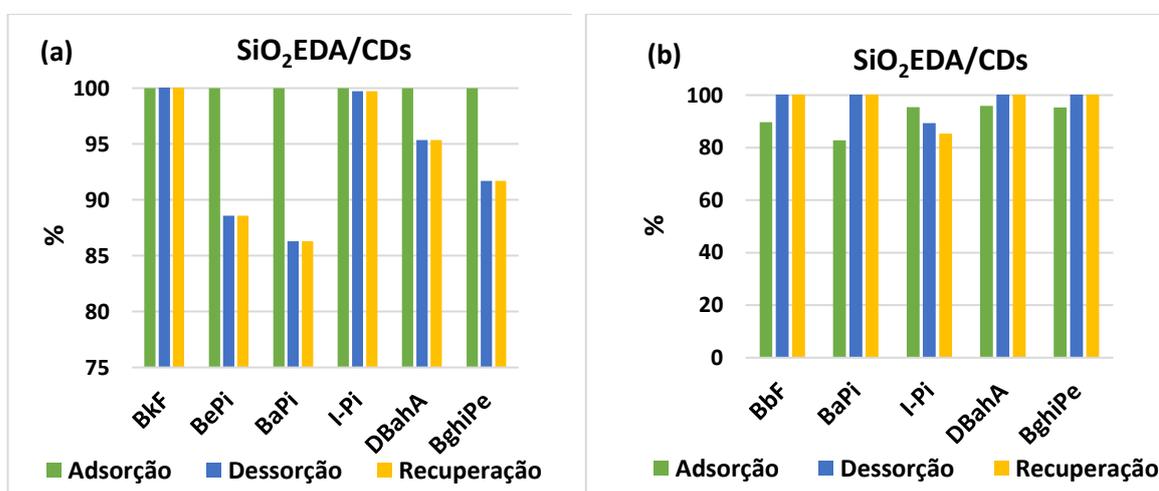
Figura 1 Gráfico contendo os percentuais de adsorção, dessorção para alguns compostos de HPAs utilizando o adsorvente C18.

Como pode ser observado na Figura 1, o adsorvente C18 não apresenta percentuais elevados para adsorção de compostos de HPAs, e isso ocorre, pois, esse material não possui seletividade para HPAs em meios não aquosos como o estudado neste trabalho, visto que pode ser facilmente saturado com componentes da matriz lipofílica (ANDRADE-EIROA et al., 2016). Porém, em meios aquosos o material funciona perfeitamente para a pré-concentração desses compostos.

## 1.2 SiO<sub>2</sub>-EDA/CDs

### 1.2.1. Diferentes solventes utilizados na adsorção

Para este adsorvente foram testados diferentes três tipos de solventes na adsorção: hexano, heptano e diclorometano e manteve-se a acetona como solvente de eluição.



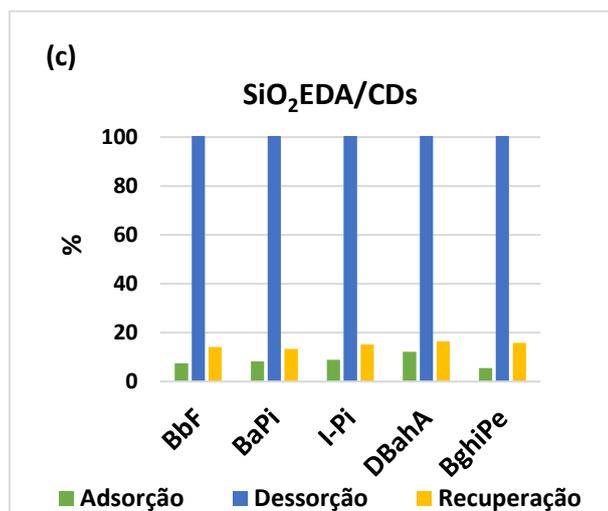


Figura 2 Gráfico contendo os percentuais de adsorção, dessorção para alguns compostos de HPAs para os solventes hexano (a), heptano (b) e diclorometano (c).

Como pode ser observado nos gráficos apresentados na Figura 2, o adsorvente SiO<sub>2</sub>EDA/CDs possui uma boa capacidade de adsorção, principalmente se comparado com o outro adsorvente em estudo (C18) e em especial quando se utiliza os meios contendo hexano e heptano como solventes de extração. Isso pode ser explicado pela seletividade deste material para HPAs, pois é capaz de interagir especificamente com eles. O sistema conjugado de elétrons  $\pi$  presente nesses compostos, permite uma interação intermolecular específica com outras moléculas que também tenha sistema conjugado de elétrons (HOEBEN, et al., 2005), como por exemplo o adsorvente me estudo neste trabalho.

