



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
INSTITUTO DE QUÍMICA ARARAQUARA

“HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS
AROMÁTICOS (HPAS) EM SOLO:
VALIDAÇÃO DE MÉTODO E AVALIAÇÃO DA
INFLUÊNCIA DA QUEIMA DE CANA-DE-
AÇÚCAR NA REGIÃO DE ARARAQUARA”

Dissertação apresentada ao Instituto
de Química da UNESP como parte
dos requisitos para a obtenção do
título de Mestre em Química.

CLAUDIA KAZUMI FUJITA

ARARAQUARA - SP

2009

CLAUDIA KAZUMI FUJITA

“HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS
AROMÁTICOS (HPAS) EM SOLO:
VALIDAÇÃO DE MÉTODO E AVALIAÇÃO DA
INFLUÊNCIA DA QUEIMA DE CANA-DE-
AÇÚCAR NA REGIÃO DE ARARAQUARA”

Dissertação apresentada ao Instituto
de Química da UNESP como parte
dos requisitos para a obtenção do
título de Mestre em Química.

ORIENTADORA: PROF.^a DR.^a MARY ROSA RODRIGUES DE
MARCHI

ARARAQUARA – SP
2009

FICHA CATALOGRÁFICA

F961h Fujita, Claudia Kazumi
Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em solo : validação de método e avaliação da influência da queima de cana-de-açúcar na região de Araraquara / Claudia Kazumi Fujita. - Araraquara : [s.n.], 2009
180 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química
Orientador: Mary Rosa Rodrigues de Marchi

1. Química analítica. 2. Matéria orgânica. 3. Solo. 4. Cana-de-açúcar.
I. Título.

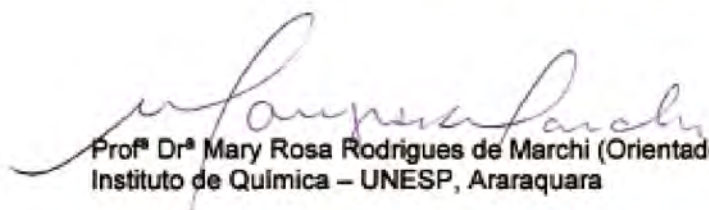
Elaboração: Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação do Instituto de Química de Araraquara
Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação

CLAUDIA KAZUMI FUJITA

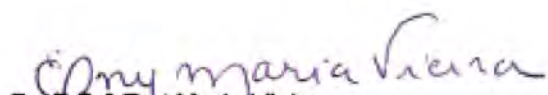
Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Araraquara, 06 de outubro de 2009.

BANCA EXAMINADORA



Profª Drª Mary Rosa Rodrigues de Marchi (Orientadora)
Instituto de Química – UNESP, Araraquara



Profª Drª Eny Maria Vieira
Instituto de Química de São Carlos – USP, São Carlos



Profª Drª Christine Laure Marie Bourotte
Escola de Artes, Ciências e Humanidades – USP, São Paulo

DADOS CURRICULARES

CLAUDIA KAZUMI FUJITA

1- DADOS PESSOAIS

- Nascimento: 19/12/1976
- Nacionalidade: Brasileira
- Naturalidade: Monte Alto - SP
- Estado Civil: separada judicialmente
- Filiação: Takeo Fujita

Eliza Otuka Fujita

- RG: MG - 10.374.002
- CPF: 029.281.996 - 08
- Endereço: Avenida Ibitinga, 406

Bairro: Quitandinha

Cep: 14800-045

Araraquara - SP

2 – FORMAÇÃO ACADÊMICA

2.1- GRADUAÇÃO

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Bacharelado e Licenciatura em Química

Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto

Departamento de Química

Ribeirão Preto - SP

Período: 1997 - 2002

2.2- INICIAÇÃO CIENTÍFICA

- ▶ Projeto: “Estudo da utilização do algoritmo Logit como ferramenta no controle de qualidade de processadoras automáticas.”
- ▶ Projeto: “Estudo da correlação da mistura das soluções existentes em processadoras automáticas com a sensitometria dos filmes analisados pelo algoritmo Logit.”

Período de vigência da bolsa de Iniciação Científica: 01/08/1999 - 31/07/2001

Orientadora: Prof.a Dr.a Adelaide de Almeida

Financiamento: PIBIC/USP - CNPq

Ribeirão Preto - SP

2.3- PÓS-GRADUAÇÃO

MESTRADO EM QUÍMICA

Mestrado em Química, Área de Concentração Química Analítica, obtido após defesa de dissertação realizada no Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP - Campus de Araraquara, em 06 de outubro de 2009.

2.4- COMUNICAÇÕES EM CONGRESSOS & EVENTOS

▶ Oitavo Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP

Área de Biológicas e da Saúde - Radiologia Médica

Trabalho: “Analysis about the Logit implementation in the radiograph film sensitometry quality control.”

C. K. Fujita, A. de Almeida

Local: Campus da USP Ribeirão Preto

Período: 9 de novembro de 2000.

▶ Nono Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP

Área de Biológicas e da Saúde - Radiologia Médica

Trabalho: “Analysis about correlation of mixture of processing solutions with Logit algorithm implementation in the film sensitometry quality control.”

C. K. Fujita, A. de Almeida

Local: Campus da USP de Ribeirão Preto

Período: 7 e 8 de novembro de 2001

▶ Quarto encontro de Iniciação Científica da UNIVAP

Trabalho: “Aplicação do algoritmo Logit no controle de qualidade de processadoras automáticas para imagens mamográficas num serviço de Radiologia.”

C. K. Fujita, A. de Almeida

Local: Universidade do Vale do Paraíba - UNIVAP - São José dos Campos - SP

Período: 18 a 20 de outubro de 2000

▶ Evento: “International Exhibition of Laboratory Technology, Analyses, Biotechnology and Quality Control - 10^a. Edição ANALITICA LATIN AMERICA

Local: TRANSAMERICA EXPO CENTER - São Paulo - SP

Período: 22 - 24 de setembro de 2007

▶ Congresso: IV Encontro Nacional de Química Ambiental - março/2008 - Aracaju - SE

Trabalho apresentado na forma de poster: “Otimização de Método para Análise de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos - HPAs em solo”.

