



Universidade Federal de Ouro Preto
Programa de Pós-Graduação Engenharia Ambiental
Mestrado em Engenharia Ambiental

Aniel da Costa Lima

**“DETERMINAÇÃO DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS
AROMÁTICOS EM ÁGUAS SUPERFICIAIS NOS RIOS
PIRACICABA E DOCE, IPATINGA – MG, UTILIZANDO A
TÉCNICA DE EFS-CLAE-DAD”**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Ouro Preto, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título: “Mestre em Engenharia Ambiental – Área de Concentração: Saneamento Ambiental”

Orientador: Prof. Dr. Mauricio Xavier Coutrim

Co-orientador: Prof. Dr. Robson José de C. F. Afonso

Ouro Preto, MG

2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

L732d

Lima, Aniel da Costa.

Determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em águas superficiais nos Rios Piracicaba e Doce, Ipatinga – MG, utilizando a técnica de EFS-CLAE-DAD [manuscrito] / Aniel da Costa Lima. - 2008.

83 f. : il., graf., tabs., mapas.

Orientador: Prof. Dr. Maurício Xavier Coutrim.

Co-orientador: Prof. Dr. Robson José de C. F. Afonso

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto.
Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Mestrado em Engenharia Ambiental.

Área de concentração: Saneamento Ambiental.

1. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos - Teses. 2. Cromatografia líquida - Teses. 3. Avaliação ambiental - Minas Gerais - Teses.

I. Universidade Federal de Ouro Preto. II. Título.

CDU: 556.114(815.1)

Catálogo: sisbin@sisbin.ufop.br



UFOP
Universidade Federal
de Ouro Preto

Ministério da Educação
Universidade Federal de Ouro Preto
Programa de Mestrado em Engenharia Ambiental
ICEB - Campus - Morro do Cruzeiro
Ouro Preto - MG - CEP 35.400-000
Fone: (031)3559-1725
E-mail: proagua@iceb.ufop.br

“Determinação de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) em Águas Superficiais nos Rios Piracicaba e Doce, Ipatinga-MG, Utilizando a Técnica de EFS-CLAE-DAD”

Autor: Aniel da Costa Lima

Dissertação defendida e aprovada, em 16 de dezembro de 2008, pela banca examinadora constituída pelos professores:

Professor Dr. Maurício Xavier Coutrim - Orientador
Universidade Federal de Ouro Preto

Professor Dr. Antônio Augusto Neves
Universidade Federal de Viçosa

Professor Dr. José Fernando de Paiva
Universidade Federal de Ouro Preto

*“É muito melhor arriscar coisas grandiosas ,
alcançar triunfos e glórias,
mesmo expondo-se à derrota,
do que formar fila com os pobres de espíritos
que nem gozam e nem sofrem muito
porque vivem nessa penumbra cinzenta
que não conhece vitória nem derrota”*

Theodore Roosevelt

*“Alguns fariam melhor, outros fariam pior,
Eu fiz o que pude”*

AGRADECIMENTOS

Ao prof. Mauricio Xavier Coutrim pelo apoio, amizade, orientação e paciência desde a graduação até o presente trabalho.

Ao prof. Robson Afonso pela parceria na orientação, sua experiência sempre disponível e aos conselhos “à moda Robson”.

À minha esposa Luciene que tanto foi privada de nossos momentos de namoro e está ao meu lado “pro que der e vier” . Amo você e nossa princesa Larissa..

À minha família, primeiramente meus pais Sr. Zico Marques e D. Vinha, que sempre foram meus alicerces. Fontes de caráter, humildade, humanidade e exemplos de vida inquestionáveis. Aos meus irmãos Silmar e Gabriel, sempre presentes neste trabalho, incentivando, torcendo e nos momentos de descontração de nossos churrascos familiares. Aos demais irmãos e irmãs, muito obrigado. Aos meus sobrinhos, Maria Thereza, Yuri, Melissa, Nayala e Yasmim valeram pelos momentos de total irresponsabilidade.

Ao meu amigo Toninho toda minha gratidão desde os tempos de ETFOP e sem seu apoio não seria possível minhas conquistas. A ele quero que Deus o abençoe sempre e que saiba que pode contar comigo para qualquer coisa nesta vida.

Aos velhos amigos e novos amigos do laboratório de cromatografia, Daniel Rapazin, Fernanda mau partido, Davi da Vaca, Gustavo bolha, Lorena, Júlio, Miriany, Cláudia, Carlúcio, Eneida, agradeço por toda a contribuição, amizade e descontração.

Ao CNPq pela bolsa e a UFOP pela oportunidade de aprender e crescer.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	v
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE NOTAÇÕES	xi
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xv
CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO	01
CAPITULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	04
2.1 – Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs).....	04
2.1.1 – Propriedades Químicas dos HPAs.....	04
2.1.2 – Toxicidade dos HPAs.....	07
2.1.3 – HPAs no Ambiente.....	11
2.1.4 – HPAs em Águas.....	13
2.2 – Metodologias para Determinação dos HPAs em Águas Superficiais.....	14
2.2.1 – Métodos de Pré-Concentração das Amostras.....	15
<i>Extração Líquido-Líquido (ELL)</i>	16
<i>Microextração em Fase Sólida (MEFS)</i>	16
<i>Extração em Fase Sólida (EFS)</i>	16
2.3 – Validação da Metodologia Analítica.....	17
2.3.1 – Seletividade.....	17
2.3.2 – Intervalos da Curva Analítica e Linearidade.....	18
2.3.3 – Limite de Detecção (LD) e Quantificação (LQ).....	19
2.3.4 – Precisão.....	19
2.3.5 – Recuperação do Método.....	19
CAPÍTULO 3 – OBJETIVO	21

CAPÍTULO 4 – MATERIAIS E MÉTODOS	22
4.1 – Materiais, Reagentes e Soluções.....	22
4.2 – Metodologia.....	23
4.3 – Método para a Determinação de HPAs em Água por CLAE-DAD.....	24
4.3.1 – Extração das Amostras e Pré-Concentração.....	25
4.3.2 – Análise Cromatográfica.....	26
4.3.3 – Validação do Método.....	27
<i>Seletividade</i>	27
<i>Intervalo da Curva Analítica e Linearidade</i>	28
<i>Limites de detecção (LD) e Quantificação (LQ)</i>	28
<i>Precisão</i>	29
<i>Recuperação do Método</i>	29
4.4 – Amostragem.....	30
CAPÍTULO 5 – RESULTADOS E DISCUSSÕES	33
5.1 – Implementação do Método Analítico.....	33
5.1.1 – Separação e Identificação dos HPAs.....	33
5.1.2 – Avaliação dos Comprimentos Máximas de Absorção dos HPAs.....	37
5.1.3 – Intervalo da Curva Analítica e Linearidade.....	38
5.1.4 – Limites de Detecção (LD) e Quantificação (LQ).....	41
5.1.5 – Precisão.....	42
5.1.6 – Recuperação do Método.....	43
5.2 – Avaliação das Amostras Ambientais.....	47
5.2.1 – Identificação de Possíveis Fontes de HPAs.....	50
CAPÍTULO 6 – CONCLUSÕES	57
CAPÍTULO 7 – SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	58
CAPÍTULO 8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

LISTAS DE FIGURAS

Figura 2.1 – Estrutura dos dezesseis HPAs incluídos na lista de poluentes prioritários da USEPA que devem ser monitorados.....	05
Figura 2.2 – Estrutura do benzo[a]pireno mostrando a região de baía.....	10
Figura 2.3 – Mecanismo de ativação/eliminação metabólica do benzo[a]Pireno.....	11
Figura 2.4 – Estrutura do binaftila utilizado como padrão interno.....	18
Figura 4.1 – Esquema simplificado do processo de análise dos HPAs nas amostras.....	24
Figura 4.2 – Cartuchos utilizados na extração dos HPAs.....	26
Figura 4.3 – Sistema de vácuo <i>Manifold</i> para a extração das amostras naturais.....	26
Figura 4.4 – Imagem de satélite dos pontos de amostragem da segunda campanha de nos rios Piracicaba e Doce (Google Earth®).....	31
Figura 5.1 – Determinação dos tempos (minutos) de retenção do fenantreno (t = 11,7), fluoranteno (t = 16,1), Criseno (t = 21,4), benzo[k]fluoranteno (t = 26,6) e dibenzo[a,h]antraceno (t = 30,7).....	34
Figura 5.2 – Avaliação do grau de pureza do pico do naftaleno em dois cromatogramas através de espectrofotometria: A) na solução padrão e B) na amostra.....	35
Figura 5.3 – Cromatograma da separação dos 16 compostos de HPAs a uma concentração de 100µg/L numa solução padrão utilizada para a curva analítica sem a adição do padrão interno. A ordem de eluição, conforme tempo de retenção (minutos), é: naftaleno (t=4,2), acenafteno (t=6,7), acenafteno e floureno (t=10,4), fenantreno (t=11,8), antraceno (13,3), flouranteno (t=14,9), pireno (t=16,2), benzo[a]antraceno (t=20,6), criseno (t=21,6), benzo[b]flouranteno (t=25,2), benzo[k]flouranteno (t=26,9), benzo[a]pireno (t=28,5), dibenzo[a,h]antraceno (t=31,1), benzo[g,h,i]perileno t=(32,1), indeno[1,2,3-cd])pireno (t=32,2).....	36
Figura 5.4 – Cromatograma da separação dos 16 compostos de HPAs a uma concentração de 100µg/L numa solução padrão utilizada para a curva analítica com padrão interno (PI). A ordem de eluição é idêntica à Figura 5.3 sendo que no tempo de 22,5 minutos tem-se a eluição da binaftila (PI).....	37
Figura 5.5 – Espectro de absorção em ultravioleta obtido para o fenantreno nas condições otimizadas para a identificação dos HPAs.....	38
Figura 5.6 – Curvas analíticas desenvolvidas para três HPAs.....	39

Figura 5.7 – Cromatograma do fluoranteno (Fluo) utilizado para o cálculo de LD e LQ pelo método visual e as áreas do pico (1362uA) e dos ruídos (161, 111, 152, 164uA).....	41
Figura 5.8 – Valores de precisão para sete replicatas obtidos para os HPAs em amostras naturais fortificadas.....	43
Figura 5.9 – Razões das concentrações dos HPAs de baixas e altas massas molares da primeira campanha de amostragem.....	51
Figura 5.10 – Razões das concentrações dos HPAs de baixas e altas massas molares da segunda campanha de amostragem.....	52
Figura 5.11 – Perfil da relação entre as concentrações de antraceno e fenantreno obtidos para a primeira campanha.....	53
Figura 5.12 – Distribuição entre fluoranteno (Fluo) e pireno (Pi) para os HPAs nas campanhas de amostragem.....	54
Figura 5.13 – Distribuição isomérica entre os isômeros do benzo[a]antraceno e criseno na primeira campanha de amostragem.....	55
Figura 5.14 – Distribuição entre as razões de $A/(A + Fe)$ e $Fluo/(Fluo + Pi)$	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 – Propriedades físicas e químicas dos 16 HPAs incluídos na lista de poluentes prioritários da USEPA.....	6
Tabela 2.2 – Classificação de HPAs quanto à toxicidade pela IARC e USEPA.....	8
Tabela 2.3 – Concentrações de HPAs encontradas em diversas matrizes ambientais.....	12
Tabela 2.4 – Padrões de qualidade de águas doce (classe 1) estabelecidos pela resolução CONAMA N° 357/05.....	14
Tabela 4.1 – Reagentes utilizados.....	23
Tabela 4.2 – Materiais utilizados.....	23
Tabela 4.3 – Condições otimizadas para a separação e otimização dos HPAs.....	27
Tabela 4.4 – Localização geográfica dos pontos de amostragem na primeira campanha...32	
Tabela 4.5 – Localização geográfica dos pontos de amostragem da segunda campanha...32	
Tabela 5.1 – Tempo médio de retenção e comprimento de onda de máxima absorção (λ_{max}) dos HPAs separados com o sistema CLAE-DAD nas condições cromatográficas otimizadas.....	38
Tabela 5.2 – Parâmetros das curvas analíticas construídas no intervalo de concentração de 5 a 400 μ g/L utilizadas na quantificação dos HPAs.....	39
Tabela 5.3 – Coeficientes de regressão linear para a curva analítica com concentrações entre 5 μ g/L e 2000 μ g/L de cada HPA.....	41
Tabela 5.4 – Valores dos LD e LQ em amostra real obtidos.....	42
Tabela 5.5 – Valores de Recuperação encontrados para os HPAs em milli-Q.....	44
Tabela 5.6 – Resultados para os testes de recuperação em águas do ribeirão Tripui.....	45
Tabela 5.7 – Resultados das amostras para a primeira campanha de amostragem nos rios Piracicaba e Doce.....	48
Tabela 5.8 – Resultados das amostras para a segunda campanha de amostragem nos rios Piracicaba e Doce.....	49

LISTA DE NOTAÇÕES

- σ – Desvio padrão
- σ_r – Desvio padrão relativo
- a – Coeficiente angular
- A – Antraceno
- A_A – Área do pico cromatográfico do analito (HPA)
- Ace – Acenaftileno
- Ac – Acenafteno
- AMM – Alta massa molar
- A_p – Área do padrão de menor concentração na curva analítica
- A_r – área do ruído do HPA de menor concentração na curva analítica
- ACN – Acetonitrila
- ANVISA – Agência Nacional da Vigilância Sanitária
- A_{PI} – Área do pico cromatográfico do padrão interno
- ATSDR – *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*
- b – Coeficiente linear
- B[g,h,i]Pe – Benzo[g,h,i]perileno
- B[a]A – Benzo[a]antraceno
- B[a]P – Benzo[a]pireno
- B[b]F – Benzo[b]fluoranteno
- B[k]F – Benzo[k]fluoranteno
- BMM – Baixa massa molar
- C_1 – Concentração encontrada na amostra após adição do padrão
- C_2 – Concentração da amostra sem adição dos HPAs
- C_3 – Concentração adicionada na amostra
- CG-EM – Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas
- CG-FID – Cromatografia a gás com detecção por ionização de chama
- CERCLA – *Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act.*
- Cexperimental – Concentração obtida
- CLAE – Cromatografia a líquido de alta eficiência
- CLAE-DAD – Cromatografia a líquido de alta eficiência com detector por arranjo de diodos

CLAE-FL – Cromatografia a líquido com detector de fluorescência
CLAE-Vis – Cromatografia a líquido com detector com ultravioleta
 $C_{m\acute{e}dia}$ – Concentração média
CONAMA – Comissão Nacional de Meio Ambiente.
Cri – Criseno
Cteórica – Concentração adicionada na amostra
CV – Coeficiente de variação
DAD – Detector por Arranjo de Diodos
DCM – Diclorometano
Di[a,h]A – Dibenzo[a,h]antraceno
DNA – Ácido desoxirribonucléico
EFS – Extração em Fase Sólida
ELL – Extração líquido-líquido
EM – Espectrometria de Massas
Fl – Fluoreno
Fe – Fenantreno
Fluo – Fluoranteno
GPS – *Global Position System*
HPAs – Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
IARC – *International Agency for Research on Câncer*
IGAM – Instituto Mineiro de Gestão das Águas
Indeno – Indeno[1,2,3-cd]Pireno
INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
IUPAC – *International Union of Pure and Applied Chemistry*
 K_{ow} – Coeficientes de partição octanol/água
LD – Limite de detecção
LQ – Limite de quantificação
MEFS – Micro extração em fase sólida
N – Naftaleno
ND – Não detectável
POPs – Poluentes orgânicos persistentes
PCBs – Bifenilas policloradas
PE – Ponto de ebulição

PF – Ponto de fusão

Pi – Pireno

R (%) – Porcentagem de recuperação

USEPA – *United States Environmental Protection Agency*

UV- vis – Ultravioleta visível

X – Concentração do analito

WHO – *World Health Organization*

RESUMO

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos pertencem a um grupo de substâncias orgânicas que recebem uma atenção considerável devido às propriedades carcinogênicas e mutagênicas de alguns deles. Eles são introduzidos no ambiente através de fontes naturais e antropogênicas, sendo as antropogênicas apresentam maior contribuição. No entanto, em tese, para que um processo mutagênico se desencadeie basta a ação de uma única molécula da substância carcinogênica. Por isso, é importante a determinação dos HPAs no meio ambiente em baixos níveis de concentração. Na literatura as metodologias para a determinação de HPAs, principalmente em água, que apresentam os menores limites de detecção utilizam a técnica de cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE) e detecção por fluorescência, enquanto que a utilização de espectrofotometria na região do ultravioleta visível implica em limites de detecção bem maiores, dependendo do HPAs que se deseja quantificar.

Neste trabalho desenvolveu-se metodologia analítica para a determinação dos 16 HPAs indicados pela USEPA em amostras de água superficial por cromatografia a líquido com detecção por UV-Vis com arranjo de diodos. Essa metodologia implicou numa pré-concentração da amostra de 1600 vezes utilizando cartucho C18 de 200mg de fase sólida. Os HPAs foram extraídos com diclorometano e após secagem sob fluxo de nitrogênio, ressuspensos com 500µL de acetonitrila e separados por CLAE. Utilizou-se uma coluna C18 - *LiChrospher*[®] PAH (250mm × 3mm, 5µm) e detecção por UV-Vis com arranjos de diodos (DAD) (*Shimadzu* SPD-M 20A). Com essa metodologia foi possível obter, dentre outros valores, limite de detecção da ordem até 120pg/L para o acenaftileno 1,31ng/L para o benzo[a]pireno. A validação do método foi realizada com os ensaios de precisão, exatidão e recuperação utilizando amostra ambiental.

Para a construção da curva analítica foi utilizada a padronização interna que apresentou boa linearidade para concentrações entre 5 e 400µg/L, o que corresponde a uma faixa de concentração na amostra de 3 a 250ng/L. A metodologia aqui desenvolvida mostrou-se eficiente para a determinação de HPAs em água e os resultados obtidos mostraram que as águas dos rios estudados estão contaminadas com HPAs em níveis bastante significativo pois alguns dos compostos, benzo[a]pireno e criseno, encontrados estão com concentrações superiores aos limites aceitação máximos definidos pelo Conselho Nacional de Meio Ambiente para águas de Classe 1 e sugerem ainda a emissão de fontes petrogênicas.

ABSTRACT

The polycyclic aromatic hydrocarbons belong to a group of organic substances which receive considerable attention because of the carcinogenic and mutagenic of some of them. They are released into the environment through natural and anthropogenic sources, and the anthropogenic shows greater contribution. However, in theory, for that process to be triggered it just need only a mutagenic action of a single molecule of carcinogenic substances. So important is the determination of PAHs in the environment in low concentration. In literature the methodologies for the determination of PAHs, mainly in water, providing the lowest limits of detection using the technique of liquid chromatography to high (HPLC) and detected by fluorescence, while the use of spectrophotometry in the ultraviolet visible involves the detection limits much higher, depending on the PAHs that you want to quantify.

This work has developed an analytical methodology for the determination of the 16 PAHs indicated by the USEPA in samples of surface water by liquid chromatography with the detection by UV-Vis with array of diodes. This methodology resulted in a pre-concentration of the sample of 1600 times using C18 cartridge to 200mg of solid phase. PAHs were extracted with dichloromethane and after drying on a stream of nitrogen, resuspended with 500 μ L of acetonitrile and separated by CLAE. A column C18 - LiChrospher[®] PAHs (250mm x 3 mm, 5 μ m) was used and detection by UV-Vis with arrays of diodes (DAD) (F-20A Shimadzu SPD). With this method could be found, among other values, the detection limit of the order until 120pg/L for acenaftileno 1.31ng/L for benzo[a]pyrene. The validation of the method was performed with tests of accuracy, precision and recovery using environmental sample.

For the construction of the analytical curve was used as internal standard that showed good linearity for concentrations between 5 and 400 μ g/L, corresponding to a range of concentration in the sample 3 to 250ng/L. The method developed here has proved efficient for the determination of PAHs in water and the results showed that the waters of rivers studied are contaminated with PAHs at levels fairly significant because some of the compounds, benzo[a]pyrene and chrysene, are found in concentrations higher than the accepted maximum limits set by the Council National Environment waters for the Class 1 and also suggest the issue of petrogênicas sources.

CAPITULO 1 – INTRODUÇÃO

A água é reconhecida como um dos bens naturais mais importantes do planeta. Seus múltiplos usos são indispensáveis a um amplo espectro das atividades humanas e naturais. Devido à crescente degradação dos corpos d'água, as preocupações com o uso e destino têm mobilizado pessoas de todas as áreas quanto a sua preservação.

