

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

Morgana Frena

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS SEDIMENTOS POR MEIO
DE BIOMARCADORES GEOQUÍMICOS E ELEMENTOS-
TRAÇO EM AMOSTRAS DO ESTUÁRIO DO RIO ITAJAÍ-AÇU
E DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EM MATRIZES
DE RESÍDUOS SÓLIDOS**

Tese submetida ao Programa de Pós-
Graduação em Química da
Universidade Federal de Santa
Catarina para a obtenção do Grau de
Doutor em Química Analítica
Orientador: Prof. Dr. Luiz Augusto dos
Santos Madureira

Florianópolis
2014

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

FRENA, MORGANA

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS SEDIMENTOS POR MEIO DE BIOMARCADORES GEOQUÍMICOS E ELEMENTOS-TRAÇO EM AMOSTRAS DO ESTUÁRIO DO RIO ITAJAÍ-ÁÇU E DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EM MATRIZES DE RESÍDUOS SÓLIDOS / MORGANA FRENA ; orientador, LUIZ AUGUSTO DOS SANTOS MADUREIRA - Florianópolis, SC, 2014.
220 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas. Programa de Pós-Graduação em Química.

Inclui referências

1. Química. 2. Biomarcadores geoquímicos. 3. Sedimentos. 4. Elementos-traço. 5. Resíduos sólidos. I. MADUREIRA, LUIZ AUGUSTO DOS SANTOS . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

Morgana Frena

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS SEDIMENTOS POR MEIO
DE BIOMARCADORES GEOQUÍMICOS E ELEMENTOS-
TRAÇO EM AMOSTRAS DO ESTUÁRIO DO RIO ITAJAÍ-AÇU
E DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EM MATRIZES
DE RESÍDUOS SÓLIDOS**

Esta Tese foi julgada e aprovada para a obtenção do Título de **Doutor em Química** no **Programa de Pós-Graduação em Química** da Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 14 de novembro de 2014.

Prof. Dr. Hugo Alejandro Gallardo Olmedo
Coordenador do Programa

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Luiz A. S. Madureira
Orientador (DQ – UFSC)

Prof. Dr. Daniel L. G. Borges
(DQ – UFSC)

Prof. Dr. Marco T. Grassi
(DQ – UFPR)

Prof.^a Dr.^a Tatiane A. Maranhão
(DQ – UFSC)

Prof. Dr. Marcelo R. Alexandre
(DQ – UFS)

Prof.^a Dr.^a Vera L. A. F. Bascuñan
(DQ – UFSC)

Aos meus pais, Miriam e
Wilson, e aos meus avós, Valtrudes e
José, meus exemplos de vida, os quais
me educaram com muito amor e
carinho, sempre me incentivando a
estudar...

...dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao prof. Dr. Luiz A. S. Madureira, por todos os ensinamentos transmitidos ao longo desses anos. Agradeço pela orientação, amizade, paciência e apoio incondicional;

À minha mãe Miriam e meu pai Vilson por tudo que fazem e representam pra mim;

Aos meus avós Valtrudes e José, por serem meu alicerce e pelos simples gestos que fazem tudo valer a pena;

Ao meu esposo Marcelo, sobretudo pela paciência, carinho e apoio nos momentos mais difíceis;

Ao prof. Dr. Daniel L.G. Borges pela atenção, sugestões, discussões e por oportunizar o desenvolvimento do trabalho no ICP-MS;

Aos amigos do Laboratório de Espectrometria Atômica e de Massas, em especial a Daiane P.C. Quadros pelas valiosas discussões;

Ao prof. Dr. Marcos N. Eberlin pela oportunidade de utilizar os equipamentos do Laboratório ThoMSon de Espectrometria de Massas;

À Giovana, pela amizade de tantos anos e por toda a ajuda no Laboratório ThoMSon;

Aos amigos e colegas do Laboratório de Química Ambiental e Geoquímica Orgânica, Alessandra, Paulo, Maíra, Victor, Rosito, Pedro, Mayara, Michelle, Jéssica, Guilherme e Vânia, pelo convívio e produtivas discussões;

Aos colegas do Lab 214, em especial a Anna, Karen e Taís pela amizade e apoio durante este trabalho;

À Alessandra Tonietto, pela valiosa amizade e parceria neste trabalho;

Aos membros da banca examinadora de defesa, pelo aceite do convite de participação desta tese;

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina pela oportunidade;

A todos os professores do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, pela contribuição para minha formação profissional;

À UFSC pela estrutura;

Ao CNPq pela bolsa de estudo.

RESUMO

O sistema estuarino do rio Itajaí-Açu, localizado na região Sul do Brasil, é afetado por atividades industriais e de dragagem, que podem causar remobilização dos poluentes acumulados ao longo do tempo no sedimento. Por isso, biomarcadores geoquímicos e elementos-traço foram avaliados qualitativamente e quantitativamente em doze amostras superficiais de sedimento. Os níveis de *n*-alcanos, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) e esteróis foram obtidos a fim de identificar suas fontes e a possível contaminação do ambiente por combustíveis fósseis e esgoto doméstico. As concentrações totais variaram entre 0,49 e 69,71 $\mu\text{g g}^{-1}$ para os *n*-alcanos e de 63,89 a 1458,99 ng g^{-1} para os HPA. As concentrações obtidas para este estuário são semelhantes à de outros ambientes estuarinos e costeiros ao redor do mundo. Comparando os níveis de HPA com os indicadores do Guia de Qualidade de Sedimentos, os resultados apontaram que a ocorrência de efeitos adversos à biota pode ocorrer raramente e/ou ocasionalmente. Com base nas razões diagnósticas para HPA utilizadas neste estudo, as principais fontes desses compostos são pirolíticas, embora fontes petrogênicas também tenham sido encontradas. Uma mistura complexa não resolvida foi detectada na estação 5, localizada no Porto de Itajaí, sugerindo contaminação por combustíveis fósseis. A presença de hopanos de estereoquímica $\alpha\beta$ em todas as estações indica fontes petrogênicas nas amostras avaliadas. Esteróis foram identificados em todas as amostras, sendo os mais abundantes o colesterol, o coprostanol e o β -sitosterol, que representam fontes tais como zooplâncton, esgoto doméstico e plantas superiores, respectivamente. A distribuição de ácidos graxos permitiu inferir a origem da matéria orgânica como predominantemente aquática, com pouca contribuição de plantas, notavelmente nas estações 7 e 8. No que diz respeito aos contaminantes inorgânicos, um procedimento de extração simples e rápido foi proposto para a determinação de elementos-traço em amostras de sedimentos por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado. Ótimos resultados foram obtidos quando se submeteu 100 mg de sedimento à extração assistida por ultrassom por 15 minutos com HF a 7,50 mol L⁻¹ e HNO₃ a 3,50 mol L⁻¹. Limites de detecção entre 0,02 e 0,10 $\mu\text{g g}^{-1}$ e desvios padrão relativos inferiores a 8% foram obtidos. O método proposto foi aplicado na determinação de elementos-traço em amostras de sedimentos do estuário do rio Itajaí-Açu e as concentrações obtidas, comparadas aos referenciais do Guia de Qualidade de Sedimentos para a

Proteção da Vida Aquática. Observou-se que as amostras de sedimentos avaliadas apresentam uma boa qualidade em relação a poluentes inorgânicos. Além disso, foi desenvolvida uma metodologia analítica para a determinação de benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos (BTEX) em amostras de resíduos sólidos, utilizando microextração em fase sólida e cromatografia gasosa. As melhores respostas foram obtidas utilizando a fibra carboxen/polidimetilsiloxano (CAR/PDMS), tempo de extração de 20 minutos a 25 °C e massa de resíduo de 20,0 mg. O método desenvolvido proporcionou um bom desempenho em termos de precisão (abaixo de 7% para todos os analitos), recuperação, seletividade, robustez e limites de detecção (1,8 a 21,0 ng mL⁻¹). Além disso, é um método simples, livre de solventes e adequado para a classificação de resíduos sólidos.

Palavras-chave: Sedimento. Elementos-traço. Poluentes orgânicos. Resíduos sólidos.

ABSTRACT

The Itajaí-Açu estuarine system, located in southern Brazil, is affected by industrial and dredging activities, which can cause remobilization of the pollutants accumulated over time in the sediment. Thus, geochemical biomarkers and trace elements were studied qualitatively and quantitatively in 12 surface sediment samples. The levels of aliphatic hydrocarbons, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and sterols were measured in order to identify their sources and possible contamination by fossil fuels and domestic sewage. The total concentrations ranged between 0.49 and 69.71 $\mu\text{g g}^{-1}$ of dry weight for *n*-alkanes and from 63.89 to 1458.99 ng g^{-1} of dry weight for PAH. Concentrations in this estuary are comparable to estuaries and coastal environments around the world. Comparing the PAH levels found in the estuarine sediments with the Sediment Quality Guidelines, results indicated that adverse effects are expected to occur rarely to occasionally to the living biota. According to the calculated PAH ratios, the major sources of PAH are pyrolytic, although petrogenic was also found. Unresolved complex mixture was detected at site 5, located at the Itajaí harbor, suggesting contamination by fossil fuels. The presence of hopanes with $\alpha\beta$ stereochemistry at all stations indicated petrogenic input. Sterols were identified in all the samples. The most abundant sterols were cholesterol, coprostanol and β -sitosterol, suggesting sources such as zooplankton, domestic sewage and higher plants. The distribution of fatty acids allowed to infer the origin of organic matter as predominantly aquatic, with little contribution of vascular plants, notably in stations 7 and 8, which agrees with the RTA values for *n*-alkanes. The major contribution of long chain fatty acids was observed at station 11, representing the contribution of vascular plants at these station. Regarding inorganic contaminants, a simple and fast extraction-based procedure was proposed for the determination of trace elements in sediment samples by inductively coupled plasma mass-spectrometry. Optimum results were obtained when 100 mg of sediment sample was used followed by ultrasound-assisted extraction for 15 min with 7,50 mol L⁻¹ (HF) and 3,50 mol L⁻¹ (HNO₃). Detection limits ranging from 0,02 to 0,10 $\mu\text{g g}^{-1}$ and relative standard deviation lower than 8% were obtained. The proposed method was applied in the sediments of the Itajaí-Açu estuarine system and the concentrations of trace elements were compared to the Sediment Quality Guidelines. It was observed that the sediment samples evaluated show good quality regarding inorganic

pollutants. In addition, an analytical methodology was developed for the determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes (BTEX) in samples of solid waste using solid phase microextraction and gas chromatography. Best results were obtained using the carboxen/polydimethylsiloxane fiber (CAR/PDMS), extraction time of 20 min at 25 °C and 20 mg of sample. The developed method provided a good performance in terms of precision (lower than 7% for all analytes), recovery, selectivity, robustness and detection limits (1,8 to 21,0 ng mL⁻¹). Furthermore, it is a simple, solvent-free method suitable for the classification of solid waste.

Keywords: Sediment. Trace elements. Organic pollutants. Solid waste.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 – Cromatograma parcial de uma típica distribuição de hidrocarbonetos lineares presentes em sedimentos não contaminados por derivados de petróleo (KILLOPS; KILLOPS, 1993). Os números acima dos picos indicam a quantidade de átomos de carbono na série homóloga.....	40
Figura 1.2 – Muitos hopanos em petróleo se originam do bacteriohopanotetrol (1), encontrado nas membranas celulares de organismos procariontes. A configuração biológica imposta no bacteriohopanotetrol e em seu produto saturado (2) por enzimas nos organismos é instável durante a catagênese e sofre isomerização para as configurações geológicas (por exemplo, em 3, 4 e 5). Fonte: Modificado a partir de PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005.....	42
Figura 1.3 – Biossíntese de esteróis a partir do esqualeno. Modificado a partir de KILLOPS; KILLOPS, 1993.....	46
Figura 1.4 – Transformações do colesterol. (I) colesterol; (II) colestenona; (III) colestanona (5 β -colestan-3-ona); (IV) coprostanol; (V) colestanona (5 α -colestan-3-ona) e (VI) colestanol. Fonte: GRIMALT, 1990.....	48
Figura 1.5 – Estrutura geral de esteróis e de alguns esteróis geoquimicamente importantes. Modificado a partir de KILLOPS; KILLOPS, 2005.....	49
Figura 1.6 – Esquema de uma fonte de ionização por electrospray. Modificado a partir de Hoffmann e Stroobant, 2007.....	54
Figura 1.7 – Vista aérea do Porto de Itajaí. Disponível em: http://portosemmisterio.com.br/wpcontent/uploads/2012/11/PortodeItaja%C3%ADF%C3%A1vio-Berger.jpg . Acesso em fevereiro de 2013...60	60
Figura 1.8 – Vista do Terminal Portuário de Navegantes. Disponível em: http://turismo.sc.gov.br/institucional/index.php/pt-br/multimedia/fotos/54-costa-verde-e-mar-navegantes/detail/427-vista-do-porto-de-navegantes-a-direita-e-a-esquerda-itajai-rio-itajai-acu-navegantes1838?tmpl=component . Acesso em agosto de 2014.....	60
Figura 1.9 – Mapa da área de estudo indicando os pontos de coleta de amostragem no estuário do rio Itajaí-Açu.....	61
Figura 1.10 – Fluxograma do processo de extração e fracionamento dos lipídios.....	66
Figura 1.11 – Fracionamento do extrato lipídico em colunas de vidro. Fonte: elaborado pela autora.....	67

Figura 1.12 – Design do analisador de massas utilizado para a determinação de ácidos graxos (A: acelerador, D: detector). Extraído de Klitzke et al., 2012.....	72
Figura 1.13 - Distribuição granulométrica das frações de areia, silte e argila nas amostras superficiais de sedimento do estuário do rio Itajaí-Açu.....	73
Figura 1.14 – Cromatograma (GC/FID) da fração dos hidrocarbonetos alifáticos da estação 1, localizada no Estaleiro Detroit. Os números acima dos picos indicam a quantidade de átomos de carbono na série homóloga. C _{30d} foi utilizado como padrão interno de quantificação.....	77
Figura 1.15 – Cromatograma (GC/FID) da fração dos hidrocarbonetos alifáticos da estação 5, localizada no Porto de Itajaí. Os números acima dos picos indicam a quantidade de átomos de carbono na série homóloga. C _{30d} foi utilizado como padrão interno de quantificação. UCM: mistura complexa não resolvida.....	80
Figura 1.16 – Cromatograma de massas do íon <i>m/z</i> 191, característico de hopanos, em uma amostra de sedimento (estação 8) do estuário do rio Itajaí-Açu. C₂₇ Ts: 18 α (H)-22,29,30-trisnorneohopano; C₂₇ Tm: 17 α (H)-22,29,30-trisnorhopano; C₂₈: 17 α (H),18 α (H),21 β (H)-28,30-bisnorhopano; C₂₉ $\alpha\beta$: 17 α (H),21 β (H)-30-norhopano; C₂₉ $\beta\alpha$: 17 β (H),21 α (H)-30-norhopano; C₃₀ $\alpha\beta$: 17 α (H),21 β (H)-hopano; C₃₀ $\beta\alpha$: 17 β (H),21 α (H)-hopano; C₃₁ $\alpha\beta$-S: 17 α (H),21 β (H)-31-homohopano-22S; C₃₁ $\alpha\beta$-R: 17 α (H),21 β (H)-31-homohopano-22R; C₃₁ $\beta\alpha$: 17 β (H),21 α (H)-31-homohopano; C₃₀ $\beta\beta$: 17 β (H),21 β (H)-hopano; C₃₂ $\alpha\beta$-S: 17 α (H),21 β (H)-32-bis-homohopano-22S; C₃₂ $\alpha\beta$-R: 17 α (H),21 β (H)-32-bis-homohopano-22R; C₃₃ $\alpha\beta$-S: 17 α (H),21 β (H)-33-tris-homohopano-22S; C₃₃ $\alpha\beta$-R: 17 α (H),21 β (H)-33-tris-homohopano-22R; C₃₄ $\alpha\beta$-S: 17 α (H),21 β (H)-34-tetrakis-homohopane-22S; C₃₄ $\alpha\beta$-R: 17 α (H),21 β (H)-34-tetrakis-homohopano-22R; C₃₅ $\alpha\beta$-S: 17 α (H),21 β (H)-35-pentakis-homohopano-22S; C₃₅ $\alpha\beta$-R: 17 α (H),21 β (H)-35-pentakis-homohopano-22R.....	82
Figura 1.17 – Distribuição relativa de hopanos de origem biogênica (hopanos de configuração $\beta\beta$ e C ₃₁ -C ₃₅ $\alpha\beta$ -R) e de origem antropogênica (hopanos de configuração $\alpha\beta$, C ₃₁ -C ₃₅ $\alpha\beta$ -S) em doze amostras de sedimento do estuário do rio Itajaí-Açu.....	83
Figura 1.18 – Diagrama cruzado de Fenantreno/Antraceno <i>versus</i> Fluoranteno/Pireno para as amostras de sedimento do estuário do rio Itajaí-Açu. Os números acima dos pontos indicam as estações de coleta.....	90

Figura 1.19 – Proporção de esteróis com 27, 28 e 29 átomos de carbono em amostras superficiais de sedimento do estuário do rio Itajaí-Açu. C ₂₇ : colesterol, coprostanol, colestanol e epicoprostanol; C ₂₈ : campesterol; C ₂₉ : estigmasterol, estigmastanol e β-sitosterol.....	92
Figura 1.20 – Concentrações (ng g ⁻¹) de esteróis totais em amostras de sedimentos do estuário do rio Itajaí-Açu.....	96
Figura 1.21 – Espectro de massas representativo de uma amostra de sedimento mostrando a distribuição de ácidos graxos saturados.....	99
Figura 1.22 – Distribuição de ácidos graxos saturados nas estações 7 e 11.....	100
Figura 2.1 – Representação esquemática de reservatórios de metais e suas interações em sistemas costeiros. Adaptado a partir de AGBOOLA, 2011.....	124
Figura 2.2 – Esquema de um instrumento de ICP-MS e possíveis sistemas de introdução da amostra no plasma. Fonte: POZEBON, 1998.....	130
Figura 2.3 – Representação gráfica do planejamento composto central para a otimização de: (a) duas variáveis (α=1,41) e (b) três variáveis (α=1,68). (●) pontos do design fatorial, (○) pontos axiais e (□) ponto central. Fonte: BEZERRA et al., 2008.....	132
Figura 2.4 – Influência da potência de radiofrequência sobre as contagens normalizadas dos isótopos ⁵¹ V, ⁶⁰ Ni, ¹¹⁸ Sn, ⁶³ Cu, ⁶⁶ Zn, ¹¹¹ Cd e ²⁰⁸ Pb, utilizando um nebulizador pneumático de fluxo cruzado para a amostra extraída, enriquecida com 10 μg L ⁻¹ de V, Ni, Sn, Cu, Zn, Cd e Pb. Contagem normalizada: razão entre a contagem individual e a maior contagem para cada analito.....	141
Figura 2.5 – Influência da vazão do gás de nebulização sobre as contagens normalizadas dos isótopos ⁵¹ V, ⁶⁰ Ni, ¹¹⁸ Sn, ⁶³ Cu, ⁶⁶ Zn, ¹¹¹ Cd e ²⁰⁸ Pb, utilizando um nebulizador pneumático de fluxo cruzado para a amostra extraída enriquecida com 10 μg L ⁻¹ de V, Ni, Sn, Cu, Zn, Cd e Pb. Contagem normalizada: razão entre a contagem individual e a maior contagem para cada analito.....	143
Figura 2.6 – Gráfico de Pareto obtido pelo planejamento composto central na otimização das variáveis e suas interações na determinação de elementos-traço em amostras de sedimento estuarino. (1) tempo de extração, (2) concentração de ácido fluorídrico e (3) concentração de ácido nítrico.....	144
Figura 2.7 – Superfícies de resposta obtidas a partir do planejamento composto central. A resposta é a média geométrica associada ao sinal dos isótopos ⁷⁵ As, ¹¹¹ Cd, ⁵⁹ Co, ⁵² Cr, ⁶³ Cu, ⁶⁰ Ni, ²⁰⁸ Pb, ¹¹⁸ Sn, ⁵¹ V e ⁶⁶ Zn.	

As variáveis são: concentração de ácido fluorídrico, concentração de ácido nítrico e tempo de sonificação.....	146
Figura 2.8 – Efeito do tempo de sonificação no sinal obtido para os analitos As, Co, Cr, Cu, Ni, V e Zn. O sinal dos analitos foi normalizado pela massa das amostras de sedimento submetidas à extração.....	147
Figura 3.1 – Fluxograma do processo de classificação de resíduos sólidos de acordo com a Norma ABNT NBR 10004. Anexos A, B e G estão presentes na Norma.....	177
Figura 3.2 – Guia para seleção de recobrimento de fibra de acordo com as propriedades do analito, volatilidade e polaridade. Adaptado a partir de PAWLISZIN, 2009.....	182
Figura 3.3 – Estruturas químicas de alguns recobrimentos de fibra disponíveis comercialmente: (a) polidimetilsiloxano (PDMS), (b) poliacrilato (PA), (c) divinilbenzeno (DVB). Adaptado a partir de PAWLISZYN, 2009.....	183
Figura 3.4 – Modos de operação em SPME: (a) imersão direta, (b) <i>headspace</i> , (c) extração com membrana de proteção. Adaptado a partir de PAWLISZYN, 2009.....	184
Figura 3.5 – Planejamento Doehlert para a otimização de duas variáveis e algumas possibilidades de deslocamento do planejamento inicial utilizando pontos anteriores. Fonte: BEZERRA et al., 2008.....	187
Figura 3.6 – Comparação da eficiência de extração das fibras PDMS 100, PDMS/DVB e CAR/PDMS, utilizando 30 mg de resíduo com tempo de extração de 30 minutos a 25° C. Área normalizada: razão entre a área média individual e a maior área média para cada analito.....	198
Figura 3.7 – Superfícies de resposta obtidas a partir do planejamento Doehlert para as variáveis massa de resíduo sólido e tempo no processo de extração por SPME para: (a) benzeno, (b) o-xileno e (c) média geométrica dos analitos.....	199
Figura 3.8 – Superfícies de resposta obtidas a partir do planejamento Doehlert para as variáveis adição de água e adição de NaCl no processo de extração por SPME para: (a) benzeno, (b) o-xileno e (c) média geométrica dos analitos.....	200
Figura 3.9 – Cromatogramas obtidos por GC/FID para o procedimento de extração por HS-SPME para amostra de (a) resíduo sólido e (b) lixiviado de resíduo sólido enriquecido com BTEX.....	204

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 – Estruturas químicas dos 16 HPA considerados poluentes prioritários pela USEPA.....	44
Tabela 1.2 – Identificação e posição geográfica das estações de amostragem.....	62
Tabela 1.3 – Parâmetros otimizados para cada transição dos compostos analisados pelo método LC-MS/MS.....	70
Tabela 1.4 – Carbono orgânico total (TOC), nitrogênio total (NT) e razões C/N e H/C em amostras superficiais de sedimento do estuário do rio Itajaí-Açu.....	75
Tabela 1.5 – Parâmetros analíticos de mérito obtidos a partir das curvas de calibração realizadas para a quantificação dos <i>n</i> -alcanos.....	76
Tabela 1.6 – Concentrações de <i>n</i> -alcanos e suas respectivas razões.....	78
Tabela 1.7 – Comparação dos níveis de <i>n</i> -alcanos determinados em amostras de sedimentos de diversos ambientes.....	79
Tabela 1.8 – Parâmetros analíticos de mérito obtidos a partir das curvas de calibração realizadas para a quantificação dos HPA.....	84
Tabela 1.9 – Concentrações de HPA e razões nas amostras de sedimento do estuário do rio Itajaí-Açu.....	85
Tabela 1.10 – Comparação das concentrações de HPA (ng g^{-1} em sedimento seco) das amostras de sedimento do estuário do rio Itajaí-Açu com guias de qualidade de sedimento.....	86
Tabela 1.11 – Níveis de classificação do material a ser dragado em unidade de material seco.....	87
Tabela 1.12 – Comparação dos níveis de HPA determinados em amostras de sedimentos de diversos ambientes.....	88
Tabela 1.13 – Parâmetros analíticos de mérito para a determinação de esteróis por LC-MS/MS.....	91
Tabela 1.14 – Concentrações (ng g^{-1}) de esteróis em amostras de sedimentos do estuário do rio Itajaí-Açu, determinados por LC-MS/MS.....	94
Tabela 1.15 – Comparação dos níveis de coprostanol determinados em amostras de sedimentos de diversos ambientes.....	95
Tabela 1.16 – Razões entre esteróis determinados em amostras de sedimentos do estuário do rio Itajaí-Açu.....	97
Tabela 2.1 – Exemplos representativos do uso da UAE em matrizes ambientais.....	128
Tabela 2.2 – Parâmetros operacionais adotados para o ICP-MS.....	137

Tabela 2.3 – Variáveis e níveis empregados no planejamento composto central para a otimização do processo de extração.....	138
Tabela 2.4 – Programa de temperatura adotado para a digestão das amostras de sedimento.....	140
Tabela 2.5 – Parâmetros analíticos de mérito obtidos para o método proposto de extração de elementos-traço em amostras de sedimento estuarino e determinação por ICP-MS.....	148
Tabela 2.6 – Concentrações ($\mu\text{g g}^{-1}$) de elementos-traço em três amostras de sedimento de material certificado de referência, determinados por ICP-MS a partir de dois diferentes procedimentos: o método proposto de extração em ultrassom e a digestão em micro-ondas (*Valor informado; n.a.: não avaliado).....	149
Tabela 2.7 – Concentrações ($\mu\text{g g}^{-1}$) de elementos-traço em amostras de sedimento do estuário do rio Itajaí-Açu determinados por ICP-MS seguindo o método de extração em ultrassom.....	151
Tabela 2.8 – Níveis de classificação do material a ser dragado em unidade de material seco.....	153
Tabela 2.9 – Concentrações ($\mu\text{g g}^{-1}$) de elementos-traço reportadas neste estudo e em diferentes regiões do mundo.....	154
Tabela 2.10 – Concentrações ($\mu\text{g g}^{-1}$) de elementos-traço em duas amostras de sedimento do estuário do rio Itajaí-Açu, determinados por ICP-MS, seguindo dois diferentes procedimentos: o método proposto de extração em ultrassom e a digestão em micro-ondas.....	155
Tabela 3.1 – Propriedades físico-químicas dos BTEX.....	179
Tabela 3.2 – Concentrações máximas permitidas de BTEX em água potável e em efluentes de acordo com as resoluções do CONAMA e limite máximo permitido no extrato de lixiviação de acordo com a Norma Brasileira ABNT NBR 10004 para classificação de resíduos sólidos.....	180
Tabela 3.3 – Tipos de recobrimentos de fibra de SPME disponíveis comercialmente.....	183
Tabela 3.4 – Variáveis e níveis empregados no planejamento Doehlert para a primeira etapa da otimização do processo de extração.....	194
Tabela 3.5 – Variáveis e níveis empregados no planejamento Doehlert para a segunda etapa da otimização do processo de extração.....	194
Tabela 3.6 – Parâmetros analíticos de mérito obtidos para o método proposto de extração de BTEX em resíduos sólidos por SPME e GC/FID.....	201

Tabela 3.7 – Concentrações de BTEX (ng mL^{-1}) em amostras de resíduos sólidos obtidas de uma unidade de hidrocessamento de petróleo (intervalo de confiança de 95%; *n=3).....	202
Tabela 3.8 – Concentrações de BTEX (ng mL^{-1}) em lixiviados de resíduos sólidos enriquecidos com 50 ng mL^{-1} e 250 ng mL^{-1} de BTEX (intervalo de confiança de 95%; *n=3).....	203

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas
- ANT - Antraceno
- APCI - Ionização química à pressão atmosférica (*atmospheric-pressure chemical ionization*)
- BTEX - Benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos
- CAR/PDMS-Carboxen - polidimetilsiloxano (*carboxen polydimethylsiloxane*)
- CE - Energia de colisão (*collision energy*)
- CEPSUL - Centro de pesquisa e gestão de recursos pesqueiros do litoral sudeste e sul
- CI - Ionização química (*chemical ionization*)
- CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente
- CRM - Material de referência certificado (*certified reference material*)
- CV AAS – Espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (*cold vapour atomic absorption spectrometry*)
- DI - Ionização por dessorção (*desorption ionization*)
- EI - Ionização por elétrons (*electron ionization*)
- ERL - *Effects range low*
- ERM - *Effects range median*
- ESI - Ionização por electrospray (*electrospray ionization*)
- ET AAS - Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (*Electrothermal atomic absorption spectrometry*)
- ETV - Vaporização eletrotérmica (*electrothermal vaporization*)
- FI - Sistema em fluxo (*flow injection*)
- FEN - Fenantreno
- FLUO - Fluoranteno
- GC - Cromatografia a gás (*gas chromatography*)
- GC/FID - Cromatografia a gás com detecção por ionização em chama (*gas chromatography flame ionization*)
- GC-MS - Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (*gas chromatography-mass spectrometry*)
- HPA - Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
- HPLC - Cromatografia líquida de alta eficiência (*high performance liquid chromatography*)
- HR-CS GF AAS - Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua e atomização em forno de grafite (*high resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry*)
- HS – espaço vazio (*headspace*)

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

ICP-MS - Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (*inductively coupled plasma mass spectrometry*)

IPC - Índice preferencial de carbono

IUPAC - União Internacional de Química Pura e Aplicada (*International Union of Pure and Applied Chemistry*)

LC-MS/MS - Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas sequencial (*liquid chromatography with tandem mass spectrometry*)

LOD - Limite de detecção (*limit of detection*)

LOQ - Limite de quantificação (*limit of quantification*)

MALDI Ionização/dessorção a laser assistida por matriz (*matrix-assisted laser desorption/ionization*)

m/z - Razão massa/carga

MO - Matéria orgânica

MRM - Monitoramento de reações múltiplas (*multiple reaction monitoring*)

NADPH - *Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase*

ND - Não detectado

NOAA - *National Oceanic and Atmospheric Administration*

NT - Nitrogênio total

PA - Poliacrilato (*polyacrylate*)

PDMS - Polidimetilsiloxano (*polydimethylsiloxane*)

PDMS/DVB - Polidimetilsiloxano-divinilbenzeno (*polydimethylsiloxane-divinylbenzene*)

PEG - Polietilenoglicol (*polyethylene glycol*)

PEL - *Probable effect level*

PIR - Pireno

PN - Nebulizador pneumático (*pneumatic nebulizer*)

PTFE - Politetrafluoretileno

R² - Coeficiente de correlação

RF - Radiofrequência

RSD - Desvio padrão relativo (*relative standard deviation*)

RSM - Metodologia de superfície de resposta (*response surface methodology*)

RTA - Razão terrestre-aquático

SFC - Cromatografia com fluido supercrítico (*supercritical fluid chromatography*)

SI - Ionização por spray (*spray ionization*)

SPME - Microextração em fase sólida (*solid phase microextraction*)

SQGs - Guia de qualidade dos sedimentos (*sediment quality guidelines*)
TEPORTI - Terminal Portuário de Itajaí
TOC - Carbono orgânico total
TOF - Analisador de massas por tempo de voo (*time of flight mass analyzer*)
UAE - Extração assistida por ultrassom (*ultrasound-assisted extraction*)
UCM - Mistura complexa não resolvida (*unresolved complex mixture*)
UHR-MS - Espectrometria de massas de altíssima resolução (*ultra high resolution mass spectrometry*)
USEPA - *United States Environmental Protection Agency*
USN - Nebulizador ultrassônico (*ultrasonic nebulizer*)
VOC - Compostos orgânicos voláteis (*volatile organic compounds*)

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO.....	29
CAPÍTULO I. Determinação de biomarcadores geoquímicos em amostras de sedimentos do estuário do rio Itajaí-Açu.....	31
1.1 INTRODUÇÃO.....	33
1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	37
1.2.1 ESTUÁRIOS E AS ATIVIDADES DE DRAGAGEM.....	37
1.2.2 GEOQUÍMICA DE AMBIENTES AQUÁTICOS.....	37
1.2.3 BIOMARCADORES GEOQUÍMICOS.....	39
1.2.3.1 <i>n</i> -alcanos.....	39
1.2.3.2 <i>Cicloalcanos</i>	41
1.2.3.3 <i>Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos</i>	42
1.2.3.4 <i>Esteróis</i>	45
1.2.3.5 <i>Ácidos graxos</i>	49
1.2.3.6 <i>Razões relacionadas aos biomarcadores geoquímicos</i>	50
1.2.4 TÉCNICAS EMPREGADAS NA DETERMINAÇÃO DE BIOMARCADORES GEOQUÍMICOS.....	52
1.3 OBJETIVOS.....	57
1.3.1 Objetivo geral.....	57
1.3.2 Objetivos específicos.....	57
1.4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	59
1.4.1 ÁREA DE ESTUDO.....	59
1.4.2 COLETA DAS AMOSTRAS.....	61
1.4.3 PREPARO DAS AMOSTRAS.....	62
1.4.4 LIMPEZA DO MATERIAL.....	62
1.4.5 SOLVENTES, REAGENTES, PADRÕES E AMOSTRAS.....	63
1.4.6 INSTRUMENTAÇÃO.....	64
1.4.7 GRANULOMETRIA.....	65
1.4.8 ANÁLISE ELEMENTAR DE CARBONO, HIDROGÊNIO E NITROGÊNIO.....	65
1.4.9 EXTRAÇÃO E FRACIONAMENTO DOS LIPÍDIOS.....	65
1.4.9.1 <i>Extração</i>	66
1.4.9.2 <i>Fracionamento</i>	67
1.4.10 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS DE ANÁLISE.....	68
1.4.10.1 <i>Hidrocarbonetos</i>	68
1.4.10.2 <i>Esteróis</i>	69
1.4.10.3 <i>Ácidos graxos</i>	69
1.4.11 IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE HIDROCARBONETOS.....	70

1.4.12	IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ESTERÓIS....	71
1.4.13	IDENTIFICAÇÃO E ANÁLISE QUALITATIVA DE ÁCIDOS GRAXOS.....	71
1.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	73
1.5.1	GRANULOMETRIA E ANÁLISE ELEMENTAR.....	73
1.5.2	BIOMARCADORES GEOQUÍMICOS.....	75
1.5.2.1	<i>n</i> -alcanos.....	75
1.5.2.2	Hopanos.....	81
1.5.2.3	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA).....	83
1.5.2.4	Esteróis.....	91
1.5.2.5	Ácidos graxos.....	98
1.6	CONCLUSÕES.....	101
1.7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	103

CAPÍTULO II. Desenvolvimento de metodologia analítica para a determinação de elementos-traço em amostras de sedimento estuarino.....119

2.1	INTRODUÇÃO.....	121
2.2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	123
2.2.1	ELEMENTOS-TRAÇO NO AMBIENTE.....	123
2.2.2	PREPARO DE AMOSTRA.....	125
2.2.3	ESPECTROMETRIA DE MASSA COM PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO.....	129
2.2.4	OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA.....	130
2.2.4.1	<i>Planejamento composto central</i>	131
2.3	OBJETIVOS.....	133
2.3.1	Objetivo geral.....	133
2.3.2	Objetivos específicos.....	133
2.4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	135
2.4.1	LIMPEZA DO MATERIAL.....	135
2.4.2	SOLVENTES, REAGENTES, PADRÕES E AMOSTRAS.....	135
2.4.3	INSTRUMENTAÇÃO.....	136
2.4.4	PREPARO DAS AMOSTRAS.....	137
2.4.5	OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS OPERACIONAIS DO ICP-MS.....	137
2.4.6	ESTRATÉGIA DE OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO.....	138
2.4.7	PROCEDIMENTO ANALÍTICO.....	139
2.4.8	PROCEDIMENTO DE DIGESTÃO.....	139

2.4.9	PARÂMETROS ANALÍTICOS DE MÉRITO E APLICAÇÃO ANALÍTICA.....	140
2.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	141
2.5.1	OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS OPERACIONAIS DO ICP-MS.....	141
2.5.2	OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO.....	141
2.5.3	PARÂMETROS ANALÍTICOS DE MÉRITO.....	148
2.5.4	APLICAÇÃO ANALÍTICA.....	150
2.6	CONCLUSÕES.....	157
2.7	PRODUÇÃO CIENTÍFICA.....	159
2.8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	161

CAPÍTULO III. Desenvolvimento de metodologia analítica para a determinação de BTEX em matrizes de resíduos sólidos..... 171

3.1	INTRODUÇÃO.....	173
3.2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	175
3.2.1	RESÍDUOS SÓLIDOS.....	175
3.2.2	BTEX.....	178
3.2.3	PREPARO DE AMOSTRA.....	180
3.2.3.1	<i>Microextração em fase sólida (SPME).....</i>	<i>181</i>
3.2.3.1.1	<i>Aspectos termodinâmicos.....</i>	<i>185</i>
3.2.4	OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA: PLANEJAMENTO DOEHLERT.....	186
3.3	OBJETIVOS.....	189
3.3.1	Objetivo geral.....	189
3.3.2	Objetivos específicos.....	189
3.4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	191
3.4.1	LIMPEZA DA VIDRARIA.....	191
3.4.2	REAGENTES E SOLUÇÕES.....	191
3.4.3	INSTRUMENTAÇÃO.....	191
3.4.4	PREPARO DAS AMOSTRAS.....	192
3.4.5	LIXIVIAÇÃO DO RESÍDUO SÓLIDO.....	192
3.4.6	ESCOLHA DO RECOBRIMENTO DA FIBRA.....	193
3.4.7	OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO POR HS-SPME.....	193
3.4.8	VALIDAÇÃO DO MÉTODO E APLICAÇÃO.....	195
3.4.9	PROCEDIMENTO DE SPME NO EXTRATO LIXIVIADO.....	195
3.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	197
3.5.1	ESCOLHA DO RECOBRIMENTO DA FIBRA.....	197

3.5.2	OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA.....	198
3.5.3	VALIDAÇÃO DO MÉTODO E APLICAÇÃO.....	200
3.6	CONCLUSÕES.....	205
3.7	PRODUÇÃO CIENTÍFICA.....	207
3.8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	209
	APÊNDICE A. Lista de HPA, seus íons de quantificação e padrões deuterados utilizados para quantificação.....	215
	APÊNDICE B. Fragmentos utilizados para a identificação de esteróis.....	216
	APÊNDICE C. Fórmulas moleculares propostas para ácidos graxos saturados e monoinsaturados.....	217
	APÊNDICE D. Distribuição de ácidos graxos saturados nas amostras superficiais de sedimento do estuário do rio Itajaí-Açu.....	219

APRESENTAÇÃO

Esta pesquisa está fundamentada na Química Ambiental e por meio da análise de traços, incorpora atributos de Química Analítica. Nos dias atuais, a contaminação de ecossistemas tem se tornado frequente, principalmente em áreas urbanas. Com o aumento das atividades humanas, é comum a introdução de compostos orgânicos e inorgânicos no ambiente, muitas vezes nocivos à saúde humana e à biota. Nesse sentido, delineou-se o objetivo central de avaliar contaminantes orgânicos e inorgânicos em matrizes ambientais. Para tanto, o foco central esteve em duas vertentes principais: avaliar a qualidade dos sedimentos por meio da identificação de biomarcadores geoquímicos e elementos-traço em amostras do estuário do rio Itajaí-Açu, dada a sua importância econômica para o Estado de Santa Catarina; e determinar compostos orgânicos voláteis em matrizes de resíduos sólidos. Para isso, buscou-se o desenvolvimento de metodologias alternativas, com a utilização de quantidades menores de solvente do que as adotadas em métodos oficiais, a fim de gerar uma quantidade mínima de resíduos.

Para melhor compreensão, esta tese foi dividida em três capítulos. O primeiro aborda a determinação de biomarcadores geoquímicos (hidrocarbonetos alifáticos, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, esteróis e ácidos graxos) em amostras de sedimentos do estuário do rio Itajaí-Açu, localizado na região Sul do Brasil e afetado por atividades industriais e de dragagens.

O segundo apresenta o desenvolvimento de uma metodologia analítica para a determinação de diferentes elementos-traço (As, Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Sn, V e Zn) em amostras de sedimento estuarino por ICP-MS e a aplicação desse método nas amostras de sedimentos do estuário do rio Itajaí-Açu, a fim de avaliar a qualidade do sedimento com relação a contaminantes inorgânicos.

Por fim, o terceiro e último capítulo discorre acerca do desenvolvimento de uma metodologia analítica para a determinação de BTEX por microextração em fase sólida em resíduos sólidos, utilizando cromatografia gasosa com detecção por ionização em chama.

***CAPÍTULO I. Determinação de
biomarcadores geoquímicos em amostras de
sedimentos do estuário do rio Itajaí-Açu.***

1.1 INTRODUÇÃO

Nos dias atuais, mais da metade da população mundial vive a menos de 200 km da costa. Conforme a civilização moderna se espalha, as atividades humanas inevitavelmente ocorrem no ambiente marinho em escalas locais, regionais e até mesmo globais. Cerca de 2/3 das grandes cidades estão localizadas em estuários e regiões adjacentes, devido à facilidade de construção de portos, marinas, indústrias de pescado, entre outras (PEREIRA FILHO; SPILLERE; SCHETTINI, 2003).

Estuários são ecossistemas economicamente importantes devido a sua elevada produtividade e proximidade com os centros urbanos. Sua abundante e diversificada comunidade e capacidade de renovação periódica de águas faz desses ecossistemas locais, onde ocorrem intensas transformações da matéria orgânica, importantes elos entre os ecossistemas fluvial e marinho. Esses ecossistemas atuam juntamente com as áreas costeiras como filtros seletivos entre o continente e o oceano, retendo significativas quantidades de material alóctone (PEREIRA FILHO; SPILLERE; SCHETTINI, 2003; BRANCO; LUDNARDON-BRANCO; BELLOTTO, 2009).

O sedimento marinho serve como um reservatório final para a matéria orgânica (MO) natural e antropogênica. A natureza da matéria orgânica pode fornecer valiosas informações a respeito do ambiente, dos organismos e do tempo de deposição (MEYERS; ISHIWATARI, 1993). Diversos autores (MEYERS; ISHIWATARI, 1993; MEAD et al., 2005; VOLKMAN et al., 2007; KRISTENSEN et al., 2008; HU et al., 2012) destacam a composição da MO sedimentar e sua importância para o estudo de lipídios em ecossistemas aquáticos.

Os lipídios têm sido alvo de muitos estudos durante as últimas décadas, principalmente em ambientes estuarinos (TAROZO; FRENA; MADUREIRA, 2010; OLIVEIRA; MADUREIRA, 2011; MAIOLI et al., 2011; SILVA et al., 2012; HU et al., 2012; LIMA et al., 2012; PIETZSCH; PATCHINEELAM; TORRES, 2010). Esses estudos têm mostrado bons resultados, na medida em que contaminantes como compostos orgânicos são identificados e suas fontes evidenciadas.

A partir dos estudos realizados por Deshmukh, Chefetz e Hatcher (2001); Muniz et al. (2004) e Harji, Yvenat e Bhosle (2008), é possível observar que as atividades portuárias são consideradas altamente impactantes, com destaque para o número de navios que realizam manobras diariamente utilizando óleo diesel e óleo pesado

como combustíveis; os tipos de cargas movimentadas; a disposição de resíduos sólidos ou líquidos; entre outras. Assim, a identificação de compostos orgânicos em regiões portuárias se torna uma ferramenta importante na elaboração de manejos dos sedimentos dragados, além de auxiliar na implementação de ações que visam prevenir a liberação de determinados compostos tóxicos aos seres vivos e à biota local, minimizando o impacto causado por determinadas classes de contaminantes.

Dada a importância da pesquisa sobre os compostos orgânicos em estuários, este trabalho teve como local de estudo o estuário do rio Itajaí-Açu, que tem em suas margens o Porto de Itajaí e o Terminal Portuário de Navegantes. Diante da relevância econômica regional desse complexo portuário, que opera com um canal de acesso e uma bacia de evolução com um calado de 11 metros, há a necessidade de ampliar a capacidade operacional do complexo portuário, a fim de atender às novas especificidades e demandas internacionais de logística portuária. Assim, tendo em vista as novas orientações internacionais, a Secretaria Especial de Portos (SEP), cuja política é tornar os portos brasileiros cada vez mais eficientes e competitivos, aceitou o desafio de aumentar de 11 para 14 metros o atual calado do Porto de Itajaí - obra fundamental que beneficia ambos os empreendimentos, o Porto de Itajaí e o Portonave S/A - Terminal Portuário de Navegantes.

Em maio de 2011, foram iniciadas as atividades de aprofundamento do canal principal do rio a fim de permitir a entrada de navios de maior calado, aumentando o já intenso tráfego marítimo. A dragagem de sedimentos do leito do rio pode gerar a remobilização de poluentes acumulados ao longo do tempo nesse compartimento. Além disso, pode aumentar a biodisponibilidade destas na coluna d'água, assim como transferir uma carga de poluentes para outras regiões, onde naturalmente estes não chegariam (BRANCO; LUDNARDON-BRANCO; BELLOTTO, 2009).

Na literatura, existem poucos estudos sobre a caracterização do extrato orgânico em sedimentos do estuário do rio Itajaí-Açu. Bellotto, Kuroshima e Cecanho (2009) avaliaram hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) em sedimentos coletados em 2006 no estuário do rio Itajaí-Açu. Não foram encontrados vestígios de HPA nas amostras avaliadas. Oliveira e Madureira (2011) avaliaram as fontes de hidrocarbonetos não aromáticos nesse estuário e os resultados revelaram a predominância de hidrocarbonetos de origem aquática e terrestre, além da presença de hopanos e esteranos, característicos de óleos. No entanto, uma avaliação mais detalhada é necessária para verificar os possíveis

efeitos de dragagem nesse ambiente. Diante desse cenário, torna-se imprescindível avaliar a qualidade do sedimento superficial que estará sendo dragado, assim como obter informações relacionadas à sua origem e composição.

1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.2.1 ESTUÁRIOS E AS ATIVIDADES DE DRAGAGEM

Estuário pode ser definido como um corpo d'água costeiro semifechado que tem conexão aberta com o mar, sendo que a água do mar sofre significativa diluição devido à mistura com as águas doces provenientes desse corpo d'água. Dentre os sistemas marinhos, os estuários estão entre os mais complexos e dinâmicos, e têm grande importância por manter uma grande diversidade biológica (CAMPOS, 2010).

Estuários servem como receptores finais da matéria orgânica natural e antropogênica (MEDEIROS et al., 2005). Os contaminantes entram em ambientes estuarinos através de várias vias, especificamente de descarga direta de comunidades costeiras, descargas e despejos de navios, deposição atmosférica e fontes não pontuais de escoamento de terra. Os mais comuns resíduos antropogênicos eliminados em zonas costeiras são resíduos industriais e municipais, descarga de rios, lodo de esgoto e material dragado (KENNISH, 1992).

Grandes mudanças físicas, químicas e biológicas em estuários, rios e portos estão associadas à dragagem e à disposição do material dragado. Em estuários, a dragagem causa danos diretamente pela perturbação física envolvida na remoção e recolocação do sedimento. A ressuspensão dos sedimentos de fundo libera nutrientes e remobiliza contaminantes, afetando assim a qualidade da água e a química global do estuário. Esses contaminantes podem entrar na cadeia alimentar, onde representam um potencial risco para os organismos que vivem nos estuários, bem como para os seres humanos. Além disso, a remoção dos sedimentos de fundo destrói o habitat bentônico e a operação da draga aumenta a mortalidade dos bentos por lesão mecânica durante a dragagem (KENNISH, 1992).