Claudia Kazumi Fujita, Flávio Soares Silva, Joyce Crystale, Allynson Takehiro Fujita, Mary Rosa Rodrigues de Marchi

▶ Seminário Técnico ALLCROM - CROMATOGRAFIA

Palestrante: Philip J. Koerner, Ph.D - Gerente Técnico de produtos da Phenomenex

Duração: 9 horas (08:00 - 18:30 hrs)

Local: São Paulo

Período: 22 de setembro de 2008

DEDICATÓRIA

À Prof.^ª Dr.^ª Mary Rosa, pelo grandioso aprendizado, respeito, apoio e carinho, fundamentais para o meu crescimento profissional e pessoal.

Aos meus pais, Takeo e Eliza, pela luta e dedicação incansáveis, compartilho toda a felicidade deste momento.

Ao meu filhinho, Leonardo, pela compreensão, maturidade e paciência durante o período em que estive privado da minha companhia e dos meus cuidados.

Ao meus queridos irmãos, Allynson e Carlos César, pelo carinho, incentivo, apoio e cumplicidade dispendidos a mim.

Em especial, a Lucy, irmã e amiga, incondicional, para a vida toda.

A você, Rogério, pela compreensão, amor e carinho que tens por mim.

A todos os amigos, aos quais tenho o prazer do convívio.

AGRADECIMENTOS

Grande é a minha lista de agradecimentos, o que me torna uma pessoa de sorte...

A Deus, por iluminar meu caminho e me dar forças para seguir em frente nas minhas escolhas e me confortar nos momentos difíceis.

Aos meus pais, Takeo Fujita e Eliza Otuka Fujita por sempre me incentivarem a superar os desafios impostos pela vida.

Ao meu filhinho Léo, por entender a minha ausência na sua vida, pelo qual tenho amor incondicional.

Aos meus maninhos Allynson T. Fujita & Carlos César Y. O. Fujita, pelo apoio, incentivo e carinho em todos os momentos da nossa vida.

A minha cunhada Larissa F. F. Fujita, pela amizade, incentivo e carinho.

A Prof.^a Dr.^a Mary Rosa Rodrigues de Marchi, pela confiança, respeito e liberdade para conduzir meus trabalhos, pelo conhecimento transmitido, paciência e tempo dedicados na realização deste trabalho. Admirada pelo respeito e cumplicidade que tem pelos seus alunos, sempre orientando na escolha do melhor caminho a ser seguido para a realização do aprimoramento científico. Além disso, como acredito que uma pessoa leva consigo as experiências diárias de outras pessoas, felizes são os “eleitos” que tem o privilégio de fazer parte do seu grupo de pesquisa. Certamente, isso contribui em muito para o meu crescimento científico, profissional, ético e pessoal.

Meus agradecimentos em especial:

Ao Flávio Soares Silva, pela enorme contribuição no meu aprendizado desde que cheguei ao grupo de pesquisa, paciência, humildade e alegria; atributos que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Guilherme Julião Zocolo, pela amizade, disposição e boa vontade em elucidar com paciência as minhas dúvidas nos meus conhecimentos químicos. Agradeço pela ajuda nos momentos de dificuldade e certamente não foram poucos os desafios.

A minha mais do que irmã querida Lucy Elaine Sugauara, pessoa que fez toda diferença nessa etapa final, não só do trabalho em questão, mas principalmente pela alegria, amizade, cumplicidade e consideração incondicionais q tens por mim. Agradeço por você estar e fazer-se presente em minha vida.

Ao Fernandinho e Sara, amigos nos quais tenho liberdade para partilhar as peripécias que ocorrem na minha vida. Adoro vocês!

A você, Rogério L. Felício, por quem tenho admiração, respeito, amor e carinho. Agradeço pelos momentos que temos compartilhado, e apesar do pouco tempo que a nossa vida profissional nos reserva, indiscutivelmente, a minha vida certamente não seria a mesma sem a tua presença.

*Ao Marcos Canto Machado (Pipoca) pela ajuda, amizade e momentos de descontração.
Ao meu amigo e companheiro de trabalho Felipe Thomaz Aquino, pelas confidências
mútuas e conversas que nos proporcionaram boas risadas.*

*Aos meus queridos amigos Thiago Lizier e Michele Brugnola, pelos momentos,
conversas, risadas e tudo mais que vivenciamos juntos.*

*Aos meus amigos da república IQ-Zueira, Luciano Fraga, João Batista, Magno
Trindade, Juliano, Talal Suleiman, agradeço pelo convívio, amizade e liberdade que
temos entre nós. Além das guloseimas as quais tive o privilégio de experimentar.
Obrigada por tornarem a minha vida mais descontraída e saborosa!*

*A todos os meus amigos do grupo de pesquisa e departamento, os quais não irei nomear,
uma vez que posso cometer o erro de não citar algum deles. O meu muito Obrigada!*

*Aos meus amigos da Universidade Estadual de Minas Gerais - Campus de Frutal -
MG, pelo carinho, incentivo, respeito e confiança dispendidos a mim.*

*Ao pessoal da Agrícola da Usina Zanin, pela receptividade, atenção e disposição com
que realizaram as coletas, possibilitando a concertização desse trabalho, em especial a
Demétrius, responsável pelo setor, a Gustavo e Paulo por me acompanharem nas
coletas de solo.*

*Ao pessoal da Agrícola da Usina Santa Cruz, pelo suporte dispendido para a
realização do presente trabalho, em especial a César, responsável pelo setor, e a João
Carlos por me auxiliar em todas as coletas.*

A todos os professores que contribuíram para a minha formação acadêmica e pessoal.

A Facte pelo apoio financeiro.

*Reitero aqui as minhas palavras, sendo este um trabalho individual e muitas vezes
solitário, mas que, entretanto não se pode empreendê-lo sem o auxílio dos que nos
cercam e querem bem, a todos que colaboraram direta ou indiretamente para a
concretização deste sonho.*

Para vocês, ofereço esta página...

Que os versos do dia-a-dia formem os mais belos poemas da poesia da vida...

Muito obrigada a todos!