A água muitas vezes considerada como recurso natural renovável e infinito é um recurso ambiental limitador do desenvolvimento sustentável. Os grandes problemas de escassez são relacionados muitas vezes a utilização em quantidades superiores ao volume disponível seja a utilização por indústrias, agricultura ou até mesmo devido ao aumento populacional (Nascimento, 2004).

O interesse da comunidade acadêmica e a criação de órgãos de proteção ambiental, como a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA – *United States Environmental Protection Agency*) e o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) promoveram um crescimento de pesquisas envolvendo monitoramento de microcontaminantes orgânicos em diversos setores ambientais. Houve um avanço com a preocupação e a conservação da qualidade das águas superficiais e subterâneas. Com isso, o interesse dos setores público e privado por assuntos ambientais resultou em várias organizações governamentais e não-governamentais que hoje debatem, estabelecem normas e discutem práticas de minimização e remediação de substâncias químicas potencialmente poluentes.

No Brasil, segundo relatórios apresentados pela Agência Nacional de Águas, cerca de 70% dos rios que fazem parte das bacias hidrográficas, que vão de Sergipe ao Rio Grande do Sul, apresentou altos índices de contaminação, principalmente por substâncias lixiviadas de grandes depósitos de lixo, efluentes urbanos e industriais (Tirburtius *et al.*, 2004) e no estado de Minas Gerais relatórios elaborados pelo Instituto Mineiro de Gestão das Águas (IGAM) apontam para uma preocupação a qualidade dos rios no estado de Minas Gerais (IGAM, 2006).

A atividade industrial é uma das que mais contribui para contaminação ambiental, principalmente para as águas de rios e mananciais que quase sempre são considerados como de uso múltiplo, onde figura como principal e mais nobre uso, o consumo humano. A maioria dos processos industriais emprega grandes volumes de água levando conseqüentemente à produção de efluentes líquidos contendo espécies tóxicas ou de

degradação lenta e/ou difícil (ex. indústrias siderúrgicas, produção de alumínio, automobilísticas, petroquímicas) que podem, a princípio, colocar em risco a saúde da população que necessita daquela água para seu consumo.

A qualidade das águas depende, entre outros fatores, de um monitoramento contínuo dos corpos d'água receptores de efluentes. A necessidade deste monitoramento em águas de superfície está associada a alguns grupos importantes de poluentes orgânicos como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, pesticidas, triálometano, etc, (CONAMA, 2005; Azevedo *et al.*; 2004; USEPA, 1991).

Neste contexto, a contaminação da água por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) tem sido estudada em todo mundo pelo fato destas substâncias serem tóxicas e em alguns casos, até mesmo carcinogênicas (Brum *et al.*, 2007; Fan *et al.*, 2007; García-Falcón *et al.*, 2004; Luo *et al.*, 2004; Jiries *et al.*, 2000; WHO, 1998).

No Brasil, a portaria do Ministério da Saúde número 518 de 2004 (MS, 2005) estabelece os procedimentos e responsabilidades relativas ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano a serem observados no território nacional. O padrão de potabilidade adotado considera as substâncias químicas que oferecem risco à saúde humana caso estejam presentes em águas de abastecimento. Entretanto, dentre os HPAs, somente a presença do benzo[a]pireno (B[a]P) é regulamentada e a concentração limite máxima adotada é de 0,7µg/L.

O Ministério do Meio Ambiente através da resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) número 357 de 2005 (CONAMA, 2005) estabeleceu concentrações de limites máximos para muitas substâncias químicas em diversos tipos de águas, ou seja, águas com diferentes finalidades de uso. Em águas doces de classe 1 (água que pode ser utilizada para consumo humano após tratamento simplificado), foram estabelecidos concentrações máximas de 0,05µg/L, mais baixos que os do Ministério da Saúde, para o benzo[a]pireno e outros seis HPAs .

Enfim, a alta dependência humana em relação à água e sua disponibilidade relativamente baixa impõem à preservação, evitando-se tanto o gasto excessivo quanto a contaminação. Faz-se então necessário desenvolver ferramentas e tecnologias que possibilitem a redução da contaminação da água, minimizando os impactos ambientais, com uso racional e reutilização de água residual sempre que possível. A água passa a ser um bem de domínio público dotado de valor econômico.

Com a legislação brasileira e internacional cada vez mais rígida com a presença de HPAs em corpos d'água ou em qualquer outro compartimento ambiental, faz-se

necessário desenvolver técnica analítica mais sensíveis à detecção destes compostos para atender a tais legislações.

CAPITULO 2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 – Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs)

Os HPAs são um grupo de mais de 100 substâncias orgânicas que recebem uma atenção considerável devido às propriedades carcinogênicas e mutagênicas de alguns deles. São constituídos apenas por átomos de carbonos e hidrogênios e formados por dois ou mais anéis aromáticos de cinco ou seis átomos de carbonos condensados, que podem ser divididos em dois subgrupos de acordo com sua massa molar ou número de anéis. Dos mais de cem diferentes HPAs conhecidos, apenas dezesseis deles foram classificados pela USEPA como prioritários para monitoramento e destes sete são classificados pela IARC (*International Agency for Research on Cancer*) como cancerígenos para animais e potencialmente cancerígenos para seres humanos. A Figura 2.1 apresenta a estrutura dos dezesseis HPAs sugeridos pela USEPA para monitoramento.

2.1.1 – Propriedades Químicas dos HPAs

Os HPAs podem ser divididos em dois grandes grupos: os de baixa e alta massa molar. Os compostos de baixa massa molar contêm dois ou três anéis aromáticos fundidos (naftaleno, acenafteno, acenaftileno, fluoreno, fenantreno, antraceno) e os HPAs de maior massa molar contêm quatro ou mais anéis fundidos (fluoranteno, benzo[a]antraceno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, criseno, pireno, benzo[g,h,i]perileno, benzo[a]pireno, dibenzo[a,h]antraceno, indeno[1,2,3-cd]pireno). Nesta faixa de massa molar, há um grande número de HPAs que difere no número e na posição dos anéis aromáticos. As propriedades físicas e químicas de HPAs variam de acordo com sua massa molar e são também determinadas por seus sistemas de elétrons conjugados, que variam com o número e arranjo de anéis e, portanto, com suas massas molares (Moore e Ramamoorthy, 1984).

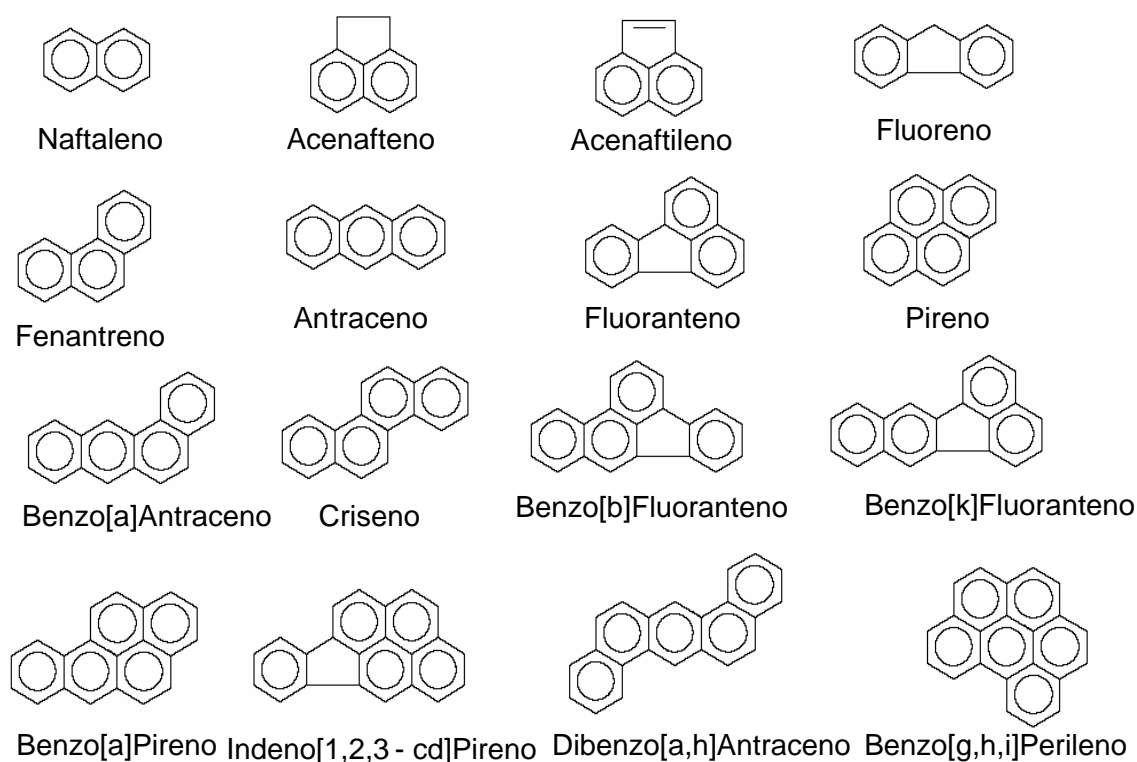


Figura 2.1 – Estrutura dos dezesseis HPAs incluídos na lista de poluentes prioritários da USEPA que devem ser monitorados.

Os HPAs são sólidos à temperatura ambiente, de coloração amarela, possuem elevados pontos de ebulição e fusão, são poucos solúveis em água (os de maiores massas molares), apresentam altos coeficientes de partição octanol/água ($K_{ow} > 10^4$), exceto para o naftaleno, o que demonstra grande afinidade por fases orgânicas lipofílicas, que aumenta com o número de anéis aromáticos da molécula. Isto indica que em ambientes aquáticos os HPAs tendem a concentrar-se em sedimentos ou associar-se à matéria orgânica em suspensão. Implica ainda que podem ser absorvidos pelos tecidos biológicos, como por exemplo, pela pele, por inalação ou ingestão sendo logo distribuído por todo o organismo (Netto *et al.*, 2002; Netto, 1999).

As pressões de vapor destas substâncias diminuem com o aumento da massa molar e, conseqüentemente, sua volatilidade diminui. Assim, HPAs com menores massas molares são mais voláteis e apresentam maiores pressões de vapor que os de maiores massas molares. A pressão de vapor é a principal propriedade físico-química responsável pela distribuição dos HPAs no ambiente devido a sua ampla faixa de variação (da ordem de 10^7), pois indica que alguns HPAs são sólidos de baixa volatilidade (benzo[g,h,i]perileno, dibenzo[a,h]antraceno) enquanto outros têm maior volatilidade

(antraceno, naftaleno). Em virtude das propriedades físico-químicas dos HPAs sua distribuição no meio ambiente é facilitada pelo transporte destes poluentes ao longo de milhares de quilômetros, sendo encontrados em regiões remotas do planeta (Baird, 2002). Algumas das propriedades físico-químicas dos HPAs estão apresentadas na Tabela 2.1.

Tabela 2.1 – Propriedades físicas e químicas dos 16 HPAs incluídos na lista de poluentes prioritários da USEPA.

HPA	Pressão de vapor (mmHg) (20°C)	Solubilidade em água (mg/L)	Coefficiente de partição octanol/água (log K _{ow})	Ponto de Fusão (°C)	Ponto de Ebulição (°C)
Naftaleno	0,0492	32	2,3 x 10 ³	81	217,9
Acenaftileno	10 ⁻³ a 10 ⁻²	3,93	1,2 x 10 ⁴	92	265
Acenafteno	10 ⁻³ a 10 ⁻²	3,4 (25°C)	2,1 x 10 ⁴	95	278
Fluoreno	10 ⁻³ a 10 ⁻²	1,9	1,5 x 10 ⁴	115	295
Antraceno	2,00 x 10 ⁻⁴	0,05-0,07 (25°C)	2,8 x 10 ⁴	216,4	342
Fenantreno	6,80 x 10 ⁻⁴	1,0-1,3 (25°C)	2,9 x 10 ⁴	100,5	340
Fluoranteno	10 ⁻⁶ a 10 ⁻⁴	0,26 (25°C)	3,4 x 10 ⁵	108,8	375
Pireno	6,9 x 10 ⁻⁹	0,14 (25°C)	2 x 10 ⁵	150,4	393
Benzo[a]Antraceno	5,0 x 10 ⁻⁹	0,01 (25°C)	4 x 10 ⁵	157	435
Criseno	10 ⁻¹¹ a 10 ⁻⁶	0,002 (25°C)	4 x 10 ⁵	253,8	441
Benzo[b]Fluoranteno	10 ⁻¹¹ a 10 ⁻⁶	-	4 x 10 ⁶	167	481
Benzo[k]Fluoranteno	9,60 x 10 ⁻⁷	-	7 x 10 ⁶	215,7	480
Benzo[a]Pireno	5,00 x 10 ⁻⁹	0,0028 (25°C)	10 ⁶	178,1	496
Benzo[g,h,i]Perileno	~10 ⁻¹⁰	0,0026 (25°C)	10 ⁷	278,3	545
Dibenzo[a,h]Antraceno	~10 ⁻¹⁰	0,0005 (25°C)	10 ⁶	266,6	524
Indeno[1,2,3-cd]Pireno	~10 ⁻¹⁰	-	5x10 ⁷	163,6	536

São substâncias relativamente inertes que podem sofrer reações que dependem das espécies com as quais interagem. Genericamente, as reações mais comuns são as de substituição nucleofílica (um átomo de hidrogênio é substituído por um átomo de outro elemento ou grupo) e de adição nucleofílica (uma ligação dupla é desfeita). Como as reações de adição destroem a aromaticidade do sistema conjugado, diminuindo a

estabilidade da molécula, elas são muitas vezes, seguidas por reações de eliminação, que regeneram o sistema aromático e dão origem a um produto final de substituição. Os produtos destas reações podem sofrer transformações subseqüentes, inclusive abertura de anéis e dar origem a substâncias mais complexas. É importante a presença de substituintes doadores ou aceptores de elétrons nos anéis que podem aumentar ou diminuir a velocidade das reações (Netto, 1999; Lopes e Andrade, 1996). As reações ambientais mais comumente encontradas são a nitração e oxidação dos anéis aromáticos.

2.1.2 – Toxicidade dos HPAs

Os HPAs fazem parte de uma classe de poluentes orgânicos persistentes (POPs), compostos orgânicos potencialmente tóxicos, carcinogênicos e mutagênicos. Segundo a *International Agency for Research on Cancer* (IARC), pelo menos 12 HPAs são potencialmente cancerígenos ao homem. Segundo esta agência, as substâncias são classificadas em cinco grupos, de acordo com sua toxicidade.

- Grupo 1 – a substância é cancerígena ao homem;
- Grupo 2A – a substância é provavelmente cancerígena ao homem;
- Grupo 2B – a substância é possivelmente cancerígena ao homem;
- Grupo 3 – a substância não é cancerígena ao homem;
- Grupo 4 – a substância provavelmente não é cancerígena ao homem.

Em 1997, a ATSDR (*Agency for Toxic Substances and Disease Registry*) juntamente com a USEPA formularam uma lista, conhecida como CERCLA (*Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act*) *Priorit List*, de substâncias potencialmente tóxicas para os seres humanos. A elaboração dessa lista foi baseada em três fatores: frequência de ocorrência, toxicidade e potencial de exposição humana. Para cada fator foi estipulada uma pontuação que no final foram somadas. O resultado final foi, então, utilizado na classificação das substâncias, de tal forma que as que obtiveram maior pontuação ocuparam os primeiros lugares (ATSDR, 2008).

A CERCLA *Priorit List* é atualizada a cada dois anos, quando há uma revisão das pontuações e inclusão de novas substâncias. A partir dessa lista de 1997 a USEPA passou a priorizar 16 HPAs em seus estudos (Figura 2.1). Na lista de 2005 a substância que ocupou o primeiro lugar foi o arsênio, seguido por chumbo e mercúrio, sendo que benzo[a]pireno e benzo[b]fluoranteno ocuparam individualmente a nona e a décima

posições, respectivamente. (ATSDR, 2008). Na Tabela 2.2 está apresentada a classificação dos HPAs, segundo a IARC e USEPA, sobre suas carcinogenicidade.

Tabela 2.2 – Classificação de HPAs quanto à toxicidade pela IARC e USEPA

HPA	Classificação da IARC	Classificação pela USEPA
Acenafteno	Não classificado	P
Acenaftileno	Não classificado	P
Antraceno	3	P
Benzo[a]Antraceno	2 A	P
Benzo[a]Pireno	2 A	P
Benzo[e]Pireno	3	-
Benzo[b]Fluoranteno	2 B	P
Benzo[j]Fluoranteno	2 B	-
Benzo[k]Fluorantheno	2 B	P
Benzo[g,h,i]Perileno	3	P
Criseno	3	P
Dibenzo[a,h]Antraceno	2 A	P
Dibenzo[a,e]Pireno	2 B	-
Dibenzo[a,h]Pireno	2 B	-
Dibenzo[a,i]Pireno	2 B	-
Dibenzo[a,l]Pireno	2 B	-
Fenantreno	3	P
Fluoranteno	3	P
Fluoreno	3	P
Indeno[1,2,3-cd]Pireno	2 B	P
Naftaleno	2 B	P
Pireno	3	P

Classificação da IARC:

2 A= provavelmente cancerígeno para humanos

2 B= possivelmente cancerígeno para humanos

3 = não classificado como cancerígeno para humanos

Classificação pela USEPA: P = prioritário

O primeiro cientista a relatar a ocorrência de tumores à fuligem de chaminés foi Percival Pott, em 1775, quando estudou os limpadores das chaminés da Inglaterra (IARC,1985). Costa (2001) cita que estudos desenvolvidos por pesquisadores em 1922 associaram a presença de HPAs com ambientes de riscos ocupacionais e ambientais pela demonstração de que extratos orgânicos de fuligem eram cancerígenos em animais e, também pela atividade cancerígena do extrato de material particulado ambiental. Também foi observada a presença de HPAs em extratos de material particulado ambiental coletado do *smog* fotoquímico de *Los Angeles*, nos Estados Unidos.

O benzo[a]pireno foi identificado em fuligem doméstica e posteriormente em material particulado ambiental. Em 1970, o benzo[a]pireno e outros HPAs, foram caracterizados como um agente cancerígeno de distribuição mundial, em ambientes respiráveis, e como constituintes de aerossóis urbanos (Finlayson-Pitts, 1997).

Hoje já se sabe que populações que fazem uso de produtos defumados, fumantes e trabalhadores em ambientes que os expõem diretamente aos HPAs (bombeiros, trabalhadores em usinas de aço e alumínio) eliminam produtos de degradação do B[a]P na urina (Kakimoto *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2008; Costa, 2001). A exposição aos HPAs se dá por múltiplas rotas, incluindo inalação de ar poluído ou de fumaça de cigarros, ingestão de comida defumada ou ingestão acidental de HPAs contidos nas águas, bem como absorção dérmica ou outros materiais contendo HPAs como creosoto ou carvão. As duas formas predominantes são ingestão e inalação (ATSDR, 2008; Ramesh *et al.*, 2004).

Esta toxicidade dos HPAs está relacionada às suas estruturas. Segundo Baird (2002), para que um HPAs seja tóxico ao ser humano é necessário que a estrutura apresente uma “região de baía”, como mostrado na Figura 2.2, na qual ocorre uma seqüência de reações finalizada pela ligação do hidróxi-HPA formado após metabolização com uma base nitrogenada do ácido desoxirribonucléico (DNA).

As posições em que ocorrem as reações químicas são determinadas pela estabilidade das espécies intermediárias, ou seja, as espécies energeticamente mais favoráveis. As posições mais reativas são, portanto as duplas adjacentes às posições onde os anéis são fundidos (Lopes e Andrade, 1996).

Os HPAs que contêm regiões de baía em suas estruturas, como o benzo[a]pireno, benzo[a]antraceno e o fenantreno, são os que apresentam as mais altas atividades bioquímicas (Baird, 2002).

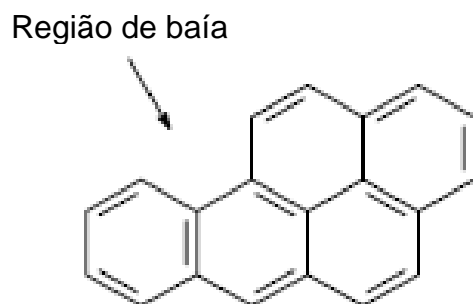


Figura 2.2 – Estrutura do benzo[a]pireno mostrando a região de baía onde é possível acontecer reações químicas.