### 1.2.2. Diferentes solventes utilizados na dessorção

Para este adsorvente foram testados dois tipos de solventes na dessorção: diclorometano e acetonitrila e manteve-se o hexano como solvente para adsorção.

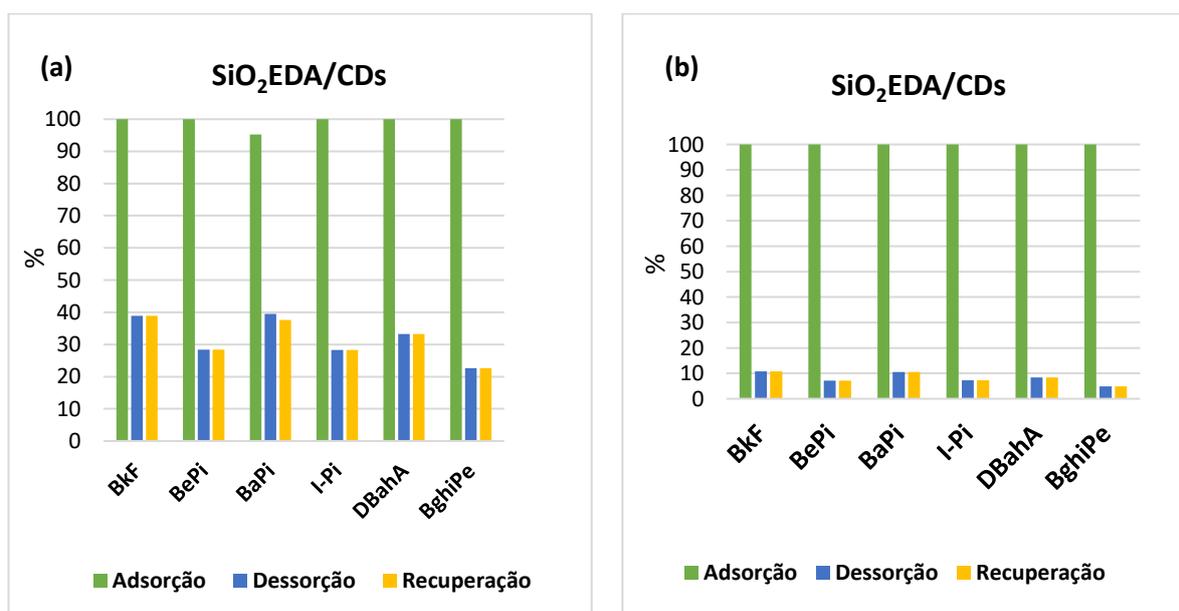


Figura 3 Gráfico contendo os percentuais de adsorção, dessorção para alguns compostos de HPAs para os solventes diclorometano (a) e acetonitrila (b).

Com os resultados, pode-se verificar que o adsorvente SiO<sub>2</sub>-EDA/CDs mostrou uma capacidade maior quando comparado ao outro adsorvente (C18) utilizado no experimento. Portanto, pode-se dizer que os resultados de adsorção, dessorção e recuperação foram melhores utilizando o cartucho com adsorvente SiO<sub>2</sub>-EDA/CDs, especialmente para os compostos de HPAs com maior peso molecular (valores maiores que 90%). No processo de adsorção pode-se observar que os solventes utilizados com os melhores resultados apresentados foram o hexano, seguido do heptano e diclorometano, respectivamente.

Já no processo de dessorção, a acetona também foi considerada um bom solvente, visto que foi eficiente para eluir os HPAs, quando comparada aos outros solventes testados para eluição como acetonitrila e diclorometano.

### **Conclusões**

Portanto, diante dos resultados expostos, conclui-se que o método utilizado para a extração em fase sólida de HPAs utilizando diferentes tipos de solventes orgânicos foi eficiente, especialmente com hexano como solvente usado na adsorção e a acetona na dessorção. Observou-se uma maior eficiência no processo para compostos com maior massa molecular utilizando SiO<sub>2</sub>-EDA/CDs como adsorvente, o qual se mostrou bastante promissor no processo. Isso ocorre devido ao fato de que adsorventes à base de nanomateriais de carbono possuem um intenso sistema de ligações pi -conjugadas, e esse sistema interage com as ligações  $\pi -\pi$  no sistema conjugado dos anéis aromáticos dos compostos de maior massa molecular, pois quanto maior a massa molecular, maior é o número de anéis aromáticos condensados em sua estrutura.

### **Agradecimentos**

Agradecimentos a CAPES, CNPq e FAPERJ pelo financiamento da pesquisa e à Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio).