"O segredo da felicidade no trabalho reside em uma palavra: excelência. Faz bem aquele que gosta do que faz" (autor desconhecido)

"A vida só ensina a quem já tem condições de aprender; e a colheita dos resultados de nossas atitudes é sempre uma lição" (autor desconhecido)

"Só um sentido de invenção e uma necessidade intensa de criar levam o homem a revoltar-se, a descobrir e a descobrir-se com lucidez." (Pablo Picasso)

"Se fiz descobertas valiosas, foi mais por ter paciência do que qualquer outro talento." (Isaac Newton)

FUJITA, C. K. *Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em solo: validação de método e avaliação da influência da queima de cana-de-açúcar na região de Araraquara*, 180f. 2009. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química de Araraquara – UNESP.

RESUMO

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, HPAs, também usualmente denominados “poliaromáticos” são compostos que possuem dois ou mais anéis aromáticos condensados em sua estrutura. Essas substâncias constituem um grupo de micro poluentes e encontram-se amplamente distribuídas no ambiente, podendo ser detectadas no solo, principalmente devido aos processos de deposição atmosférica. A interação dos HPAs com o solo ocorre através da matéria orgânica aderida às partículas do solo, e essa interação será maior quanto maior for à superfície de contato. A importância ambiental da presença de HPAs em solo pode ser avaliada segundo duas perspectivas: a de impacto à biota do solo (micro e macroorganismos) e a potencial contaminação de água superficial pelo carreamento de partículas do solo pela chuva, ou processos de irrigação, até os mananciais.

Atualmente, diversos órgãos ambientais, tanto de âmbito nacional quanto internacional, reconhecem os perigos em potencial da presença dos “poliaromáticos” distribuídos no ambiente, devido às características toxicológicas destes compostos e por serem altamente recalcitrantes. No Brasil uma das fontes mais importantes de HPAs, em algumas regiões de baixa circulação de veículos, é a queima da cana-de-açúcar. Esta cultura está presente em mais de 70% da área agricultável do Estado de São Paulo e, portanto a abrangência do impacto da queimada de cana-de-açúcar é considerável, sendo de grande importância o monitoramento dessas substâncias.

Neste trabalho, foi desenvolvido um método para a análise de HPAs em solo, que inclui a dispersão em fase sólida com alumina seguida da eluição com hexano:acetona (1:1) (v:v) e cleanup adicional com Na₂SO₄:sílica gel:alumina (1:1:2) (m:m). O extrato obtido foi analisado por HPLC/Fluorescência. O desempenho deste método foi avaliado utilizando-se amostras de solo com diferentes teores de matéria orgânica (11 a 36 g dm⁻³) fortificadas em três níveis de concentração para os 16 HPAs considerados prioritários pela EPA.

A exatidão do método, avaliada pela porcentagem de recuperação, foi melhor do que 64% para todos os analitos, com exceção do antraceno, cuja recuperação variou

de 47 a 107%; enquanto que a precisão variou de 0,4 a 5,6%; avaliada pelo RSD das recuperações, efetuadas em triplicata. A seletividade do método foi considerada adequada pela ausência de picos da amostra testemunha nos tempos de retenção dos analitos. Os limites de quantificação do método estiveram entre 0,38 a 4,06 ng g⁻¹ para todos os HPAs estudados. O método validado foi aplicado a duas áreas no município de Araraquara em duas épocas, coincidentes com a safra e entressafra da cana-de-açúcar. O total de HPAs encontrados no período da safra variaram de 21 a 23 µg g⁻¹ tanto para solo rico quanto para solo pobre em matéria orgânica; enquanto que na entressafra as concentrações de HPAs variaram de 1,96 a 29 µg g⁻¹ para o solo rico e de 12 a 13 µg g⁻¹ para o solo pobre em matéria orgânica.

A homogeneidade dos dados para a época de safra em comparação com os dados para a entressafra podem indicar que na época da entressafra permanecem no solo os HPAs que tenham sido retidos por interação com a matéria orgânica ou constituintes inorgânicos do solo, e como estes fatores não são homogêneos entre os locais amostrados, observa-se maior dispersão dos valores. Já na época da safra o solo, em ambos os locais amostrados, encontra-se em um estado de grande contribuição de HPAs, por isso os fatores intrínsecos ao solo são menos relevantes do que o aporte de HPAs, observando-se desta maneira, a homogeneidade dos dados.

Avaliando-se as concentrações individuais de HPAs, os compostos majoritários em ambas as épocas e para os dois locais de amostragem foram fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno e benzo[k]fluoranteno. Estes compostos são considerados característicos da queima de biomassa vegetal, principalmente gramíneas, por diversos trabalhos relatados na literatura.

Os dados obtidos neste trabalho apontam para a necessidade de avaliar o possível impacto ambiental da permanência dos HPAs no solo impactado pela queima de cana-de-açúcar.

Palavras-chave: HPAs, HPLC-Flu, matéria orgânica, solo, cana-de-açúcar, dispersão da matriz em fase sólida.

ABSTRACT

The polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs, also usually called “polyaromatics” are compounds that possess two or more condensed aromatical rings in its structure. These substances constitute a group of micro pollutants and meet widely distributed in the environment, being able to be detected in the soil, mainly due to processes of atmospheric deposition. The interaction of the PAHs with the soil occurs through the organic substance adhered to particles of the soil, and this interaction will be bigger how much bigger it will be to the faying surface. The ambient importance of the presence of PAHs in soil can be evaluated according to two perspectives: of impact to biota of the soil (micro and macroorganisms) and the potential superficial water contamination for the particle carry of the soil through rain, or processes of irrigation, until the sources.

Currently, several environmental agencies, both nationally and internationally, recognize the dangerous potential of the presence of the “polyaromatics” distributed in the environment, due toxicological characteristics of these composites and for being highly recalcitrant. In Brazil one of the sources most important of PAHs, in some regions of low circulation of vehicles, it is the burning of the sugar cane. This culture is present in more than 70% of the arable land of the state of São Paulo and, therefore the extent of the impact of the sugar cane burning, is considerable, being of great importance the monitoring of these substances.