O mecanismo de biotransformação está bem esclarecido para alguns dos HPAs. No caso do benzo[a]pireno, a primeira transformação química que ocorre após sua entrada do HPA no organismo é a formação de um anel epóxido sobre a ligação dupla ($C_9=C_{10}$). A reação com uma molécula de água produz dois grupos hidroxila sobre os carbonos adjacentes formando compostos di-hidroxilados. A outra ligação dupla que ainda existe no anel que contém os grupos hidroxila (-OH) sofre nova epoxidação, produzindo assim a verdadeira espécie carcinogênica. Esta molécula pode formar um cátion estável por adição de H^+ , capaz de unir-se ao DNA, reagir com a guanina do DNA formando um aduto, induzindo a célula a erros de reparação que podem levar às mutações e câncer (Reynaud e Deschaux, 2006; Baird, 2002; Netto *et al.*, 2002; Lopes e Andrade, 1996; Goujon *et al.*, 1972).

As reações metabólicas de formação de epóxido e adição de água são parte do mecanismo de eliminação do benzo[a]pireno para torná-lo polar e hidrofílico, através da formação dos metabólitos polihidroxilados que permitem posterior eliminação por via urinária, após conjugação (Yilmazer *et al.*, 2006; Katto *et al.*, 2004). A Figura 2.3 ilustra o processo descrito acima.

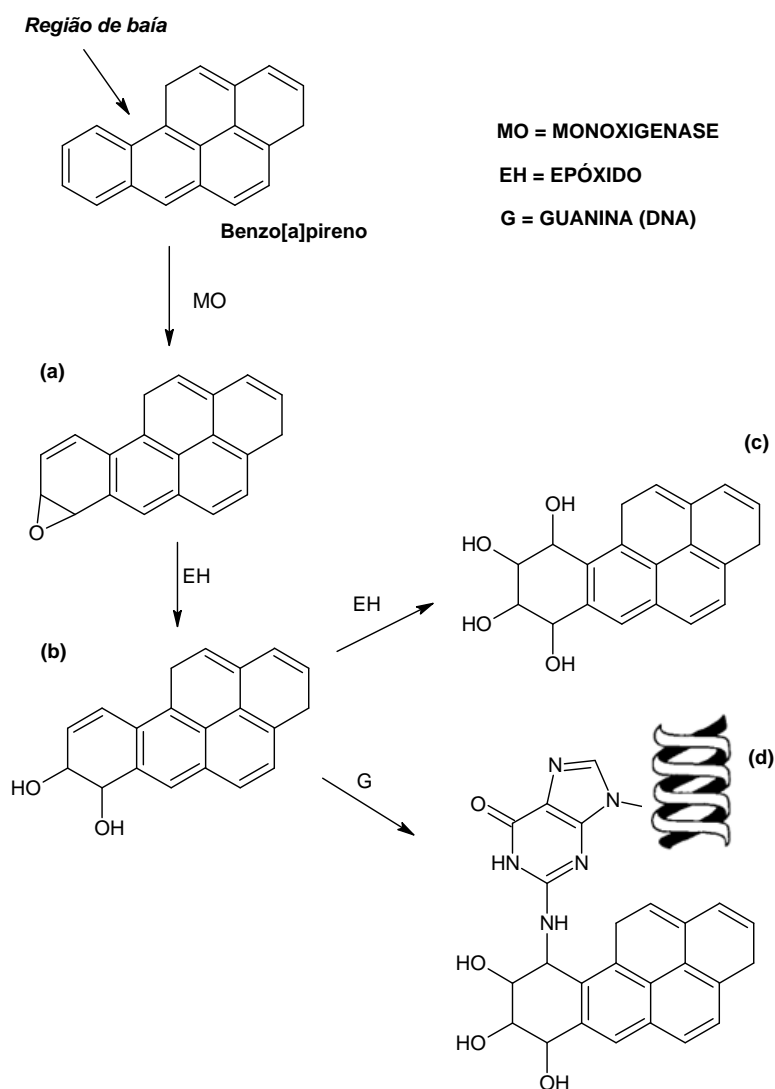


Figura 2.3 – Mecanismo de ativação/eliminação metabólica do benzo[a]pireno.

2.1.3 – HPAs no Ambiente

Os HPAs estão distribuídos em todos os compartimentos ambientais, seja no ar, solo, sedimento e água. São introduzidos no ambiente através de processos naturais e antropogênicos, sendo a maior contribuição das fontes antropogênicas. Somente um pequeno número de HPAs é produzido com interesse industrial, dentre eles o fenantreno, usado como intermediário na fabricação de tintas fluorescentes e o pireno na produção de pigmentos *perinon* (WHO, 1998). A grande maioria destes compostos é formada como subprodutos em processo de combustão incompleta ou pirólise de materiais contendo carbono e hidrogênio sempre que estes materiais são aquecidos a temperaturas superiores a

100-150°C (Blumer, 1977). Erupções vulcânicas e queima de florestas estão entre as principais fontes naturais de HPAs para a atmosfera. Fontes antropogênicas incluem principalmente a queima de combustíveis fósseis, incineração, produção de coque e de asfalto, refino de óleo, produção de alumínio e muitas outras atividades industriais (Sanderson *et al.*, 2004; Baek *et al.*, 1991). Estes HPAs podem ser classificados com sendo de fontes pirogênicas e petrogênicas. As fontes pirolítica estão relacionadas majoritariamente à combustão incompleta de combustíveis como carvão mineral, óleo, madeira e gás para geração de energia, aquecimento residencial e transporte veicular. Também na preparação de alimentos tais como defumação, fritura com óleo de cozinha, queima de incensos, entre outros, contribuem como fonte pirolítica (Meniconi, 2007). Segundo Yunker *et al.* (2002), esse tipo de emissão para o ambiente são HPAs de elevadas massas molares. Já os HPAs de origem petrolítica estão relacionados à queima de petróleo. São lançados no meio ambiente através de processos de exploração e produção de petróleo, descarte de efluentes industriais e urbanos, escoamento de águas das chuvas, deposição atmosférica, etc (Kose *et al.*, 2008; Meniconi, 2007).

Embora os HPAs sejam produtos provenientes principalmente de ação antropogênicas e, teoricamente, estariam nos centros urbanos, podem ser encontrados em áreas rurais devido ao transporte destes materiais pela atmosfera e pela águas superficiais.

Estudos desenvolvidos por Netto (1999), encontraram HPAs em vários compartimentos ambientais, inclusive em plantas e alimentos, como mostra na Tabela 2.3.

Tabela 2.3 – Concentrações de HPAs encontradas em diversas matrizes ambientais.

Tipo de amostra	Concentração
Ar	1,3 a 500 ng/m ³
Solo	0,8 ng/kg – 100 mg/kg
Água	2,5 a 500 ng/L
Plantas	< 150 µg/kg
Alimentos	0,1 a 20 µg/kg

2.1.4 – HPAs em Águas

Uma vez introduzidos no ambiente aquático, o comportamento e o destino dos HPAs dependem de suas propriedades físico-químicas. Volatilização, dissolução, adsorção em sólidos em suspensão e a subsequente sedimentação, degradação biótica e abiótica, degradação fotoquímica, absorção por organismos aquáticos e a bioacumulação são os principais processos envolvendo HPAs em água (Jeanneau *et al.*, 2007; Brum *et al.*, 2007; Olivella, 2006).

Os HPAs são muitos poucos encontrados na água (Tabela 2.3), isso se deve às suas baixíssimas solubilidades na fase aquosa que aumentam com a massa molar conforme mostrado na tabela 2.1. A biodegradação deste material acontece em condições anaeróbicas e também diminui com o aumento da massa molar (Rentz *et al.*, 2008; Juhasz e Naidu, 2000). Tanto no ar quanto na água, o mais importante processo de degradação dos HPAs se deve a fotólise indireta sob ação do radical hidróxi (Fasnachtand e Blough, 2002; Miller e Olejenik, 2001; WHO, 1998).

Organismos aquáticos também sofrem com a bioacumulação destes poluentes, em especial as algas, moluscos e crustáceos (Phillips, 1999; Speer *et al.*, 1990). Também os peixes sofrem bioacumulação, mas em menor concentração que os organismos anteriores devido a processos de rápida biotransformação (Azeredo, 2006; Pointet e Milliet, 2000; Takatsuki *et al.*, 1985).

Agências que controlam a qualidade das águas no Brasil e no mundo listam os principais HPAs a serem monitorados, entre eles estão o pireno, benzo[a]antraceno, benzo[a]pireno, dibenzo[a,h]antraceno, indeno[1,2,3-cd]pireno, benzo[b]fluoranteno e benzo[k]fluoranteno (WHO, 1998; USEPA, 1990). No Brasil, a legislação lista estes sete HPAs que devem ser monitorados em águas superficiais de classe 1. Os valores das concentrações máximas admissíveis em águas, estão apresentados a Tabela 2.4. Trabalhos realizados no Brasil e no mundo relatam a presença destes poluentes nas águas superficiais e mostram que se faz necessário uma preocupação com a qualidade destes corpos d'água (Xu e Lee, 2008; Brum *et al.*, 2007; Dórea *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2007; Locatelli, 2006; Cao *et al.*, 2005;)

Tabela 2.4 – Padrões de qualidade de águas doce (classe 1) estabelecidos pela resolução CONAMA N° 357/05.

HPA	Valor máximo (µg/L)
Benzo[a]Antraceno	0,05
Benzo[a]Pireno	0,05
Benzo[b]Fluoranteno	0,05
Benzo[k]Fluoranteno	0,05
Criseno	0,05
Indeno[1,2,3-cd]Pireno	0,05
Dibenzo[a,h]Antraceno	0.05

2.2 – Metodologias para Determinação dos HPAs em Águas Superficiais

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é uma técnica de separação fundamentada na distribuição dos componentes de uma mistura entre duas fases, a fase móvel, líquida, e a fase estacionária contida em uma coluna. As separações são alcançadas por partição, adsorção, troca iônica, exclusão por tamanho ou interações estereoquímicas, dependendo do tipo de fase estacionária utilizada. A CLAE apresenta vantagens sobre a cromatografia a gás para as análises de combinações orgânicas. Amostras não voláteis e termolábeis são, preferencialmente, analisadas por CLAE. Vários fatores químicos e físico-químicos influenciam na separação cromatográfica, esses dependem da natureza química das substâncias a serem separadas, da composição e fluxo da fase móvel, da composição e área superficial da fase estacionária.

A cromatografia é utilizada para análise dos HPAs desde o final dos anos 60. Trabalhos encontrados na literatura usam muitas vezes a cromatografia a gás com detecção por ionização de chama (CG-FID) ou detecção por espectrometria de massas (CG-MS) (Restrepo *et al.*, 2008; Xu e Lee, 2008; Locatelli, 2006; Cao *et al.*, 2005; Legret *et al.*, 2005; Luo *et al.*, 2004; USEPA, 1991). Existem ainda trabalhos que utilizam cromatografia a líquido de alta eficiência com detecção por fluorescência (CLAE-FL) (Brum *et al.*, 2007; Fan *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2007, Miège *et al.*, 2003), ultravioleta visível (CLAE-Vis) e por arranjo de diodo (DAD) (Alonso *et al.*, 2007; Miège *et al.*, 2003, Gimeno *et al.*, 2003). Detecção por fluorescência é a técnica mais utilizada devido os

compostos de HPAs fluorescerem em determinados comprimentos de onda de excitação e emissão, sendo esta recomendada pela USEPA conforme método 550.1 (USEPA, 1990).

A cromatografia líquida com o detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD) é uma técnica amplamente utilizada em análises, desde que o analito apresente grupos cromóforos que propiciem a absorção de luz na região de UV-visível. Porém, sua utilização na identificação de compostos aromáticos em amostras de águas ambientais é limitada, pois a CLAE-DAD fornece apenas o espectro UV-Vis de cada substância como informação estrutural, o que não é suficiente para a caracterização, pois outros compostos de um mesmo grupo químico apresentam espectros similares, impossibilitando às vezes sua distinção.

2.2.1 – Métodos de Pré-Concentração das Amostras

Alguns poluentes, como HPAs, são encontrados em amostras ambientais, principalmente em águas superficiais, em concentrações muito baixas, da ordem de ng/L, cujas determinações somente são possíveis através de etapas de pré-concentração, pois na maioria das vezes ultrapassam os limites de detecção e quantificação dos detectores utilizados em cromatografia. Existem basicamente três métodos de pré-concentração de amostras de águas superficiais: extração líquido-líquido (ELL), microextração em fase sólida (MEFS) e extração em fase sólida (EFS).

Extração Líquido-Líquido (ELL)

Esta técnica baseia-se na solubilidade relativa dos analitos presentes na amostra em dois solventes, idealmente imiscível. Esta solução é colocada num funil de separação e adicionada um solvente apropriado que tenha afinidade com os analitos de interesse e imiscível em água (na prática pouco miscível). O sistema é então agitado e o analito passa da fase aquosa para a fase orgânica, enquanto os interferentes permanecem, na sua maioria, na fase aquosa. Após esta etapa, uma segunda fase do processo consiste na limpeza dos interferentes, *clean-up*, com utilização de uma coluna cromatográfica composta geralmente de florisil como adsorvente e posterior redução do volume por fluxo de nitrogênio gasoso ou rotoevaporador. É uma técnica que apresenta algumas desvantagens como: necessita de considerável tempo, grande volume de solventes e produzindo com isso grande quantidade

de resíduo e como emprega várias etapas, de difícil repetibilidade e reprodutibilidade.

Microextração em Fase Sólida (MEFS)

A microextração em fase sólida é uma opção relativamente recente, que tem sido empregada para essas operações, sendo particularmente interessante para Cromatografia Gasosa. A microextração em fase sólida é uma técnica cujo fundamento é a retenção dos analitos de interesse sobre uma fase estacionária, que se encontra ligada ou depositada em uma microfibrilha capilar de sílica fundida. O dispositivo básico de MEFS consiste de um bastão de sílica fundida com uma das extremidades recoberta com um filme fino de um polímero que pode ser polidimetilsiloxano, poliacrilato ou carbowax.

A técnica é muito versátil já que a retenção dos analitos pode ser feita na fase vapor, ou seja, no espaço livre em equilíbrio sobre uma amostra sólida ou líquida ou também por imersão total da microfibrilha em uma amostra líquida. A primeira modalidade é conhecida como MEFS em modo *headspace* e a segunda modalidade se denomina diretamente MEFS. Um aspecto crítico da MEFS é a reprodutibilidade devido ao “efeito de memória”. Ao iniciar os ensaios com uma fibra nova, é necessário realizar um bom condicionamento, conforme temperatura e tempo indicados nas fichas técnicas que são encaminhadas juntamente com o produto. O efeito de memória é reduzido e, às vezes eliminado, quando é realizada uma boa limpeza térmica após a dessorção. Sua magnitude depende também da natureza da fibra e do analito de interesse. Apresenta vantagens como tempo de análise relativamente curto e não utilização de solventes.

Extração em Fase Sólida (EFS)

A extração em fase sólida foi introduzida em meados da década de 1970 e é uma técnica de separação líquido-sólido baseada nos mecanismos de separação da cromatografia de baixa pressão, conhecida como cromatografia clássica. Trabalhos realizados por outros pesquisadores utilizam a EFS para identificação e quantificação dos dezesseis HPAs recomendados pelas agências de proteção ambiental (Li *et al.*, 2008; Guo *et al.*, 2007; Jeanneau *et al.*, 2007; Fan *et al.*, 2007; Filipkowska *et al.*, 2005; Marcé e Borrull, 2000; Pichon, 2000; Urbe e Ruana, 1997).

A EFS envolve basicamente quatro etapas: 1) condicionamento do cartucho (uso de solvente adequado para disponibilizar os sítios ativos e para ajustar as forças dos

solventes de eluição com o solvente da amostra); 2) extração dos analitos da amostra pela passagem desta no cartucho; 3) lavagem do cartucho para eliminar possíveis interferentes e 4) eluição dos analitos de interesse para posterior análise (Lanças, 2004). A EFS apresenta algumas vantagens como diminuição do tempo de extração das amostras, automação do sistema permitindo que várias amostras sejam extraídas simultaneamente, utilização de pequenos volumes dos solventes de eluição e condicionamento, eliminação da etapa de *clean-up* das amostras, uma vez que pela interação com a fase estacionária ficam retidos apenas os analitos de interesse.

2.3 – Validação da Metodologia Analítica

A validação do método visa garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda as exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados (Lanças, 2004). Embora não existam ainda sistemas de validação que assegurem a confiabilidade dos procedimentos analíticos que vem sendo empregados na determinação de HPAs em amostras ambientais, normalmente seguem-se os critérios e recomendações de alguns órgãos nacionais de avaliação da qualidade de laboratórios de análise, como o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), bem como alguns trabalhos encontrados na literatura (Vaz *et al.*, 2007; Galinaro, 2006; Ribani *et al.*, 2004).

Os parâmetros geralmente avaliados para a validação de um método analítico são: seletividade, intervalos da curva analítica, linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, precisão e recuperação do método.

2.3.1 – Seletividade

A seletividade de um método instrumental de separação é a capacidade de avaliar, de forma inequívoca, as substâncias em exame na presença de componentes que podem interferir com a sua determinação em uma amostra complexa. Este parâmetro avalia o grau de interferência de espécies como outro ingrediente ativo, excipientes, impurezas e produtos de degradação, bem como outros compostos de propriedades similares que possam estar, porventura, presentes. A seletividade garante que o pico de resposta seja exclusivamente do composto de interesse. Se a seletividade não for assegurada, a

linearidade, a precisão e recuperação estarão seriamente comprometidas (Ribani *et al.*, 2004, INMETRO, 2007).

A seletividade é o primeiro passo no desenvolvimento e validação de um método instrumental de separação e deve ser reavaliada continuamente durante a validação e subsequente uso do método.

2.3.2 – Intervalos da Curva Analítica e Linearidade

Linearidade é a habilidade de um método analítico em produzir resultados que sejam diretamente proporcionais à concentração do analito em amostras, em uma dada faixa de concentração. A quantificação requer que se conheça a dependência entre a resposta medida e a concentração do analito. A linearidade é obtida por padronização interna ou externa e formulada como expressão matemática usada para o cálculo da concentração do analito a ser determinado (INMETRO, 2007).

Para a análise quantitativa, a faixa de trabalho para um método é determinada pelo exame de amostras com diferentes concentrações de analito e determinação da faixa de concentrações para qual a incerteza admissível possa ser alcançada (ANVISA, 2008).

A padronização interna é um recurso utilizado para a construção da curva analítica e quantificação de amostra, quando em alguma etapa do processo desenvolvido houver perda da amostra ou dos padrões. O padrão interno utilizado foi o binaftila por apresentar os requisitos necessários para sua aplicação: “O composto escolhido deve eluir da coluna adequadamente separado de todos os compostos da amostra, deve eluir o mais perto possível dos compostos de interesse, deve ser estável nas condições de análise, a quantidade injetada deve ser próxima à da substância de interesse e deve ser suficientemente estável para permitir a estocagem por um tempo adequado” (Ribani *et al.*, 2004). A Figura 2.4 mostra a estrutura do padrão interno utilizado na calibração da curva analítica.

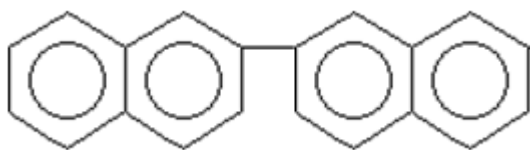


Figura 2.4 – Fórmula estrutural do padrão interno utilizado.

2.3.3 – Limite de Detecção (LD) e Quantificação (LQ)

A definição para limite de detecção adotada em 1975 pela *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC), estabelece que “limite de detecção expressa a concentração derivada da menor medida que pode ser detectada com razoável certeza por um método analítico”, ou seja, o LD é a menor concentração de um dado analito que se pode detectar por determinado procedimento (Miller e Miller, 1989).

Segundo Ribani *et al.* (2004), o LD representa a menor concentração da substância em exame que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada e limite de quantificação (LQ) representa a menor concentração da substância que pode ser medida, utilizando um determinado procedimento experimental.

O LD é normalmente definido como a concentração do analito que gera uma resposta significativamente diferente (três desvios padrão) da resposta do branco. No entanto, em cromatografia, a medida do branco é inconveniente e difícil porque o branco é extremamente baixo, (Miller e Miller, 1989). O LD pode ainda ser calculado de três maneiras diferentes: método visual, método relação sinal-ruído, método baseado em parâmetros da curva analítica.

2.3.4 – Precisão

A precisão é a medida da concordância entre os valores experimentais de ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra sob condições definidas, e deve estar na primeira etapa do estabelecimento de um método quantitativo de análise (Lanças, 2004) e é expressa pelo desvio padrão relativo (σ_r) ou coeficiente de variação (CV) (Ribani *et al.*, 2004; ANVISA, 2008).