1.2.2 GEOQUÍMICA DE AMBIENTES AQUÁTICOS

Solos e sedimentos marinhos superficiais incorporam as duas maiores e mais dinâmicas reservas de matéria orgânica na Terra (HEDGES; OADES, 1997). O sedimento é o compartimento do ecossistema onde se depositam todos os compostos e estruturas de animais e vegetais que não foram totalmente decompostos. Assim, ao longo da evolução de um sistema aquático, formam-se camadas no

sedimento, contendo compostos químicos e estruturas biológicas que representam as diferentes fases desse processo. A partir desses depósitos, torna-se possível interpretar o desenvolvimento histórico e as alterações tanto do ambiente como de suas comunidades. Devido a essas propriedades, o sedimento lacustre funciona como um verdadeiro banco de dados sobre o ecossistema (ESTEVES, 1998).

A matéria orgânica constitui a menor, porém a mais importante fração de sedimentos de lagos. É constituída de uma mistura complexa de lipídios, carboidratos, proteínas e outros compostos bioquímicos produzidos pelos diversos organismos que viveram anteriormente nos lagos (MEYERS; ISHIWATARI, 1993; MEYERS, 2003).

No ambiente marinho como um todo, a maioria dos detritos de matéria orgânica (em torno de 95%) é reciclada por organismos pelágicos (por exemplo, organismos nadadores ou flutuadores) dentro da superfície aquática. A pequena quantidade que alcança o sedimento é em grande parte reciclada pela comunidade bentônica, que vive no topo e dentro do sedimento. Qualquer detrito orgânico que sobrevive a essas condições pode ser preservado e incorporado ao sedimento (KILLOPS; KILLOPS, 2005).

A composição química da matéria orgânica de solos e sedimentos marinhos tem origem, basicamente, nas seguintes fontes: fitoplâncton, zooplâncton, bactérias, fungos e plantas superiores. Quanto à procedência da origem da MO, esta pode ser: autóctone, quando se origina na coluna d'água acima do sedimento ou no próprio sedimento onde está depositada a MO; ou alóctone, quando se origina fora do ambiente de deposição. A MO de origem alóctone pode se originar da redeposição de sedimento marinho após a erosão, muitas vezes de uma localização próxima, ou a partir dos continentes, por meio da ação dos ventos, rios e geleiras que transportam grandes quantidades de MO de origem terrestre para o oceano (SCHULZ; ZABEL, 2006; WOSZCZYK et al., 2011).

Entre as classes principais dos compostos detectados na MO, os lipídios destacam-se por apresentar maior resistência à degradação quando comparados às outras classes, além de também fornecer um diagnóstico do material depositado (MEYERS, ISHIWATARI, 1993). Os lipídios são definidos como a fração da matéria orgânica insolúvel em água, mas que pode ser isolada por extração com um solvente orgânico, como clorofórmio, hexano, tolueno e acetona (MC SWEEN JR; RICHARDSON; UHLE, 2003; MEYERS; ISHIWATARI, 1993).

1.2.3 BIOMARCADORES GEOQUÍMICOS

Biomarcadores (também denominados fósseis químicos ou marcadores moleculares) são compostos orgânicos que possuem estabilidade química e apresentam a estrutura química ligada intrinsecamente ao precursor biológico. Podem ocorrer em sedimentos, rochas e óleo cru. As estruturas básicas de biomarcadores permanecem inalteradas durante os processos que afetam os produtos da produção primária durante os primeiros estágios de deposição sob condições de baixa temperatura e pressão, denominados de diagênese, como também durante a sedimentação. A diagênese se refere às alterações físicas, químicas e biológicas da MO em sedimentos antes de mudanças significativas causadas pelo calor (tipicamente < 50 °C). (PHILP, 1985; KILLOPS; KILLOPS, 2005; PETERS; WALTERS; MOLDOVAN, 2005; SIMONEIT, 2004).

Biomarcadores são poderosas ferramentas em geoquímica orgânica e têm sido utilizados amplamente para a caracterização da natureza e distribuição da matéria orgânica em sistemas aquáticos, além de fornecer informações a respeito de mudanças paleoclimáticas e auxiliar na reconstrução histórica das condições de deposição em uma microrregião (PETERS; WALTERS; MOLDOVAN, 2005; SCHEFUB et al., 2004; ALEXANDRE; HUANG; MADUREIRA, 2006; CARREIRA et al., 2010). Dentre as classes de compostos que geram dados sobre a MO presente nos sedimentos, destacam-se os hidrocarbonetos, os esteróis e os ácidos graxos.

1.2.3.1 *n*-alcanos

Os alcanos normais são hidrocarbonetos saturados acíclicos, cuja cadeia é uma sucessão de átomos de carbono, unidos por ligações simples sem ramificações. São bons indicadores da origem da matéria orgânica em sedimentos, pois possuem menor suscetibilidade à degradação microbiana em relação a outros constituintes presentes na matéria orgânica (MEYERS; ISHIWATARI, 1993). São comumente utilizados para determinar fontes, processos de transporte e a contribuição de matéria orgânica terrestre para ambientes aquáticos (SILVA et al., 2012).

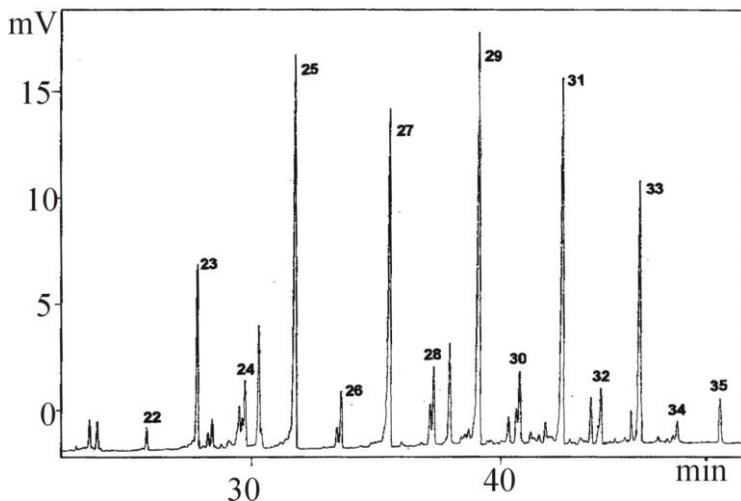
Os *n*-alcanos encontrados na natureza apresentam, principalmente, cadeias com número ímpar de átomos de carbono. Isso ocorre porque esses compostos são biossintetizados a partir de ácidos

graxos, pelo processo de descarboxilação enzimática (KILLOPS; KILLOPS, 2005).

Os *n*-alcanos de cadeias longas (C_{27} a C_{35}) com predominância de ímpares sobre os pares são os principais constituintes de ceras epicuticulares de plantas superiores, enquanto algas aquáticas produzem quantidades significativas de C_{15} , C_{17} e C_{19} (MEYERS, 2003; MILLE et al., 2006). Por outro lado, *n*-alcanos de petróleo revelam pouca ou nenhuma predominância de ímpares/pares na cadeia (VOLKMAN et al., 1992). Além disso, *n*-alcanos de cadeias médias (C_{20} a C_{25}) são dominantes em macrófitas aquáticas submersas (FICKEN et al., 2000), enquanto bactérias normalmente mostram a predominância de *n*-alcanos de cadeias pares, principalmente C_{18} e C_{20} (HARJI; YVENAT; BHOSLE, 2008).

Um perfil típico de hidrocarbonetos lineares encontrados em sedimentos não contaminados pode ser observado na Figura 1.1. Nota-se o predomínio dos alcanos lineares ímpares em relação aos demais compostos.

Figura 1.1. Cromatograma parcial de uma típica distribuição de hidrocarbonetos lineares presentes em sedimentos não contaminados por derivados de petróleo (KILLOPS; KILLOPS, 1993). Os números acima dos picos indicam a quantidade de átomos de carbono na série homóloga.



1.2.3.2 Cicloalcanos

Os cicloalcanos apresentam fórmula geral C_nH_{2n} e são constituídos de cadeias hidrocarbônicas cíclicas e saturadas. Dentre os cicloalcanos, uma categoria importante como marcador biológico é a dos terpenoides (KILLOPS; KILLOPS, 2005).

Os terpenoides são uma classe de lipídios que contêm grande diversidade de estruturas e funções, variando de voláteis (feromônios sexuais) a borrachas naturais. São biossintetizados a partir de unidades de acetato derivadas do metabolismo de ácidos graxos, carboidratos e alguns aminoácidos. Todos apresentam unidades isoprênicas (C_5), característica dessa classe, e são agrupados de acordo com o número dessas unidades em sua estrutura. De acordo com Killops; Killops (2005), monoterpênicos apresentam duas unidades de isopreno; sesquiterpenoides, três; diterpenoides, quatro; sesterpenoides, cinco; triterpenoides, seis; tetraterpenoides, oito; e politerpenoides contêm um grande número dessas unidades, como, por exemplo, na borracha natural.

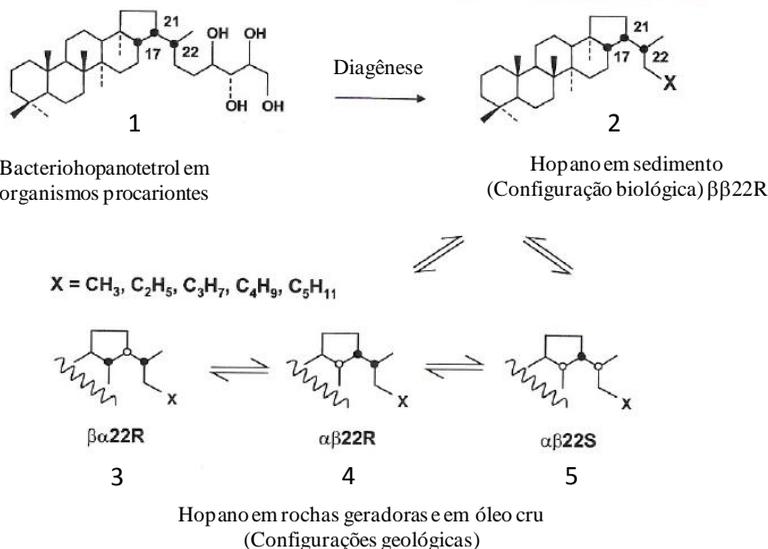
Uma classe de triterpenoides que tem grande impacto na geoquímica, assim como na exploração de petróleo e na arqueologia, são os hopanos (OURISSON; ALBRECHT, 1992). Hopanos são triterpanos pentacíclicos, comumente contendo cadeias que variam de C_{27} a C_{35} . Os hopanos com mais de 30 átomos de carbono são chamados homo-hopanos (o prefixo homo se refere à adição de grupos CH_2 à cadeia lateral ligada ao carbono 21 da molécula de hopano). Os homo-hopanos apresentam normalmente cadeias laterais longas contendo um átomo de carbono assimétrico, gerando uma série de homo-hopanos com seus respectivos epímeros 22R e 22S (PETERS; MOLDOWAN, 1993).

Os triterpenoides pentacíclicos, incluindo os precursores dos hopanos, ocorrem em procariontes e plantas superiores, mas parecem ser ausentes em algas eucarióticas. Hopanos são componentes essenciais em membranas celulares de muitas bactérias e são ubíquos biomarcadores em óleos e extratos de rochas (MOLDOWAN; MC CAFREY, 1995; PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005).

Os hopanos existem como estereoisômeros nas configurações α/β e/ou R/S, que possuem diferente estabilidade termodinâmica. O hopano de estereoquímica $\beta\beta$ ocorre em organismos vivos e em xistos antigos que sofreram pequeno estresse térmico, sendo encontrado apenas na configuração R. Durante o processo de sedimentação, com o aumento da profundidade e da temperatura, o hopano de estereoquímica

$17\beta(H)21\beta(H)$, termodinamicamente instável, é convertido principalmente para o isômero $17\alpha(H)21\beta(H)$, mais estável e que não ocorre em seres vivos (Figura 1.2) (PHILP, 1985; SEIFERT; MOLDOVAN, 1980; DAMSTÉ et al., 1995; MACKENZIE; PATIENCE; MAXWELL, 1980).

Figura 1.2. Muitos hopanos em petróleo se originam do bacteriohopanotetrol (1), encontrado nas membranas celulares de organismos procariontes. A configuração biológica imposta no bacteriohopanotetrol e em seu produto saturado (2) por enzimas nos organismos é instável durante a catagênese e sofre isomerização para as configurações geológicas (por exemplo, em 3, 4 e 5).
Fonte: Modificado a partir de PETERS; WALTERS; MOLDOVAN, 2005.



1.2.3.3 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) são uma classe de compostos orgânicos que consistem de dois ou mais anéis aromáticos condensados. Os HPA mais comumente encontrados no ambiente contêm de 2 (naftaleno) a 7 anéis benzênicos (coroneno) fundidos, embora HPA com maior número de anéis também sejam encontrados. Os HPA ocorrem frequentemente com hidrocarbonetos alifáticos (cadeia linear) ligados aos anéis em um ou mais pontos. Esses compostos são referidos como HPA alquilados. Devido às numerosas combinações

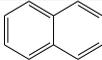
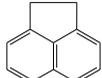
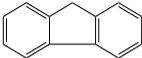
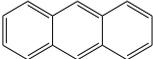
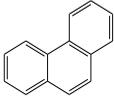
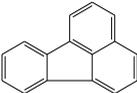
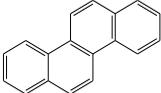
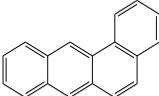
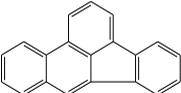
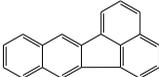
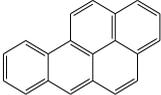
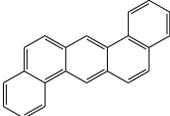
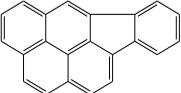
possíveis de localização e número de cadeias alquílicas, esses compostos são frequentemente classificados pelo número de carbonos alquílicos que contêm. Assim, metilnaftaleno é descrito como C1-naftaleno, enquanto etilpireno é descrito como C2-pireno (MORRISON; MURPHY, 2006).

Os HPA estão entre os compostos mais carcinogênicos, tóxicos e mutagênicos encontrados em estuários. Devido a sua baixa solubilidade em água e hidrofobicidade, tendem a se associar com o material particulado que se encontra em suspensão nos ambientes aquáticos e a serem depositados nos sedimentos, onde a degradação de HPA de alta massa molar é particularmente lenta, sendo posteriormente transferidos para a biota (BAUMARD et al., 1998; VENTURINI; TOMMASI, 2004; SIMCIK; OFFENBERG, 2005; GUO et al., 2011). Por apresentarem essas características e serem recalcitrantes no ambiente (KENNISH, 1992; SIMCIK; OFFENBERG, 2005), esses compostos foram incluídos na lista dos contaminantes orgânicos prioritários por organizações mundiais como a USEPA (Tabela 1.1).

As fontes desses compostos em sedimentos incluem efluentes industriais e urbanos, derramamentos de petróleo, queima de combustíveis fósseis e incêndios florestais. Descargas diretas, escoamento superficial urbano e agrícola e o fluxo de águas subterrâneas fornecem significativas quantidades de HPA em ambientes aquáticos (KENNISH, 1992).

Os HPA são produzidos por processos naturais e antropogênicos. Não ocorrem naturalmente em organismos, mas, ainda assim, são amplamente encontrados em solos, águas e sedimentos. São obtidos pela alteração da matéria orgânica, segundo os processos de: (a) modificação microbiana dos precursores biogênicos pouco depois da deposição sedimentar, (b) diagênese à baixa temperatura por períodos longos da era geológica, ou (c) rearranjos a altas temperaturas dos produtos da combustão da matéria orgânica, formando moléculas aromáticas polinucleares. Quase todas as moléculas de HPA têm origem em um desses três processos, o que torna esses compostos úteis como indicadores dos processos geoquímicos de transformação nos sedimentos (MEYERS, 2003). As fontes naturais de HPA em sedimentos, tais como biossíntese e diagênese da matéria orgânica em sedimentos, são pequenas se comparadas às fontes antropogênicas (KENNISH, 1992).

Tabela 1.1. Estruturas químicas dos 16 HPA considerados poluentes prioritários pela USEPA

<i>Nomenclatura (IUPAC)</i>	<i>Estrutura</i>	<i>Nomenclatura (IUPAC)</i>	<i>Estrutura</i>
Naftaleno		Acenaftileno	
Acenafteno		Fluoreno	
Antraceno		Fenantreno	
Fluoranteno		Pireno	
Criseno		Benzo(a)antraceno	
Benzo(b)fluoranteno		Benzo(k)fluoranteno	
Benzo(a)pireno		Dibenzo(a,h) antraceno	
Benzo(g,h,i)perileno		Indeno(1,2,3- cd)pireno	

Fonte: SIMCIK; OFFENBERG, 2005

Entre as fontes de HPA, as principais são de origem pirolítica e petrogênica. A origem pirolítica está relacionada majoritariamente à combustão incompleta da matéria orgânica, como madeira e combustíveis fósseis, enquanto fontes petrogênicas estão relacionadas aos processos de exploração, armazenamento, transporte e consumo de petróleo, além do descarte de efluentes industriais e urbanos (MORRISON, MURPHY, 2006; READMAN et al., 2002; YUNKER et al., 2002).

As diferentes fontes de HPA (pirolítica, petrogênica e diagenética) dão origem a diferentes características e, assim, é possível estimar os principais processos que geraram esses compostos (MOSTAFA et al., 2009). Os processos diagenéticos produzem relativamente poucos HPA, sendo o mais notável o perileno. A diagênese da matéria orgânica derivada de diatomáceas e plantas é considerada a principal fonte de perileno em sedimentos marinhos anóxicos (MORRISON; MURPHY, 2006). Por outro lado, as alterações da matéria orgânica em baixa temperatura, tal como na formação de combustíveis fósseis, resultam em HPA com 2 a 3 anéis aromáticos e numa alta proporção de homólogos alquilados. Por outro lado, a combustão em altas temperaturas produz HPA com 4 a 6 anéis aromáticos e uma quantidade mínima de homólogos alquilados. Dessa forma, HPA de origem pirolítica são preferencialmente os compostos de elevada massa molar, sem derivados alquilados; enquanto fontes petrogênicas apresentam maiores quantidades de HPA alquilados em relação aos não alquilados, e seus compostos geralmente são de baixa massa molar (READMAN et al., 2002; KILLOPS; KILLOPS, 2005).

1.2.3.4 Esteróis

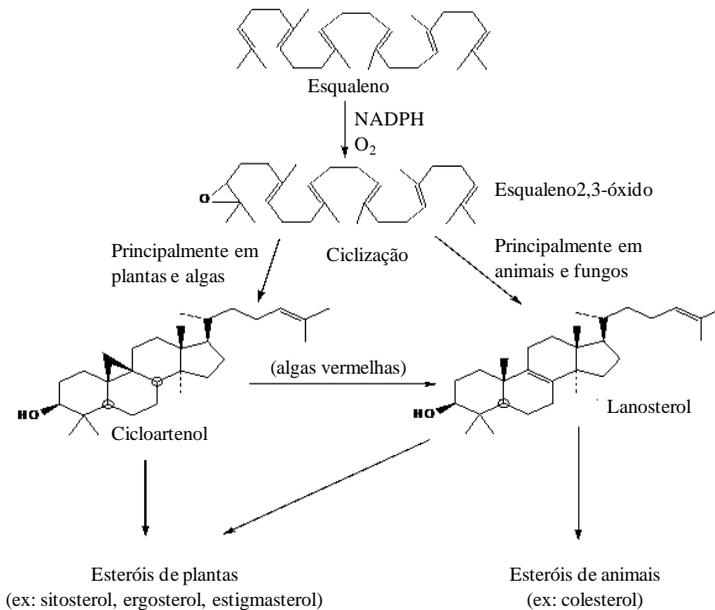
A elevada concentração populacional em zonas costeiras, aliada à falta de infraestrutura para coleta, tratamento e disposição final de esgotos domésticos, resulta no lançamento desses efluentes diretamente nos corpos d'água localizados na zona de transição continente-oceano, ocasionando prejuízos para a qualidade da água e dos sedimentos, com reflexos sobre a saúde humana (ARAÚJO; COSTA; CARREIRA, 2011).

A contaminação por esgoto pode ser avaliada por marcadores microbiológicos e químicos. As bactérias do grupo dos coliformes foram utilizadas como indicadores da contaminação por esgoto durante muitas décadas. Esses marcadores microbiológicos foram utilizados amplamente devido ao fato de que o método de quantificação é

relativamente simples e rápido. No entanto, esse método apresenta algumas limitações importantes, como a rápida biodegradação dos marcadores microbiológicos no ambiente marinho. Uma alternativa para contornar esse problema é a utilização de marcadores químicos, como os esteróis, menos susceptíveis às mudanças ambientais do que as bactérias (ADNAN et al., 2012; ARAÚJO; COSTA; CARREIRA, 2011; PENG et al., 2005).

A formação de compostos esteroidais resulta da redução enzimática do esqualeno, seguida pela ciclização. Esta produz o cicloartenol, precursor de muitos esteróis de plantas, ou o lanosterol, precursor de esteróis de animais, fungos e algumas plantas. A oxidação enzimática e a descarboxilação convertem o lanosterol (C_{30}) em colesterol (C_{27}), precursor de todos os outros esteróis animais (Figura 1.3).

Figura 1.3. Biossíntese de esteróis a partir do esqualeno. Modificado a partir de KILLOPS; KILLOPS, 1993.



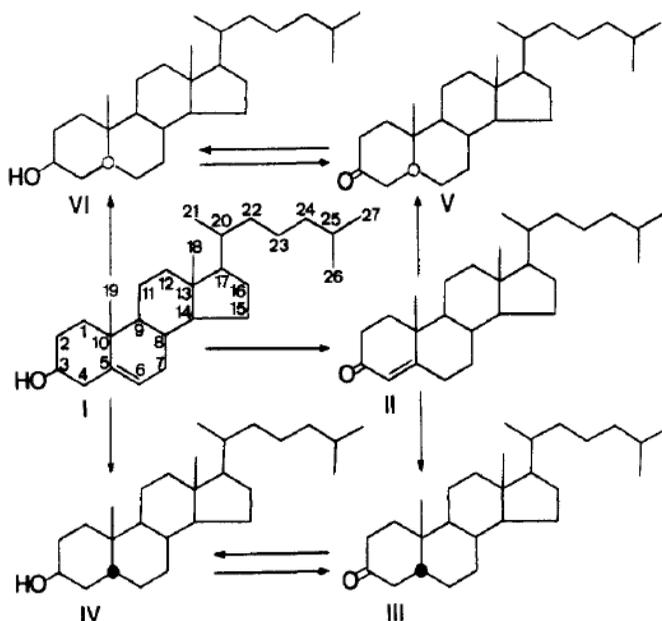
Os esteróis são amplamente utilizados como indicadores da poluição por esgoto (CARREIRA; WAGENER; READMAN, 2004; PENG et al., 2005; WU et al., 2009; ADNAN et al., 2012; SOJINU et al., 2012) . Devido a sua natureza hidrofóbica, tendem a se ligar ao material orgânico. Eles podem ser facilmente incorporados aos sedimentos, onde são bem preservados, o que viabiliza a sua determinação (BIACHE; PHILP, 2013; MACHADO et al., 2014).

Coprostanol e epicoprostanol, denominados esteróis fecais, são os esteróis mais citados em estudos de determinação da contaminação por esgotos, visto que estão associados diretamente ao material fecal (MARTINS et al., 2008).

O coprostanol é relativamente estável e bem preservado sob condições anaeróbicas, tornando-se um bom indicador da acumulação a longo prazo de esgoto em sedimentos (CARREIRA; WAGENER; READMAN, 2004). É um esteroide formado no sistema digestivo de mamíferos, a partir da redução bacteriana que promove a hidrogenação direta do colesterol (Figura 1.4), sendo eliminado nas fezes desses animais. Por representar de 40% a 60% dos esteróis fecais totais excretados nas fezes humanas, é amplamente utilizado para avaliar o aporte de esgotos domésticos para ambientes aquáticos (RIBEIRO; KNOPPERS; CARREIRA, 2011; PUERARI et al., 2012). Outras fontes minoritárias de coprostanol derivam da produção *in situ* devido à degradação diagenética em sedimentos anóxicos (CARREIRA et al., 2001; TOLOSA; MESA; ALONSO-HERNANDEZ, 2014).

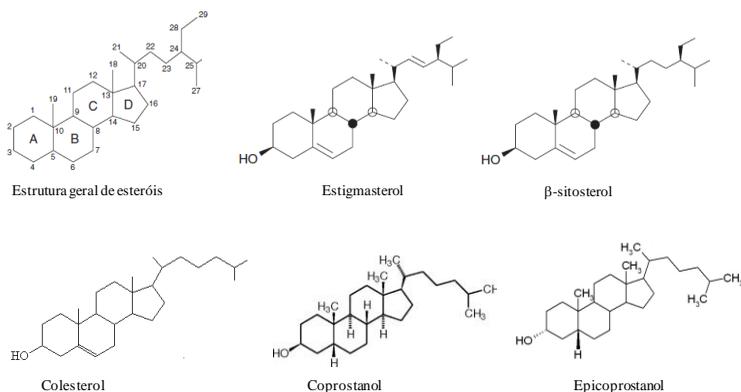
O epicoprostanol é um constituinte minoritário de fezes humanas, sendo encontrado em baixíssimas concentrações. No entanto, pode ser produzido durante o extensivo tratamento de esgoto, sendo geralmente utilizado como um indicador do grau de tratamento de esgoto antes do descarte (MONTONE et al., 2010; PUERARI et al., 2012; TOLOSA; MESA; ALONSO-HERNANDEZ, 2014). A presença de traços de epicoprostanol, desde que haja concentrações altas de coprostanol, sugere uma possível contaminação dos sedimentos por esgoto (MARTINS et al., 2008).

Figura 1.4. Transformações do colesterol. (I) colesterol; (II) colestenoa; (III) colestanoa (5β -colestan-3-ona); (IV) coprostanol; (V) colestanoa (5α -colestan-3-ona) e (VI) colestanol. Fonte: GRIMALT, 1990.



Sedimentos não contaminados por esgoto podem apresentar os seguintes esteróis naturais: dinosterol, colesterol, campesterol, sitosterol, colestanol, entre outros (MARTINS et al., 2008). Os principais esteróis encontrados em plantas superiores são o estigmasterol, o β -sitosterol e o campesterol. Em organismos fotossintetizantes, os principais esteróis são referidos como fitoesteróis e incluem o principal esteroide de plantas superiores, estigmasterol, e brassicasterol, um esteroide abundante em diatomáceas (KILLOPS; KILLOPS, 2005). O dinosterol é tipicamente encontrado em dinoflagelados e a ocorrência desse esteroide e de seus produtos diagenéticos (por exemplo, dinosteranos) em sedimentos é geralmente aceita como um marcador para a produtividade de dinoflagelados. No entanto, o dinosterol também tem sido encontrado em algumas espécies de diatomáceas e em plantas aquáticas submersas (RAMPEN et al., 2009). A Figura 1.5 apresenta a estrutura geral de esteróis e de alguns esteróis geoquimicamente importantes.

Figura 1.5. Estrutura geral de esteróis e de alguns esteróis geoquimicamente importantes. Modificado a partir de KILLOPS; KILLOPS, 2005.



Devido às múltiplas fontes que alguns esteróis apresentam, para avaliar se um ambiente está contaminado por esgoto é necessário considerar as razões e as concentrações de diferentes compostos para distinguir quais são de fontes fecais e quais são de fontes biogênica e diagenética (MARTINS et al., 2008; TOLOSA; MESA; ALONSO-HERNANDEZ, 2014).

1.2.3.5 Ácidos graxos

Ácidos graxos são ubíquos em organismos vivos e, frequentemente, a classe de lipídios mais abundante em sedimentos recentes. As fontes desses compostos incluem bactérias, fungos, microalgas, plantas vasculares e fauna marinha; cada uma apresentando um perfil de ácidos graxos distinto (VOLKMAN et al., 1998; KRISTENSEN et al., 2008).

Os ácidos graxos encontrados na natureza apresentam, predominantemente, número par de átomos de carbono, pois são sintetizados bioquimicamente a partir de unidades de acetil (C_2) (KILLOPS; KILLOPS, 2005).

Os ácidos graxos possuem tipicamente cadeias com 12 a 36 átomos de carbono. Em animais, encontram-se principalmente com cadeias alquílicas saturadas, enquanto nas plantas prevalecem os insaturados e os poli-insaturados. Nos animais, predominam os de cadeia saturada C_{16} e C_{18} , enquanto o mais abundante nas plantas é o

C₁₈, nas formas mono, di e tri-insaturada. Ácidos poli-insaturados são mais comuns em algas do que em plantas superiores (KILLOPS; KILLOPS, 2005).

Uma característica comum da distribuição de ácidos graxos em sedimentos é a presença de cadeia saturada entre C₂₀-C₃₀, com forte predominância de cadeias pares. Em muitos sedimentos, principalmente de ambientes lacustres, eles derivam provavelmente de cera e plantas superiores. Entretanto, estudos mostram que microalgas e bactérias também podem produzir esses ácidos, embora em menor quantidade (tipicamente 2%) em relação aos ácidos de cadeias entre C₁₄-C₂₀ (VOLKMAN et al., 1998).

1.2.3.6 Razões relacionadas aos biomarcadores geoquímicos

Diversos parâmetros além da concentração absoluta dos biomarcadores devem ser analisados para avaliar a provável origem desses compostos (antropogênica ou biogênica), devido à alta complexidade das amostras (COMMENDATORE; ESTEVES, 2004).

A razão C/N (Carbono/Nitrogênio) é muito útil para diferenciar as fontes da MO em estuários, uma vez que organismos marinhos são enriquecidos com nitrogênio, apresentando valores para essa razão entre 4 e 10, enquanto plantas terrestres apresentam valor para C/N maiores que 20. Essa diferença pode ser atribuída à ausência de celulose em algas e a sua abundância em plantas vasculares e ao fato de que algas são ricas em proteínas (JAFFÉ et al., 2001; MEYERS, 2003; SCHULZ; ZABEL, 2006; PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005).

O Índice Preferencial de Carbono (IPC), introduzido por Bray e Evans (1961), fornece uma boa estimativa da extensão com que materiais terrestres se encontram fossilizados em diversos ambientes. O índice é calculado com base na razão das concentrações dos hidrocarbonetos lineares ímpares pelos pares (Equação 1). Para os vegetais terrestres, os valores típicos de IPC podem variar de 2 a 40. Entretanto, o valor de IPC fica bem próximo da unidade quando são analisadas amostras de regiões contaminadas por petróleo. Além disso, valores de IPC próximos a 1 podem indicar o aporte de micro-organismos e/ou matéria orgânica reciclada (MADUREIRA, 2002; JENG, 2006).

$$IPC_{ALC} = \frac{2(\sum_{\text{ímpares}} C_{23} a C_{31})}{[\sum_{\text{pares}} (C_{22} a C_{30}) + \sum_{\text{pares}} (C_{24} a C_{32})]} \quad (\text{Equação 1})$$

Outro índice utilizado para a averiguação da fonte de hidrocarbonetos é o RTA (razão entre a abundância de compostos de origem terrestre e aquática), proposto por Bourbonniere e Meyers (1996). O RTA é calculado pela razão entre a concentração de hidrocarbonetos lineares característicos de fontes terrestres e a concentração dos hidrocarbonetos lineares característicos de fontes aquáticas (Equação 2). Assim, quando $RTA > 1$, predomina a matéria orgânica de origem terrestre, enquanto se $RTA < 1$, a matéria orgânica pode ser considerada predominantemente de origem aquática (BOURBONNIERE; MEYERS, 1996).

$$RTA_{ALC} = \frac{(C_{27} + C_{29} + C_{31})}{(C_{15} + C_{17} + C_{19})} \quad (\text{Equação 2})$$

Para diferenciar os HPA de fontes como combustão e petróleo, os HPA de massa molar 178 (Fenantreno/Antraceno) e 202 (Fluoranteno/Pireno) são os mais empregados. Para a massa molar 178, utiliza-se a razão Antraceno / (Antraceno + Fenantreno), sendo que valores menores que 0,10 geralmente indicam como fonte o petróleo e valores maiores que 0,10 são indicativos de origem de combustão. Utiliza-se também a razão Fenantreno/Antraceno, em que valores menores que 10 indicam origem pirolítica e valores maiores que 15 sugerem origem petrogênica. Para a massa molar 202, utiliza-se a razão Fluoranteno / (Fluoranteno + Pireno) e o valor de 0,5 para essa razão é geralmente o ponto de transição para petróleo/combustão. Valores acima de 0,5 indicam combustão de madeira, carvão ou plantas, enquanto valores inferiores a 0,4 sugerem origem petrogênica e valores entre 0,4 e 0,5 são indicativos de queima de combustíveis fósseis (BAUMARD et al., 1998; YUNKER et al., 2002).

A distribuição de HPA alquilados em relação ao parental também é útil na discriminação da origem desses compostos. Para a razão MetilFenantrenos / Fenantreno valores menores que 2 indicam fontes pirolíticas, enquanto valores maiores que 2 indicam fontes petrogênicas. De forma análoga, pode ser utilizada a razão

MetilNaftalenos / Naftaleno (BAUMARD et al., 1998; MILLE et al., 2007; ZAGHDEN et al., 2007).

Para avaliar a contaminação por esgoto, algumas razões também foram propostas. Para a razão coprostanol / colesterol, valores menores que 1 são reportados para indicar a origem biogênica, enquanto valores maiores que 1 indicam fonte de esgoto (PENG et al., 2005). Grimalt e colaboradores (1990) propuseram a razão $5\beta/(5\alpha+5\beta)$ estanol, na qual valores acima de 0,7 são atribuídos a áreas contaminadas por esgoto, enquanto valores menores que 0,3 são indicativos de ambientes não poluídos. 5α estanois são preferencialmente gerados no processo de redução de esteróis devido a sua alta estabilidade termodinâmica quando comparados aos epímeros 5β . Por outro lado, 5β estanois são dominantes em lodo de esgoto e não ocorrem naturalmente em águas marinhas e sedimentos aeróbicos (FERNANDES et al., 1999; TOLOSA; MESA; ALONSO-HERNANDEZ, 2014).

1.2.4 TÉCNICAS EMPREGADAS NA DETERMINAÇÃO DE BIOMARCADORES GEOQUÍMICOS

Entre as técnicas mais utilizadas na determinação de biomarcadores geoquímicos estão a cromatografia gasosa com detecção por ionização em chama, e a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (MILLE et al., 2006; MAIOLI et al., 2011; OLIVEIRA; MADUREIRA, 2011).

A espectrometria de massas é sem dúvida uma das mais versáteis técnicas disponíveis nos dias atuais, encontrando aplicações em praticamente todas as áreas da química (ex: orgânica, inorgânica, físico-química e analítica), assim como na biologia, medicina e ciência de materiais. Essa técnica permite obter informações qualitativas e quantitativas sobre materiais orgânicos e inorgânicos, incluindo estrutura molecular e composição de misturas complexas (BARCELÓ, 2006).

Diversos métodos de ionização estão disponíveis e podem ser utilizados em espectrometria de massas. Entre os métodos clássicos, estão a ionização por impacto de elétrons e a ionização química; enquanto os métodos modernos incluem ionização por electrospray, ionização e dessorção a laser assistida por matriz, entre outros (COLE, 2010).

A hifenação da espectrometria de massas com cromatografia líquida e gasosa se tornou uma história de sucesso em instrumentação analítica, cobrindo uma grande variedade de aplicações, desde análises rotineiras de controle de qualidade a análises confirmatórias de impacto legal (HÜBSCHMANN, 2009).

Em um sistema de GC-MS, os métodos de ionização mais empregados são ionização por impacto de elétrons e ionização química. Na ionização por impacto de elétrons, o analito, em fase gasosa, é bombardeado com elétrons de alta energia (geralmente 70 eV). As moléculas do analito absorvem essa energia desencadeando vários processos, dentre os quais o mais simples é aquele em que o analito é ionizado pela remoção de um único elétron. Esse processo requer tipicamente 10 eV e o restante da energia gera a fragmentação dos analitos. Isso consiste em um dos maiores problemas encontrados nessa técnica de ionização, pois a fragmentação rápida pode conduzir a não observação do íon molecular no espectro, perdendo-se, portanto, uma das mais importantes informações analíticas oferecidas pela espectrometria de massas (CHARADIA; COLLINS; JARDIM, 2008; SKOOG et al., 2006).

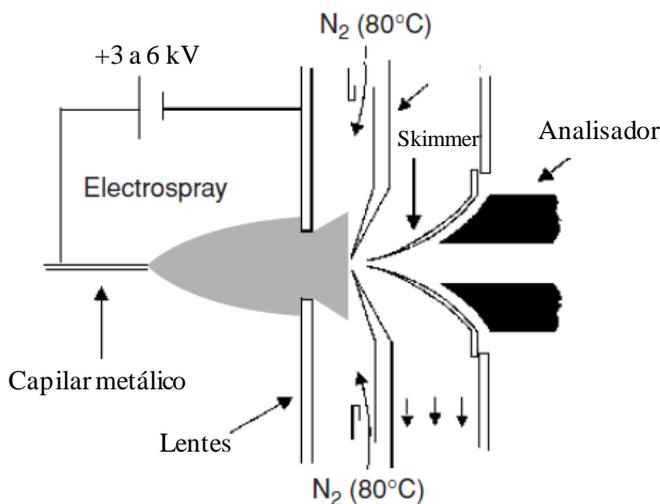
A cromatografia líquida de alta eficiência é uma importante técnica de separação, uma vez que consegue separar misturas que contêm um grande número de compostos similares. Essa técnica requer somente que a amostra seja solúvel na fase móvel, permitindo a separação de compostos termicamente instáveis por ser feita a baixas temperaturas (CHARADIA; COLLINS; JARDIM, 2008). A cromatografia líquida de alta eficiência começou a ser aplicada na determinação de esteróis em estudos recentes (LEE et al., 2012).

Em sistemas de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas, são comuns os métodos de ionização por electrospray (ESI) e ionização química à pressão atmosférica (APCI). A ionização por electrospray é um método no qual o soluto presente em uma solução pode ser transferido para a fase gasosa como íons. Pode ser utilizada para a análise de proteínas, polímeros e ácidos nucleicos de alta massa molar, assim como para moléculas polares de baixa massa molar (COLE, 2010).

Em ESI, o líquido no qual o analito se encontra dissolvido (na fase móvel, no caso da cromatografia líquida de alta eficiência) passa através de um capilar, à pressão atmosférica, mantido sob alta voltagem. Na saída do capilar, são formadas pequenas gotas altamente carregadas (“*spray*”) que são dessolvatadas ao se deslocarem em sentido contrário ao posicionamento de um eletrodo em uma região de pressão

atmosférica. A dessolvatação é assistida por um fluxo contínuo de gás seco (usualmente N_2) na região do *spray*. À medida que ocorre a dessolvatação, o tamanho das gotas é reduzido até o ponto em que a força de repulsão entre as cargas similares fica maior que as forças de coesão da fase líquida. Nesse momento, ocorre a chamada “exclusão coulômbica”, que gera gotas com tamanhos equivalentes a 10% do tamanho das gotas a partir das quais se originaram. Uma série de explosões passa a ocorrer, até que são produzidos íons do analito a partir dessas gotas, os quais são transferidos para o interior do espectrômetro de massas por uma série de dispositivos de focalização. (CHARADIA; COLLINS; JARDIM, 2008). Um esquema de uma fonte de ESI é ilustrado na Figura 1.6.

Figura 1.6. Esquema de uma fonte de ionização por electrospray. Modificado a partir de Hoffmann e Stroobant, 2007.



A ionização química à pressão atmosférica (APCI) é uma técnica que utiliza reações íon-molécula em fase gasosa sob pressão atmosférica para ionizar o analito. É um método semelhante à ionização química (CI), onde os íons primários são produzidos por descarga corona em um spray do solvente. APCI é aplicada tanto para compostos polares como para compostos de baixa polaridade, com peso molecular

de até 1500 Da, e produz íons geralmente monocarregados. A solução contendo o analito é inserida em um nebulizador pneumático, onde é convertida em uma névoa fina por um jato de nitrogênio em alta velocidade. As gotículas são então deslocadas pelo fluxo de gás para um tubo de quartzo aquecido, denominado câmara de dessolvatação/vaporização. O calor transferido para as gotas pulverizadas permite a vaporização da fase móvel e da amostra. A temperatura dessa câmara é controlada, o que torna as condições de vaporização independentes do fluxo e da natureza da fase móvel. O gás quente (120 °C) e as moléculas de analito vaporizadas deixam a câmara e após a dessolvatação são direcionados para a região da descarga corona, onde a ionização ocorre. Os processos que resultam na ionização em APCI são semelhantes aos processos que ocorrem na ionização química (CI), contudo, ocorrem sob pressão atmosférica. No modo positivo, tanto a transferência de prótons como a formação de adutos do gás reagente podem ocorrer para produzir íons de espécies moleculares, dependendo da afinidade relativa de prótons entre as espécies reagentes e as moléculas do analito em fase gasosa. No modo negativo, os íons das espécies moleculares são produzidos por abstração do próton ou formação de adutos (HOFFMANN; STROOBANT, 2007). Tanto em ESI como em APCI ocorre a denominada ionização suave, pois a energia empregada nessas fontes de ionização não é suficiente para gerar uma fragmentação significativa das moléculas do analito (CHARADIA; COLLINS; JARDIM, 2008).

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a qualidade dos sedimentos superficiais do estuário do rio Itajaí-Açu por meio da determinação de biomarcadores geoquímicos.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Determinar a granulometria das amostras de sedimento para avaliar o comportamento da matéria orgânica quando incorporada ao sedimento;
- ✓ Obter informações sobre a origem da matéria orgânica sedimentada por meio da razão C/N;
- ✓ Analisar, por meio de cromatografia líquida e gasosa, os principais grupos de compostos orgânicos, caracterizados como biomarcadores geoquímicos, presentes nas amostras de sedimento do estuário do rio Itajaí-Açu, tais como: hidrocarbonetos alifáticos, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, esteróis e ácidos graxos;
- ✓ Avaliar a existência de contaminação por derivados de petróleo por meio da distribuição de hopanos;
- ✓ Avaliar a existência de contaminação por esgoto doméstico por meio da análise de esteróis fecais e comparar os resultados obtidos aos de outros ambientes, a fim de mensurar a significância relativa de contaminação fecal;
- ✓ Obter índices e razões baseados na distribuição dos compostos orgânicos que contribuam na avaliação de suas origens.

1.4 MATERIAIS E MÉTODOS

1.4.1 ÁREA DE ESTUDO

O estuário do rio Itajaí-Açu está localizado no litoral centro-norte de Santa Catarina, entre as cidades de Itajaí e Navegantes e apresenta uma extensão aproximada de 70 km (SCHETTINI, 2002). Sua bacia hidrográfica corresponde a uma área de 15.500 km² (PEREIRA FILHO; SPILLERE; SCHETTINI, 2003), representando a maior bacia hidrográfica do Estado (Figura 1.7).

Esse sistema estuarino apresenta grande importância econômica regional, pois nele estão localizados os portos de Itajaí e Navegantes. O Complexo Portuário de Itajaí está situado em um dos principais entroncamentos rodoviários do Sul do Brasil, distante poucos quilômetros das rodovias BR 101 e BR 470. A posição geográfica o coloca no centro da região Sul. Essa característica o torna um núcleo concentrador e distribuidor de cargas, o que possibilita o atendimento dos mercados exportadores e importadores de 21 estados brasileiros e do Distrito Federal. É considerado a principal via de transporte marítimo do Estado, além de ser o maior complexo portuário de desembarque pesqueiro do país (www.portoitajai.com.br). Associadas a esse desembarque, várias indústrias de processamento de pescado estão instaladas às margens do estuário, principalmente no município de Itajaí. Esse tipo de indústria lança seus dejetos, em geral isentos de qualquer forma de tratamento, diretamente no estuário (PEREIRA FILHO; SPILLERE; SCHETTINI, 2003).

O Terminal Portuário de Navegantes (Figura 1.8) veio somar-se à forte estrutura portuária do Estado, sendo inaugurado em 2007. Está localizado na cidade de Navegantes e apresenta uma infraestrutura completa para a movimentação de cargas em contêiner. Atualmente, possui três berços de atracação, com uma profundidade do canal de 11,3 m. O grande destaque desse terminal são as cargas “reefers” (contêineres de carne refrigerada), que representam cerca de 50% da movimentação, além da exportação de madeira e tabaco (<http://www.portonave.com.br/>).

Figura 1.7. Vista aérea do Porto de Itajaí. Disponível em: <http://portosemmisterio.com.br/wpcontent/uploads/2012/11/PortodeItaja%C3%AD-FI%C3%A1vio-Berger.jpg>. Acesso em fevereiro de 2013.



Figura 1.8. Vista do Terminal Portuário de Navegantes. Disponível em: <http://turismo.sc.gov.br/institucional/index.php/pt-br/multimedia/fotos/54-costa-verde-e-mar-navegantes/detalh/427-vista-do-porto-de-navegantes-a-direita-e-a-esquerda-itajai-rio-itajai-acu-navegantes1838?tmpl=component>. Acesso em agosto de 2014.



1.4.2 COLETA DAS AMOSTRAS

Doze amostras de sedimentos superficiais foram coletadas ao longo do estuário do rio Itajaí-Açu (Figura 1.9) com o auxílio de um amostrador do tipo Van Veen (interface com água; 0 a 10 cm de profundidade), sobre uma coluna d'água de 2 a 15 m. A Tabela 1.2 mostra a latitude, a longitude e a descrição dos pontos de amostragem. As estações 10 e 11 referem-se a pontos de descarga de material dragado, sendo assim chamados de Bota fora, enquanto a estação 12 é considerada um ponto de controle, onde não é esperado encontrar contaminação.

As amostras de sedimentos coletadas foram transferidas para frascos de vidro previamente calcinados. Em seguida, armazenadas em caixa térmica, cobertas com gelo e levadas para o laboratório, onde foram estocadas no congelador a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento da análise.

Figura 1.9. Mapa da área de estudo indicando os pontos de coleta de amostragem no estuário do rio Itajaí-Açu.

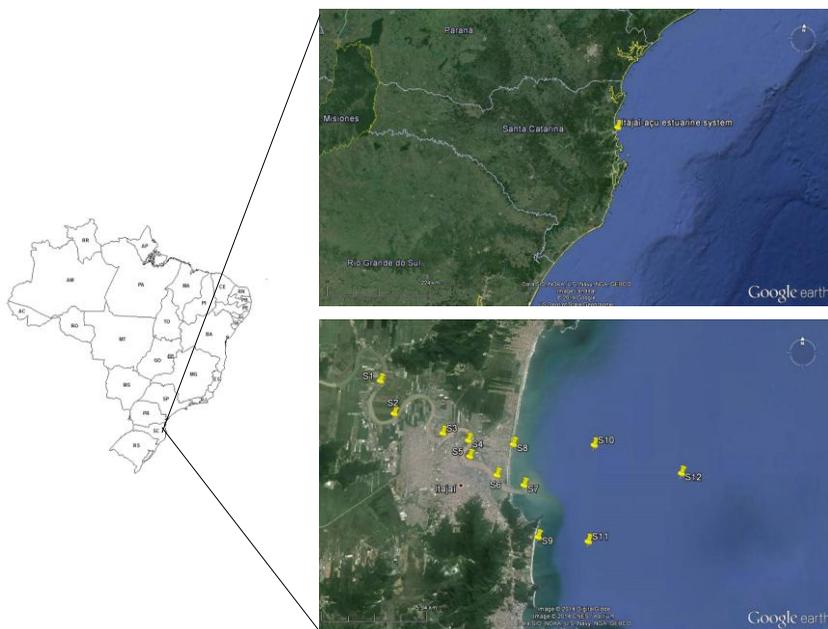


Tabela 1.2. Identificação e posição geográfica das estações de amostragem

Pontos amostrais	Descrição	Latitude	Longitude
#1	Estaleiro Detroit	26°51'30.27''	48°43'17.75''
#2	TEPORTI	26°52'33.48''	48°42'45.40''
#3	Desembocadura Itajaí-Mirim	26°53'11.38''	48°40'59.80''
#4	Estaleiro Itajaí S/A	26°53'25.51''	48°40'04.62''
#5	Porto de Itajaí	26°53'55.34''	48°40'01.13''
#6	Pier CEPESUL/IBAMA	26°54'30.57''	48°39'02.65''
#7	Molhe Sul	26°54'49.56''	48°38'05.20''
#8	Praia de Navegantes	26°53'33.42''	48°38'28.27''
#9	Praia Brava	26°56'24.29''	48°37'35.31''
#10	Bota fora Navegantes	26°53'36.00''	48°35'35.00''
#11	Bota fora Brava	26°56'33.00''	48°35'50.00''
#12	Controle Largo	26°54'30.10''	48°32'30.10''

1.4.3 PREPARO DAS AMOSTRAS

As amostras de sedimento foram liofilizadas e uma fração de cada foi submetida à análise granulométrica. Após a liofilização, as amostras foram maceradas em gral e pistilo de porcelana, peneiradas em malha de 250 μm e acondicionadas em frascos de alumínio previamente calcinados, sendo posteriormente armazenadas em congelador até a realização das extrações. A liofilização das amostras foi escolhida porque os compostos orgânicos permanecem estáveis no sedimento. Somente a fração fina foi analisada, levando em consideração que as espécies orgânicas são fortemente ligadas com a fração de partículas finas de sedimento (ABALOS et al., 1997). Quanto menor o tamanho do grão, maior tende a ser a quantidade de matéria orgânica presente. As argilas são excelentes adsorventes, enquanto a areia, sendo constituída por grãos de quartzo, tem menor capacidade de acumulação de compostos orgânicos (SEWALD et al., 2012).