In this work, was developed a method for the analysis of HPAs in soil, including solid-phase dispersion with alumina followed by elution with hexane:acetone (1:1) (v:v) and additional cleanup with Na₂SO₄:silica gel:alumina (1: 1: 2) (m:m). The extract was analyzed by HPLC/Fluorescence detection. The performance of this method was evaluated using ground samples with different texts of organic substance (11 to 36 g dm⁻³) strenghtened in three levels of concentration for the 16 HPAs considered with priority for the EPA.

The accuracy of the method, evaluated by the recovery percentage, was better than 64% for all the analytes, except for anthracene, whose recovery ranged from 47 to 107%; while the precision ranged from 0.4 to 5.6%; evaluated by the RSD of the recoveries, effectuated in triplicate. The selectivity of the method was considered adequate for the absence of peaks of the witness sample in the times the retention of analytes. The limits of quantification (LQ) of the method were between 0.38 and 4.06 ng g⁻¹ for all the PAHs studied.

The validated method was applied the two areas in the Araraquara's city in to two seasons, coinciding with the harvest and harvests of sugar cane. The total of HPAs found in the period of the harvest for ground rich how much for ground in such a way poor one in organic substance had varied of 21 to 23 $\mu\text{g g}^{-1}$; whereas in the period between harvests the concentrations of HPAs had varied of 1,96 to 29 $\mu\text{g g}^{-1}$ for the ground rich 12 to 13 $\mu\text{g g}^{-1}$ for the ground poor in organic substance.

The homogeneity of the data for the time of harvest in comparison with the data for the period between harvests can indicate that at the time of the period between harvests they remain in the ground the HPAs that have been restrained for interaction with the organic substance or constituent inorgânicos of the ground, and as these factors are not homogeneous between the showed places, observe bigger dispersion of the values. Already at the time of the harvest the ground, in both the showed places, meet in a state of great contribution of HPAs, therefore the intrinsic factors to the ground are less excellent of it arrives in port what it of HPAs, observing themselves in this way, the homogeneity of the data. Evaluating the individual concentrations of HPAs, the majority composites in both the times and for the two places of sampling had been fluoreno, fenantreno, anthracene, fluoranteno, pireno and bless fluoranteno [k]. These composites are considered characteristic of the burning of vegetal biomass, mainly grassy, for diverse works told in literature.

The data gotten in this work point with respect to the necessity to evaluate the possible ambient impact of the permanence of the HPAs in the ground impactado by the sugar cane-of-sugar burning.

Keywords: PAHs, HPLC-Flu, organic matter, soil, sugar cane, matrix solid-phase dispersion.

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS e SÍMBOLOS.....	xvi
LISTA DE FIGURAS.....	xvi
LISTA DE TABELAS.....	xx
1 Introdução.....	1
1.1 Cana-de-acúcar.....	1
1.2 HPAs – Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos.....	5
1.3 HPAs e a interação com os compartimentos ambientais.....	12
1.4 Legislação ambiental para os HPAs.....	17
1.5 Análise de HPAs em matrizes ambientais.....	22
1.6 Validação analítica.....	28
1.7 Solo.....	31
1.7.1 Composição do solo.....	31
1.8 Descrição da área de estudo.....	34
2 Objetivos.....	37
3 Experimental.....	38
3.1 Desenvolvimento analítico.....	38
3.1.1 Materiais e Equipamentos.....	36
3.1.2 Limpeza da vidraria.....	40
3.1.3 Preparo das soluções dos padrões.....	41
3.1.3.1 Análises por GC/MS/MS.....	41
3.1.3.2 Análises por HPLC/FLUORESCÊNCIA.....	41
3.1.4 Condições cromatográficas.....	43
3.1.5 Obtenção dos gráficos de linearidade, curvas analíticas e limites instrumentais de detecção e quantificação.....	46
3.1.6 Desenvolvimento e validação do método para análise de HPA em solo.....	50
3.1.6.1 Obtenção das amostras de solo testemunha e sua caracterização.....	50

3.1.7	Otimização do tratamento da amostra.....	53
3.1.7.1	Enriquecimento (ou fortificação) das amostras de solo testemunha com HPAs.....	53
3.1.7.2	Extração com solvente em banho de ultrassom.....	54
3.1.7.3	Dispersão da matriz em fase sólida.....	57
3.1.7.4	Avaliação do desempenho do método.....	61
3.2	Estudo ambiental.....	63
3.2.1	Localização da área de estudo.....	63
3.2.2	Obtenção, armazenamento e tratamento das amostras de solo.....	66
4	Resultados e discussões.....	69
4.1	Desenvolvimento analítico.....	69
4.1.1	Comparação dos sistemas analíticos GC/MS/MS (VARIAN, SATURNO 2000) e HPLC/FLUORESCÊNCIA (VARIAN PRO STAR e VARIAN LC920).....	69
4.1.2	Desenvolvimento e validação do método para análise de HPA em solo.....	76
4.1.2.1	Caracterização das amostras testemunha, em termos de matéria orgânica....	76
4.1.2.2	Extração com solvente em banho de ultrassom.....	77
4.1.2.3	Dispersão de matriz em fase sólida.....	79
4.1.2.4	Avaliação do desempenho do método.....	87
4.2	Aplicação a amostras ambientais.....	92
5	Conclusões	100
6	Destinação dos resíduos químicos.....	103

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Ace: Acetona

ACN: Acetonitrila

CV: Coeficiente de variação

DCM: Diclorometano

EPA: Environmental Protection Agency (*Agência norte americana de Proteção Ambiental*)

FLU: Fluorescência

FM: Fórmula Molecular

g: Grama

GC: Cromatografia gasosa

Hex: Hexano

HPA: Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

HPLC: Cromatografia líquida de alta eficiência

IARC: INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (*Agência Internacional para Pesquisas em Câncer*)

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

L: Litro

LD: Limite de detecção

LQ: Limite de quantificação

MeOH: Metanol

min: Minuto

MM: Massa Molecular

MO: Matéria orgânica

MOD: Matéria orgânica dissolvida

MS: Espectrometria de Massas

NIOSH: National Institute of Occupational Safety and Health (*Orgão norte americano de Saúde e Segurança Ocupacional*)

OMS: Organização Mundial da Saúde

PE: Ponto de ebulição

PF: Ponto de fusão

SPMO: Solo pobre em matéria orgânica

SRMO: Solo rico em matéria orgânica

r^2 : Coeficiente de correlação

Scan: Varredura de íons

RSD: Desvio padrão

t_r : Tempo de retenção

UNICA: União da indústria de fabricação de álcool do Estado de São Paulo.