2.3.5 – Recuperação do Método

A recuperação (ou fator de recuperação), R, é definida como a proporção da quantidade da substância de interesse, presente ou adicionada na porção analítica do material teste, que é extraída e passível de ser quantificada.

O ensaio de recuperação constitui o método mais utilizado para validação de processos analíticos. A recuperação está relacionada com a exatidão, pois reflete a

quantidade de determinado analito, recuperado no processo, em relação à quantidade real presente na amostra. O ensaio suprime o erro sistemático ocorre pela perda da substância devido à baixa recuperação da extração, medidas volumétricas imprecisas ou substâncias interferentes na amostra (Ribani *et al.*, 2004).

CAPÍTULO 3 – OBJETIVO

O objetivo principal deste trabalho foi o desenvolvimento de metodologia analítica, utilizando a extração em fase sólida e cromatografia a líquido de alta eficiência com detecção por ultravioleta visível com arranjo de diodos para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em águas naturais.

Como objetivo secundário, a metodologia desenvolvida foi utilizada para a avaliação de HPAs nas águas dos rios Piracicaba e Doce, na cidade de Ipatinga – MG, em períodos distintos: estiagem e chuvoso.

CAPÍTULO 4 – MATERIAIS E MÉTODOS

O desenvolvimento deste trabalho consistiu em desenvolver um método analítico para a determinação de HPAs em água superficial realizado em três etapas. Na primeira etapa do trabalho avaliaram-se os diversos métodos analíticos para a determinação dos compostos escolhidos para monitoramento, utilizando EFS-CLAE-DAD, a partir da literatura (Alonso *et al.*, 2007; Guo *et al.*, 2007; Filipkowska *et al.*, 2005; Gimeno *et al.*, 2003; Miège *et al.*, 2003; Kiss *et al.*, 1996), a fim de se obter as condições cromatográficas otimizadas. A segunda etapa consistiu na validação da metodologia analítica otimizada. A terceira etapa consistiu da aplicação do método desenvolvido na avaliação de água naturais dos rios Piracicaba e Doce.

4.1 – Materiais, Reagentes e Soluções

Todas as vidrarias utilizadas nas coletas (balões volumétricos, frascos âmbar, tubos de ensaio, béqueres, kitassatos, provetas, etc) foram descontaminadas com o seguinte procedimento: 1) utilização de banho de detergente *extran* por pelo menos 24 horas; 2) após este período, foram enxaguadas com água milli-Q, e ; 3) deixadas em banho ácido (ácido nítrico 2,5%) por mais um período de pelo menos 24 horas; 4) banho de ultra-som por 30 minutos; 5) Após o banho de ultra-som, todas foram lavadas com água milli-Q, secas e armazenada para uso posterior.

Os reagentes utilizados neste trabalho estão listados na Tabela 4.1 e os materiais listados na Tabela 4.2.

As soluções utilizadas para a construção da curva analítica para calibração do equipamento e quantificação dos poluentes foram preparadas em acetonitrila a partir da diluição de solução contendo todos os 16 HPAs-USEPA com concentração de 200mg/L de cada HPA, também diluídos em acetonitrila.

Tabela 4.1 – Reagentes utilizados.

Reagente	Especificações
Acetonitrila (ACN)	Grau HPLC, marca <i>J. T. Baker</i> , Brasil
Diclorometano (DCM)	Grau PA, Marca Nuclear, Brasil
Metanol	Grau HPLC, Marca <i>J. T. Baker</i> , Brasil
Solução contendo 16 HPAs em acetonitrila	Concentração de 200mg/L de cada HPA, adquirida de <i>Sigma-Aldrich</i>
Água milli-Q	Condutividade de 0,065µS
Nitrogênio Gasoso	Pureza 4.0 (99,99%), Marca <i>White Martins</i>
Filtro de fibra de vidro	dp 0,45µm, marca Prefilter
Filtro de celulose	dp 8µm, marca <i>Quanty</i>

Tabela 4.2 – Materiais utilizados.

Materiais	Descrição	
Micropipetas	Volumes de 100 a 1000 e 20 a 200µL, marca Labmate	
Cartuchos	C18, 200mg, Strata <i>Phenomenex</i> com 3mL de volume	
<i>Manifold</i>	Marca <i>Phenomenex</i> , para 12 cartuchos	
Bomba de vácuo	Modelo 131, marca Primatec	
Coluna cromatográfica	<i>Lichrospher</i> [®] PAH, C18, marca <i>Agilent</i> (250mm x 3mm, 5µm)	
Pré-coluna	<i>Phenomenex</i> , C18, 4 x 3mm	
	Bombas	Binárias, modelo LC-20AD
	Degaseificador	Modelo DGU-20A ₃
Sistema de Cromatografia a Líquido da <i>Shimadzu</i>	Controlador	Modelo CBM-20A
	Injetor automático	Modelo SIL-20AC
	Detector UV-Vis DAD	Modelo SPM-M20A
	<i>Software</i> de tratamento de dados	<i>LabSolutions</i>

4.2 – Metodologia

Neste trabalho, a metodologia analítica desenvolvida, validada e aplicada para a análise de amostras ambientais consistiu do procedimento esquematizado na Figura 4.1. Primeiramente foi desenvolvido e validado o método para quantificação dos HPAs

utilizando cromatografia a líquido com detecção por arranjo de diodos. Após esta etapa foi avaliada as águas dos rios Piracicaba e Doce, na cidade de Ipatinga – MG, com relação aos HPAs estudados com aplicação da metodologia desenvolvida.

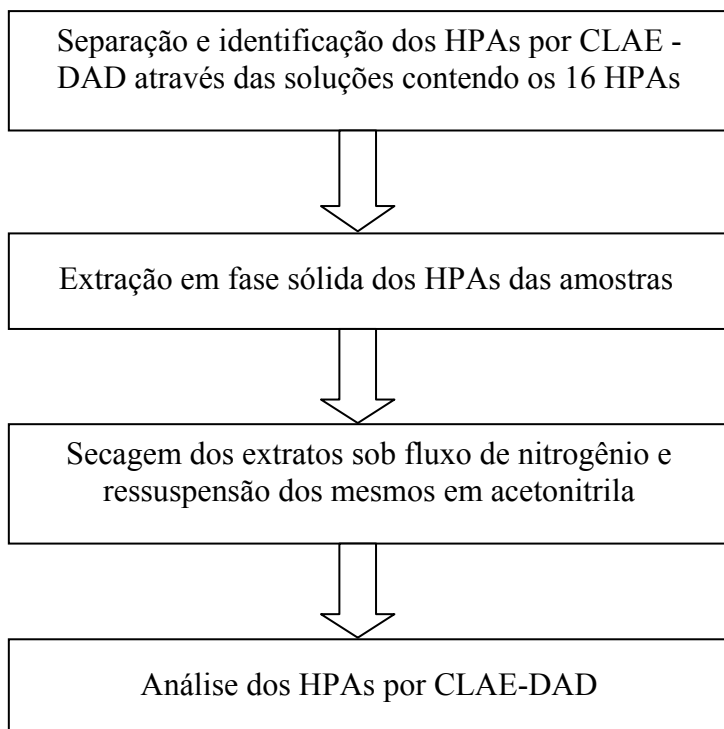


Figura 4.1 – Esquema simplificado do processo de análise dos HPAs nas amostras.

4.3 – Método para a Determinação de HPAs em Água por CLAE-DAD

Neste trabalho foi utilizada a cromatografia a líquido de alta eficiência com detecção por arranjo de diodos (CLAE-DAD) para a determinação dos HPAs. Inicialmente, otimizaram-se as condições cromatográficas para a separação de todos os dezesseis HPAs de interesse contidos em solução de acetonitrila.

O método consistiu em duas etapas: extração dos HPAs da matriz (água superficial) e separação, identificação e quantificação do analitos por CLAE-DAD.

4.3.1 – Extração das Amostras e Pré-Concentração

Os HPAs foram extraídos da matriz aquosa utilizando a técnica de extração em fase sólida e um sistema de vácuo *Manifold*. Antes do processo de extração as amostras naturais foram filtradas primeiramente em filtros de papel e posteriormente em filtros de fibra de vidro para remoção de material particulado suspenso. O processo de extração envolveu basicamente quatro etapas: 1) Os cartuchos (Figura 4.2) foram condicionados com 3mL de diclorometano (DCM), seguido de mais 3mL de metanol e posterior passagem de 15mL de água ultrapura, utilizando-se sempre fluxo de aproximadamente 3mL/minuto. Tomou-se o cuidado de não deixar que o solvente utilizado no condicionamento secasse e entrasse ar no cartucho, o que prejudica os sítios ativos do sorvente. 2) Os analitos foram extraídos pela passagem de 800mL de amostra diretamente no cartuchos a um fluxo de aproximadamente 5mL/minuto. 3) O sorvente do cartucho foi seco com a passagem de ar por aproximadamente vinte minutos. 4) Os analitos foram eluídos com 3mL de DCM e recolhidos em tubos de ensaio. A Figura 4.3 mostra o sistema *Manifold* utilizado para extração das amostras. A cada tubo de ensaio com o eluato foram adicionados 50µL de uma solução em acetonitrila contendo padrão interno na concentração de 1000µg/L. Em seguida, o volume da de cada solução resultante foi reduzido a aproximadamente 800µL sob fluxo de nitrogênio, tomando-se o cuidado da solução não aderir na parede dos tubos. Este volume foi transferido para *vial* de 1,5mL com auxílio de micropipetas e, somente então, completamente seco. O sólido resultante no *vial* foi ressuspenso com 500µL de acetonitrila e a solução final foi injetada diretamente no sistema CLAE-DAD. Quando não analisada em seguida a mesma era guardada em congelador a cerca de -20°C até ser utilizada.



Figura 4.2 – Cartuchos utilizados na extração dos HPAs.



Figura 4.3 – Sistema de vácuo *Manifold* para a extração das amostras naturais.

4.3.2 – Análise Cromatográfica

Os HPAs extraídos foram separados por CLAE utilizando-se uma coluna cromatográfica C18 e uma mistura de acetonitrila e água em várias composições como fase móvel. Para otimização foi realizada variando-se a composição da fase móvel e mantendo constante a temperatura da coluna, 40°C, e o fluxo de fase móvel, 0,6mL/min, visando a separação dos compostos solução proveniente da extração foram estudados. Na Tabela 4.3 estão descritos as demais condições utilizadas para a otimização dos HPAs. Também foram definidos os comprimentos de onda de máximas de absorção dos dezesseis HPAs.

Tabela 4.3 – Condições otimizadas para a separação e otimização dos HPAs.

Sistema Cromatográfico	Descrição
Cromatógrafo a Líquido de Alta Eficiência	Marca <i>Shimadzu</i> LC-DAD
Coluna	<i>Lichrospher</i> [®] PAH, C18, marca <i>Agilent</i> (250mm x 3mm, 5µm) Início com 60% de ACN mantida constante até 5 minutos
Gradiente da Concentração da fase móvel (ACN e H ₂ O)	Variação até 85% em 10 minutos Variação até 95% em 10 minutos Estabilização em 95% por 9 minutos Redução para 60% em 4 minutos
Volume de injeção na coluna	Estabilização de 60% por 2 minutos 20µL automáticos
Temperatura da coluna	40°C
Vazão das bombas	0,6mL/minuto
Estação de tratamento de dados	<i>Software LabSolutions</i>

4.3.3 – Validação do Método

Para avaliação do método analítico desenvolvido foram utilizados os seguintes parâmetros: seletividade, linearidade e intervalos da curva analítica, limite de detecção e limite de quantificação, precisão, recuperação do método.

Seletividade

A seletividade do método neste trabalho foi realizada através da comparação do tempo de retenção dos analitos no cromatograma e da pureza dos picos cromatográficos obtidos com a modelagem do *software LabSolutions* da *Shimadzu*, tanto para os padrões utilizados na curva analítica e quanto para os compostos de interesse presentes nas amostras ambientais.

Intervalo da Curva Analítica e Linearidade

A linearidade foi definida como o intervalo de concentração no qual a curva analítica por padronização interna, expressa pela equação 4.1, fosse linear (coeficiente de regressão linear maior ou igual a 0,90) (INMETRO, 2007).

A linearidade do método foi avaliada para um intervalo de concentração de 5 a 400µg/L para todos os HPAs estudados.

$$Y = \frac{Aa}{A_{pi}} = ax + b \quad (4.1),$$

onde:

Aa – Corresponde à área do pico cromatográfico do analito HPA

A_{pi} – Área do pico cromatográfico do padrão interno

x – Concentração do analito

a – Coeficiente angular – sensibilidade do método

b – Coeficiente linear

Limites de detecção (LD) e Quantificação (LQ)

Os limites de detecção e quantificação foram calculados pelo método visual com base na relação sinal/ruído do padrão na solução de menor concentração da curva analítica. Para isso, mediu-se a área de cada HPA nas curvas analíticas em três dias diferentes. Nesses cromatogramas foram determinadas também as áreas de três picos considerados ruídos (medidos no tempo que com certeza não havia nenhuma substância presente). O LD e o LQ foram calculados de acordo com as equações 4.2 e 4.3, respectivamente. Os resultados foram determinados a partir da média destas quantificações e recalculado para o volume de 800mL utilizado nas amostras.

$$LD = 3 \times f \times \frac{Ar}{A_p} \quad (4.2),$$

$$LQ = 3,33 \times LD \quad (4.3),$$

onde:

f – fator de correção para a amostra real sendo igual a 3,12

A_r – Área do ruído do HPA de menor concentração na curva analítica

A_p – Área do padrão de menor concentração na curva analítica.

Precisão

A precisão foi avaliada em termos de repetibilidade através do cálculo da estimativa do desvio padrão relativo (σ_r), também conhecido como coeficiente de variação (CV). Para isso, foram coletadas e filtradas sete amostras de águas do ribeirão Tripui em Ouro Preto, as quais foram fortificadas com soluções de HPAs em acetonitrila em concentrações de 6, 24 e 62ng/L, as quais representam respectivamente, o limite de quantificação, o meio da curva analítica e seu limite superior. As águas deste ribeirão foram escolhidas por apresentarem similaridade com as amostras naturais (efluentes industriais e domésticos, material particulado em suspensão, etc). As soluções fortificadas foram submetidas a todas as etapas do método analítico. Os valores de precisão para os HPAs foram calculados de acordo com a equação 4.4, onde são aceitos valores de CV de até 20 % (INMETRO, 2007; Ribani *et al.*, 2004).

$$CV = \sigma_r = \frac{\sigma}{C_{m\acute{e}dia}} \times 100 \quad (4.4),$$

onde:

CV – coeficiente de variação

σ_r – desvio padrão relativo

σ – desvio padrão

$C_{m\acute{e}dia}$ – concentração média

Recuperação do Método

Para a avaliação da recuperação do método foram utilizadas como matriz sete amostras de água milli-Q e sete do ribeirão Tripui, em Ouro Preto. Essas amostras foram

filtradas e fortificadas com HPAs em concentrações de 6, 24 e 62ng/L (INMETRO, 2007, Ribani *et al.*, 2004). Essas soluções foram submetidas a todas as etapas do método analítico. A recuperação do método foi calculada pela equação 4.5:

$$R (\%) = \frac{(C_1 - C_2)}{C_3} \times 100 \quad (4.5),$$

onde:

R (%) – Porcentagem de recuperação

C₁ – Concentração encontrada na amostra após adição do padrão

C₂ – Concentração da amostra sem adição dos HPAs

C₃ – Concentração adicionada na amostra

4.4 – Amostragem

Para verificar a aplicabilidade da metodologia analítica desenvolvida para a identificação e quantificação dos HPAs em amostras de águas superficiais foram realizadas duas campanhas de amostragens, na cidade de Ipatinga – Minas Gerais. A cidade de Ipatinga está localizada na Região Metropolitana do Vale do Aço – Minas Gerais, com uma população total de 238.397 habitantes (IBGE, 2008). A base da economia da cidade é a indústria siderúrgica respondendo por um total de 82% do produto interno bruto. Nesta cidade acontece o encontro dos rios Piracicaba e Doce, local escolhido para o estudo desenvolvido neste trabalho. A Figura 4.2 apresenta o local e os pontos onde foram coletadas amostras da segunda campanha .

Oito locais foram selecionados a primeira campanha de amostragem, sendo quatro no rio Piracicaba e quatro no rio Doce. No rio Piracicaba, onde está localizado o emissário geral da indústria siderúrgica – USIMINAS (19°29'35,6"S, 42°31'35,1"W), realizou-se as amostragens em três pontos antes do emissário da empresa e em um ponto a cerca de 200 metros após o despejo dos efluentes. Dentre os pontos de amostragens no rio Doce, um encontrava-se antes da confluência com o rio Piracicaba e os demais estavam localizados após a confluência conforme Figura 4.4.

Em uma primeira campanha, vinte e quatro amostras de água dos rios estudados foram coletadas no dia quinze de janeiro de dois mil e oito. Segundo metodologia pré-estabelecida (USEPA, 1990), para estas coletas foram utilizados frascos âmbar de volume igual a um litro, as amostras foram armazenadas em banho de gelo e transportadas até o laboratório na Universidade Federal de Ouro Preto. Uma segunda campanha de amostragem foi realizada no dia vinte e seis de maio de dois mil e oito. Nesta campanha devido ao baixo nível do rio não foi possível realizar a amostragem em todos os pontos da primeira campanha de amostragem, sendo dois pontos no rio Piracicaba e três pontos no rio Doce.

Em todas estas campanhas, os pontos de coletas foram identificados pelo sistema de posicionamento global, GPS, do inglês – *Global Positioning System*. As Tabelas 4.4 e 4.5 apresentam as coordenadas geográficas dos pontos de amostragem onde foram realizadas a primeira e segunda campanha, respectivamente.

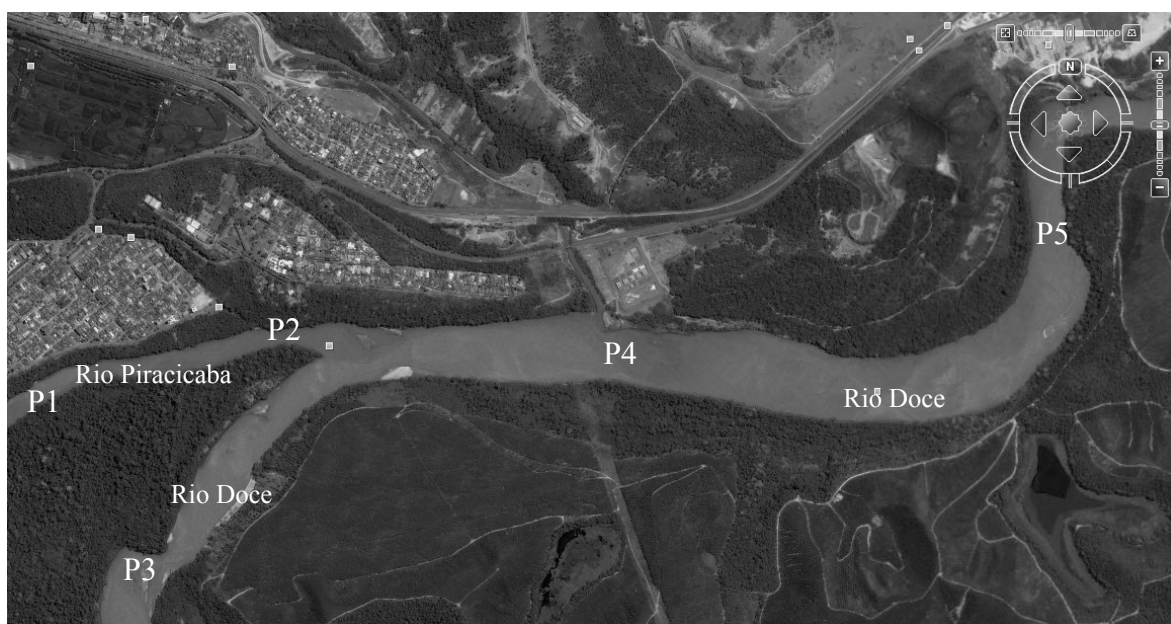


Figura 4.4 – Imagem de satélite dos pontos de amostragem da segunda campanha de nos rios Piracicaba e Doce (Google Earth®).

Tabela 4.4 – Localização geográfica dos pontos de amostragem na primeira campanha.

