

FONTES, FORMAÇÃO, REATIVIDADE E QUANTIFICAÇÃO DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPA) NA ATMOSFERA

Wilson A. Lopes e Jailson B. de Andrade

Instituto de Química - Universidade Federal da Bahia - Campus Ondina - 40170-290 - Salvador - BA

Recebido em 30/8/95; aceito em 3/4/96

SOURCES, FORMATION, REACTIVITY AND QUANTIFICATION OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS (PAH) IN ATMOSPHERE. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are ubiquitous pollutants whose environmental behavior has been investigated for more than 20 years. The widespread occurrence of PAHs is largely due to the formation and releasing during incomplete combustion of petrol, oil, coal and wood. The atmosphere is a major pathway for transport and deposition of natural and anthropogenic PAHs and other organic chemicals. Motor vehicles are important sources of atmospheric PAHs. They are also emitted by aluminum production plant, forest fires, residential wood combustion, coke manufacturing, power generation and waste incineration. PAHs and derivatives, e.g. nitro-PAHs (NPAHs) and oxi-PAHs, constitute important class of compounds because several are known carcinogenic in animals and mutagenic in bacteria agents. Specially nitroarenes were found to be powerful direct acting mutagens in the Ames-Salmonella test. PAHs may react with NO_x or N₂O₅ in atmosphere, giving NPAHs, being an important route for nitrenes formation. Degradation of PAHs adsorbed on aerosols or in vapor-phase and the dry deposition or wet deposition are important sink for such compounds in the atmosphere. The determination of PAHs and their derivatization products in ambient air is therefore of considerable importance to the characterization of air and life quality.

Keywords: polycyclic aromatic hydrocarbons; PAHs determination; NPAHs.

1. INTRODUÇÃO

A atmosfera constitui o principal meio de transporte e depósito para os compostos orgânicos e inorgânicos emitidos por fontes naturais ou antropogênicas (resultantes da ação/atividade humana). Os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA) são emitidos por diversas fontes de combustão e estão presentes na atmosfera em fase vapor ou adsorvidos em material particulado^{1,2,3,4}.

A importância ambiental dos HPA e derivados está muito bem estabelecida e aceita pela comunidade científica. Os estudos sobre essa classe de compostos englobam uma grande variedade de aspectos como cinética e produtos de reações em fase vapor, desenvolvimento de metodologias analíticas e estudos de campo sobre concentrações atmosféricas, síntese, atividades cancerígena e mutagênica e processos de remoção da atmosfera^{1,5}. As transformações químicas dos HPA na atmosfera são estudadas desde 1956 quando foram publicados os trabalhos pioneiros de Falk *et al.*^{1,6,7}. Outras matrizes como hidrosfera^{8,9}, solo^{10,11}, biota¹², alimentos¹³ etc, têm sido objeto de atenção e pesquisas nessa área.

Os Nitro-Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (NHPA) também são emitidos para a atmosfera em processos de combustão, porém, em menores quantidades que os HPA. Contudo, a formação de NHPA na atmosfera predomina sobre o processo de emissão direta^{14,15}.

Os HPA, após transformação química ou metabólica, são eficazes agentes cancerígenos e/ou mutagênicos, sendo estes os principais campos de investigação de suas atividades biológicas^{16,17}. Ao contrário dos HPA os derivados nitrados (mono e polinitrados) são agentes *diretamente* mutagênicos. De acordo com a Agência Internacional para Pesquisa do Câncer, da França, os NHPA estão entre aquelas substâncias químicas que podem estar associadas com o aumento da ocorrência de tumores malignos^{18,19,20}. Recentemente, uma outra atividade biológica, a fototoxicidade²¹, foi atribuída aos HPA²².

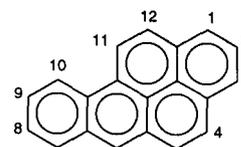
O interesse pelos NHPA aumentou consideravelmente, a partir de 1978, após a comprovação de que estes compostos podem ser formados, em fase vapor, pela reação entre HPA e óxidos de nitrogênio, em condições que podem ser reproduzidas na troposfera^{18,23,24,25}. Pela sua importância ambiental os NHPA constituem um capítulo à parte no estudo dessa classe de substâncias, tendo um destaque especial neste trabalho.

Nos os últimos 40 anos foi utilizada uma grande variedade de procedimentos experimentais no estudo da reatividade, quantificação e propriedades de HPA não havendo, entretanto, uniformidade em relação às condições, metodologias e técnicas de amostragem utilizadas.

É necessário, portanto, a continuidade de estudos para esclarecer os mecanismos de transformação de HPA e NHPA na atmosfera e, também, o desenvolvimento de procedimentos eficazes de amostragem e de metodologias para a quantificação desses compostos em baixos níveis de concentração.

1.1. Aspectos Históricos

Pode-se considerar como o início da química dos HPA o isolamento do benzo[a]pireno (BaP) do carvão, em 1931 e, subsequentemente, a sua síntese no mesmo ano²⁶. A sua identificação como uma nova substância química, em 1933, permitiu demonstrar que o BaP é um forte agente cancerígeno em animais^{1,27}. A estrutura e o sistema de numeração do BaP são mostrados a seguir.



Benzo[a]pireno (BaP)

As primeiras provas dos riscos ocupacionais e ambientais dos HPA foram obtidas em 1922 pela demonstração de que extratos orgânicos de fuligem são cancerígenos em animais²⁸ e, em 1942, também pela atividade cancerígena do extrato de material particulado ambiental²⁹. Posteriormente a atividade biológica foi observada em extratos de material particulado ambiental coletado do *smog* fotoquímico de Los Angeles³⁰.

Em 1949 o BaP foi identificado em fuligem doméstica³¹ e, em 1952, em material particulado ambiental³². Em 1970 o BaP (e outros HPA) é caracterizado como um agente cancerígeno de distribuição mundial, em ambientes respiráveis, como constituinte de aerossóis urbanos¹.

Nos anos 70 é reconhecido o *excesso de carcinogenicidade* atribuído ao BaP e demonstrado que a atividade cancerígena dos extratos de partículas atmosféricas não é somente devida aos HPA mas, também, à presença de outras substâncias orgânicas ainda desconhecidas. Estas estão presentes, também, no material orgânico policíclico (MOP) de fontes de emissão primárias^{1,23,33}.

Também nos anos 70 é introduzido um método muito sensível e eficaz para determinação da mutagenicidade de substâncias químicas, por meio de bactérias do gênero *Salmonella* que ficaria conhecido como "ensaio de mutagenicidade *Ames-Salmonella*" em homenagem aos autores Ames *et al*³⁴.

1.2. Fontes de Emissão de HPA e NHPA

Os HPA são emitidos por fontes naturais e antropogênicas. A contribuição de fontes naturais de HPA é muito limitada restringindo-se, praticamente, à queima espontânea de florestas e emissões vulcânicas. As fontes antropogênicas representam o principal processo de emissão de HPA^{1,35,36}.

A queima de combustíveis como o petróleo e seus derivados, carvão, madeira, gás de carvão etc. produz HPA e muitos outros poluentes atmosféricos. A quantidade e os tipos de HPA formados dependem das condições específicas do processo e do tipo de combustível, sendo que processos mais eficientes emitem menores quantidades de HPA. A fumaça de cigarros, queimadas e calefação (especialmente em países de clima temperado) são importantes fontes de HPA e derivados³⁷.

Os HPA são oriundos também de fontes tecnológicas que podem ser móveis ou estacionárias. Entre as fontes móveis, destaca-se o motor de combustão interna como o principal emissor de HPA para o ambiente, estando presente em diversos veículos de transporte de cargas e passageiros. As fontes estacionárias são subdivididas entre as utilizadas na geração de energia elétrica e calor e aquelas ligadas à atividade industrial (e.g., produção de alumínio) e de incineração (principalmente de rejeitos químicos) e podem emitir uma grande variedade de produtos de combustão incompleta (PCI)^{37,38}.

As fontes veiculares de emissão têm uma grande importância devido à complexidade e quantidade, cada vez maior, de material que é lançado na atmosfera. O material particulado emitido por veículos a diesel, por exemplo, é constituído principalmente de carbono elementar que atua como superfície de condensação de HPA e de outros compostos orgânicos. O pequeno tamanho destas partículas determina o longo tempo de residência na atmosfera e a eficiência do processo de deposição na região alveolar dos pulmões^{7,37,39}. A identificação de vários HPA de uma das frações do extrato de material coletado da emissão de motores a diesel é ilustrada no cromatograma (CG) da figura 1⁴⁰.

Em estudos recentes Wild e Jones⁴¹ avaliam o processo de formação, estocagem e remoção de HPA ambiental no Reino Unido. As emissões totais de HPA são estimadas em 712 toneladas métricas anuais sendo a combustão doméstica de carvão e os veículos automotores os principais responsáveis, contribuindo cada uma destas fontes com 11,3 e 84,2%, respectivamente. Em 1985 as emissões de HPA nos Países

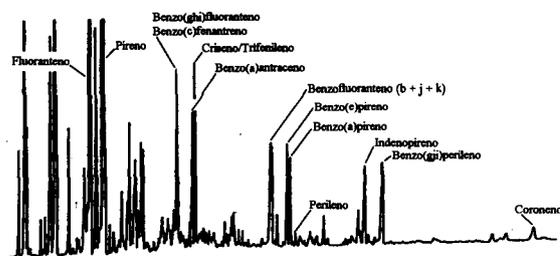


Figura 1. Cromatograma (CG) de uma das frações (enriquecida em HPA) obtidas do processo de emissão de motor a diesel⁴⁰.

Baixos e Alemanha foram estimadas em, respectivamente, 1.116 e 8.218 toneladas métricas. Nos Países Baixos 20% das emissões foram consideradas como veiculares e 56% como de fontes não industriais⁴¹.

A emissão de HPA por fontes móveis, nos Estados Unidos da América, foi estimada em 6.400 toneladas métricas, no ano de 1979, sendo que o BaP, um agente caracterizado como cancerígeno, contribui com 43 toneladas métricas. Os números da tabela 1 demonstram a dimensão do problema⁷.

Tabela 1. Estimativa de emissão de HPA por fontes móveis nos EUA, em 1979.

HPA	Emissão Total (toneladas métricas)
Fenantreno	1.400
Fluoranteno	750
Pireno	950
Benzoantraceno	37
Criseno	150
Benzo[a]pireno	43
Benzoperileno	110
Indenopireno	30
1-Nitropireno	17

A emissão de motores de veículos é considerada a principal fonte de HPA atmosféricos em áreas metropolitanas. Estudos realizados nos EUA em 1990-1991, indicam que as fontes veiculares contribuem com 35% do total de HPA emitido. Outras fontes como a produção industrial de alumínio, queima de florestas, aquecimento residencial, geração de energia elétrica etc. também contribuem para formação e emissão de HPA e derivados para atmosfera (Tabela 2)^{42,43}.

Tabela 2. Fontes de emissão de HPA para atmosfera (EUA).

Fonte	% de HPA emitido
Motores de veículos	35
Produção de alumínio	17
Queima de florestas	16
Aquecimento residencial	12
Processamento industrial de coque	11
Geração de energia elétrica	6
Incineração	3

No Brasil não existe ainda uma base de dados que permita estimar as quantidades e as fontes de HPA lançados na atmosfera.

Os NHPA também são emitidos diretamente por diversas fontes de combustão. Já foram identificados em material coletado de emissão de motor a diesel e a gasolina, em fumaça de cigarro e madeira. Também, foram encontrados em *toner* de

fotocopiadoras, negro de carbono e em material particulado de atmosferas urbanas^{14,18,20,44}.

1.3. Formação de HPA e NHPA

Os HPA são formados em processos de combustão incompleta, a altas temperaturas e, deste modo, são essencialmente emitidos por todos tipos de combustão. A formação pirolítica de HPA é bastante complexa e variável, dependendo de fatores como pressão e temperatura. O esquema mecanístico aceito para esta reação envolve a polimerização via radicais livres, em várias etapas, até a formação de núcleos aromáticos condensados (Fig. 2)^{17,45,46}.

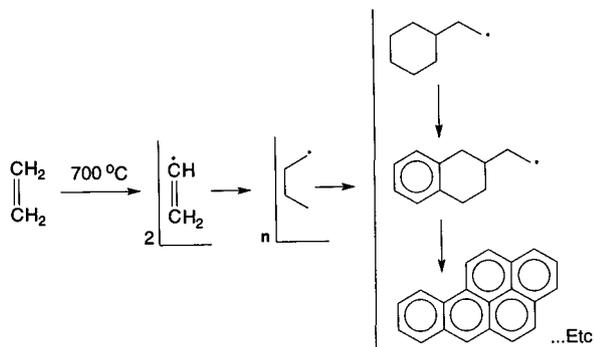


Figura 2. Esquema mecanístico para a formação de HPA por meio de pirólise.

Muitos derivados de HPA como os NHPA e OXI-HPA são também formados em processos de combustão incompleta e emitidos para atmosfera por diversas fontes, e.g., na emissão de motores a diesel^{1,7,14,18}.

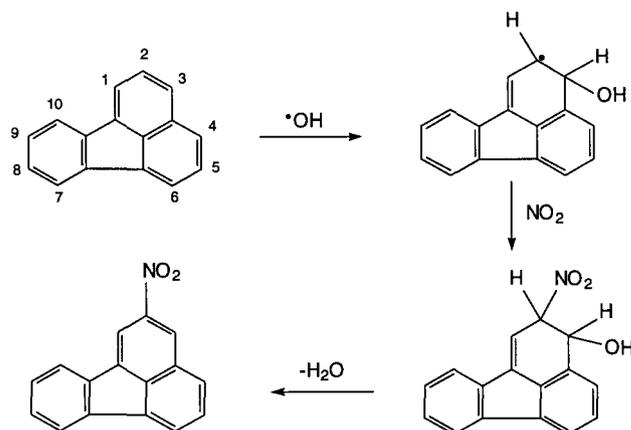
Os NHPA são presumivelmente formados no ambiente através da reação entre HPA e óxidos de nitrogênio e/ou ácido nítrico. Os HPA podem ser nitrados, nitrosados ou oxidados como resultado destas reações. A reação pode ocorrer em fase vapor ou sobre material particulado. A formação de NHPA pode também ocorrer durante o processo de coleta, constituindo-se, neste caso, um artefato de amostragem. Pitts *et al* demonstraram que HPA depositado sobre filtros são convertidos a NHPA pela passagem de NO₂^{18,22}.

Uma evidência direta de que tais reações atmosféricas ocorrem, de fato, foi obtida pelo isolamento do 2-nitrofluoranteno (2-NF) e do 2-nitropireno (2-NP) de MOP ambiental. Estes dois NHPA não são relatados em processos de emissão direta de fontes de combustão nem são formados em condições características de amostragem do MOP. Por outro lado 2-NF e 2-NP estão entre os mais abundantes NHPA presentes no MOP ambiental sendo, possivelmente, resultante das transformações atmosféricas de FLT e PYR⁴⁷.

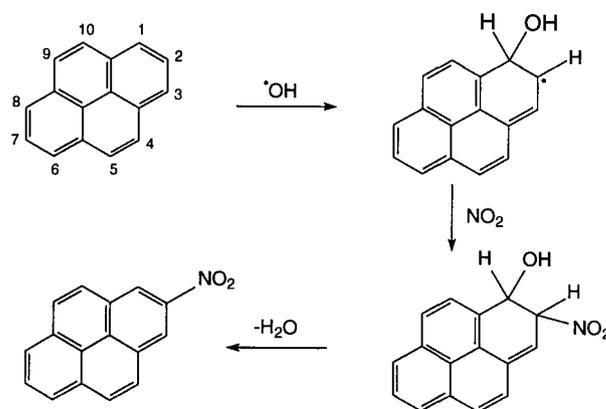
O 2-NF é formado em fase vapor, em bons rendimentos, através da reação com OH em presença de NO_x e, também, pela interação com N₂O₅. Nas mesmas condições são também formados, em rendimentos menores, o 2-NP, 7-NF e 8-NF (Esquema 1)^{48,49}.

A reação de PYR com OH/NO_x fornece o 2-NP como produto principal enquanto a reação com N₂O₅ em fase vapor resulta em rendimentos muito baixos (Esquema 2)^{46,48}.

Deste modo, 2-NF é formado durante o dia em reações iniciadas pelo radical OH e durante a noite pela ação do N₂O₅, enquanto o 2-NP é formado somente pela reação com OH/NO_x. É importante observar que os nitroarenos formados na reação com OH/NO_x e N₂O₅ não incluem os produtos principais da substituição eletrofílica aromática dos HPA correspondentes. A nitração eletrofílica do PYR conduz quase que exclusivamente



Esquema 1. Formação de 2-nitrofluoranteno em fase vapor



Esquema 2. Formação de 2-nitropireno em fase vapor

ao 1-NP e a reação com FLT fornece o 3-NF como produto principal. Os estudos mostram que a reação com OH/NO_x pode ser uma importante rota para a formação de 2-NF e 2-NP observado no MOP ambiental⁴⁸.