λ_{exc} : Comprimento de onda de excitação

λ_{em} : Comprimento de onda de emissão

μg : Micrograma

$^{\circ}\text{C}$: Graus Celcius

k' : Fator de separação

α : Seletividade

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mapeamento das usinas no estado de SP.....	2
Figura 2: Queimada de cana-de-açúcar.....	3
Figura 3: Fontes emissoras de HPAs, natural e antropogênica.....	6
Figura 4: Proposta hipotética de síntese do Benzo[a]pireno. A espécie 1 é o acetileno, a 2 é 2,3-butadieno, a espécie 3 é o estireno ou etilbenzeno.....	7
Figura 5: Estruturas químicas referentes aos 17 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) considerados prioritários pelo NIOSH, U.S. National Institute for Occupational and Safety Health.....	8
Figura 6: Principais grupos de substâncias encontrados nas áreas contaminadas do Estado de São Paulo, segundo dados da CETESB.....	21
Figura 7: Principais alterações do solo entre os vários compartimentos ambientais.....	31
Figura 8: Solos com diferentes estágios de maturação.....	32
Figura 9: Mapeamento pedológico do solo brasileiro.....	33
Figura 10: Localização do município de Araraquara.....	35
Figura 11: Evolução da área ocupada pelo cultivo de cana-de-açúcar no município de Araraquara.....	36
Figura 12: Cromatograma referente à avaliação da limpeza da vidraria.....	40
Figura 13: Gráfico do Teste de Huber para o Benzo[b]Fluoranteno.....	47
Figura 14: Curva analítica para o Benzo[b]Fluoranteno.....	48
Figura 15: Solos coletados no município de Araraquara. Solo 15a – SRMO (Solo rico em matéria orgânica), e o solo 15b – SPMO (Solo pobre em matéria orgânica).....	51
Figura 16: Fluxograma de análise de matéria orgânica segundo recomendação da EMBRAPA e IAC.....	52
Figura 17: Fluxograma do procedimento de extração da amostra de solo em banho de ultrassom.....	56
Figura 18: Etapas envolvidas no processo de Dispersão da matriz em fase sólida (DMFS).....	58
Figura 19: Fluxograma do procedimento de extração utilizando a Dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) para as amostras de solo.....	59
Figura 20: Estrutura química da alumina (Al ₂ O ₃) utilizada como adsorvente nas etapas de maceração e eluição dos analitos.....	60
Figura 21: Localização da Usina Zanin e os locais de onde foram realizadas as coletas ambientais.....	64
Figura 22: Localização da Usina Santa Cruz e os locais de onde foram realizadas as coletas ambientais.....	65
Figura 23: Trado Caneco (Usina Zanin) (23a) e Trado Holandês (Usina Santa Cruz) (23b).....	66
Figura 24: Área de solo rico (SRMO - 24a) e pobre (SPMO - 24b) em matéria orgânica, na época da safra para o desenvolvimento do trabalho, usina Santa Zanin.....	67
Figura 25: Área de solo rico (SRMO - 25a) e pobre (SPMO - 25b) em matéria	

orgânica, na época da entressafra para o desenvolvimento do trabalho, usina Santa Cruz.....	67
Figura 26: Coleta de solo pobre em MO, na época da entressafra, usina Santa Cruz.....	68
Figura 27: Cromatograma (HPLC/Flu) obtido da análise de uma solução padrão dos 16 HPA's (concentrações do ponto 6 da Tabela 8 do anexo no sistema ProStar VARIAN.....	69
Figura 28: Cromatograma (HPLC/Flu) obtido da análise de uma solução padrão dos 16 HPA's (concentrações do ponto 6 da Tabela 8 do anexo no sistema LC 920 VARIAN.....	70
Figura 29: Exemplos de gráfico de linearidade e curva analítica: Naftaleno (29a) e Benzo[e]Pireno(29b).....	75
Figura 30: Cromatogramas obtidos para o sistema extrator Hex:Ace (1:1) (v:v) em ultrassom.....	78
Figura 31: Análises (HPLC/Flu) do branco do método com dispersão em fase sólida, empregando diferentes sorventes, tendo como eluente o sistema extrator Hex:Ace (1:1) (v:v).....	80
Figura 32: Cromatogramas obtidos para o sistema extrator Hex:Ace (1:1) (v:v) utilizando dispersão da matriz em fase sólida (DMFS), com o co- sorvente sílica: alumina (1:2) (m:m).....	82
Figura 33: Cromatogramas obtidos para o sistema extrator Hex:Ace (1:1) (v:v) utilizando Dispersão da matriz em fase sólida (DMFS), sem o co- sorvente sílica: alumina (1:2) (m:m).....	84
Figura 34: Cromatogramas obtidos para o sistema extrator Hex:Ace (1:1) (v:v) utilizando dispersão da matriz em fase sólida (DMFS), com o co-sorvente (sílica: alumina desativada (1:2) (m:m) e KOH no processo de extração...	86
Figura 35: Concentração percentual ($[HPA]/\sum HPA*100$) nos pontos de amostragem, na época da entressafra (maio/2009).....	97
Figura 36: Concentração percentual ($[HPA]/\sum HPA*100$) nos pontos de amostragem, na época da safra (outubro/2008).....	97
Figura 37: Concentração percentual ($[HPA]/\sum HPA*100$) nos pontos de amostragem, na época da entressafra (maio/2009).....	98
Figura 38: Esquema cromatográfico utilizado por Tswett para a separação de pigmentos de plantas.....	106
Figura 39: Componentes integrantes de um sistema para Cromatografia Gasosa....	107
Figura 40: Separação cromatográfica dos componentes da amostra entre as fases móvel e estacionária.....	109
Figura 41: Diagrama esquemático de analisador de íons, tipo, íon-trap (HARRIS, 1999).....	110
Figura 42: Componentes integrantes para Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) (AQUINO NETO & NUNES, 2003).....	112
Figura 43: Detector de Fluorescência utilizado para detecção em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) (LOPES <i>et al.</i> ,1996).....	114
Figura 44: Fragmentograma do Acenafteno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (153) foi selecionado para fazer o método MS-MS.....	117
Figura 45: Fragmentograma do Acenaftileno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (152) foi selecionado para fazer o método MS-MS.....	117