1.4.4 LIMPEZA DO MATERIAL

Com o objetivo de remover resíduos orgânicos, os materiais de vidro foram primeiramente lavados com água corrente, detergente comercial diluído e escova. Em seguida, foram enxaguados e mergulhados em solução de Extran 5% (v/v) (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil), deixados em repouso por pelo menos 24 horas em recipiente

fechado e enxaguados com água desionizada. Para eliminar resíduos orgânicos, a vidraria, exceto a volumétrica, foi calcinada em mufla a 400 °C durante 4 horas. Após o processo de lavagem, a vidraria foi acondicionada em local apropriado, envolta em papel alumínio e manuseada apenas com o uso de luvas de polietileno, evitando-se qualquer tipo de contaminação.

1.4.5 SOLVENTES, REAGENTES, PADRÕES E AMOSTRAS

Os solventes, reagentes e padrões utilizados foram de alto grau de pureza, assegurando qualidade e confiabilidade aos resultados.

Para a descarbonatação das amostras destinadas à análise elementar, utilizou-se ácido clorídrico P.A. (Cromoline, Diadema, SP, Brasil).

Cobre em pó P.A. (Vetec, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) foi usado para a remoção de enxofre elementar.

Diclorometano e metanol grau UV/HPLC (Tedia, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) foram utilizados no procedimento de extração das amostras de sedimento.

Hexano e diclorometano grau UV/HPLC (Tedia, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) foram utilizados no procedimento de fracionamento do extrato lipídico.

Sílica gel (Carlo Erba) e alumina (Vetec, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) foram utilizadas no procedimento de fracionamento do extrato lipídico.

Para avaliar a eficiência de extração, foram utilizados os padrões deuterados $n\text{-C}_{16}$ e $p\text{-terfenil}$ (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA).

Para a quantificação dos n -alcanos, uma solução estoque contendo n -alcanos de $n\text{-C}_7$ a $n\text{-C}_{40}$ (Supelco, Bellefonte, PA, USA) foi utilizada, além do padrão interno $n\text{-C}_{30}$ deuterado.

Para a quantificação dos HPA, foi utilizada uma solução estoque contendo acenafteno, acenaftileno, antraceno, benzo (a) antraceno, benzo (a) pireno, benzo (b) fluoranteno, benzo (g,h,i) perileno, benzo (k) fluoranteno, criseno, dibenzo (a,h) antraceno, fluoranteno, fluoreno, indeno (1,2,3-cd) pireno, naftaleno, fenantreno e pireno, da AccuStandard (New Haven, CT, USA). Como padrão interno, foi utilizada uma mistura padrão contendo acenafteno- d_{10} , criseno- d_{12} , naftaleno- d_8 , perileno- d_{12} e fenantreno- d_{10} (AccuStandard, New Haven, CT, USA).

Para a quantificação dos esteróis, foram utilizados os compostos: colesterol, coprostanol, estigmastanol, epicoprostanol, colestanol, campesterol, colestanona, colesterol-d₆ da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), estigmasterol e β -sitosterol da Spectrum (Gardena, CA).

1.4.6 INSTRUMENTAÇÃO

A calcinação da vidraria e o preparo da alumina foram realizados em mufla Quimis modelo Q.318.24 (Diadema, SP, Brasil). Para a secagem da vidraria e o preparo da sílica, foi utilizada a estufa Fanem modelo 315SE (Guarulhos, SP, Brasil).

As amostras de sedimento foram liofilizadas pelo liofilizador Edwards Micromodulyo15k acoplado à bomba de vácuo Edwards modelo E2M2 (São Paulo, SP, Brasil).

Para a análise de carbono orgânico total e nitrogênio foi utilizado um analisador elementar modelo CHN 2400 (PerkinElmer, USA).

Para as medições de massa foi utilizada a balança analítica Bel Engineering Mark modelo 210A (Piracicaba, SP, Brasil) (precisão $\pm 0,0005$ g).

Os equipamentos utilizados no processo de extração de sedimento foram: ultrassom Unique modelo USC 1450 (25 kHz) (Indaiatuba, SP, Brasil), agitador de tubos tipo vortex Phoenix modelo AP56 (Araraquara, SP, Brasil), centrífuga Fanem – Excelsa Baby II - 206R (São Paulo, SP, Brasil) e rotaevaporador Fisaton modelo 802 com banho termostatizado 550D (1200W) (São Paulo, SP, Brasil).

As análises dos hidrocarbonetos alifáticos foram realizadas em um cromatógrafo a gás modelo GC 2014 (Shimadzu, Kyoto, Japão), equipado com o detector de ionização em chama, utilizando o *software* GC Solution para aquisição e tratamento dos dados.

Para a análise dos HPA e hopanos, foi utilizado um cromatógrafo a gás Trace GC Ultra (ThermoFinnigan), acoplado ao espectrômetro de massas Finnigan – Polaris Q, utilizando o *software* Xcalibur para aquisição e análise dos dados.

As análises de esteróis foram realizadas por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas, utilizando um sistema LC-MS 8040 (Shimadzu, Kyoto, Japão). A aquisição e o tratamento dos dados foram realizados pelo *software* LabSolution versão 5.53 SP2 (Shimadzu, Kyoto, Japão).

As análises dos ácidos graxos foram realizadas por espectrometria de massas de alta resolução, utilizando um sistema Cítius LC–HRT (LECO Corporation, St. Joseph, MI) e empregando ESI como técnica de ionização.

1.4.7 GRANULOMETRIA

As amostras destinadas à análise granulométrica foram encaminhadas para o Laboratório de Geologia da Universidade do Vale do Itajaí. Foram utilizados os métodos clássicos de peneiramento e pipetagem (SUGUIO, 1973). A escala granulométrica utilizada para a separação do tamanho do grão foi a escala de Wentworth.

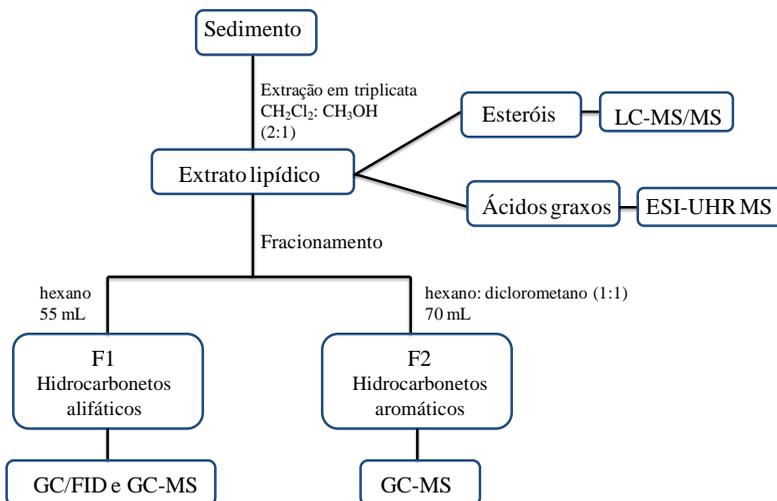
1.4.8 ANÁLISE ELEMENTAR DE CARBONO, HIDROGÊNIO E NITROGÊNIO

Foram pesados aproximadamente 0,5 g de cada amostra de sedimento liofilizada. Em seguida, adicionou-se 1 mL de HCl 0,1 mol L⁻¹ para descarbonatação, com posterior secagem em chapa de aquecimento a 60 °C. O processo foi repetido com água desionizada para retirada do excesso de HCl em três etapas. As amostras foram então encaminhadas para a Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (USP).

1.4.9 EXTRAÇÃO E FRACIONAMENTO DOS LIPÍDIOS

O processo de extração e fracionamento dos lipídios é ilustrado na Figura 1.10, sendo descrito detalhadamente nas sessões seguintes. A metodologia de extração e fracionamento utilizada é baseada no método EPA 3550C.

Figura 1.10. Fluxograma do processo de extração e fracionamento dos lipídios.



1.4.9.1 Extração

Anteriormente ao processo de extração conforme descrito em TAROZO, FRENA, MADUREIRA, 2010 e OLIVEIRA, MADUREIRA, 2011, as amostras de sedimento foram tratadas com cobre ativado para a remoção de enxofre molecular, pois este é um interferente nas análises cromatográficas em matrizes ambientais.

Para realizar a ativação, pesou-se 2 g de cobre em pó em um frasco de vidro de extração e adicionou-se 5 mL de ácido clorídrico concentrado. Os frascos foram agitados com o auxílio de um agitador do tipo vortex por alguns segundos e, em seguida, a mistura foi centrifugada durante 5 minutos. O sobrenadante contendo o ácido foi retirado e seguiu-se com a lavagem do cobre. Esta foi realizada em três etapas, para a eliminação do ácido restante, retirando-se ao final de cada etapa o sobrenadante. Na primeira etapa, adicionou-se ao frasco 5 mL de metanol; na segunda, 5 mL de metanol/diclorometano (1:1) v/v; e na terceira, 5 mL de diclorometano. O solvente restante é evaporado utilizando fluxo de nitrogênio. Dessa forma, o cobre fica ativado, sequestrando o enxofre molecular das amostras na forma de complexo.

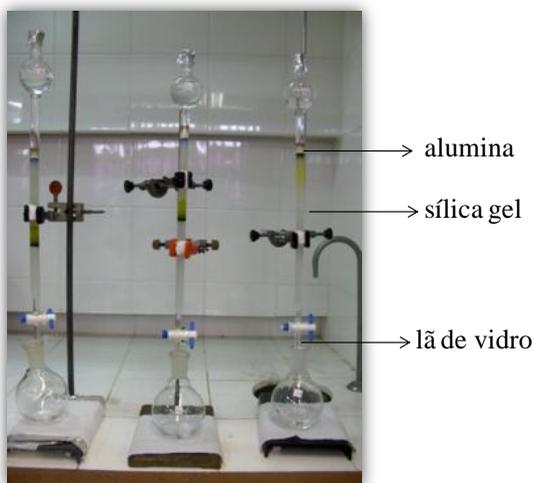
Os lipídios totais foram extraídos a partir do sedimento liofilizado. No frasco contendo cobre, foram adicionados 5 g de sedimento e os padrões de recuperação (o alcano *n*-C₁₆ deuterado e p-

terfenil deuterado) utilizados para a avaliação da eficiência de extração dos compostos. Para a obtenção do extrato total, a extração foi realizada em triplicata com 10 mL de diclorometano e 5 mL de metanol. O sistema líquido/sólido foi agitado em vortex para melhor homogeneização e, em seguida, mantido em ultrassom por 30 minutos. Posteriormente, os frascos foram centrifugados durante 15 minutos e o sobrenadante transferido, com uma pipeta de Pasteur, para um balão de fundo redondo. Após a extração em triplicata, o sobrenadante combinado foi concentrado a um volume conveniente (~1 mL) no rotaevaporador e, em seguida, submetido ao fluxo de nitrogênio gasoso para a eliminação do solvente restante.

1.4.9.2 Fracionamento

O extrato lipídico de cada amostra foi fracionado por cromatografia sólido-líquido em duas frações, conforme o incremento da polaridade dos compostos. A separação foi realizada em uma coluna de vidro (30 cm x 1,3 cm de diâmetro), empacotada sobre lã de vidro previamente calcinada com 10 g de sílica gel (calcina a 150 °C / 24h) e 1 g de alumina (calcina a 400 °C / 4h), ambas desativadas com 5% de água. A Figura 1.11 ilustra o fracionamento do extrato lipídico.

Figura 1.11. Fracionamento do extrato lipídico em colunas de vidro. Fonte: elaborado pela autora.



A fração 1 (F1), correspondente aos hidrocarbonetos alifáticos, foi eluída com 55 mL de hexano. Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (F2) foram eluídos com uma mistura de hexano: diclorometano (1:1). Cada fração foi concentrada (~1 mL) por rotaevaporação e, posteriormente, submetida ao fluxo de nitrogênio para a eliminação do solvente restante. A fração 1 foi avolumada para 1 mL de hexano e a fração 2 para 1 mL de diclorometano, sendo em seguida armazenadas em freezer até o momento da análise cromatográfica.

1.4.10 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS DE ANÁLISE

As condições cromatográficas de análise dos compostos encontram-se detalhadas nos itens a seguir.

1.4.10.1 Hidrocarbonetos

A análise dos *n*-alcanos foi realizada em um cromatógrafo a gás com detector por ionização em chama (Shimadzu, Kyoto, Japão). Hidrogênio ultrapuro (99,995%) foi empregado como gás de arraste. O programa de temperatura adotado foi de 50 °C (mantido por 5 minutos), aumentado a uma taxa de aquecimento de 6 °C min⁻¹ até 300 °C, e mantido em isoterma por 10 minutos. A temperatura do injetor foi de 280 °C, aplicando o modo *splitless* (sem divisão de fluxo) no tempo inicial de 1 minuto e, em seguida, o modo *split*, a uma razão de 1:50. A temperatura do detector foi de 300 °C.

A análise cromatográfica dos HPA e hopanos foi realizada em um cromatógrafo a gás Trace GC Ultra (Thermo Finnigan) acoplado ao espectrômetro de massas Polaris Q. Neste, as análises foram realizadas em modo de varredura de íons totais (“*full scan*”, de 50 a 500 u) em 70 eV. Hélio foi utilizado como gás de arraste. O programa de temperatura utilizado foi de 50 °C (mantido por 5 minutos), aumentado a uma taxa de aquecimento de 6 °C min⁻¹ até 300 °C, e mantido em isoterma por 20 minutos. A temperatura do injetor foi de 280 °C, aplicando o modo *splitless* (sem divisão de fluxo) no tempo inicial de 1 minuto e, em seguida, o modo *split*, a uma razão de 1:50. As temperaturas da linha de transferência e da fonte de íons foram de 280 °C e 200 °C, respectivamente. A injeção dos extratos (1 µL) foi realizada manualmente.

Em ambos os cromatógrafos, utilizou-se uma coluna capilar Rtx-5 MS (Bellefonte, PA, USA) de 30 m x 0,25 mm d.i. x 0,25 µm de

espessura do filme, sendo a fase estacionária constituída por 95% de polidimetilsiloxano e 5% de grupos fenila.

1.4.10.2 Esteróis

O método cromatográfico para a análise de esteróis consistiu no emprego de uma coluna Shim-pack XR-ODS 2.2 μm , 2.0 mm d.i., 150 mm (Shimadzu, Kyoto, Japão) e metanol (ácido fórmico 0,1 %) como fase móvel, em uma vazão de 0,6 mL min^{-1} . Após a extração da matéria orgânica, conforme descrito em 4.9.1, as amostras foram diluídas em metanol e analisadas pelo método desenvolvido usando 10 μL como volume de injeção. Empregou-se APCI como técnica de ionização, sendo otimizados os seguintes parâmetros da fonte: gás de nebulização: 4,4 L h^{-1} , temperatura da fonte: 350 $^{\circ}\text{C}$, temperatura da linha de dessolvatação: 250 $^{\circ}\text{C}$, e temperatura do bloco da fonte: 300 $^{\circ}\text{C}$. Foi empregado o monitoramento de reações múltiplas (MRM - *multiple reaction monitoring*) com duas transições para cada composto de interesse, sendo os parâmetros do espectrômetro de massas otimizados para cada transição, conforme descrito na Tabela 1.3.

1.4.10.3 Ácidos graxos

Após o procedimento de extração (descrito em 1.4.9.1), o extrato total foi evaporado e, então, redissolvido com 1 mL de hexano. Após isso, 10 μL do extrato foram diluídos com 990 μL de metanol e uma alíquota de 10 μL foi injetada diretamente no sistema de LC com metanol como fase móvel, em uma vazão de 50 mL min^{-1} . O sistema de LC foi utilizado apenas para injetar a amostra, nenhuma separação cromatográfica foi realizada.

Tabela 1.3. Parâmetros otimizados para cada transição dos compostos analisados pelo método LC-MS/MS

Analito	Transições MRM	Q1 pre bias (V)	CE (V)	Q3 pre bias (V)
Colesterol	369>95	-17	-32	-19
	369>135	-25	-22	-28
Coprostanol	371>81	-13	-36	-17
	371>95	-17	-29	-19
Coletanol	371>81	-13	-36	-17
	371>95	-17	-29	-19
Epicoprostanol	371>81	-13	-36	-17
	371>95	-17	-29	-19
Ergosterol	379>69	-30	-26	-29
	379>83	-30	-24	-17
Campesterol	383>81	-25	-40	-16
	383>161	-25	-21	-18
Estigmasterol	395>81	-18	-41	-16
	395>107	-18	-35	-22
β -sitosterol	397>81	-14	-41	-16
	397>95	-14	-34	-19
Estigmastanol	399>95	-14	-33	-19
	399>149	-14	-22	-29

1.4.11 IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE HIDROCARBONETOS

A FI consiste, principalmente, de *n*-alcanos e hopanos. Os *n*-alcanos foram identificados e quantificados por GC/FID. A identificação foi realizada com base no tempo de retenção de padrões e a quantificação, utilizando *n*-C₁₆d como padrão interno. As soluções utilizadas para obtenção da curva de calibração foram preparadas nas concentrações de 1,0; 2,0; 4,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e continham os *n*-alcanos de *n*-C₇ a *n*-C₄₀. A curva foi realizada em triplicata. Os hopanos foram identificados por meio do monitoramento da razão massa/carga 191, referente à fragmentação característica desses compostos. A identificação foi realizada por comparação de espectros de

massa publicados por Philp (1985) e artigos publicados em revistas científicas.

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (F2) foram identificados por meio de seus íons de quantificação, listados no Apêndice A. Cada um dos compostos foi confirmado por comparação do tempo de retenção em relação aos padrões. A quantificação foi realizada por padronização interna, com curvas de calibração realizadas em triplicata. As soluções utilizadas para obtenção da curva de calibração foram preparadas nas concentrações de 10,0; 50,0; 100,0; 200,0; 300,0; 400,0; 500,0 ng mL⁻¹ e continham 16 HPA (listados no item 4.5). Como padrões internos, foram utilizados os padrões deuterados acenafteno-d₁₀, criseno-d₁₂, naftaleno-d₈, perileno-d₁₂ e fenantreno-d₁₀. Os limites de detecção foram estimados como 3s/S, enquanto os limites de quantificação foram estimados como 10s/S, onde s é a estimativa do desvio padrão do coeficiente linear da equação e S é a inclinação (*slope*) ou coeficiente angular da curva de calibração.

1.4.12 IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ESTERÓIS

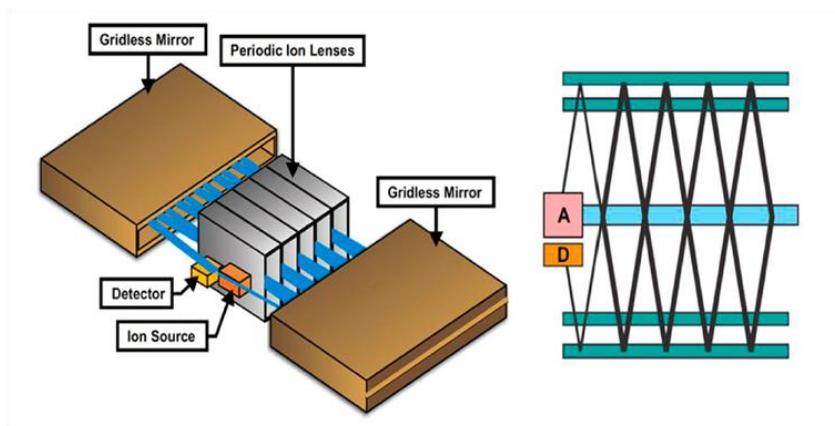
Os esteróis foram identificados por comparação com os tempos de retenção de padrões e por meio de suas fragmentações características (Apêndice B). A quantificação foi realizada por padronização interna, com curvas de calibração realizadas em triplicata. As soluções utilizadas para obtenção da curva de calibração foram preparadas nas concentrações de 10; 50; 100; 200; 400; 600; 800 e 1000 ng mL⁻¹ e continham os compostos coprostanol, epicoprostanol, colestanol, colesterol, campesterol, estigmasterol, β-sitosterol e estigmastanol. Como padrão interno, foi utilizado o padrão deuterado colesterol-d₆. Os limites de detecção foram estimados como 3s/S, enquanto os limites de quantificação foram estimados como 10s/S, onde s é a estimativa do desvio padrão do coeficiente linear da equação e S é a inclinação (*slope*) ou coeficiente angular da curva de calibração.

1.4.13 IDENTIFICAÇÃO E ANÁLISE QUALITATIVA DE ÁCIDOS GRAXOS

A identificação de ácidos graxos foi realizada por espectrometria de massas de altíssima resolução, empregando ESI como técnica de ionização, devido à facilidade de ionização desses compostos

empregando a ionização em modo negativo. A alta resolução obtida pelo analisador do tipo TOF (100 000) permitiu a atribuição de fórmulas elementares a cada íon detectado. Dessa forma, foi possível avaliar qualitativamente ácidos graxos saturados e insaturados. Um esquema do analisador de massas utilizado é mostrado na Figura 1.12, sendo que neste sistema a trajetória de voo dos íons é dobrada, de forma a aumentar a resolução. O Apêndice C mostra como são feitas as atribuições de fórmulas moleculares aos ácidos graxos saturados e monoinsaturados.

Figura 1.12. Design do analisador de massas utilizado para a determinação de ácidos graxos (A: acelerador, D: detector). Extraído de Klitzke et al., 2012.



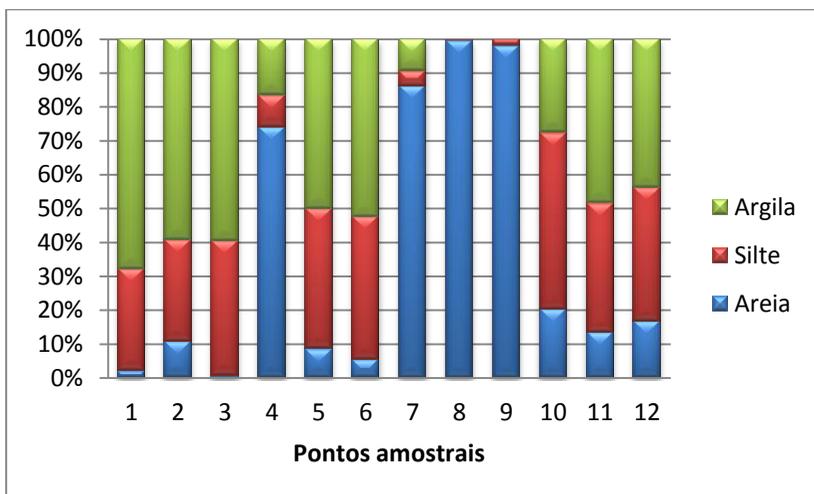
1.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.5.1 GRANULOMETRIA E ANÁLISE ELEMENTAR

A distribuição relativa por classe granulométrica das amostras de sedimento do estuário do rio Itajaí-Açu encontra-se exposta na Figura 1.13, enquanto na Tabela 1.4 constam os percentuais de carbono orgânico total (COT) e nitrogênio total, assim como as razões C/N e H/C.

A distribuição granulométrica variou amplamente nas amostras de sedimento, com a fração de areia variando entre 0,7% (estação 3) e 99,6% (estação 8). No entanto, a maioria das amostras é dominada pela fração de finos (silte e argila), com exceção dos pontos amostrais 4, 7, 8 e 9 (Figura 1.13). A distribuição irregular das amostras de sedimento pode estar associada à localização dos pontos de amostragem, pois as estações 8 e 9 encontram-se na praia de Navegantes e praia Brava, respectivamente.

Figura 1.13. Distribuição granulométrica das frações de areia, silte e argila nas amostras superficiais de sedimento do estuário do rio Itajaí-Açu.



A porcentagem de carbono orgânico total (COT) é um parâmetro fundamental que descreve a abundância da MO em sedimentos (MEYERS, 2003). Nas amostras em estudo, os valores de COT variaram de 0,03% (estação 9) a 1,82% (estação 1). Esses valores

são semelhantes aos encontrados em outros sistemas estuarinos brasileiros, conforme reportado por Maioli et al. (2011) e Lima et al. (2012); no rio Langat (Malásia), conforme reportado por Adnan et al. (2012); e em regiões portuárias do norte (DE LUCA et al., 2005) e sul da Itália (SPROVIERI et al., 2007). Importante observar que o maior percentual de COT (1,82%) foi encontrado na estação 1, amostra com o maior percentual de partículas finas (silte e argila). Essa constatação está de acordo com estudos que indicam que sedimentos finos são mais suscetíveis à acumulação e preservação da matéria orgânica e nutrientes, ao contrário da areia, que pode ser considerada um mineral inerte ou que adsorve quantidades insignificantes de matéria orgânica (MATER et al., 2004; GAO et al., 2007). No entanto, a estação 7, localizada no Molhe Sul e constituída essencialmente por areia (86,1%), apresentou alto teor de COT (1,61%). Isso pode representar a influência direta da cidade de Itajaí como fonte de COT para os sedimentos.

As razões C/N e H/C têm sido utilizadas amplamente para inferir a origem da MO, em que contribuições de plantas superiores, fitoplâncton e zooplâncton podem ser inferidas em ambientes aquáticos (MEYERS; ISHIWATARI, 1993). Os organismos marinhos, enriquecidos com nitrogênio, apresentam valores para essa razão entre 4 e 10, enquanto plantas terrestres, que contêm celulose, apresentam valores superiores a 20 (JAFFÉ et al., 2001; MEYERS, 2003; SCHULZ; ZABEL, 2006; PETERS; WALTERS; MOLDOWAN, 2005). Neste estudo, os valores encontrados para a razão C/N variaram entre 0,6 e 161,0, indicando uma mistura de MO de origem autóctone e alóctone. Além disso, esses valores são muito maiores que os reportados para sedimentos costeiros (C/N entre 6 e 10), indicando que a matéria orgânica presente nos sedimentos do estuário do rio Itajaí-Açu é fortemente influenciada por fontes terrestres e/ou antropogênicas, especialmente na estação 7, que apresentou o maior valor para tal razão (C/N: 161) (WANG; ZHANG; CHEN, 2001).

Com relação à razão H/C, derivados de plantas superiores com um alto conteúdo de ligninas e carboidratos têm H/C entre 1,3 e 1,5; enquanto derivados de plâncton, com uma grande quantidade de proteínas e lipídios, apresentam H/C entre 1,7 e 1,9. O principal motivo para essa diferença é que a matéria derivada de plantas superiores é mais rica em oxigênio e mais aromática do que a matéria aquática (RODRIGUES NETO; MADUREIRA, 2000). Nas amostras do estuário do rio Itajaí-Açu, os valores calculados para H/C estão, em sua maioria, abaixo das descritas acima, o que indica que os compostos presentes nos sedimentos contêm um alto teor de núcleos aromáticos e moléculas poli-

insaturadas (RODRIGUES NETO; MADUREIRA, 2000). As exceções estão nas estações 6 e 8, com H/C de 1,73 e 2,25, respectivamente, indicando a presença de derivados de plâncton nessas amostras.

Tabela 1.4. Carbono orgânico total (COT), nitrogênio total (NT) e razões C/N e H/C em amostras superficiais de sedimento do estuário do rio Itajaí-Açu

Pontos amostrais	COT (%)	NT (%)	C/N	H/C
1	1,82	0,11	16,5	0,75
2	1,66	0,12	13,8	0,89
3	1,68	0,14	12,0	0,78
4	1,27	0,11	11,5	0,95
5	0,43	0,02	21,5	1,05
6	0,11	0,01	11,0	1,73
7	1,61	0,01	161,0	0,57
8	0,08	0,03	2,7	2,25
9	0,03	0,05	0,6	1,00
10	1,44	0,11	13,0	0,84
11	1,17	0,11	10,6	0,93
12	0,05	0,01	5,0	0,80

1.5.2 BIOMARCADORES GEOQUÍMICOS

A análise de biomarcadores geoquímicos permite avaliar de forma mais concreta as fontes da matéria orgânica presente nas amostras de sedimento. Entre as classes de compostos avaliadas neste trabalho, estão os hidrocarbonetos alifáticos (*n*-alcanos e hopanos), hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, ácidos graxos e esteróis.

1.5.2.1 *n*-alcanos

Para avaliar os níveis de *n*-alcanos nas amostras de sedimentos, foram realizadas curvas de calibração em triplicata para cada hidrocarboneto. Os principais parâmetros analíticos de mérito se encontram na Tabela 1.5. Os resultados mostraram bons coeficientes de correlação, superiores a 0,9902 para todos os analitos, além de valores de desvio padrão relativo menores que 10 %. Os limites de quantificação variaram entre 1,0 e 6,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Tabela 1.5. Parâmetros analíticos de mérito obtidos a partir das curvas de calibração realizadas para a quantificação dos *n*-alcanos

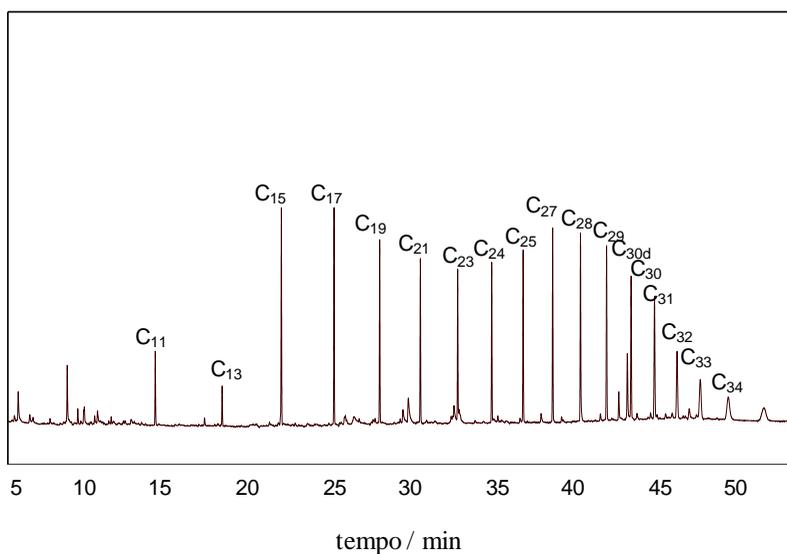
Analito	Faixa de trabalho ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Equação da reta	R^2	LOQ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	RSD (%)
n-C ₇	2-20	$y=0,1620x + 0,1358$	0,9978	5,0	5
n-C ₈	2-20	$y=0,2120x + 0,6345$	0,9957	3,0	4
n-C ₉	2-20	$y=0,2345x - 0,2361$	0,9995	3,0	6
n-C ₁₀	2-20	$y=0,1642x + 0,1566$	0,9977	6,0	5
n-C ₁₁	2-20	$y=0,1478x - 0,4056$	0,9972	3,0	10
n-C ₁₂	2-20	$y=0,1525x - 0,5501$	0,9904	1,0	3
n-C ₁₃	2-20	$y=0,2474x - 0,8181$	0,9987	1,0	5
n-C ₁₄	2-20	$y=0,2138x - 0,6048$	0,9902	4,5	8
n-C ₁₅	2-20	$y=0,1770x - 0,0952$	0,9946	6,0	5
n-C ₁₆	2-20	$y=0,2127x - 0,6033$	0,9933	6,0	6
n-C ₁₇	2-20	$y=0,1847x - 0,2168$	0,9960	3,0	4
n-C ₁₈	2-20	$y=0,1899x - 0,3423$	0,9913	4,0	10
n-C ₁₉	2-20	$y=0,2116x - 0,4388$	0,9972	3,0	4
n-C ₂₀	2-20	$y=0,2136x - 0,4269$	0,9959	5,0	6
n-C ₂₁	2-20	$y=0,2031x - 0,4657$	0,9991	3,0	4
n-C ₂₂	2-20	$y=0,1831x - 0,1526$	0,9979	3,0	2
n-C ₂₃	2-20	$y=0,1833x - 0,0891$	0,9988	2,0	3
n-C ₂₄	2-20	$y=0,1925x - 0,1619$	0,9991	2,0	1
n-C ₂₅	2-20	$y=0,1981x - 0,1764$	0,9975	2,0	2
n-C ₂₆	2-20	$y=0,1980x - 0,1208$	0,9988	2,0	1
n-C ₂₇	2-20	$y=0,1956x - 0,1306$	0,9995	3,0	2
n-C ₂₈	2-20	$y=0,1950x - 0,066$	0,9993	2,0	1
n-C ₂₉	2-20	$y=0,1926x - 0,0479$	0,9987	3,0	1
n-C ₃₀	2-20	$y=0,1884x - 0,0688$	0,9964	2,0	1
n-C ₃₁	2-20	$y=0,1831x - 0,0413$	0,9974	3,0	1
n-C ₃₂	2-20	$y=0,1803x - 0,0614$	0,9959	3,0	3
n-C ₃₃	2-20	$y=0,1782x - 0,0457$	0,9936	2,0	3
n-C ₃₄	2-20	$y=0,1725x - 0,038$	0,9996	3,0	2
n-C ₃₅	2-20	$y=0,1646x - 0,0808$	0,9996	3,0	4
n-C ₃₆	2-20	$y=0,1647x - 0,1854$	0,9972	3,0	3
n-C ₃₇	2-20	$y=0,1550x - 0,2619$	0,9982	4,0	6
n-C ₃₈	2-20	$y=0,1798x - 0,7338$	0,9975	3,0	2

R^2 : coeficiente de correlação; LOQ: limite de quantificação; RSD: desvio padrão relativo.

Os níveis de *n*-alcanos nas amostras de sedimentos, assim como as razões utilizadas para auxiliar na identificação da origem desses compostos, são mostrados na Tabela 1.6. Nas amostras de sedimentos

coletadas no estuário do rio Itajaí-Açu foram identificados *n*-alcanos entre *n*-C₇ e *n*-C₃₈, com predominância de *n*-C₂₇ (C_{max}) nas estações 2, 6, 8, 10 e 12, característico de MO biogênica derivada de plantas superiores, uma vez que ceras epicuticulares de plantas terrestres apresentam tipicamente valores máximos de *n*-alcanos em *n*-C₂₇, *n*-C₂₉ e *n*-C₃₁ (EGLINTON; HAMILTON, 1967; MILLE et al., 2007). As análises cromatográficas dos hidrocarbonetos apresentaram, para a maioria das amostras, o perfil mostrado na Figura 1.14, sem dominância de *n*-alcanos ímpares sobre os pares. Esse perfil é característico de óleos. No entanto, pode-se observar também a presença de *n*-C₁₅ e *n*-C₁₇ que evidencia o aporte proveniente de fontes aquáticas como algas.

Figura 1.14. Cromatograma (GC/FID) da fração dos hidrocarbonetos alifáticos da estação 1, localizada no Estaleiro Detroit. Os números acima dos picos indicam a quantidade de átomos de carbono na série homóloga. C_{30d} foi utilizado como padrão interno de quantificação.



As concentrações de *n*-alcanos variaram de 0,49 $\mu\text{g g}^{-1}$ (estação 7) a 69,71 $\mu\text{g g}^{-1}$ (estação 3). A baixa concentração observada na estação 7 pode ser associada à pequena quantidade de partículas finas (silte + argila = 14%), que têm áreas superficiais maiores que partículas grosseiras, como a areia, e podem adsorver matéria orgânica dissolvida, formando complexos sedimentares (VENTURINI; TOMMASI, 2004).

Por outro lado, a concentração mais elevada de *n*-alcanos foi encontrada na estação 3, localizada na desembocadura do rio Itajaí-Mirim, fator associado à elevada quantidade de partículas finas (silte + argila = 99,3%). Níveis similares foram encontrados no sistema estuarino de Laguna (0,9 a 45,6 $\mu\text{g g}^{-1}$), como ilustrado na Tabela 1.7. Valores abaixo de 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ de sedimento seco são geralmente considerados típicos de áreas não contaminadas (ZEGOUAGH et al., 1998; SILVA et al., 2008). De acordo com Readman et al. (2002), sedimentos marinhos ricos em matéria orgânica podem apresentar concentrações totais de hidrocarbonetos alifáticos de até 100 $\mu\text{g g}^{-1}$. No entanto, concentrações superiores a 100 $\mu\text{g g}^{-1}$ são geralmente associadas à contaminação por petróleo. Assim, as quantidades encontradas nas amostras de sedimentos do estuário do rio Itajaí-Açu não serviriam como indicativo de contaminação por petróleo e derivados. No entanto, o perfil cromatográfico sem dominância de ímpares sobre os pares indica a existência de contaminação. Além disso, essas concentrações são comparáveis a outros ambientes estuarinos e costeiros (Tabela 1.7).

Tabela 1.6. Concentrações de *n*-alcanos e suas respectivas razões

Pontos amostrais	C _{max} ^a	IPC ^b	RTA ^c	Σ <i>n</i> -alcanos $\mu\text{g g}^{-1}$	Σ <i>n</i> -alcanos $\mu\text{g g}^{-1}$ COT
1	n-C ₁₇	1,5	1,3	15,22	836,24
2	n-C ₂₇	3,0	1,3	3,00	180,20
3	n-C ₂₄	1,2	9,6	69,71	4174,40
4	n-C ₁₁	1,4	1,7	13,04	1027,10
5	n-C ₂₅	1,6	13,1	52,77	12690,48
6	n-C ₂₇	1,5	2,4	13,65	12411,33
7	n-C ₁₅	1,6	0,9	0,49	30,43
8	n-C ₂₇	1,0	1,2	12,60	15755,60
9	n-C ₃₁	1,7	1,8	2,66	8866,67
10	n-C ₂₇	1,1	8,9	31,30	2281,24
11	n-C ₁₂	1,9	1,0	10,49	929,06
12	n-C ₂₇	0,9	2,6	12,06	24312,43

^a Cmax : *n*-alcano de maior intensidade.

^b IPC (Índice Preferencial de Carbono) = $2(\Sigma_{\text{ímpares}} nC_{25}-nC_{33}) / [(\Sigma_{\text{pares}} nC_{24}-nC_{32})+(\Sigma_{\text{pares}} nC_{26}-nC_{34})]$.

^c RTA (Razão Terrestre/Aquático) = $(\Sigma nC_{27}+nC_{29}+nC_{31})/(\Sigma nC_{15}+nC_{17}+nC_{19})$.

Tabela 1.7. Comparação dos níveis de *n*-alcanos determinados em amostras de sedimentos de diversos ambientes

Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Localização	Referência
0,9 – 45,6	Sistema estuarino de Laguna, Brasil	TAROZO, FRENA, MADUREIRA (2010)
0,4 – 20,2	Sistema estuarino Mundaú-Manguaba, Brasil	MAIOLI et al. (2011)
1,22 – 5,57	Estuário da Baía da Babitonga, Brasil	OLIVEIRA; MADUREIRA (2011)
3,32 – 18,14	Foz do rio Itajaí-açu, Brasil	OLIVEIRA; MADUREIRA (2011)
9,9 – 30,8	Sistema estuarino do rio Sergipe, Brasil	LIMA et al. (2012)
0,8 – 3,2	Estuário Mandovi, Índia	HARJI; YVENAT; BHOSLE (2008)
1,6 – 10,7	Porto Marmugoa, Índia	HARJI; YVENAT; BHOSLE (2008)
0,49 – 69,71	Estuário do rio Itajaí-Açu	Presente trabalho

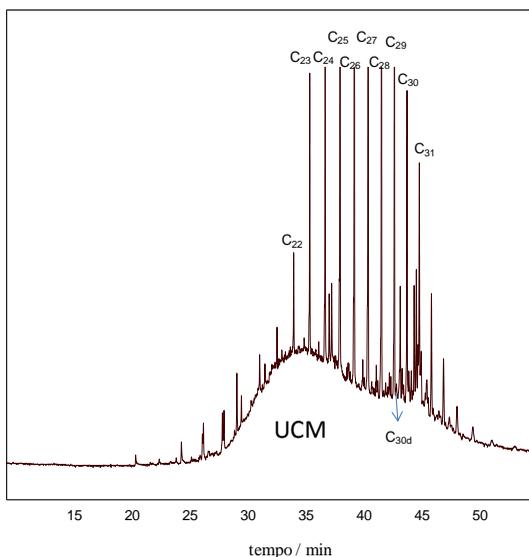
As concentrações de *n*-alcanos totais foram normalizadas para COT, a fim de eliminar o efeito da granulometria. Conforme ilustrado na Tabela 1.6, as concentrações totais de *n*-alcanos variaram de 30,43 (estação 7) a 24312,43 $\mu\text{g g}^{-1}$ COT (estação 12). A normalização por COT sugere que as concentrações de *n*-alcanos nas amostras podem ser subestimadas quando expressas em sedimento seco, notavelmente nas estações 5, 6, 8, 9 e 12. Concentrações similares às encontradas neste estudo foram observadas para sedimentos coletados no Sistema Estuarino de Laguna (38,5 a 34883,1 $\mu\text{g g}^{-1}$ COT), conforme reportado por Tarozo, Frena e Madureira (2010).

O Índice Preferencial de Carbono (IPC) foi utilizado para avaliar as fontes da matéria orgânica. Os valores de IPC nas amostras de sedimento variaram entre 0,9 e 3,0, com predominância de valores próximos da unidade, normalmente encontrados em amostras contaminadas por petróleo. No entanto, valores baixos de IPC também podem indicar a presença de matéria orgânica reciclada e/ou aporte de microrganismos (MADUREIRA, 2002; JENG, 2006). Por outro lado, na estação 2, o valor de IPC encontrado (3,0) indica a predominância de alcanos de origem biogênica.

A Razão Terrestre/Aquático (RTA) avalia a contribuição de fontes terrestres *versus* fontes aquáticas. Essa razão apresenta tipicamente valores maiores que 1 para fontes terrestres e menores que 1 para fontes aquáticas (BOURBONNIERE; MEYERS, 1996). Os valores obtidos para RTA foram maiores que 1 para todas as estações, com exceção da estação 7 (0,9), provavelmente devido à maior atividade bacteriana e/ou contribuição de fontes aquáticas, conforme sugerido pelo baixo valor de IPC (1,6) e pelo C_{max} (C_{15}).

Um indicativo de contaminação por petróleo em amostras de sedimentos é a presença da mistura complexa não resolvida (UCM) (FRYSINGER et al., 2003; MAIOLI et al., 2011). Essa mistura complexa consiste de hidrocarbonetos cíclicos e ramificados que não podem ser resolvidos por cromatografia gasosa, gerando uma rampa no cromatograma (KILLOPS; KILLOPS, 2005). Nas amostras avaliadas, foi observada a presença da UCM na estação 5, localizada no Porto de Itajaí (Figura 1.15), indicando a contaminação por derivados de petróleo nesse local, evidenciada pelo IPC (1,6) e a elevada concentração de *n*-alcanos ($12690,48 \mu\text{g g}^{-1}$ COT).

Figura 1.15. Cromatograma (GC/FID) da fração dos hidrocarbonetos alifáticos da estação 5, localizada no Porto de Itajaí. Os números acima dos picos indicam a quantidade de átomos de carbono na série homóloga. C_{30d} foi utilizado como padrão interno de quantificação. UCM: mistura complexa não resolvida.



1.5.2.2 Hopanos

Em sedimentos, os hopanos são principalmente convertidos a partir de seus precursores biológicos. Esses biomarcadores geoquimicamente estáveis podem fornecer evidências mais convincentes de contaminação por petróleo, sendo amplamente utilizados para detectar poluição por petróleo em ambientes costeiros e estuarinos. Hopanos com configuração $17\alpha(H),21\beta(H)$ são característicos de petróleo devido a sua grande estabilidade termodinâmica (SEIFERT; MOLDOWAN, 1980; PHILP, 1985; HU et al., 2012; MAIOLI et al., 2010; SILVA et al., 2012).

Uma série de hopanos entre C_{27} e C_{35} foi detectada em todas as amostras de sedimento e estes, monitorados pelo fragmento m/z 191, correspondente à quebra característica que ocorre nesses compostos. Um cromatograma de massas (m/z 191) representativo das amostras de sedimento do estuário do rio Itajaí-Açu é mostrado na Figura 1.16. A predominância da configuração termodinamicamente estável $17\alpha(H), 21\beta(H)$, que é um indicativo da presença de combustíveis fósseis em sedimentos recentes (PHILP, 1985), sugere a contribuição petrogênica nas amostras avaliadas. A origem fóssil foi confirmada pela presença dos epímeros 22S e 22R nos hopanos entre C_{31} e C_{35} .

Para avaliar a distribuição relativa dos hopanos nas amostras de sedimento, estas foram normalizadas pelo valor total encontrado na estação 4, amostra que apresentou o maior percentual de hopanos. De acordo com a Figura 1.17, hopanos de origem antropogênica variaram entre 65% a 90% em todas as estações, embora fontes biogênicas desses compostos também tenham sido encontradas, porém em menor proporção.

Figura 1.16. Cromatograma de massas do íon m/z 191, característico de hopanos, em uma amostra de sedimento (estação 8) do estuário do rio Itajaí-Açu. **C₂₇ Ts**: 18 α (H)-22,29,30-trisnorhopano; **C₂₇ Tm**: 17 α (H)-22,29,30-trisnorhopano; **C₂₈**: 17 α (H),18 α (H),21 β (H)-28,30-bisnorhopano; **C₂₉ $\alpha\beta$** : 17 α (H),21 β (H)-30-norhopano; **C₂₉ $\beta\alpha$** : 17 β (H),21 α (H)-30-norhopano; **C₃₀ $\alpha\beta$** : 17 α (H),21 β (H)-hopano; **C₃₀ $\beta\alpha$** : 17 β (H),21 α (H)-hopano; **C₃₁ $\alpha\beta$ -S**: 17 α (H),21 β (H)-31-homohopano-22S; **C₃₁ $\alpha\beta$ -R**: 17 α (H),21 β (H)-31-homohopano-22R; **C₃₁ $\beta\alpha$** : 17 β (H),21 α (H)-31-homohopano; **C₃₀ $\beta\beta$** : 17 β (H),21 β (H)-hopano; **C₃₂ $\alpha\beta$ -S**: 17 α (H),21 β (H)-32-bis-homohopano-22S; **C₃₂ $\alpha\beta$ -R**: 17 α (H),21 β (H)-32-bis-homohopano-22R; **C₃₃ $\alpha\beta$ -S**: 17 α (H),21 β (H)-33-tris-homohopano-22S; **C₃₃ $\alpha\beta$ -R**: 17 α (H),21 β (H)-33-tris-homohopano-22R; **C₃₄ $\alpha\beta$ -S**: 17 α (H),21 β (H)-34-tetrakis-homohopane-22S; **C₃₄ $\alpha\beta$ -R**: 17 α (H),21 β (H)-34-tetrakis-homohopano-22R; **C₃₅ $\alpha\beta$ -S**: 17 α (H),21 β (H)-35-pentakis-homohopano-22S; **C₃₅ $\alpha\beta$ -R**: 17 α (H),21 β (H)-35-pentakis-homohopano-22R.