O composto 1-NP tem sido detectado em vários tipos processos de combustão incluindo partículas emitidas por veículos a diesel e a gasolina e a queima de carvão. Consistente com este fato o 1-NP tem sido encontrado em todas as amostras de ar atmosférico examinadas com esta finalidade. Contudo, nenhum dos dois 2-NF ou 2-NP tem sido detectado nas emissões acima referidas, mas somente em processos de emissão industrial com poucas unidades distribuídas no mundo. Observando que o 2-NF é sempre mais abundante que 1-NP em MOP ambiental e que algumas vezes o 2-NP também é mais abundante, pode-se considerar como estabelecida a importância da formação atmosférica dos nitroarenos^{48,50}.

Como produtos de reação do fenantreno, sob condições atmosféricas simuladas, em câmara ambiental de reação, além dos NHPA, foram também identificadas as nitrolactonas. Estas, que constituem uma segunda classe de derivados mutagênicos de HPA, foram também encontradas em amostras de ar ambiental^{51,52}.

A conversão de HPA a nitroderivados, em atmosferas urbanas, confere uma grande importância a este processo secundário de produção de NHPA. Determina, deste modo, a necessidade de investigações que possam esclarecer as dúvidas existentes quanto às rotas de formação e remoção destes compostos da atmosfera.

1.4. Processos de Remoção de HPA da Atmosfera

Os HPA e NHPA são removidos da atmosfera por processos físicos e químicos que dependem de condições como incidência

de radiação solar, clima (chuva, ventos etc.), da presença de outros poluentes e da reatividade química^{1,7}.

1.4.1. Processos Físicos

A deposição seca e úmida são os principais processos físicos de remoção de HPA da atmosfera que existem em fase vapor ou associado a partículas. Estes processos dependem das características físicas e do tamanho das partículas, que também influem diretamente no transporte atmosférico (Fig. 3)^{1,3,7}.

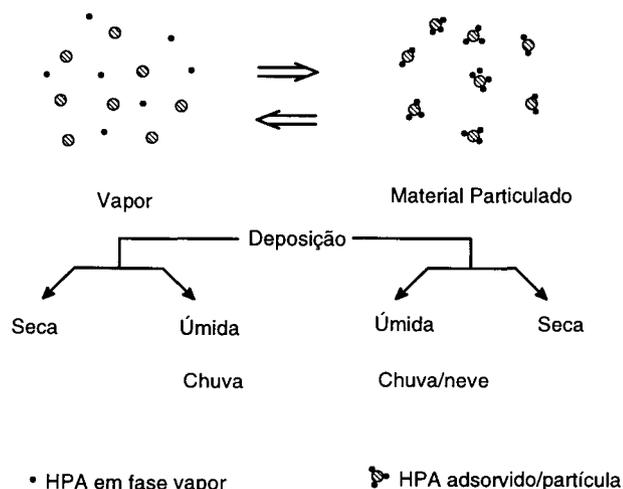


Figura 3. Partição vapor-partícula e remoção da atmosfera.

O tamanho da partícula depende fundamentalmente do processo que a originou. Partículas consideradas como grandes ($d = 2 - 2,5 \mu\text{m}$) são produzidas geralmente por processos mecânicos como levantamento de poeira do solo, *spray* marinho, atividade vulcânica e emissão por plantas. Partículas pequenas ($d < 0,08 \mu\text{m}$) são originárias do processo de conversão vapor-partícula e conhecidas como *partículas nucleares* ou partículas de *Aitken*. As partículas médias ($0,08 < d < 2 \mu\text{m}$) são também produzidas pela conversão vapor-partícula e pela coagulação das partículas de *Aitken* que, por este motivo, têm um tempo de vida muito curto^{1,3}.

A deposição seca envolve a sedimentação e a impactação inercial induzida. A velocidade de deposição seca na atmosfera é controlada pelo tamanho da partícula e, como esperado, aumenta com o tamanho. Os resultados experimentais da medida de velocidade de deposição seca são compatíveis com aqueles obtidos por meio de cálculos teóricos⁵³.

Para uma partícula de $1 \mu\text{m}$, a uma altura de 20 m, com uma velocidade do vento de 14,4 Km/h, o tempo de deposição é de ca. 4 dias e corresponde a um transporte de 1.400 Km, assumindo que a velocidade e direção do vento permanecem constantes⁷. Contudo, os HPA estão associados preferencialmente a partículas submicrométricas, d.p. $< 1 \mu\text{m}$, o que implica em maior tempo de permanência na atmosfera^{54,55}.

O processo de deposição úmida interfere na remoção de HPA atmosféricos em ambas as fases - gasosa e particulada. Estudos recentes demonstram que o coeficiente de remoção de

HPA da atmosfera é positivamente relacionado com a intensidade de chuva⁵⁶.

Compostos menos voláteis estão preferencialmente associados com o aerossol e sofrem uma maior interferência em processos de deposição úmida. Por exemplo, o efeito da precipitação pluviométrica, observado em Baton Rouge (EUA, 1992), é mais acentuado para o fluoranteno do que para o fenantreno (Tabela 3)⁵⁷.

O processo de remoção de HPA atmosféricos (por deposição seca ou úmida) é dependente da temperatura. Por exemplo, durante o verão, em Baton Rouge (EUA, 1992), foram observados níveis de concentração de $60-70 \text{ ng m}^{-3}$ de fenantreno, em fase vapor, enquanto que na fase particulada a concentração ficou abaixo dos limites de detecção. No inverno as concentrações de PHE foram de $10-30 \text{ ng m}^{-3}$ em fase vapor e $0,70 \text{ ng m}^{-3}$ em material particulado. Estes resultados demonstram que há claramente uma tendência dos compostos orgânicos semi-voláteis a se associarem com o material particulado, a baixas temperaturas, ocorrendo uma variação sazonal nos níveis de concentração na atmosfera. A quantidade de partículas totais suspensas também é maior no verão ($40-120 \mu\text{g m}^{-3}$) do que no inverno ($20-50 \mu\text{g m}^{-3}$)⁵⁷.

Estudos recentes demonstram que das 900 toneladas métricas de HPA, emitidas anualmente no Reino Unido, somente 40 toneladas permanece na atmosfera. Isto indica que a atmosfera não é um repositório ou coletor de HPA mas, principalmente, um meio de transporte, diluição e reação. Também é estimada que do total emitido para atmosfera, 210 toneladas métricas/ano são transferidas para superfície por meio da deposição seca ou úmida. Vários estudos mostram que alguns HPA, especialmente em fase particulada, são depositados nas imediações das fontes de emissão⁴³.

Os processos físicos de adsorção, desorção e sublimação também estão presentes e contribuem para o destino dos HPA atmosféricos.

1.4.2. Processos Químicos

Os processos químicos potencialmente mais importantes para a remoção de HPA da atmosfera são a fotólise e a reação com o radical OH, durante o dia; a reação com o radical NO_3 e com N_2O_5 , no período noturno; e a reação com ozônio durante o dia e a noite⁵⁸.

Experimentos realizados em laboratório (reação entre HPA e OH/ NO_x , ozônio etc. em fase vapor) e a identificação de muitos derivados (principalmente nitro e oxi-derivados) em amostras de ar atmosférico são evidências de que, de fato, ocorrem reações entre HPA e certos poluentes atmosféricos. Os produtos destas reações são, em alguns casos, mais tóxicos que os HPA os originaram.

No tópico sobre propriedades químicas são discutidas as principais transformações dos HPA na atmosfera.

1.5. Atividades Biológicas

Uma grande variedade de substâncias químicas presentes no ambiente, e.g., na água, atmosfera, solo, plantas, alimentos etc., são benignas ou ativamente benéficas. Contudo, tem aumentado muito o relato de poluentes ambientais que apresentam atividade mutagênica e cancerígena. A caracterização da

Tabela 3. Efeito da precipitação pluviométrica sobre a concentração de HPA⁵⁷.

Data	Temperatura (°C)	Precipitação média (cm. de água)	Concentração (ng m^{-3})	
			PHE	FLT
14/04/1992	23	0	0,23	0,48
15/04/1992	23	1,17	0,21	0,47
16/04/1992	23	temporal	0,11	0,11

atividade biológica e a quantificação destes compostos no ambiente não é suficiente para determinar o risco individual. Geralmente, após absorção pelo organismo, estas substâncias são convertidas em metabólitos ativos. Uma rigorosa avaliação dos riscos requer a determinação dos efeitos resultantes da exposição, conhecimento da relação dose-resposta e compreensão do mecanismo de mutagênese para cada substância química considerada. Isto finalmente depende de metodologias analíticas adequadas para a quantificação de metabólitos ativos oriundos de poluentes ambientais¹⁶.

Os HPA estão entre aqueles poluentes ambientais que apresentam atividade cancerígena e mutagênica e que, já comprovado, provocam tumoração em animais e mutação em bactérias^{16,17,20,23,59,60}.

A incidência de câncer pulmonar é maior em áreas urbanas do que na zona rural, havendo a suspeita de que o material particulado atmosférico (MPA) contribua para este fato. O benzo[a]pireno que está presente no aerossol atmosférico urbano é um agente cancerígeno^{18,61}. O extrato orgânico de aerossol atmosférico, que contém HPA e derivados, apresenta atividade mutagênica em ensaios *in vitro*⁶². A atividade mutagênica do MPA ambiental é muito similar àquela dos aerossóis provenientes da emissão de motores a diesel que contém compostos com ação mutagênica direta como o 1-nitropireno^{63,64}.

A comparação entre a atividade mutagênica do PYR (inativo), BaP (2,3 mutantes/nmol) e 1,8-dinitropireno (254.000 mutantes/nmol), por meio de teste *Ames-Salmonella*, indica que os nitroarenos são potentes agentes mutagênicos com atividade superior aos correspondentes HPA. Por outro lado, estudos da carcinogenicidade em animais indicam que o BaP tem atividade cancerígena equivalente aos dinitropirenos. A conclusão é que a mutagenicidade potencial não é necessariamente convertida em carcinogenicidade potencial^{14,20,65}. O grau de carcinogenicidade e mutagenicidade de alguns HPA são mostrados na tabela 4¹⁸.

Tabela 4. Carcinogenicidade e mutagenicidade de HPA e NHPA¹⁸.

Composto	Carcinogenicidade (estudo em animais)	Mutagenicidade (teste Ames)
Fluoranteno	-	- / +
Pireno	-	-
Criseno	+	++
Benzo[a]pireno	+++	+++
1-Nitropireno	- / (+)	+++
3-Nitrofluoranteno	+	+++

- inativo; (+) muito fraco; + fraco; ++ moderado; +++ forte; ++++ muito forte

Os HPA podem penetrar no corpo humano por inalação, através da pele ou por ingestão. A ação exercida pelos HPA é ativada durante o processo metabólico que tem a finalidade de promover a excreção urinária. O mecanismo de eliminação do BaP pelo corpo humano envolve formação de epóxidos e, posteriormente, de compostos polidroxilados (mais solúveis em água) que são mais facilmente eliminados pela *via* urinária. Um dos intermediários (III) pode reagir com a guanina do DNA formando um aduto e forçar a célula a erros de reparação que, subsequentemente, pode resultar em tumoração (Fig. 4). Como isto pode modificar a conformação e funcionamento do ácido nucléico ainda está para ser determinado^{16,17,66,67}.

Investigações sobre a atividade cancerígena relativa de HPA indicam que os epóxidos formados em região de *baía*, em moléculas angulares, são mais reativos que os outros epóxidos possíveis na mesma molécula ou epóxidos formados em moléculas lineares. Esta região é conhecida por propiciar vários tipos de reações e a reatividade pode ser resultante da

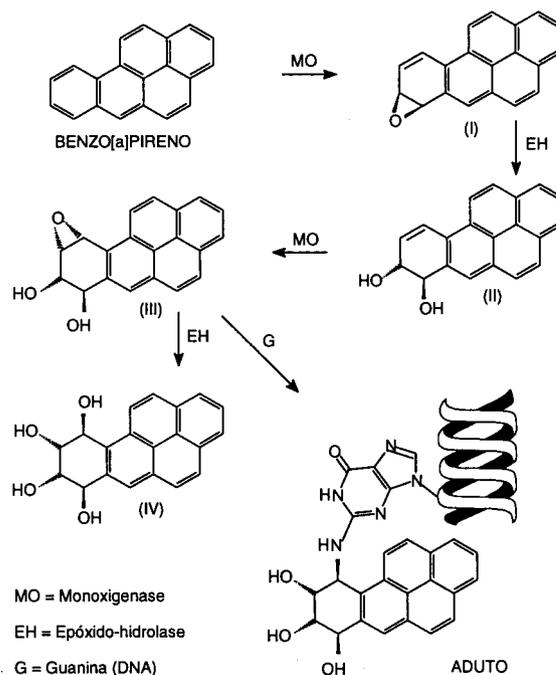


Figura 4. Mecanismo de eliminação/ativação metabólica do BaP e representação esquemática do aduto formado pela interação com o DNA.

estabilidade do carbocátion formado como intermediário, o mesmo não ocorrendo com os HPA lineares^{23,68}.

Os ensaios *Ames-Salmonella* são geralmente realizados, em condições ideais, com a *Salmonella typhimurium* (e.g. usando a cepa TA98). A atividade mutagênica pode ser dependente de fatores externos de ativação à base de preparações enzimáticas que são obtidas geralmente de fígado de rato (S9). Neste caso a substância é considerada como *promutagênica* e a sua atividade *in vivo* ocorre após a transformação metabólica. Em geral a atividade mutagênica dos NHPA não é dependente de fatores de ativação externos^{1,14,34,51,69,70,71,72}.

A genotoxicidade dos NHPA depende da estrutura do HPA correspondente, do número e da posição dos átomos de nitrogênio. A maioria dos NHPA são agentes mutagênicos, em bactérias, sendo a mutagenicidade dependente da redução enzimática da função nitro à hidroxilamina correspondente. O mecanismo de ação é semelhante ao verificado para os metabólitos dos HPA¹⁴.

Estudos recentes sugerem que os produtos de transformações atmosféricas de HPA podem ter uma importante significação na atividade mutagênica de extratos de amostras ambientais atmosféricas (vapor e partículas)^{50,51}.

Devido a importância ambiental e efeitos sobre a saúde humana, a carcinogenicidade, mutagenicidade e metabolismo de HPA e NHPA continuam a ser foco de interesse e de intensas investigações.

1.6. HPA e o ambiente

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos ocorrem amplamente no ambiente e podem ser encontrados em plantas terrestres e aquáticas, solos, sedimentos, águas naturais e marinhas e, particularmente, na atmosfera. Os HPA já foram detectados na atmosfera de zonas urbanas, suburbanas, florestais e nas áreas mais distantes do planeta (Antártica), contudo, suas concentrações são maiores em áreas urbanas densamente povoadas e zonas industriais^{1,7,35,37,73}.

Os prejuízos que os HPA podem causar ao ambiente tem sido objeto de vários estudos. A contaminação de rios, mares e florestas e, também da atmosfera, pode causar danos irreparáveis

à natureza e à saúde humana. A ação maléfica dos HPA sobre os organismos vivos pode ser exercida diretamente e, principalmente, através de seus derivados muitos deles ainda desconhecidos.

Os efeitos dos HPA sobre a saúde humana está diretamente associado ao mecanismo de contaminação que ocorre principalmente através da inalação de aerossóis atmosféricos.

O trato respiratório pode ser convenientemente dividido em duas regiões distintas: a região extratorácica constituída das vias nasal e oral, faringe e laringe; e a região intratorácica que inclui os brônquios, traquéia e alvéolos. Devido a deposição de partículas ambientais e organismos a região extratorácica é muito susceptível a infecções e doenças respiratórias. A deposição de partículas na região extratorácica é considerada a primeira linha de defesa contra a penetração de partículas nas vias mais distantes mas, também, é reconhecido como um sítio de efeitos tóxicos. A região intratorácica, por sua vez, é dividida em região traqueobronquial e região alveolar onde geralmente ocorre o câncer de pulmão e outras enfermidades crônicas⁷⁴.

Partículas menores têm um tempo de residência maior na região intratorácica, permanecendo por semanas e até anos em contato direto com a membrana alveolar. O estudo da distribuição do BaP no Rio de Janeiro, utilizando um impactador em cascata, indica que os HPA estão preferencialmente adsorvidos em partículas menores, com diâmetro aerodinâmico entre 0,05 e 0,26 μm ^{54,55}. Outros estudos indicam que 95% dos HPA estão associados a partículas menores que 10 μm de diâmetro o que corresponde àquelas consideradas inaláveis (d.p. \leq 15 μm). Isto aumenta a possibilidade de absorção pelo organismo do eficiente deposição intratorácica^{14,55,75,76}.