Figura 46: Fragmentograma do Antraceno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (178) foi selecionado para fazer o método MS-MS.....	117
Figura 47: Fragmentograma do Benzo[a]Antraceno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (228) foi selecionado para fazer o método MS-MS.....	118
Figura 48: Fragmentograma do Benzo[a]Pireno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (252) foi selecionado para fazer o método MS-MS.....	118
Figura 49: Fragmentograma do Benzo[b]Fluoranteno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (252) foi selecionado para fazer o método MS-MS.....	118
Figura 50: Fragmentograma do Benzo[e]Pireno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (252) foi selecionado para fazer o método MS-MS.....	119
Figura 51: Fragmentograma do Benzo[g,h,i]Perileno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (276) foi selecionado para fazer o método MS-MS.....	119
Figura 52: Fragmentograma do Benzo[k]Fluoranteno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (252) foi selecionado para fazer o método MS-MS.....	119
Figura 53: Fragmentograma do Criseno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (278) foi selecionado para fazer o método MS-MS.....	120
Figura 54: Fragmentograma do Dibenzo[a,h]Antraceno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (278) foi selecionado para fazer o método MS-MS.....	120
Figura 55: Fragmentograma do Fenantreno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (178) foi selecionado para fazer o método MS-MS.....	120
Figura 56: Fragmentograma do Fluoranteno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (202) foi selecionado para fazer o método MS-MS.....	121
Figura 57: Fragmentograma do Fluoreno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (166) foi selecionado para fazer o método MS-MS.....	121
Figura 58: Fragmentograma do Indeno[1,2,3-cd]Pireno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (276) foi selecionado para fazer o método MS-MS.....	121
Figura 59: Fragmentograma do Naftaleno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (128) foi selecionado para fazer o método MS-MS.....	122
Figura 60: Fragmentograma do Pireno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (202) foi selecionado para fazer o método MS-MS.....	122
Figura 61: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Acenafteno.....	123
Figura 62: Gráfico da Curva Analítica para o Acenafteno.....	123
Figura 63: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Antraceno.....	123
Figura 64: Gráfico da Curva Analítica para o Antraceno.....	124
Figura 65: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Benzo[a]Antraceno.....	124
Figura 66: Gráfico da Curva Analítica para o Benzo[a]Antraceno.....	124
Figura 67: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Benzo[a]Pireno.....	125
Figura 68: Gráfico da Curva Analítica para o Benzo[a]Pireno.....	125
Figura 69: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Benzo[b]Fluoranteno.....	125
Figura 70: Gráfico da Curva Analítica para o Benzo[b]Fluoranteno.....	126
Figura 71: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Benzo[e]Pireno.....	126
Figura 72: Gráfico da Curva Analítica para o Benzo[e]Pireno.....	126

Figura 73: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Benzo[ghi]Perileno.....	127
Figura 74: Gráfico da Curva Analítica para o Benzo[ghi]Perileno.....	127
Figura 75: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Benzo[k]Fluoranteno.....	127
Figura 76: Gráfico da Curva Analítica para o Benzo[k]Fluoranteno.....	128
Figura 77: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Criseno.....	128
Figura 78: Gráfico da Curva Analítica para o Criseno.....	128
Figura 79: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Dibenzo[ah]Antraceno.....	129
Figura 80: Gráfico da Curva Analítica para o Dibenzo[ah]Antraceno.....	129
Figura 81: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Fenantreno.....	129
Figura 82: Gráfico da Curva Analítica para o Fenantreno.....	130
Figura 83: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Fluoranteno.....	130
Figura 84: Gráfico da Curva Analítica para o Fluoranteno.....	130
Figura 85: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Fluoreno.....	131
Figura 86: Gráfico da Curva Analítica para o Fluoreno.....	131
Figura 87: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Indeno[123cd]Pireno.....	131
Figura 88: Gráfico da Curva Analítica para o Indeno[123cd]Pireno.....	132
Figura 89: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Naftaleno.....	132
Figura 90: Gráfico da Curva Analítica para o Naftaleno.....	132
Figura 91: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Pireno.....	133
Figura 92: Gráfico da Curva Analítica para o Pireno.....	133

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Programa de eliminação gradativa da queima da cana-de-açúcar no Estado de São Paulo.....	4
Tabela 2: Propriedades físicas e químicas de alguns Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs).....	10
Tabela 3: Caracterização de origens de HPAs através das razões entre compostos não alquilados.....	15
Tabela 4: Valores orientadores da CETESB para solo e água subterrânea para HPAs.....	20
Tabela 5: Trabalhos descritos na literatura envolvendo os analitos de interesse nas amostras de solo.....	24
Tabela 6: Estimativa 2007-2009 da expansão da cultura de cana-de-açúcar no município de Araraquara.....	36
Tabela 7: Concentração dos HPAs na solução padrão estoque mista. ProStar-Varian.....	42
Tabela 8: Concentração dos HPAs na solução padrão estoque mista. LC 920 Varian.....	42
Tabela 9: Condições cromatográficas utilizadas na análise dos HPAs de interesse nos sistemas cromatográficos avaliados.....	44
Tabela 10: Íon pai selecionado para sofrer a refragmentação no modo MS/MS.....	45
Tabela 11: Concentração dos HPAs na amostra fortificada utilizada no estudo de otimização do método.....	53
Tabela 12: Concentrações de HPAs nas amostras de solo fortificadas.....	62
Tabela 13: Coordenadas dos locais de coleta, teor de matéria orgânica e classificação do solo.....	62
Tabela 14: Limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e coeficiente de correlação para os 17 HPAs analisados por GC-MS/MS.....	71
Tabela 15: Limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e coeficiente de correlação para os 17 HPAs analisados por HPLC-FLUORESCÊNCIA PRO STAR VARIAN.....	72
Tabela 16: Limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e coeficiente de correlação para os 16 HPAs analisados por HPLC-FLUORESCÊNCIA LC 920 VARIAN.....	73
Tabela 17: Resultados obtidos para a análise de Matéria orgânica (MO) em solo.....	76
Tabela 18: Concentração dos HPAs nas amostras de solo SPMO (solo pobre em matéria orgânica) fortificadas, em três níveis de concentração, porcentagem de recuperação e coeficiente de variação.....	88
Tabela 19: Concentração dos HPAs nas amostras de solo SRMO (solo rico em matéria orgânica) fortificadas em três níveis de concentração, porcentagem de recuperação e coeficiente de variação.....	93
Tabela 20: Quantificação dos HPAs nas amostras ambientais na época da safra de cana-de-açúcar (maio/2009). Valores expressos em ng/g. (média ± sd). Análises feitas em triplicata.....	89
Tabela 21: Quantificação dos HPAs nas amostras ambientais na época da entressafra	