### **Referências**

- ANDRADE-EIROA, A. et al. Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review (Part I). *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, v. 80, p. 641-654, 2016.
- CHEN, L. et al. Rapid determination of trace sulfonamides in fish by graphene-based SPE coupled with UPLC/MS/MS. *Analytical Methods*, v. 5, n. 17, p. 4363-4370, 2013.
- DOST, K.; IDELI, C. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils and barbecued food by HPLC/UV-Vis detection. *Food Chemistry*, v. 133, n. 1, p. 193-199, 2012.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY – EFSA. Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain on a request from the European Commission on polycyclic aromatic hydrocarbons in food. *EFSA*, v. 724, p. 1-114, 2008.
- FANG, C-H et al. Toxic equivalency factors study of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Taichung City, Taiwan. *Toxicology and Industrial Health*, v. 18, n. 6, p. 279-288, 2002.
- GHARBI, I. et al. Evaluation of hydrocarbon contaminants in olives and virgin olive oils from Tunisia. *Food Control*, v. 75, p. 160-166, 2017.

HOEBEN, F. J.M. et al. About supramolecular assemblies of  $\pi$ -conjugated systems. **Chemical reviews**, v. 105, n. 4, p. 1491-1546, 2005.

HOSSAIN, M. A.; SALEHUDDIN, S. M. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in edible oils by gas chromatography coupled with mass spectroscopy. *Arabian Journal of Chemistry*, v. 5, n. 3, p. 391-396, 2012.

LI, F. et al. Applications of carbonaceous adsorbents in the remediation of polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated sediments: A review. *Journal of Cleaner Production*, v. 255, p. 120263, 2020.

LIGUORI L. et al. An automated extraction approach for isolation of 24 polyaromatic hydrocarbons (PAHs) from various marine matrixes. *Analytical Chimica Acta*, v. 181, n. 8, p. 573-574, 2006.

LUCCI, P. et al. Current trends in sample treatment techniques for environmental and food analysis. *Chromatography - The most versatile method of chemical analysis*. InTech. 2012.

MACIEL, E. V. S. et al. New materials in sample preparation: Recent advances and future trends. *TrAc Trends in Analytical Chemistry*, v. 119, p. 115633, 2019.

MIKHRALIEVA, A. Síntese e caracterização de nanoestruturas híbridas baseadas em sílica com materiais carbogênicos imobilizados tendo sistemas ricos em elétrons pi e suas aplicações na química analítica. Tese de doutorado. PUC-Rio, 2020.

MIKHRALIEVA, A. et al. Highly luminescent graphene core N-doped carbon nanodots prepared under spatial nanoconfinement. *Materials Chemistry and Physics*, v. 307, n., p. 128-151, Oct. 2023.

MOLLE, D. R. D. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in canola, sunflower and corn oils and estimated daily intake. *Food Control*, v. 81, p. 96-100, 2017.

MORET S., CONTE, L. Polycyclic aromatic hydrocarbons in edible fats and oils: occurrence and analytical methods, *Journal of Chromatography A*, v. 882, n. 1-2, p. 245-253, 2000.

PURCARO, G.; BARP, L.; MORET, S. Determination of hydrocarbon contamination in foods. A review. *Analytical Methods*, v. 8, n. 29, p. 5755-5772, 2016.

REY-SALGUEIRO, L.; MARTÍNEZ-CARBALLO, E.; GARCÍA-FALCÓN, M. S.; GONZÁLEZ-BARREIRO, C.; SIMAL-GÁNDARA, J. Occurrence of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and their hydroxylated metabolites in infant foods. *Food Chemistry*, v. 115, n. 3, p. 814-819, 2009.

SÁNCHEZ-ARÉVALO, C. M. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils: An overview on sample preparation, determination strategies, and relative abundance of prevalent compounds. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 19, n. 6, p. 3528-3573, 2020.

SHI, Long-Kai; ZHANG, Dong-Dong; LIU, Yu-Lan. Survey of polycyclic aromatic hydrocarbons of vegetable oils and oilseeds by GC-MS in China. *Food Additives & Contaminants: Part A*, v. 33, n. 4, p. 603-611, 2016.

VYVIURSKA, O.; ŠPÁNIK, I. Novel sample preparation approaches in gas chromatographic analysis: Promising ideas. *Journal of separation science*, v. 43, n. 1, p. 174-188, 2020.

XU, T. et al. Simultaneous Determination of 24 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Edible Oil by Tandem Solid-Phase Extraction and Gas Chromatography Coupled/Tandem Mass Spectrometry, *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, v. 98, n. 2, p. 529-537, mar. 2015.