Estudos recentes indicam que a deposição de região intratorácica aumenta com o tamanho da partícula, de 5 a 20 nm, e decresce de modo constante até o diâmetro de 200 nm. A deposição mais eficiente na região intratorácica ocorre, portanto, com partículas submicrométricas em torno de 20 nm⁷⁴.

As concentrações de BaP (que é o mais estudado) e de outros HPA associados a aerossóis atmosféricos, e.g., FEN, ANT, PYR, BaA, CHR, FLT, BaF, IND, COR etc., têm sido determinadas, principalmente nas grandes cidades.

Um grande número de trabalhos relatam a quantificação de HPA em vários países do mundo, principalmente nos EUA. Por exemplo, a tabela 5 mostra os níveis de HPA em amostras de ar atmosférico coletadas em variados locais e períodos do ano.

No Brasil alguns estudos foram realizados principalmente na cidade do Rio de Janeiro⁸⁰. Em 1984 foram quantificados 9 HPA de aerossóis atmosféricos coletados em locais de intenso

tráfego de veículos automotores. As análises foram realizadas através de CLAE com detecção por fluorescência, usando coluna em fase reversa do tipo C₁₈ (5 μm , 15 cm x 4,6 mm d.i.). Os resultados demonstram uma relação direta entre as concentrações de HPA e carbono elementar (CE) sendo que a concentração deste é maior durante o dia (Tabela 6)⁸¹.

A razão HPA/CE é aproximadamente constante para ambos os períodos (noturno/diurno) para amostras coletadas de segunda a sexta-feira (Tabela 7).

Os dados indicam que ocorre perda por dessorção ou reação química durante o dia; que há aumento da concentração no período noturno, quando a temperatura cai e a radiação solar está ausente; e que durante a noite ocorre preferencialmente o processo de deposição seca do CE depositado sobre partículas finas⁸⁰.

Miguel e de Andrade⁸² relatam a quantificação simultânea de 11 HPA coletados durante um período de 12 horas (07:00 - 19:00 h) em dois sítios de amostragem, no túnel Santa Bárbara (1,3 Km de extensão) e no bairro de Vila Isabel (área residencial-comercial), na cidade do Rio de Janeiro, em 1986. Os valores encontrados refletem a origem veicular dos HPA que estão muito mais concentrados no túnel (~ 5 a 10 vezes) do que em área residencial-comercial (Tabela 8).

Nos últimos anos aumentou o interesse por derivados de HPA devido a suas ações mutagênica e cancerígena. Várias investigações têm sido conduzidas visando esclarecer o mecanismo de formação de derivados de HPA na atmosfera (principalmente nitrenos) e determinar os seus níveis de concentração. A quantificação de NHPA também tem sido realizada em material particulado ambiental (MPA) coletados em várias localidades e países. Zielinska *et al.*⁴⁹ determinaram as concentrações de 5 nitroderivados em material orgânico particulado coletado no sul da Califórnia no mês de Setembro de 1985, na cidade de Claremont e, nos meses de Janeiro e Fevereiro de 1986, em Torrance. Os valores encontrados estão na tabela 9.

A separação e identificação dos compostos foi feita em sistema CG-EM usando coluna DB-5 de 60 m. Os dados das amostras coletadas em Claremont, durante o verão, mostram que ocorre uma forte variação na concentração de 2-NF, que alcança um máximo no período de 18:00-24:00h. Este fato sugere que o 2-NF foi majoritariamente formado através da reação com o N₂O₅ em fase vapor para em seguida ser depositado sobre partículas. A razão 2-NF/2-NP indica a importância da reação com N₂O₅ na da formação de nitroarenos na atmosfera, especialmente 2-NF. A presença de N₂O₅ durante a coleta no inverno de Torrance é improvável devido aos altos

Tabela 5. Concentração de HPA em amostras de ar atmosférico.

Local/Data	Método	Unidade	PHE	FLT	PYR	BaP	Ref.
Los Angeles 24-25/02/1986 (dia)	CG-EM						
	* ***	ng m ⁻³	0,33 78	0,47 8,0	0,60 8,0	0,59 0,60	4
Los Angeles 24-25/02/1986 (noite)	CG-EM						
	* ***	ng m ⁻³	0,28 81,0	0,53 9,7	0,67 12,0	1,6 1,6	4
Glendora 15-18/08/1986 (dia)	CG-EM						
	**	ng m ⁻³	15,9	4,2	2,4	-	56
Glendora 15-18/08/1986 (noite)	CG-EM						
	**	ng m ⁻³	22,4	5,2	4,2	-	56
Washington média anual (SRM 1649)	CLAE						
	*	$\mu\text{g g}^{-1}$	4,5	6,8	6,2	2,6	77
Madri inverno de 1993	CLAE						
	*	ng m ⁻³	1,4	1,0	5,6	4,9	78
Madri verão de 1993	CME						
	*	ng m ⁻³	3,3	2,1	5,2	3,9	79
Base Italiana/Antártica 2-4/01/1991	CG-EM						
	*	pg m ⁻³	29,3	16,7	24,7	16,4	73

* material particulado; ** fase vapor; *** total

Tabela 6. Concentrações (ng m⁻³) de HPA e CE no Rio de Janeiro.

	FLT	PYR	BaA	CHR	BbF	BkF	BaP	BgP	IND	CE
Dia	1,49	1,28	0,97	1,40	2,29	1,04	2,62	4,01	2,86	11,8
Noite	1,08	1,04	1,09	1,48	2,53	1,10	2,80	3,67	2,74	8,87
N/D	1,38	1,23	0,89	0,95	0,91	0,95	0,94	1,09	1,04	1,33

Tabela 7. Razão HPA/CE (n = 12 para cada período).

	FLT	PYR	BaA	CHR	BbF	BkF	BaP	BgP	IND
Dia	1,13	0,98	0,70	1,06	1,83	0,84	1,99	3,61	2,41
Noite	1,25	1,10	1,06	1,53	2,67	1,19	2,93	4,33	3,07

Tabela 8. Concentrações (ng m⁻³) de HPA no Rio de Janeiro.

	PHE	ANT	FLT	PYR	BaA	CHR	BbF	BkF	BaP	BgP	IND
Túnel	96,9	4,19	69,6	76,3	51,3	69,5	88,2	36,7	90,7	162	84,2
Vila Isabel	15,0	0,49	7,90	7,92	8,08	9,87	14,6	3,7	17,6	19,9	16,1

Tabela 9. Concentrações de nitrofluorantenos (NF) e nitropirenos (NP) em MPA.

Local e Data	Período de coleta (h)	Concentração (pg m ⁻³)						2-NP/ 2-NF
		2-NF	1-NP	2-NP	3-NF	8-NF		
Claremont								
13/09/85	12:00-18:00	40	3	1	3	2	40	
13/09/85	18:00-24:00	1.700	10	8	≤	2	210	
14/09/85	18:00-24:00	500	30	5	5	2	100	
15/09/85	00:00-06:00	100	10	2	≤0,5	0,9	50	
Torrance								
27/01/86	17:00-05:00	750	50	60	70	50	12	
28/01/86	05:00-17:00	410	60	50	≤ 3	8	8	
24/02/86	18:00-06:00	320	30	30	n.q.	n.q.	11	
25/02/86	06:00-18:00	280	40	40	n.q.	n.q.	7	

n.q. = não quantificado (níveis muito baixos para serem detectados)

níveis de NO observados ao por do sol. Assim sugere-se que a formação de ambos 2-NF e 2-NP ocorre somente durante o dia pela rota da reação iniciada pelo radical OH⁴⁹.

No Brasil não existem dados sobre as concentrações de NHPA na atmosfera. Contudo, estudos estão sendo realizados por alguns grupos de pesquisa no Rio de Janeiro, RJ (PUC), São Paulo, SP (USP) e Salvador, BA (UFBA).

2. PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS

Os HPA atmosféricos normalmente estão adsorvidos em aerossóis submicrométricos resultando em grande área superficial que permite interações heterogêneas complexas do tipo vapor-partícula^{54,55}. Entre estas destacam-se os processos fotoquímicos (reações com oxigênio e radicais livres), químicos (reações com HNO₃, NO_x, H₂SO₄, PAN, SO₂, O₃ e radicais livres, etc.) ou físicos (adsorção, dessorção e sublimação)^{1,7}.

2.1. Propriedades físicas

A pressão de vapor do HPA determina a sua distribuição ambiental entre ar-água-solo e, também, entre as fases gasosa e aerossol na atmosfera^{1,3,83}. A solubilidade em água também afeta a distribuição entre ar-água-solo apesar dos baixos coeficientes de solubilidade dos HPA em água pura⁸⁴. A grande variação nas faixas de pressão de vapor (da ordem de 10⁻⁷) é refletida no fato de que, no ar ambiente, a 25°C, o naftaleno existe virtualmente (100%) na fase vapor enquanto o BaP e outros HPA de 5 ou mais anéis estão predominantemente

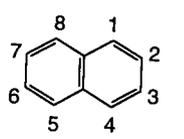
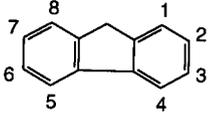
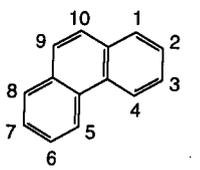
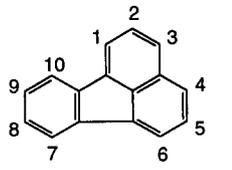
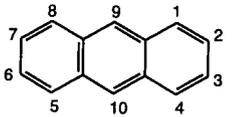
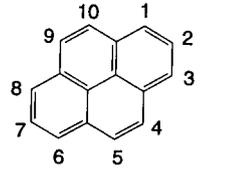
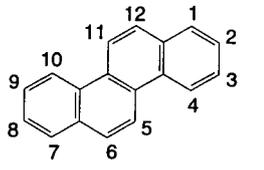
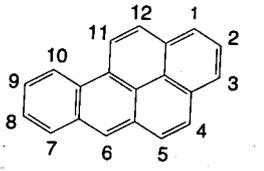
adsorvidos em material particulado atmosférico. Os HPA de pressão de vapor intermediária (3 e 4 anéis) estão distribuídos em ambas as fases. A solubilidade de HPA em água é geralmente muito baixa, contudo a oxidação a espécies mais polares pode ser acelerada pelo aumento da solubilidade em água¹. A tabela 10 mostra o coeficiente de solubilidade em água e a pressão de vapor de alguns HPA^{1,7}.

2.2. Propriedades Químicas

As transformações químicas de HPA em fase vapor vem sendo bastante estudadas, principalmente a partir do ano de 1950. Falk *et al*⁶ foram os primeiros a relatar a fotodecomposição de 10 HPA depositados sobre filtro de papel e expostos ao ar sob várias condições, incluído *smog* sintético¹. A possibilidade da conversão de HPA a produtos mais polares (por exemplo NHPA), na atmosfera, é desde então extensivamente investigada principalmente por meio de simulações da atmosfera em laboratório e pela formação de artefatos sobre filtros. Uma grande variedade de materiais, incluindo alumina^{85,86,87}, gel de sílica⁸⁸, celulose⁸⁹, solo⁹⁰, fibra de vidro⁹¹, material particulado atmosférico^{92,93} etc. são utilizados nos estudos.

De acordo com resultados experimentais a degradação de HPA na atmosfera depende de vários parâmetros físicos e químicos tais como composição espectral e intensidade da radiação, composição e características físicas do adsorvente (superfície específica, tamanho da partícula, grau de umidade) e também da presença e concentração de espécies químicas reativas (NO_x, O₃, etc.)^{7,94}.

Tabela 10. Propriedades físicas de alguns HPA.¹

HPA	Estrutura	Pressão de Vapor (mmHg)	Solubilidade/água (μgL^{-1})
Naftaleno NAF		$7,8 \times 10^{-2}$	31.700
Fluoreno FLU		$6,0 \times 10^{-4}$	1.980
Fenantreno PHE		$1,2 \times 10^{-4}$	1.290
Fluoranteno FLT		$9,2 \times 10^{-4}$	260
Antraceno ANT		$6,0 \times 10^{-6}$	73
Pireno PYR		$4,5 \times 10^{-6}$	135
Criseno CHR		$8,5 \times 10^{-9}$	2
Benzo[a]pireno BaP		$5,6 \times 10^{-9}$	0,05*

* Valor observado a 20°C.

A persistência de HPA na atmosfera tem sido objeto de muitos estudos nos últimos 40 anos. Os principais objetivos das investigações são a identificação dos produtos das reações entre HPA e poluentes gasosos, os mecanismos dessas reações e a fase em que ocorrem (adsorvido em partículas ou em fase vapor) e a determinação do tempo de meia-vida desses compostos na atmosfera.

As transformações químicas implicam em modificações

das propriedades físicas dos HPA e, conseqüentemente, em alterações na distribuição entre as fases vapor e partícula. Isto tem influência direta nos processos de transporte atmosférico e deposição seca ou úmida³.

Reações químicas entre HPA e co-poluentes podem ocorrer também durante o processo de coleta de material, constituindo-se, neste caso em artefatos de amostragem^{1,7,35,36}.

Genericamente as reações que envolvem os HPA podem ser

classificadas como de substituição (um átomo de hidrogênio é trocado por outro elemento ou grupo) ou adição (uma ligação dupla é desfeita) seguida ou não de eliminação (regeneração da ligação dupla). O processo de adição seguido de eliminação resulta em reação de substituição. Os produtos destas reações podem, subsequentemente, sofrer novas transformações, inclusive a abertura de anéis, e dar origem a substâncias mais complexas. A figura 5 mostra, esquematicamente, os principais tipos de reação que ocorrem com os HPA^{7,95}.

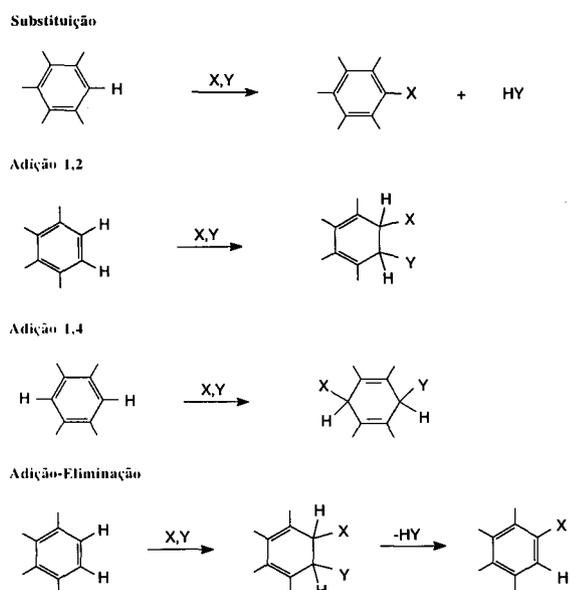


Figura 5. Principais tipos de reações que ocorrem com os HPA

O tipo de reação que um HPA pode experimentar depende de sua própria estrutura e das espécies com quem interagem^{7,96}. As posições em que ocorrem as reações são determinadas pela estabilidade das espécies intermediárias. São mais reativas aquelas adjacentes à fusão dos anéis por serem energeticamente favorecidas. Por exemplo as reações em HPA lineares, como o antraceno, ocorrem nas posições 9 e 10 (denominada de região L). Moléculas angulares como o fenantreno reagem preferencialmente nas posições 9 e 10 (denominada região K). As posições 1 e 4, no pireno, e 1,3,4,5 e 6 no benzo[a]pireno são mais reativas. No caso do BaP, a posição 6 é mais reativa que as demais (Fig. 6)⁹⁷. De acordo com a teoria de Fukui *et al.*⁹⁸, as

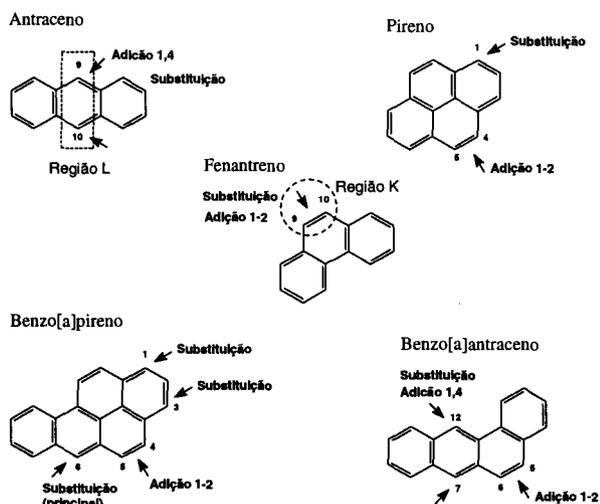


Figura 6. Tipos e posições mais reativas em HPA lineares e angulares.