de cana-de-açúcar (maio/2009). Valores expressos em ng/g. (média ± sd). análises foram feitas em triplicata.....	94
Tabela 22: Caracterização das fontes HPAs para a safra e entressafra da cana-de-açúcar.....	99
Tabela 23: Classificação dos métodos cromatográficos.....	104
Tabela 24: Fases estacionária (FE) e móvel (FM) comumente utilizadas em CLAE em fase normal ou reversa.....	112
Tabela 25: Concentração dos HPAs na solução padrão estoque (CRISTALE, 2008).....	115
Tabela 26: Soluções padrão utilizadas para a construção dos gráficos de linearidade e curvas analíticas LC-920 VARIAN Fluorescência.....	116

1- INTRODUÇÃO

1.1. CANA-DE-AÇÚCAR

A cana-de-açúcar é uma gramínea que tem um crescimento vegetativo considerável, atingindo facilmente os três metros de altura e desenvolve um grande número de folhas eretas, estreitas e longas, que partem dos entrenós de cada colmo de cana e que vão secando à medida que as novas folhas dos colmos superiores vão crescendo em direção ao sol, constituindo assim uma grande “palhada seca” que preenche a maior parte dos espaços vazios entre uma cana e outra, dificultando, por sua vez, o trabalho de corte e colheita nos canaviais (GONÇALVES, 1995).

A utilização do fogo na agricultura é condenada há mais de um século pelos manuais de conservação do solo, devido às conseqüências negativas por ele provocadas na produtividade agrícola. No entanto, é de conhecimento milenar o uso da queimada para a retirada de florestas e campos, visando à implantação de pastagens e lavouras ou até mesmo para a edificação de vilas e cidades, com influência direta na formação de semi-áridos e desertos (TEIXEIRA, 2007; UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR, 2009).

A cana-de-açúcar, além de ser uma importante fonte de renda e na maioria das vezes, um indicativo de desenvolvimento; é considerada também uma das culturas mais difundidas em regiões tropicais, gerando milhares de empregos diretos e indiretos. É uma planta originária do Sudeste Asiático, e devido ao clima propício ao seu desenvolvimento, expandiu-se por todo o Brasil. Atualmente, ocupa mais de 70% da área agricultável do estado de São Paulo, e em menores proporções as demais regiões do país (UNIÃO DA INDÚSTRIA DE CANA-DE-AÇÚCAR, 2009). Na Figura 1 apresenta-se a distribuição das usinas sucroalcooleiras instaladas no estado de SP, bem como as áreas da cultura de cana-de-açúcar.

Nos últimos anos vem ocorrendo uma expansão significativa da cultura de cana-de-açúcar, principalmente na região Sudeste do Brasil (SP, MG e RJ, principalmente), mas atingindo também regiões que tradicionalmente eram ocupadas por outras culturas, como o Centro-Oeste e o Norte.