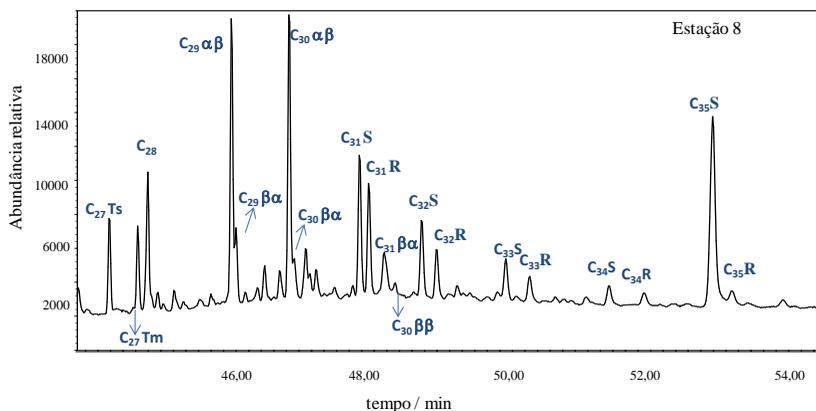
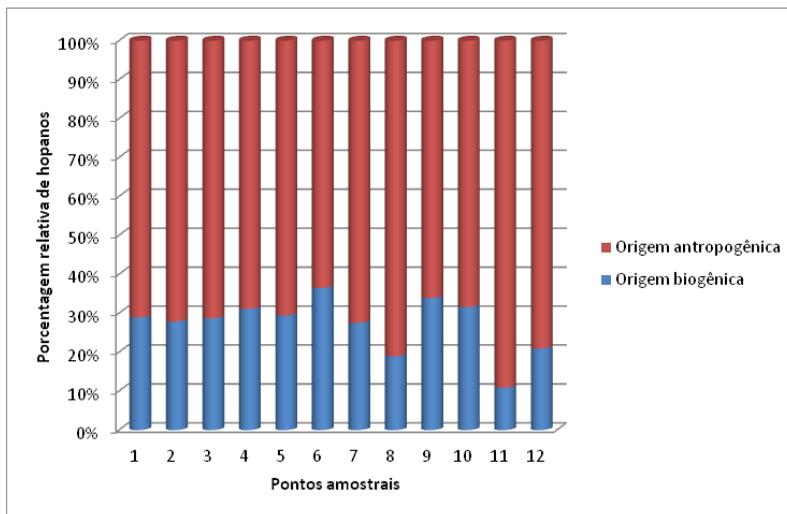


Figura 1.17. Distribuição relativa de hopanos de origem biogênica (hopanos de configuração $\beta\beta$ e C_{31} - C_{35} $\alpha\beta$ -R) e de origem antropogênica (hopanos de configuração $\alpha\beta$, C_{31} - C_{35} $\alpha\beta$ -S) em doze amostras de sedimento do estuário do rio Itajaí-Açu.



De acordo com a Figura 1.17, a estação 11 apresentou a maior porcentagem de hopanos de origem antropogênica (em torno de 90%). De fato, essa estação é um ponto de descarga do material dragado, o que explica a presença desses compostos devido à remobilização dos poluentes acumulados ao longo do tempo no sedimento.

1.5.2.3 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA)

Devido a sua baixa solubilidade em água e natureza hidrofóbica, os HPA tendem a se associar com o material particulado. Essas características os tornam uma classe de compostos de extrema importância em estudos ambientais, pois permitem distinguir fontes petrogênicas e pirogênicas (HE et al., 2014; MAIOLI et al., 2011).

Os HPA a seguir foram encontrados nas amostras sedimentares do estuário do rio Itajaí-Açu: naftaleno, alquilnaftalenos, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, alquilfluorenos, fenantreno, alquilfenantrenos, antraceno, fluoranteno, pireno, alquilpirenos, benzo (b) fluoranteno e benzo (a) pireno. Com o objetivo de avaliar os níveis desses compostos,

foram realizadas curvas de calibração e os resultados obtidos estão expostos na Tabela 1.8. Os coeficientes de correlação variaram entre 0,9918 e 0,9985 para todos os analitos na faixa de concentração avaliada e os valores de desvio padrão relativo foram inferiores a 14%.

Tabela 1.8. Parâmetros analíticos de mérito obtidos a partir das curvas de calibração realizadas para a quantificação dos HPA

Analito	Faixa linear (ng mL ⁻¹)	Equação da reta	R ²	LOQ (ng mL ⁻¹)	RSD (%)
Naftaleno	10-500	y= 1500x – 16132	0,9984	3,0	5
Acenaftileno	10-500	y= 1237x – 30747	0,9941	3,0	7
Acenafteno	10-500	y= 2142x – 41608	0,9941	2,0	5
Fluoreno	10-500	y= 4554x – 113304	0,9918	3,0	5
Fenantreno	10-500	y= 1303x – 12493	0,9985	3,0	8
Antraceno	10-500	y= 1162x – 25234	0,9953	3,0	7
Fluoranteno	10-500	y= 1145x – 19623	0,9940	2,0	3
Pireno	10-500	y= 1240x – 19137	0,9936	1,0	4
Benzo (a) antraceno	10-500	y= 526x + 14482	0,9925	6,0	6
Criseno	10-500	y= 842x – 2330	0,9940	2,0	3
Benzo (b) fluoranteno	10-500	y= 536x – 15500	0,9946	3,0	7
Benzo (k) fluoranteno	10-500	y= 789x – 15642	0,9979	3,0	8
Benzo (a) pireno	10-500	y= 582x – 24821	0,9957	5,0	14
Indeno	10-500	y= 321x – 10986	0,9978	3,0	9
Dibenzo (a, h) antraceno	10-500	y= 750x – 25975	0,9973	5,0	12
Benzo (ghi) perileno	10-500	y= 437x – 8715	0,9929	1,0	2

R²: coeficiente de correlação; LOQ: limite de quantificação; RSD: desvio padrão relativo.

As concentrações totais de HPA, expressas como a soma dos 14 HPA identificados nas amostras listados anteriormente, variaram de 63,89 ng g⁻¹ (estação 7) a 1458,99 ng g⁻¹ (estação 6), conforme mostrado na Tabela 1.9. As concentrações totais mais elevadas (superiores a 500 ng g⁻¹) foram observadas nas estações 1, 2, 5 e 6, localizadas em torno do Porto de Itajaí e próximo a dois estaleiros. Segundo Notar; Leskovsek; Faganeli (2001), concentrações totais de HPA maiores que 500 ng g⁻¹ são indicativas de amostras altamente contaminadas. As estações que apresentaram as maiores concentrações totais de HPA têm

um alto teor de silte + argila. Como os HPA são hidrofóbicos, eles tendem a ficar adsorvidos na matéria orgânica e acumular em sedimentos finos.

Outro critério de classificação para HPA foi sugerido por Baumard e colaboradores (1998) a fim de caracterizar a qualidade do sedimento em: pouco ($0 - 100 \text{ ng g}^{-1}$), moderado ($100 - 1000 \text{ ng g}^{-1}$), altamente poluído ($1000 - 5000 \text{ ng g}^{-1}$) e muito altamente poluído ($> 5000 \text{ ng g}^{-1}$). Com base nessa classificação e considerando o somatório dos 16 HPA tidos como poluentes prioritários pela EPA, as amostras coletadas nas estações 7 a 12 são classificadas como pouco poluídas; as estações 1 a 5 como moderadamente poluídas; e apenas a estação 6 como altamente poluída. Importante observar que as amostras consideradas poluídas encontram-se próximo a estaleiros e ao Porto de Itajaí, onde o tráfego de navios é constante, o que pode estar contribuindo para a entrada desses contaminantes. Por outro lado, as concentrações de HPA nas estações 7 a 12 refletem a diminuição da concentração desses compostos em direção ao mar.

Tabela 1.9. Concentrações de HPA e razões nas amostras de sedimento do estuário do rio Itajaí-Açu

Pontos amostrais	Σ HPA ng g^{-1}	Σ 16 HPA ng g^{-1}	Fen/ Ant	Fluo/ (Fluo+ Pir)	Σ Alquilfen/ fenantreno
1	970,95	897,80	1,24	-	-
2	692,32	554,90	1,25	-	0,15
3	235,72	149,68	0,83	0,59	4,75
4	281,03	206,95	1,50	0,51	1,22
5	527,96	441,89	0,76	0,51	4,16
6	1458,99	1237,21	3,29	0,48	7,95
7	63,89	42,48	-	-	-
8	84,44	67,24	1,37	-	-
9	125,82	36,47	-	0,74	-
10	112,30	68,76	1,06	-	-
11	156,57	28,44	-	-	-
12	92,04	44,72	-	-	-

Os níveis de HPA encontrados nas amostras de sedimento foram comparados ao Guia Internacional de Qualidade de Sedimentos (SQGs), desenvolvido pela Administração Oceânica e Atmosférica Nacional (NOAA) dos Estados Unidos, amplamente utilizado para a avaliação de sedimentos em água doce e no ambiente marinho (LONG et al., 1995; MAC DONALD et al., 1996; MAC DONALD;

INGERSOLL; BERGER, 2000; MC CREADY; BIRCH; LONG, 2006). No entanto, é importante salientar que organismos de ambientes de clima tropical podem apresentar comportamento diferente de organismos de clima subtropical.

A Tabela 1.10 apresenta os valores ERL (*effects range low*) e ERM (*effects range median values*) para os HPA individuais e para a soma destes. De acordo com Long et al. (1995), para concentrações < ERL, espera-se a ocorrência rara de efeitos biológicos adversos; quando \geq ERL e <ERM, efeitos biológicos adversos podem ocorrer ocasionalmente, e se \geq ERM, frequentemente. Com base nessa classificação, efeitos adversos são esperados para ocorrer raramente a ocasionalmente nas comunidades bentônicas que vivem nos sedimentos do sistema estuarino do rio Itajaí-Açu. Outro limite bastante utilizado é o PEL (*Probable effect level*), com valores acima dos quais se espera que ocorram efeitos adversos frequentemente (Canadian Environmental Quality Guidelines, 1998), (Tabela 1.10). Neste estudo, as amostras avaliadas apresentaram concentrações inferiores aos limites estabelecidos para efeitos adversos frequentes.

Tabela 1.10. Comparação das concentrações de HPA (ng g^{-1} em sedimento seco) das amostras de sedimento do estuário do rio Itajaí-Açu com guias de qualidade de sedimento

Analito	ERL ^a	ERM ^a	PEL ^b	Este estudo
Naftaleno	160	2100	391	(nd – 55,1)
Acenaftileno	44	640	128	(nd – 37,9)
Acenafteno	16	500	88,9	(nd – 51,3)
Fluoreno	19	540	144	(nd – 38,2)
Fenantreno	240	1500	544	(nd – 276,7)
Antraceno	85,3	1100	245	(nd – 223,6)
Fluoranteno	600	5100	1494	(nd – 52,5)
Pireno	665	2600	1398	(nd – 58,0)
Benzo (a) antraceno	261	1600	693	nd
Criseno	384	2800	846	nd
Benzo (a) pireno	430	1600	763	(nd – 68,5)
Dibenzo (a, h) antraceno	63,4	260	135	Nd
Σ 16 HPA	2967,7	20340	6869,9	(28,4 – 1237,2)

nd: não detectado; ^a *effects range low and effects range median values*; ^b *probable effect levels*

Fontes: LONG et al., 1995; Canadian Environmental Quality Guidelines, 1998

No Brasil, a legislação vigente para disposição de material dragado é descrita pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) na Resolução nº 344/2004, que estabelece dois níveis para os HPA. Ao comparar as concentrações obtidas no estuário do rio Itajaí-Açu com os níveis estipulados pelo CONAMA, apresentados na Tabela 1.11, observou-se que: a estação 1 excedeu o nível 1 para fenantreno e antraceno; as estações 4 e 5 excederam o nível 1 para acenafteno e a estação 6 excedeu o nível 1 para acenafteno e fluoreno. No entanto, nenhuma das estações excedeu o nível 2 estabelecido pelo CONAMA para os HPA, indicando a baixa probabilidade de efeitos adversos à biota nas amostras deste estudo.

Tabela 1.11. Níveis de classificação do material a ser dragado em unidade de material seco

Analito	Nível 1 ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Nível 2 ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Este estudo
Benzo (a) antraceno	74,8	693	nd
Benzo (a) pireno	88,8	763	(nd – 68,5)
Criseno	108	846	nd
Dibenzo (a,h) antraceno	6,22	135	nd
Acenafteno	16	500	(nd – 51,3)
Acenaftileno	44	640	(nd – 37,9)
Antraceno	85,3	1100	(nd – 223,6)
Fenantreno	240	1500	(nd – 276,7)
Fluoranteno	600	5100	(nd – 52,5)
Fluoreno	19	540	(nd – 38,2)
Naftaleno	160	2100	(nd – 55,1)
Pireno	665	2600	(nd – 58,0)

Nível 1: limiar abaixo do qual é prevista baixa probabilidade de efeitos adversos à biota. Nível 2: limiar acima do qual é previsto um provável efeito adverso à biota. nd: não detectado. Fonte: RESOLUÇÃO CONAMA nº344/2004

Os níveis de HPA encontrados foram comparados aos valores reportados para sedimentos superficiais de diversos ambientes, mostrados na Tabela 1.12. Observou-se que os níveis encontrados no estuário do rio Itajaí-Açu se assemelham aos reportados na região metropolitana de Curitiba e no rio Hiangpu, localizado na China. No

entanto, os valores foram menores que os reportados no sistema estuarino de Laguna (1107 – 250.094 ng g⁻¹), na Baía de Todos os Santos (8 – 4163 ng g⁻¹) e em regiões portuárias da Itália (9 – 31774 ng g⁻¹) e de Taiwan (98 – 3382 ng g⁻¹), sendo superiores aos encontrados na Lagoa dos Patos. (7,3 – 92,8 ng g⁻¹).

Tabela 1.12. Comparação dos níveis de HPA determinados em amostras de sedimentos de diversos ambientes

Concentração (ng g ⁻¹)	Localização	Referência
34 - 13780	Golfo de Fos, França	MILLE et al. (2007)
9 - 31774	Porto de Naples, Itália	SPROVIERI et al. (2007)
98 – 3382	Porto de Hsin-ta e áreas costeiras adjacentes, Taiwan	FANG; LEE; YU (2003)
1107 – 250.094	Sistema estuarino de Laguna, Brasil	TAROZO; FRENA; MADUREIRA (2010)
8 - 4163	Baía de Todos os Santos, Brasil	VENTURINI; TOMMASI (2004)
221 - 1243	Sistema estuarino Mundaú-Manguaba, Brasil	MAIOLI et al. (2011)
131-1713	Região metropolitana de Curitiba, Brasil	LEITE; PERALTA-ZAMORA; GRASSI (2011)
72,17 – 277,77	Golfo Pérsico	RAHMANPOOR et al. (2014)
7,3 – 92,8	Lagoa dos Patos, Brasil	FILHO et al. (2012)
313 - 1707	Rio Huangpu, China	LIU et al. (2008)
63,89 – 1473,69	Estuário do rio Itajaí-Açu	Presente trabalho

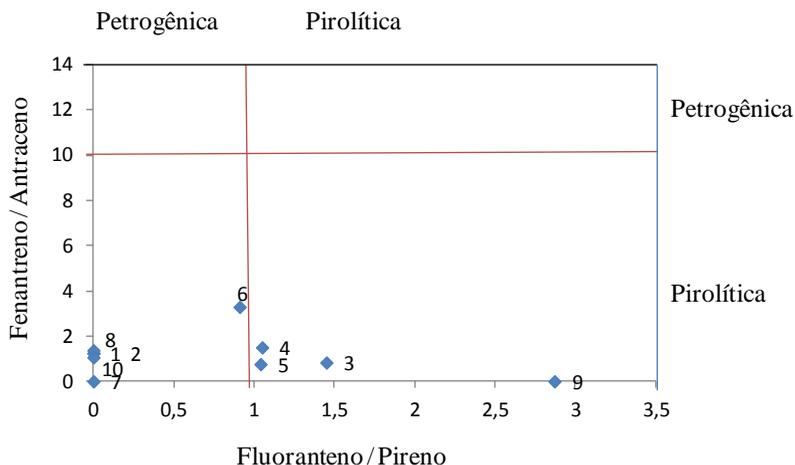
Para a diferenciação das fontes de HPA presentes nas amostras de sedimentos, foram utilizadas razões diagnósticas reportadas na literatura, incluindo a soma dos homólogos alquilados em relação ao composto parental e também as razões entre pares de isômeros. No caso dos isômeros, a literatura baseia-se na avaliação da estabilidade termodinâmica dos HPA, feita por meio do calor de formação dos

isômeros em questão. A diferença no calor de formação entre os isômeros é calculada sempre em relação ao isômero mais estável. Assim, quanto maior for essa diferença, maior a capacidade de discriminação de fontes da razão que utiliza esses dois isômeros. No caso dos isômeros fenantreno e antraceno, o fenantreno é mais estável termodinamicamente e a diferença de calor de formação entre eles é $5,9 \text{ kcal mol}^{-1}$, enquanto no caso dos isômeros fluoranteno e pireno, a diferença de calor de formação entre eles é $24,2 \text{ kcal mol}^{-1}$ (YUNKER et al., 2002). Vale ressaltar que HPA originados por processos de combustão incompleta (pirolíticos) geralmente apresentam uma maior proporção de isômeros menos estáveis termodinamicamente, enquanto HPA mais estáveis termodinamicamente são aqueles que se originaram por processos de baixa temperatura, como a geração de HPA durante o processo catagênico de formação do petróleo (MENICONI, 2007; READMAN et al., 2002; KILLOPS; KILLOPS, 2005).

A razão entre os isômeros fenantreno e antraceno (Fen/Ant) apresenta valores altos em casos de poluição por HPA de origem petrogênica, mas baixos valores são encontrados nos casos de contaminação por HPA de origem pirolítica. Embora essa razão não possa ser calculada para algumas estações devido à ausência de um ou ambos os compostos, os valores obtidos foram menores que 10 em todas as estações, indicando fontes pirolíticas para esses compostos.

Levando em consideração a razão entre fluoranteno e pireno (Fluo/Pir), o valor limite entre fontes petrogênicas e pirolíticas é 1. Porém, a razão Fluo/(fluo+pir) permite distinguir de forma mais detalhada as fontes de combustão. Nas estações 3, 4, 5 e 7, os valores obtidos indicam a presença de HPA de origem predominantemente petrogênica, enquanto na estação 6 o valor obtido (0,48) sugere queima de combustíveis fósseis, bastante intensa nessa estação dada a alta concentração de HPA ($1458,99 \text{ ng g}^{-1}$). Além disso, o diagrama cruzado utilizando Fen/Ant vs. Fluo/Pir (Figura 1.18) mostra que HPA de fontes pirolíticas são predominantes nas amostras avaliadas.

Figura 1.18. Diagrama cruzado de Fenantreno/Antraceno *versus* Fluoranteno/Pireno para as amostras de sedimento do estuário do rio Itajaí-Açu. Os números acima dos pontos indicam as estações de coleta.



HPA alquilados foram identificados em todas as estações. A dominância de alquilados homólogos do naftaleno nas estações 5, 7 e 9 indica fonte petrogênica recente. É importante ressaltar que na estação 5 foi observada a presença da UCM, o que corrobora com a origem petrogênica. Além disso, altas concentrações de HPA totais foram observadas nessa estação ($527,96 \text{ ng g}^{-1}$).

A razão entre homólogos alquilados em relação ao composto parental também foi utilizada para avaliar as fontes dos HPA nas amostras sedimentares. A razão entre alquilfenantrenos e fenantreno (AlquilFen/Fen) obtida em produtos de combustão é geralmente menor que 0,5, enquanto misturas de HPA de origem fóssil tipicamente variam de 2 a 6 (GARRIGUES et al., 1995). Os valores para essa razão nas amostras estudadas variaram entre 0,15 e 7,95 (Tabela 1.9), indicando que os HPA nas estações 3, 5 e 6 apresentam uma maior contribuição de fontes petrogênicas.

Considerando as razões calculadas, os HPA presentes nas amostras sedimentares foram originados por fontes mistas como petróleo, combustão de madeira, querosene, plantas e carvão, sendo que fontes naturais (por exemplo, perileno) não foram encontradas nas amostras avaliadas.

1.5.2.4 Esteróis

Uma série de esteróis foi identificada nas amostras sedimentares do estuário do rio Itajaí-Açu, com uma significativa diversidade estrutural. Portanto, uma variedade de fontes contribuiu para a composição da matéria orgânica no ambiente de estudo. Foram identificados os seguintes esteróis: (a) C₂₇ esteróis: colesterol, colestanol, coprostanol e epicoprostanol; (b) C₂₈ esteróis: campesterol; (c) C₂₉ esteróis: estigmasterol, estigmastanol, β-sitosterol.

Para avaliar os níveis de esteróis nas amostras, foram realizadas curvas de calibração. Estas forneceram coeficientes de correlação superiores a 0,9944 e desvios padrão relativos menores que 10% para todos os analitos. Os limites de quantificação variaram entre 4,0 ng mL⁻¹ (β-sitosterol) e 9,0 ng mL⁻¹ (estigmasterol). Os principais parâmetros analíticos de mérito obtidos para a quantificação desses compostos encontram-se listados na Tabela 1.13.

Tabela 1.13. Parâmetros analíticos de mérito para a determinação de esteróis por LC-MS/MS

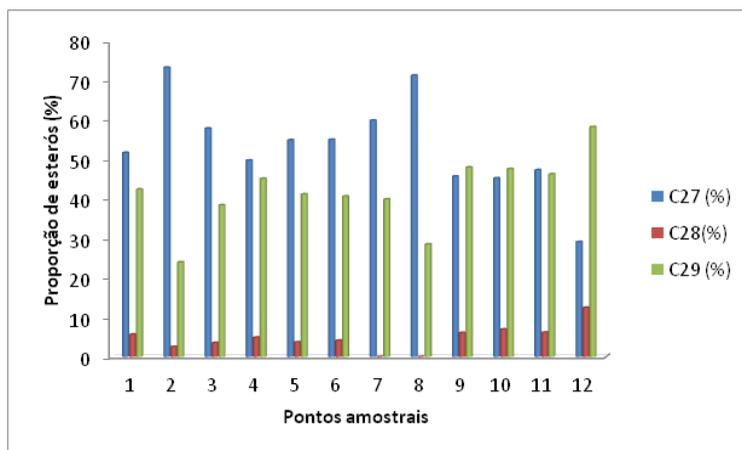
Analito	Faixa linear (ng mL ⁻¹)	Equação	R ²	LOQ (ng mL ⁻¹)
Epicoprostanol	10 – 1000	y= 48,85x – 2,09	0,9996	4,0
Coprostanol	10 – 1000	y= 37,03x – 1,45	0,9992	4,0
Colestanol	10 – 1000	y= 32,73x – 1,17	0,9988	5,0
Colesterol	10 – 1000	y= 69,11x – 4,06	0,9996	7,0
Campesterol	10 – 1000	y= 89,51x – 15,42	0,9993	4,0
Estigmasterol	10 – 1000	y= 8,23x – 1,68	0,9990	9,0
β-sitosterol	10 – 1000	y= 43,39x – 7,52	0,9985	4,0
Estigmastanol	10 – 1000	y= 17,61x – 3,10	0,9995	6,0

R²: coeficiente de correlação; LOQ: limite de quantificação.

A distribuição de esteróis nas amostras sedimentares evidencia as diversas fontes de MO no ambiente de estudo. Para a avaliação das fontes de esteróis na composição da matéria orgânica, estes foram reunidos em grupos C₂₇, C₂₈ e C₂₉, conforme ilustrado na Figura 1.19. Dois grupos de esteróis foram predominantes: C₂₇ e C₂₉. A alta contribuição dos esteróis C₂₉ reflete o aporte de matéria orgânica proveniente de plantas superiores, enquanto a elevada contribuição de C₂₇ é geralmente atribuída a algas, zooplâncton e animais (NEUNLIST; RODIER; LLOPIZ, 2002; SHANCHUN; RONGFEN; ZUOFENG,

1992). Estudos realizados por Jaffé et al. (2001) demonstraram a predominância de esteróis C_{29} , especialmente sitosterol e estigmasterol, em amostras de sedimentos provenientes de um ambiente com amplo aporte de plantas superiores.

Figura 1.19. Proporção de esteróis com 27, 28 e 29 átomos de carbono em amostras superficiais de sedimento do estuário do rio Itajaí-Açu. C_{27} : colesterol, coprostanol, colestanol e epicoprostanol; C_{28} : campesterol; C_{29} : estigmasterol, estigmastanol e β -sitosterol.



Os esteróis mais abundantes nas amostras de sedimentos foram o colesterol (19 a 35%), o coprostanol (9 a 25%) e o β -sitosterol (12 a 33%). Estes esteróis representam diferentes fontes. O colesterol é geralmente o esteroide mais abundante em sistemas aquáticos por ser ubíquo em zooplâncton e fitoplâncton, este último com menores contribuições (MARTINS et al., 2012; RIBEIRO; KNOPPERS; CARREIRA, 2011). As espécies zooplancônicas podem promover a desalquilação de fitoesteróis C_{28} e C_{29} para formar colesterol (C_{27}). Além disso, muitos invertebrados aquáticos que ocorrem em estuários, como ostras e mexilhões, podem converter fitoesteróis em esteróis para as suas necessidades metabólicas (FERNANDES et al., 1999), o que justifica a elevada abundância de colesterol nesse estudo. O β -sitosterol é utilizado como marcador de MO de origem terrestre por muitos autores, mas outros também sugerem a possibilidade de origem fitoplancônica (RIBEIRO; KNOPPERS; CARREIRA, 2011). A importância relativa dessas fontes irá depender do tipo de ambiente, da

proximidade das estações com fontes de matéria orgânica derivada de origem terrestre e da abundância e tipo do fitoplâncton presente (VOLKMAN, 1986). No ambiente de estudo, a presença de esteróis derivados de plantas vascularizadas, incluindo campesterol e estigmasterol (VOLKMAN et al., 2007), sugere o aporte principalmente terrestre para o β -sitosterol.

Esteróis como coprostanol e epicoprostanol são muito utilizados como indicadores da contaminação por esgoto doméstico em diversos ambientes. O coprostanol representa de 40% a 60% do total de esteróis excretados nas fezes humanas (CARREIRA; WAGENER; READMAN, 2004). As concentrações de coprostanol nas amostras analisadas variaram de valores menores que o limite de quantificação do método ($4,0 \text{ ng g}^{-1}$) a 8930 ng g^{-1} (estação 5), conforme pode ser observado na Tabela 1.14. Embora não exista um consenso com relação ao nível de coprostanol em sedimentos que seja indicativo de contaminação por esgoto, a concentração limiar de coprostanol em sedimentos costeiros naturais é geralmente menor que 10 ng g^{-1} . Valores acima de 100 ng g^{-1} são geralmente considerados como contaminação por esgoto e valores acima de 500 ng g^{-1} são considerados um indicativo de significativa contaminação por esgoto (READMAN et al., 2005; TOLOSA; MESA; ALONSO-HERNANDEZ, 2014; ARAÚJO; COSTA; CARREIRA, 2011). Nesse sentido, as estações 2, 3, 4, 5 e 6 apresentaram indicativo de significativa contaminação por esgoto, com concentrações superiores a 500 ng g^{-1} . Já as estações 1, 9, 10 e 11 apresentaram indicativo de contaminação por esgoto, porém, em menor proporção, enquanto que nas estações 7, 8 e 12 o coprostanol não foi detectado. De fato, a estação 12 é uma amostra controle, onde não era esperado encontrar esteróis de origem fecal.

Tabela 1.14. Concentrações (ng g⁻¹) de esteróis em amostras de sedimentos do estuário do rio Itajai-Açu, determinados por LC-MS/MS

Pontos Amostrais	Epicoprostanol	Coprostanol	Colestanol	Colesterol	Campesterol	Estigmasterol	β -sitosterol	Estigmastanol
1	220	450	830	960	270	420	800	800
2	1280	6120	2480	9420	670	1880	3100	1330
3	310	1620	2510	2580	430	1340	2050	1270
4	390	2110	780	2890	610	1690	3280	630
5	1240	8930	390	8360	1280	4080	8160	1950
6	850	5600	1990	6160	1100	3470	5670	1650
7	<4	<4	<5	30	<4	<9	20	<6
8	<4	<4	<5	50	<4	<9	20	<6
9	40	140	100	320	80	160	310	160
10	50	120	220	390	120	170	470	180
11	130	470	450	1170	290	520	1050	600
12	<4	<4	30	40	30	<9	80	60

Para fins de comparação, as concentrações de coprostanol encontradas nas amostras sedimentares do estuário do rio Itajaí-Açu e as reportadas em sedimentos de outros ambientes costeiros e estuarinos são mostradas na Tabela 1.15. As concentrações de coprostanol foram maiores que as reportadas para ambientes como a Lagoa dos Patos ($1 - 1423 \text{ ng g}^{-1}$), o Rio Langat (Malásia) ($2,77 - 417,66 \text{ ng g}^{-1}$) e nos manguezais do Itacorubi e de Ratonos ($\text{nd} - 2876 \text{ ng g}^{-1}$); são comparáveis aos valores encontrados no Rio Capibaribe ($519 - 7315 \text{ ng g}^{-1}$) e no Mar Negro ($1 - 5400 \text{ ng g}^{-1}$) e menores que os valores reportados em áreas altamente poluídas da Baía de Guanabara ($330 - 40000 \text{ ng g}^{-1}$) e de Ria Formosa, em Portugal ($100 - 41800 \text{ ng g}^{-1}$).

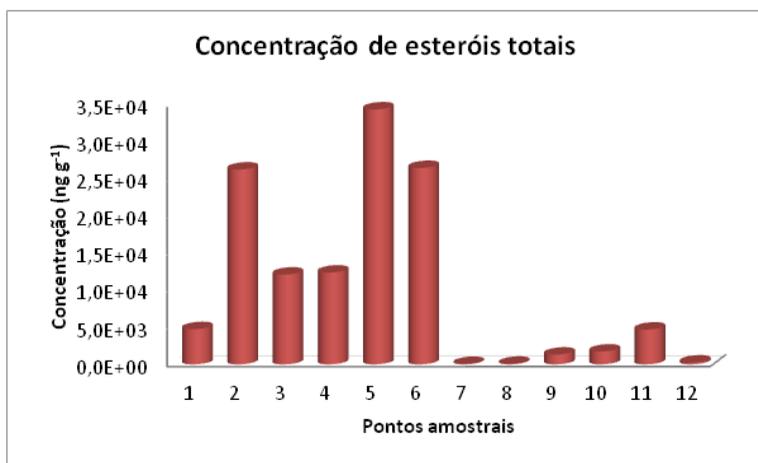
Tabela 1.15. Comparação dos níveis de coprostanol determinados em amostras de sedimentos de diversos ambientes

Localização	Concentração de coprostanol (ng g^{-1})	Referência
Lagoa Ria Formosa, Portugal	100 - 41800	MUDGE; BEBIANNO (1997)
Rio Langat, Malásia	2,77 - 417,66	ADNAN et al. (2012)
Mar Negro	1 - 5400	READMAN et al. (2005)
Baía de Guanabara, Brasil	330 - 40000	CARREIRA; WAGENER; READMAN (2004)
Baía de Cienfuegos, China	10 - 5400	TOLOSA; MESA; ALONSO-HERNANDEZ (2014)
Rio Capibaribe, Brasil	519 - 7315	FERNANDES et al. (1999)
Lagoa dos Patos, RS, Brasil	$< 1^a - 1423$	MARTINS; FILLMANN; MONTONE (2007)
Baía de Ubatuba, SP, Brasil	$< 10^a - 270$	MUNIZ et al. (2006)
Manguezais do Itacorubi e de Ratonos, SC, Brasil	$\text{nd} - 2876$	MATER et al. (2004)
Lagoa Venice, Itália	40 - 44000	FATTORE et al. (1996)
Estuário do rio Itajaí-Açu	$< 4 - 8930$	Este estudo

^a limite de quantificação; nd: não detectado

As concentrações de esteróis totais variaram de 50 ng g⁻¹ (estação 7) a 34390 ng g⁻¹ (estação 5), conforme ilustrado na Figura 1.20. Valores semelhantes foram encontrados na Baía de Laranjeiras, Brasil (2860 a 36800 ng g⁻¹), conforme reportado por Martins et al. (2012). No entanto, neste ambiente, esteróis fecais como coprostanol e epicoprostanol não foram detectados, indicando que contaminação por esgoto não afeta os sedimentos do sistema estuarino investigado. Portanto, a concentração total de esteróis não pode ser utilizada como um parâmetro de avaliação de contaminação.

Figura 1.20. Concentrações (ng g⁻¹) de esteróis totais em amostras de sedimentos do estuário do rio Itajaí-Açu.



A presença de alguns esteróis é um indício de contaminação fecal, mas não é suficiente para um rastreamento conclusivo de contaminação. Algumas razões entre esteróis selecionados têm sido amplamente propostas na literatura a fim de aumentar a confiabilidade das avaliações de poluição baseadas em esteróis. No entanto, não há consenso quanto ao número de razões necessárias para a identificação positiva de contaminação especificamente fecal, embora seja certo que quanto mais relações indicarem uma fonte particular, mais confiáveis serão os resultados (FURTULA et al., 2012). Assim, algumas razões reportadas pela literatura foram avaliadas neste estudo, a fim de se obter um resultado confiável com relação às fontes desses compostos (Tabela 1.16).

A razão coprostanol/colesterol permite avaliar as contribuições de fontes biogênicas e de esgoto. Valores menores que 1 são reportados para indicar a origem biogênica, enquanto valores maiores que 1 indicam fonte de esgoto (PENG et al., 2005; ADNAN et al., 2012). Nas amostras em que esses compostos foram detectados, os valores para essa razão foram menores que 1, exceto na estação 5 (1,07), indicando uma forte entrada de colesterol de fontes biogênicas na maioria das estações. Na estação 5, localizada no Porto de Itajaí, predomina a matéria orgânica de origem fecal, sendo esta também a estação que apresentou a maior concentração de coprostanol (8930 ng g⁻¹).

Tabela 1.16. Razões entre esteróis determinados em amostras de sedimentos do estuário do rio Itajaí-Açu

Pontos amostrais	Coprostanol/colesterol	Epicoprostanol/coprostanol	Coprostanol/(coprostanol+colestanol)	Colestanol/colesterol
1	0,47	0,49	0,35	0,87
2	0,65	0,21	0,71	0,26
3	0,63	0,19	0,39	0,97
4	0,73	0,18	0,73	0,27
5	1,07	0,14	0,70	0,47
6	0,91	0,15	0,74	0,32
7	-	-	-	-
8	-	-	-	-
9	0,42	0,32	0,58	0,31
10	0,31	0,39	0,36	0,56
11	0,40	0,27	0,51	0,39
12	-	-	-	0,76

A razão entre epicoprostanol e coprostanol pode ser utilizada como um indicador do grau de tratamento, pois o epicoprostanol é produzido durante o processo de tratamento de esgoto. Tipicamente, sedimentos que receberam efluentes de esgoto não tratado mostram valores para essa razão menores que 0,2, enquanto razões maiores que 0,8 são relacionadas a esgoto tratado (tratamento primário ou secundário) (MARTINS; FILLMAN; MONTONE, 2007). As estações 3, 4, 5 e 6 apresentaram valores menores que 0,2, indicando a presença de esgoto não tratado. A estação 3 localiza-se na desembocadura do rio Itajaí-Mirim, que recebe efluentes de diversas cidades da região, o que justifica a presença de esgoto sem tratamento nessa estação e nas proximidades (estações 4, 5 e 6). Por outro lado, as estações 1, 2, 9, 10 e

11 apresentaram valores entre 0,21 e 0,49 para essa razão, possivelmente devido à presença de esgoto parcialmente tratado.

A razão coprostanol/(coprostanol+colestanol), proposta por Grimalt e colaboradores (1990), apresenta valores iguais ou superiores a 0,7 em áreas contaminadas por esgoto, enquanto valores menores ou iguais a 0,3 são indicativos de ambientes não poluídos. (FERNANDES et al., 1999; TOLOSA; MESA; ALONSO-HERNANDEZ, 2014; GRILLO et al., 2013). Apenas as estações 2, 4, 5 e 6 apresentaram indícios de contaminação por esgoto com base nessa razão. São estas também as estações que apresentaram as maiores concentrações de coprostanol, o que confirma a hipótese de poluição fecal.

Estanóis (esteróis saturados) em sedimentos recentes se originam principalmente da redução microbiana de estenóis durante a sedimentação. Devido a isso, a razão entre os homólogos saturados (estanóis) e insaturados (estenóis) permite avaliar o nível de degradação da matéria orgânica sedimentar, já que os compostos insaturados são reduzidos pela atividade microbiana, embora também possam ser de origem biogênica. Assim, a razão colestanol/colesterol pode ser utilizada como um indicador desse processo de transformação. Em geral, a razão estanóis/estenóis varia entre 0,1 e 0,6 para matéria orgânica fresca e sem alteração microbiana na sua composição (TIAN; SICRE; SALIOT, 1992; RIBEIRO; KNOPPERS; CARREIRA, 2011). Neste estudo, observaram-se valores para a razão colestanol/colesterol menores que 0,6 na maioria das amostras, indicando que o colesterol é pouco alterado pela ação bacteriana.

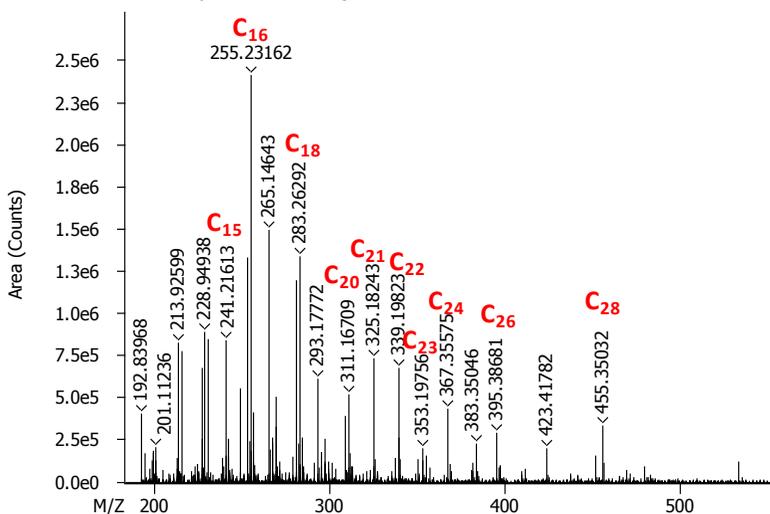
1.5.2.5 Ácidos graxos

Os ácidos graxos foram avaliados qualitativamente nas amostras sedimentares utilizando a técnica de espectrometria de massas de alta resolução. Assim, os espectros de massas obtidos mostram o íon relativo da molécula desprotonada ($[M - H]^-$) de cada ácido. O espectrômetro de massas utilizado forneceu resolução suficiente para avaliar as fórmulas elementares exatas de cada ácido com um erro menor que 1 ppm nas amostras sedimentares. A Figura 1.21 mostra um espectro de massas representativo das amostras de sedimento com a distribuição de ácidos graxos saturados.

Os ácidos graxos identificados nas amostras de sedimento variaram de C_{12} a C_{36} , com predomínio de homólogos com número par de átomos de carbono. Ácidos graxos saturados de cadeias curtas ($<C_{20}$) com máximo em C_{16} foram predominantes na maioria das amostras.

Esse perfil com forte predominância de pares de cadeias curtas é associado à matéria orgânica de origem autóctone, principalmente de algas e bactérias. De acordo com Cranwell, Eglinton e Robinson (1987) e Poerschmann, Koschorreck e Górecki (2012), ácidos de cadeia curta como C_{14} , C_{16} e C_{18} são produzidos por plantas, mas são os componentes lipídicos dominantes de algas e bactérias. Por outro lado, ácidos saturados de cadeia longa (C_{24} , C_{26} e C_{28}) são os principais componentes de folhas de plantas terrestres, flores e pólen (RODIER; KALIL, 1982; RIELEY et al., 1991).

Figura 1.21. Espectro de massas representativo de uma amostra de sedimento mostrando a distribuição de ácidos graxos saturados.

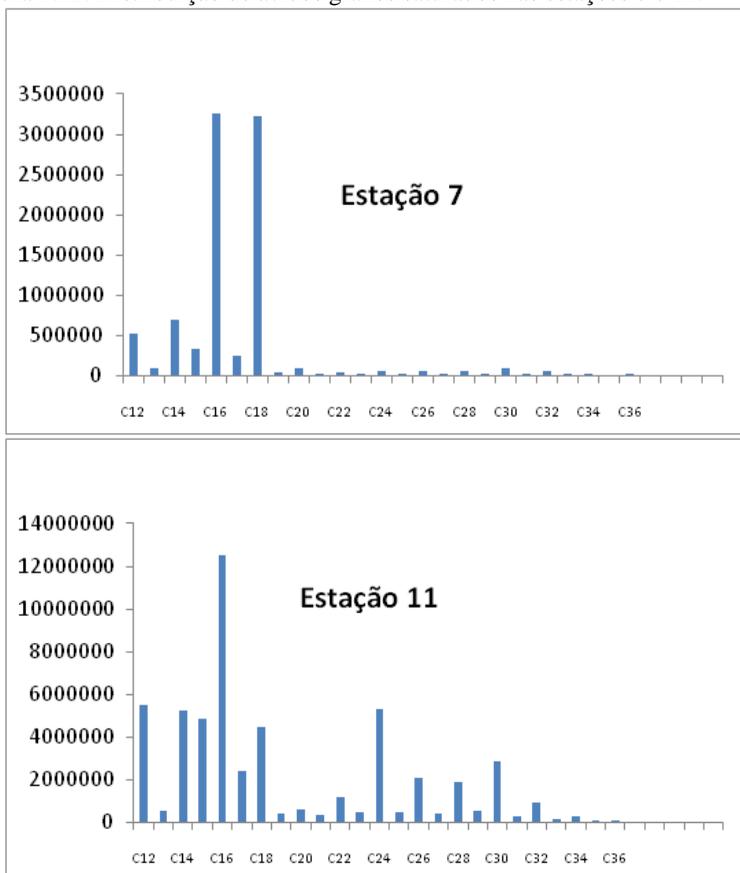


A distribuição de ácidos graxos saturados em duas amostras representativas de sedimentos é mostrada na Figura 1.22. Os histogramas das demais amostras está apresentado no Apêndice D. A pequena contribuição de ácidos saturados de cadeia longa nos sedimentos, abundantes em plantas superiores, indica que as contribuições terrestres são pequenas se comparadas à contribuição de algas, notavelmente nas estações 7 e 8, localizadas no Molhe Sul e na Praia de Navegantes, respectivamente. Esse resultado corrobora com os valores de RTA calculados para os n -alcanos, cujos valores obtidos foram próximos a 1 nas estações 7 e 8, indicando o aporte de fontes aquáticas, como por exemplo algas. Por outro lado, na estação 11 foi

encontrada a maior contribuição de ácidos saturados de cadeia longa, representando a contribuição de plantas nesse local.

Ácidos graxos insaturados também foram identificados em todas as amostras sedimentares. A presença de ácidos monoinsaturados, tais como o ácido oleico ($C_{18:1}$) e o ácido palmitoleico ($C_{16:1}$) corrobora com a fonte aquática sugerida pelos ácidos saturados. Conforme reportado por Meyers e Ishiwatari (1993), ácidos insaturados, principalmente $C_{16:1}$ e $C_{18:1}$ são os principais constituintes de algas e amplamente encontrados em sedimentos lacustres. Além disso, o ácido $C_{18:1}$ é conhecido por ser também dominante em diatomáceas (STEFANOVA; DISNAR, 2000).

Figura 1.22. Distribuição de ácidos graxos saturados nas estações 7 e 11.



1.6 CONCLUSÕES

A distribuição granulométrica das amostras sedimentares do estuário do rio Itajaí-Açu revelou que a maioria das amostras é dominada pela fração de finos (silte e argila), embora quatro estações tenham apresentado altos teores de areia (maiores que 70%). Essa distribuição irregular pode estar associada às atividades de dragagem devido à ressuspensão do sedimento.

A análise elementar realizada, por meio das razões C/N e H/C, permitiu caracterizar o sedimento com uma mistura de MO de origem autóctone a alóctone, apresentando uma possível mistura de ácidos húmicos, fragmentos de plantas superiores e algas.

As concentrações de *n*-alcanos variaram de 0,49 $\mu\text{g g}^{-1}$ a 69,71 $\mu\text{g g}^{-1}$, sugerindo a predominância de fontes biogênicas, sendo a concentração mais elevada encontrada na desembocadura do rio Itajaí-Mirim. A presença de *n*-C₁₅ e *n*-C₁₇ evidenciou o aporte proveniente de fontes aquáticas como algas. No entanto, o perfil cromatográfico apresentou para a maioria das amostras o perfil característico de óleo, sem dominância de *n*-alcanos ímpares sobre os pares, indicando a possível contribuição de fontes antropogênicas. Os índices calculados para os *n*-alcanos (IPC e RTA) evidenciaram a predominância de *n*-alcanos de origem biogênica, contribuição de fontes aquáticas e presença de matéria orgânica reciclada nas amostras sedimentares avaliadas. A presença da mistura complexa não resolvida (UCM) na estação 5, no Porto de Itajaí, foi uma evidência de contaminação por petróleo nesse local.

A identificação de uma série de hopanos entre C₂₇ e C₃₅, com predominância da configuração termodinamicamente estável 17 α (H), 21 β (H), sugeriu a contribuição petrogênica nas amostras avaliadas, sendo confirmada pela presença dos epímeros 22S e 22R entre C₃₁ e C₃₅.

As concentrações totais de HPA identificados nas amostras variaram de 63,89 a 1458,99 ng g^{-1} . Por meio da comparação dos níveis de HPA encontrados com guias de qualidade de sedimentos e com a legislação vigente para material a ser dragado, os resultados indicaram que efeitos adversos à biota são esperados para ocorrer raramente e ocasionalmente. Com base nas razões diagnósticas para HPA utilizadas neste estudo, a composição sedimentar refletiu a mistura de fontes petrogênicas e pirolíticas, sendo esta última de maior contribuição.

A determinação de uma diversidade de esteróis nas amostras deste estudo indicou as diversas fontes de MO no ambiente. Os esteróis mais abundantes foram colesterol, coprostanol e β -sitosterol, sugerindo fontes como zooplâncton, esgoto doméstico e plantas superiores. As maiores concentrações do esterol fecal (coprostanol) foram observadas nas proximidades do Porto de Itajaí. Por meio de razões diagnósticas entre os esteróis detectados, foi possível inferir indícios de contaminação por esgoto nas estações próximas ao Porto de Itajaí e forte entrada de colesterol de fontes biogênicas na maioria das amostras.

A distribuição de ácidos graxos permitiu inferir a origem da MO como predominantemente aquática, com pequena contribuição de plantas, notavelmente nas estações 7 e 8, o que corrobora com os valores de RTA para *n*-alcanos. A maior contribuição de ácidos saturados de cadeia longa foi observada na estação 11, representando a contribuição de plantas nesse local.