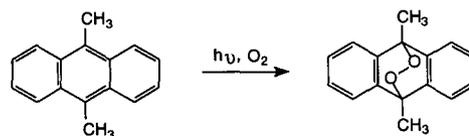
probabilidades de nitração das posições 1 e 4 do pireno são, respectivamente, 60,86% e 39,37%. No BaP as posições 1, 3 e 6 têm, respectivamente, 28,46%, 25,16% e 46,37% de probabilidade de nitração⁹⁹.

A presença de substituintes elétron-doadores ou elétron-aceptores nos anéis pode, respectivamente, aumentar ou diminuir a velocidade da reação⁷.

2.2.1. Fotooxidação

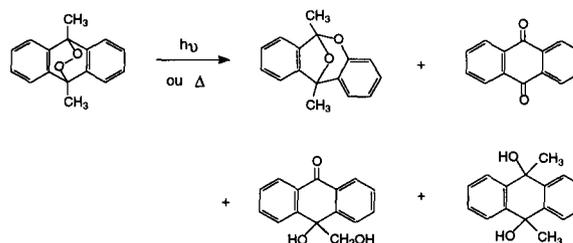
Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos absorvem fortemente na região do UV maior que 300 nm (presente na radiação solar) e muitos deles são rapidamente fotooxidados. Este é, provavelmente, um dos principais processos de remoção de HPA da atmosfera juntamente com a deposição úmida^{7,37,94}.

A reação mais comum dos HPA em solução é a formação de endoperóxidos. Por exemplo o 9,10-dimetilantraceno reage com O₂ em presença de luz fornecendo o correspondente 9,10-endoperóxido (Esquema 3)^{92,100,101}.



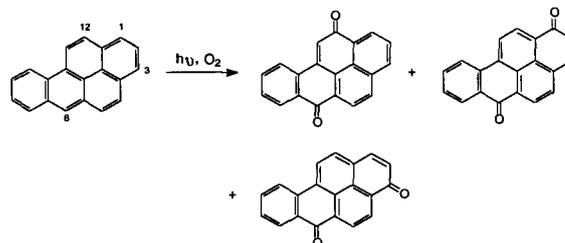
Esquema 3. Reação de fotooxidação do antraceno em solução.

A fotólise ou pirólise do endoperóxido é iniciada pela quebra homolítica da ligação O-O conduzindo a uma variedade de produtos (Esquema 4)⁹⁹.



Esquema 4. Produtos da fotólise ou termólise do endoperóxido em solução.

Quando o endoperóxido não pode ser formado, por impedimento estérico, a fotooxidação conduz a dionas. Por exemplo o BaP fornece uma mistura das dionas 6,12, 1,6 e 3,6 correspondentes (Esquema 5)⁷.

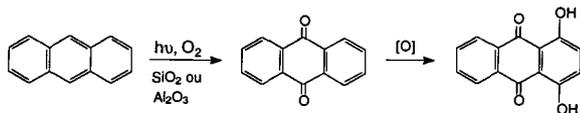


Esquema 5. Fotooxidação do benzo[a]pireno em solução.

A fotooxidação de HPA na atmosfera, contudo, ocorre principalmente sobre a superfície de material particulado, sendo que a fotodegradação depende muito da natureza do substrato^{7,94,102}.

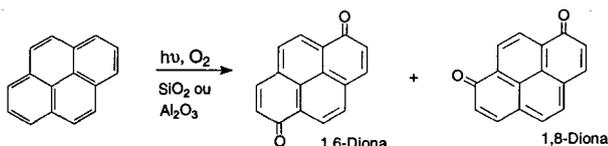
O antraceno, adsorvido em alumina ou gel de sílica, é rapidamente convertido a antraquinona sob ação da luz em

presença de oxigênio. O endoperóxido não aparece como intermediário desta reação. A oxidação posterior do produto da reação fornece a 1,4-diidroxi-9,10-antraquinona (Esquema 6). O grau de oxidação é dependente do adsorvente utilizado⁷.



Esquema 6. Fotooxidação de antraceno adsorvido em gel de sílica ou alumina.

Vários HPA quando submetidos à ação da luz natural ou artificial, sobre placas de cromatografia em camada delgada (gel de sílica ou alumina), em presença de oxigênio, formam produtos de oxidação. O pireno por exemplo é oxidado a 1,6-diona e 1,8-diona correspondentes (Esquema 7)⁸⁷.



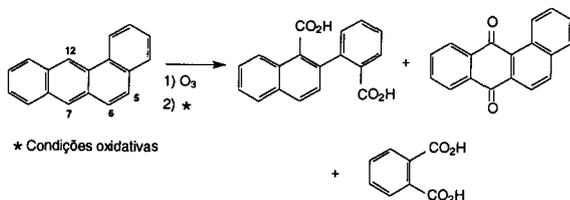
Esquema 7. Fotooxidação de pireno sobre placa de alumina ou gel de sílica.

A velocidade do processo de fototransformação depende essencialmente da radiação, embora possa ser acelerado pelo *smog* fotoquímico sintético. Por exemplo quando o BaP, adsorvido sobre fuligem ou filtro, é exposto a radiação de intensidade variável, por 48 horas, há 10% de transformação. A exposição por uma hora, em presença de *smog* sintético (contendo oxidantes não naturais na concentração de 30 ppm), provoca 50% de destruição do BaP. Este e outros estudos realizados em laboratório indicam que o tempo de meia-vida dos HPA na atmosfera pode variar de minutos ou horas a dias^{7,85,103}.

2.2.2. Reação com ozônio

O ozônio é um poluente secundário presente na troposfera e, também, uma das espécies químicas mais reativas. Reage com os HPA formando vários tipos de compostos. Muitos trabalhos na literatura relatam reações entre ozônio e HPA adsorvidos em filtros^{7,23,104,105,106}.

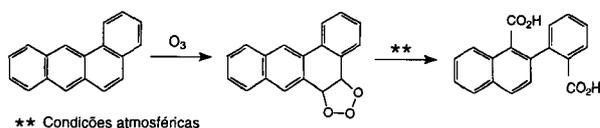
A ozonólise de benzo[a]antraceno é um exemplo característico que conduz a diácidos e quinona (Esquema 8). A reação envolve uma quebra de ligação nas posições mais reativas, 5,6, para formar diácidos ou a oxidação em 7,12 para produzir a quinona correspondente^{7,107}.



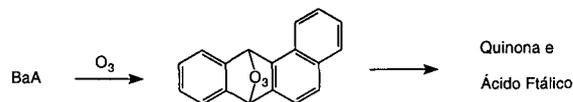
Esquema 8. Reação entre benzo[a]antraceno e ozônio em laboratório

Em condições atmosféricas é muito provável a produção de diácidos passando por um intermediário do tipo molozonídeo (Esquema 9)⁷.

Em parte a quinona e ácido ftálico produzido podem ser oriundos do intermediário formado pela adição de ozônio ao benzo[a]antraceno (Esquema 10).

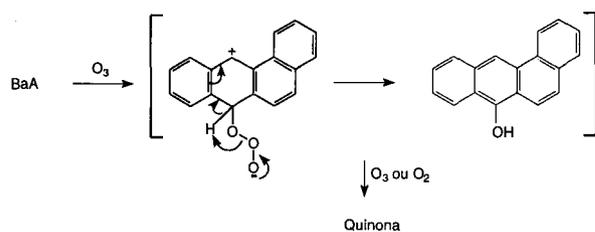


Esquema 9. Provável formação de diácidos em condições atmosféricas.



Esquema 10. Reação de adição de ozônio ao BaA.

Contudo, uma segunda rota para a produção de quinona também é postulada. Esta envolve o ataque eletrofílico do ozônio sobre o anel aromático fornecendo um intermediário hidroxilado que, rapidamente, é oxidado a quinona (Esquema 11).

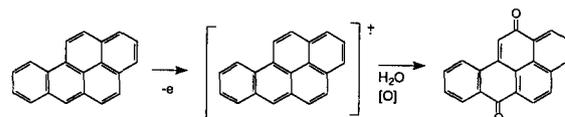


Esquema 11. Reação eletrofílica de BaA com ozônio.

Esta forma de ataque do ozônio ao anel aromático pode ser uma importante rota na oxidação do benzo[a]pireno que fornece uma mistura de 3,6-diona e 1,6-diona na proporção de 3:1, acompanhado de traços do isômero 4,5-diona¹⁰⁸.

2.2.3. Formação de íons-radicais

O processo de oxidação pela perda de um elétron é muito comum em alguns HPA. Os cátions-radicais formados são bastante instáveis e reagem rapidamente com água e outros nucleófilos fornecendo produtos de oxidação. Por exemplo o BaP é oxidado anodicamente ao cátion-radical correspondente que reage com água fornecendo a 1,6-diona e outras duas quinonas. Pequenas quantidades de dímeros também são formadas principalmente na superfície do eletrodo (Esquema 12)^{7,109,110}.



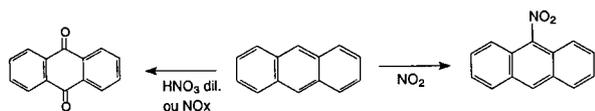
Esquema 12. Oxidação eletroquímica do BaP

Os cátions-radicais são também formados pelo tratamento de HPA com ácidos de Lewis fortes. A adsorção sobre alumina ou gel de sílica também pode provocar a formação de íons-radicais. Estes processos ocorrem, particularmente, em presença de oxigênio⁷.

2.2.4. Reações com óxidos de nitrogênio

Os HPA, principalmente os mais pesados (maior número de anéis), são extremamente sensíveis à oxidação e substituição eletrofílica. Óxidos de nitrogênio e ácido nítrico diluído podem interagir com HPA resultando em reações de adição, substituição ou oxidação. O antraceno é facilmente oxidado por ácido

nítrico diluído ou óxidos de nitrogênio fornecendo a antraquina. Pela ação do NO₂ o antraceno é convertido em 9-nitroantraceno (Esquema 13). O benzo[a]pireno é rapidamente nitrado com ácido nítrico diluído em ácido acético ou benzeno, à temperatura ambiente, fornecendo o derivado mononitrado como produto principal⁷.



Esquema 13. Reação do ANT com HNO₃ e com NO_x.

O alto grau de mutagenicidade dos nitroderivados de HPA, aliado à constatação de que muitos deles são amplamente distribuídos no ambiente, resultou em crescente interesse pelas reações entre esses hidrocarbonetos e óxidos de nitrogênio.

O processo secundário de produção de NHPA na atmosfera, discutido no tópico 1.3 (Esquemas 1 e 2), envolve reações com OH/NO_x e N₂O₅, sendo considerado hoje de grande importância ambiental^{15,111}. A quantificação de 2-nitropireno e 2-nitrofluoreno em material particulado atmosférico demonstra que estes nitrenos secundários estão em maiores concentrações que os isômeros provenientes da emissão direta (Tabela 7, tópico 1.3). Recentemente foi caracterizada uma nova classe de nitroderivados de HPA, as nitrolactonas, isoladas tanto de reações simuladas em laboratório como de amostras ambientais⁴⁷⁻⁵¹.

Helmig *et al* estudaram a reatividade de uma série de HPA sob condições simuladas de atmosfera ambiental (em câmara de reação ambiental). A reação em fase vapor de fenantreno com radical OH em presença de NO_x fornece, entre outros produtos, os derivados 2 e 4-nitro-6H-dibenzo[b,d]piran-6-ona (Fig. 7). Estes novos nitroderivados foram identificados por cromatografia de gás acoplada a espectrometria de massas. A mutagenicidade de frações obtidas por CLAE foi testada, sendo atribuída principalmente a 2-nitro-6H-dibenzo[b,d]piran-6-ona que apresenta atividade muitas vezes superior ao isômero substituído na posição 4^{51,52}.

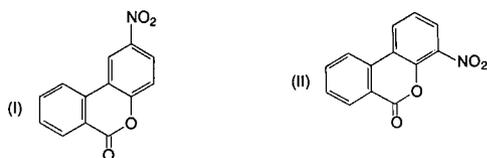
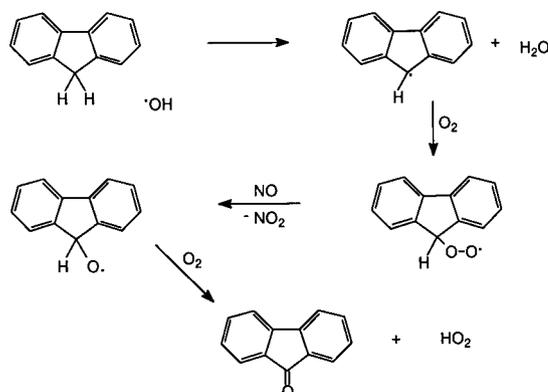


Figura 7. Nitrolactonas obtidas da reação entre fenantreno e OH/NO_x em fase vapor.

As duas nitrolactonas obtidas da reação com o fenantreno foram também identificadas em amostras ambientais enquanto outras nitrolactonas, por exemplo as nitropirenolactonas, são extensivamente investigadas em material ambiental. Da reação do pireno com o radical OH em presença de NO_x foram também identificadas, com base nos dados de espectrometria de massas, duas novas lactonas isômeras, 1 e 3 nitro-5H-fenantro[4,5-bcd]piran-5-ona, que apresentaram potente atividade mutagênica medida pelo ensaio *Ames-Salmonella*. O mecanismo de formação de nitrolactonas, no ambiente ou em câmaras de reação, ainda não está esclarecido¹¹².

O fluoreno é um dos mais abundantes HPA identificados em processos de combustão e em amostras de ar ambiental. Sob condições atmosféricas é esperado que o principal processo de remoção seja a reação com o radical OH. Helmig *et al*^{113,114} investigaram a reação de fluoreno iniciada com OH em presença de NO_x, e, entre outros produtos, foram identificados todos os nitrofluorenos isômeros (1-5%) e a fluorenona (9 %).

Estes resultados permitem supor que os nitrofluorenos presentes na atmosfera são formados através de reações iniciadas pelo radical OH. Os principais nitroderivados foram os 1 e 3-nitrofluoreno distintos do produto principal de reações eletrofilicas, o 2-nitrofluoreno, que é o principal derivado na emissão de motores a diesel. O rendimento de fluorenona na reação é semelhante ao consumo de OH. Isto sugere que a conversão do fluoreno a fluorenona passa pela abstração de H pelo radical OH seguido de outras transformações (Esquema 14)^{111,112}.



Esquema 14. Formação de fluorenona em fase vapor.

A reação de HPA com HNO₃ e NO_x na atmosfera continua sendo extensivamente investigada. Reações em atmosferas simuladas e com substratos adsorvidos em filtros são os principais recursos hoje utilizados nessas pesquisas.

2.2.5. Outras reações

Outras substâncias químicas presentes na atmosfera poluída podem, também, reagir com os HPA. Por exemplo são relatados vários estudos sobre as reações entre HPA e SO₂, nitrato de peroxiacetila (PAN) e radicais livres^{1,7,14,35,37}. Nenhuma destas reações, contudo, têm a importância das que foram referidas anteriormente.

3. AMOSTRAGEM

Os HPA e outros compostos orgânicos semivoláteis (COS), com pressão de vapor entre 10⁻⁴ e 10⁻¹¹ atm à temperatura ambiente, existem no ar como vapor ou adsorvidos em material particulado. A razão de distribuição vapor-partícula é controlada pela pressão de vapor do COS e pela concentração total de partículas em suspensão^{1,3,57,115}.

O material particulado atmosférico (MPA) é geralmente coletado do ar em amostradores de grande volume (também conhecidos como *Hi-Vol* na literatura internacional), por meio de sucção, com fluxo de 1,2 - 1,7 m³ min⁻¹. Este sistema utiliza um filtro para a retenção do material particulado e um adsorvente (sólido poroso) para reter os componentes em fase vapor (Fig. 8). Dependendo de como varia a temperatura e a concentração das espécies químicas, durante o período de coleta, pode haver diminuição ou aumento da concentração de COS sobre o filtro. As perdas podem ocorrer por degradação química ou por volatilização (dessorção)^{3,35,37,115,116}.