Ponto	Rio	Coordenadas geográficas	
		Latitude (S)	Longitude (W)
1	Piracicaba	19° 30' 42,5''	42° 32' 18,4''
2	Piracicaba	19° 30' 6,7''	42° 32' 27,3''
3	Piracicaba	19° 29' 50,9''	42° 31' 52,7''
4	Piracicaba	19° 29' 32,8''	42° 31' 17,9''
5	Doce	19° 29' 31,5''	42° 31' 18,9''
6	Doce	19° 29' 34,2''	42° 30' 27,4''
7	Doce	19° 29' 18,5''	42° 29' 16,3''
8	Doce	19° 28' 44,9''	42° 28' 45,7''

Tabela 4.5 – Localização geográfica dos pontos de amostragem da segunda campanha.

Ponto	Rio	Coordenadas Geográficas	
		Latitude (S)	Longitude (W)
1	Piracicaba	19° 29' 50,9''	42° 31' 52,7''
2	Piracicaba	19° 29' 32,8''	42° 31' 17,9''
3	Doce	19° 29' 31,5''	42° 31' 18,9''
4	Doce	19° 29' 34,2''	42° 30' 27,4''
5	Doce	19° 29' 18,5''	42° 29' 16,3''

CAPÍTULO 5 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo estão apresentados e discutidos os resultados obtidos para todas as etapas de desenvolvimento e aplicação do método na determinação de HPAs em amostras ambientais superficiais. Primeiramente estão apresentados os resultados de otimização e validação do método desenvolvido e posteriormente os resultados das análises das amostras com algumas inferências sobre a provável fonte deste composto nos rios.

5.1 – Implementação do Método Analítico

5.1.1 – Separação e Identificação dos HPAs

A otimização da separação dos HPAs foi obtida pelas condições descritas na Tabela 4.3. O tempo de análise total foi de 40 minutos, sendo que o primeiro composto a eluir foi o naftaleno com tempo de 4,2 minutos e o último o indeno[1,2,3-cd]pireno em 33,2 minutos. O tempo maior de análise (40 minutos) foi necessário para que se obtivesse a condição inicial de fase móvel.

A separação e identificação dos HPAs foram realizadas pelo método de detecção em janela, onde soluções contendo quatro compostos com grandes diferenças em suas massas molares foram injetadas e, devido às interações com a coluna, eluíram em regiões distintas do cromatograma. Em seguida, os compostos foram identificados pela ordem de eluição e confirmados pelos comprimentos de onda de máximas absorção obtidos pelo espectro no *software LabSolutions*. Este procedimento foi repetido até que os tempos de retenção de todos os HPAs estudados fossem determinados. Na Figura 5.1 é apresentado um cromatograma obtido para um grupo de HPAs avaliado.

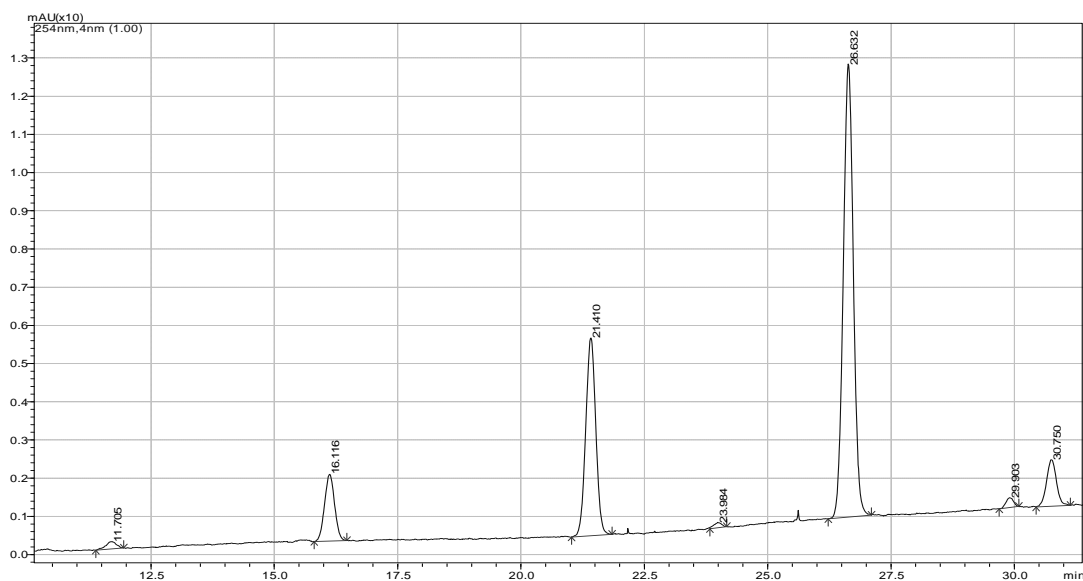


Figura 5.1 – Determinação dos tempos (minutos) de retenção do fenantreno ($t = 11,7$), fluoranteno ($t = 16,1$), Criseno ($t = 21,4$), benzo[k]fluoranteno ($t = 26,6$) e dibenzo[a,h]antraceno ($t = 30,7$).

Outra forma de identificação dos picos cromatográficos foi a utilização do grau de pureza obtidos pelo *software LabSolutions*, da *Shimadzu*, que avalia os espectros de absorção da substância presente no início (*upslope*), no ápice (*top*) e no final (*downslope*) do pico cromatográfico, comparando-os. Os HPAs foram então identificados e seus tempos de retenção determinados. A Figura 5.2 mostra o grau de pureza do naftaleno numa solução padrão e na amostra ambiental. Quanto mais sobrepostos estiverem os espectros de absorção mostrados, mais puro será o pico cromatográfico avaliado, significando que naquela região apenas uma substância está sendo analisada. Apesar dos detectores por UV-vis não serem seletivos, esta é uma característica do sistema de detecção por UV-vis-DAD que o deixa mais seletivo. No entanto, a detecção por DAD apresenta alguns problemas quando comparados à detecção por fluorescência, como por exemplo, o fato desse último ser mais seletivo, pois a absorção dos HPAs pode sofrer interferências de outras substâncias presentes nas amostras. Esse problema foi contornado de três maneiras: confirmando a presença dos analitos na amostra pela comparação do tempo de retenção dos HPAs nas soluções padrões; pela fortificação das amostras (adição de solução padrão contendo o HPA de interesse) e confirmação da presença do analito pelo aumento da área do pico correspondente; pela utilização do *software LabSolutions* da *Shimadzu* que avalia a pureza dos picos cromatográficos obtidos.

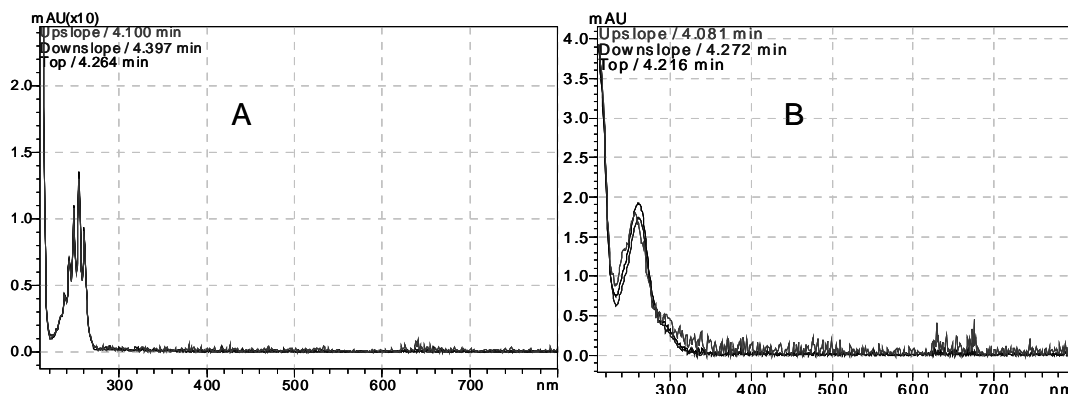


Figura 5.2 – Avaliação do grau de pureza do pico do naftaleno em dois cromatogramas através de espectrofotometria: A) na solução padrão e B) na amostra.

Na Figura 5.3 é mostrado um cromatograma em que 14 HPAs em uma solução padrão foram separados na linha de base. Em 10,4 minutos encontra-se o pico no qual co-eluíram o acenafteno e o fluoreno na coluna cromatográfica. Alonso *et al.* (2007) utilizando condições cromatográficas semelhantes e coluna com as mesmas características (*Lichrospher*[®] PAH, *Agilent*) obtiveram resultados semelhantes, ou seja, esses HPAs também apresentaram co-eluição. E na Figura 5.4 é apresentado um cromatograma com o padrão interno utilizado para construir a curva analítica. Pode-se observar que no tempo onde ocorre a eluição do padrão interno no cromatograma na Figura 5.4 este mesmo tempo na Figura 5.3 esta sem nenhum pico cromatográfico. Dessa forma definiu-se que estas seriam as melhores condições cromatográficas para a separação dos compostos e que o composto poderia ser utilizado como padrão interno.

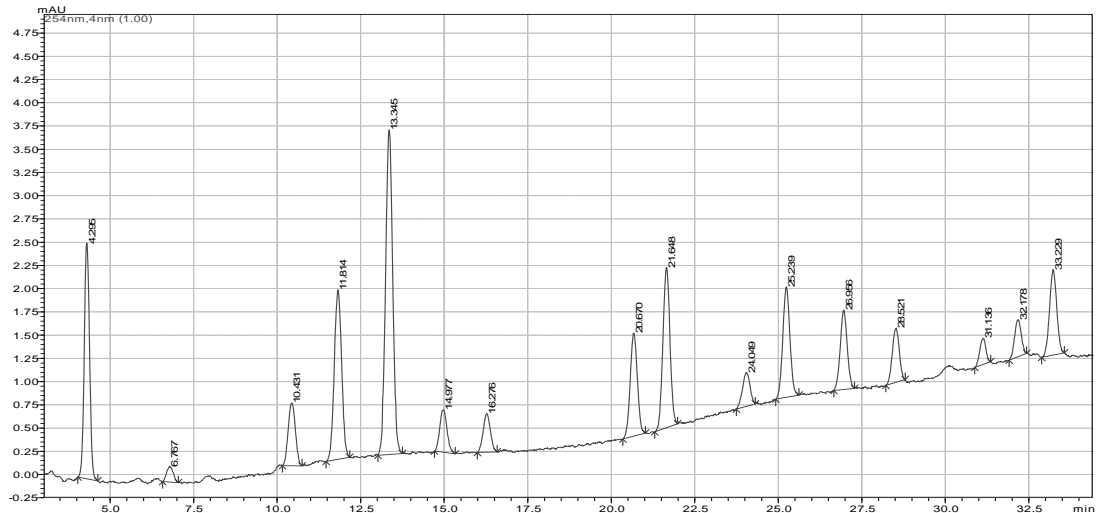


Figura 5.3 – Cromatograma da separação dos 16 compostos de HPAs a uma concentração de 100µg/L numa solução padrão utilizada para a curva analítica sem a adição do padrão interno. A ordem de eluição, conforme tempo de retenção (minutos), é: naftaleno (t=4,2), acenafteno (t=6,7), acenafteno e floureno (t=10,4), fenantreno (t=11,8), antraceno (13,3), flouranteno (t=14,9), pireno (t=16,2), benzo[a]antraceno (t=20,6), criseno (t=21,6), benzo[b]flouranteno (t=25,2), benzo[k]flouranteno (t=26,9), benzo[a]pireno (t=28,5), dibenzo[a,h]antraceno (t=31,1), benzo[g,h,i]perileno t=(32,1), indeno[1,2,3-cd]pireno (t=32,2).

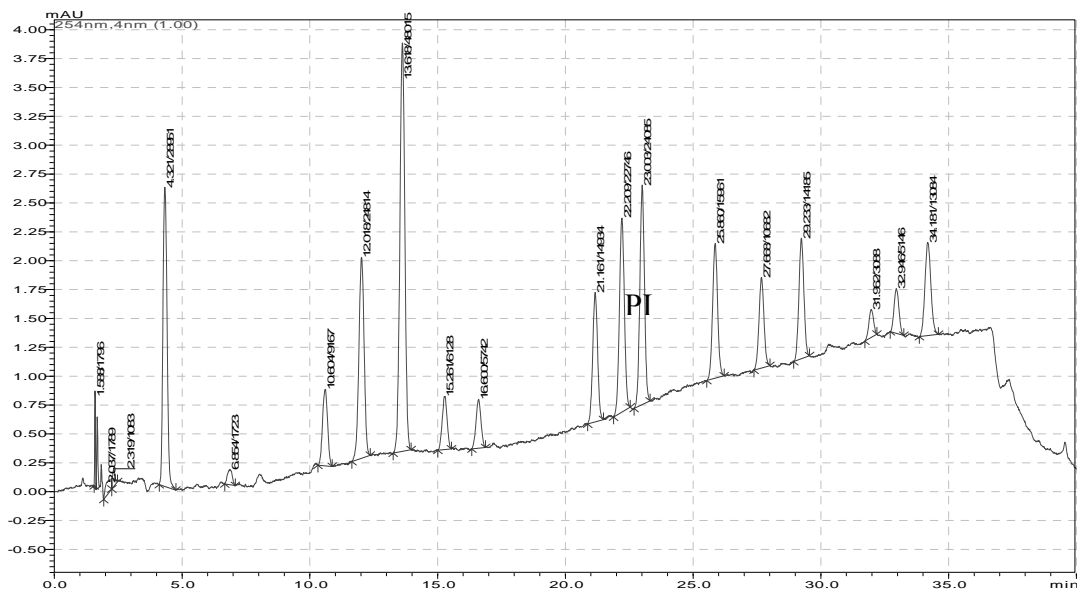


Figura 5.4 – Cromatograma da separação dos 16 compostos de HPAs a uma concentração de 100µg/L numa solução padrão utilizada para a curva analítica com padrão interno (PI). A ordem de eluição é idêntica à Figura 5.3 sendo que no tempo de 22,5 minutos tem-se a eluição da binaftila (PI).

5.1.2 – Avaliação dos Comprimentos de Onda de Máximas Absorção dos HPAs

O comprimento de onda de máxima absorção de cada HPAs em luz ultravioleta foi definido com base no espectro de absorção de cada composto, obtido através do *software LabSolutions*. Na Figura 5.5 está apresentado o espectro de absorção para o fenantreno. Como pode ser observado na Figura 5.5 o comprimento de onda máximo de absorção para o fenantreno ocorre em 250nm. Da mesma forma foram analisados os demais HPAs e os resultados estão apresentados na Tabela 5.1. Na Tabela 5.1 também estão, além dos comprimentos de absorção máximos, os tempos de retenção na análise cromatográfica de padrão do HPAs em acetonitrila. Como pode ser observado na Tabela 5.1 os comprimentos de onda de máxima absorção dos compostos avaliados ocorrem na faixa de 220 a 295nm. Desta forma, a identificação e quantificação desses HPAs realizadas em comprimento de onda fixo são menos sensíveis.

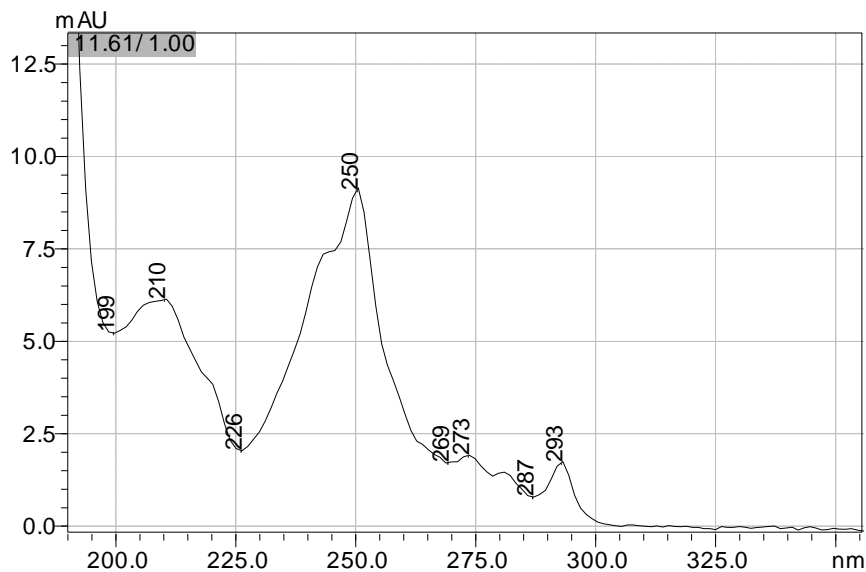


Figura 5.5 – Espectro de absorção em ultravioleta obtido para o fenantreno nas condições otimizadas para a identificação dos HPAs.

Tabela 5.1 – Tempo médio de retenção e comprimento de onda de máxima absorção (λ_{\max}) dos HPAs separados com o sistema CLAE-DAD nas condições cromatográficas otimizadas.

HPA	Tempo de retenção (minutos)	Comprimento de onda de máxima absorção (nm)
N	4,2	254
Ace	6,8	220
Ac + Fl	10,4	226
Fe	11,8	250
A	13,6	250
Fluo	15,4	235
Pi	16,6	240
B[a]A	20,8	285
Cri	21,7	266
PI	22,8	NA
B[b]F	25,8	254
B[k]F	27,7	254
B[a]P	29,2	295
Di[a,h]A	31,9	295
B[g,h,i]Pe	32,9	295
Indeno	34,2	249

NA = não assinalado porque é identificado no λ_{\max} do HPA estudado

5.1.3 – Intervalo da Curva Analítica e Linearidade

Utilizando o método de quantificação por padronização interna, o intervalo da curva analítica escolhido para a quantificação dos HPAs foi de 5 a 400 $\mu\text{g/L}$, distribuídos em 7 pontos (5, 10, 20, 40, 100, 200 e 400 $\mu\text{g/L}$) e ajustada pelo método dos mínimos quadrados à Equação 4.1. Este intervalo de concentração da curva analítica de acordo com o processo desenvolvido de pré-concentração na amostra natural, corresponde a uma faixa de concentração entre 3 a 250 ng/L , que atende a legislação brasileira vigente (50 ng/L). Na Figura 5.6 está apresentada uma curva analítica para determinação de três HPAs e na Tabela 5.2, os parâmetros das curvas analíticas utilizadas para cada um dos HPAs.

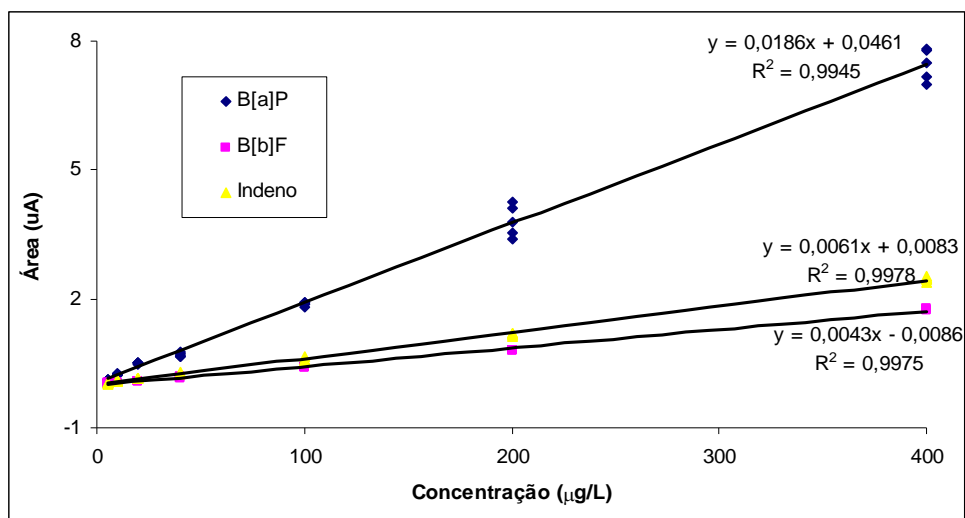


Figura 5.6 – Curvas analíticas desenvolvidas para três HPAs.

Tabela 5.2 – Parâmetros das curvas analíticas construídas no intervalo de concentração de 5 a $400\mu\text{g/L}$ utilizadas na quantificação dos HPAs.