Considerando o ambiente como um todo, os maiores indicativos de contaminação por derivados de petróleo e contaminação por esgoto foram encontrados nas áreas próximas ao Porto de Itajaí e aos estaleiros, sendo que nas estações mais próximas do mar foi maior a contribuição de fontes biogênicas, embora a contribuição petrogênica também tenha sido detectada, porém, em menores proporções.

Os resultados obtidos neste estudo forneceram informações úteis para acessar os níveis de biomarcadores geoquímicos e as possíveis fontes desses compostos no estuário do rio Itajaí-Açu, área de grande importância econômica para o Brasil devido às atividades portuárias, indústrias de pesca e turismo na região. Além disso, os resultados podem ser utilizados como valores de referência para futuros programas de monitoramento dessa região.

1.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

www.portoitajai.com.br

<http://www.mma.gov.br/política-de-resíduos-sólidos>

ABALOS, M. et al. Analytical procedures for the determination of organotin compounds in sediments and biota: a critical review. **Journal of Chromatography A**, v. 788, p. 1-49, 1997.

ADNAN, N.H. et al. Faecal sterols as sewage markers in the Langat River, Malaysia: Integration of biomarker and multivariate statistical approaches. **Journal of Environmental Sciences**, v. 24, n. 9, p. 1600-1608, 2012.

ALEXANDRE, M.R.; HUANG, Y.; MADUREIRA, L.A.S. Avaliação de compostos orgânicos em sedimentos superficiais da Baía de Babetonga, Santa Catarina, Brasil. **Geochimica Brasiliensis**, v. 20, n. 2, p. 208-218, 2006.

ARAÚJO, M.P.; COSTA, T.L.F.; CARREIRA, R.S. Esteróis como indicadores do acúmulo de esgotos domésticos em sedimentos de um sistema estuarino-lagunar tropical (Mundaú-Manguaba, Al). **Química Nova**, v. 34, n.1, p. 64-70, 2011.

BARCELÓ, D. **Comprehensive Analytical Chemistry**. v.47. Netherlands: Elsevier, 2006. 864p.

BATAGLION, G. et al. Avaliação de compostos lipídicos em ambiente anóxico da Lagoa da Conceição, Ilha de Santa Catarina, Brasil. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 4, p. 474-489, 2012.

BAUMARD, P. et al. Origin and bioavailability of PAHs in the Mediterranean Sea from mussel and sediment records. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 47, p. 77-90, 1998.

BAUMARD, P. et al. Concentration of PAH in various marine organisms in relation to those in sediments to trophic level. **Marine Pollution Bulletin**, v. 36, p. 951-960, 1998.

BELLOTTO, V.R.; KUROSHIMA, K.N.; CECANHO, F. In: Estuário do rio Itajaí-açu, Santa Catarina: caracterização ambiental e alterações antrópicas. **Poluentes no ambiente estuarino e efeitos da atividade de dragagem**. Itajaí, 2009. p. 105-126.

BIACHE, C.; PHILP, R.P. The use of sterol distributions combined with compound specific isotope analyses as a tool to identify the origin of fecal contamination in rivers. **Water Research**, v. 47, p. 1201-1208, 2013.

BOURBONNIERE, R.A.; MEYERS, P. A. Sedimentary geolipid records of historical changes in the watersheds and productivities of Lakes Ontario and Erie. **Limnology and Oceanography**, v. 41, p. 352-359, 1996.

BRANCO, J.O.; LUNARDON-BRANCO, M.J.; BELLOTTO, V.R. **Estuário do rio Itajaí-açu, Santa Catarina: caracterização ambiental e alterações antrópicas**. Itajaí: Editora Univali, 2009. 312p.

BRAY, E.E.. EVANS, E.D. Distribution of n-paraffins as a clue to recognition of source beds. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 22, p. 2-15, 1961.

CAMPOS, M.L.A.M. **Introdução à biogeoquímica de ambientes aquáticos**. Campinas: Editora Átomo, 2010. 209p.

CANADIAN ENVIRONMENTAL QUALITY GUIDELINES. Sediment Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life, 1998. Disponível em: <http://st-ts.ccme.ca/>. Acesso em julho de 2014.

CARREIRA, R.S. et al. Distribuição de coprostanol (5b(H)-coleston-3b-ol) em sedimentos superficiais da Baía de Guanabara: indicador da poluição recente por esgotos domésticos. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 37-42, 2001.

CARREIRA, R.S.; WAGENER, A.L.R.; READMAN, J.W. Sterols as markers of sewage contamination in a tropical urban estuary (Guanabara Bay, Brazil): space-time variations. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 60, p. 587-598, 2004.

CARREIRA, R.S. et al. Lipid biomarkers in deep sea sediments from the Campos Basin, SE Brazilian continental margin. **Organic Geochemistry**, v. 41, p. 879-884, 2010.

CHARADIA, M.C.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 623-636, 2008.

COLE, R.B. Electrospray and MALDI Mass Spectrometry: **Fundamentals, Instrumentation, Practicalities and Biological Applications**. 2.ed. New York: John Wiley & Sons, 2010. 863p.

COLLINS; C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. **Fundamentos de Cromatografia**. Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2006. 453p.

COMMENDATORE, M.G.; ESTEVES, J.L. Natural and anthropogenic hydrocarbons in sediments from the Chubut River (Patagonia, Argentina). **Marine Pollution Bulletin**, v. 48, p. 910-918, 2004.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução nº 344 de 25 de março de 2004. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res04/res34404.xml>. Acesso em: julho de 2014.

CRANWELL, P.A.; EGLINTON, G.; ROBINSON, N. Lipids of aquatic organisms as potential contributors to lacustrine sediments – II. **Organic Geochemistry**, v. 11, p. 513-527, 1987.

DAMSTÉ, J.S.S. Early diagenesis of bacteriohopanepolyol derivatives: Formation of fossil homohopanoids. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 59, n. 24, p. 5141-5147, 1995.

DE LUCA, G. et al. Nature, distribution and origin of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the sediments of Olbia harbor (Northern Sardinia, Italy). **Marine Pollution Bulletin**, v. 50, p. 1223-1232, 2005.

DESHMUKH, A.P.; CHEFETZ, B.; HATCHER, P.G. Characterization of organic matter in pristine and contaminated coastal marine sediments using solid-state ^{13}C NMR, pyrolytic and thermochemolytic methods: a

case study in the San Diego harbor area. **Chemosphere**, v. 45, p. 1007-1022, 2001.

EGLINTON, G.; HAMILTON, R.J. Leaf epicuticular waxes. **Science**, v. 156, p. 1322-1335, 1967.

ESTEVEES, F.A. **Fundamentos de limnologia**. 2.ed. Rio de Janeiro: Interciência, 1998. 602 p.

FANG, M-D.; LEE, C-L.; YU, C-S. Distribution and source recognition of polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediments of Hsin-ta Harbour and adjacent coastal areas, Taiwan. **Marine Pollution Bulletin**, v. 46, p. 941-953, 2003.

FATTORE, E. Sterols in sediment samples from Venice Lagoon, Italy. **Chemosphere**, v. 33, n. 12, p. 2383 – 2393, 1996.

FERNANDES, M.B. et al. Sedimentary 4-desmethyl sterols and n-alkanols in an eutrophic urban estuary, Capibaribe River, Brazil. **The Science of the Total Environment**, v. 231, p. 1-16, 1999.

FICKEN, K.J. et al. An n-alkane proxy for the sedimentary input of submerged/floating freshwater aquatic macrophytes. **Organic Geochemistry**, v. 31, n. 7/8, p. 745-749, 2000.

FILHO, P.J.S. et al. Evaluation of surface sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the “Saco do Laranjal”- (Patos Lagoon, Brazil). **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, p. 1933-1937, 2012.

FRYSINGER, G.S. Resolving the Unresolved Complex Mixture in Petroleum-contaminated sediments. **Environmental Science & Technology**, v. 37, n. 8, p. 1653-1662, 2003.

FURTULA, V. et al. Inorganic nitrogen, sterols and bacterial source tracking as tools to characterize water quality and possible contamination sources in surface water. **Water Research**, v. 46, p. 1079-1092, 2012.

GAO, X. et al. Non-aromatic hydrocarbons in surface sediments near the Pearl River estuary in the South China Sea. **Environmental Pollution**, v. 148, p. 40-47, 2007.

GARRIGUES, P. et al. Pyrolytic and petrogenic inputs in recent sediments: a definitive signature through phenanthrene and chrysene compounds distribution. **Polycyclic Aromatic Compounds**, v. 7, n. 4, p. 275-284, 1995.

GRILO, C.F. et al. Evaluation of the influence of urbanization processes using mangrove and fecal markers in recent organic matter in a tropical tidal flat estuary. **Applied Geochemistry**, v. 38, p. 82-91, 2013.

GRIMALT, J.O. et al. Assessment of fecal sterols and ketones as indicators of urban sewage inputs to coastal waters. **Environmental Science & Technology**, v. 24, p. 357-363, 1990.

GUO, W. et al. Aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in the Xihe River, an urban river in China's Shenyang City: distributions and risk assessment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 186, p. 1193-1199, 2011.

HARJI, R.R.; YVENAT, A.; BHOSLE, N.B. Sources of hydrocarbons in sediments of the Mandovi estuary and the Marmugoa harbor, west coast of India. **Environment International**, v. 34, p. 959-965, 2008.

HE, X. et al. Distribution, sources and ecological risk assessment of PAHs in surface sediments from Guan River Estuary, China. **Marine Pollution Bulletin**, v. 80, p. 52-58, 2014.

HEDGES, J.I.; OADES, J.M. Comparative organic geochemistries of soils and marine sediments. **Organic Geochemistry**, v. 27, n. 7/8, p. 319-361, 1997.

HOFFMANN, E.; STROOBANT, V. **Mass Spectrometry: Principles and Applications**. 3.ed. England: John Wiley and Sons, 2007. 502p.

HU, L. et al. Distribution of sedimentary organic matter in estuarine-inner shelf regions of the East China Sea: Implications for hydrodynamic forces and anthropogenic impact. **Marine Chemistry**, v. 142, p. 29-40, 2012.

HÜBSCHMANN, H-J. **Handbook of GC-MS: Fundamentals and Applications**. 2.ed. Weinheim: WILEY-VCH, 2009. 719p.

JAFFÉ, R. et al. Origin and transport of sedimentary organic matter in two subtropical estuaries: a comparative, biomarker-based study. **Organic Geochemistry**, v. 32, p. 507-526, 2001.

JENG, W-L. Higher plant n-alkane average chain length as an indicator of petrogenic hydrocarbon contamination in marine sediments. **Marine Chemistry**, v. 102, p. 242-251, 2006.

KENNISH, M.J. **Ecology of estuaries: anthropogenic effects**. Florida: CRC Press, 1992. 494p.

KILLOPS, S.D.; KILLOPS, V.J. **An introduction to organic geochemistry**. 2.ed. USA: Longman Scientific & Technical, 1993. 265p.

KILLOPS, S.D.; KILLOPS, V.J. **Introduction to organic geochemistry**. 2.ed. USA: Blackwell Publishing, 2005. 406p.

KLITZKE, C.F. et al. Petroleomics by ultrahigh-resolution time-of-flight mass spectrometry. **Energy Fuel**, v. 26, p. 5787-5794, 2012.

KRISTENSEN, E. et al. Organic carbon dynamics in mangrove ecosystems: a review. **Aquatic Botany**, v. 89, p. 201-219, 2008.

LEE, S.R. Determination of phytosterols in *Oryza sativa* L. cultivars by liquid chromatography atmospheric chemical ionization time-of-flight mass spectrometer (LC-APCI-TOF-MS) coupled with a modified QuEChERS method. **Journal of Agricultural Chemistry and Environment**, v. 1, n. 1, p. 15-19, 2012.

LEITE, N.F.; PERALTA-ZAMORA, P.; GRASSI, M.T. Distribution and origin of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments from an urban river basin at the Metropolitan Region of Curitiba, Brazil. **Journal of Environmental Sciences**, v. 23, n. 6, p. 904-911, 2011.

LIMA, M.B.; et al. Distribution and sources of aliphatic hydrocarbons in surface sediments of Sergipe River estuarine system. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, p. 1721-1725, 2012.

LIU, Y. et al. Distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of rivers and an estuary in Shanghai, China. **Environmental Pollution**, v. 154, p. 298-305, 2008.

LONG, E.R. et al. Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. **Journal of Environmental Management**, v. 19, p. 18-97, 1995.

MAC DONALD, D.D. et al. Development and evaluation of sediment quality guidelines for Florida coastal waters. **Ecotoxicology**, v. 5, p. 253-278, 1996.

MAC DONALD, D.D.; INGERSOLL, C.G.; BERGER, T.A. Development and evaluation of consensus-based sediment quality guidelines for freshwater ecosystems. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 39, p. 20-31, 2000.

MACHADO, K.S. et al. Assessment of historical fecal contamination in Curitiba, Brazil, in the last 400 years using fecal sterols. **Science of the Total Environment**, v. 493, p. 1065-1072, 2014.

MACKENZIE, A.S.; PATIENCE, R.L.; MAXWELL, J.R. Molecular parameters of maturation in the Toarcian shales, Paris Basin, France – I. Changes in the configurations of acyclic isoprenoid alkanes, steranes and triterpanes. **Geochemica et Cosmochimica Acta**, v. 44, n. 11, p. 1709-1721, 1980.

MADUREIRA, L.A.S. Compostos orgânicos em sedimentos marinhos: uma viagem ao fundo do Oceano Atlântico Norte. **Química Nova**, v. 25, n. 5, p. 814-824, 2002.

MAIOLI, O.L.G. et al. Pollution source evaluation using petroleum and aliphatic hydrocarbons in surface sediments from two Brazilian estuarine systems. **Organic Geochemistry**, v. 41, p. 966-970, 2010.

MAIOLI, O.L.G. et al. Distribution and sources of aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in suspended particulate matter in water from two Brazilian estuarine systems. **Continental Shelf Research**, v.31, p.1116-1127, 2011.

MARTINS, C.C.; FILLMANN, G.; MONTONE, R.C. Natural and anthropogenic sterols inputs in surface sediments of Patos Lagoon, Brasil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 1, p. 106-115, 2007.

MARTINS, C.C. et al. Marcadores orgânicos de contaminação por esgotos sanitários em sedimentos superficiais da baía de Santos, São Paulo. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1008-1014, 2008.

MARTINS, C.C. et al. Multi-molecular markers and metals as traces of organic matter inputs and contamination status from an Environmental Protection Area in the SW Atlantic (Laranjeiras Bay, Brazil). **Science of the Total Environment**, v. 417-418, p. 158-168, 2012.

MATER, L. et al. Assessment of lipid compounds and phosphorus in mangrove sediments of Santa Catarina Island, SC, Brazil. *Journal of Brazilian Chemical Society*, v. 15, p. 1-10, 2004.

MC CREADY, S.; BIRCH, G.F.; LONG, E.R. Metallic and organic contaminants in sediments of Sydney Harbour, Australia and vicinity – A chemical dataset for evaluating sediment quality guidelines. **Environment International**, v. 32, p. 455-465, 2006.

MC NAIR, H.M.; MILLER, J.M. **Basic Gas Chromatography**. New York: John Wiley & Sons, 1998. 104p.

MC SWEEN JR, H.Y.; RICHARDSON, S.M.; UHLE, M.E. **Geochemistry: pathways and processes**. 2.ed. New York: Columbia University Press, 2003. 381p.

MEAD, R. et al. Sediment and soil organic matter source assessment as revealed by the molecular distribution and carbon isotopic composition of n-alkanes. **Organic Geochemistry**, v.36, p. 363-370, 2005.

MEDEIROS, P.M. et al. Natural and anthropogenic hydrocarbon inputs to sediments of Patos Lagoon Estuary, Brazil. **Environment International**, v. 31, p. 77-87, 2005.

MENICONI, M.F.G. **Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos no meio ambiente: diferenciação de fontes em sedimentos e metabólitos**

em bile de peixes. 2007. 192f. Tese (Doutorado em Química), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.

MEYERS, P.A.; ISHIWATARI, R. Lacustrine organic geochemistry – an overview of indicators of organic matter sources and diagenesis in lake sediments. **Organic Geochemistry**, v. 20, p. 867-900, 1993.

MEYERS, P.A. Applications of organic geochemistry to paleolimnological reconstructions: a summary of examples from the Laurentian Great Lakes. **Organic Geochemistry**, v. 34, p. 261-289, 2003.

MILLE, G. et al. Sources of hydrocarbons in sediments of the Bay of Fort de France (Martinique). **Chemosphere**, v.64, p. 1062-1073, 2006.

MILLE, G. et al. Hydrocarbons in coastal sediments from the Mediterranean sea (Gulf of Fos area, France). **Marine Pollution Bulletin**, v. 54, p. 566-575, 2007.

MOLDOWAN, J.M.; MC CAFFREY, A. A novel microbial hydrocarbon degradation pathway revealed by hopane demethylation in a petroleum reservoir. **Geochemica et Cosmochimica Acta**, v. 59, n. 9, p. 1891-1894, 1995.

MONTONE, R.C. et al. Distribution of sewage input in marine sediments around a maritime Antarctic research station indicated by molecular geochemical indicators. **Science of the Total Environment**, v. 408, p. 4665-4671, 2010.

MORRISON, R.D.; MURPHY, B.L. **Environmental Forensics**. London: Elsevier, 2006. 579p.

MOSTAFA, A.R. et al. Distribution and characteristics of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediments of Hadhramout coastal area, Gulf of Aden, Yemen. **Journal of Marine Systems**, v. 78, p. 1-8, 2009.

MUDGE, S.M.; BEBIANNO, M.J. Sewage contamination following an accidental spillage in the Ria Formosa, Portugal. **Marine Pollution Bulletin**, v. 34, n. 3, p. 163-170, 1997.

MUNIZ, P. et al. Assessment of contamination by heavy metals and petroleum hydrocarbons in sediments of Montevideo Harbour (Uruguay). **Environment International**, v. 29, p. 1019-1028, 2004.

MUNIZ, P. et al. Trace metals and organic compounds in the benthic environment of a subtropical embayment (Ubatuba Bay, Brazil). **Marine Pollution Bulletin**, v. 52, p. 1090-1117, 2006.

NEUNLIST, S.; RODIER, C.; LLOPIZ, P. Isotopic biogeochemistry of the lipids in recent sediments of Lake Bled (Slovenia) and Baldeggersee (Switzerland). **Organic Geochemistry**, v. 33, p. 1183-1195, 2002.

NOTAR, M.; LESKOVSEK, H.; FAGANELI, J. Composition, distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments of the Gulf of Trieste, Northern Adriatic Sea. **Marine Pollution Bulletin**, v. 42, n. 1, p. 36-44, 2001.

OLIVEIRA, C.R.; MADUREIRA, L.A.S. Assessment and sources of nonaromatic hydrocarbons in surface sediments of three harbors in Santa Catarina State, Brazil. **Environmental Monitoring Assessment**, v. 173, p. 91-105, 2011.

OURISSON, G.; ALBRECHT, P. Hopanoids. 1. Geohopanoids: the most abundant natural products of Earth? **Accounts of Chemical Research**, v. 25, p. 398-402, 1992.

PENG, X. et al. Tracing anthropogenic contamination in the Pearl River estuarine and marine environment of South China Sea using sterols and other organic molecular markers. **Marine Pollution Bulletin**, v. 50, p. 856-865, 2005.

PEREIRA FILHO, J.; SPILLERE, L.C.; SCHETTINI, C.A.F. Dinâmica de nutrientes na região portuária do estuário do rio Itajaí-açu, SC. **Atlântica**, v.25, n.1, p. 11-20, 2003.

PETERS, K.E.; MOLDOWAN, J.M. **The Biomarker guide: Interpreting Molecular Fossils in Petroleum and Ancient Sediments**. 1.ed. New Jersey: Prentice-Hall Inc.,1993. 363p.

PETERS, K.E.; WALTERS, C.C.; MOLDOWAN, J.M. **The Biomarker guide: Biomarkers and isotopes in the environment and**

human history. 2.ed.v.1. United Kingdom: Cambridge University Press, 2005. 470p.

PHILP, R.P. **Fossil fuel biomarkers, applications and spectra**. Methods in Geochemistry and Geophysics. Amsterdam: Elsevier, 1985. 294p.

PIETZSCH, R.; PATCHINEELAM, S.R.; TORRES, J.P.M. Polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediments from a subtropical estuary in Brazil. **Marine Chemistry**, v. 118, p. 56-66, 2010.

POERSCHMANN, J.; KOSCHORRECK, M.; GÓRECKI, T. Organic matter in sediments of an acidic mining lake as assessed by lipid analysis. Part I: Fatty acids. **Science of the Total Environment**, v. 414, p. 614-623, 2012.

PUERARI, L. et al. Regional assessment of sewage contamination in sediments of the Iguaçú and the Barigui Rivers (Curitiba City, Paraná, Southern Brazil) using fecal steroids. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n.11, p. 2027-2034, 2012.

RAHMANPOOR, S. et al. Distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of the Hormuz strait, Persian Gulf. **Marine Pollution Bulletin**, v. 78, p. 224-229, 2014.

RAMPEN, S.W. et al. Diatoms as a source for 4-desmethyl-23,24-dimethyl steroids in sediments and petroleum. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 73, p. 377-387, 2009.

READMAN, J.W. et al. Petroleum and PAH contamination of the Black Sea. **Marine Pollution Bulletin**, v. 44, p. 48-62, 2002.

READMAN, J.W. et al. The use of steroid markers to assess sewage contamination of the Black Sea. **Marine Pollution Bulletin**, v. 50, p. 310-318, 2005.

RIBEIRO, M.A.T.S.B.; KNOPPERS, B.A.; CARREIRA, R.S. Fontes e distribuição de matéria orgânica sedimentar no complexo estuarino-lagunar de Mundaú-Manguaba/Al, utilizando esteróis e alcoóis como indicadores. **Química Nova**, v. 34, n.7, p. 1111-1118, 2011.

RIELEY, G. et al. Sources of sedimentary lipids deduced from stable carbon-isotope analyses of individual compounds. **Nature**, v. 352, p. 425-427, 1991.

RODIER, L.; KHALIL, M.F. Fatty acids in recent sediments in the St. Lawrence Estuary. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 15, p. 473-483, 1982.

RODRIGUES NETO, R.; MADUREIRA, L.A.S. Caracterização de biomarcadores nos sedimentos da Lagoa do Peri, Ilha de Santa Catarina, SC. **Acta Limnológica Brasiliensia**, v. 12, p. 112-125, 2000.

SCHEFUB, E. et al. Lipid biomarkers as a major source and preservation indicators in SE Atlantic surface sediments. **Deep-Sea Research**, v. 51, p. 1199-1228, 2004.

SCHETTINI, C.A.F. Caracterização física do estuário do rio Itajaí-açu, SC. **Revista Brasileira de Recursos hídricos**, v.7, n.1, p. 123-142, 2002.

SCHULZ, H.D.; ZABEL, M. **Marine Geochemistry**. 2.ed. Germany: Springer, 2006. 582p.

SEIFERT, W.K.; MOLDOWAN, J.M. The effect of thermal stress on source-rock quality as measured by hopane stereochemistry. **Physical Chemistry Earth**, v. 12, p. 229-237, 1980.

SEWALD, A.M. et al. Caracterização química do extrato orgânico de sedimentos em áreas de cultivo de ostras e mexilhões na Baía Sul de Florianópolis, SC. **Revista Virtual de Química**, v.4, n.4, p. 413-433, 2012.

SHANCHUN, J.; RONGFEN, J.; ZUOFENG, L. The evolution of stenols and stanols in marine sediment core from Beibu Bay, the South China Sea. **Chinese Journal of Oceanology and Limnology**, v. 10, n. 1, p. 92-96, 1992.

SILVA, L.S.V. et al. Quantitative evaluation of sedimentary organic matter from Laguna Mar Chiquita, Argentina. **Organic Geochemistry**, v. 39, p. 450-464, 2008.

SILVA, T.R. et al. Source characterization using molecular distribution and stable carbon isotopic composition of n-alkanes in sediment cores from the tropical Mundaú-Manguaba estuarine-lagoon system, Brazil. **Organic Geochemistry**, v.53, p. 25-33, 2012.

SIMCIK, M.F.; OFFENBERG, J.H. In: The Handbook of Environmental Chemistry. **Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Great Lakes**. Berlin: Springer-Verlag, 2005. v. 5, Part N. p. 307-353.

SIMONEIT, B.R.T. Biomarkers (molecular fossils) as geochemical indicators of life. **Advances in Space Research**, v. 33, p. 1255-1261, 2004.

SKOOG, D.A. et al. **Fundamentos de Química Analítica**. 1.ed. São Paulo: Thomson, 2006. 999p.

SOJINU, S.O. et al. Assessing anthropogenic contamination in surface sediments of Niger Delta, Nigeria with fecal sterols and n-alkanes as indicators. **Science of the Total Environment**, v. 441, p. 89-96, 2012.

SPROVIERI, M. et al. Heavy metals, polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in surface sediments of the Naples harbor (southern Italy). **Chemosphere**, v. 67, p. 998-1009, 2007.

STEFANOVA, M.; DISNAR, J.R. Composition and early diagenesis of fatty acids in lacustrine sediments, lake Aydat (France). **Organic Geochemistry**, v. 31, p. 41-55, 2000.

SUGUIO, K. **Introdução à sedimentologia**. São Paulo: EDUSP, 1973. 317p.

TAROZO, R.; FRENA, M.; MADUREIRA, L.A.S. Geochemical markers as a tool to assess sedimentary organic matter sources of the Laguna estuarine system: aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n.12, p. 2308-2318, 2010.

TIAN, R.C.; SICRE, M.A.; SALIOT, A. Aspects of the geochemistry of sedimentary sterols in the Chang Jiang Estuary. **Organic Geochemistry**, v. 18, n. 6, p. 843-850, 1992.

TOLOSA, I.; MESA, M.; ALONSO-HERNANDEZ, C.M. Steroid markers to assess sewage and other sources of organic contaminants in surface sediments of Cienfuegos Bay, Cuba. **Marine Pollution Bulletin**, v. 86, n. 1-2, p. 84-90, 2014.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Method EPA 3550C –**Ultrasonic Extraction**. EPA: Ohio, United States, 2007. Disponível em: <http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3550c.pdf>

VENTURINI, N.; TOMMASI, L.R. Polycyclic aromatic hydrocarbons and changes in the trophic structure of polychate assemblages in sediments of Todos os Santos Bay, Northeastern, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 48, p. 97-107, 2004.

VOLKMAN, J.K. A review of sterols markers for marine and terrigenous organic matter. **Organic Geochemistry**, v. 9, n. 2, p. 83-99, 1986.

VOLKMAN, J.K. et al. Identification of natural, anthropogenic and petroleum hydrocarbons in aquatic sediments. **Science of the Total Environment**, v. 112, p. 203-219, 1992.

VOLKMAN, J.K. et al. Microalgal biomarkers: A review of recent research developments. **Organic Geochemistry**, v. 29, n.5-7, p. 1163-1179, 1998.

VOLKMAN, J.K. et al. Sources of organic matter in sediments from the Ord River in tropical northern Australia. **Organic Geochemistry**, v. 38, p. 1039-1060, 2007.

WANG, X-C.; ZHANG, Y-X.; CHEN, R.F. Distribution and partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in different size fractions in sediments from Boston Harbor, United States. **Marine Pollution Bulletin**, v. 42, n. 11, p. 1139-1149, 2001.

WOSZCZYK, M. et al. Composition and origin of organic matter in surface sediments of Lake Sarbsko: a highly eutrophic and shallow coastal lake (northern Poland). **Organic Geochemistry**, v. 42, p. 1025-1038, 2011.

WU, J. et al. Determination of faecal sterols by gas chromatography-mass spectrometry with solid-phase extraction and injection-port derivatization. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, p. 1053-1058, 2009.

YUNKER, M.B. et al. PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. **Organic Geochemistry**, v. 33, p. 489-515, 2002.

ZAGHDEN, H. et al. Sources and distribution of aliphatic and polyaromatic hydrocarbons in sediments of Sfax, Tunisia, Mediterranean Sea. **Marine Chemistry**, v. 105, p. 70-89, 2007.

ZEGOUAGH, Y. et al. Organic matter sources and early diagenetic alterations in Arctic surface sediments (Lena River delta and Laptev Sea, Eastern Siberia), II.: Molecular and isotopic studies of hydrocarbons. **Organic Geochemistry**, v. 28, n. 9-10, p. 571-582, 1998.

CAPÍTULO II. Desenvolvimento de metodologia analítica para a determinação de elementos-traço em amostras de sedimento estuarino.

2.1 INTRODUÇÃO

Estuários são regiões de ativas interações terra-oceano, que respondem com sensibilidade a processos naturais e atividades antrópicas. Dentre os ecossistemas marinhos, os estuários estão entre os mais complexos e dinâmicos, e são fundamentais para o desenvolvimento de muitas espécies aquáticas (CHAPMAN; WANG, 2001; YU; YAN, WANG, 2010; CAMPOS, 2010). Devido a sua posição na interface oceano-continente, estuários são fortemente influenciados por atividades humanas, como a indústria, o transporte marítimo, as atividades de pesca e o turismo, entre outras (DAUVIN et al., 2006).

A poluição em estuários é caracterizada por complexas interações, resultando em um efeito de perturbação no ecossistema, em geral afetando a integridade biótica do sistema estuarino (DAUVIN, 2008). A abundância e a distribuição de elementos-traço em regiões estuarinas podem fornecer informações importantes em relação à qualidade ambiental, como resultado da transferência de metais dos sedimentos para a biota aquática (SILVA et al., 2004; DAUVIN, 2008; KAMALA-KANNAN et al., 2008).

Na literatura, existem alguns trabalhos que relacionam a concentração de elementos-traço à poluição de estuários, o que leva a uma melhor compreensão do seu comportamento e da sua importância para a detecção das fontes de poluição (COBELO-GARCÍA; PREGO, 2003; MUCHA; VASCONCELOS; BORDALLO, 2005; MAGESH; CHANDRASEKAR; ROY, 2011; COBELO-GARCÍA et al., 2011). Para que a determinação desses elementos reflita a real situação do ambiente em que se encontram, cuidados na coleta e no plano de amostragem devem ser tomados. Além disso, é necessário transformar a amostra em uma forma adequada, de modo que a espécie química de interesse seja determinada. Por isso, métodos analíticos precisos, incluindo o preparo de amostras, são necessários para evitar erros na interpretação dos resultados e inferir sobre o comportamento dos elementos-traço e conseqüentemente na detecção da fonte de poluição do ecossistema.

Diversas técnicas analíticas são utilizadas para determinação de elementos-traço. Dentre elas, a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) merece destaque por ser uma poderosa técnica para análise multielementar. No entanto, abordagens apropriadas de preparo de amostra devem ser adotadas antes da análise, visando à disponibilidade dos analitos à solução aquosa (JARVIS;

GRAY; HOUK, 1992; SAITOH et al., 2002). Geralmente, o preparo de amostras para análise por ICP-MS envolve procedimentos de digestão ácida, que são demorados, requerem o uso de quantidades relativamente grandes de ácidos inorgânicos, aumentando a possibilidade de perda de elementos voláteis e o risco de contaminação da amostra (KRISHNA; ARUNACHALAM, 2004; ROVAI et al., 2013). Além disso, as principais desvantagens encontradas nos procedimentos de digestão são o elevado custo dos fornos de micro-ondas disponíveis comercialmente para fins analíticos, o curto tempo de vida dos recipientes de digestão operados a altas pressões e o risco de explosões (BATISTA et al., 2009). Para evitar esses problemas, procedimentos de extração assistida por ultrassom têm sido propostos para a determinação multielementar por ICP-MS em várias matrizes - como a biológica (BATISTA et al., 2009), a alimentar (PICÓ, 2013; SANTOS et al., 2009) e a ambiental (DE LA CALLE et al., 2011; MARÍN et al., 2011), sendo esta última considerada um método analítico verde, devido ao baixo consumo de solventes e energia (BENDICHO et al., 2012). No entanto, estudos relacionados à extração assistida por ultrassom em matrizes como solo e sedimento são ainda escassos e envolvem apenas alguns elementos (COLLASIOL; POZEBON; MAIA, 2004; DE LA CALLE et al., 2013).

Neste sentido, a pesquisa a respeito de um processo inédito de extração assistida por ultrassom para a determinação de elementos-traço em sedimentos é de grande utilidade, na medida em que busca criar um procedimento relativamente rápido, preciso e de baixo custo. Assim, o objetivo deste estudo é otimizar um procedimento de extração utilizando ultrassom para a determinação de elementos-traço em amostras de sedimento estuarino.

2.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.2.1 ELEMENTOS-TRAÇO NO AMBIENTE

Elementos-traço desempenham um importante papel no funcionamento da vida no nosso planeta. Alguns elementos-traço podem ser altamente tóxicos para várias formas de vida; outros são considerados essenciais, embora possam tornar-se tóxicos em concentrações elevadas. Muitos destes efeitos dependem fortemente da forma particular em que o elemento está presente no sistema. Por exemplo, Cr (III) é um elemento-traço essencial envolvido com o metabolismo da glicose, lipídios e proteínas, enquanto Cr (VI) é tóxico para os sistemas biológicos. Frequentemente estas diferentes formas químicas de um elemento são referidas como espécies e o termo análise de especiação refere-se à identificação e determinação de diferentes formas e espécies em que o elemento está presente na amostra ou matriz (IUPAC, 2000; TWISS et al., 2000; KOTAS e STASICKA, 2000).

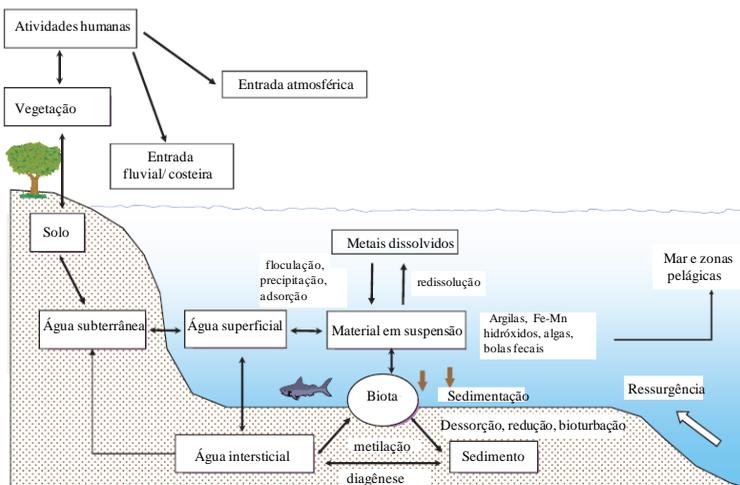
Elementos-traço podem estar presentes em ambientes estuarinos como espécies dissolvidas, íons livres ou formando complexos orgânicos com ácidos húmicos e fúlvicos. Além disso, alguns metais como o chumbo, por exemplo, podem se associar facilmente com partículas e ficar adsorvidos ou coprecipitados com carbonatos, hidróxidos, sulfetos e argilominerais (ESTEVEES, 1998; SPENCER, MAC LEOD, 2002).

Todos os elementos-traço circulam naturalmente pelo meio ambiente. Eles são liberados das rochas pelo intemperismo e transportados por uma variedade de mecanismos, incluindo a absorção e o processamento pelas plantas e pelos micro-organismos (SPIRO; STIGLIANI, 2009).

A maioria dos elementos-traço faz parte, embora em baixas concentrações, tanto da constituição da crosta terrestre como dos organismos (ESTEVEES, 1998). No entanto, com a industrialização do mundo moderno, as atividades humanas têm alterado drasticamente os ciclos biogeoquímicos e o equilíbrio de alguns elementos-traço. Estes não podem ser degradados ou destruídos e tornam-se estáveis e persistentes contaminantes que tendem a se acumular nos sedimentos. No entanto, os sedimentos são reservatórios dinâmicos sujeitos a rápidas mudanças. Quando mudanças nas condições ambientais (pH, potencial redox) provocam a remobilização dos elementos-traço, eles podem ser transferidos dos sedimentos para os organismos bênticos, tornando-se

um risco potencial para os consumidores humanos pela incorporação através da alimentação (Figura 2.1) (AGBOOLA, 2011).

Figura 2.1. Representação esquemática de reservatórios de elementos-traço e suas interações em sistemas costeiros. Adaptado a partir de AGBOOLA, 2011.



As principais fontes antropogênicas de elementos-traço são fontes pontuais industriais, incluindo atuais e antigas atividades de mineração, fundições, construção naval, indústrias químicas e metálicas, e fontes difusas, como a combustão de subprodutos. A dispersão desses elementos na fase particulada é usualmente pequena, mas elementos-traço relativamente voláteis e aqueles que se agregam a partículas transportadas pelo ar podem ser amplamente dispersos em larga escala (AGBOOLA, 2011).

Segundo Esteves (1998) apud Forstner e Muller (1974), Hg, Cd, Pb, Au, Cu, Ni e Cr são os elementos-traço mais tóxicos para a maioria dos organismos, incluindo o homem. Eles podem ser introduzidos no ambiente de diversas formas. A entrada de cádmio no solo, por exemplo, ocorre principalmente por deposição de partículas suspensas no ar (úmidas e secas) e fertilizantes comerciais de fosfato, que contêm cádmio como um componente natural do minério de fosfato (SPIRO; STIGLIANI, 2009).

Entre as diversas substâncias contaminantes, destaca-se a determinação de níquel e vanádio, utilizada para inferir sobre uma possível contaminação por petróleo e derivados. As concentrações dos

elementos-traço em combustíveis fósseis podem variar de acordo com a fonte do campo petrolífero, embora os valores mais elevados sejam geralmente encontrados para níquel e vanádio. Estes são concentrados na fração mais pesada do óleo durante o processo de destilação fracionada do petróleo (SANTOS-ECHEANDÍA; PREGO; COBELO-GARCÍA, 2008). Níquel e vanádio ocorrem em óleo cru como duas distintas classes de compostos: porfirinas e não-porfirinas (QUADROS et al., 2010).

O vanádio pode ser introduzido no ambiente durante a extração de produtos petroquímicos e na produção de aços, pigmentos, materiais fotográficos e inseticidas. É esperado que, após a extração do óleo bruto e sua deposição acidental em sedimentos superficiais, decomposição bacteriana, dissolução e oxidação da maioria dos componentes orgânicos e remineralização da matriz orgânica, elementos-traço como o vanádio possam ser incorporados ao sedimento, aumentando os níveis de metais no sedimento local (COLINA et al., 2005).

2.2.2 PREPARO DE AMOSTRA

O preparo de amostra é geralmente necessário em uma análise química e consiste na transformação da amostra em uma forma adequada para que a espécie química de interesse seja determinada (HARRIS, 2008; KRUG, 2008). É considerada a etapa crítica de um procedimento analítico em vista dos riscos de perda de analitos, contaminação e decomposição incompleta da amostra (ROCHA et al., 2013). Além das fontes sistemáticas de erros, o preparo de amostra é frequentemente a etapa mais demorada de um procedimento analítico (ARRUDA; SANTELLI, 1997; BATISTA et al., 2009; KRUG, 2008; ROCHA et al., 2013).

Um procedimento ideal de preparo de amostra deve apresentar as seguintes características: capacidade de digestão de grandes quantidades de amostras, compatibilidade com os princípios de química verde, segurança, simplicidade e rapidez (NÓBREGA et al., 2012).

No final da década de 1970, a utilização da radiação microondas foi proposta como uma estratégia analítica para a decomposição de amostras e, gradualmente, vem se tornando uma ferramenta comum no preparo de amostras, sendo empregada para as mais diferentes aplicações, tais como síntese orgânica, síntese de compostos organometálicos ou inorgânicos, catálise, entre outras (VIEIRA et al., 2005; KRUG, 2008). Além disso, esta é uma metodologia bem

estabelecida também para o tratamento de amostras visando à determinação de metais.

Nas decomposições assistidas por micro-ondas, ocorre o efeito de absorção da radiação. Nessa situação, a energia eletromagnética das micro-ondas é absorvida e convertida em energia térmica, na forma de calor, com o conseqüente aquecimento do meio reacional. Como os materiais diferem em relação à habilidade de conversão de energia eletromagnética das micro-ondas em calor, é importante conhecer o fator de dissipação de energia dos mesmos. Este fator representa a capacidade que cada material possui em absorver energia da radiação micro-ondas, sendo que a absorção está diretamente relacionada ao grau de penetração da radiação no material. A penetração é nula em materiais que refletem micro-ondas, como os metais, e infinita nos meios transparentes (quartzo e PTFE – politetrafluoretileno - são, praticamente, transparentes) (KRUG, 2008).

Embora fornos de micro-ondas sejam amplamente usados em laboratórios analíticos, esses sistemas apresentam limitações e desvantagens, como o alto custo dos instrumentos, os longos tempos necessários para o resfriamento e posterior abertura dos frascos, a baixa frequência analítica e os riscos de explosões (BATISTA et al., 2009).

Entre os métodos de preparo de amostras utilizados em espectrometria atômica e de massas, observou-se nos últimos anos um crescente desenvolvimento de métodos utilizando ultrassom. No entanto, observa-se na literatura que o número de métodos de extração assistidos por ultrassom ainda é pequeno quando comparado ao número de métodos de decomposição assistidos por radiação micro-ondas (KRUG, 2008).

O ultrassom pode promover processos como extração, dissolução e digestão, quando aplicado a amostras de sólidos pulverizados em um meio líquido. Devido à cavitação, o analito pode ser solubilizado pelas altas temperaturas obtidas no interior das bolhas de cavitação. As altas pressões que ocorrem dentro das bolhas melhoram a penetrabilidade do solvente e o transporte (CASTRO; CAPOTE, 2007; BENDICHO et al., 2012).

A habilidade do ultrassom em causar cavitação depende de suas características (por exemplo, frequência e intensidade), das propriedades da matriz (viscosidade e tensão superficial) e condições ambientais (temperatura e pressão). Além disso, requer um meio líquido, um gerador de energia e um transdutor, que transforma energia elétrica, magnética ou cinética em energia acústica (PICÓ, 2013).

As vantagens obtidas por meio do uso de processos de extração assistida por ultrassom são a significativa diminuição de tempo dos processos, com subsequente menor gasto de energia, o uso de menores quantidades e/ou menores concentrações de solventes e ácidos, a segurança do processo (o qual é conduzido à temperatura ambiente e pressão atmosférica), a diminuição de perdas de analitos, a redução do risco de contaminação e o baixo custo dos equipamentos (BENDICHO et al., 2012; PICÓ, 2013).

A extração assistida por ultrassom (UAE) de poluentes tem atraído um considerável interesse nos últimos anos, principalmente em matrizes alimentares e ambientais (PICÓ et al., 2013). A Tabela 2.1 apresenta algumas aplicações da UAE na extração de contaminantes em matrizes ambientais.

Tabela 2.1. Exemplos representativos do uso da UAE em matrizes ambientais

Matriz	Análitos	Recuperação (%)	Determinação	LOD	Referência
Água	Chumbo	-	GF AAS	20 µg mL ⁻¹	JIANG et al., 2012
Solo, sedimento, cinzas e lodo industrial	Prata e ouro	81-107 (Ag) 91-105 (Au)	ET AAS	0,012 µg g ⁻¹ (Ag) 0,050 µg g ⁻¹ (Ag)	DE LA CALLE et al., 2011
Poeira	Elementos-traço	85-125	ICP-MS	0,01-0,09 mg kg ⁻¹	MARIN et al., 2011
Solo e água	Telúrio	97-106	GF AAS	3 ng L ⁻¹	FATHIRAD et al., 2012
Solo e sedimento	Mercurio	-	CV-AAS	0,2 µg g ⁻¹	COLLASIOL et al., 2004
Material particulado	Cobre, molibdênio e Antimônio	-	HR-CS GF AAS	18 µg g ⁻¹ (Cu) 21 µg g ⁻¹ (Mo e Sb)	CASTILHO et al., 2012
Lodo de esgoto	Cádmio, cromo, cobre, níquel, chumbo e zinco	95-100	ET AAS	-	KAZI et al., 2006
Água	Pesticidas	75-111	LC-MS/MS	9 ng g ⁻¹	FENOLL et al., 2011

LOD: limite de detecção.

2.2.3 ESPECTROMETRIA DE MASSA COM PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO

Um dos problemas encontrados na determinação dos elementos-traço é a baixa concentração deles na matriz, o que exige um preparo adequado de amostra e o emprego de técnicas analíticas de alta sensibilidade. Existem diversas técnicas instrumentais que permitem determinar esses elementos nas mais diversas matrizes (água, solo, sedimento, alimentos), como a espectrometria de absorção atômica (ÁLVAREZ; CARRILLO, 2012; AZEVEDO; MOREIRA; CAMPOS, 2013), a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (NOMNGONGO et al., 2014), a voltametria de redissolução catódica (TEIXEIRA et al., 2014) e a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ORECCHIO et al., 2014; WANG; LEE; HO, 2014).

A espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado é, sem dúvida, nos dias atuais, a técnica mais versátil para a determinação de elementos-traço. É utilizada rotineiramente em diversas áreas como em ciências da terra, ambiental, forense e em alimentos, semicondutores e indústrias nucleares, podendo ser determinados quase todos os elementos da Tabela Periódica, em níveis que variam de pg mL^{-1} a $\mu\text{g mL}^{-1}$ (NELMS, 2005; AMMANN, 2007).

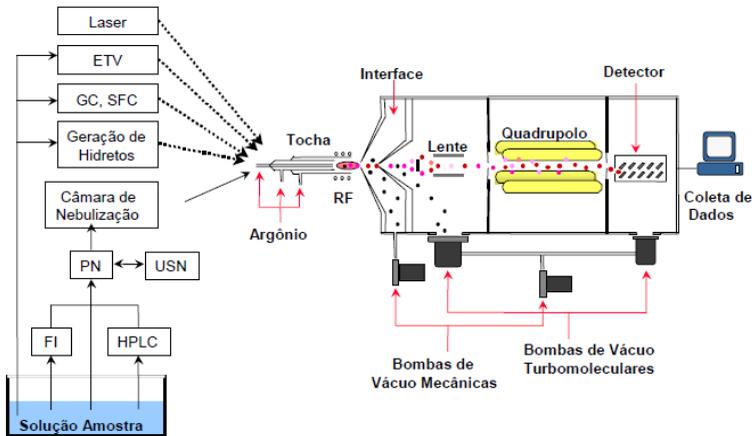
A espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado baseia-se na formação de íons gasosos gerados no plasma e transportados para o analisador de massas, onde os íons formados são separados em função da razão massa/carga (JARVIS; GRAY; HOUK, 1992; NELMS, 2005).

Um instrumento de ICP-MS é constituído dos seguintes componentes: sistema de introdução de amostra, fonte de íons, sistema de lentes, interface, analisador de massas e detector. A amostra pode ser introduzida no plasma por diversas formas: por meio de nebulizadores pneumáticos (PN) e ultrassônicos (USN), ou por meio de métodos específicos, como cromatografia a gás (GC), cromatografia líquida (HPLC), cromatografia com fluido supercrítico (SFC), vaporização eletrotérmica (ETV), ablação a laser, sistemas em fluxo (FI) e geração de hidretos (JARVIS; GRAY; HOUK, 1992; AMMANN, 2007). A Figura 2.2 apresenta um esquema do espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado e os possíveis sistemas de introdução de amostra.

O plasma indutivamente acoplado é a fonte de ionização mais amplamente utilizada para espectrometria de massa inorgânica e devido

a sua elevada temperatura, garante a quase completa decomposição da amostra em seus átomos constituintes e a ionização altamente eficiente da maior parte dos elementos da tabela periódica (NELMS, 2005).

Figura 2.2. Esquema de um instrumento de ICP-MS e possíveis sistemas de introdução da amostra no plasma. Fonte: POZEBON, 1998.