Uma alternativa ao *Hi-Vol* é a utilização de um sistema de difusão em tubos de vidro também chamado de *denuder*. O material particulado e os COS, em fase vapor, passam através de um sistema de tubos cilíndricos com a parede interna revestida com um sólido adsorvente ou um líquido de alto ponto de ebulição. Neste tipo de amostrador as moléculas do vapor são removidas da corrente de ar pelo processo de difusão, ficando retidas sobre as paredes do *denuder*. O material

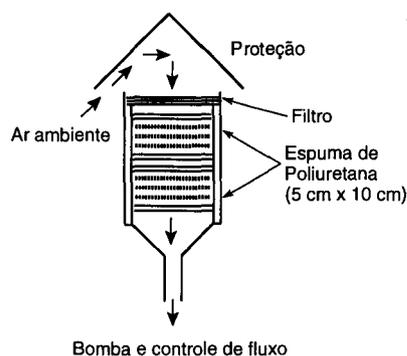


Figura 8. Diagrama esquemático de um amostrador de grande volume (Hi-Vol).

particulado difunde mais lentamente, passa através do *denuder* e é então retido sobre o filtro. Os COS são parcialmente removidos das partículas pela corrente de ar sendo coletados na seção do sólido adsorvente. A soma do COS retidos no filtro e no adsorvente representa a fração contida no material particulado do ar ambiente. A completa remoção de componentes da fase vapor pelo *denuder* é essencial para o sucesso deste método (Fig. 9)^{3,57,117}.

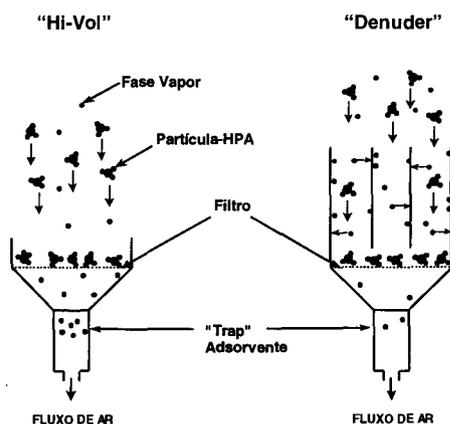


Figura 9. Sistemas de coleta de ar atmosférico (amostragem)

Os filtros utilizados são de material inerte, *e.g.*, fibra de vidro ou quartzo, Teflon®, poliestireno, entre outros materiais e, como adsorvente utiliza-se Tenax®, espuma de poliuretana, porapak®, peneira molecular etc.^{115,118}.

Em estudos recentes Subramanyam *et al*⁵⁷ investigaram a distribuição vapor-partícula de HPA em atmosferas urbanas. Os compostos menos voláteis (maior peso molecular) foram observados predominantemente na fase particulada e os mais voláteis (menor peso molecular), na fase vapor. Compostos de volatilidade intermediária como fenantreno e fluoranteno foram observados em ambas as fases. Compostos menos voláteis que o pireno raramente foram encontrados na fase vapor em amostras de ar coletadas com o sistema *Hi-Vol*. Observaram que os artefatos de amostragem, usando o *Hi-Vol*, podem causar significativos erros na estimativa de coeficiente de partição de COV. Finalmente sugerem que os amostradores (modificados) de pequenos volumes e os *denuders* podem ser utilizados na obtenção de medidas mais

precisas do coeficiente de distribuição vapor-partícula.

É fato conhecido que muitos co-poluentes ambientais reagem com HPA sob condições simuladas de ar atmosférico e vários derivados de HPA já foram identificados de materiais coletados de atmosferas urbanas¹¹⁹. Muitos estudos evidenciam a formação desses derivados, *e.g.*, NHPA, no processo de coleta em *Hi-Vol* e outros tipos de amostradores^{120,121}. Deste modo, a formação de artefatos durante o processo de amostragem, incluindo a reação com oxidantes como o ozônio, tem sido objeto de constantes investigações^{119,122}.

Os resultados obtidos por Coutant *et al*¹¹⁶ sugerem fortemente que, após a coleta, as perdas de BaP associado ao material particulado, por processo oxidativo devido ao ozônio, são negligenciáveis. O mesmo estudo indica que HPA de 3 e 4 anéis existem parcialmente na fase vapor e que, durante a amostragem, pode ocorrer a formação de artefatos como resultado da volatilização destes compostos. Estudo da reação entre HPA depositados sobre gel de sílica e ozônio indicam que a reatividade depende da superfície adsorvente¹²³.

Estudos realizados por Kaupp e Umlauf¹²⁴ indicam que a formação de artefatos em amostras de material particulado atmosférico, coletadas sobre fibra de vidro, é menos drástica do que discutido anteriormente na literatura.

Um outro tipo de amostrador utilizado na coleta de material particulado é o impactador em cascata que é especialmente útil quando o objetivo é a coleta de acordo com o tamanho da partícula. Contudo, apresenta a desvantagem de exigir um maior tempo de amostragem devido à baixa velocidade do fluxo de ar. Neste sistema os aerossóis são desviados da direção do fluxo de ar pelas forças inerciais e colidem com os obstáculos (placas de) onde são coletados. Os impactadores em cascata têm pelo menos dois estágios constituídos de dispositivos mecânicos arranjados em série (Fig. 10)^{55,115}.

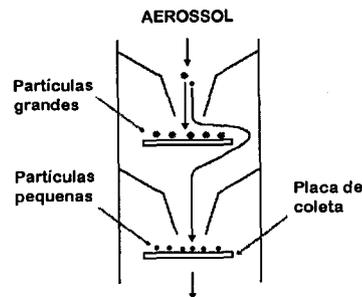


Figura 10. Princípio da coleta por impactação em cascata

Um impactador de baixa pressão, com fluxo de 1L min⁻¹, constituído de 8 estágios, foi utilizado por Miguel⁵⁵ na separação de aerossóis atmosféricos de acordo com o diâmetro da partícula (Tabela 11). Este estudo permitiu a quantificação de BaP em cada uma das frações e a caracterização da sua distribuição na atmosfera por tamanho de partícula.

Outros sistemas são também utilizados na coleta de material particulado como por exemplo o precipitador eletrostático e o amostrador de *Andersen* (um tipo especial de amostrador em cascata)^{115,124}.

A quantidade de ar a ser amostrada depende da concentração da espécie a ser quantificada. Os NHPA estão em menores concentrações que os HPA, na atmosfera, o que exige um maior volume de ar na coleta do material particulado¹⁴.

Tabela 11. Distribuição por tamanho da partícula no amostrador em cascata⁵⁵.

Estágio	1	2	3	4	5	6	7	8	Filtro
d.p. (µm)	> 4,0	2,0	1,0	0,5	0,26	0,12	0,075	0,05	< 0,05

HPA coletados sobre filtros de Teflon® ou adsorvidos em espuma de poliuretano, quando acondicionados em recipiente fechado, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, são estáveis por um período de tempo relativamente longo (até ca. 118 dias)¹²⁵. Contudo, independente do sistema de coleta, as amostras devem ser analisadas o mais rápido possível para evitar qualquer risco de perdas por degradação, sublimação ou outros processos.

4. METODOLOGIA ANALÍTICA

Entre as principais metodologias analíticas para a quantificação de HPA e NHPA na atmosfera estão os métodos cromatográficos, espectroscópicos e voltamétricos ou polarográficos. Neste trabalho é destacada a cromatografia não somente por ser uma técnica analítica das mais utilizadas mas, também, devido a característica de versatilidade que permite o seu uso na purificação da amostra, fracionamento e pré-concentração, separação, identificação e quantificação de componentes^{1,14,35,36, 126}.

4.1. Extração, fracionamento e pré-concentração da amostra

O aerossol atmosférico coletado sobre filtros constitui o principal material ou amostra do ar ambiental utilizada na quantificação de HPA e NHPA. Devido a sua complexidade o material particulado atmosférico (MPA) é previamente fracionado e concentrado em HPA por meio de técnicas cromatográficas (cromatografia em camada delgada, cromatografia em coluna, microcolunas tipo SEP-PAK® ou CLAE)^{23,24,127} ou por extração^{128,129}.

O procedimento básico de fracionamento e pré-concentração envolve, em primeira etapa, a extração do material particulado com diclorometano, em aparelho de Soxhlet¹³⁰, ou a utilização do processo de extração por sonicação⁸² usando solventes como diclorometano ou acetonitrila, seguido de filtração. O extrato é então separado/pré-concentrado através de cromatografia em uma microcoluna SEP-PAK® usando diclorometano como eluente e, depois, por meio de CLAE em fase normal usando hexano-diclorometano em gradiente de concentração. A separação posterior, identificação dos componentes e quantificação é feita geralmente através de CLAE em fase reversa ou por cromatografia de gás acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) (Fig. 11)^{35,36}.

A extração deve ser conduzida de modo a assegurar o máximo de recuperação. A contaminação da amostra e a degradação durante esse processo pode ser minimizada através de um rigoroso controle da vidraria e solventes utilizados. A eficiência dessa etapa analítica é fundamental para o resultado final da análise de HPA³⁶. A extração de HPA e NHPA de material particulado é feita, também, com fluidos supercríticos usando, e.g., CO₂ ou CHCl₂/CO₂^{131,132,133}.

Estudos comparativos da extração de compostos orgânicos de amostras sólidas, usando Soxhlet ou ultrasom, demonstram que os índices de recuperação são muito próximos ou equivalentes^{126,134,135,136}. A extração de amostras de solo com Soxhlet usando acetona/hexano apresenta recuperação em geral superior ao método de sonicação com acetona/cloreto de metileno. Em alguns casos, contudo, a sonicação pode ser mais eficaz e.g. para amostra de solos em baixos níveis de concentração (menos que 1-2 mg/g de HPA)¹³⁷. Para amostras de MPA o método de sonicação com acetonitrila demonstra ser mais eficiente que a extração com Soxhlet. O método do ultrasom apresenta ainda as seguintes vantagens: a reprodutibilidade da técnica, utilização para uma ampla faixa de tamanho da amostra, baixo custo, pequeno número de interferentes e rapidez no processamento da amostra^{126,135}. As vantagens do ultrasom na extração de compostos polares foi recentemente questionada por Carvalho, L.R.F. et al o que coloca esta técnica sob suspeita¹³⁸.

4.2. Métodos cromatográficos

Devido a versatilidade, eficiência e sensibilidade os métodos cromatográficos são os mais utilizados na análise de HPA e NHPA

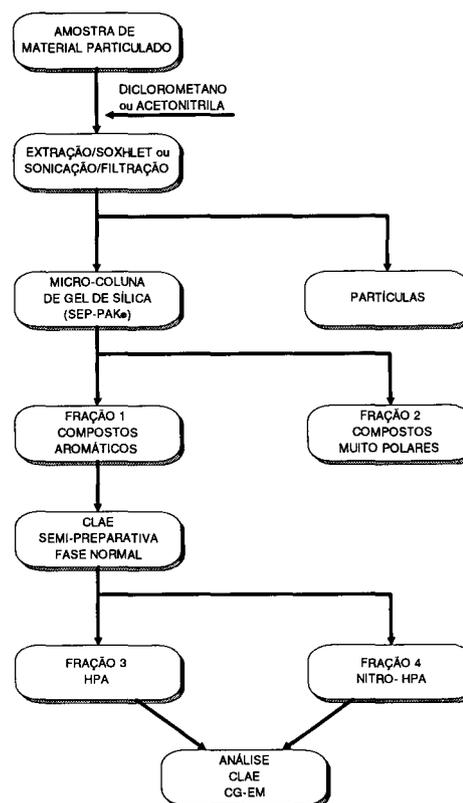


Figura 11. Esquema analítico para extração, separação e quantificação de HPA e NHPA.

de material atmosférico ambiental e de outras matrizes ou materiais. Dentre as várias técnicas cromatográficas destacam-se a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), a cromatografia gasosa de alta resolução (CGAR) e a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM).

A discussão básica sobre instrumentação, colunas, detectores, teoria da separação etc., aqui tratada, é limitada aos aspectos de importância na análise de HPA e NHPA. Artigos de revisão sobre Cromatografia Planar¹³⁹, Cromatografia Gasosa¹⁴⁰ e Cromatografia Líquida^{141,142,143} têm sido constantemente publicados e estão disponíveis na literatura.

4.2.1. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A cromatografia líquida de alta eficiência tem sido extensivamente utilizada na análise de HPA, principalmente a partir do ano de 1970 quando o seu uso foi bastante ampliado. A eficiência da separação por CLAE não é tão boa quanto às modernas técnicas de cromatografia gasosa (CG) que utilizam colunas capilares de alta resolução. Contudo, a CLAE apresenta algumas vantagens que a tornam uma técnica ainda muito utilizada na separação e quantificação de HPA coletados de diversas matrizes e materiais. Primeiro, oferece uma grande variedade de fases estacionárias cuja seletividade permite a resolução até mesmo de isômeros que são mais difíceis de separar por meio de CG. Na CLAE a interação do soluto ocorre tanto com a fase móvel quanto com a fase estacionária enquanto na CG ocorre somente com a fase estacionária. A detecção dos componentes pode ser feita por absorção no ultravioleta (HPA e NHPA), espectroscopia de fluorescência (HPA) ou através do detector eletroquímico (NHPA), métodos de alta sensibilidade. A CLAE também é muito utilizada no fracionamento e pré-concentração da amostra^{35,36,126,143,144,145}.

A separação de HPA por cromatografia líquida (CL) pode ser feita pelo método clássico, em fase normal, usando gel de

sílica ou alumina como adsorvente; em fase reversa, usando fase estacionária apolar quimicamente ligada, e.g., C₁₈; em fase normal (polar) quimicamente ligadas, e.g., NH₂, CN, R(OH)₂ etc.; e através da estereo-exclusão ou permeação em gel. Os dois primeiros modos são os mais amplamente utilizados na CL em geral e o segundo é o mais utilizado na CLAE^{35,36,146}.

A ordem de eluição para os métodos acima descritos, exceto permeação em gel ou exclusão, é muito similar. Ou seja, a retenção aumenta com o número de carbonos ou peso molecular. O índices de retenção de vários HPA, para as fases normal e reversa, estão descritos na literatura^{147,148} e têm sido usados como base para novas investigações¹⁴⁹.

As colunas de cromatografia em fase reversa são constituídas de hidrocarbonetos com cadeias de 2, 8, ou 18 átomos de carbono quimicamente ligadas à partícula de gel de sílica. A fase ligada C₁₈ (octadecilsilicone) é a mais amplamente utilizada na CLAE. O eluente é mais polar que a fase estacionária e consiste geralmente de misturas de água e um solvente orgânico, e.g., metanol ou acetonitrila^{35,142,150}.

A fase ligada C₁₈ pode ser do tipo monomérica ou polimérica. A maioria das colunas C₁₈ disponíveis comercialmente são do tipo monomérica que apresentam um alto grau de reprodutibilidade. O mesmo não acontece com as colunas poliméricas que apresentam variação na superfície da cobertura, para diferentes lotes, resultando também em diferentes seletividades^{35,36,145,151}.

O mecanismo de retenção por cromatografia em fase ligada não é completamente conhecido. A sua melhor compreensão irá permitir o desenvolvimento de fases estacionárias em alto grau de especificidade para a resolução de misturas^{35,152}.

A cromatografia multidimensional consiste da separação por CLAE em fase normal (grupo polar quimicamente ligado à fase estacionária) seguido de separação (das várias frações obtidas) por CLAE em fase reversa (usando, e.g., coluna C₁₈) ou por CG ou CG-EM. Esta metodologia é geralmente utilizada quando a complexidade das amostras exige a combinação de técnicas para uma separação adequada^{146,150,153}.

Uma das vantagens da CLAE na quantificação de HPA é a disponibilidade de detectores sensíveis e seletivos. Os mais utilizados são os detectores por absorção no ultravioleta (UV) e fluorescência que podem ser usados em série. O detector por absorção no ultravioleta é mais universal enquanto que o detector por fluorescência apresenta maior seletividade e especificidade. Este último não se aplica à análise de NHPA devido ao efeito *quenching* - a fluorescência é praticamente anulada pela presença do grupo nitro como substituinte no anel aromático. As alternativas para a análise de NHPA por CLAE são a redução catalítica *on column* aos amino-HPA correspondentes, permitindo assim a detecção por fluorescência, ou a utilização de detector eletroquímico^{153,154}.

A presença de oxigênio interfere no sistema de detecção por fluorescência molecular e, também, na detecção por amperometria redutiva. A remoção do oxigênio dissolvido na fase móvel é, portanto, condição necessária para uma boa reprodutibilidade e sensibilidade do método. Isto pode ser feito pelo método clássico de degaseificação (sonicação e vácuo) e, adicionalmente, por meio da retenção *on line*, e.g., utilizando uma coluna contendo zinco¹⁵⁵.

A detecção de componentes separados através da CLAE pode ser feita também com outros tipos de detectores como o detector por quimioluminescência (DQL), detector por absorção no infravermelho (CL-IV) e detector por espectrometria de massas (CL-EM).

Os limites de detecção no UV depende do coeficiente de absorvidade molar do HPA e do comprimento de onda fixado no instrumento. Por exemplo, para o PYR, CHR e BaP foram determinados, a 254 nm, os limites de 85, 46 e 31 pg, respectivamente^{35,36,156}.