HPA	Coefficiente angular	Coefficiente linear	r^2
N	0,0051	0,0625	0,9934
Ace	0,0522	0,0244	0,9968
Ac + Fl	0,0488	0,1020	0,9971
Fe	0,0090	0,0132	0,9979
A	0,0211	- 0,0522	0,9979
Fluo	0,0150	- 0,0392	0,9969
Pi	0,0147	- 0,0309	0,9978
B[a]A	0,0473	- 0,2702	0,9912
Cri	0,0287	- 0,0748	0,9969
B[b]F	0,0043	- 0,0106	0,9975
B[k]F	0,0030	- 0,0139	0,9967
B[a]P	0,0186	0,0317	0,9947
Di[a,h]A	0,0503	- 0,1665	0,9952
B[g,h,i]Pe	0,0166	- 0,0264	0,9969
Indeno	0,0060	0,0164	0,9976

Na Tabela 5.2 pode-se observar que os coeficientes de regressão linear (r^2) foram sempre maiores que 0,99 e a sensibilidade, expressa pelos valores do coeficiente angular, dos HPAs indica que o acenaftileno é mais sensível que o benzo[k]fluoranteno. Para verificar a linearidade das curvas analíticas com relação ao limite superior foram avaliadas concentrações até 2000 $\mu\text{g/L}$ de cada HPAs, valor este cinco vezes maior que a maior concentração da curva utilizada na quantificação dos HPAs nas amostras. Os coeficientes de regressão linear obtidos para estas curvas estão apresentados na Tabela 5.3. Os resultados obtidos não diferiram significativamente daqueles apresentados na Tabela 5.2, onde pode-se observar que todos os HPAs, com exceção do naftaleno, apresentaram coeficientes de regressão linear iguais a 0,999, o que permite afirmar que o método é aplicável até entre 5 a 2000 $\mu\text{g/L}$.

Tabela 5.3 – Coeficientes de regressão linear para a curva analítica com concentrações entre 5 $\mu\text{g/L}$ e 2000 $\mu\text{g/L}$ de cada HPA.

HPA	Coefficiente de Regressão Linear (r^2)
N	0,9814
Ace	0,9989
Ac + Fl	0,9990
Fe	0,9988
A	0,9987
Fluo	0,9991
PI	0,9989
B[a]A	0,9991
Cri	0,9990
B[b]F	0,9990
B[k]F	0,9990
B[a]P	0,9992
Di[a,h]A	0,9990
B[g,h,i]Pe	0,9991
Indeno	0,9991

5.1.4 – Limites de Detecção (LD) e Quantificação(LQ)

Através das equações 4.2 e 4.3 foram calculados os limites de detecção e quantificação para os 16 HPAs de interesse ambiental. Os valores de LD e LQ foram determinados baseando-se na relação sinal/ruído para cada HPA da solução padrão de menor concentração. A Figura 5.7 apresenta, como exemplo, o cromatograma utilizado para determinar o LD e LQ do HPA fluoranteno. Pode-se observar que foram determinadas as áreas de quatro picos correspondentes aos ruídos deste composto e considerada a média para os cálculos. Os valores de LD e LQ obtidos para todos os HPAs estão apresentados na Tabela 5.4. As concentrações limites obtidas neste trabalho são menores que resultados de outros trabalhos que usaram DAD para detecção de HPAs (Alonso *et al.*, 2007; Kiss *et al.*, 1996) e bem inferior ao limite estabelecido para a presença de HPAs em água de classe 1 pelo CONAMA que é de 50ng/L (CONAMA, 2005).

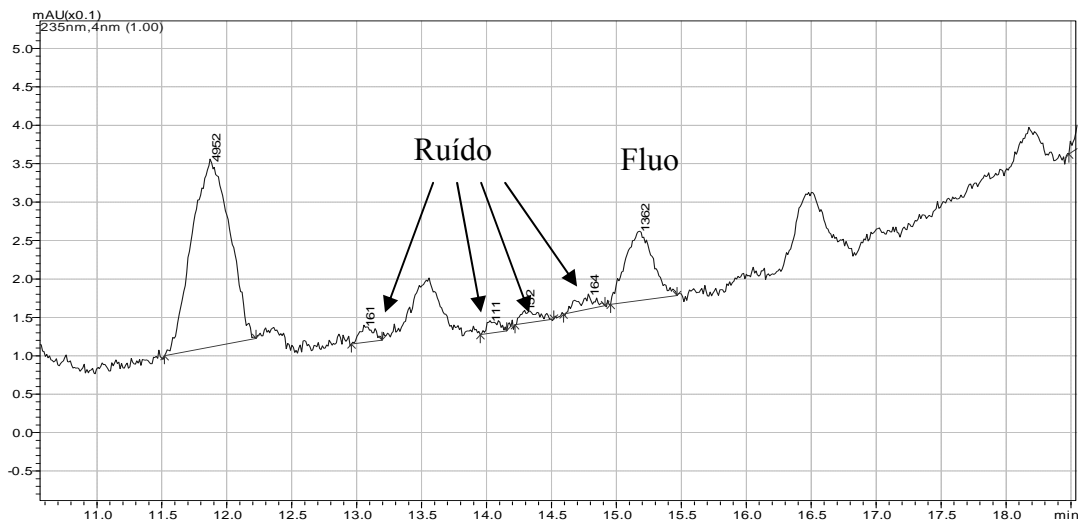


Figura 5.7 – Cromatograma do fluoranteno (Fluo) utilizado para o cálculo de LD e LQ pelo método visual e as áreas do pico (1362uA) e dos ruídos (161, 111, 152, 164uA).

Tabela 5.4 – Valores dos LD e LQ obtidos em amostras naturais.

HPA	LD (ng/L)	LQ (ng/L)
N	0,69	2,07
Ace	0,12	0,36
Ac + Fl	0,30	0,90
Fe	0,26	0,78
A	0,32	0,96
Fluo	0,89	2,67
Pi	0,62	1,86
B[a]A	1,06	3,18
Cri	0,60	1,80
B[b]F	1,04	3,12
B[k]F	1,18	3,54
B[a]P	1,31	3,93
Di[a,h]A	0,80	2,40
B[g,h,i]Pe	1,25	3,75
Indeno	1,30	3,90

5.1.5 – Precisão

Os ensaios para avaliar a precisão do método foram calculados a partir da análise de sete amostras fortificadas com HPAs nas concentrações de 6, 24 e 62ng/L. Os resultados foram calculados pela equação 4.4 e estão apresentados na Figura 5.8.

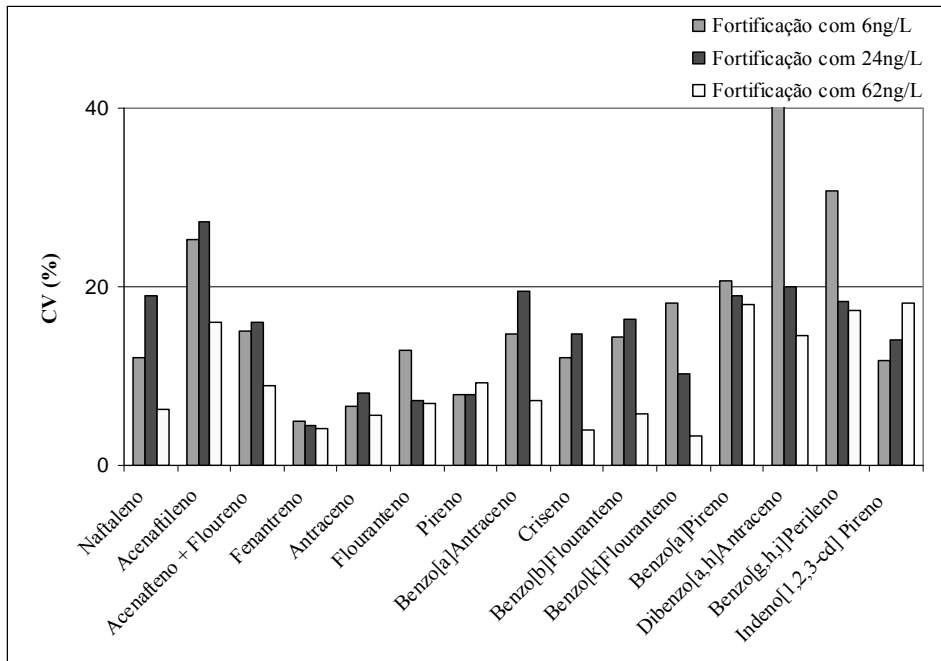


Figura 5.8 – Valores de precisão para sete replicatas obtidos para os HPAs em amostras naturais fortificadas.

Pode-se observar na Figura 5.8 que os valores de CV encontrados estiveram dentro de limite de aceitação de até 20%, segundo Ribani *et al.*, 2004, para todos os HPAs fortificados com 62ng/L. Esta mesma observação pode ser feita para a fortificação com 24ng/L, exceto para o acenaftileno que apresentou CV igual a 27,23%. Para a fortificação de 6ng/L, somente os HPAs acenaftileno, benzo[a]pireno, dibenzo[a,h]antraceno e benzo[g,h,i]perileno apresentaram valores acima de 20%.

5.1.6 – Recuperação do Método

A recuperação do método foi calculada pela equação 4.5 tanto para a água milli-Q quanto para a água do ribeirão Tripui. Os resultados dos testes de recuperação em água milli-Q estão apresentados na Tabela 5.5. Estes ensaios foram realizados do mesmo modo que os ensaios para a verificação da precisão do método, ou seja, preparo e análise das amostras em três níveis de concentração da curva analítica.

Tabela 5.5 – Valores de Recuperação encontrados para os HPAs em água milli-Q.

HPA	Recuperação					
	Fortificação 6ng/L		Fortificação 24ng/L		Fortificação 62ng/L	
	Média (%)	σ (%)	Média (%)	σ (%)	Média (%)	σ (%)
Fe	911,84	12,52	154,96	12,41	125,39	1,88
A	94,64	1,28	91,69	3,49	94,09	2,19
Fluo	392,17	40,66	195,97	5,60	127,66	5,24
Pi	188,87	13,29	133,71	8,01	122,45	3,84
B[a]A	84,11	7,28	105,09	6,91	104,31	8,17
Cri	109,39	10,40	110,86	4,91	118,16	5,34
B[b]F	135,80	25,43	95,67	0,33	102,05	2,42
B[k]F	ND	ND	106,73	9,15	92,45	4,15
B[a]P	116,66	10,95	91,02	6,50	81,20	0,41
Di[a,h]A	101,52	6,22	75,74	7,22	77,59	3,60
B[g,h,i]Pe	ND	ND	86,55	10,05	79,81	8,44
Indeno	199,43	35,31	80,01	11,18	81,59	3,18

Os melhores resultados foram encontrados para a fortificação de 62ng/L, onde a recuperação variou entre 77% e 127%. Valores de recuperação admissíveis devem estar entre 80% e 120% (Brum *et al.*, 2007; Yamada, 2006; Ribani *et al.*, 2004). Para a adição de 24ng/L os valores de recuperação foram melhores para os HPAs de médios a altas massas molares. E nas adições de 6ng/L, os valores de recuperação foram melhores para os compostos de massas molares intermediárias. Neste estudo não foi avaliada a recuperação do naftaleno, acenaftileno, acenafteno e fluoreno. Em uma segunda etapa do estudo foi realizado o teste de recuperação para avaliar a presença do efeito matriz sobre o método. Para isto foram contaminadas amostras reais de águas do rio e determinada sua recuperação. Na tabela 5.6 estão os resultados deste ensaio.

Tabela 5.6 – Resultados para os testes de recuperação em águas do ribeirão Tripui.

HPA	Branco	Recuperação					
		Fortificação 6ng/L		Fortificação 24ng/L		Fortificação 62ng/L	
		C (ng/L)	Média (%)	σ (%)	Média (%)	σ (%)	Média (%)
N	58,16	ND		ND		61,01	3,79
Ace	13,41	41,42	12,77	46,13	33,85	157,43	27,80
Ac + Fl	24,04	98,03	31,16	104,38	18,27	104,40	14,58
Fe	124,09	67,43	14,88	45,03	3,84	165,42	19,93
A	9,37	61,07	4,51	74,55	10,91	90,41	6,38
Fluo	213,13	443,51	125,11	187,52	55,73	239,99	54,65
Pi	99,44	132,80	45,32	51,59	12,93	109,69	23,97
B[a]A	5,25	106,31	25,96	72,69	21,57	87,97	7,44
Cri	17,86	125,67	36,81	80,84	18,02	108,10	6,09
B[b]F	24,68	125,37	34,33	84,24	8,76	79,56	7,96
B[k]F	5,79	81,25	4,69	32,71	7,10	41,55	1,89
B[a]P	1,93	104,95	11,29	72,23	8,68	86,37	4,45
Di[a,h]A	0,00	55,82	4,55	26,53	5,46	24,81	3,63
B[g,h,i]Pe	0,00	69,19	22,48	50,60	3,38	69,07	11,32
Indeno	2,34	29,82	10,50	25,66	5,71	23,08	5,31

ND – Não determinada

Na Tabela 5.6 são apresentados os resultados para as recuperações dos HPAs em amostras ambientais. Os melhores resultados foram obtidos para a fortificação de 62ng/L, de maneira semelhante aos que foram obtidos quando se utilizou água milli-Q (Tabela 5.5). Pode-se observar que os HPAs de massas molares intermediárias foram os que apresentaram os melhores resultados de recuperação. O fenantreno e o fluoranteno foram os HPAs que apresentaram os maiores percentuais de recuperação. Uma explicação para estes resultados pode ser dada com base no fato de que as concentrações destes HPAs na amostra branco eram elevadas, mais de vinte vezes maior que a menor fortificação. Sendo assim, a variância relativa à concentração destes HPAs no branco está na mesma ordem de grandeza da concentração adicionada. Resultado semelhante foi obtido para esse HPA na recuperação em água milli-Q.

Para as fortificações de 24ng/L os resultados diferem bastante dos encontrados na Tabela 5.5 e mostram que mesmo os de massas molares maiores estão com recuperações baixas. Também aqui, os melhores resultados foram encontrados para os HPAs de massas molares intermediárias.

Os resultados da recuperação para a fortificação de 6ng/L são bastante variáveis, mas oito dos HPAs avaliados apresentaram valores de recuperação entre 67 e 122%. Portanto, se conclui que a concentração de 6ng/L foi pequena como fortificação para ser utilizada no estudo de recuperação neste trabalho devido ao fato das concentrações elevadas de alguns HPAs nas amostras.

Uma das explicações possíveis para os baixos valores de recuperação do método pode ser a adsorção dos HPAs adicionados ao material particulado presente na fase aquosa e/ou à parede do frasco de vidro da amostra (Jeanneau *et al.*, 2007; Brum *et al.*, 2007; Olivella, 2006). Logo pode-se concluir que o material particulado certamente foi o fator que mais contribuiu para os baixos percentuais de recuperação obtidos no estudo da exatidão do método.

5.2 – Avaliação das Amostras Ambientais

A aplicação do método em amostras naturais foi realizada em águas superficiais coletadas nos rios Piracicaba e Doce nos meses de janeiro e maio de 2008, períodos de chuva e seca, cujos resultados das concentrações de HPAs estão apresentados nas Tabelas 5.7 e 5.8, respectivamente.

Nestas tabelas alguns HPAs apresentam desvio padrão relativamente altos da ordem de até 90% para o caso do composto pireno, fluoranteno, por exemplo. Normalmente para a mesma amostra o desvio padrão deve ser menor, mostrando a homogeneidade da amostra. Para o caso deste trabalho, isso não se verificou pelo fato de as amostras terem sido coletadas utilizando um barco e contra a correnteza do rio em um frasco de um litro. Então, quando se coletou as demais amostras, embora fossem no mesmo ponto, houve alteração na homogeneidade das águas do rio provocado pela correnteza. Para contornar este problema poderiam ter sido usados frascos de com capacidade maior, o que não dispúnhamos no laboratório de pesquisa.

Observando os dados das Tabelas 5.7 e 5.8 em relação aos HPAs de maiores massas molares (4 a 6 anéis) pode-se inferir que os compostos de preocupação ambiental

segundo a legislação brasileira vigente (Tabela 2.4), o benzo[a]pireno apresentou resultados acima do limite máximo permitido nos pontos 3, 4, 5 e 6 na primeira campanha de amostragem. Esses pontos correspondem ao anterior (ponto 3) e posterior (pontos 4, 5 e 6) lançamento de efluentes de uma empresa siderúrgica em Ipatinga e segundo Yamada (2006) e Yunker e Macdonald (2002), HPAs de altas massas molares estão ligados a processo de combustão a altas temperaturas. O criseno, também alvo da legislação brasileira, apresentou concentração além da permitida apenas no ponto 8 da primeira campanha. Os demais HPAs estiveram em menor concentração que a permitida ou abaixo do LD do método. Na segunda campanha de amostragem, nenhum dos HPAs recomendados para monitoramento em curso d'água foram encontrados com concentrações acima do máximo permitido e, no caso do B[a]A, B[b]F, Di[a,h]A e Indeno, os resultados estão abaixo do LD, entretanto criseno e benzo[a]pireno foram novamente encontrados em todos os pontos de amostragem. As maiores concentrações de HPAs foram encontradas na primeira campanha que foi realizada em época de chuva. As chuvas podem favorecer a contaminação dos rios pelo arraste de material particulado na atmosfera e do solo que podem serem lançados nos rios pela drenagem das chuvas (Kose *et al.*, 2008; Gu *et al.*, 2003; Van Metre *et al.*, 2000). Como no período de seca (segunda campanha), os fatores acima mencionados não foram observados, houve a diminuição desses HPAs em todos os pontos de amostragem.

Tabela 5.7 – Resultados das amostras para a primeira campanha de amostragem nos rios Piracicaba e Doce.

HPA	Ponto 1		Ponto 2		Ponto 3		Ponto 4		Ponto 5		Ponto 6		Ponto 7		Ponto 8	
	C _{Média} (ng/L)	σ (ng/L)	C _{Média} (ng/L)	σ (ng/L)	C _{Média} (ng/L)	σ (ng/L)	C _{Média} (ng/L)	σ (ng/L)	C _{Média} (ng/L)	σ (ng/L)	C _{Média} (ng/L)	σ (ng/L)	C _{Média} (ng/L)	σ (ng/L)	C _{Média} (ng/L)	σ (ng/L)
N	<LD		4,57	1,63	<LD		7,20	2,86	<LQ		<LQ		11,41	5,96	38,73	33,88
Ace	355,78	31,79	270,23	77,97	646,86	10,44	1226,35	131,43	719,11	316,79	391,26	1081,50	67,23	566,85	29,43	
Ac + Fl	23,48	6,01	28,91	10,40	41,33	13,53	52,18	4,46	34,54	1,73	36,98	47,58	4,53	53,74	10,83	
Fe	535,02	305,68	170,00	34,62	959,42	56,51	670,09	38,72	517,73	340,18	388,21	441,63	24,99	534,11	20,07	
A	15,08	6,40	8,37	1,97	23,01	8,77	19,55	3,45	16,09	8,64	12,43	12,00	3,61	22,49	1,20	
Fluo	175,18	137,99	89,38	1,67	219,48	35,49	133,67	42,56	114,13	49,70	172,97	115,51	58,13	166,49	43,64	
Pi	181,28	169,62	146,39	108,68	162,50	12,35	102,74	17,16	131,07	23,30	217,57	178,59	93,33	153,12	71,17	
B[a]A*	6,28	1,61	3,73	0,58	5,19	0,64	4,75	0,10	4,34	0,62	4,38	5,70	1,80	8,68	3,18	
Cri*	30,55	17,05	11,82	4,80	31,75	17,78	22,89	9,95	23,64	9,21	<LQ	23,39	0,57	71,80	11,18	
B[b]F*	<LD		7,71	3,95	5,31	0,66	7,16	0,00	<LD	<LD	<LD	<LD		<LD		
B[k]F*	30,02	28,31	20,09	15,29	19,35	10,75	16,18	15,28	17,63	1,29	19,86	38,35	14,82	23,10	10,70	
B[a]P*	15,23	5,73	13,13	0,54	59,92	2,97	52,54	13,16	82,83	22,89	99,98	21,63	8,52	41,58	17,39	
Di[a,h]A*	<LD		<LD		<LD		<LD		7,85	1,81	11,69	9,30	3,00	9,18	2,46	
B[g,h,i]Pe	<LD		<LD		<LD		<LD		27,29	9,27	86,42	91,59	13,39	25,78	0,00	
Indeno*	<LD		<LD		<LD		<LD		21,46	4,67	32,33	31,23	3,11	18,83	8,27	

* HPAs a serem monitorados (valor máximo permitido para águas de classe 1 de 50ng/L)

Tabela 5.8 – Resultados das amostras para a segunda campanha de amostragem nos rios Piracicaba e Doce.