Uma vez que os íons são gerados no plasma, eles são direcionados ao espectrômetro de massas através da região de interface, a qual é mantida a um vácuo de 1 a 2 Torr. A função da região de interface é transportar os íons de forma eficiente e com integridade elétrica a partir do plasma, que está à pressão atmosférica (760 torr), até a região do analisador de massas, que está a cerca de 10^{-6} Torr. A região de interface consiste em dois cones metálicos com orifícios muito pequenos, chamados cone *skimmer* e cone amostrador, que permitem que os íons passem para a lente iônica, onde são guiados para o sistema analisador de massas, sendo o quadrupolo o mais utilizado (THOMAS, 2001).

2.2.4 OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA

Em química analítica, o termo otimização tem sido comumente usado como uma forma de descobrir as condições a serem aplicadas em um determinado procedimento a fim de obter a melhor resposta possível (BEZERRA et al., 2008).

A otimização de procedimentos analíticos por técnicas multivariadas é mais rápida, econômica e eficaz que a tradicional otimização univariada, pois permite entender circunstâncias não explicadas pela abordagem tradicional, isto é, se há interações entre os fatores que influenciam na resposta analítica (FERREIRA et al., 2003). Entre as vantagens associadas à otimização multivariada, destaca-se a redução no número de experimentos, resultando em um menor consumo de reagentes e menor tempo de trabalho em laboratório (LEARDI, 2009; TARLEY et al., 2009).

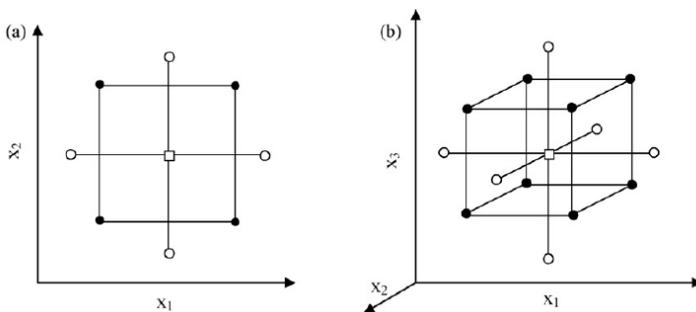
As técnicas multivariadas requerem que o usuário estabeleça valores mínimos e máximos para cada variável, definindo o domínio experimental a ser investigado durante a otimização (TARLEY et al., 2009). Entre as técnicas multivariadas mais relevantes utilizadas em otimizações analíticas está a metodologia de superfície de resposta (RSM). A RSM compreende uma coleção de técnicas matemáticas e estatísticas baseadas no ajuste, aos dados experimentais, de uma equação polinomial que deve descrever o comportamento de um conjunto de dados com o intuito de fazer previsões estatísticas. Isso pode ser bem aplicado quando uma resposta ou um conjunto de respostas de interesse são influenciadas por diversas variáveis. O objetivo é otimizar simultaneamente os níveis dessas variáveis a fim de atingir o melhor desempenho do sistema (BEZERRA et al., 2008).

Entre os diversos tipos de planejamento multivariados que permitem a construção de superfícies de respostas de forma a identificar a região de melhor desempenho do sistema, destacam-se o planejamento composto central, o planejamento Doehlert e o planejamento Box-Benken (BEZERRA et al., 2008; NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

2.2.4.1 Planejamento composto central

O planejamento composto central, introduzido por Box e Wilson em 1951, consiste basicamente de: (a) um planejamento fatorial completo ou um planejamento fatorial fracionário, (b) uma parte axial (ou em estrela), em que os pontos experimentais estão a uma distância α do centro e (c) um ponto central (FERREIRA et al., 2004; BEZERRA et al., 2008; NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010). A Figura 2.3 ilustra a representação gráfica do planejamento composto central para a otimização de duas e três variáveis.

Figura 2.3. Representação gráfica do planejamento composto central para a otimização de: (a) duas variáveis ($\alpha=1,41$) e (b) três variáveis ($\alpha=1,68$). (●) pontos do design fatorial, (○) pontos axiais e (□) ponto central. Fonte: BEZERRA et al., 2008.



De acordo com Bezerra et al. (2008), o planejamento composto central apresenta as seguintes características:

- (1) Requer número de experimentos de acordo com a equação: $N=k^2 + 2k + C_p$, onde k corresponde ao número de variáveis ou fatores e C_p representa o número de replicatas do ponto central;
- (2) Os valores de α dependem do número de variáveis e podem ser calculados por: $\alpha=2^{(k-p)/4}$. Para duas, três e quatro variáveis, os valores são, respectivamente: 1,41; 1,68 e 2,00;
- (3) Todos os fatores são estudados em cinco níveis ($-\alpha, -1, 0, +1, +\alpha$).

Em química analítica, o planejamento composto central tem sido amplamente utilizado, como na eletroanalítica (TARLEY et al., 2009), absorção atômica (ASADOLLAHZADEH et al., 2014), eletroforese (MAMANI et al., 2006) e cromatografia líquida (XU et al., 2014) e gasosa (MOREIRA et al., 2013; FRENA et al., 2014a).

2.3 OBJETIVOS

2.3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma metodologia analítica para a determinação de diferentes elementos-traço (As, Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Sn, V e Zn) em amostras de sedimento estuarino por ICP-MS, utilizando a extração ácida como preparo de amostra.

2.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Realizar a otimização de parâmetros instrumentais do ICP-MS, como a potência de radiofrequência e a vazão de gás de nebulização;
- ✓ Avaliar as variáveis que afetam o processo de extração por meio do planejamento multivariado para a determinação de elementos-traço em amostras de sedimentos;
- ✓ Obter os principais parâmetros analíticos de mérito para a validação da metodologia proposta;
- ✓ Avaliar a exatidão do método proposto utilizando materiais de referência certificados;
- ✓ Comparar os resultados obtidos no método proposto com os resultados obtidos no método convencional de digestão;
- ✓ Aplicar o método desenvolvido em diferentes amostras de sedimentos do estuário do rio Itajaí-Açu;
- ✓ Comparar os níveis obtidos a guias de qualidade de sedimento e a outras regiões.

2.4 MATERIAIS E MÉTODOS

2.4.1 LIMPEZA DO MATERIAL

Todo o material utilizado no processo de extração foi previamente lavado com água destilada e, quando reutilizado, imerso em solução de ácido nítrico (Merck, Darmstadt, Alemanha) 30% (v/v) por 72 horas, a fim de assegurar a descontaminação total por metais, com posterior enxágue em água desionizada, sendo acondicionado em local apropriado.

2.4.2 SOLVENTES, REAGENTES, PADRÕES E AMOSTRAS

Os solventes, reagentes e padrões utilizados foram de alto grau de pureza, assegurando qualidade e confiabilidade aos resultados.

Utilizou-se água desionizada com resistividade de 18,2 MΩ cm para o preparo de todas as soluções e padrões.

Ácido nítrico adquirido da Merck (Darmstadt, Alemanha) foi purificado pelo processo de bidestilação abaixo da temperatura de ebulição.

Ácido fluorídrico adquirido da Merck (Darmstadt, Alemanha) foi purificado pelo processo de tridestilação abaixo da temperatura de ebulição.

Solução padrão multielementar ICP 3 (contendo 10 mg L⁻¹ de Ag, Al, As, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Ce, Cu, Fe, Ga, In, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Rb, Se, Sr, Tl, U, V e Zn), adquirida da PerkinElmer (Shelton, USA), e soluções estoque individuais de Sn e Rh em meio ácido nítrico (Spex Industries, Edison, USA) foram utilizadas após diluição apropriada.

Amostras de sedimento do estuário do rio Itajaí-Açu, coletadas em julho de 2011, foram utilizadas para o desenvolvimento e aplicação do método proposto.

Três materiais de referência certificados foram utilizados para verificar a exatidão do método proposto: MESS-3 e PACS-2 de sedimentos marinhos, obtidos do Conselho Nacional de Pesquisa do Canadá (Ottawa, Canadá); e NCS DC 78301 de sedimento de rio, obtido do Centro Nacional de Análises da China para Ferro e Aço (Beijing, China).

2.4.3 INSTRUMENTAÇÃO

Para eliminar possíveis impurezas, a água passou por um sistema de destilação e, em seguida, foi desionizada em sistema Mili-Q (Milipore, Badford, MA, USA).

Um destilador de ácido de quartzo (Kurner Analysentechnik, Rosenheim, Alemanha) foi utilizado para purificação de ácido nítrico.

A extração das amostras de sedimento foi realizada em um ultrassom UltraCleaner 1400 (Callmex, São Paulo, Brasil), operando a uma frequência de 40 kHz.

Uma centrífuga Centribio modelo 80-2B (Biomol, São Paulo, Brasil) foi usada para a separação do sedimento sólido da solução sobrenadante após a extração em ultrassom.

Para comparação do método de extração proposto, as amostras de sedimentos foram digeridas em um forno de micro-ondas TOPwave (Analytik Jena) com temperatura e pressão controladas.

Para as determinações de elementos-traço foi utilizado um espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado modelo Elan 6000 (Perkin Elmer-Sciex, Thornhill, Canadá), com nebulizador pneumático de fluxo cruzado acoplado a uma câmara de nebulização de dupla passagem do tipo *Scott*, cujos parâmetros operacionais encontram-se listados na Tabela 2.2. Argônio com pureza de 99,996% (White Martins, São Paulo, Brasil) foi utilizado como gás de suporte para o plasma, carreador de aerossol e nebulizador.

Tabela 2.2. Parâmetros operacionais adotados para o ICP-MS

Cones amostrador e skimmer	Pt	
Modo de medida	Área de pico	
Voltagem do detector (V)	Pulso	1250
	Analógico	-2287
Potência de radiofrequência (W)	1100	
Vazão do gás principal (L min ⁻¹)	15	
Vazão do gás auxiliar (L min ⁻¹)	1,0	
Tempo morto (ns)	40	
Varreduras por leitura	30	
Replicatas	3	
Equações de correção		
		-I(53)*3.1289 para V
		-3.1273 *(I(77)- 0.8734*I(82)) para As

2.4.4 PREPARO DAS AMOSTRAS

Amostras de sedimentos superficiais coletadas no estuário do rio Itajaí-Açu foram liofilizadas, maceradas em gral e pistilo de porcelana (calcinados), peneiradas em malha de 250 µm e acondicionadas em frascos de vidro, sendo posteriormente armazenadas em congelador até a realização das extrações.

2.4.5 OTIMIZAÇÃO DE PARÂMETROS OPERACIONAIS DO ICP-MS

Foram avaliados os parâmetros de radiofrequência e vazão de gás de nebulização.

A potência de radiofrequência foi avaliada de 750 a 1350 W a uma taxa de variação de 50 W. Para isso, foi utilizada uma solução da amostra enriquecida com 10 µg L⁻¹ de V, Ni, Zn, Sn, Cu, Cd, Pb em 0,14 mol L⁻¹ de ácido nítrico e 0,15 mol L⁻¹ de ácido fluorídrico.

A vazão do gás de nebulização foi otimizada variando-se a vazão do gás de 0,75 a 1,10 L min⁻¹ a uma taxa de variação de 0,05 L min⁻¹. Para isso, foi utilizada uma solução da amostra enriquecida com 10 µg L⁻¹ de V, Ni, Zn, Sn, Cu, Cd e Pb em 0,14 mol L⁻¹ de ácido nítrico e 0,15 mol L⁻¹ de ácido fluorídrico.

2.4.6 ESTRATÉGIA DE OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO

As condições de extração foram otimizadas pelo método multivariado. Um planejamento composto central para três variáveis foi empregado. Cinco níveis das variáveis concentração de ácido fluorídrico, concentração de ácido nítrico e tempo de extração foram avaliados, totalizando dezessete experimentos, incluindo a triplicata do ponto central. Os menores e maiores valores para as variáveis foram: 0 a 10,50 mol L⁻¹ para a concentração de ácido fluorídrico; 0 a 4,20 mol L⁻¹ para a concentração de ácido nítrico; e 0 a 60 minutos para o tempo de extração. Os experimentos foram realizados de forma aleatória. A resposta analítica utilizada para o processamento dos dados no software Statística 8.0 (StatSoft Inc., Tulsa, USA) foi a média geométrica dos sinais referentes aos elementos-traço avaliados. Todos os experimentos foram realizados em duplicata, exceto para o ponto central que foi realizado em triplicata. A Tabela 2.3 permite visualizar os níveis estudados para cada variável.

Tabela 2.3. Variáveis e níveis empregados no planejamento composto central para a otimização do processo de extração

Experimento	Tempo (min)	HF (μL)	HNO ₃ (μL)
1	15	375	250
2	15	375	750
3	15	1125	250
4	15	1125	750
5	45	375	250
6	45	375	750
7	45	1125	250
8	45	1125	750
9	0	750	500
10	60	750	500
11	30	0	500
12	30	1500	500
13	30	750	0
14	30	750	1000
15	30	750	500
16	30	750	500
17	30	750	500

2.4.7 PROCEDIMENTO ANALÍTICO

A extração das amostras foi realizada usando 100 mg de sedimento, as quantidades de ácidos fluorídrico e nítrico e tempo de ultrassom de acordo com o planejamento multivariado (Tabela 2.3) e diluídas para 4 mL com água desionizada. As amostras foram submetidas à extração no ultrassom entre 0 e 60 minutos, diluídas para 10 mL com água desionizada e centrifugadas por 15 minutos. Uma alíquota de 1 mL de cada amostra foi retirada e diluída em 20 mL de água desionizada. Os elementos-traço foram determinados diretamente no sobrenadante diluído por ICP-MS.

As curvas de calibração foram preparadas adicionando alíquotas da solução padrão multielementar contendo os analitos a frascos de polipropileno contendo 100 mg de sedimento, resultando em concentrações entre 10 e 500 $\mu\text{g L}^{-1}$. Ródio na concentração de 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ foi utilizado como padrão interno. Os isótopos monitorados foram ^{75}As , ^{111}Cd , ^{59}Co , ^{52}Cr , ^{63}Cu , ^{55}Mn , ^{60}Ni , ^{208}Pb , ^{103}Rh , ^{118}Sn , ^{51}V e ^{66}Zn .

Os brancos foram preparados pelo mesmo procedimento, exceto a adição de amostra.

2.4.8 PROCEDIMENTO DE DIGESTÃO

Para comparação do processo de preparo de amostra proposto, as amostras de sedimento foram submetidas ao processo de digestão. Cerca de 200 mg de cada amostra foram pesados e inseridos nos frascos do sistema digestor; 7 mL de ácido nítrico concentrado e 2 mL de ácido fluorídrico concentrado foram adicionados; os frascos fechados foram inseridos no forno; e o programa de temperatura descrito na Tabela 2.4 foi executado. Após a digestão, os frascos foram resfriados a temperatura ambiente por cerca de 30 minutos e, em seguida, abertos cuidadosamente. O conteúdo de cada frasco foi diluído para 10 mL com água desionizada. Uma alíquota de 1 mL da solução resultante foi transferida para um frasco de polipropileno e diluída para 40 mL com água desionizada. Os elementos-traço foram determinados nesta solução por ICP-MS. Todas as digestões foram realizadas em triplicata.

Tabela 2.4. Programa de temperatura adotado para a digestão das amostras de sedimento

Parâmetros	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3
Temperatura (°C)	140	160	175
Rampa (min)	5	3	3
Tempo (min)	5	5	20

2.4.9 PARÂMETROS ANALÍTICOS DE MÉRITO E APLICAÇÃO ANALÍTICA

Foram estabelecidas as melhores condições para a extração de elementos-traço em sedimentos, sendo o tempo de extração de 15 minutos e a concentração de ácido fluorídrico e nítrico a $7,50 \text{ mol L}^{-1}$ e a $3,50 \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. Após esta etapa, o método de extração proposto foi avaliado por meio dos principais parâmetros analíticos de mérito: faixa linear, coeficiente de correlação, sensibilidade, limites de detecção e de quantificação, precisão e exatidão.

O limite de detecção (LOD) foi calculado como a razão entre três vezes o desvio-padrão de dez medidas do branco e o coeficiente angular da curva de calibração. O limite de quantificação (LOQ) foi calculado com dez vezes o desvio-padrão de dez medidas do branco, dividido pelo coeficiente angular da curva de calibração.

A precisão do método foi verificada como desvio padrão relativo da análise em triplicata, considerando valores menores que 20% como critério de aceitação.

A exatidão do método foi avaliada pela análise de três amostras de material de referência certificado e por comparação do método proposto com o procedimento convencional de digestão em algumas amostras de sedimento. O teste-T foi aplicado para verificar a confiabilidade dos resultados. A condição $t_{\text{exp}} < t_{\text{crit}}$ ($p < 0,05$, $n=3$, $t_{\text{crit}}=4,303$) foi cumprida para todos os elementos estudados, o que significa que não há diferença significativa entre os valores experimentais e os valores certificados.

O método de extração proposto foi aplicado na determinação de elementos-traço em amostras de sedimento coletadas no estuário do rio Itajaí-Açu.

2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

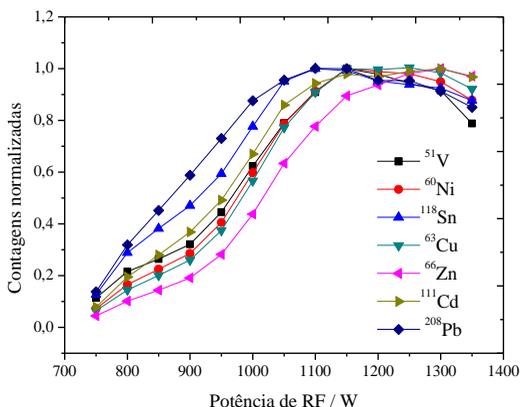
2.5.1 OTIMIZAÇÃO DE PARÂMETROS OPERACIONAIS DO ICP-MS

O objetivo da otimização dos parâmetros potência de radiofrequência (RF) e vazão de gás nebulizador é obter as condições instrumentais para a maior sensibilidade com relação ao sinal do analito, além de controlar a formação de óxidos e/ou de íons de dupla carga durante a análise, minimizando assim a ocorrência desses tipos de interferência.

Potenciais altos de RF tendem a aumentar a população de íons de dupla carga, devido à alta energia no plasma que leva à remoção de mais de um elétron do analito. Por outro lado, potenciais baixos podem induzir a um aumento da população de óxidos, já que uma baixa potência não é suficiente para promover a dissociação completa desses óxidos.

A otimização da potência de RF foi realizada entre 750 e 1350 W, utilizando uma vazão de gás de nebulização fixa em $1,1 \text{ L min}^{-1}$. A Figura 2.4 mostra a influência da potência de RF sobre as contagens normalizadas dos isótopos para a solução extraída da amostra de sedimento.

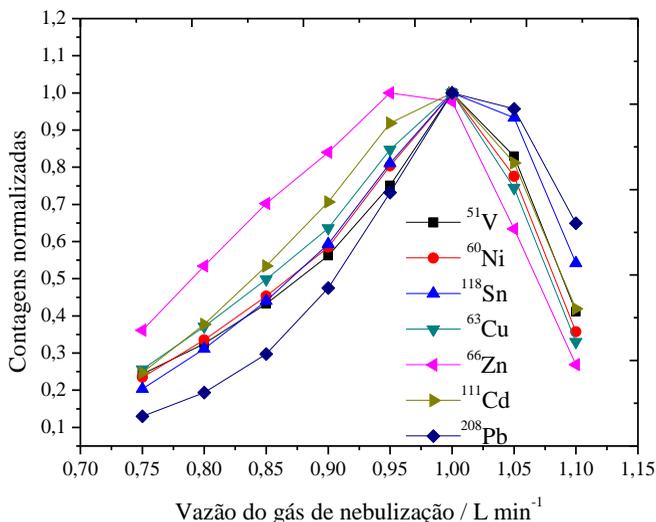
Figura 2.4. Influência da potência de radiofrequência sobre as contagens normalizadas dos isótopos ^{51}V , ^{60}Ni , ^{118}Sn , ^{63}Cu , ^{66}Zn , ^{111}Cd e ^{208}Pb , utilizando um nebulizador pneumático de fluxo cruzado para a amostra extraída, enriquecida com $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de V, Ni, Sn, Cu, Zn, Cd e Pb. Contagem normalizada: razão entre a contagem individual e a maior contagem para cada analito.



Conforme pode ser observado na Figura 2.4, houve um aumento na intensidade do sinal analítico para todos os isótopos até 1100 W. Porém, após 1200 W de RF, é possível observar um pequeno declínio do sinal para os analitos Pb, Sn e V. Isso acontece pois quanto maior for a potência de RF, maior será a energia disponível do plasma. Assim, torna-se possível a dupla ionização de analitos que possuem o segundo potencial de ionização relativamente baixo, produzindo íons de dupla carga e levando a uma diminuição no sinal. Os íons de dupla carga são indesejáveis porque o espectrômetro de massas faz a separação dos íons pela razão massa/carga. Por isso, a potência de RF adotada como condição de compromisso para as determinações foi de 1100 W.

O gás nebulizador tem a função de nebulizar a amostra e conduzi-la até a região do plasma. A influência da vazão do gás de nebulização sobre as contagens normalizadas dos isótopos monitorados pode ser observada na Figura 2.5. Em vazões de gás menores que $0,9 \text{ L min}^{-1}$, foram obtidas baixas contagens para os sinais dos analitos. Isso pode estar associado ao elevado tempo de residência do analito no plasma, que leva à dupla ionização dos analitos e recombinações, com consequente diminuição na sensibilidade. Em vazões de gás maiores que 1 L min^{-1} , constatou-se a diminuição das contagens para os analitos avaliados, que pode ser atribuída ao curto tempo de residência do analito no plasma. Isso propicia a ionização incompleta e a formação de óxidos do analito. Por isso, foi adotada como condição de compromisso para as determinações uma vazão de gás de nebulização intermediária de 1 L min^{-1} .

Figura 2.5. Influência da vazão do gás de nebulização sobre as contagens normalizadas dos isótopos ^{51}V , ^{60}Ni , ^{118}Sn , ^{63}Cu , ^{66}Zn , ^{111}Cd e ^{208}Pb , utilizando um nebulizador pneumático de fluxo cruzado para a amostra extraída enriquecida com $10\ \mu\text{g L}^{-1}$ de V, Ni, Sn, Cu, Zn, Cd e Pb. Contagem normalizada: razão entre a contagem individual e a maior contagem para cada analito.



2.5.2 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO

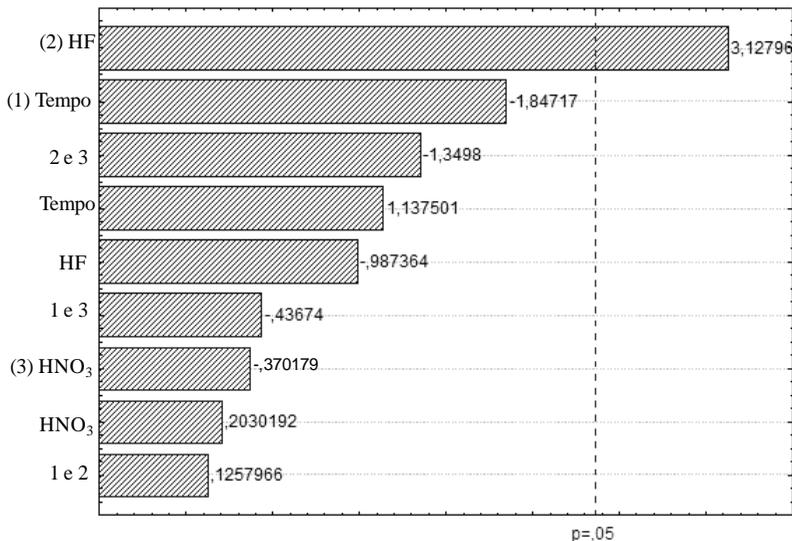
Com o objetivo de desenvolver um procedimento para a extração de elementos-traço em amostras de sedimentos, dois parâmetros foram investigados: a influência da concentração de ácido na determinação da concentração do analito e o tempo necessário para a extração dos elementos em ultrassom a partir das amostras de sedimento.

Para a otimização da extração, foi realizado um planejamento composto central em cinco níveis. As variáveis avaliadas foram: concentração de ácido fluorídrico ($0 - 10,5\ \text{mol L}^{-1}$), concentração de ácido nítrico ($0 - 4,2\ \text{mol L}^{-1}$) e tempo de sonificação ($0 - 60$ minutos). A partir da análise dos resultados, obteve-se o gráfico de Pareto, no qual é possível identificar as variáveis mais significativas. Nele, cada variável é quantificada em termos de sua contribuição na resposta e

colocada em ordem decrescente de influência. A linha tracejada corresponde ao efeito mínimo que uma variável, ou interação entre elas, deve produzir para causar variação significativa no sinal analítico com uma confiança de 95%.

A Figura 2.6 mostra os principais efeitos e suas interações, de acordo com o planejamento composto central. Considerando um nível de confiança de 95%, apenas a variável concentração de ácido fluorídrico mostrou ser estatisticamente significativa para a extração, conforme pode ser observado no gráfico de Pareto obtido. Este efeito está possivelmente relacionado à habilidade do ácido fluorídrico em dissolver silicatos, abundantes constituintes de amostras de sedimento. Além disso, o ácido pode estar influenciando diretamente na extração dos analitos a partir da fase sólida para a fase aquosa. As demais variáveis, concentração de ácido nítrico e tempo de sonificação, podem não estar influenciando diretamente na extração dos analitos, embora exerçam um importante papel na sua estabilização na fase aquosa.

Figura 2.6. Gráfico de Pareto obtido pelo planejamento composto central na otimização das variáveis e suas interações na determinação de elementos-traço em amostras de sedimento estuarino. (1) tempo de extração, (2) concentração de ácido fluorídrico e (3) concentração de ácido nítrico.



Embora o gráfico de Pareto tenha mostrado que o tempo de sonificação não é uma variável estatisticamente significativa em um nível de confiança de 95%, observou-se nos experimentos que a

recuperação alcançada com o uso do ultrassom foi 15 a 20% menor que a recuperação obtida após 15 minutos de sonificação. Além disso, a repetibilidade foi menor quando o ultrassom não foi usado (tempo zero), com desvios padrão relativos entre 4% (para o arsênio) e 81% (para o vanádio).

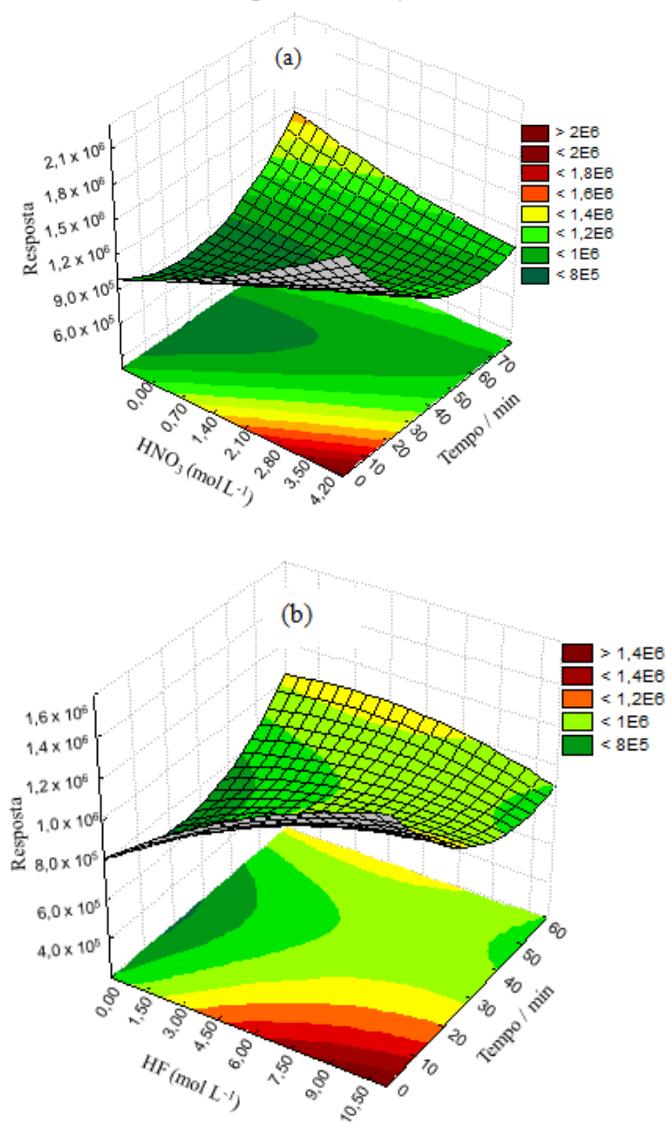
A partir do planejamento experimental realizado, também foram obtidas superfícies de resposta, representadas como a média geométrica associada ao sinal de cada analito em contagens. Assim, elas representam uma condição de compromisso para todos os analitos estudados.

A Figura 2.7 ilustra as superfícies de resposta para o tempo de extração em função das concentrações de ácido fluorídrico e ácido nítrico, respectivamente. As regiões em vermelho correspondem aos valores ótimos para a resposta analítica. As superfícies geradas mostram claramente que a melhor resposta analítica foi obtida a partir de maiores concentrações de ácido fluorídrico e ácido nítrico em tempos de extração menores. Como reportado por alguns autores (BATISTA et al., 2009; PICÓ, 2013), o ácido nítrico é conhecido por melhorar o desempenho na extração devido às suas propriedades oxidantes - o que justifica a melhor resposta em altas concentrações deste ácido. O tempo de extração necessário para alcançar a extração total dos analitos depende da interação analito-matriz, da composição do meio líquido e do instrumento ultrassônico utilizado (BATISTA et al., 2009).

As superfícies de resposta também mostram que existe mais de um ponto de máximo, ou seja, o sinal analítico poderia ser melhorado usando baixas concentrações de ácido e um tempo de extração maior. No entanto, aumentar o tempo de extração é indesejável, pois isso diminuiria a frequência analítica. Assim, as condições ótimas de extração estabelecidas foram: concentração de ácido fluorídrico a $7,50 \text{ mol L}^{-1}$, concentração de ácido nítrico a $3,50 \text{ mol L}^{-1}$ e 15 minutos de extração em ultrassom.

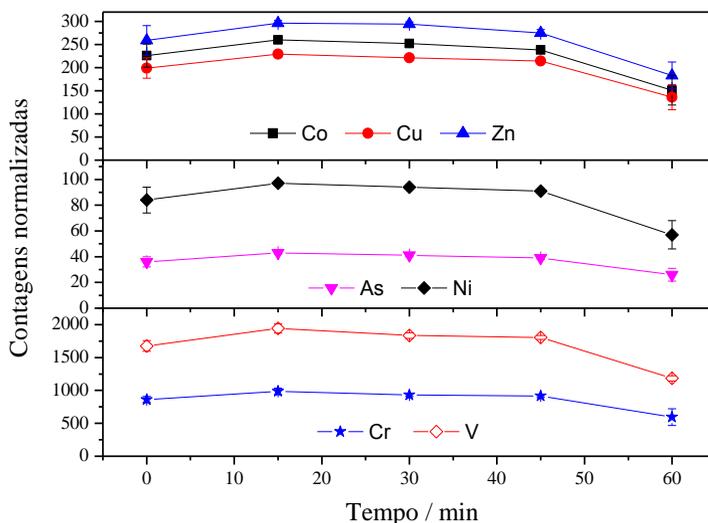
A Figura 2.7 mostra que a matriz da amostra pode estar exercendo influência na concentração dos analitos As, Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Sn, V e Zn em solução, quando submetidos à extração em ultrassom por um longo tempo. A sonificação da amostra acima de 30 minutos mostrou ser prejudicial para o processo de extração mesmo quando altas concentrações de ácidos são utilizadas. Além disso, a menor resposta analítica observada para os analitos, conforme o tempo de extração aumenta, pode ser associada à perda de elementos voláteis como As, Cd, Sn e Pb.

Figura 2.7. Superfícies de resposta obtidas a partir do planejamento composto central. A resposta é a média geométrica associada ao sinal dos isótopos ^{75}As , ^{111}Cd , ^{59}Co , ^{52}Cr , ^{63}Cu , ^{60}Ni , ^{208}Pb , ^{118}Sn , ^{51}V e ^{66}Zn . As variáveis são: (a) concentração de ácido fluorídrico *versus* tempo de sonificação; (b) concentração de ácido nítrico *versus* tempo de sonificação.



De acordo com a inspeção visual das superfícies de respostas obtidas pelo planejamento composto central somada a análise crítica quanto à frequência analítica, as melhores condições de extração foram obtidas nos menores tempos. Para investigar se o ultrassom era realmente necessário, um estudo univariado foi realizado. Os resultados obtidos para a extração em ultrassom nos tempos 0, 15, 30, 45 e 60 minutos são ilustrados na Figura 2.8. Conforme pode ser visualizado nos gráficos, embora a diferença de magnitude do sinal nos tempos zero e quinze minutos seja relativamente pequena, os desvios padrão relativos obtidos sem o uso do ultrassom (ou seja, no tempo zero), apresentaram altos valores, entre 4 e 81%, o que sugere que a energia ultrassônica é necessária para a extração de elementos-traços em amostras de sedimento de forma a obter resultados com boa precisão.

Figura 2.8. Efeito do tempo de sonificação no sinal obtido para os analitos As, Co, Cr, Cu, Ni, V e Zn. O sinal dos analitos foi normalizado pela massa das amostras de sedimento submetidas à extração.



Como ilustrado na Figura 2.8, os menores sinais para os analitos foram observados no tempo de extração de 60 minutos. Embora as razões para essa queda de sinal não sejam totalmente claras, pode ser assumido que perdas sob as paredes dos tubos de extração de polipropileno e/ou readsorção sobre as superfícies de partículas sólidas podem estar ocorrendo após longos tempos de extração sob a energia do

ultrassom. O efeito de supressão de sinal foi efetivamente descartado como uma possível explicação para essa diminuição do sinal, considerando que esse efeito seria atenuado em função do uso do padrão interno (Rh).

2.5.3 PARÂMETROS ANALÍTICOS DE MÉRITO

Foram avaliados diversos parâmetros de mérito com o objetivo de validar o método de extração proposto neste trabalho. Os parâmetros avaliados foram: limite de detecção (LOD), coeficiente de correlação, precisão e exatidão, mostrados na Tabela 2.5.

Os limites de detecção obtidos variaram entre 0,02 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Co, Cr, Cu e Pb e 0,10 $\mu\text{g g}^{-1}$ para V. As curvas de calibração mostraram boa linearidade em concentrações entre 10 e 500 $\mu\text{g L}^{-1}$, com coeficientes de correlação superiores a 0,9995. A precisão do método foi verificada, expressa como desvio padrão relativo (RSD, $n=3$). Excelentes valores entre 0,5 e 8,0% foram obtidos (Tabela 2.5).

Tabela 2.5. Parâmetros analíticos de mérito obtidos para o método proposto de extração de elementos-traço em amostras de sedimento estuarino e determinação por ICP-MS

Análito	Slope / L μg^{-1}	R²	LOD / $\mu\text{g g}^{-1}$	RSD / %
As	0,00742	0,9999	0,06	3
Cd	0,01039	0,9999	0,02	6
Co	0,05311	0,9999	0,02	7
Cr	0,04212	0,9997	0,02	3
Cu	0,02274	0,9999	0,02	8
Ni	0,01069	0,9999	0,04	5
Pb	0,08303	0,9999	0,02	7
Sn	0,04113	0,9999	0,04	4
V	0,04859	0,9995	0,1	8
Zn	0,00662	0,9999	0,06	7

R²: coeficiente de correlação; LOD: limite de detecção; RSD: desvio padrão relativo

A exatidão foi avaliada por meio da determinação de elementos-traço em três materiais de referência certificados, submetidos ao procedimento de extração otimizado. Os resultados obtidos são mostrados na Tabela 2.6 e estão de acordo com os valores certificados.

Tabela 2.6. Concentrações ($\mu\text{g g}^{-1}$) de elementos-traço em três amostras de sedimento certificado de referência, determinados por ICP-MS a partir de dois diferentes procedimentos: o método proposto de extração em ultrassom e a digestão em micro-ondas (*Valor informado; n.a.: não avaliado).

Análito	PACS-2 Extraída ($\mu\text{g g}^{-1}$)	PACS-2 Digerida ($\mu\text{g g}^{-1}$)	PACS-2 Certificado ($\mu\text{g g}^{-1}$)	NCS Extraída ($\mu\text{g g}^{-1}$)	NCS Digerida ($\mu\text{g g}^{-1}$)	NCS Certificado ($\mu\text{g g}^{-1}$)	MESS-3 Extraída ($\mu\text{g g}^{-1}$)	MESS-3 Digerida ($\mu\text{g g}^{-1}$)	MESS-3 Certificado ($\mu\text{g g}^{-1}$)
As	28,88 ± 1,98	32,71 ± 5,46	26,2 ± 1,5	59,43 ± 4,84	73,02 ± 7,45	56 ± 10	23,20 ± 0,74	19,60 ± 1,80	21,2 ± 1,1
Cd	2,43 ± 0,27	2,22 ± 0,15	2,11 ± 0,15	2,45 ± 0,27	2,50 ± 0,25	2,45 ± 0,3	0,29 ± 0,05	0,24 ± 0,01	0,24 ± 0,01
Co	9,85 ± 1,70	13,00 ± 1,50	11,5 ± 0,3	14,64 ± 2,80	18,87 ± 2,28	16,5 ± 1,5	13,50 ± 0,41	13,52 ± 0,70	14,4 ± 2,0
Cu	287,16 ± 12,41	313,70 ± 12,80	310 ± 12	44,82 ± 3,90	60,72 ± 2,00	53 ± 6	31,60 ± 1,45	26,85 ± 5,50	33,9 ± 1,6
Ni	38,37 ± 4,96	47,30 ± 6,20	39,5 ± 2,3	30,20 ± 2,41	46,36 ± 4,97	32*	42,52 ± 1,05	40,52 ± 4,80	46,9 ± 2,2
Pb	170,18 ± 7,44	158,25 ± 17,37	183 ± 8	75,94 ± 4,54	78,28 ± 2,36	79 ± 12	21,46 ± 0,90	26,02 ± 4,85	21,1 ± 0,7
Sr	20,49 ± 2,23	19,35 ± 2,85	19,8 ± 2,5	6,50 ± 0,85	8,00 ± 1,29	n.a.	2,50 ± 0,12	2,15 ± 0,12	2,50 ± 0,52
V	110,55 ± 22,34	134,75 ± 10,35	133 ± 5	91,90 ± 8,23	98,27 ± 3,72	96*	235,02 ± 7,50	250,10 ± 28,25	243 ± 10
Zn	375,60 ± 10,15	364,05 ± 14,77	364 ± 23	237,17 ± 15,94	286,51 ± 27,31	251*	151,15 ± 4,05	130,43 ± 21,30	159 ± 8

n.a. não avaliado.

Adicionalmente, foi aplicado o teste-T de Student e verificou-se que os valores obtidos após extração, digestão e os valores certificados não diferem significativamente, considerando-se um nível de confiança de 95%.

2.5.4 APLICAÇÃO ANALÍTICA

O método proposto foi aplicado na determinação de elementos-traço em doze amostras de sedimento do estuário do rio Itajaí-Açu. As concentrações obtidas variaram de 0,10 $\mu\text{g g}^{-1}$ (para As) a 120,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ (para Zn) (Tabela 2.7).

As concentrações obtidas foram comparadas com o Guia Canadense de Qualidade de Sedimentos para Proteção da Vida Aquática (Tabela 2.7). Conforme o guia, PEL (*Probable Effect Level*) são as concentrações acima das quais os efeitos adversos para a vida aquática são preditos para ocorrer frequentemente (CANADIAN ENVIRONMENTAL QUALITY GUIDELINES, 1998). Observou-se que as concentrações determinadas dos elementos-traço não excederam os limites estabelecidos pelo guia, o que sugere uma boa qualidade das amostras de sedimentos avaliadas em relação a poluentes inorgânicos.

Tabela 2.7. Concentrações ($\mu\text{g g}^{-1}$) de elementos-traço em amostras de sedimento do estuário do rio Itajai-Açu determinados por ICP-MS seguindo o método de extração em ultrassom e concentrações PEL (Probable Effect Level) de acordo com o Guia Canadense de Qualidade de Sedimentos para a Proteção da Vida Aquática (Fonte: CANADIAN ENVIRONMENTAL QUALITY GUIDELINES, 1998)

Análito	# 1	# 2	# 3	# 4	# 5	# 6	# 7	# 8	# 9	# 10	# 11	PEL
As	12,70 ± 1,50	14,20 ± 0,40	12,00 ± 0,12	7,30 ± 0,45	10,50 ± 0,60	10,30 ± 0,30	12,40 ± 1,00	6,20 ± 0,20	20,50 ± 0,90	13,10 ± 0,80	13,00 ± 0,40	41,6
Cd	0,26 ± 0,05	0,21 ± 0,04	0,21 ± 0,02	0,22 ± 0,02	0,280 ± 0,04	0,21 ± 0,02	0,10 ± 0,01	< LOD	0,16 ± 0,01	0,12 ± 0,02	< LOD	4,2
Co	14,70 ± 1,25	15,00 ± 0,37	12,70 ± 0,15	13,15 ± 0,60	14,40 ± 1,50	12,70 ± 0,30	7,59 ± 0,60	3,50 ± 0,07	13,80 ± 0,50	9,90 ± 0,50	9,40 ± 0,30	-
Cr	54,10 ± 2,10	59,30 ± 2,60	52,00 ± 2,70	25,40 ± 1,95	49,10 ± 3,70	42,60 ± 2,30	67,80 ± 1,10	8,40 ± 0,90	54,60 ± 1,70	38,40 ± 1,40	31,80 ± 0,90	160
Cu	31,50 ± 4,00	31,20 ± 3,10	27,60 ± 1,60	17,21 ± 1,90	26,00 ± 1,70	23,50 ± 2,80	49,30 ± 1,10	1,40 ± 0,11	22,60 ± 2,10	15,10 ± 0,90	12,60 ± 0,30	108
Ni	26,40 ± 1,50	26,80 ± 1,70	23,20 ± 1,50	15,50 ± 0,80	22,70 ± 1,20	20,80 ± 1,40	20,80 ± 1,20	4,10 ± 0,20	24,80 ± 0,80	17,40 ± 0,30	15,40 ± 0,20	-
Pb	34,50 ± 2,90	34,50 ± 1,10	30,60 ± 1,30	21,80 ± 1,30	29,40 ± 1,60	26,60 ± 1,50	17,40 ± 0,40	12,80 ± 0,40	35,30 ± 1,90	26,30 ± 1,00	21,80 ± 0,80	-
Su	4,04 ± 0,60	3,73 ± 0,11	3,65 ± 0,05	2,42 ± 0,06	3,36 ± 0,04	3,11 ± 0,25	1,42 ± 0,04	0,58 ± 0,02	3,43 ± 0,06	3,67 ± 0,30	1,98 ± 0,11	-
V	103,00 ± 5,40	96,80 ± 2,10	89,40 ± 3,80	58,15 ± 2,70	83,60 ± 4,10	77,20 ± 1,45	74,20 ± 3,50	14,60 ± 0,90	101,00 ± 1,90	67,70 ± 1,00	56,90 ± 1,40	-
Zn	104,00 ± 3,50	120,00 ± 2,90	94,30 ± 3,20	67,05 ± 2,60	98,20 ± 5,10	88,90 ± 3,80	72,30 ± 2,70	17,60 ± 0,30	89,10 ± 2,10	68,00 ± 1,70	57,70 ± 1,40	271

Além disso, as concentrações obtidas foram comparadas aos valores guias adotados pela Resolução Conama 344/04, que estabelece critérios numéricos para a avaliação e classificação da qualidade de sedimentos a serem dragados (Tabela 2.8). Conforme se observa, a maior parte das amostras de sedimentos coletadas no estuário do rio Itajaí-Açu ultrapassaram o nível 1 da Resolução Conama 344 para o semimetal As, com exceção dos pontos amostrais 4, 8 e 12, que ficaram abaixo do limite estabelecido para esse elemento-traço. Com relação ao metal cobre, apenas a amostra coletada no ponto 7 excedeu o limite de 34 mg kg⁻¹. As principais fontes deste metal no ambiente podem ser atribuídas a tintas anti-incrustantes utilizadas em embarcações, as quais possuem óxido de cobre em sua composição (VALKIRS et al., 2003) e a efluentes domésticos, da refinaria de petróleo e efluentes de indústrias de fertilizantes (BARBOSA; WALLNER-KERSANACH; BAUMGARTEN, 2012). De acordo com Branco; Lunardon-Branco; Bellotto (2009), os metais presentes no estuário do rio Itajaí-Açu são provenientes principalmente das indústrias têxtil, metalmecânica e de papel, que juntas representam a maior parte dos empreendimentos industriais da região do Vale do rio Itajaí-Açu.

Comparando os valores obtidos com os limites de referência para o níquel, sete das doze amostras de sedimento analisadas ultrapassaram o nível 1 para este elemento. A alta concentração de níquel no ambiente de estudo pode ser atribuída ao intenso tráfego de navios, por se tratar de uma região portuária, já que metaloporfirinas de níquel são encontradas no petróleo (GALIMOV et al., 1990). É importante ressaltar que as amostras de sedimento analisadas não ultrapassaram o nível 2, acima do qual é previsto um provável efeito adverso à biota. Os resultados obtidos corroboram com o Guia Canadense de Qualidade de Sedimentos para Proteção da Vida Aquática e sugerem uma boa qualidade das amostras de sedimento avaliadas em relação a poluentes inorgânicos.

Tabela 2.8. Níveis de classificação do material a ser dragado em unidade de material seco

Elemento-traço	Nível 1 (mg kg ⁻¹)	Nível 2 (mg kg ⁻¹)
Arsênio (As)	8,2	70
Cádmio (Cd)	1,2	9,6
Chumbo (Pb)	46,7	218
Cobre (Cu)	34	270
Cromo (Cr)	81	370
Mercúrio (Hg)	0,15	0,71
Níquel (Ni)	20,9	51,6
Zinco (Zn)	150	410

Nível 1: limiar abaixo do qual é prevista baixa probabilidade de efeitos adversos à biota. Nível 2: limiar acima do qual é previsto um provável efeito adverso à biota. Fonte: RESOLUÇÃO CONAMA n°344/2004

As concentrações obtidas neste estudo foram também confrontadas a outros ambientes estuarinos e regiões portuárias ao redor do mundo (Tabela 2.9), sendo comparáveis, por exemplo, aos valores encontrados por Xu et al. (2014), em amostras de sedimento coletadas na província de Jiangsu (China), onde os resultados indicaram que Cu, Pb e Zn são de origem litogênica, ou seja, natural, enquanto Cd e As são de origem mista: tanto natural quanto antropogênica.

Em comparação aos dados publicados por Guerra-Garcia e Garcia-Gomez (2005), relativos à pesquisa realizada na região portuária de Ceuta (Espanha), os resultados obtidos no estuário do rio Itajaí-Açu indicaram que os sedimentos não foram severamente contaminados com As, Cr, Cu, Pb e Zn. Tendo em vista que não há atividade industrial em torno do porto de Ceuta, as principais fontes de contaminação nesse local são os esgotos de influência urbana, tintas anti-incrustantes e o derramamento acidental de óleo durante o carregamento e descarregamento em operações de transporte marítimo.

A contaminação por elementos-traço no estuário do rio Itajaí-Açu é também menos acentuada que a encontrada no porto de Sydney (Austrália), conforme reportado por Mc Cready, Birch e Long (2006); assim como no manguezal Estero Salado, no Equador (Fernández-Cadena et al., 2014), fortemente influenciado por atividades industriais, exceto para As, cuja concentração (variando entre 2,6 e 7,5 µg g⁻¹) é menor que a encontrada no presente trabalho.