O detector por fluorescência apresenta limites de detecção muito baixos, sendo portanto, um dos métodos mais sensíveis para determinação de HPA¹⁵⁷. Utilizando uma coluna *Hypersil Gren PAH*[®] (10 x 0,46 cm d.i.) Kayali *et al.* encontraram limites de detecção entre 0,012 pg μL^{-1} para o fluoranteno e 0,45 pg μL^{-1} para o naftaleno (Tabela 12)⁷⁸.

Para os NHPA são relatados limites de detecção entre 0,01 - 1 ng (DEQ, coluna 50 cm x 1 mm d.i.), 10 - 100 pg (DEQ, coluna 25 cm x 4 mm d.i.), 1 - 25 pg (DF/amino-derivado) e ~3 ng (UV)¹⁴.

Nos últimos anos, além da fluorescência convencional (FC) tem sido utilizado o método de detecção por fluorescência induzida a laser (FIL) em análises de compostos orgânicos por meio de CL. A detecção através de FIL, contudo, é usada somente quando a detectibilidade do analito pode ser melhorada, em comparação com a FC, o que varia muito com o tipo de composto. Estudo comparativo entre os limites de detecção do BaP, determinados pelos dois métodos, mostra uma razão FC/FIL = 10 (utilizando um laser de nitrogênio) o que confere ao sistema de detecção a laser uma excelente sensibilidade¹⁵⁸.

As novas tecnologias e investigações sobre métodos de migração diferencial têm permitido o desenvolvimento de novas técnicas de separação cromatográfica. Um exemplo recente é a Cromatografia Micelar Eletrocínética (CME) que constitui um tipo específico de CLAE. Nesta técnica o fenômeno eletrocínético, em uma coluna tubular aberta, move duas fases, uma micelar e outra aquosa, em diferentes velocidades. A fase móvel é uma solução surfactante (e.g., solução micelar de dodecilsulfato de sódio) em concentração acima da concentração crítica micelar. A solubilização micelar atua como um processo de distribuição do soluto entre as fases, permitindo a separação dos componentes de misturas^{159,160}. Publicações recentes relatam o uso desta técnica na separação e quantificação de HPA, com detecção por fluorescência (FC ou FIL) com ótimos resultados^{79,161}.

4.2.2. Cromatografia Gasosa

Desde 1960 a cromatografia gasosa tem sido um dos principais métodos para a detecção de compostos orgânicos tóxicos em atmosferas urbanas e de zonas industriais. A modernização dos instrumentos nos últimos anos, a fabricação de detectores altamente sensíveis, de colunas capilares de alta resolução e a utilização de técnicas acopladas como CG-EM e CG-IV tornaram possível um considerável aumento da seletividade e eficiência deste método da análise de poluentes atmosféricos. Permitiram também, a diminuição dos limites de detecção e maior rapidez e precisão na identificação de componentes de misturas complexas de variada natureza e toxicidade. O desenvolvimento tecnológico que permitiu a construção de colunas capilares com fases estacionárias imobilizadas, termicamente estáveis, bem como a fabricação de colunas capilares de sílica fundida e de quartzo e a utilização de fases estacionárias quirais, tornaram a CG um instrumento capaz de resolver as mais complexas e difíceis separações^{140,162}.

O alto poder de resolução das colunas capilares além de outras vantagens como maior sensibilidade e eficiência, em relação às colunas empacotadas, determinaram a sua preferência e ampla utilização na análise de HPA e NHPA^{1,14,36,145}.

Tabela 12. Limites de detecção de HPA por CLAE-fluorimetria.

HPA	NAF	FLU	PHE	ANT	FLT	PYR	CHR	BaA	BaP
pg/ μL	0,45	0,15	0,05	0,045	0,012	0,015	0,05	0,025	0,02

Tabela 13. Detectores em cromatografia gasosa com coluna capilar¹⁶².

Tipo	Aplicação	Limite de detecção (pg)	Seletividade
DIC	Ampla compostos orgânicos	20	Baixa
DCE	Seletiva halogenados, nitrilas etc.	0,5	Alta
DQL	Seletiva compostos com N e S	1-10	Alta
DFN	Seletiva compostos com N e P	1 (N) 0,5 (P)	Alta
EM	Universal ou seletiva	1	Alta
IV-TF	Universal ou seletiva	200	Alta

Um grande número de colunas capilares são disponíveis comercialmente, de diversos fabricantes, marcas e tipos. As colunas mais utilizadas são de sílica fundida e têm entre 20 e 50 m de comprimento, diâmetro interno entre 0,2 e 0,4 mm e espessura da fase estacionária entre 0,1 e 0,3 μm . A composição da fase estacionária também é bastante variada e a escolha é feita em função da eficiência e poder de resolução para misturas específicas^{163,164}. As fases estacionárias de polaridade baixa a intermediária são as mais utilizadas na separação de HPA, e.g., metilsilicone com grupos fenil (5%) e vinil (1%) (SE-54[®])^{14,35,36,145}.

Os vários detectores de CG como captura de elétrons (DCE), fósforo e nitrogênio (DFN), ionização em chama (DIC), quimioluminescência (DQL), espectrometria de massas (EM) e infravermelho (IV-TF) oferecem de bom a excelente grau de sensibilidade e seletividade na análise de compostos orgânicos. Os principais detectores de CG utilizados na quantificação de poluentes atmosféricos, os seus limites de detecção e seletividade são mostrados na Tabela 13¹⁶⁵.

O detector mais utilizado na análise de HPA é o DIC que tem boa sensibilidade (limites de detecção de 20-60 pg), porém, apresenta a inconveniência da baixa seletividade. Por ter uma resposta de caráter geral este detector é ideal para muitas classes de substâncias, mas, necessita de um rigoroso procedimento de pré-tratamento da amostra para eliminar os possíveis compostos interferentes³⁵. Os detectores DCE e DFN têm boa seletividade, os limites de detecção são, respectivamente, de 25-80 pg e 1-10 ng e são utilizados especialmente na análise NHPA^{14,35,36}. O detector por quimioluminescência (DQL) também tem sido utilizado na quantificação de NHPA, apresentando excelente especificidade e seletividade para a análise de misturas complexas de produtos de combustão do carvão e material particulado da emissão de motores a diesel. Este sistema (CG-DQL) apresenta limites de detecção da ordem de 25 pg, para o 1-nitropireno, enquanto que o método CG-EM está na faixa de 1-10 ng¹⁶⁵.

O hidrogênio é a fase móvel mais utilizada nas análises por CG, especialmente nos sistemas de alta resolução com colunas capilares onde é considerado o gás de arraste ideal. O hidrogênio apresenta uma série de vantagens em relação ao nitrogênio,

e.g., melhor sensibilidade, menor tempo de análise e melhor resolução. O hélio também é uma escolha melhor que o nitrogênio sendo o gás mais utilizado no sistema CG-EM^{35,36}.

Na tabela 14 estão resumidas as condições e características de algumas colunas capilares utilizadas em análises de HPA.

Os sistemas CG-EM e CG-IV são os métodos mais adequados à identificação de compostos orgânicos em amostras dos mais diversos materiais. A espectroscopia de infravermelho (IV) é das técnicas mais adequadas para a identificação e discriminação de moléculas e, por este motivo, a CG combinada com IV com transformação de *Fourier* é uma poderosa instrumento na caracterização de isômeros de HPA e NHPA. Análises quantitativas de amostras reais por CG-IV-TF são raras na literatura devido a baixa sensibilidade do método¹⁷⁰.

Os sistemas acoplados CG-EM têm excelente sensibilidade sendo amplamente utilizados nas análises qualitativa e quantitativa de compostos orgânicos. Em relação aos HPA e NHPA apresentam boa sensibilidade, é muito útil na caracterização estrutural, contudo, a discriminação de isômeros não é satisfatória. A quantificação de 10 HPA em aerossóis atmosféricos e em fase vapor (concentrações entre 0,2 e 1,2 pg m^{-3}) demonstra o alto grau de sensibilidade e os baixos limites de detecção da técnica CG-EM na análise de HPA¹⁷¹.

4.2.3. Outras técnicas cromatográficas

As técnicas clássicas de cromatografia líquido-sólido (CLS) como cromatografia por adsorção em coluna (CAC) e cromatografia em camada delgada (CCD) são bastante utilizadas na separação de misturas complexas de compostos orgânicos poliaromáticos (COP), principalmente no fracionamento preliminar para posterior análise por métodos de alta resolução (CGAR e CLAE). São também utilizadas na preparação de compostos de alta pureza para uso em testes biológicos e como padrão analítico. A finalidade preparativa é, portanto, a principal aplicação destas duas técnicas cromatográficas^{14,35,36}.

A cromatografia em coluna utiliza um sólido poroso como adsorvente e um solvente ou mistura de solventes orgânicos como eluente. As colunas mais utilizadas são de 25 a 50 cm de comprimento por 1 a 2 cm de diâmetro (proporção 1:25 - diâ-

Tabela 14. Colunas capilares utilizadas na separação de HPA.

Tipo	Fase Estacionária	Comp. (m)	d.i (mm)	.filme (μm)	Detector	Amostra	Ref.
Vidro	OV-1 [®]	50	0,34	-	DIC	Aerossol	166
Sílica fundida	DB-5 [®]	30	0,22	-	DCE ⁶³ Ni	Aerossol	44
Sílica fundida	DB-5 [®]	46	0,25	0,25	EM-IE 70eV	Padrão	167
Sílica fundida	SE-54-ATB [®]	20	0,3	-	DIC	MP/diesel	168
Sílica fundida	SE-54-ATB [®]	30	0,32	-	DQL	MP/diesel	165
Sílica fundida	SE-54 [®]	50	0,25	0,25	EM-IE 70eV	poeira/solo	131
Sílica fundida	XTI-5 [®]	30	0,32	0,25	EM-IQ	Padrão	169

ATB = azo-terc-butano

metro:comprimento). Partículas de tamanho uniforme (~60 mesh) de alumina neutra ou gel de sílica são os adsorventes mais utilizados. A eluição geralmente é feita com solventes orgânicos apolares ou de baixa polaridade (hexano, ciclo-hexano, benzeno, tolueno, diclorometano). Microcolunas, e.g., SEP-PAK® de gel de sílica ou C₁₈ (fase reversa), de 1 a 2 cm de diâmetro por 2-3 cm de comprimento são também muito utilizadas no fracionamento e pré-concentração de misturas de COP^{35,36,140,141}.

A cromatografia por adsorção em coluna em aparelho de Soxhlet modificado, é um sistema que tem sido muito utilizado, principalmente na separação/purificação de NHPA obtidos por processos sintéticos. Apresenta a vantagem de ter o eluente reciclado, por vaporização-condensação, com uma grande redução da quantidade utilizada¹⁴.

A técnica de CCD utiliza os mesmos adsorventes da CAC, porém, com partículas de menores tamanho (~230 mesh) e, também, os mesmos eluentes. Pode ser utilizada com a finalidade preparativa (20g adsorvente/placas de 20 x 20 cm) ou analítica (placas de 2,5 x 7 cm). As principais vantagens são a economia de solvente, a rapidez da análise e a obtenção de informações para a posterior separação em coluna. Apresenta, contudo, a desvantagem de acelerar os processos de degradação de HPA através da fotooxidação (ar, luz) ou rearranjo/isomerização catalisada pelo adsorvente (superfície ativa da sílica ou alumina)³⁶.

4.3. Métodos espectrométricos

Os principais métodos espectrométricos utilizados na análise de HPA e NHPA são a espectroscopia nas regiões do ultravioleta-visível (UV-VIS), infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear (RMN) e a espectrometria de massas (EM). Os métodos de UV-VIS e EM são amplamente utilizados como sistemas de detecção de métodos cromatográficos como CLAE e CGAR^{35,36}.

Os métodos espectroscópicos são hoje os principais instrumentos para a identificação de moléculas orgânicas incluindo a discriminação de isômeros. A confirmação da identidade de substâncias já catalogadas é feita por comparação de espectros. Dados espectrais sobre HPA e derivados são disponíveis na literatura e em coleções tradicionais de espectros ou em discos a laser. Os modernos aparelhos de CG-EM, por exemplo, são microcomputadorizados e dispõem de bibliotecas de espectros de compostos químicos (gerais e por classe de substâncias) o que permite uma rápida busca e identificação.

4.3.1. Ultravioleta-Visível

Virtualmente, todas os compostos orgânicos que absorvem na região ultravioleta (UV) e/ou visível (VIS) são moléculas insaturadas (ou poliinsaturadas). A irradiação de moléculas de HPA com luz UV-VIS, utilizando um comprimento de onda adequado, geralmente resulta em absorção pela promoção de elétrons π a níveis energéticos superiores ($\pi \rightarrow \pi^*$). A fluorescência é também comum à maioria dos HPA exceto para os nitroderivados que emitem fluorescência em níveis muito baixos. Contudo, alguns NHPA emitem fluorescência à baixas temperaturas³⁶.

Os limites de detecção relatados para UV é da ordem de microgramas e, portanto, de sensibilidade insuficiente para aplicação em análise de materiais ambientais, geralmente pouco concentrados em HPA. Os métodos que usam a fluorescência são mais específicos e sensíveis que a absorção espectrofotométrica. Deste modo, a fluorimetria é a técnica espectroscópica mais utilizada na quantificação de HPA, principalmente como detector em técnicas cromatográficas tipo CLAE^{14,35,36,172}.

Dados sobre limites de detecção de HPA por espectroscopia de fluorescência são disponíveis na literatura^{156,172}. Estes limites podem chegar a 0,5 ppt (pireno em solução aquosa) quando utiliza-se um sistema de excitação induzida a laser, disponível em instrumentos modernos¹⁵⁷.

4.3.2. Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear

As técnicas espectroscópicas de Infravermelho (IV) e a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) estão entre as mais importantes na identificação de moléculas orgânicas. Os aparelhos modernos de IV com transformação de Fourier (TF) e RMN com supercondutores de 300 a 600 MHz de potência e, também, transformação de Fourier, conferem a estes instrumentos analíticos um grande número de recursos e uma variada possibilidade de experimentos fundamentais na determinação estrutural. As duas técnicas associadas constituem o sistema ideal para a caracterização de moléculas orgânicas conhecidas e desconhecidas.

A principal vantagem das técnicas de IV e RMN, comparada com UV, é o grande número de informações contidas nos espectros e a relação direta com a estrutura molecular. Espectros de referência de IV e RMN são disponíveis em coleções tradicionais como a Sadtler® e, mais recentemente, em sistemas de discos compactos a laser. Devido a baixa sensibilidade, IV e RMN são utilizadas, principalmente, na análise qualitativa.

A caracterização estrutural de HPA por ressonância magnética nuclear é realizada pela análise de dados dos espectros de ¹H e ¹³C. A discriminação entre isômeros pode ser feita com o auxílio de técnicas especiais como desacoplamento (irradiação/RMN ¹H) e, também, por experimentos em duas dimensões do tipo ¹H-¹³C etc^{113,114}. A principal desvantagem da técnica de RMN é a quantidade de substância pura, relativamente grande (5-20 mg), que é necessária para se proceder a análise. A RMN é, portanto, das melhores técnicas para a determinação estrutural (alta seletividade), porém, é insuficiente como método quantitativo (baixa sensibilidade).

4.3.3. Espectrometria de massas

A espectrometria de massas é uma técnica equivalente em importância aos métodos de IV e RMN. Do ponto de vista analítico, apresenta a vantagem de ser útil tanto na identificação quanto na quantificação de compostos orgânicos, mesmo em baixas concentrações.

A espectrometria de massas ganhou enorme destaque na análise de compostos orgânicos principalmente após o acoplamento aos sistemas de cromatografia gasosa de alta resolução (CGAR) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Embora a técnica seja geralmente menos sensível que o método de fluorescência, oferece informações importantes para identificação das misturas complexas, e.g., de compostos orgânicos poliaromáticos (COP). Isto é possível pela obtenção de um espectro para cada componente da mistura e, também, pela quantidade e qualidade das informações contidas nos espectros de massas. O desenvolvimento de técnicas inovadoras nos últimos anos, e.g., EM-EM, deu um novo impulso ao método que é, hoje, amplamente utilizado na quantificação e identificação de substâncias orgânicas¹⁷³.

Os principais analisadores (separadores de íons) dos sistemas CG-EM são o analisador quadropolar¹⁷⁴ e a armadilha de íons (*ion trap*)¹⁷⁵. Os métodos de ionização mais utilizados na análise de HPA são o impacto de elétrons (IE) e a ionização química (IQ).

Os HPA e NHPA atmosféricos e de outros tipos de amostras, são rotineiramente analisados usando a EM como sistema de detecção. A técnica de EM-EM tem sido utilizada na identificação de determinados NHPA¹²⁹.