HPA	Ponto 1		Ponto 2		Ponto 3		Ponto 4		Ponto 5	
	C _{Média} (ng/L)	σ (ng/L)	C _{Média} (ng/L)	σ (ng/L)	C _{Média} (ng/L)	σ (ng/L)	C _{Média} (ng/L)	σ (ng/L)	C _{Média} (ng/L)	σ (ng/L)
N	17,41	5,78	80,77	35,66	55,30	34,40	25,66	5,61	31,58	3,57
Ace	50,52	14,32	69,10	34,19	47,94	32,85	59,47	12,86	59,04	19,75
Ac + Fl	10,56	1,38	15,40	5,33	9,17	0,63	5,99	3,58	12,30	4,32
Fe	75,07	7,28	41,94	10,58	63,24	11,45	47,88	12,58	38,74	14,05
A	<LD		<LD		<LD		<LD		<LD	
Fluo	20,31	6,34	20,39	4,00	12,48	2,26	11,04	1,46	14,14	4,13
Pi	13,43	3,98	19,28	4,49	10,68	0,05	9,37	2,02	14,72	4,70
B[a]A*	<LD		<LD		<LD		<LD		<LD	
Cri*	5,66	0,69	5,62	1,21	4,99	0,57	5,45	1,05	5,12	0,29
B[b]F*	4,20	2,15	4,46	0,08	3,79	0,54	5,49	0,20	3,84	0,60
B[k]F*	<LD		<LD		3,89	0,95	<LD		<LD	
B[a]P*	4,57	1,10	6,22	1,25	4,43	0,98	4,02	0,83	5,10	0,58
Di[a,h]A*	<LD		<LD		<LD		<LD		<LD	
B[g,h,i]Pe	<LD		<LD		<LD		<LD		<LD	
Indeno*	<LD		<LD		<LD		<LD		<LD	

*HPAs a serem monitorados (valor máximo permitido para águas de classe 1 de 50ng/L)

Outra observação que pode ser feita com relação aos resultados obtidos é que os HPAs com as menores massas molares foram os que apresentaram maiores concentrações. Dentre estes compostos destacam-se o acenafileno, fluoranteno e fenantreno, em ambas as coletas, cujos compostos não são alvos da legislação ambiental (CONAMA, 2005). Uma provável fonte destes HPAs pode ser o esgoto, pois estudos realizados por pesquisadores do Reino Unido e França encontraram estes compostos no esgoto das cidades estudadas (Blanchard *et al.*, 2004; Stevens *et al.*, 2003). Esses mesmos compostos também foram encontrados em quantidades significativas no esgoto de cidades espanholas e na cidade do Porto, Portugal (Pérez *et al.*, 2001), em Sevilha, Espanha (Alonso *et al.*, 2007) e em Veneza, Itália (Buseti *et al.*, 2006). Também em estudo realizado na cidade de Ouro Preto, Brasil, Brum *et al.* (2007) encontrou para os HPAs fenantreno e fluoranteno concentrações de mesma ordem de grandeza obtidas neste trabalho. Esses resultados obtidos permitem inferir que há uma contaminação por esgotos dos rios Piracicaba e Doce, pois os locais onde foram realizadas as campanhas de amostragens recebem efluentes de pelo menos três cidades de porte médio: Timóteo, Coronel Fabriciano e Ipatinga. Os mesmos dados mostram que há contaminação também dos HPAs de altas massas molares alvos da legislação ambiental.

Outra possível fonte desses HPAs de baixa massa molar pode ser a emissão veicular. Diversos estudos envolvendo avaliação de HPAs ambientais encontraram esses compostos oriundos de emissão veicular (Locatelli, 2006; Shah *et al.*, 2005; Khalili *et al.* 1995; Rogge *et al.* 1993).

5.2.1 – Identificação de Possíveis Fontes de HPAs

Uma das maneiras de interpretar a(s) fonte(s) de emissão de HPAs, consiste em utilizar as razões isoméricas entre HPAs. É necessário considerar que elas são determinadas pelas diferenças de estabilidades termodinâmicas entre os diferentes isômeros.

Os processos de combustão são geralmente associados a um aumento na proporção entre o isômero mais estável e o menos estável em virtude da energia envolvida. Emissões de origem petrogênicas não estão sujeitas às mesmas condições energéticas dos processos de combustão, resultando em baixos valores relativos nesta proporção (Yunker e Macdonald, 2002).

O número de anéis também é indicativo. A predominância de HPAs de 2 e 3 anéis aromáticos é principalmente devida a fontes petrogênicas (Wang, 1999). Entretanto, também podem estar associados a processos de combustão incompleta de hidrocarbonetos fósseis (Yunker e Macdonald, 2004). HPAs de 4 a 6 anéis aromáticos, são associados principalmente a queima de combustíveis fósseis e a processos de combustão a altas temperaturas (Yamada, 2006; Yunker e Macdonald, 2002).

Dessa forma a primeira avaliação das possíveis fontes de emissão de HPAs nos rios foi realizada através do somatório das concentrações dos HPAs de baixa massa molar (BMM) dividido pelo somatório das concentrações dos HPAs de alta massa molar (AMM) nos pontos de coleta ($\Sigma\text{BMM}/\Sigma\text{AMM}$), onde o quociente maior que 1 significa predominância de HPAs de baixa massa molar (Locatelli, 2006; Yunker e Macdonald., 2002). Nas Figuras 5.9 e 5.10, estão apresentadas as distribuições destas razões entre os HPAs de BMM e AMM ao longo dos pontos amostrais na primeira e segunda campanha de amostragem, respectivamente.

Como se pode observar nas Figuras 5.9 e 5.10, em ambas as campanhas realizadas, a razão dos HPAs estão acima de uma unidade, o que sugere que naqueles pontos de amostragem ocorre a emissão de HPAs por de fontes petrogênicas .

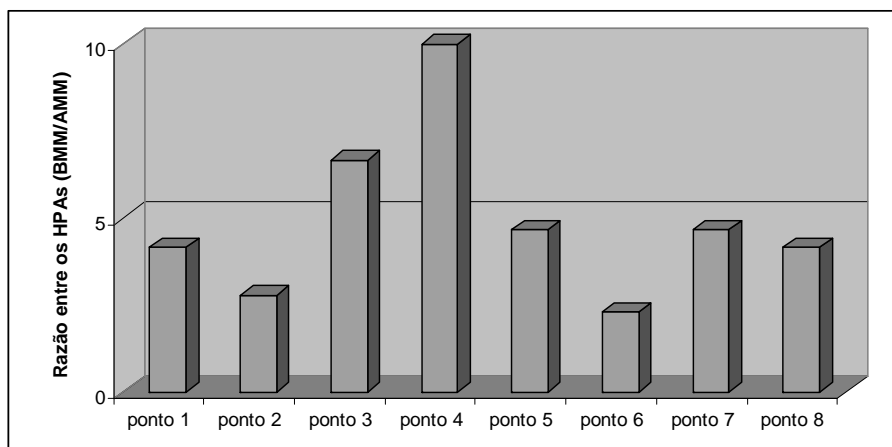


Figura 5.9 – Razões das concentrações dos HPAs de baixas e altas massas molares da primeira campanha de amostragem.

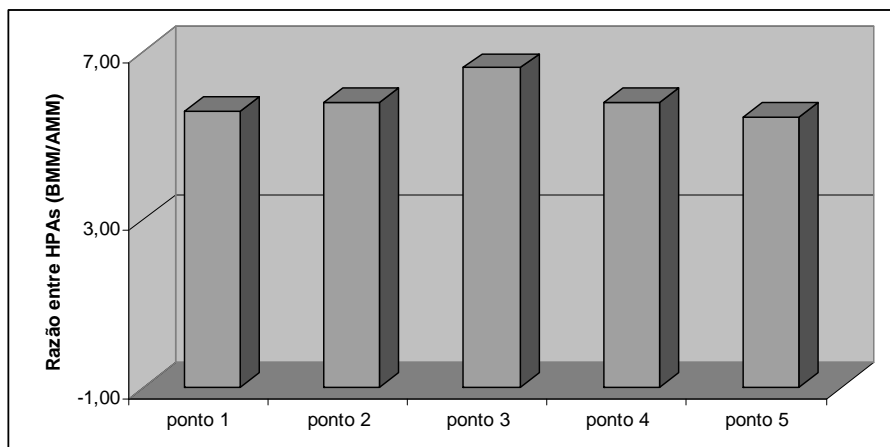


Figura 5.10 – Razões das concentrações dos HPAs de baixas e altas massas molares da segunda campanha de amostragem.

Outro índice que também tem sido usado para explicar a origem dos HPAs é a razão de suas concentrações individuais. Geralmente utilizam-se os seguintes HPAs: antraceno e fenantreno, fluoranteno e pireno, benzo[a]antraceno e criseno e benzo[g,h,i]perileno e indeno[1,2,3-cd]pireno (Brum, 2007; Yunker e Macdonald, 2002). A razão entre a concentração de antraceno dividida pela soma das concentrações dos isômeros (antraceno e fenantreno $[A/(A + Fe)]$) foi o primeiro índice avaliado. Como o fenantreno é mais estável termodinamicamente que o antraceno, baixos valores desta razão indicam fontes petrogênicas, enquanto os maiores valores reportam processos de combustão. Em geral, pode-se concluir que quando esta razão é menor que 0,10 a origem dos HPAs é petrogênica (óleo cru, diesel, combustíveis e querosene) e quando superior a 0,10 indica a predominância de processos de combustão (queima de diferentes tipos de carvão, biomassa e óleo crus) (Zheng *et al.*, 2002). Na Figura 5.11, temos a relação desta razão para a primeira campanha de amostragem. De acordo com esta distribuição e com os critérios acima, as origens destes HPAs acontecem por fontes petrogênicas, por estes apresentarem a razão de seus isômeros menor que 0,1. Para a segunda campanha de amostragem não foi possível esta averiguação pois a concentração do antraceno ficou abaixo do LQ do método.

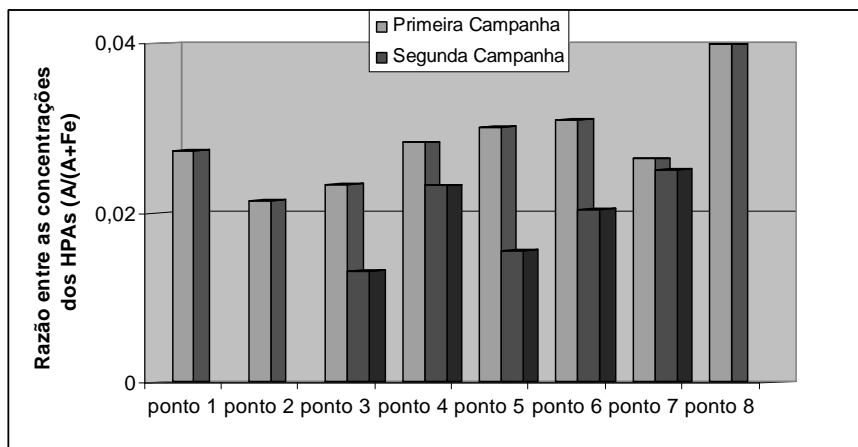


Figura 5.11 – Perfil da relação entre as concentrações de antraceno e fenantreno obtidos para a primeira campanha.

A razão entre a concentração de fluoranteno dividida pela soma das concentrações dos isômeros (fluoranteno e pireno [Fluo/(Fluo + Pi)]) também foi avaliada. A relação entre suas razões com valores menores de 0,50 sugerem fontes petrogênicas, enquanto os maiores valores indicam processos de combustão. Valores menores que 0,50 foram encontrados em amostras de petróleo e derivados, assim como na combustão de gasolina, diesel, petróleo bruto e emissões veiculares. Enquanto valores superiores a 0,50 são associados a processos de combustão de querosene, de biomassa vegetal e da maioria dos tipos de carvão (vegetal, coque e betuminoso) (Yunker e Macdonald, 2002). Na Figura 5.12 estão representados os resultados para estes compostos em relação à primeira e segunda coletas.

Os resultados na Figura 5.12 mostram que nos pontos 3 e 4 a emissão de HPAs ocorre por fontes pirogênicas. Nestes pontos, vale lembrar, é o local onde ocorre a emissão de efluente da empresa siderúrgica. Nos demais pontos analisados as emissões, de acordo com os dados analisados da Figura 5.12 sugerem fontes petrogênicas.

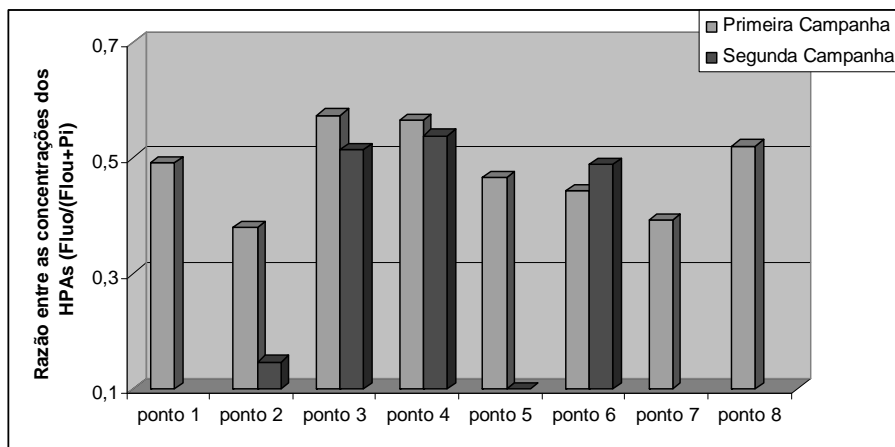


Figura 5.12 – Distribuição entre fluoranteno (Fluo) e pireno (Pi) para os HPAs nas campanhas de amostragem.

A razão associada entre a concentração de benzo[a]antraceno dividida pela soma das concentrações dos isômeros (benzo[a]antraceno e criseno $[B[a]A/(B[a]A + Cri)]$) também foi avaliada para identificação de uma possível fonte de contaminação. O B[a]A é termodinamicamente mais estável que o criseno, sendo que os menores valores desta razão sugerem fontes de origem petrogênicas, e para origens pirolíticas estes valores são mais altos. Valores encontrados para essa razão menores que 0,20 são associados a fontes petrogênicas. Enquanto valores superiores a 0,35 são associados a processos de combustão de petróleo e derivados e de biomassa vegetal. Para valores entre 0,20 e 0,35 não é possível determinar a origem das fontes de HPAs (Yunker e Macdonald, 2002). Na Figura 5.13 estão apresentados os resultados para a avaliação das razões destes isômeros.

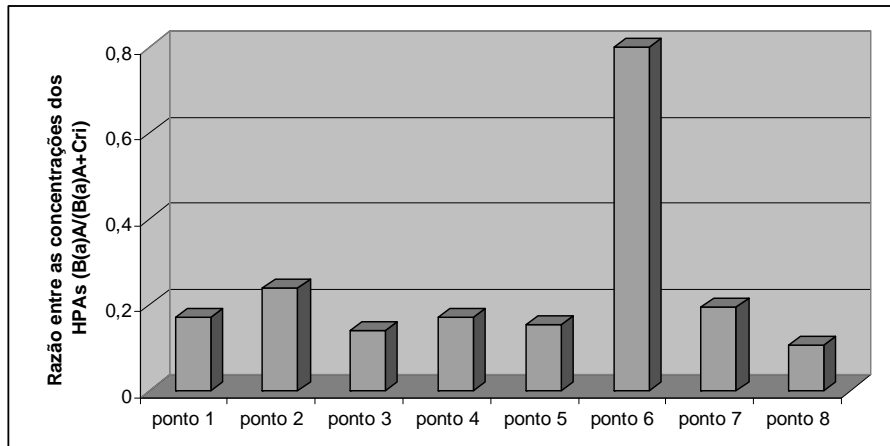


Figura 5.13 – Distribuição isomérica entre os isômeros do benzo[a]antraceno e criseno na primeira campanha de amostragem.

Pode-se observar na Figura 5.13, a emissão de HPAs se dá quase em todos os pontos de origem petrogênica pois os valores das razões dos isômeros estão abaixo de 0,2 unidades. No ponto 2 não se pode inferir sobre origem destes compostos e no ponto 6, a origem pode ser pirogênica. Na segunda campanha não foi possível fazer tal correlação devido ao benzo[a]antraceno apresentar concentrações abaixo do LD.

Outra ferramenta bastante utilizada para a identificação de fonte de HPAs consiste em plotar as razões como a relação entre o $A/(A+Fe)$ e $Fluo/(Fluo+Pi)$. Quando fazemos isso com os dados da primeira campanha, fica mais fácil de determinar a origem da fonte. A Figura 5.14 mostra o essa correlação.

Pode-se observar pela Figura 5.14 que a origem da fonte de HPAs nos rios Piracicaba e Doce dá-se predominantemente por origem petrogênica. Esses dados apenas sugerem que a fonte seja petrogênica e, portanto, pode ser de origem tanto de tráfego de veículos, como do processo de produção de aço que utiliza o coque na redução do minério de ferro nos altofornos, podendo assim ser fonte de emissão de HPAs tanto de origem pirolítica como petrogênica.

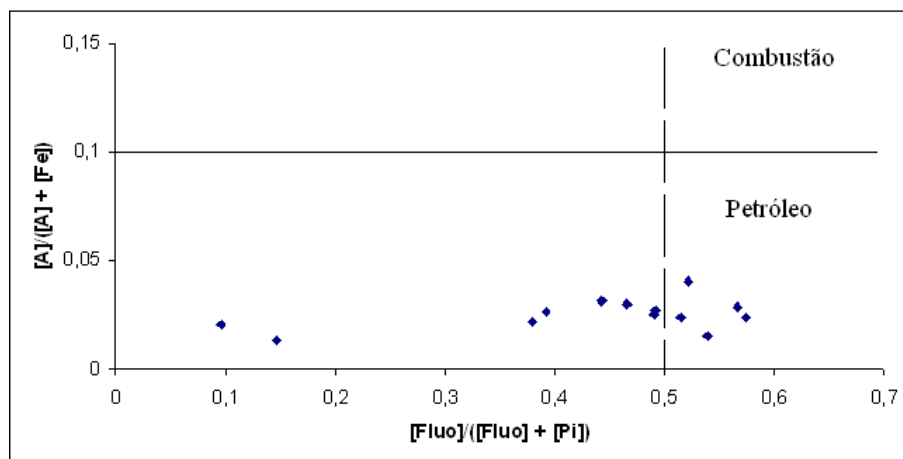


Figura 5.14 – Distribuição entre as razões de $A/(A + Fe)$ e $Fluo/(Fluo + Pi)$.

Deve-se entretanto considerar que a interpretação destas razões deve ser considerada como indicativa e não definitiva, pois há variação de distribuição de isômeros na emissão de materiais de diferentes origens. Além disto, muitas das amostras representam matrizes complexas que podem receber emissão de diversas fontes, onde os HPAs estão sujeitas a todos os tipos de intemperismos capazes de modificar o perfil de distribuição existente (Zhang *et al.*, 2005).

CAPÍTULO 6 – CONCLUSÕES

A metodologia aqui desenvolvida e validada mostrou-se eficiente na quantificação dos HPAs em águas superficiais. O método mostrou-se preciso em todos os níveis de concentração analisadas, os limites de detecção e quantificação usando UV-Vis-DAD e a recuperação para determinados grupos de HPAs foram os melhores que os de trabalhos da literatura.

As análises das águas mostraram que alguns compostos que são recomendados pela legislação vigente apresentaram concentrações abaixo dos limites máximos permitidos, mas dois compostos, benzo[a]pireno e criseno, apresentaram concentrações acima dos limites em alguns pontos de amostragem da primeira campanha de amostragem.

Pode-se ainda concluir em relação os dezesseis HPAs estudados nas amostras que temos dois grupos bem distintos e que a solubilidade dos compostos interfere significativamente nas análises, ou seja, os de maiores massas molares (menos solúveis) apresentaram as menores concentrações.

As razões isoméricas de diversos HPAs e ainda a relação entre os compostos de baixa massa molar e alta massa molar, sugerem que os HPAs têm a mesma origem, ou seja, são de fontes petrogênicas.

No período chuvoso em que foi realizada a campanha de amostragem obtiveram-se as maiores concentrações de HPAs. Esses resultados implicam na necessidade de um estudo mais amplo para verificar e há uma tendência de variação nas concentrações destes poluentes com as variações sazonais.

CAPÍTULO 7 – SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Como sugestões para trabalhos futuros:

- Realização de estudo envolvendo a avaliação de extração de HPAs em cartuchos C18 com maiores concentrações de fase estacionária objetivando melhorar os percentuais de recuperação dos HPAs aqui estudados.
- Avaliação de outras técnicas analíticas para a extração dos HPAs, tais como, microextração em fase sólida (MEFS) e fase supercrítica.
- Realização de estudo de avaliação ambiental envolvendo um ou mais períodos de chuva e seca para verificar em longo prazo o impacto da poluição por HPAs na cidade de Ipatinga, MG. Este estudo pode envolver tanto as águas superficiais quanto as águas subterâneas.