Tabela 2.9. Concentrações ($\mu\text{g g}^{-1}$) de elementos-traço reportadas neste estudo e em diferentes regiões do mundo

Local	As	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn	Referência
Kaohsiung Harbor, Taiwan	5-25	n.d. - 5	17-1170	n.d.-509	n.a.	13-117	72-3860	LIN et al., 2013
Jiangsu Province, China	16,2- 20,5	0,16-0,23	n.a.	29-40,2	n.a.	22,7-28,3	79,8-97,2	XU et al., 2014
Lake Yilong, China	7,7-25,9	0,32-1,62	39,65-125,49	15,37-66,95	14,10-72,93	30,71-88,96	29,6- 121,68	BAI et al., 2011
Sydney Harbor, Australia	5-48	0,2-10	6-298	3-1060	n.a.	5-1420	17-11300	MC CREADY; BIRCH; LONG, 2006
Harbor of Ceuta, Espanha	4-42	n.a.	13-381	5-865	n.a.	10-516	29-695	GUERRA-GARCIA; GARCIA- GOMEZ, 2005
Baía de Guanabara, Brasil	n.a.	n.a.	10-223	5-213	15-79	5-123	15-337	BATISTA NETO; SMITH; MC ALLISTER, 2000
Manguezal Estero Salado, Equador	2,6- 7,5	0,34 - 1,54	33,9 -73,8	47,1-206,5	27,4-60,9	20,99-56,42	93,9-527,2	FERNANDEZ-CADENA et al., 2014
Baía Gorgan, Irã	n.a.	n.a.	13 - 52	3,8 - 31,2	n.a.	4,1 - 18,3	13 - 75	BASTAMI et al., 2012
Este trabalho	6,2-20,5	n.d.-0,28	5,0 -67,8	1,45-49,30	2,20-26,80	8,08-35,30	9,26-120	FRENA et al., 2014b

n.a.: não avaliado

n.d.: não detectado

A fim de assegurar a exatidão obtida para a análise de amostras reais de sedimento, duas amostras do estuário do rio Itajaí-Açu foram selecionadas aleatoriamente e submetidas ao procedimento convencional de digestão. Os resultados, representados como a média de três determinações, são mostrados na Tabela 2.10. Aplicando-se o teste-T de Student, verificou-se que as médias obtidas a partir da extração e digestão em micro-ondas não diferem significativamente, considerando-se um nível de confiança de 95%. Esses resultados indicam que o método proposto pode ser aplicado na determinação de elementos-traço nas amostras de sedimento, com a extração quantitativa destes para a fase aquosa.

Tabela 2.10. Concentrações ($\mu\text{g g}^{-1}$) de elementos-traço em duas amostras de sedimento do estuário do rio Itajaí-Açu, determinados por ICP-MS, seguindo dois diferentes procedimentos: o método proposto de extração em ultrassom e a digestão em micro-ondas

Analito	# 4		# 12	
	Extraído / $\mu\text{g g}^{-1}$	Digerido / $\mu\text{g g}^{-1}$	Extraído / $\mu\text{g g}^{-1}$	Digerido / $\mu\text{g g}^{-1}$
As	7,30 \pm 0,45	6,90 \pm 0,90	6,60 \pm 0,45	5,83 \pm 0,50
Cd	0,22 \pm 0,02	0,25 \pm 0,03	< LOD	< LOD
Co	13,15 \pm 0,60	14,10 \pm 1,45	2,10 \pm 0,50	2,51 \pm 0,15
Cr	25,40 \pm 1,95	23,80 \pm 2,90	5,00 \pm 0,20	6,15 \pm 0,60
Cu	17,21 \pm 1,90	18,42 \pm 1,50	1,45 \pm 0,06	1,57 \pm 0,15
Ni	15,50 \pm 0,80	14,71 \pm 0,90	2,20 \pm 0,65	3,10 \pm 0,80
Pb	21,80 \pm 1,30	19,10 \pm 2,36	8,08 \pm 0,80	7,80 \pm 1,30
Sn	2,42 \pm 0,06	2,45 \pm 0,03	0,31 \pm 0,01	< LOD
V	58,15 \pm 2,70	58,82 \pm 1,86	9,65 \pm 0,50	10,90 \pm 1,25
Zn	67,05 \pm 2,60	71,60 \pm 2,53	9,26 \pm 0,70	10,40 \pm 1,30

2.6 CONCLUSÕES

Demonstrou-se neste estudo que elementos-traço podem ser determinados em amostras de sedimento estuarino por meio do processo de extração ácida, isto é, evitando-se o procedimento convencional de digestão da amostra.

A utilização do planejamento composto central permitiu estudar as variáveis que afetam o procedimento de extração de forma rápida e eficiente, possibilitando definir as condições ótimas para a extração de dez elementos-traço a partir de amostras de sedimento e sua determinação simultânea por ICP-MS.

O método de extração proposto provou ser simples, rápido, preciso e exato para a determinação de elementos-traço em amostras de sedimento. Esse procedimento é uma alternativa rápida aos tradicionais procedimentos de digestão. Além disso, pode ser empregado em análises de rotina devido à alta frequência analítica, baixos custo e consumo de amostra, para o monitoramento de elementos-traço em níveis de ultratraço.

O método proposto foi aplicado na determinação de elementos-traço em doze amostras de sedimento do estuário do rio Itajaí-Açu e as concentrações obtidas foram comparadas aos referenciais do Guia de qualidade de sedimentos para a proteção da vida aquática. Observou-se que as amostras de sedimento avaliadas apresentam uma boa qualidade em relação a poluentes inorgânicos.

2.7 PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Artigo:

A novel extraction-based procedure for the determination of trace elements in estuarine sediment samples by ICP-MS. *Microchemical Journal* 117, p.1-6, 2014.

Apresentação oral:

A novel extraction-based procedure for the determination of trace elements in sediment samples by ICP-MS. In: 15th International Symposium on Advances in Extraction Technologies, 2013, João Pessoa.

2.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGBOOLA, J.I. **Relevant perspectives in global environmental change**. Croatia: Intech, 2011.166 p.

ÁLVAREZ, M.A.; CARRILLO, G. Simultaneous determination of arsenic, cadmium, copper, chromium, nickel, lead and thallium in total digested sediment samples and available fractions by electrothermal atomization atomic absorption spectroscopy (ET AAS). **Talanta**, v. 97, p. 505-512, 2012.

AMMANN, A.A. Inductively coupled mass spectrometry (ICP-MS): a versatile tool. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 42, p. 419-427, 2007.

ARRUDA, M.A.Z.; SANTELLI, R.E. Mecanização no preparo de amostras por microondas: o estado da arte. **Química Nova**, v. 20, p. 638-643, 1997.

ASADOLLAHZADEH, M. et al. Response surface methodology based on central composite design as a chemometric tool for optimization of dispersive-solidification liquid-liquid microextraction for speciation of inorganic arsenic in environmental water samples. **Talanta**, v. 123, p. 25-31, 2014.

AZEVEDO, S.V.; MOREIRA, F.R.; CAMPOS, R.C. Direct determination of tin in whole blood and urine by GF AAS. **Clinical Biochemistry**, v. 46, p. 123-127, 2013.

BAI, J. et al. Spatial distribution and ecological risk assessment of heavy metals in surface sediment from a typical plateau lake wetland, China. **Ecological Modelling**, v. 222, p. 301-306, 2011.

BARBOSA, F.G.; WALLNER-KERSANACH, M.; BAUMGARTEN, M.G.Z. Metais traço nas águas portuárias do estuário da Lagoa dos Patos, RS. **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**, v. 16, p. 27-36, 2012.

BASTAMI, K.D. et al. Geochemical and geo-statistical assessment of selected heavy metals in the surface sediments of the Gorgan Bay, Iran. **Marine Pollution Bulletin**, v. 64, p. 2877-2884, 2012;

BATISTA, B.L. et al. A fast ultrasound-assisted extraction procedure for trace elements determination in hair samples by ICP-MS for forensic analysis. **Forensic Science International**, v. 192, p. 88-93, 2009.

BATISTA NETO, J.A.; SMITH, B.J.; MC ALLISTER, J.J. Heavy metal concentrations in surface sediments in a nearshore environment, Jurujuba Sound, Southeast Brazil. **Environmental Pollution**, v. 109, p. 1-9, 2000.

BENDICHO, C. et al. Ultrasound-assisted pretreatment of solid samples in the context of green analytical chemistry. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 31, p. 50-60, 2012.

BEZERRA, M.A. et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v. 76, p. 965-977, 2008.

CAMPOS, M.L.A.M. **Introdução à biogeoquímica de ambientes aquáticos**. Campinas: Editora Átomo, 2010. 209 p.

CANADIAN ENVIRONMENTAL QUALITY GUIDELINES. Sediment Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life, 1998. Disponível em: <http://st-ts.ccmec.ca/>. Acesso em julho de 2014.

CASTILHO, I.N.B. et al. Comparison of three different sample preparation procedures for the determination of traffic-related elements in airborne particulate matter collected on glass fiber filters. **Talanta**, v. 88, p. 689-695, 2012.

CASTRO, L.; CAPOTE, F.P. Analytical Applications of Ultrasound. **Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry**, v. 26, p. 1-34, 2007.

CHAPMAN, P.M.; WANG, F. Assessing sediment contamination in estuaries. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 20, n. 1, p. 3-22, 2001.

COBELO-GARCÍA, A.; PREGO, R. Land inputs, behaviour and contamination levels of copper in a ria estuary (NW Spain). **Marine Environmental Research**, v. 56, p. 403-422, 2003.

COBELO-GARCÍA, A. et al. Evaluation of the contamination of platinum in estuarine and coastal sediments (Tagus Estuary and Prodelta, Portugal). **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, p. 646-650, 2011.

COLINA, M. et al. Determination of vanadium species in sediment, mussel and fish muscle tissue samples by liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 538, p. 107-115, 2005.

COLLASIOL, A.; POZEBON, D.; MAIA, S.M. Ultrasound assisted mercury extraction from soil and sediment. **Analytica Chimica Acta**, v. 518, p. 157-164, 2004.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução nº 344 de 25 de março de 2004. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res04/res34404.xml>. Acesso em: julho de 2014.

DAUVIN, J.C. et al. Recent changes in estuarine benthic and suprabenthic communities resulting from the development of harbor infrastructure. **Marine Pollution Bulletin**, v. 53, p. 80-90, 2006.

DAUVIN, J.C. Effects of heavy metal contamination on the macrobenthic fauna in estuaries: The case of the Seine estuary. **Marine Pollution Bulletin**, v. 57, p. 160-169, 2008.

DE LA CALLE, I. et al. Ultrasound-assisted single extraction tests for rapid assessment of metal extractability from soils by total reflection X-ray fluorescence. **Journal of Hazardous Materials**, v. 260, p. 202-209, 2013.

DE LA CALLE, I. et al. Ultrasound-assisted extraction of gold and silver from environmental samples using different extractants followed by electrothermal-atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 97, p. 93-100, 2011.

ESTEVEES, F.A. **Fundamentos de limnologia**. 2.ed. Rio de Janeiro: Interciência, 1998. 602p.

EVANS, E.H.; GIGLIO, J.J. Interferences in inductively coupled plasma mass spectrometry a review. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 8, p. 1-18, 1993.

FATHIRAD, F. et al. Ultrasound-assisted emulsification solidified floating organic drops microextraction of ultra trace amount of Te (IV) prior to graphite furnace atomic absorption spectrometry determination. **Talanta**, v. 88, p. 759-764, 2012.

FENOLL, J. et al. Determination of 48 pesticides and their main metabolites in water samples by employing sonication and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Talanta**, v. 85, p. 975-982, 2011.

FERNÁNDEZ-CADENA, J.C. et al. Heavy metal concentration in mangrove surface sediments from the north-west coast of South America. **Marine Pollution Bulletin**, v. 82, p. 221-226, 2014.

FERREIRA, S.L.C. et al. Use of factorial design and Doehlert matrix for multivariate optimization of an on-line preconcentration system for lead determination by flame atomic absorption spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 375, p. 443-449, 2003.

FERREIRA, S.L.C. et al. Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry – review. **Talanta**, v. 63, p. 1061-1067, 2004.

FRENA, M. et al. Photochemical degradation of diesel oil in water: a comparative study of different photochemical oxidation processes and their degradation by-products. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, p. 1372-1379, 2014a.

FRENA, M. et al. A novel extraction-based procedure for the determination of trace elements in estuarine sediment samples by ICP-MS. **Microchemical Journal**, v. 117, p. 1-6, 2014b.

GALIMOV, R.A. et al. Relationships governing the distribution of vanadium nickel and their porphyrins complexes in petroleum components. **Petroleum Chemistry**, v. 30, p. 55-60, 1990.

GUERRA-GARCIA, J.M.; GARCIA-GOMEZ, J.C. Assessing pollution levels in sediments of a harbour with two opposing entrances.

Environmental implications. **Journal of Environmental Management**, v. 77, p. 1-11, 2005.

HARRIS, D.C. **Análise Química Quantitativa**. 7.ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008. 868p.

INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches. **Pure and Applied Chemistry**, v. 72, n. 8, p. 1453-1470, 2000.

JARVIS, K.E.; GRAY, A.L.; HOUK, R.S. **Handbook of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometric**. London: Blackie Academic & Professional, 1992. 379 p.

JIANG, H. et al. Ultrasound-assisted-emulsification-microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry for the determination of trace lead in water. **Clean- Soil, Air, Water**, v. 40, p. 438-443, 2012.

KAMALA-KANNAN, S. et al. Assessment of heavy metals (Cd, Cr and Pb) in water, sediment and seaweed (*Ulva lactuca*) in the Pulicat Lake, South East India. **Chemosphere**, v. 7, p. 1233-1240, 2008.

KAZI, T.G. et al. An ultrasonic assisted extraction method to release heavy metals from untreated sewage sludge samples. **Chemosphere**, v. 63, p. 411-420, 2006.

KOTAS, J.; STASICKA, Z. Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation. **Environmental Pollution**, v. 107, n. 3, p. 263-283, 2000.

KRISHNA, M.V.B.; ARUNACHALAM, J. Ultrasound-assisted extraction procedure for the fast estimation of major, minor and trace elements in lichen and mussel samples by ICP-MS and ICP-AES. **Analytica Chimica Acta**, v. 522, p. 179-187, 2004.

KRUG, F.J. **Métodos de preparo de amostras: Fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**. 1.ed. Piracicaba, F.J. Krug, 2008. 340 p.

LEARDI, R. Experimental design in chemistry: a tutorial. **Analytica Chimica Acta**, v. 652, p. 161-172, 2009.

LIN, Y.C. et al. Multivariate analysis of heavy metal contaminations in seawater and sediments from a heavily industrialized harbor in Southern Taiwan. **Marine Pollution Bulletin**, v. 76, p. 266-275, 2013.

MAGESH, N.S.; CHANDRASEKAR, N.; ROY, D.V. Spatial analysis of trace element contamination in sediments of Tamiraparani estuary, southeast coast of India. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 92, p. 618-628, 2011.

MAMANI, M.C.V. et al. Simultaneous determination of tetracyclines in pharmaceuticals by CZE using experimental design. **Talanta**, v. 70, p. 236-243, 2006.

MARÍN, M.R.P. et al. Determination of trace and major elemental profiles in street dust samples by fast miniaturized ultrasonic probe extraction and ICP-MS. **Talanta**, v. 84, p. 840-845, 2011.

MC CREADY, S.; BIRCH, G.F.; LONG, E.R. Metallic and organic contaminants in sediments of Sydney Harbour, Australia and vicinity – a chemical dataset for evaluating sediment quality guidelines. **Environmental International**, v. 32, p. 455-465, 2006.

MOREIRA, N. et al. Optimization of the HS-SPME-GC-IT/MS method using a central composite design for volatile carbonyl compounds determination in beers. **Talanta**, v. 117, p. 523-531, 2013.

MUCHA, A.P.; VASCONCELOS, M.T.S.D.; BORDALO, A.A. Spatial and seasonal variations of the macrobenthic community and metal contamination in the Douro estuary (Portugal). **Marine Environmental Research**, v. 60, p. 531-550, 2005.

NELMS, S. M. **Inductively coupled plasma mass spectrometry handbook**. Oxford: Blackwell Publishing, 2005. 498p.

NETO, B.B.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. **Como fazer experimentos**. 4.ed. Porto Alegre: Bookman, 2010. 413 p.

NÓBREGA, J.A. et al. Microwave-assisted digestion of organic samples: How simple can it become? **Talanta**, v. 98, p. 272-276, 2012.

NOMNGONGO, P.N. et al. Chemometric optimization of hollow fiber-liquid phase microextraction for preconcentration of trace elements in diesel and gasoline prior to their ICP-OES determination. **Microchemical Journal**, v. 114, p. 141-147, 2014.

ORECCHIO, S. et al. Determination of trace elements in gluten-free food for celiac people by ICP-MS. **Microchemical Journal**, v. 116, p. 163-172, 2014.

PICÓ, Y. Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 43, p. 84-99, 2013.

POZEBON, D. Uso da vaporização eletrotérmica para a introdução de amostras no ICP-MS. 1998. 165f. Tese (Doutorado em Química), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

QUADROS, D.P.C. et al. Evaluation of Brazilian and Venezuelan crude oil samples by means of the simultaneous determination of Ni and V as their total and non-volatile fractions using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Energy fuels**, v. 24, p. 5907-5911, 2010.

ROCHA, D.L. et al. Greening sample preparation in inorganic analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 45, p. 79-92, 2013.

ROVAI, A.S. et al. Photosynthetic performance of restored and natural mangroves under different environmental constraints. **Environmental Pollution**, v. 181, p. 233-241, 2013.

SAINT'PIERRE, T.D. **Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de metais traço em álcool combustível e gasolina por espectrometrias de absorção atômica e de massa com plasma indutivamente acoplado.** 2004. 124 f. Tese (Doutorado em Química), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

SAITOH, K. et al. Comparison of elemental quantity by PIXE and ICP-MS and/or ICP-AES for NIST standards. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B**, v. 189, p. 86-93, 2002.

SANTOS, W.P.C. et al. Application of multivariate optimization in the development of an ultrasound-assisted extraction procedure for multielemental determination in bean seeds samples using ICP OES. **Microchemical Journal**, v. 91, p. 153-158, 2009.

SANTOS-ECHEANDÍA, J.; PREGO, R.; COBELO-GARCÍA, A. Influence of the heavy fuel spill from the Prestige tanker wreckage in the overlying seawater column levels of copper, nickel and vanadium (NE Atlantic Ocean). **Journal of Marine Systems**, v. 72, p. 350-357, 2008.

SILVA, S. et al. Sediment disturbance off the Tagus Estuary, Western Portugal: chronic contamination, sewage outfall operation and runoff events. **Marine Pollution Bulletin**, v. 49, p. 154-162, 2004.

SOFTWARE GUIDE – Elan 6000 Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer.

SPENCER, K.L.; MAC LEOD, C.L. Distribution and partitioning of heavy metals in estuarine sediment cores and implications for the use of sediment quality standards. **Hydrology and Earth System Sciences**, v. 6, p. 989-998, 2002.

SPIRO, T.G.; STIGLIANI, W.M. **Química Ambiental**. 2.ed. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 2009. 334 p.

TARLEY, C.R.T. et al. Chemometric tools in electroanalytical chemistry: methods for optimization based on factorial design and response surface methodology. **Microchemical Journal**, v. 92, p. 58-67, 2009.

TEIXEIRA, M.C. et al. Cathodic stripping voltammetric determination of arsenic in sugarcane brandy at a modified carbon nanotube paste electrode. **Food Chemistry**, v. 154, p. 38-43, 2014.

THOMAS, R. A beginner's guide to ICP-MS. The interface region. **Spectroscopy**, v. 16, p. 19-22, 2001.

TWISS, M.R. et al. Guidelines for studies of metal bioavailability and toxicity – why metal speciation should be considered and how!

Canadian Network of Toxicology Centres (CNTC). **Metal Speciation Theme Team**, version 6, p. 1-30, 2000.

VALKIRIS, A.O. et al. Measurement of copper release rates from antifouling paint under laboratory and in situ conditions: implications for loading estimation to marine water bodies. **Marine Pollution Bulletin**, v. 46, p. 763-779, 2003.

VIEIRA, E.C. et al. Decomposição de amostras de solos assistida por radiação microondas: estratégia para evitar a formação de fluoretos insolúveis. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 29, p. 547-553, 2005.

WANG, B.S.; LEE, C.P.; HO, T.Y. Trace metal determination in natural waters by automated solid phase extraction system and ICP-MS: the influence of low level Mg and Ca. **Talanta**, v. 128, p. 337-344, 2014.

XU, H. et al. Development of a gradient high performance liquid chromatography assay for simultaneous analysis of hydrophilic gemcitabine and lipophilic curcumin using a central composite design and its application in liposome development. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 98, p. 371-378, 2014.

XU, G. et al. Distribution and source of heavy metals in the surface sediments from the near-shore area, north Jiangsu Province, China. **Marine Pollution Bulletin**, v. 83, p. 275-281, 2014.

YU, X.; YAN, Y.; WANG, W. The distribution and speciation of trace metals in surface sediments from the Pearl River Estuary and the Daya Bay, Southern China. **Marine Pollution Bulletin**, v. 60, p. 1364-1371, 2010.

CAPÍTULO III. Desenvolvimento de metodologia analítica para a determinação de BTEX em matrizes de resíduos sólidos.

3.1 INTRODUÇÃO

Na literatura, resíduo sólido é definido como qualquer lixo, lodo (obtido a partir de uma fonte de água, estação de tratamento de águas residuais) ou outro material sólido descartado contendo materiais líquidos, semissólidos ou gasosos. Esses resíduos são provenientes de atividades industriais, comerciais, operações de mineração e agrícolas, bem como de atividades domésticas (<http://www.dec.ny.gov/chemical/8732.html>).

Devido aos riscos associados, em termos de poluição ambiental e saúde pública, o método de disposição de resíduos sólidos é escolhido após uma avaliação da sua composição. No Brasil, resíduos sólidos são classificados com base em seus conteúdos perigosos de acordo com a Norma Brasileira ABNT NBR 10004 e as decisões sobre o destino final - que podem envolver sua reutilização (por exemplo, na agricultura), disposição em aterros industriais ou incineração, são baseadas em análises químicas (NEMEROW; AGARDV; SALVATO, 2009).

Benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos (BTEX) são compostos voláteis comumente associados a produtos de petróleo. Uma das fontes mais comuns de contaminação de solos e águas subterrâneas por esses compostos são derramamentos envolvendo a liberação de produtos de petróleo, como gasolina, óleo diesel, óleo lubrificante, a partir do vazamento de tanques de petróleo. Devido a características de polaridade e solubilidade, eles são capazes de entrar nos compartimentos ambientais (solos e águas subterrâneas) e causar graves problemas de poluição, uma vez que todos apresentam efeitos agudo e/ou tóxico, em longo prazo (MAZZEO et al., 2010; ZHANG et al., 2012). Devido aos efeitos tóxicos para o meio ambiente e a saúde humana, o benzeno foi classificado pela Organização Mundial de Saúde como uma substância fortemente cancerígena, ocupando o 6º lugar na lista de substâncias perigosas. A Norma Brasileira ABNT NBR 10004 para resíduos sólidos estabelece um limite máximo de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ para o benzeno em extratos obtidos no processo de lixiviação. A exposição a essas substâncias perigosas pode causar efeitos nocivos sobre o fígado, rins, coração, pulmões e sistema nervoso, além de reduzir a função da medula óssea e causar câncer (DURMUSOGLU; TASPINAR; KARADEMIR, 2010; HOSSEINZADEH et al., 2011).

Na literatura, diversos trabalhos relatam a determinação de BTEX em diferentes matrizes, incluindo solos (EZQUERRO et al., 2004; BOONSANER; BORRIRUKWISITSAK; BOONSANER, 2011), água (MENÉNDEZ et al., 2000; HELENO et al., 2010;

HOSSEINZADEH et al., 2011, BIANCHIN et al., 2012) urina (FUSTINONI et al., 2010) e efluentes (GAUJAC et al., 2008). Métodos oficiais para a determinação de analitos orgânicos voláteis incluem várias técnicas, através das quais esses compostos podem ser introduzidos em um cromatógrafo a gás (GC) ou em um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas (GC-MS). Os sistemas de *headspace* estático para sólidos (EPA 5021) e purga e aprisionamento para sólidos resíduos de óleo (EPA 5035) e amostras aquosas (EPA 5030B, EPA 502.2) são os métodos mais comumente utilizados.

Devido à simplicidade e alta sensibilidade, a microextração em fase sólida (SPME) é extensivamente empregada na determinação de compostos voláteis e semivoláteis. É um método de extração rápido e eficiente que integra amostragem, isolamento e enriquecimento em uma única etapa, permitindo a determinação quantitativa de contaminantes em uma ampla variedade de matrizes (EISERT; PAWLISZYN, 1997). Em vista dessa facilidade e da grande complexidade dos resíduos sólidos, o objetivo deste trabalho é propor um método para a determinação de BTEX por SPME e detecção por GC/FID em amostras de resíduos sólidos oriundos de petróleo.

3.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.2.1 RESÍDUOS SÓLIDOS

De acordo com a ABNT, resíduos sólidos são definidos como resíduos no estado sólido e semissólido, que resultam de atividades de origem industrial, doméstica, hospitalar, comercial, agrícola, de serviços e varrição. Estão incluídos nessa definição os lodos provenientes de sistemas de tratamento de água, aqueles gerados em equipamentos e instalações de controle de poluição, assim como determinados líquidos cujas particularidades tornem inviável o seu lançamento na rede pública de esgotos ou corpos d'água (ABNT NBR 10004).

No Brasil, a lei nº 12.305/10, que institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos, prevê a prevenção e a redução na geração de resíduos, tendo como proposta a prática de hábitos de consumo sustentável e um conjunto de instrumentos para propiciar o aumento da reciclagem e da reutilização dos resíduos sólidos (aquilo que tem valor econômico e pode ser reciclado ou reaproveitado) e a destinação ambientalmente adequada dos rejeitos (aquilo que não pode ser reciclado ou reutilizado) (<http://www.mma.gov.br/política-de-resíduos-sólidos>).

Para avaliar o impacto ambiental de resíduos sólidos depositados em aterros, são realizados ensaios de lixiviação com o objetivo de definir a mobilidade de contaminantes orgânicos e inorgânicos presentes nas suas matrizes. Os lixiviados são misturas complexas que podem conter compostos orgânicos voláteis e/ou compostos solúveis em água, cuja toxicidade e mobilidade podem ser ambientalmente relevantes (BERNARDO et al., 2009). Compostos presentes em resíduos sólidos solúveis e extraíveis em água são considerados biodisponíveis. É provável que sejam transportados para a água e, conseqüentemente, podem ser absorvidos pelas plantas e, eventualmente, entrar na cadeia alimentar (MARANHÃO et al., 2013).

A tomada de decisão sobre a disposição final dos resíduos sólidos depende de uma avaliação prévia inerente a sua composição. No Brasil, a classificação de resíduos sólidos é realizada de acordo com a Norma ABNT NBR 10004, que os classifica quanto aos seus riscos potenciais ao meio ambiente e à saúde pública, para que possam ser gerenciados adequadamente. Na Figura 3.1, é mostrado um fluxograma que ilustra o processo de classificação. Para efeitos da referida norma, os resíduos são classificados em:

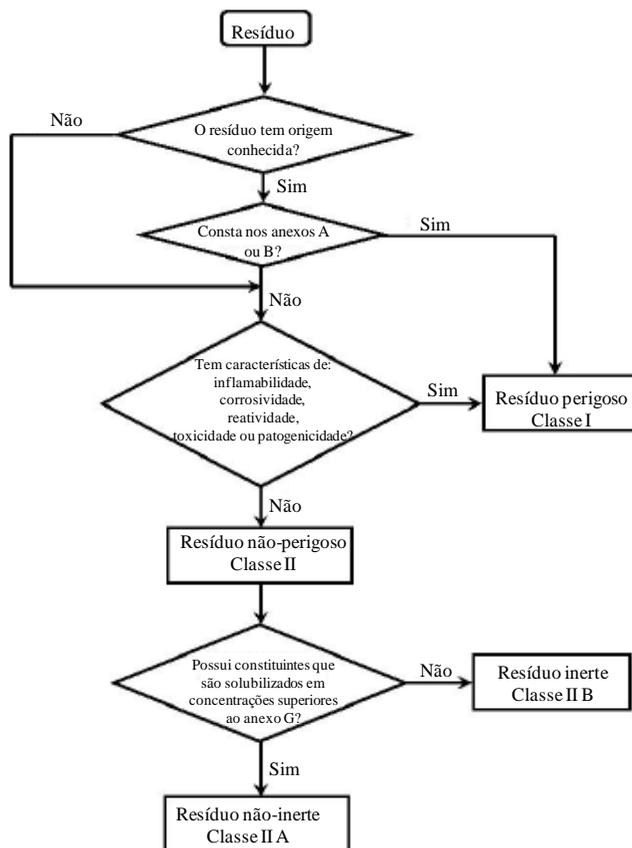
Resíduos classe I – perigosos;

Resíduos classe II – não perigosos;

Resíduos classe II A – não inertes;
Resíduos classe II B – inertes.

Resíduos classe I (perigosos) são aqueles que apresentam periculosidade ou características como: inflamabilidade, corrosividade, reatividade, toxicidade e/ou patogenicidade. A classe II A (resíduos não perigosos e não inertes) representa aqueles resíduos que não se enquadram nas classificações classe I ou classe II B. Resíduos classe II A podem apresentar propriedades como biodegradabilidade, combustibilidade ou solubilidade em água. Já os resíduos classe II B (não perigosos, inertes) são aqueles que, quando submetidos a um contato dinâmico e estático com água destilada ou desionizada, à temperatura ambiente, de acordo com a NBR 10006, não apresentam nenhum de seus constituintes solubilizados a concentrações superiores aos padrões de portabilidade de água, excetuando-se aspecto, cor, turbidez, dureza e sabor.

Figura 3.1. Fluxograma do processo de classificação de resíduos sólidos de acordo com a Norma ABNT NBR 10004. Anexos A, B e G estão presentes na Norma.



O procedimento para obtenção do extrato lixiviado de resíduos sólidos é descrito na Norma ABNT NBR 10005, na qual a lixiviação é definida como o processo para a determinação da capacidade de transferência de substâncias orgânicas e inorgânicas presentes no resíduo sólido por meio de dissolução no meio extrator. Duas soluções extratoras são indicadas para o processo de lixiviação, em pH 2,88 e em pH 4,93. Para compostos voláteis, a solução extratora em pH 4,93 é adequada. Após a análise do lixiviado, o resíduo é classificado comparando os dados obtidos com aqueles constantes no anexo F da

ABNT NBR 10004. Para os compostos de interesse neste estudo, a Norma estabelece um limite máximo no ensaio lixiviado apenas para o benzeno, de 0,5 mg L⁻¹.

Segundo a Norma ABNT NBR 10004, os métodos de ensaio para análises químicas devem seguir as recomendações da Norma USEPA – SW 846, que contém diretrizes para determinações por diversas metodologias. A Norma USEPA – SW 846 recomenda métodos que utilizam sistemas de *headspace* estático para sólidos (método EPA 5021), purga e aprisionamento para sólidos resíduos de óleo (método EPA 5035) e amostras aquosas (método EPA 5030B, EPA 502.2) e determinação por cromatografia a gás (<http://www.epa.gov/wastes/hazard/testmethods/sw846/pdfs/chap2.pdf>).

No entanto, novos métodos de extração desses compostos visando à simplicidade e à diminuição dos limites de detecção têm sido propostos por diversos autores, como a SPME (EZQUERRO et al., 2004; GAUJAC et al., 2008; HELENO et al., 2010; BIANCHI et al., 2012). Heleno et al. (2010) comparou a determinação de BTEX utilizando os métodos de *headspace* estático e por SPME, sendo que o resultados obtidos mostraram que a precisão no método por SPME foi melhor (com desvios padrão relativos menores que 5%), enquanto que no método de *headspace* estático foram observados valores acima de 20% para os compostos avaliados.

3.2.2 BTEX

Compostos orgânicos voláteis (VOC), particularmente benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos (BTEX) têm sido considerados os principais contribuintes para a deterioração da qualidade do ar, água e solos (LEMAIRE et al., 2011; EL-NAAS; ACIO; EL TELIB, 2014). Representam de 20% a 40% da concentração total de VOC em ambientes urbanos ao ar livre e são os compostos orgânicos mais comumente monitorados nos países da União Europeia (COSTA et al., 2012).

Esses hidrocarbonetos monoaromáticos são amplamente utilizados em processos industriais, como solventes para a síntese de diversos compostos orgânicos (plásticos, fibras sintéticas e pesticidas) e são constituintes de combustíveis fósseis (LEMAIRE et al., 2011; EL-NAAS; ACIO; EL TELIB, 2014).

São frequentemente encontrados na emissão de ar de várias fontes, tais como refinarias, unidades petroquímicas, fábricas de produtos químicos, tanques de armazenamento, exaustão de veículos,

incineradores de resíduos, entre outros. BTEX podem representar um sério risco para os solos e águas subterrâneas, devido aos efeitos tóxicos e à alta solubilidade em água (EL-NAAS; ACIO; EL TELIB, 2014), principalmente do benzeno (Tabela 3.1). As principais propriedades físico-químicas desses compostos são apresentadas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1. Propriedades físico-químicas dos BTEX

Composto	Densidade (g mL ⁻¹)	Solubilidade em água (g L ⁻¹)	Coefficiente de partição octanol/água	Ponto de ebulição (°C)
Benzeno	0,88	1,80	2,13	80,1
Tolueno	0,87	0,54	2,69	110,6
Etilbenzeno	0,87	0,16	3,15	136,2
M-xileno	0,87	0,15	3,20	139,3
O-xileno	0,88	0,18	2,77	144,4
P-xileno	0,86	0,16	3,15	137,0

Fontes: CHRISTENSEN E ELTON, 1996; BAIRD; CANN, 2011; EL-NAAS; ACIO; EL TELIB, 2014.

A contaminação de solos e águas subterrâneas por BTEX é geralmente associada a vazamentos de petróleo e óleo combustível de tanques de armazenamento subterrâneos e fabricação de tintas à base de solventes e vernizes (EL-NAAS; ACIO; EL TELIB, 2014).

Devido à facilidade de se moverem no ar, essas substâncias apresentam efeitos diretos e indiretos sobre a saúde humana. O benzeno é classificado pela EPA como um conhecido carcinógeno humano. O público é exposto ao vapor de benzeno em interiores a partir do uso de solventes e gasolina, por meio do fumo e da importação do benzeno do ar exterior para dentro da casa. Uma fração significativa da exposição ao vapor de benzeno ocorre enquanto as pessoas dirigem veículos motorizados e nos postos de combustíveis. Exposições crônicas aumentam a taxa de leucemia nas pessoas. Na primeira metade do século XX, houve muitas mortes entre os trabalhadores pela exposição ao benzeno a partir de solventes à base de petróleo, na fabricação de tintas, adesivos e revestimentos e em lavagens a seco. Ele também causa anemia aplástica, situação em que o indivíduo está cronicamente cansado, sujeito a infecções, porque a medula não produz células vermelhas em quantidade suficiente. Em virtude dos sérios problemas de saúde que provoca, o uso do benzeno como solvente foi amplamente

proibido. Além disso, suas concentrações máximas permitidas na gasolina foram reduzidas (BAIRD; CANN, 2011).

Devido aos efeitos adversos à saúde humana, o monitoramento desses compostos é de extrema importância. As concentrações máximas permitidas por órgãos brasileiros em água potável, efluentes e extratos de lixiviação de resíduos sólidos são apresentadas na Tabela 3.2. A Agência de Proteção Ambiental Norte-Americana estabelece uma concentração máxima de benzeno em água potável de $5 \mu\text{g L}^{-1}$, assim como o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). A legislação da União Europeia é mais rigorosa, com um valor equivalente a $1 \mu\text{g L}^{-1}$ para o benzeno (GAUJAC et al., 2008).

Tabela 3.2. Concentrações máximas permitidas de BTEX em água potável e em efluentes de acordo com as resoluções do CONAMA e limite máximo permitido no extrato de lixiviação de acordo com a Norma Brasileira ABNT NBR 10004 para classificação de resíduos sólidos

Composto	Valores máximos permitidos no lançamento de efluentes ($\mu\text{g L}^{-1}$) CONAMA 430	Valores máximos permitidos em água potável ($\mu\text{g L}^{-1}$) CONAMA 357	Limite máximo permitido no extrato de lixiviação ($\mu\text{g L}^{-1}$) ABNT NBR 10004
Benzeno	1200	5	500
Tolueno	1200	2	-
Etilbenzeno	840	90	-
Xilenos totais	1600	300	-

Fontes: CONAMA Res. 357/2005 e 430/2011; ABNT NBR 10004.

3.2.3 PREPARO DE AMOSTRA

Um procedimento analítico consiste de diversas etapas: amostragem, preparo de amostra, separação, quantificação e avaliação estatística. Cada etapa é crítica para a obtenção de resultados corretos (WARDENCKI; CURYLO; NAMIESNIK, 2007; PAWLISZYN, 2009).

O preparo de amostra é considerado uma das etapas-chave de um método analítico. Nessa etapa, procura-se isolar e concentrar os analitos da matriz da amostra, pois a maior parte dos instrumentos analíticos não pode receber a matriz diretamente. O preparo de amostra envolve procedimentos de extração e pode incluir também procedimentos de limpeza para amostras muito complexas. Essa etapa

deve também permitir a obtenção dos analitos em níveis de concentração adequados para a detecção (VALENTE; AUGUSTO, 2000; PAWLISZYN, 2009).

Os métodos tradicionais de preparo de amostra são geralmente demorados, empregam procedimentos de várias etapas, com alto risco de perda de analitos, e utilizam grandes quantidades de solventes orgânicos. Nesse sentido, uma atenção especial tem sido dada a técnicas que se caracterizam por uma redução considerável ou a completa eliminação de solventes orgânicos. Essas técnicas protegem o meio ambiente e reduzem os custos de análises (MALIK; KAUR; VERMA, 2006).

Entre as técnicas modernas de preparo de amostra, destacam-se a microextração em fase líquida (LPME), a extração sortiva em barra de agitação (SBSE) e a microextração em fase sólida (SPME), desenvolvida por Pawliszyn e colaboradores no início da década de 90 (RAMOS, 2012).

3.2.3.1 *Microextração em fase sólida (SPME)*

A microextração em fase sólida é uma técnica de extração e pré-concentração livre de solventes orgânicos, relativamente rápida, seletiva e versátil, amplamente utilizada como método de preparo de amostra em diversas matrizes (ar, água, solo, sangue, urina, entre outras). Permite alcançar limites de detecção em níveis de ppt para compostos voláteis, semivoláteis e não voláteis (WARDENCKI; CURYLO; NAMIESNIK, 2007).

A SPME se baseia na sorção dos analitos presentes na amostra ou em seu *headspace* por um filme fino de uma fase extratora imobilizada sobre uma fibra de sílica fundida. Durante a extração, as moléculas do analitos têm de se deslocar da matriz e penetrar no recobrimento e, para isso, transferências de massa devem ser vencidas, até que se estabeleça um equilíbrio de partição (ou de adsorção, para o caso de recobrimentos sólidos) do analito, entre a fibra e o meio que a envolve. Realizada a extração, a fibra é removida da amostra e os analitos são termicamente desorvidos em um instrumento analítico apropriado (GC, HPLC, CE, etc.) para serem, então, separados e quantificados (VALENTE; AUGUSTO, 2000; AUGUSTO; VALENTE, 2002).

A eficiência de extração do analito em SPME depende de alguns parâmetros, tais como o recobrimento da fibra, o modo de

extração, o volume de amostra, o tempo e a temperatura de extração, a agitação, a força iônica, entre outros (PAWLISZYN, 2009).

A escolha do recobrimento da fibra é a primeira etapa no desenvolvimento de um método por SPME. Existe uma variedade de tipos de recobrimento disponíveis comercialmente, variando em polaridade, espessura da fase estacionária e comprimento de recobrimento (Tabela 3.3). O princípio “semelhante dissolve semelhante” serve como uma regra geral para a escolha do recobrimento. A espessura deste determina a capacidade do analito na fibra, assim como o tempo de extração requerido para atingir o equilíbrio. Recobrimentos de maior espessura apresentam maior capacidade, porém, requerem um maior tempo para alcançar o equilíbrio, quando comparados aos recobrimentos de menor espessura. Analitos voláteis requerem um recobrimento mais espesso para retê-los, enquanto recobrimentos menos espessos são preferidos para a extração de analitos de alta massa molar (AUGUSTO; VALENTE, 2002; WARDENCKI; CURYLO; NAMIESNIK, 2007; PAWLISZYN, 2009). Um guia para auxiliar na escolha do recobrimento de acordo com as propriedades do analito é ilustrado na Figura 3.2.

Figura 3.2. Guia para seleção de recobrimento de fibra de acordo com as propriedades do analito, volatilidade e polaridade. Adaptado a partir de PAWLISZYN, 2009.

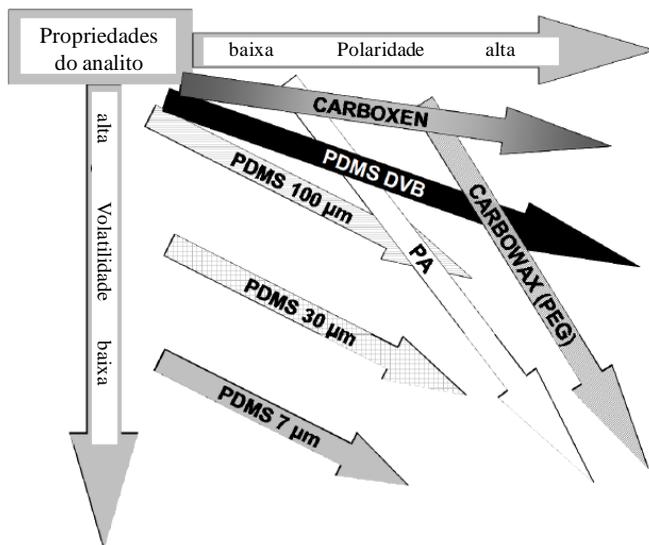


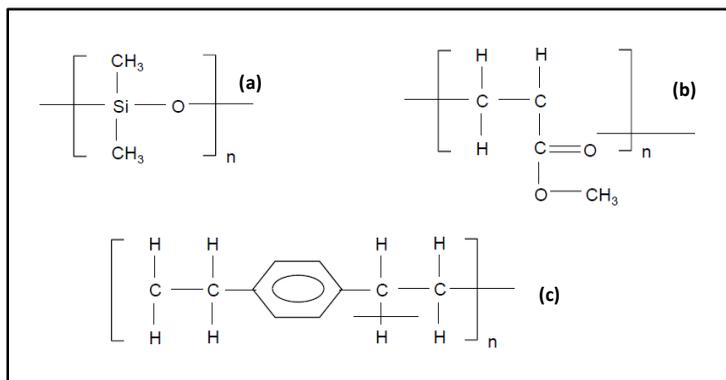
Tabela 3.3. Tipos de recobrimentos de fibra de SPME disponíveis comercialmente

Tipo de recobrimento	Mecanismo de extração	Polaridade
7 µm Polidimetilsiloxano (PDMS)	Absorção	Apolar
30 µm PDMS	Absorção	Apolar
100 µm PDMS	Absorção	Apolar
85 µm Poliacrilato (PA)	Absorção	Polar
60 µm Polietilenoglicol (PEG)	Absorção	Polar
15 µm Carboxen Z-PDMS	Adsorção	Bipolar
65 µm PDMS/DVB	Adsorção	Bipolar
55 µm / 30 µm DVB/Carboxen/PDMS	Adsorção	Bipolar
85 µm Carboxen-PDMS	Adsorção	Bipolar

Fonte: Adaptado a partir de PAWLISZYN, 2009.

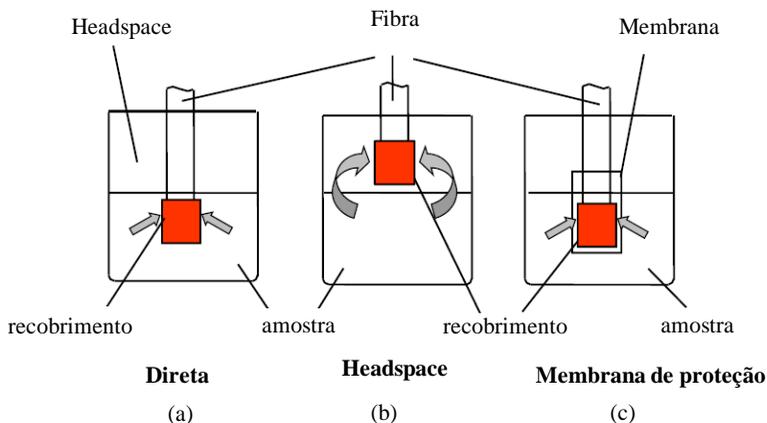
Vários recobrimentos utilizam tanto o mecanismo de adsorção (recobrimentos sólidos) quanto o de absorção (recobrimentos líquidos) para extrair os analitos das amostras. Recobrimentos como PDMS e PA utilizam o mecanismo de absorção, enquanto fibras mistas como a PDMS/DVB, CAR/PDMS e DVB/CAR/PDMS utilizam o mecanismo de adsorção para isolar os analitos da matriz (PAWLISZYN, 2009). A Figura 3.3 ilustra as estruturas químicas de alguns recobrimentos de fibra disponíveis comercialmente.

Figura 3.3. Estruturas químicas de alguns recobrimentos de fibra disponíveis comercialmente: (a) polidimetilsiloxano (PDMS), (b) poliacrilato (PA), (c) divinilbenzeno (DVB). Adaptado a partir de PAWLISZYN, 2009.



Três modos de extração podem ser realizados por SPME: imersão direta, extração no *headspace* e extração com membrana de proteção, cujas diferenças são ilustradas na Figura 3.4.

Figura 3.4. Modos de operação em SPME: (a) imersão direta, (b) *headspace*, (c) extração com membrana de proteção. Adaptado a partir de PAWLISZYN, 2009.



No modo de imersão direta, a fibra é inserida na amostra e os analitos são transportados diretamente da matriz da amostra para a fase extratora. Esse modo de extração é amplamente empregado para analitos de baixa volatilidade, devido à dificuldade de serem liberados para o *headspace* da amostra. No modo de extração no *headspace*, a fibra é inserida no *headspace* acima da matriz. Apenas analitos relativamente voláteis são extraídos efetivamente. A amostragem no *headspace* é vantajosa para amostras com interferentes de alta massa molar. Para amostras contendo analitos não voláteis e compostos interferentes de alta massa molar, a aplicação de SPME por imersão direta ou no *headspace* pode ser um desafio. Nesses casos, o uso de membranas protetoras resulta em melhor reprodutibilidade e exatidão (PAWLISZYN, 2009).

A agitação da amostra facilita a difusão dos analitos, aumentando a transferência de massa entre a amostra e o recobrimento extrator. Assim, o tempo necessário para que o equilíbrio seja alcançado pode ser reduzido utilizando um método de agitação, sendo a agitação com barra magnética o mais utilizado. No entanto, a barra de agitação pode causar aquecimento no frasco de extração contendo a amostra, levando a um aumento no valor da constante de distribuição e,

consequentemente, diminuindo a eficiência de extração (PAWLISZYN, 2009).

A adição de sal, conhecida como efeito *salting-out*, aumenta a força iônica da solução da amostra. Cloreto de sódio é o sal mais frequentemente utilizado, embora outros sais possam ser empregados. O efeito *salting-out* faz com que as moléculas do analito passem mais facilmente da matriz para o *headspace*. Contudo, a adição de sal pode aumentar ou diminuir a quantidade de analito extraída, dependendo do composto, da matriz e da concentração de sal, sendo que esse efeito não foi examinado teoricamente e é determinado apenas por experimentos. Em geral, o efeito *salting-out* aumenta com o aumento da polaridade dos compostos (PAWLISZYN, 2009).