O monitoramento de agentes mutagênicos e/ou cancerígenos *in vivo* (incluindo os metabólitos de HPA e NHPA) tem sido realizado com o auxílio da CG-EM. A saúde humana conta, portanto, com a participação decisiva da espectrometria de massas tantas são as suas aplicações biológicas^{16,65}.

4.4. Métodos polarográficos

Moléculas que são facilmente oxidadas ou reduzidas podem ser detectadas através de métodos eletroquímicos. O campo de

aplicação é bastante amplo incluindo o uso industrial e o monitoramento clínico e ambiental através das modernas técnicas fluxo de contínuo (AFC), injeção contínua (AIC) e cromatografia líquida (CL).

As técnicas modernas de voltametria e polarografia têm alta sensibilidade e seletividade sendo uma ótima combinação com os eficientes métodos de separação cromatográfica. No sistema de CLAE, *e.g.*, a detecção eletroquímica é uma boa alternativa principalmente quando os métodos tradicionais como UV e fluorescência não apresentam boa sensibilidade ou seletividade¹⁷⁶. Os limites de detecção são da ordem de 10 pg injetado, para compostos oxidáveis, e 10 vezes maior (100 pg) para moléculas redutíveis, isto devido a problemas causados pelo oxigênio dissolvido e a estabilidade do eletrodo^{154,177}.

Do modo geral, moléculas de NHPA e OXI-HPA podem ser reduzidas por um eletrodo convencional sólido (*e.g.*, um eletrodo de platina) utilizando potencial negativo (-400 mV a -700 mV vs. Ag/AgCl). A figura 12 mostra as reações que ocorrem na superfície do eletrodo¹⁷⁷.

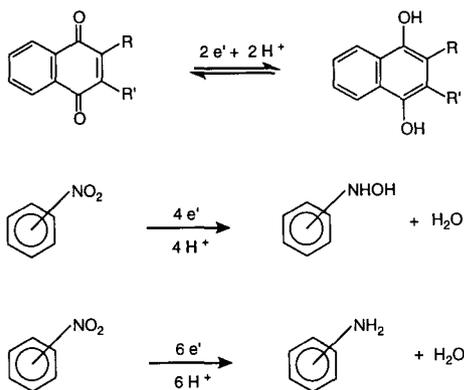


Figura 12. Reações de OXI-HPA e NHPA que ocorrem na superfície do eletrodo¹⁷⁷.

A cromatografia líquida de alta eficiência com detecção eletroquímica redutiva tem sido usada com sucesso na quantificação de NHPA de material particulado atmosférico e da emissão de motores a diesel, com as vantagens de ser um método seletivo e ter uma boa sensibilidade^{178,179,180}.

4.5. Substâncias e amostras de referência (padrões)

A importância ambiental dos HPA e NHPA determinou a necessidade de se produzir padrões e amostras de referência, em alto grau de confiabilidade, para uso analítico. Soluções padrão e substâncias com grau de pureza maior que 99% são produzidas e comercializadas por empresas como a AldrichTM, Chemsyn Science LaboratoriesTM e AccuStandardTM.

Vários materiais de referência são produzidos e certificados por organizações governamentais, *e.g.*, pelo *National Institute of Standards and Technology* (NIST), dos Estados Unidos da América, que fornece os padrões SRM (*Standard Reference Material*). Como parte do processo de *certificação* o material é analisado por duas ou mais técnicas analíticas e os resultados são usados para determinar as concentrações dos analitos^{18,20,181}.

As amostras de referência (padrões) de HPA são feitas a partir de diversas matrizes ambientais como MPA, emissão de motores a diesel, sedimento, etc. A solução padrão SRM 1647 contém os principais HPA encontrados na atmosfera, dissolvidos em acetonitrila e o material de referência SRM 1649 é constituído de aerossóis de atmosfera urbana. Estes materiais podem ser usados em diversas metodologias analíticas como instrumento de calibração e controle positivo da técnica. Os

NHPA também são constituintes de materiais de referência do NIST, *e.g.*, SRM 1587 (HPA mononitrados) e SRM 1596 (HPA dinitrados). HPA e NHPA de referência também são fornecidos pela Comissão da Comunidade Européia através do *Community Bureau of Reference* (BCR)^{18,20}.

Os padrões e materiais de referência devem ser armazenados ao abrigo da luz para evitar a fotodecomposição. Por exemplo, o 9-nitroantraceno (dissolvido em ciclo-hexano ou THF/hexano) decompõe rapidamente quando irradiado com luz UV. Os produtos mais abundantes da decomposição do 9-nitroantraceno, identificados por CG-EM, foram a antraquinona e a fluorenona¹⁸.

Padrões com alto grau de pureza também podem ser obtidos em laboratório, geralmente combinando as técnicas de cromatografia e recristalização. A técnica de CLAE preparativa ou semi-preparativa, em fase normal ou reversa, é das mais utilizadas. A cromatografia em coluna, utilizando um aparelho de Soxhlet modificado, com alumina ou Florisil[®] como adsorvente e hexano-benzeno (ou tolueno) como eluente, é um excelente sistema para a separação e purificação de HPA de NHPA^{14,18,35}.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O impacto causado pelos HPA e derivados nitrados e oxigenados ao ambiente não está ainda estabelecido. A maior preocupação, contudo, diz respeito ao que poderá acontecer no futuro, principalmente como resultado do constante aumento das frotas veiculares em todos os países do mundo. E, conseqüente, que ações podem neutralizar os seus efeitos e reparar os danos causados à natureza. Isto depende, entre outros fatores, da eficiência dos catalisadores de automóveis, do uso de combustíveis não derivados de petróleo e da utilização de sistemas de transporte não poluentes.

Atenção especial deve ser dada aos demais processos de emissão de HPA como as fontes industriais (*e.g.*, produção de alumínio e incineração de rejeitos) e domésticas e, também, aos mecanismos específicos de controle anti-poliuição.

O estudo continuado das fontes, formação, reatividade e quantificação de HPA na atmosfera permitirá, portanto, uma melhor compreensão do papel destes compostos no ambiente viabilizando, deste modo, o desenvolvimento de estratégias de controle e reparação ambiental.

6. LISTA DE ABREVIATURAS

ANT	antraceno
BaA	benzo[a]antraceno
BaF	benzo[a]fluoranteno
BaP	benzo[a]pireno
BbF	benzo[b]fluoranteno
BgP	benzo[g,h,i]perileno
BkF	benzo[k]fluoranteno
CAC	cromatografia por adsorção em coluna
CCD	cromatografia em camada delgada
CG	cromatografia gasosa
CG-EM	cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
CG-IV	cromatografia gasosa acoplada à espectroscopia de infravermelho
CGAR	cromatografia gasosa de alta resolução
CHR	criseno
CL	cromatografia líquida
CL-EM	cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas
CL-IV	cromatografia líquida acoplada à espectroscopia de infravermelho
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência
CLS	cromatografia líquido-sólido
CME	cromatografia micelar eletrocínica
COP	compostos orgânicos poliaromáticos

COR	coroneno
COS	compostos orgânicos semi-voláteis
COV	compostos orgânicos voláteis
d.i.	diâmetro interno
DCE	detector por captura de elétrons
DEQ	detector eletroquímico
DFN	detector de fósforo e nitrogênio
DIC	detector por ionização em chama
DNA	ácido desoxiribonucléico
d.p.	diâmetro de partícula
DQL	detector por quimioluminescência
EM	espectrometria de massas
eV	elétron-volt
FLT	fluoranteno
FLU	fluoreno
Hi-Vol	amostrador de grande volume
HPA	hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
IE	impacto de elétrons
IND	indeno[1,2,3-c,d]pireno
IQ	ionização química
IV	infravermelho
IV-TF	infravermelho com transformação de Fourier
MHz	megahertz
MOP	material orgânico policíclico
MP	material particulado
MPA	material particulado atmosférico
NAF	naftaleno
NIST	National Institute of Standards and Technology
NF	nitrofluoranteno
NHPA	nitro-hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
NP	nitropireno
OXI-HPA	HPA oxigenados
PAN	nitrato de peroxiacetila
PHE	fenantreno
PTS	partículas totais em suspensão
PYR	pireno
RMN	ressonância magnética nuclear
SRM	standard reference material
THF	tetraidrofurano
UV	ultravioleta
UV-VIS	ultravioleta-visível

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Pedro Afonso de Paula Pereira (IQ-UFBA) pelas valiosas sugestões ao manuscrito e pelo trabalho de revisão, à Profa. Dra. Lilian R.F. Carvalho por tornar disponível a ref. 138 antes de sua publicação e ao CNPq, FINEP, PADCT e CAPES pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Finlayson-Pitts, B. J.; Pitts Jr., J. N.; *Atmospheric Chemistry: Fundamentals and Experimental Techniques*; Wiley: New York, 1986.
2. Nikolaou, K.; Masclat, P.; Mouvier, G.; *Sci. Total Envir.* **1984**, *32*, 103.
3. Bidleman, T. F.; *Environ. Sci. Technol.* **1988**, *22*, 361.
4. Arey, J.; Zielinska, B.; Atkinson, R.; Winer, A. M.; *Atmos. Environ.* **1987**, *21*, 1437.
5. Zielinska, B.; Arey, J.; Atkinson, R.; In *Nitroarenes*; Howard, P. C. et al., Ed.; Plenum Press: New York, 1990; p 73.
6. Falk, H. L.; Markul, I.; Kotin, P.; *AMA Arch. Ind. Health* **1956**, *13*, 13.
7. *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Evaluation of Sources and Effects*; National Academy of Science: Washington, 1983.
8. Bo-Xing, X.; Yu-Zhi, F.; *Talanta* **1988**, *35*, 891.
9. Krylov, A. I.; Kostyuk, I. O.; Volynets, N. F.; *J. Anal. Chem.* **1995**, *50*, 494.
10. Jones, K. C.; Strafford, J.; Waterhouse, K. S.; Vogt, N. B.; *Environ. Sci. Technol.* **1989**, *23*, 540.
11. Kostyuk, I. O.; Krylov, A. I.; *J. Anal. Chem.* **1995**, *50*, 494.
12. Ariese, F.; Gooijer, C.; Velthorst, N. H.; Hofstraat, J. W.; *Anal. Chim. Acta* **1990**, *232*, 245.
13. Lawrence, J. F.; Das, B. S.; *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **1986**, *24*, 113.
14. White, C. M., Ed.; *Nitrated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*; Huting: New York, 1985.
15. Zielinska, B.; Arey, J.; Atkinson, R.; Winer, A. M.; *Environ. Sci. Technol.* **1989**, *23*, 723.
16. Wishnok, J. S.; *Anal. Chem.* **1992**, *64*, 1126A.
17. Selkirk, J. K.; In *Carcinogenesis: A Comprehensive Survey*; Slaga, T. J., Ed., v.5 (*Modifiers Of Chemical Carcinogenesis*); Raven Press: New York, 1980; p 1.
18. Jacob, J.; Karcher, W.; Belliardo, J. J.; Dumler, R.; Boenke, A.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1991**, *340*, 755; Jacob, J.; Karcher, W.; Belliardo, J. J.; Wagstaffe, P. J.; *Frezenius, J. Anal. Chem.* **1986**, *323*, 1; Jacob, J.; Karcher, W.; Wagstaffe, P.J.; *Frezenius, J. Anal. Chem.* **1984**, *317*, 101.
19. O'Neill, I. K.; Fishbein, L.; *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **1986**, *26*, 229.
20. Moreira, J. C.; Berek, J.; *Quim. Nova* **1995**, *18*, 362.
21. Larson, R. A.; Berenbaum, M. R.; *Environ. Sci. Technol.* **1988**, *22*, 354.
22. Kagan, J.; Wang, T. P.; Benight, A. S.; Tuveson, R. W.; Wang, G.; Fu, P. P.; *Chemosphere* **1990**, *20*, 453.
23. Pitts Jr., J. N.; Van Cauwenberge, K. A.; Grosjean, D.; Schmidt, J. P.; Fitz, D. R.; Belsler, W. L.; Hynds, P. M.; *Science* **1978**, *202*, 515.
24. Jager, J.; *J. Chromtogr.* **1978**, *152*, 575.
25. MacCrehan, W. A.; May, W. E.; Yang, S. D.; Benner, B. A.; *Anal. Chem.* **1978**, *60*, 194.
26. Phillips, D. H.; *Nature* **1983**, *303*, 468.
27. Cook, J. W.; Hewett, C. L.; Hieger, I.; *J. Chem. Soc.* **1933**, 395.
28. Passey, R. D.; *Br. Med. J.* **1922**, *2*, 1112.
29. Leiter, J.; Shimkin, M. B.; Shear, M. J.; *J. Natl. Cancer Inst.* **1943**, *3*, 455.
30. Kontin, P.; Falk, H. L.; Mader, P. E.; Thomas, M.; *Arch. Ind. Hyg.* **1954**, *9*, 153.
31. Goulden, F.; Tipler, M. M.; *Br. J. Cancer* **1949**, *3*, 223.
32. Waller, R. E.; *Br. J. Cancer* **1952**, *6*, 8.
33. Gordon, R. J.; Bryan, R. J.; Rhim, J. S.; Demoise, C. E.; Wolford, R. G.; *Br. J. Cancer* **1973**, *12*, 223.
34. Ames, B. N.; McCann, J.; Yamasaki, E.; *Mutat. Res.* **1975**, *31*, 347.
35. Bjorseth, A., Ed.; *Handbook of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*; Marcel Dekker: New York, 1983.
36. Lee, M. L.; Novotny, M. V.; Bartle, K. D.; *Analytical Chemistry of Polycyclic Aromatic Compounds*; Academic Press: New York, 1981.
37. *Particulate Polycyclic Organic Matter*; National Academy of Science: Washington, 1972.
38. Nimlos, M.; Milne, A.; *Environ. Sci. Technol.* **1992**, *26*, 545.
39. Yergey, J. Y.; Risby, T. H.; Lestz, S. S.; *Anal. Chem.* **1982**, *54*, 354.
40. Grimmer, G.; Brune, H.; Dettbarn, G.; Jacob, J.; Misfeld, J.; Mohr, U.; Naujack, K. W.; Timm, J.; Wenzel-Hartung, R.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1991**, *339*, 792.
41. Wild, S. R.; Jones, K. C.; *Environ. Pollut.* **1995**, *88*, 91.
42. Khalili, N. R.; Scheff, P. A.; Holsen, T. M.; *Atmos. Environ.* **1995**, *29*, 533.
43. Benner, B. A.; Gordon, G. E.; Wise, S. A.; *Environ. Sci. Technol.* **1989**, *23*, 1269.