CAPÍTULO 8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALONSO, E., APARICIO, I., SANTOS, J.L., A new method for the routine analysis of LAS and PAH in sewage sludge by simultaneous sonication-assisted extraction prior to liquid chromatographic determination. *Analytica Chimica Acta*, V.605, N.1, p.102-109, 2007.
- ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm, acessada em 16/07/2008.
- ATSDR, 2008. Toxicological Profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Atlanta: Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Disponível em: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp69.html>, acessado em 16/06/2008.
- AZEREDO, A., Determinação de benzo(A)pireno em pescados comercializados em Campinas-SP. 2001. 76 folhas. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Unicamp, Campinas.
- AZEVEDO, D. A., GERCHON, E., REIS, E. O., Monitoring of Pesticides and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in water from Paraíba do Sul River, Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, V.15, N.2, p.292-299, 2004.
- BAEK, S. O., FIELD, R. A., GOLDSTONE, M. E., KIRK, P. W., LESTER, J. N., PERRY, R., Review of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: source, fate and behavior. *Water, Air and Soil Pollution*, V. 60, N.2, p.279-300, 1991.
- BAIRD, C., Química Ambiental, 2ª edição, Porto Alegre, Ed. Bookman, 2002, 622 páginas .
- BLANCHARD, M., TEIL, M. J., OLLIVON, D., LEGENTI, L., CHEVREUIL, M., Polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorobifenyls in wastewaters and sewage sludges from the Paris area (France). *Environmental Researcher*, V.95, N.2, p.184-197, 2004.

- BLUMER, M., BLUMER, W., REICH, T., Polycyclic aromatic hydrocarbons in soils of a mountain valley: correlation with a highway traffic and cancer incidence. *Environmental Science Technology* , V.11, N.12, p.1082-1084, 1977.
- CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente, Ministério do Meio Ambiente, Resolução N° 357 de 17 de março de 2005. Ed. do Ministério do Meio Ambiente, Brasília, DF, 2005.
- BRUM, D. M., CASSELLA, R. J., NETTO, A. D. P., Multivariate optimization of a liquid–liquid extraction of the EPA-PAHs from natural contaminated waters prior to determination by liquid chromatography with fluorescence detection. *Talanta*, v.74, N.5, p.1392-1399, 2007.
- BUSETTI, F., HEITZ, A., CUOMO, M., BADOER, S., TRAVESSO, P., Determination of sixteen polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous and solid samples from an Italian wastewater treatment plant. *Journal of Chromatography A*, V.1102, N.1-2, p.104-115, 2006.
- CAO, Z., WANG, Y., MA, Y., XU, Z., SHI, G., ZHUANG, Y., ZHU, T., Occurrence and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in reclaimed water and surface water of Tianjin, China. *Journal of Hazardous Materials*, V.122, N.1-2, p.51-5, 2005.
- CHEN, Y., ZHU, L., ZHOU, R., Characterization and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbon in surface water and sediment from Qiantang River, China. *Journal of Hazardous Materials*, V.141, N.1, p.148-155, 2007.
- COSTA, A. F., Avaliação da contaminação humana a hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs): determinação 1-hidroxipireno urinário com os trabalhadores do CESTE/ FIOCRUZ. 2001. 81 páginas. Dissertação de mestrado. Escola Nacional de Saúde Pública.
- DÓREA, H. S., BISPO, J. R. S., ARAGÃO, K. A. S., CUNHA, B. B., NAVICKIENE, S., ALVES, J. P. H., ROMÃO, L. P. C., GARCIA, C. A. B.. Analysis of BTEX,

- PAHs and metals in the oilfield produced water in the State of Sergipe, Brazil. *Microchemical Journal*, V.85, N.2, p.234-238, 2007.
- GARCIA-FALCÓN, M. S. N., LAMELA, M. P. R., NDARA, J. S. G., Comparison of Strategies for Extraction of High Molecular Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Drinking Waters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V.52, N.23, p.6897-6903, 2004.
- FAN, S., ZHAO, L., LIN, J., Flocculation-ultrasonic assisted extraction and solid phase clean-up for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water rich in colloidal particulate with high performance liquid chromatography and ultraviolet-fluorescence detection. *Talanta*, V.72, N.5, p.1618-1624, 2007.
- FASNACHTAND, M. P., BLOUGH, N. V., Aqueous Photodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Environmental Science Technology*, V.36, N.20, p.4364-4369, 2002.
- FILIPKOWSKA, A., LUBECKI, L., KOWALEWSKA, G., Polycyclic aromatic hydrocarbon analysis in different matrices of the marine environment. *Analytica Chimica Acta*, V.547, N. 2, p. 243–254, 2005.
- FINLAYSON-PITTS, B. J.; PITTS JR, J. N., Tropospheric Air Pollution: Ozone, Airborne Toxics, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, and Particles. *Science*, v. 276, N.5315, p.1045-1052, 1997.
- GALINARO, C. A. Distinção entre cachaça produzida com cana-de-açúcar queimada e não queimada . 2006. 172 páginas. Dissertação de mestrado. Mestrado em Química Analítica. Instituto de Química de São Carlos, USP, São Carlos, 2006.
- GIMENO, R. A., COMAS, E., MARCÉ, R., FERRÉ, M. J., RIUS, F. X., BORRULL, F., Second-order bilinear calibration for determining polycyclic aromatic compounds in marine sediments by solvent extraction and liquid chromatography with diode-array detection. *Analytica Chimica Acta*, V.498, N.1-2, p.47-53, 2003.

- GOUJON, F. W., NEBERT, D. W., GIELEN, J. E., Genetic Expression of Aryl Hydrocarbon Hydroxylase Induction. Iv. Interaction of Various Compounds with Different Forms of Cytochrome P-450 and the Effect on Benzo[a]pyrene Metabolism *in Vitro*. *Molecular Pharmacology*, V.8, N.6, p.667-680. 1972.
- GUNIER, R. B., REYNOLDS, P., HURLEY, S. E., YERABATI, S., HERTZ, A., STRICKLAND, P., e HORN-ROSS, P. L., Estimating exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: a comparison of survey, biological monitoring, and geographic information system-based methods. *Cancer Epidemiology Biomarkers Prevention*, V.15, N.7, p.1376-1381, 2006.
- GU, S. H., KRALOVEC, A. C., CHRISTENSEN, E. R., VAN CAMP, R. P, Source apportionment of PAHs in dated sediments from the Black River, Ohio. *Water Researcher*, V.37, N.9, p. 2149-2161, 2003.
- GUO, W., HE, M., YANG, Z., LIN, C., QUAN, X., WANG, H., Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in water, suspended particulate matter and sediment from Daliao River watershed, China. *Chemosphere*, V.68, N.1, p.93-104, 2007.
- IARC, International Agency for Research on Cancer. Polynuclear aromatic compounds, part 4: Bitumens, coal-tars and derived products, shale-oils and soots. Lyon, 1985, 271 páginas.
- IBGE, 2008, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, dados sobre as cidades brasileiras, disponível em: <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>, acessada em 24/11/2008 às 15:28.
- IGAM, 2008, Instituto Mineiro de Gestão das Águas, Relatório Qualidade das Águas Superficiais em 2006, disponível em: <http://aguas.igam.mg.gov.br/aguas/htmls/downloads.htm>, acessada em 20/08/2008 às 12:30.
- INMETRO, Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos, DOQ-CGCRE-008, 2007.

- JEANNEAU, L. FAURE, P., JARDÉ, E., Influence of natural organic matter on the solid-phase extraction of organic micropollutants Application to the water-extract from highly contaminated river sediment. *Journal of Chromatography A*, V.1173, N.1-2, p.1-9, 2007.
- JIRIES, A., HUSSAIN, H., LINTELMANN, J., Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in wastewater, sediments, sludge and plants in karak province, Jordan. *Water, Air, and Soil Pollution*, V.121, N.1-4, p.217-228, 2000.
- JUHASZ, A. L., NAIDU, R., Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo[a]pyrene. *International Biodeterioration & Biodegradation*, V.45, N.2, p.57-88, 2000.
- KAKIMOTO, K., TORIBA, A., OHNO, T., UENO, M., KAMEDA, T., TANG, N., HAYAKAWA, K., Direct measurement of the glucuronide conjugate of 1-hydroxypyrene in human urine by using liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, V.867, N.2, p. 259-263, 2008.
- KATO, M., LOOMIS, D., BROOKS, L. M., GATTAS, G. F. J., GOMES, L., CARVALHO, A. B., REGO, M. A. V., DE MARINI, D. M., Urinary Biomarkers in Charcoal Workers Exposed to Wood Smoke in Bahia State, Brazil. *Câncer Epidemiological Biomarkers Prevention*, V.13, N.6, p.1005-1012, 2004.
- KHALILI, N. R., SCHEFF, P. A., HOLSEN, T. H., PAH source fingerprints for coke ovens, diesel and gasoline engines, highway tunnels, and wood combustion emissions. *Atmosphere Environment*, V.29, N.6, p. 533-542, 1995.
- KISS, G., PUCHONY, Z. V., HLAVAY, J., Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in precipitation using solid-phase extraction and column liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, V. 725, N.2, p. 261-272, 1996.
- KOSE, T., YAMAMOTO, T., ANEGAWA, A., MOHRI, S., ONO, Y., Source analysis for polycyclic aromatic hydrocarbon in road dust and urban runoff using marker compounds. *Desalination*, V.226, N.1-3, p.151-159, 2008.

- LANÇAS, F. M.. Extração em Fase Sólida (SPE), 1ª edição, São Carlos, Ed. Rima, 2004. 96 páginas.
- LEGRET, M., ODIE, L., JULIEN, A., Leaching of heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons from reclaimed asphalt pavement. *Water Research*, V.39, N.15, p.3675-3685, 2005.
- LI, Z., SANDAU, C. D., ROMANOFF, L. C., CAUDILL, S. P., SJODIN, A., NEEDHAM, L. L., PATTERSON, D. G., Concentration and profile of 22 urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites in the US population. *Environmental Research*, V.107, N.3, p.320-331, 2008.
- LOCATELLI, M. A. F., Investigação sobre a emissão e caracterização dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) na bacia do Rio Atibaia. 2006. 86 páginas. Dissertação de mestrado. Mestrado em Química Analítica. Instituto de Química. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- LOPES, W. A., ANDRADE, J. B., Fonte, formação, reatividade e quantificação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) na atmosfera. *Química Nova*, V.19, N.5, p.497-516, 1996.
- LUO, X., MAI, B., YANG, Q., FU, J., SHENG, G., WANG, Z., Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and organochlorine pesticides in water columns from the Pearl River and the Macao harbor in the Pearl River Delta in South China. *Marine Pollution Bulletin*, V.48, N.11-12, p.1102-1115, 2004.
- MARCÉ, R. M., BORRULL, F., Solid-phase extraction of polycyclic aromatic compounds. *Journal of Chromatography A*, V.885, N. 1-2, p.273–290, 2000.
- MENICONI, M. F. G., Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos no meio ambiente: diferenciação de fontes em sedimentos e metabólitos em bile de peixe. 2007. 213 páginas. Tese de doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.
- MIÈGE, C., DUGAY, J., HENNIN, M. C., Optimization, validation and comparison of various extraction techniques for the trace determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludges by liquid chromatography coupled to diode-array

- and fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, V.995, N.1-2, p.87-97, 2003.
- MILLER, J. S., OLEJNIK, D., Photolysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water. *Water Resoucers*, V. 35, N. 1, p.233-243, 2001
- MILLER, J. C., MILLER, J. N., *Statistics for Analytical Chemistry*. 2ª edição, New York, ed. Ellis Horwood, 1989, 227 páginas.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Vigilância em Saúde Ambiental. Portaria MS Nº 518 de 25 de março de 2004. Ed. do Ministério da Saúde, Brasília, DF, 2005
- MOORE, S.W., RAMAMOORTHY, S., In: R.S. Desanto (Series Editor), *Organic Chemicals in Natural Waters. Applied Monitoring and Impact Assessment*. Springer-Verlag, New York, 1984.
- NASCIMENTO, J. F., Avaliação de membranas de osmose inversa no tratamento de águas de purga de torres de refrigeração de indústrias petrolífera com finalidade de reuso. 2004. 115 páginas. Dissertação de Mestrado. Mestrado em Química. Universidade Federal Fluminense, Niterói.
- NETTO, A. D. P., Determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em amostras ambientais. Tese de doutorado. Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1999.
- NETTO, A. D. P., BARRETO, R. P., ARBILLA, G., MOREIRA, J. C., Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Total Suspended Particulate of Niterói, RJ, Brazil: A Comparison of Summer and Winter Samples. *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology*, V. 69, N.2, p.173-180, 2002.
- OLIVELLA, M. A., Polycyclic aromatic hydrocarbons in rainwater and surface waters of Lake Maggiore, a subalpine lake in Northern Italy. *Chemosphere*, V.63, N.1, p.116-131, 2006.

- POINTET, K. MILLIET, A., PAHs analysis of fish whole gall bladders and livers from the Natural Reserve of Camargue by GC/MS. V.40, N.3, p.293-299, 2000
- PÉREZ, S., GUILLAMÓN, M., BARCELÓ, D., Quantitative analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludge from wastewater treatment plants. Journal of Chromatography A, V.938, N.1-2, p.57-65, 2001.
- PHILLIPS, D. H., Polycyclic aromatic hydrocarbons in the diet. Mutation Research, V.443, N.1-2, p.139-147, 1999.
- PICHON, V., Solid-phase extraction for multiresidue analysis of organic contaminants in water. Journal of Chromatography A, V.885, N.1-2, p.195–215, 2000.
- RAMESH, A., WALKER, S. A., HOOD, D. B., GUILLEN, M. D., SCHNEIDER, K., WEYAND, E. H., Bioavailability and risk assessment of orally ingested polycyclic aromatic hydrocarbons. International Journal of Toxicology, V.23, N.5, p.301-333, 2004.
- RENTZ , J. A., ALVAREZ, P. J.J., SCHNOOR, J. L., Benzo[a]pyrene degradation by *Sphingomonas yanoikuyae* JAR02. Environmental Pollution, V.151, N.2, p.669-677, 2008.
- RESTREPO, B. J., VERBEL, J. O., LU, S., FENÁNDEZ, J. G., AVILA, R. B., HOYOS, I. O., ALDOUS, K. M., ADDINK, R., KANNAN, K., Polycyclic aromatic hydrocarbons and their hydroxylated metabolites in fish bile and sediments from coastal waters of Colombia. Environmental Pollution, V.151, N.3, p.452-459, 2008.
- REYNAUD, S., DESCHAUX, P., The effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on the immune system of fish: A review. Aquatic Toxicology, V.77, N.2, p.229-238, 2006.

- RIBANI, M., COLLINS, C. H., BOTTOLI, C. B. G., JARDIM, I. C. S. F., MELO, L. F. C., Validação Em Métodos Cromatográficos E Eletroforéticos. *Química Nova*, V.27, N.5, p.771-780, 2004.
- ROGGE, W. F., HILDEMANN, L. M., MAZUREK, M. A., CASS, G. R., SIMONEIT, B. R. T., Sources of fine organic aerosol. 2. Noncatalyst and catalyst-equipped automobiles and heavy-duty diesel trucks. *Environmental Science Technology*, V.27, N.4, p.636-651, 1993.
- SANDERSON, E. G., RAQBIB, A., VYSKOCILB A., FARANT, J. P., Comparison of particulate polycyclic aromatic hydrocarbon profiles in different regions of Canada. *Atmospheric Environment*, V. 38, N.21, p.3417-3429, 2004.
- SHAH, S. D., OGUNYOKU, T. A., MILLER, J. W., COCKER, III D.R., On-road emission rates of PAH and n-alkane compounds from heavy-duty diesel vehicles. *Environmental Science Technology*, V.39, N.14, p.5276-5284, 2005.
- SPEER, K., STEEG, E., HORSTMANN, P., KUHN, T., MONTAG, A., Determination and distribution of PAH in native vegetable oils, smoked fish products, mussels and oysters, and bream from the river Elbe. *Journal of High Resolution Chromatography*, V.13, N.3, p.104-111, 1990.
- STEVENS, L. J., NORTHCOTT, G. L., STERN, G. A., TOMY, G. T., JONES, K. C., PAHs, PCBs, PCNs, organochlorine pesticides, synthetic musks and polychlorinated nalkanes in U.K. sewage sludge: survey results and implications. *Environmental Science Technology*, V.37, N.3, p.462-467, 2003.
- TAKATSUKI, K., SUZUKI, S., SATO, N., USHIZAWA, I., Liquid chromatographic determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in fish and shellfish. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, V.68, N.6, p.945-949, 1985.
- TIRBURIUS, E. R. L., ZAMORA, P. P., LEAL E. S., Contaminação de Águas por BTXS e Processos Utilizados na Remediação de Sítios Contaminados. *Química Nova*, V.27, N.3, p.441-446, 2004.

- URBE, I, RUANA, J., Application of solid-phase extraction discs with a glass fiber matrix to fast determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water. *Journal of Chromatography A*, V. 778, N.1-2, p.337-345, 1997.
- USEPA, United States Environmental Protection Agency. Method 550.1 – Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in drinking water by liquid-solid extraction and HPLC with coupled ultraviolet and fluorescence detection, Cincinnati, Ohio, 1990.
- USEPA, United States Environmental Protection Agency. Method 525.1 – Determination of Organic Compounds in Drinking Water by Liquid-Solid Extraction and Capillary Column Gas Chromatography/Mass Spectrometry, Cincinnati, Ohio, 1991.
- VAN METRE, P. C., MAHLER, B. J., FURLONG, E. T., Urban sprawl leaves its PAH signature; *Environmental Science Technology*, V.34, N.19, p.4064-4070, 2000.
- VAZ, F. L., MILFONT, M. L. B., SOUTO-MAIOR, A. M., GOUVEIA, E. R., Determinação da concentração de paclobutrazol por cromatografia líquida de alta eficiência e espectroscopia, *Química Nova*, V.30, N.2, p.281-283, 2007.
- WANG, Z., FINGAS, Y. Y. M., SHU, L., SIGOUIN, M., LANDRIAUT, P., LAMBERT, R., TURPIN, P., COMPAGNA, J. M., Quantitative characterization of PHAs in burn residue and soot samples and differentiation of pyrogenic PAHs from petrogenic PAHs - the 1994 Mobile burn study. *Environmental Science Technology*, V.33, N.18, p.3100-3109, 1999.
- XU, L., LEE, H. K., Novel approach to microwave-assisted extraction and micro-solid-phase extraction from soil using graphite fibers as sorbent. *Journal of Chromatography A*, V.1192, N.2, p.203-207, 2008.
- YAMADA, T. M., Determinação de Fontes de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos e Alifáticos nos Sedimentos em Ambientes Aquáticos. São Carlos, SP. 86páginas, 2006. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de São Carlos..
- YUNKER, M. B., MACDONALD, R. W., Alkane and PAH depositional history, sources and fluxes in sediments from Fraser River basin and Strait of Georgia, Canada. *Organic Geochemistry*, V.34, N.10, p.1429-1454, 2004.

- YUNKER, M. B., MACDONALD, R.W., VINGARZAN, R., MITCHEL R. H., GOYETTE D., SYLVESTRE, S., PAHs in Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Organic Geochemistry*, V.33, N.4, p.489-515, 2002.
- YILMAZER, M., ADA, A. O., SUZEN, S., DEMIROGLU, C., DEMIRBAG, A. E., EFE, S., ALEMDAR, Y., ISCAN, M., BURGAZ, S., Biological Monitoring of Environmental Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: 1-Hydroxypyrene in Urine of Turkish Coke Oven Workers. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, V.76, N.4, p.559-565, 2006.
- ZHANG X. L., TAO S., LIU W. X., YANG Y., ZUO Q., LIU S. Z., Source diagnostics of polycyclic aromatic hydrocarbons based on species ratios: a multimedia approach. *Environmental Science Technology*, V.39, N.23, p.9109-9114, 2005.
- ZHENG, G. J., MAN, B. K. W., LAM, J. C. W., LAM, M. H. W., LAM, P. K. S., Distribution and sources of polycyclic hydrocarbons in the sediment of a sub-tropical coastal wetland. *Water Research*, V.36, N.6., p.1457-1468, 2002.
- WHO, World Health Organization, Guidelines for drinking-water quality. Addendum to Volume 2. Health criteria and other supporting information. 2ª edição, Genebra, Ed. WHO, 1998. 36 páginas.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)