3.2.3.1.1 Aspectos termodinâmicos

A SPME é um processo baseado em equilíbrios simultâneos em sistemas multifásicos. Na discussão abaixo, iremos considerar três fases: o recobrimento da fibra, a fase gasosa ou *headspace* e uma matriz homogênea como água pura ou ar. Durante a extração, os analitos migram entre as três fases até que o equilíbrio seja alcançado (PAWLISZYN, 2009).

A quantidade de analito extraído pelo recobrimento polimérico está relacionada ao equilíbrio do analito no sistema trifásico. Como a massa total do analito deve permanecer constante durante a extração, temos que:

$$C_0V_s = C_fV_f + C_hV_h + C_sV_s \quad (\text{Equação 1})$$

Onde: C_0 é a concentração inicial do analito na amostra; C_f, C_h, C_s são as concentrações no equilíbrio dos analitos na fibra, no *headspace* e na amostra, respectivamente, e V_f, V_h, V_s são os volumes do recobrimento da fibra, do *headspace* e da amostra.

A constante de distribuição do analito entre as fases fibra/*headspace* (K_{fh}) e *headspace*/amostra (K_{hs}) são definidas como:

$$K_{fh} = C_f / C_h \quad (\text{Equação 2})$$

$$K_{hs} = C_h / C_s \quad (\text{Equação 3})$$

O número de mols do analito, n , extraído pelo recobrimento no sistema em equilíbrio, pode ser expresso como:

$$n = C_f V_f \quad (\text{Equação 4})$$

$$n = \frac{K_{fh} K_{hs} V_f C_0 V_s}{K_{fh} K_{hs} V_f + K_{hs} V_h + V_s} \quad (\text{Equação 5})$$

Assim, a equação 5 correlaciona a quantidade extraída do analito com os parâmetros fundamentais dos equilíbrios simultâneos e descreve o aspecto termodinâmico da SPME (PAWLISZYN, 1999; VALENTE; AUGUSTO, 2000; PAWLISZYN, 2009).

3.2.4 OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA: PLANEJAMENTO DOEHLERT

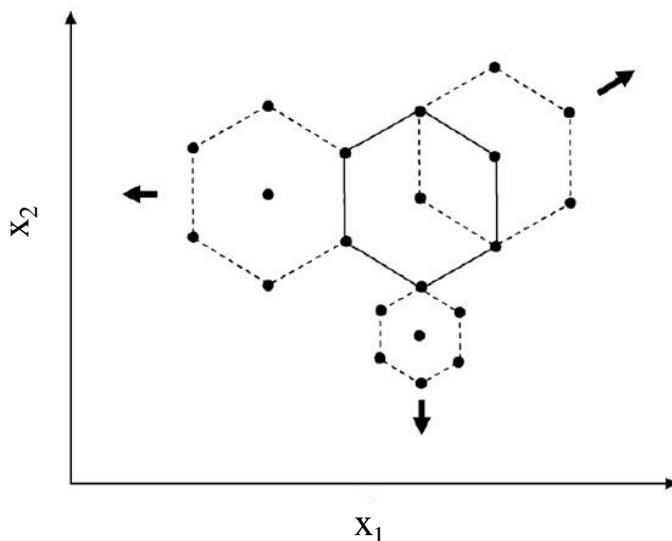
Proposto por Doehlert em 1970, o Planejamento Doehlert consiste em uma alternativa prática e econômica em relação a outras matrizes experimentais de segunda ordem. Pode ser aplicado facilmente para a otimização de variáveis e oferece vantagens, como a alta eficiência e a necessidade de um menor número de experimentos em relação a outros planejamentos como o composto central e o Box-Benken (FERREIRA et al., 2004; BEZERRA et al., 2008; CALDAS et al., 2013).

De acordo com Bezerra et al. (2008), as principais características desse planejamento experimental são:

- (1) Requer número de experimentos de acordo com a equação: $N = k^2 + k + C_p$, onde k corresponde ao número de variáveis ou fatores e C_p representa o número de replicatas do ponto central;
- (2) Cada variável é estudada em um número diferente de níveis, característica particularmente importante quando algumas variáveis estão sujeitas a restrições, tais como custo e/ou restrições experimentais ou quando é interessante estudar uma variável em um maior ou menor número de níveis;
- (3) Os intervalos entre os níveis apresentam uma distribuição uniforme;
- (4) O deslocamento da matriz experimental para outra região experimental pode ser alcançado utilizando pontos adjacentes anteriores.

Para duas variáveis, o planejamento Doehlert consiste de um ponto central rodeado de seis pontos, formando um hexágono regular. A Figura 3.5 mostra algumas possibilidades de deslocamento das condições experimentais originais. Para três variáveis, esse planejamento é representado por um sólido geométrico chamado cubooctaedro, que pode gerar diferentes matrizes experimentais, dependendo da forma como é projetado no plano.

Figura 3.5. Planejamento Doehlert para a otimização de duas variáveis e algumas possibilidades de deslocamento do planejamento inicial utilizando pontos anteriores. Fonte: BEZERRA et al., 2008.



A primeira aplicação do planejamento Doehlert em Química Analítica foi descrita em um sistema de separação usando cromatografia líquida de alta eficiência (HU; MASSART, 1989). Outras aplicações, desde então, incluem: método espectrofotométrico para determinação de cobre em cachaça (CALDAS et al., 2011), separação de compostos fenólicos de óleo de oliva extravirgem por eletroforese capilar (BALLUS et al., 2014), otimização das condições para o tratamento eletroquímico de efluentes do curtume (HAMMAMI et al., 2009), determinação de pesticidas organoclorados em água por cromatografia gasosa (AGUILAR et al., 1999) e determinação de vanádio e cobre em água do mar por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (FERREIRA et al., 2002).

3.3 OBJETIVOS

3.3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver uma metodologia analítica para a determinação de BTEX por SPME em amostras de resíduos sólidos utilizando cromatografia gasosa com detecção por ionização em chama.

3.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Otimizar as variáveis que afetam o processo de extração por SPME;
- ✓ Obter os principais parâmetros analíticos de mérito para a validação da metodologia proposta;
- ✓ Realizar o procedimento de lixiviação proposto pela Norma Brasileira ABNT NBR 10005 e comparar com a metodologia proposta neste estudo;
- ✓ Aplicar a metodologia proposta em amostras provenientes de resíduo de petróleo.

3.4 MATERIAIS E MÉTODOS

3.4.1 LIMPEZA DA VIDRARIA

Com o objetivo de remover resíduos orgânicos, os materiais de vidro foram primeiramente lavados com água corrente, detergente comercial diluído e escova. Em seguida, foram enxaguados e mergulhados em solução de Extran 5% (v/v) (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil), deixados em repouso por pelo menos 24 horas em recipiente fechado e enxaguados com água desionizada. Para eliminar resíduos orgânicos, a vidraria, exceto a volumétrica, foi calcinada em mufla a 400 °C durante quatro horas. Após o processo de lavagem, foi acondicionada em local apropriado, envolta em papel alumínio e manuseada apenas com o uso de luvas de polietileno, evitando qualquer tipo de contaminação.

3.4.2 REAGENTES E SOLUÇÕES

Solução estoque de BTEX contendo benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos, na concentração de 2 mg mL⁻¹ em metanol, foi obtida da AccuStandard (New Haven, CT, USA). As soluções de trabalho foram preparadas pela diluição da solução estoque com metanol grau UV/HPLC obtido da Tedia (Rio de Janeiro, Brasil).

Cloreto de sódio de pureza analítica (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) foi utilizado para o ajuste da força iônica.

Ácido acético (Nuclear, São Paulo, Brasil), hidróxido de sódio (Vetec, Rio de Janeiro, Brazil), ambos de pureza analítica, e água desionizada (Milli-Q Millipore Bedford, MA, USA) foram utilizados para o preparo das soluções extratoras (pH 4,93), conforme recomendado pela norma brasileira ABNT NBR 10005.

Soluções tampão de pH 4,00 ± 0,02 e pH 7,00 ± 0,02 (Nalgon, São Paulo, Brasil) foram utilizadas para a calibração do pHmetro.

Diclorometano grau UV/HPLC (Tedia, Rio de Janeiro, Brasil) foi utilizado no preparo das amostras de resíduo sólido.

Todas as extrações foram realizadas em frascos de vidro (Supelco, Saint Louis, MO, USA) com capacidade para 40 mL.

3.4.3 INSTRUMENTAÇÃO

As análises cromatográficas foram realizadas em um cromatógrafo a gás Shimadzu (Kyoto, Japão), equipado com detector de

ionização em chama e injetor *split/splitless*. Hidrogênio ultrapuro (99,995%) foi empregado como gás de arraste. A coluna capilar usada foi Rtx-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm), composta de 95% de polidimetilsiloxano e 5% de fenila, obtida da Restek (Bellefonte, PA, USA). O programa de temperatura no forno da coluna iniciou em 35 °C (mantidos por 5 minutos). Em seguida, a temperatura foi aumentada a uma taxa de aquecimento de 10 °C por minuto, até atingir 220 °C, mantidos por mais 1 minuto. A temperatura do injetor foi de 280 °C, quando se utilizou a fibra CAR/PDMS (carboxen-polidimetilsiloxano), e 250 °C, quando foram utilizadas as fibras PDMS (polidimetilsiloxano) e PDMS/DVB (polidimetilsiloxano-divinilbenzeno), aplicando o modo *splitless* no tempo inicial de 1 minuto e, em seguida, o modo *split* a uma razão de 1:50. O tempo de dessorção da fibra no injetor foi de 5 minutos, o suficiente para que nenhum efeito de memória fosse observado. A temperatura do detector foi de 300 °C.

Um banho termostatizado (Microquímica, Florianópolis, Brasil) foi utilizado para o controle da temperatura. As fibras de SPME foram obtidas da Supelco (Bellefonte, PA, USA).

3.4.4 PREPARO DAS AMOSTRAS

Amostras de resíduo sólido obtidas de uma unidade de hidroprocessamento de petróleo foram extraídas com 5 mL de diclorometano (em triplicata) e colocadas em uma chapa de aquecimento a 80 °C, a fim de remover qualquer traço orgânico e os compostos voláteis remanescentes. Essas amostras foram utilizadas para o procedimento de lixiviação, para a otimização do método de extração e para os ensaios de recuperação.

3.4.5 LIXIVIAÇÃO DO RESÍDUO SÓLIDO

O processo de lixiviação seguiu os procedimentos recomendados pela Norma Brasileira ABNT NBR 10005. Em resumo, para uma alíquota de amostra de 25,0 g, adicionou-se 500 mL da solução extratora contendo 0,57% v/v de ácido acético e 6,43% v/v de hidróxido de sódio ($1,00 \text{ mol L}^{-1}$) em pH $4,93 \pm 0,05$. Essa solução é adequada para a extração dos compostos voláteis. A mistura contendo o resíduo foi submetida à agitação a $30 \pm 2 \text{ rpm}$ utilizando um agitador adequado (TE-743, Tecnal, Piracicaba, Brasil) por 18 horas à

temperatura ambiente (25 °C). Depois disso, o extrato lixiviado estava pronto para a análise.

3.4.6 ESCOLHA DO RECOBRIMENTO DA FIBRA

Três diferentes fibras de SPME foram testadas: CAR/PDMS (75 µm de espessura), PDMS (100 µm de espessura) e PDMS/DVB (65 µm de espessura) (Supelco, Bellefonte, PA, EUA). Antes de serem utilizadas, as fibras foram condicionadas no injetor do GC/FID de acordo com as instruções do fabricante. As fibras PDMS e PDMS/DVB foram condicionadas a 250 °C por 30 minutos, enquanto a fibra CAR/PDMS foi condicionada a 300 °C por 60 minutos.

Os ensaios para a escolha do recobrimento polimérico foram realizados utilizando 30,0 mg de resíduo sólido fortificado com os analitos a uma concentração de 100 µg g⁻¹. O procedimento consistiu em expor as fibras aos analitos por 30 minutos no modo *headspace*, mantendo a temperatura em 25 °C. Esse procedimento foi realizado em triplicata. Posteriormente, foram obtidas as áreas cromatográficas referentes aos analitos e feitas as médias, a fim de verificar qual fibra apresentou melhor resposta.

3.4.7 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO POR HS-SPME

As condições de extração foram otimizadas em duas etapas, utilizando o método multivariado. A resposta analítica usada para o processamento dos dados no software Statistica 8.0 (StatSoft Inc., Tulsa, USA) foi a área dos picos cromatográficos dos analitos individualmente em cada ensaio e, também, a média geométrica dos picos cromatográficos referentes aos analitos avaliados, a fim de obter um resultado que represente a condição de compromisso para todos os analitos estudados.

Os compostos benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos foram extraídos por SPME do *headspace* da amostra. Amostras de resíduo sólido foram pesadas diretamente nos frascos de vidro, fortificadas com 10 µL do padrão de BTEX (100 mg L⁻¹) e os frascos foram fechados.

Na primeira etapa, utilizou-se um planejamento Doehlert para a avaliação das variáveis massa de resíduo sólido (10,0 – 50,0 mg) e tempo de extração (10 – 50 min). Os níveis estudados para cada variável são apresentados na Tabela 3.4.

Tabela 3.4. Variáveis e níveis empregados no planejamento Doehlert para a primeira etapa da otimização do processo de extração

Ensaio	Massa de resíduo (mg)	Tempo de extração (min)
1	10	20
2	10	40
3	30	50
4	50	40
5	50	20
6	30	10
7	30	30
8	30	30
9	30	30
10	30	30

Na segunda etapa, utilizou-se novamente um planejamento Doehlert para estudar o efeito da adição de água (0,5 – 10,5 mL), considerando o sólido seco em suspensão, e o estudo da força iônica pela adição de cloreto de sódio (0 – 360 g L⁻¹). Neste caso, três níveis foram avaliados: sem sal, metade da saturação e saturado. As diferentes massas observadas na Tabela 3.5 são resultantes dos diferentes volumes de água utilizados. Assim, calculou-se a quantidade de sal levando em consideração o volume de água na metade da saturação e na solução saturada.

Tabela 3.5. Variáveis e níveis empregados no planejamento Doehlert para a segunda etapa da otimização do processo de extração

Ensaio	NaCl (g)	Volume de água (mL)
1	0,00	3,0
2	0,00	7,5
3	1,89	10,5
4	2,70	7,5
5	1,08	3,0
6	0,18	0,5
7	0,99	5,5
8	0,99	5,5
9	0,99	5,5
10	0,99	5,5

3.4.8 VALIDAÇÃO DO MÉTODO E APLICAÇÃO

A validação do método proposto neste estudo foi realizada pela obtenção dos principais parâmetros analíticos de mérito: faixa linear, coeficiente de correlação, seletividade, robustez, precisão, exatidão e limites de detecção e quantificação.

A precisão do método, expressa como o desvio padrão relativo (RSD), foi determinada por meio da análise de sete replicatas de resíduo sólido fortificado com BTEX a uma concentração de $100,0 \text{ ng mL}^{-1}$.

Os limites de detecção foram estimados como $3s/S$, enquanto os limites de quantificação foram estimados como $10s/S$, onde s é a estimativa do desvio padrão do coeficiente linear da equação e S é a inclinação (*slope*) ou coeficiente angular da curva de calibração.

A seletividade foi avaliada através da injeção de uma amostra isenta dos analitos, por sete vezes, enquanto a robustez foi verificada a partir da utilização de três diferentes massas de resíduo sólido para a extração: 20,0 mg; 35,0 mg; e 50,0 mg.

A exatidão do método foi avaliada por meio de ensaios de recuperação, realizados pelo enriquecimento de amostras de resíduos com diferentes níveis de BTEX. Uma comparação entre lixiviados obtidos de acordo com o procedimento de lixiviação proposto pela Norma Brasileira ABNT NBR 10005 a partir de duas amostras de resíduos sólidas enriquecidas com 50 ng mL^{-1} e 250 ng mL^{-1} de BTEX foi realizada.

O método foi aplicado na determinação de BTEX em amostras de resíduos sólidos obtidas de uma unidade de hidrocessamento de petróleo.

3.4.9 PROCEDIMENTO DE SPME NO EXTRATO LIXIVIADO

Após serem fortificadas com 50 e 250 ng mL^{-1} de BTEX e submetidas ao procedimento de lixiviação (conforme o item 3.4.5), as amostras de resíduo sólido foram submetidas à extração por SPME. Para isso, utilizou-se 20 mL da solução lixiviada extraída com a fibra CAR/PDMS na *headspace* da amostra, por 20 minutos e a $25 \text{ }^\circ\text{C}$, sendo os analitos posteriormente dessorvidos no injetor do cromatógrafo.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

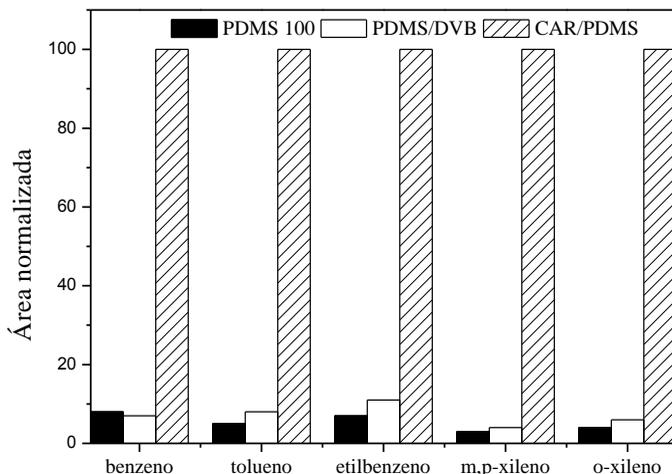
3.5.1 ESCOLHA DO RECOBRIMENTO DA FIBRA

A escolha adequada do recobrimento da fibra é muito importante, uma vez que o tipo e a quantidade de compostos extraídos da matriz dependem das propriedades físico-químicas (por exemplo, polaridade) da fase extratora e da espessura da fibra. Além disso, a otimização do recobrimento da fibra é uma etapa crítica no desenvolvimento de métodos por SPME, já que a escolha apropriada determina a seletividade e a confiança do método (PAWLISZYN, 2009). Três diferentes fibras comerciais foram avaliadas neste estudo: PDMS, PDMS/DVB e CAR/PDMS. Após as análises, foram obtidas as áreas dos picos cromatográficos referentes aos analitos extraídos em cada um dos recobrimentos testados e calculadas as médias geométricas, a fim de avaliar qual fibra apresentou melhor eficiência de extração.

Conforme pode ser observado na Figura 3.6, a fibra mais adequada para a extração dos compostos estudados foi a CAR/PDMS. Essa fibra extrai os analitos da matriz pelo mecanismo de adsorção, ao contrário de absorção, que é o mecanismo de extração de fibras revestidas unicamente com fases líquidas (PAWLISZYN, 2009).

O resultado obtido é consistente com trabalhos da literatura em que a fibra CAR/PDMS é geralmente recomendada para a extração de analitos de baixa massa molar (ELMORE; MOTTRAM; HIERRO, 2000). Além disso, Popp e Paschke reportaram que, em geral, o recobrimento de carboxen é mais efetivo que o recobrimento de divinilbenzeno para compostos de baixa massa molecular, o que corrobora com os resultados obtidos neste estudo. Os resultados menos satisfatórios, conforme esperado, foram obtidos com a fibra PDMS, recomendada para a extração de analitos apolares. Portanto, a fibra CAR/PDMS foi escolhida para os estudos posteriores de otimização e validação.

Figura 3.6. Comparação da eficiência de extração das fibras PDMS 100, PDMS/DVB e CAR/PDMS, utilizando 30 mg de resíduo com tempo de extração de 30 minutos a 25° C. Área normalizada: razão entre a área média individual e a maior área média para cada analito.



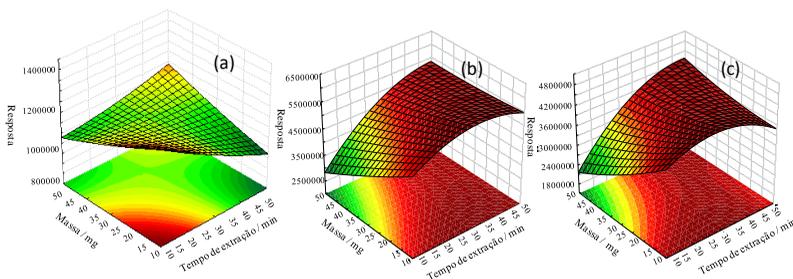
3.5.2 OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA

A massa de resíduo sólido utilizada para a extração deve ser apropriada. Se a massa for muito pequena, problemas de detectabilidade devido ao baixo sinal cromatográfico podem ocorrer. Da mesma forma, o tempo de extração é um fator-chave, pois a SPME é uma técnica de equilíbrio. A fim de determinar a influência da massa de resíduo e do tempo de extração na eficiência de extração, o design Doehlert foi aplicado. Como os compostos tolueno, etilbenzeno, o-xileno e p-xileno mostraram comportamento similar nas superfícies de resposta, esses analitos são aqui representados pelo o-xileno.

A Figura 3.7 mostra as superfícies de resposta para a avaliação do tempo de extração *versus* massa de resíduo sólido para benzeno, o-xileno e para a média geométrica dos analitos. Conforme pode ser observado, não houve melhora significativa no sinal utilizando valores entre 10,0 e 25,0 mg de resíduo sólido. Baseado nesses resultados, a quantidade de resíduo adotada para os estudos posteriores foi de 20,0 mg. Em relação ao tempo de extração, observou-se que para o benzeno 10 minutos foram suficientes para a obtenção de uma boa resposta.

Entretanto, os resultados obtidos para o o-xileno (Fig. 3.7b) mostraram que a melhor eficiência de extração é obtida entre 20 e 40 minutos, conforme esperado, já que este é menos volátil que o benzeno, requerendo um maior tempo de extração. Assim, adotou-se o tempo de 20 minutos como uma condição de compromisso para a extração desses compostos.

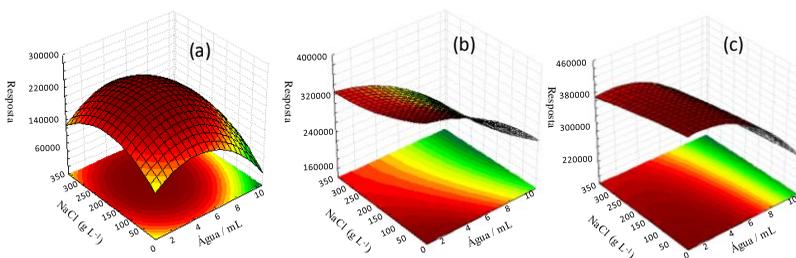
Figura 3.7. Superfícies de resposta obtidas a partir do planejamento Doehlert para as variáveis massa de resíduo sólido e tempo no processo de extração por SPME para: (a) benzeno, (b) o-xileno e (c) média geométrica dos analitos.



Os processos de sorção são afetados pela força iônica da amostra, que é ajustada pela adição de sal (MAGDIC et al., 1996). Portanto, o efeito da força iônica no processo de extração deve ser avaliado. Um design Doehlert foi aplicado considerando a adição de diferentes quantidades de água (entre 0,5 mL e 10,5 mL) e de NaCl em diferentes concentrações, levando em conta três condições: sem adição de sal, metade da quantidade para a saturação e próximo ao ponto de saturação ($0, 180 \text{ g L}^{-1}$ e 360 g L^{-1}), respectivamente.

A Figura 3.8 ilustra o efeito da adição de água *versus* a adição de NaCl no processo de extração. As superfícies de resposta obtidas para o o-xileno e para a média geométrica dos analitos mostram que a eficiência de extração diminui com o aumento da adição de água e sal. A resposta máxima foi obtida com a adição de 0,5 mL de água ao sistema, sem sal. A exceção foi o benzeno, para o qual a adição de água e a saturação com NaCl favoreceu a extração (Figura 3.8a). MENÉNDEZ et al. (2000) mostraram que a adição de NaCl conduziu apenas ligeiramente melhores resultados no caso do benzeno, enquanto que para os outros compostos (tolueno, etilbenzeno e xilenos) não foram observados efeitos favoráveis, ou, por vezes, desfavoráveis, em amostras aquosas. Consequentemente, não foram adicionados água e NaCl nas etapas posteriores deste estudo.

Figura 3.8. Superfícies de resposta obtidas a partir do planejamento Doehlert para as variáveis adição de água e adição de NaCl no processo de extração por SPME para: (a) benzeno, (b) o-xileno e (c) média geométrica dos analitos.



3.5.3 VALIDAÇÃO DO MÉTODO E APLICAÇÃO

Após estabelecer as melhores condições para a extração de BTEX em resíduos sólidos, tempo de extração de 20 minutos a 25°C e 20,0 mg de resíduo sólido, foram avaliados diversos parâmetros para a validação da metodologia proposta neste estudo. Os principais parâmetros de mérito avaliados foram: faixa linear, coeficiente de correlação, limites de detecção e quantificação, seletividade, robustez, precisão e exatidão.

A precisão do método, expressa como o desvio padrão relativo (RSD), apresentou valores entre 1,3% e 7,0%. Os coeficientes de correlação obtidos variaram entre 0,9980 e 0,9999 (Tabela 3.6).

Os limites de detecção obtidos para a determinação de BTEX em resíduos sólidos variaram entre 1,8 e 21,0 ng mL⁻¹, conforme pode ser observado na Tabela 3.6, o que significa que o método proposto tem capacidade de detecção suficiente para ser usado na classificação de resíduos, de acordo com a Norma Brasileira ABNT NBR 10005, a qual estipula um limite máximo para benzeno de 0,5 mg L⁻¹ no extrato lixiviado.

A seletividade foi avaliada através da injeção de uma amostra isenta dos analitos, por sete vezes. Nenhum composto interferente eluiu no mesmo tempo de retenção dos analitos, mostrando que o método proposto é seletivo.

A robustez do método proposto foi verificada a partir da utilização de três diferentes massas de resíduo sólido para a extração. Os resultados obtidos mostraram bons valores de desvios padrão relativos, menores que 1,8% para todos os analitos.

Tabela 3.6. Parâmetros analíticos de mérito obtidos para o método proposto de extração de BTEX em resíduos sólidos por SPME e GC/FID

Analito	R ²	Faixa linear (ng mL ⁻¹)	LOD (ng mL ⁻¹)	LOQ (ng mL ⁻¹)	RSD / % ^a
benzeno	0,9995	35,0 – 250,0	10,5 ± 0,5	34,9 ± 1,1	3,2
tolueno	0,9999	12,5 – 250,0	1,8 ± 0,1	6,0 ± 0,9	1,3
etilbenzeno	0,9999	12,5 – 250,0	3,7 ± 0,2	12,3 ± 0,7	7,0
m, p- xileno	0,9980	70,0 – 250,0	21,0 ± 0,8	70,0 ± 3,9	4,8
o- xileno	0,9988	70,0 – 250,0	17,8 ± 0,9	59,3 ± 1,7	3,8

R²: coeficiente de correlação; LOD: limite de detecção; LOQ: limite de quantificação; ^aRSD: desvio padrão relativo.

A exatidão do método foi avaliada por meio de ensaios de recuperação, realizados pelo enriquecimento de amostras de resíduos com diferentes níveis de BTEX. Os resultados obtidos são mostrados na Tabela 3.7. As maiores perdas dos analitos são observadas na concentração de 250 ng mL⁻¹ para benzeno e xilenos, consequência atribuída à lixiviação, tendo em vista a volatilidade dos analitos em questão. Já para o lixiviado enriquecido com 50 ng mL⁻¹ foram obtidos

valores satisfatórios de recuperação, demonstrando a exatidão do método. Na Figura 3.9, são ilustrados dois cromatogramas obtidos para a determinação desses compostos em resíduo sólido e em lixiviado de resíduo sólido.

Tabela 3.7. Concentrações de BTEX (ng mL^{-1}) em lixiviados de resíduos sólidos enriquecidos com 50 ng mL^{-1} e 250 ng mL^{-1} de BTEX (intervalo de confiança de 95%; * n=3)

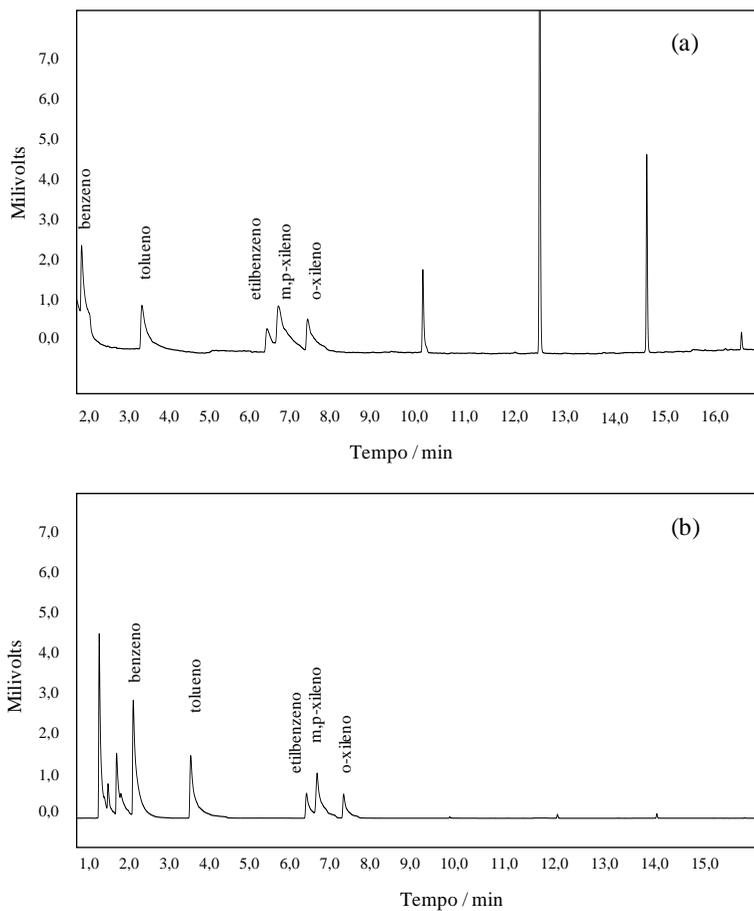
Analito	Lixiviado de resíduo sólido enriquecido com 50 ng mL^{-1} de BTEX*	Lixiviado de resíduo sólido enriquecido com 250 ng mL^{-1} de BTEX*
benzeno	$50,5 \pm 7,4$	$184,8 \pm 12,7$
tolueno	$44,9 \pm 8,9$	$212,5 \pm 26,6$
etilbenzeno	$46,5 \pm 2,9$	$194,9 \pm 27,3$
m,p-xileno	$56,5 \pm 3,6$	$155,2 \pm 3,7$
o-xileno	$58,1 \pm 10,2$	$185,8 \pm 11,9$

Como aplicação, amostras de resíduos sólidos obtidas de uma unidade de hidrocessamento de petróleo foram submetidas ao processo de extração proposto para a determinação de BTEX, com o objetivo de classificá-las de acordo com a Norma Brasileira. As concentrações determinadas variaram entre $18,9$ e $429,1 \text{ ng mL}^{-1}$, conforme pode ser observado na Tabela 3.8, sendo que para as cinco amostras avaliadas os valores para benzeno foram menores que o limite de quantificação do método ($34,9 \pm 1,1 \text{ ng mL}^{-1}$).

Tabela 3.8. Concentrações de BTEX (ng mL⁻¹) em amostras de resíduos sólidos obtidas de uma unidade de hidrocessamento de petróleo (intervalo de confiança de 95%; n=3)

Amostra	benzeno	tolueno	etilbenzeno	m,p-xileno	o-xileno
1	< 34,9 ± 1,1	61,8 ± 3,2	< 12,3 ± 0,7	< 70,0 ± 3,9	< 59,3 ± 1,7
2	< 34,9 ± 1,1	217,3 ± 10,8	429,1 ± 27,3	< 70,0 ± 3,9	< 59,3 ± 1,7
3	< 34,9 ± 1,1	39,7 ± 1,6	< 12,3 ± 0,7	< 70,0 ± 3,9	< 59,3 ± 1,7
4	< 34,9 ± 1,1	66,3 ± 3,9	65,7 ± 5,9	65,7 ± 5,8	< 59,3 ± 1,7
5	< 34,9 ± 1,1	43,8 ± 2,6	18,9 ± 1,6	< 70,0 ± 3,9	< 59,3 ± 1,7

Figura 3.9. Cromatogramas obtidos por GC/FID para o procedimento de extração por HS-SPME para amostra de (a) resíduo sólido e (b) lixiviado de resíduo sólido enriquecido com BTEX.



3.6 CONCLUSÕES

Neste estudo, foi desenvolvida uma metodologia analítica para a determinação de BTEX em amostras de resíduos sólidos. A utilização dos planejamentos Doehlert possibilitou definir de forma rápida as variáveis que afetam a eficiência de extração desses compostos em amostras de resíduos sólidos.

O método desenvolvido proporcionou um bom desempenho em termos de precisão (abaixo de 7% para todos os analitos), recuperação, seletividade, robustez e limites de detecção. Além disso, é um método simples e rápido, permitindo uma boa frequência analítica, sendo necessárias apenas pequenas quantidades de amostra.

3.7 PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Artigo:

Application of solid phase microextraction and gas chromatography for the determination of BTEX in solid petroleum residues. Journal of the Brazilian Chemical Society, V.24, p. 1530-1536, 2013.

Apresentação oral:

Determinação de BTEX em resíduos sólidos por microextração em fase sólida. XIV Colacro, Florianópolis, 2012.

3.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

<http://www.dec.ny.gov/chemical/8732.html>

<http://www.mma.gov.br/política-de-resíduos-sólidos>

AGUILAR, C. et al. Optimization of solid-phase microextraction conditions using a response surface methodology to determine organochlorine pesticides in water by gas chromatography and electron-capture detection. **Journal of Chromatography A**, v. 844, p. 425-432, 1999.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10004** – Resíduos sólidos – classificação. Rio de Janeiro: ABNT, 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10005** – Procedimento para obtenção de extrato lixiviado de resíduos sólidos. Rio de Janeiro: ABNT, 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10006** – Procedimento para obtenção de extrato solubilizado de resíduos sólidos. Rio de Janeiro: ABNT, 2004.

AUGUSTO, F.; VALENTE, A.L.P. Applications of solid-phase microextraction to chemical analysis of live biological samples. **Trends in Analytical Chemistry**, v.21, p. 428-438, 2002.

BAIRD, C., CANN, M. Química ambiental. 4.ed. Porto Alegre: Bookman, 2011. 844 p.

BALLUS, C.A. et al. Doehlert design-desirability function multi-criteria optimal separation of 17 phenolic compounds from extra-virgin olive oil by capillary zone electrophoresis. **Food Chemistry**, v. 146, p. 558-568, 2014.

BERNARDO, M.S. et al. Determination of aromatic compounds in eluates of pyrolysis solid residues using HS-GC-MS and DLLME-GC-MS. **Talanta**, v. 80, p.104-108, 2009.

BEZERRA, M.A. et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v. 76, p. 965-977, 2008.

BIANCHIN, J.N. et al. Simultaneous determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and benzene, toluene, ethylbenzene and xylene in water samples using a new sampling strategy combining different extraction modes and temperatures in a single extraction solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry procedure. **Journal of Chromatography A**, v. 1233, p. 22-29, 2012.

BOONSANER, M.; BORRIRUKWISITSAK, S.; BOONSANER, A. Phytoremediation of BTEX contaminated soil by *Canna x generalis*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, p. 1700-1707, 2011.

CALDAS, L.F.S. et al. Multivariate optimization of a spectrophotometric method for copper determination in Brazilian sugarcane spirits using the Doehlert design. **Microchemical Journal**, v. 99, p. 118-124, 2011.

CALDAS, L.F.S. et al. Application of a four-variables Doehlert design for the multivariate optimization of copper determination in petroleum-derived insulating oils by GFAAS employing the dilute-and-shot approach. **Fuel**, v. 105, p. 503-511, 2013.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução n° 430, de 13 de maio de 2011. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646>. Acesso em: agosto de 2014.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução n° 357, de 17 de março de 2005. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>. Acesso em: agosto de 2014.

COSTA, A.S. et al. Environmental strategies to remove volatile aromatic fractions (BTEX) from petroleum industry wastewater using biomass. **Bioresource Technology**, v. 105, p. 31-39, 2012.

CHRISTENSEN, S.; ELTON, J. Soil and Groundwater pollution. Civil and Environmental Engineering Department, Virginia Tech, 1996.

Disponível

em:

<http://www.webapps.cee.vt.edu/ewr/environmental/teach/gwprimer/btex/btex.html>. Acesso em: agosto de 2014.

DURMUSOGLU, E.; TASPINAR, F.; KARADEMIR, A. Health risk assessment of BTEX emissions in the landfill environment. **Journal of Hazardous Materials**, v.176, p. 870-877, 2010.

EISERT, R.; PAWLISZYN, J. Design of automated solid-phase microextraction for trace analysis of organic compounds in aqueous samples. **Journal of Chromatography A**, v. 776, p. 293-303, 1997.

ELMORE, J.S.; MOTTRAM, D.S.; HIERRO, E. Two-fibre solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of volatile aroma compounds in cooked pork. **Journal of Chromatography A**, v. 905, p. 233-240, 2000.

EL-NAAS, M.H., ACIO, J.A., EL TELIB, A.E. Aerobic biodegradation of BTEX: Progresses and Prospects. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 2, p. 1104-1122, 2014.

EZQUERRO, O. et al. Determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in soils by multiple headspace solid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1035, p. 17-22, 2004.

FERREIRA, S.L.C. et al. Application of factorial designs and Doehlert matrix in optimization of experimental variables associated with the preconcentration and determination of vanadium and copper in the seawater by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 57, p. 1939-1950, 2002.

FERREIRA, S.L.C. et al. Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry – review. **Talanta**, v. 63, p. 1061-1067, 2004.

FUSTINONI, S. et al. Urinary BTEX, MTBE and naphthalene as biomarkers to gain environmental exposure profiles of the general population. **Science of the Total Environment**, v. 408, p. 2840-2849, 2010.

GAUJAC, A. et al. Multivariate optimization of a solid phase microextraction-headspace procedure for the determination of benzene,

toluene, ethylbenzene and xylenes in effluent samples from a waste treatment plant. **Journal of Chromatography A**, v. 1203, p. 99-104, 2008.

HAMMAMI, S. et al. Application of Doehlert matrix to determine the optimal conditions of electrochemical treatment of tannery effluents. **Journal of Hazardous Materials**, v. 163, p. 251-258, 2009.

HELENO, F.F. et al. Otimização e validação de métodos analíticos para determinação de BTEX em água utilizando extração por *headspace* e microextração em fase sólida. **Química Nova**, v. 33, p. 329-336, 2010.

HOSSEINZADEH, R. et al. Novel cationic surfactant ion pair based solid phase microextraction fiber for nano-level analysis of BTEX. **Colloids and Surfaces B**, v. 84, p. 13-17, 2011.

HU, Y.; MASSART, D.L. Uniform shell designs for optimization in reversed-phase liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 485, p. 311-323, 1989.

LEMAIRE, J. et al. Is it possible to remediate a BTEX contaminated chalky aquifer by in situ chemical oxidation? **Chemosphere**, v. 84, p. 1181-1187, 2011.

MAGDIC, S. et al. Analysis of organophosphorus insecticides from environmental samples using solid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 736, p. 219-228, 1996.

MALIK, A.K.; KAUR, V.; VERMA, N. A review on solid phase microextraction – High performance liquid chromatography as a novel tool for the analysis of toxic metal ions. **Talanta**, v. 68, p. 842-849, 2006.

MARANHÃO, T.A. et al. Determination of As and Hg in acetic acid extract by vapor generation coupled to atomic spectrometry for solid waste classification. **Microchemical Journal**, v. 106, p. 139-146, 2013.

MAZZEO, D.E.C. et al. BTEX biodegradation by bacteria from effluents of petroleum refinery. **Science of the Total Environment**, v.408, p. 4334-4340, 2010.

MENÉNDEZ, J.C.F. et al. Static headspace, solid-phase microextraction and headspace solid-phase microextraction for BTEX determination in aqueous samples by gas chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 415, p. 9-20, 2000.

NEMEROW, N.L.; AGARDV, F.J.; SALVATO, J.A. **Environmental Engineering: Environmental Health and Safety for Municipal Infrastructure, Land Use and Planning, and Industry**. Vol.1.6.ed. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., 2009. 576 p.

PAWLISZYN, J. **Handbook of solid phase microextraction**. Beijing: Chemical Industry Press, 2009. 409 p.

PAWLISZYN, J. **Applications of solid phase microextraction**. Ontario: Royal Society of Chemistry, 1999. 656 p.

POPP, P.; PASCHKE, A. Solid phase microextraction of volatile organic compounds using carboxen-polydimethylsiloxane fibers. **Chromatographia**, v. 46, p. 419-424, 1997.

RAMOS, L. Critical overview of selected contemporary sample preparation techniques. **Journal of Chromatography A**, v. 1221, p. 84-98, 2012.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY.
**Tests methods
for evaluating solid waste, SW 846.**

Disponível

em:

<http://www.epa.gov/wastes/hazard/testmethods/sw846/pdfs/chap2.pdf>.

Acesso em agosto de 2014.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY.
Method EPA 5021 – **Volatile organic compounds in soils and other solid matrices using equilibrium headspace analysis**. EPA: Ohio, United States, 1996.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY.
Method EPA 5035 – **Closed-system purge-and-trap and extraction for volatile organics in soil and waste samples**. EPA: Ohio, United States, 1996.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY.
Method EPA 5030 B – **Purge-and-trap for aqueous samples**. EPA:
Ohio, United States, 1996.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY.
Method EPA 502.2 – **Volatile organic compounds in water by purge-and-trap capillary column gas chromatography with photoionization and electrolytic conductivity detectors in series**. EPA: Ohio, United States, 1989.

VALENTE, A.L.P.; AUGUSTO, F. Microextração por fase sólida. **Química Nova**, v. 23, p. 523-530, 2000.

WARDENCKI, W.; CURYLO, J.; NAMIESNIK, J. Trends in solventless sample preparation techniques for environmental analysis. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, v. 70, p. 275-288, 2007.

ZHANG, Y. et al. Levels, sources and health risks of carbonyls and BTEX in the ambient air of Beijing, China. **Journal of Environmental Sciences**, v. 24, p. 124-130, 2012.

APÊNDICE A – Lista de HPA, seus íons de quantificação e padrões deuterados utilizados para quantificação

HPA	Íon de quantificação	Padrão de quantificação
Naftaleno	128	Naftaleno-d ₈
C1 naftaleno	141+142	Naftaleno-d ₈
C2 naftaleno	156	Naftaleno-d ₈
C3 naftaleno	170	Naftaleno-d ₈
C4 naftaleno	184	Naftaleno-d ₈
Acenaftileno	152	Acenafteno-d ₁₀
Acenafteno	153+154	Acenafteno-d ₁₀
Fluoreno	165+166	Acenafteno-d ₁₀
C1 fluoreno	180	Acenafteno-d ₁₀
C2 fluoreno	194	Acenafteno-d ₁₀
Fenantreno	178	Fenantreno-d ₁₀
Antraceno	178	Fenantreno-d ₁₀
C1 fenantreno	192	Fenantreno-d ₁₀
C2 fenantreno	206	Fenantreno-d ₁₀
C3 fenantreno	220	Fenantreno-d ₁₀
Fluoranteno	202	Criseno-d ₁₂
Pireno	202	Criseno-d ₁₂
C1 pireno	216	Criseno-d ₁₂
C2 pireno	230	Criseno-d ₁₂
Benzo (a) antraceno	228	Criseno-d ₁₂
Criseno	228	Criseno-d ₁₂
Benzo (b) fluoranteno	252+253	Perileno-d ₁₂
Benzo (k) fluoranteno	252+253	Perileno-d ₁₂
Benzo (a) pireno	252+253	Perileno-d ₁₂
Indeno (1,2,3-cd)pireno	276+278	Perileno-d ₁₂
Dibenzo (a,h) antraceno	278+279	Perileno-d ₁₂
Benzo (g,h,i) perileno	276+277	Perileno-d ₁₂
Naftaleno-d ₈	136	
Acenafteno-d ₁₀	162+164	
Fenantreno-d ₁₀	188	
Criseno-d ₁₂	236+240	
Perileno-d ₁₂	260+264	

APÊNDICE B - Fragmentos utilizados para a identificação de esteróis

Analito (IUPAC)	Analito (nome usual)	Fragmentos (<i>m/z</i>)
Colest-5-en-3 β -ol	Colesterol	369, 135, 95
5 β -colest-3 β -ol	Coprostanol	371, 95, 81
5 α -colest-3 β -ol	Colestanol	371, 95, 81
5 β -colest-3 α -ol	Epicoprostanol	371, 95, 81
24-metilcolest-5-en-3 β -ol	Campesterol	383, 161, 81
24-etil-colest-5,22-dien-3 β -ol	Estigmasterol	395, 107, 81
24-etilcolest-5-en-3 β -ol	β -sitosterol	397, 95, 81
24-etil-5 α -colest-22-en-3 β -ol	Estigmastanol	399, 149, 95

APÊNDICE C - Fórmulas moleculares propostas para ácidos graxos saturados e monoinsaturados

<i>m/z</i> medido	Fórmula proposta	<i>m/z</i> calculado
197,1544	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	197,1547
199,1700	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	199,1704
211,1703	C ₁₃ H ₂₄ O ₂	211,1704
213,1859	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	213,1860
225,1861	C ₁₄ H ₂₆ O ₂	225,1860
227,2017	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	227,2017
239,2016	C ₁₅ H ₂₈ O ₂	239,2017
241,2176	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	241,2173
253,2174	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	253,2173
255,2329	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	255,2330
281,2489	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	281,2486
283,2644	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	283,2643
295,2645	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	295,2643
297,2801	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	297,2799
309,2800	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	309,2799
311,2953	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	311,2956
325,3112	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	325,3112
337,3111	C ₂₂ H ₄₂ O ₂	337,3112
339,3265	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	339,3269
351,3271	C ₂₃ H ₄₄ O ₂	351,3269
353,3425	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	353,3425
365,3426	C ₂₄ H ₄₆ O ₂	365,3425
367,3577	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	367,3582
381,3738	C ₂₅ H ₅₀ O ₂	381,3738
393,3733	C ₂₆ H ₅₀ O ₂	393,3738
395,3889	C ₂₆ H ₅₂ O ₂	395,3895
407,3889	C ₂₇ H ₅₂ O ₂	407,3895
409,4043	C ₂₇ H ₅₄ O ₂	409,4051
421,4050	C ₂₈ H ₅₄ O ₂	421,4051
423,4201	C ₂₈ H ₅₆ O ₂	423,4208

435,4202	$C_{29}H_{56}O_2$	435,4208
437,4357	$C_{29}H_{58}O_2$	437,4364
449,4362	$C_{30}H_{58}O_2$	449,4364
451,4512	$C_{30}H_{60}O_2$	451,4521
463,4518	$C_{31}H_{60}O_2$	463,4521
465,4678	$C_{31}H_{62}O_2$	465,4677
477,4676	$C_{32}H_{62}O_2$	477,4677
479,4830	$C_{32}H_{64}O_2$	479,4834
493,4992	$C_{33}H_{66}O_2$	493,4990
505,4993	$C_{34}H_{66}O_2$	505,4990
507,5146	$C_{34}H_{68}O_2$	507,5147
519,5144	$C_{35}H_{68}O_2$	519,5147
521,5303	$C_{35}H_{70}O_2$	521,5303
535,5457	$C_{36}H_{72}O_2$	535,5460

APÊNDICE D - Distribuição de ácidos graxos saturados nas amostras superficiais de sedimento do estuário do rio Itajaí-Açu