44. Tanner, R.; Fajer, R.; *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **1983**, *14*, 231.
45. Atkinson, R.; Arey, J.; Zielinska, B.; Winer, A.M.; In *Polynuclear Aromatic Hydrocarbons: Measurements, Means, and Metabolism*; Cooke, M.; Loening, K.; Joy, M., Eds.; Battelle Press: Columbus, 1987; p 69.
46. Badger, G. M.; Buttery, R. G.; Kimber, R. W. L.; Lewis, G. E.; Moritz, A. G.; Napier, I. M.; *J. Chem. Soc.* **1958**, 2449.
47. Arey, J.; Zielinska B.; Atkinson, R.; Winer, A. M.; Ramdahl, T.; Pitts Jr., J. N.; *Atmos. Environ.* **1985**, *20*, 2339.
48. Pitts Jr., J. N.; Arey, J.; Zielinska B.; Winer, A. M.; Atkinson, R.; *Atmos. Environ.* **1985**, *19*, 1601.
49. Zielinska, B.; Arey, J.; Atkinson, R.; Winer, A. M.; *Atmos. Environ.* **1989**, *23*, 223.
50. Helmig, D.; López-Cancio, Arey, J.; Harger, W. P.; Atkinson, R.; *Environ. Sci. Technol.* **1992**, *26*, 2207.
51. Sasaki, J.; Arey, J.; Harger, W. P.; *Environ. Sci. Technol.* **1995**, *29*, 1324.
52. Helmig, D.; Arey, J.; Harger, W. P.; Atkinson, R.; López-Cancio, *Environ. Sci. Technol.* **1992**, *26*, 622.
53. Lin, J. J.; Kenneth, E. N.; Holsen, T. M.; *Aerosol Sci. Technol.* **1994**, *20*, 239.
54. Miguel, A. H.; Friedlander, S. K.; *Atmos. Environ.* **1978**, *12*, 2407.
55. Miguel, A. H.; *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **1984**, *12*, 17.
56. Dickhut, R. M.; Kurt, E. G.; *Environ. Sci. Technol.* **1995**, *29*, 1518.
57. Subramanyam, V.; Valsaraj, K. T.; Thibodeaux, L. J.; Reible, D. D.; *Atmos. Environ.* **1994**, *28*, 3083.
58. Arey, J.; Atkinson, R.; Zielinska, B.; McElroy, A.; *Environ. Sci. Technol.* **1989**, *23*, 321.
59. Moller, M.; Alfheim, I.; *Atmos. Environ.* **1980**, *14*, 83.
60. Siak, J.; Chan, T. L.; Gibson, T. L.; Wolff, G. T.; *Atmos. Environ.* **1985**, *19*, 369.
61. Henderson, B. E.; Gordon, R. J.; Menck, H.; Soohoo, J.; Pike, M.C.; *Am. J. Epidem.* **1975**, *101*, 477.
62. Daisey, J. M.; Kneip, T. J.; Hawryluk, I.; Mukai, F.; *Environ. Sci. Technol.* **1980**, *14*, 1487.
63. Chan, T. L.; Lee, P. S.; Siak, J.; *Environ. Sci. Technol.* **1981**, *15*, 89.
64. Lacourse, D. L.; Jensen, T. E.; *Anal. Chem.* **1985**, *58*, 1894.
65. Ohgaki, H.; Matura, N.; Wakabayashi, K.; Kusama, K.; Sato, S.; Sugimura, T.; *Carcinogenesis* **1984**, *5*, 583.
66. Shuetzle, D.; Lewtas, J.; *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 1060A.
67. Weinstein, B. I.; Jeffrey, A. M.; Jennette, K. W.; Blobstein, S. H.; Harvey, R. G.; Harris, C. E.; Nakanishi, H. K. K.; *Science* **1976**, *193*, 592.
68. Lowe, J. P.; Silverman, B. D.; *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 2852.
69. Zielinska, B.; Arey, J.; Harger, W. P.; Lee, R. W. K.; *Mutat. Res.* **1988**, *206*, 131.
70. Arey, J.; Zielinska, B.; Harger, W. P.; Atkinson, R.; Winer, A.; *Mutat. Res.* **1988**, *207*, 45.
71. Pitts Jr., J. N.; Zielinska, B.; Harger, W.; *Mutat. Res.* **1984**, *140*, 81.
72. Schuetzle, D.; Lewtas, J.; *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 1060A.
73. Caricchia, A. M.; Chiavarini, S.; Creminini, C.; Morabito, R.; Perini, A.; Pezza, M.; *Environ. Pollut.* **1995**, *87*, 345.
74. Cheng, K.; Swift, D.; *Aerosol Sci. Technol.* **1995**, *22*, 194.
75. de Andrade, J. B.; *Tese de Doutorado*; Pontificia Universidade Católica do Rio de Janeiro; Rio de Janeiro, 1986.
76. Hatch, T. F.; Gross, P.; *Pulmonary Deposition and Retention of Inhaled Aerosols*; Academic Press: New York, 1965.
77. May, W. E.; Wise, S. A.; *Anal. Chem.* **1984**, *56*, 225.
78. Kayali, M. N.; Rubio-Barroso, S.; Polo-Diez, L. M.; *J. Chromatogr. Sci.* **1995**, *33*, 181.
79. Kayali, M. N.; Rubio-Barroso, S.; Polo-Diez, L. M.; *J. Liq. Chromatogr.* **1994**, *17*, 3623.
80. Daisey, J. M.; Miguel, A. H.; de Andrade, J. B.; Pereira, P. A.; Tanner, R.L.; *J. Air Poll. Ctrl. Ass.* **1987**, *37*, 15.
81. Miguel, A. H.; de Andrade, J. B.; Daisey, J. M.; Tanner, R. L.; In *Aerosols: Science, Industry, Health and Environment*; Masuda, S.; Takahashi, K., Eds.; v.2; Pergamon Press: New York, 1984; p 923.
82. Miguel, A. H.; de Andrade, J. B.; *Intern. J. Anal. Chem.* **1989**, *35*, 35.
83. Sonnefeld, W. J.; Zoller, W. H.; MAY, W. E.; *Anal. Chem.* **1983**, *55*, 275.
84. MacKay, D.; Shiu, W. Y.; *J. Chem. Eng. Data* **1977**, *22*, 399.
85. Behymer, T. D. E.; Hites, R. A.; *Environ. Sci. Technol.* **1985**, *19*, 1004.
86. Kartum, G. E.; Braun, W.; *Justus Liebig's Ann. Chem.* **1960**, *632*, 104.
87. Inscoe, M. N.; *Anal. Chem.* **1964**, *36*, 2505.
88. Issaq, H. J.; Andrews, A. W. E.; Janini, G. M. E.; Barr, E. W.; *J. Liq. Chromatogr.* **1979**, *2*, 319.
89. Katz, M.; Chan, C.; Tosine, B.; Sakuma, T.; In *Polynuclear Aromatic Hydrocarbons*; Jones, P.N.; Leber, P., Eds.; Ann Arbor Science: New York, 1979; p 171.
90. Fatiadi, A. J.; *Environ. Sci. Technol.* **1967**, *1*, 570.
91. Tebbens, B. D.; Mukai, M.; Thomas, J. F.; *Am. Ind. Hyg. Ass. J.* **1971**, *32*, 365.
92. Fox, M. A.; Olive, S.; *Science* **1979**, *205*, 582.
93. Miguel, A. H.; de Andrade, J. B.; Hering, S. V.; *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **1986**, *26*, 265.
94. Valerio, F.; Lazzarotto, A.; *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **1985**, *23*, 135.
95. Van Cauwenberg, K.; Van Vaeck, L.; Pitts Jr., J. N.; *Adv. Mass Spectrom.* **1979**, *8*, 797.
96. Dewar, M. J. S. A.; *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 3357.
97. Fukui, K.; Yonezawa, T.; Shingu, H.; Shingu, H.; *J. Chem. Phys.* **1952**, *20*, 722.
98. Fukui, K.; Yonezawa, T.; Nagata, C.; *J. Chem. Phys.* **1954**, *22*, 1433.
99. Viana, L. M.; *Tese de Doutorado*; Unicamp; Campinas, 1982.
100. Southern, P. F.; Waters, W. A.; *J. Chem. Soc.* **1960**, 4340.
101. Natusch, D. F. S.; Wallace, J. R.; *Science* **1974**, *186*, 695.
102. Behymer, T. D.; Hites, R. A.; *Environ. Sci. Technol.* **1988**, *22*, 1311.
103. Korfmacher, W. A.; Wehry, E. L.; Mamantov, G.; Natusch, D. F. S.; *Environ. Sci. Technol.* **1980**, *14*, 1094.
104. Pitts Jr., J. N.; Lokensgard, D. M.; Ripley, D. M.; Van Cauwenberghe, K.A.; *Science* **1980**, *210*, 1347.
105. Grosjean, D.; Fung, K.; Harrison, J.; *Environ. Sci. Technol.* **1983**, *17*, 673.
106. Van Vaeck, L.; Van Cauwenberghe, K.; *Atmos. Environ.* **1984**, *18*, 323.
107. Bailey, P. S.; Batterbee, J. E.; Lane, A. G.; *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 1027.
108. Moriconi, E. J.; Rakoczy, B.; O'Connor, W. F.; *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 4618.
109. Weinberg, N. L.; Weinberg, H. R.; *Chem. Rev.* **1968**, *68*, 449.
110. Adams, R. N.; *Accounts Chem. Res.* **1969**, *2*, 175.
111. Arey, J.; Zielinska, B.; Atkinson, R.; Aschmann, S. M.; *Int. J. Chem. Kinet.* **1989**, *21*, 775.
112. Helmig, D.; Arey, J.; *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **1992**, *49*, 207.
113. Helmig, D.; Arey, J.; *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **1991**, *43*, 219.
114. Helmig, D.; Arey, J.; Atkinson, R.; Harger, W. P.; McElroy, P. A.; *Atmos. Environ.* **1992**, *26*, 1735.
115. Oikawa, K.; *Trace Analysis of Atmospheric Samples*; Kodansha: Tokyo, 1977.

116. Coutant, R. W.; Brown, L.; Chuang, J. C.; Riggan, R. M.; Lewis, R. G.; *Atmos. Environ.* **1988**, *22*, 403.
117. Coutant, R. W.; Patrick, J. C.; Kuhlman, M. R.; Lewis, R. G.; *Atmos. Environ.* **1989**, *23*, 2205.
118. Laukkanen, A.; Hoffren, H.; Tirkkonen, T.; In *Polynuclear Aromatic Hydrocarbons: Measurements, Means and Metabolism*; Cooke, M.; Loening, K.; Merritt, J., Eds., Battlle Press: Columbus, 1991; p 515.
119. Pitts Jr., J. N.; Paur, H.; Zielinska, B.; Arey, J.; Winer, A. M.; Ramdahl, T.; Mejia, V.; *Chemosphere* **1986**, *15*, 675.
120. Arey, J.; Zielinska, B.; Atkinson, R.; Winer, A. M.; *Environ. Sci. Technol.* **1988**, *22*, 457.
121. Miguel, A. H.; In *Polynuclear Aromatic Hydrocarbons: Formation, Metabolism and Measurement*; Cooke, M.; Dennis, A. J., Ed.; Battlle Press: Columbus, 1983; p 897.
122. Grosjean, D.; Harrison, J.; Fimg K.; *Atmos. Environ.* **1983**, *17*, 1609.
123. Alebic-Juretic, A.; Cvitas, T.; Klasinc, L.; *Environ. Sci. Technol.* **1990**, *24*, 62.
124. Kaupp, H.; Umlauf, G.; *Atmos. Environ.* **1992**, *26A*, 2259.
125. Kloster, G.; Niehaus, R.; Stania, H.; *Fresenius, J. Anal. Chem.* **1992**, *342*, 405.
126. Escrivá, C.; Viana, E.; Moltó, J. C.; Picó, Y.; Mañes, J.; *J. Chromatogr. A* **1994**, *676*, 375.
127. Machear, W. A.; May, W. E.; Yang, S. D.; Benner, B. A.; *Anal. Chem.* **1988**, *60*, 194.
128. Morabito, R.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1995**, *351*, 378.
129. Henderson, T. R.; Sun, J. D.; Royer, R. E.; Clarck, C. R.; Li, A. P.; Hunt, A. H.; Fulford, J. E.; Lovette, A. M.; Davidson, W. R.; *Environ. Sci. Technol.* **1983**, *17*, 443.
130. Bodezeki, D.; Tyrpien, K.; Warzecha, L.; *Intern. J. Environ. Sci. Technol.* **1993**, *52*, 75.
131. Yang, Y.; Baumann, W.; *Analyst* **1995**, *120*, 243.
132. Paschke, T.; Hawthorne, S. B.; Miller, D. J.; Wenclawiak, B.; *J. Chromatogr.* **1992**, *609*, 333.
133. Langenfeld, J. J.; Hawthorne, S. B.; Miller, D. J.; Pawliszyn, J.; *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 1727.
134. Hechler, D.; Fischer, J.; Plageman, S.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1995**, *351*, 591.
135. Marvin, C. H.; Allan, L.; McCarry, B. E.; Bryant, D. W.; *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **1992**, *49*, 221.
136. Stephens Jr., D. L.; McFadden, T.; David Health, O.; Mauldin, R. F.; *Chemosphere*, **1994**, *28*, 1741.
137. Brilis, G. M.; Marsden, P. J.; *Chemosphere*, **1990**, *21*, 91.
138. Carvalho, L. R. F.; Souza, S. R.; Martinis, B. S.; Korn, M.; *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **1995** (in press).
139. Sherma, J.; *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 67R.
140. Elceman, G. A.; Hill Jr., H. H.; Davani, B.; *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 621R.
141. Dorsey, J. G.; Cooper, W. T.; Wheeler, J. F.; Barth, H. G.; Foley, J. P.; *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 500R.
142. Bruckner, C. A.; Foster, M. D.; Lima, L. R.; Synovec, R. E.; Berman, R. J.; Renn, C. N.; Johnson, E. L.; *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 1R.
143. Brown, P. R.; *Anal. Chem.* **1990**, *62*, 995A.
144. Yang, S. K.; Weems, H. B.; Mushtaq, M. Fu, P. P.; *J. Chromatogr.* **1984**, *316*, 569.
145. Bartle, K. D.; Lee, M. L.; Wise, S. A.; *Chem. Soc. Rev.* **1981**, *10*, 113.
146. Chmielowiec, J.; George, A. E.; *Anal. Chem.* **1980**, *52*, 1154.
147. Popl, M.; Dolansky, V.; Mostecky, J.; *J. Chromatogr.* **1974**, *91*, 649.
148. Popl, M.; Dolansky, V.; Mostecky, J.; *J. Chromatogr.* **1976**, *117*, 117.
149. Wise, S. A.; Chesler, S. N.; Hertz, H. S.; Hilpert, L. R.; May, W. E.; *Anal. Chem.* **1977**, *49*, 2306.
150. Schmit, J. A.; Henry, R. C.; Williams, R. C.; Dieckman, J. F.; *J. Chromatogr. Sci.* **1971**, *9*, 645.
151. Dorsey, J. G.; Cooper, W. T.; *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 857A.
152. Ogan, K.; Katz, E.; *J. Chromatogr.* **1980**, *188*, 115.
153. Tejada, S. B.; Zweidinger, R. B.; Sigsby Jr., J. E.; *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 1827.
154. Barek, J.; Pacáková, V.; Stulík, K.; Zima, J.; *Talanta* **1985**, *32*, 279.
155. MacCrehan, W. A.; May, W. E.; *Anal. Chem.* **1984**, *56*, 625.
156. Christensen, R.G.; May, W.E.; *J. Liq. Chromatogr.* **1978**, *1*, 385.
157. Jurgensen, A.; Inman Jr., E. L.; Winefordner, J. D.; *Anal. Chim. Acta* **1981**, *131*, 187.
158. Nesse, R. J.; Velthorst, N. H.; Brinkman, U. A.Th.; Gooijer, C.; *J. Chromatogr. A* **1995**, *704*, 1.
159. Terebe, S.; Otsuka, K.; Ando, T.; *Anal. Chem.* **1985**, *57*, 834.
160. García, M. A.; Marina, M. L.; *J. Chromatogr. A* **1994**, *687*, 233.
161. Kaneta, T.; Yamashita, T.; Imasaka, T.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, *299*, 371.
162. Drugov, Y. S.; *J. Anal. Chem.* **1994**, *49*, 1128.
163. Yancey, J. A.; *J. Chromatogr. Sci.* **1994**, *32*, 349.
164. Yancey, J. A.; *J. Chromatogr. Sci.* **1994**, *32*, 403.
165. Yu, W. C.; Fine, D. H.; Chiu, K. S.; Biemann, K.; *Anal. Chem.* **1984**, *56*, 1158.
166. Bjorseth, A.; *Anal. Chem. Acta* **1977**, *94*, 21.
167. Ramdahl, T.; Sweetman, J. A.; Zielinska, B.; Atkinson, R.; Winer, A. M.; Pitts Jr., J. N.; *J. High Resolut. Chromatogr. Commun.* **1985**, *8*, 849.
168. Campbell, R. M.; Lee, M. L.; *Anal. Chem.* **1984**, *56*, 1026.
169. Landrock, A.; Richter, H.; Merten, H.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1995**, *351*, 536.
170. Visser, T.; Vredenburg, M. J.; Jong, A. P. J. M.; *J. Chromatogr. A* **1994**, *687*, 303.
171. de Andrade, J. B.; Zielinska, B.; *Quím. Nova* **1992**, *15*, QA-144; Suplemento da 15ª Reunião Anual da SBQ.
172. Mahanama, K. R. R.; Gundel, L. A.; Daisey, J. M.; *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **1994**, *56*, 289.
173. Burlingame, A. L.; Boyd, R. K.; Gaskell, S. J.; *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 634R.
174. Finnigan, R.; *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 969A.
175. McLukey, S. A.; Berkel, G. J. V.; Goeringer, D. E.; Glish, G. L.; *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 689A.
176. Bratin, K.; Kissinger, P. T.; Briner, R. C.; Bruntlett, C. S.; *Anal. Chem. Acta* **1981**, *130*, 295.
177. Galceran, M. T.; Moyand, E.; *Talanta* **1993**, *40*, 615.
178. Rappaport, S. M.; Jin, Z. L.; Xu, X. B.; *J. Chromatogr.* **1982**, *240*, 145.
179. Ang, K. P.; Tay, B. T.; Gunasingham, H.; *Intern. J. Environ. Stud.* **1987**, *29*, 163.
180. Barek, J.; Malik, G.; Zima, J.; *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1991**, *56*, 595.
181. Wise, S. A.; Schantz, M. M.; Benner Jr., B. A.; Hays, M. J.; Schiller, S. B.; *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 1171.