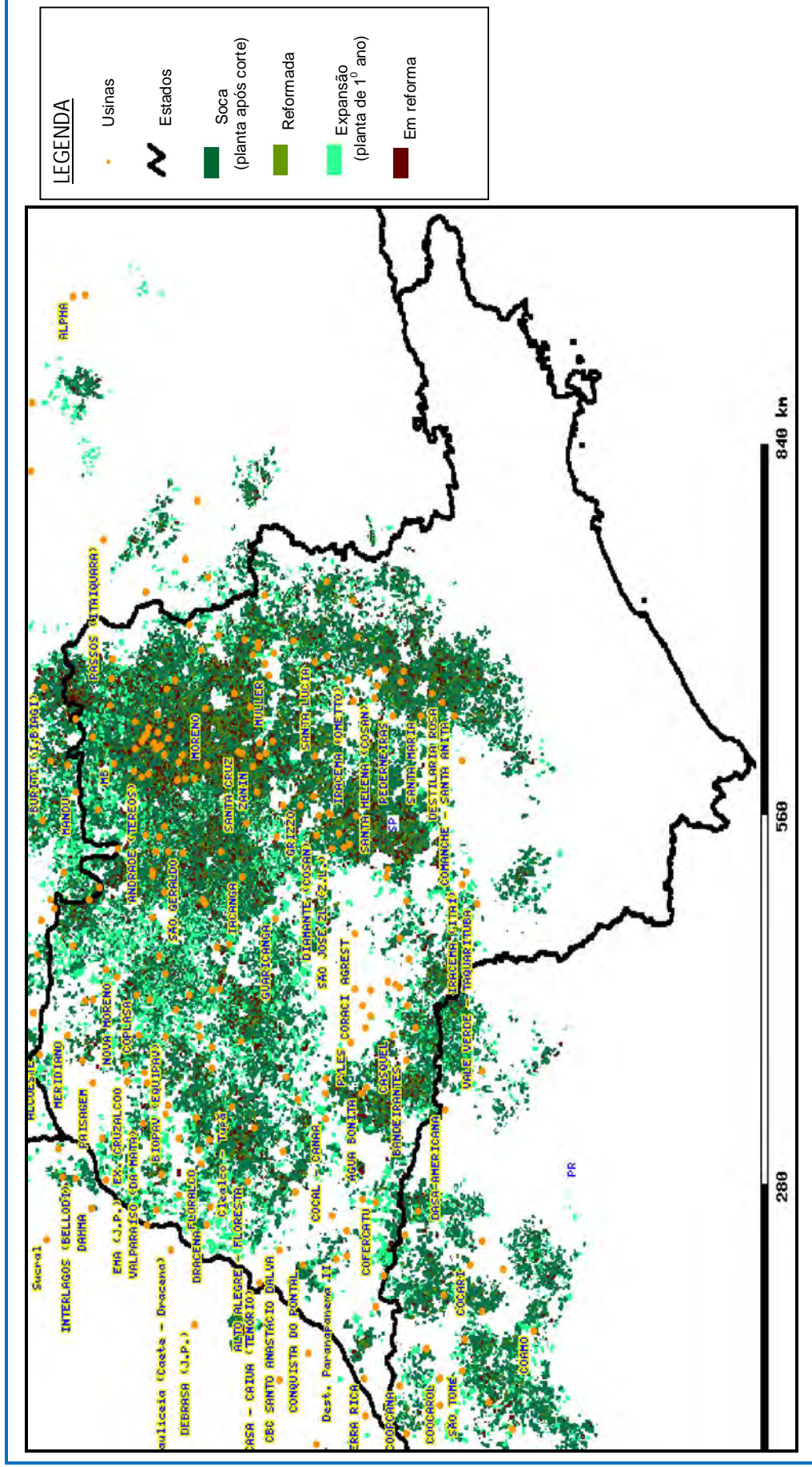


Figura 1: Mapeamento das usinas sucroalcooleiras no estado de SP (INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS, 2009a).

A colheita de cana-de-açúcar no estado de São Paulo, que ocorre anualmente, entre maio e novembro, sendo realizada geralmente após a queima dos canaviais, resultando em contaminação ambiental, pois as partículas de palha queimada (fuligem), que contém inúmeros compostos tóxicos, dentre os quais, destacam-se os HPAs, são introduzidos na atmosfera, e conseqüentemente, por deposição atmosférica, são sorvidos pelas partículas de matéria orgânica aderidas ao solo, e essa interação será proporcional à superfície de contato (ZAMPERLINI *et al.*, 2000; SILVA *et al.*, 2006; JOHNSEN *et al.*, 2005). Uma ilustração da queima da palhada de cana-de-açúcar é apresentada na Figura 2.

A queimada de cana-de-açúcar gera uma enorme preocupação com relação ao aspecto ambiental, já que pelo Programa de eliminação gradativa da queima de cana-de-açúcar no Estado de São Paulo – LEI N. 11.241, 19 de setembro de 2002 e pelo Decreto 47.700, de março de 2003 – essa prática tem o prazo até 2030 para ser totalmente banida, como demonstrado na Tabela 1 (COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2004). Cabe salientar que outros estados produtores de cana-de-açúcar não contam com legislação similar à paulista.



Figura 2: Queimada de cana-de-açúcar (QUEIMADA DE CANA-DE-AÇÚCAR, 2009).

Tabela 1: Programa de eliminação gradativa da queima da cana-de-açúcar no Estado de São Paulo (COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2004).

ANO	ÁREA MECANIZÁVEL ONDE NÃO SE PODE EFETUAR A QUEIMA	PORCENTAGEM DE ELIMINAÇÃO
1 ^o ano (2002)	20% da área cortada	20% da queima eliminada
5 ^o ano (2006)	30% da área cortada	30% da queima eliminada
10 ^o ano (2011)	50% da área cortada	50% da queima eliminada
15 ^o ano (2016)	80% da área cortada	80% da queima eliminada
20 ^o ano (2021)	100% da área cortada	100% da queima eliminada
ANO	ÁREA NÃO MECANIZÁVEL COM DECLIVIDADE SUPERIOR A 12% OU ÁREA MENOR QUE 150 HECTARES	PORCENTAGEM DE ELIMINAÇÃO
10 ^o ano (2011)	10% da área cortada	10% da queima eliminada
15 ^o ano (2016)	20% da área cortada	20% da queima eliminada
20 ^o ano (2021)	30% da área cortada	30% da queima eliminada
25 ^o ano (2016)	50% da área cortada	50% da queima eliminada
30 ^o ano (2031)	100% da área cortada	100% da queima eliminada

1.2. HPAs - HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são compostos químicos constituídos exclusivamente de átomos de carbono (C) e hidrogênio (H), arranjados na forma de dois ou mais anéis aromáticos (JACQUES *et al.*, 2007).

Devido à possibilidade da fusão de um número variável de anéis e das diversas posições em que estes anéis podem ligar entre si, existe atualmente mais de 100 HPAs reconhecidos pela IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry). Apesar disso, somente 16 HPAs são considerados prioritários pela USEPA (US Environmental Protection Agency), em função de sua importância industrial, ambiental e toxicológica (POTIN *et al.*, 2004).

Os HPAs são considerados poluentes orgânicos de grande persistência ambiental, pertencentes a um grupo de substâncias com características carcinogênicas, mutagênicas e/ou de alteradores endócrinos (KANALY & HARAYAMA, 2000; SILVA, 2006).

Os Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos podem ser emitidos por diversas fontes:

- **NATURAIS:** incluem a combustão espontânea de biomassa vegetal e emissões naturais de petróleo do fundo do oceano, erupções vulcânicas ou;
- **ANTROPOGÊNICAS:** estão relacionadas à queima de combustíveis fósseis, e seus derivados, através de processos de combustão parcial e pirólise, derrames acidentais de petróleo e descarte de efluentes domésticos e industriais, emissões veiculares, e vários processos térmicos, como a queima de biomassa referente à cana-de-açúcar (LAW & BISCAYA, 1994, MAZZERA *et al.*, 1999, OLIVEIRA *et al.*, 2007).

A Figura 3 ilustra as fontes emissoras de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (FONTES EMISSORAS DE HPAs, 2009).



Figura 3: Fontes emissoras de HPAs, natural e antropogênica, respectivamente (FONTES EMISSORAS DE HPAs, 2009).

A origem dos HPAs na combustão incompleta de qualquer material orgânico pode ser descrita considerando-se dois processos principais (BAEK *et al.*, 1991; TFOUNI *et al.*, 2007):

- **PIRÓLISE:** quebra parcial de compostos orgânicos em moléculas menores instáveis em altas temperaturas.
- **PIROSSÍNTESE:** os fragmentos formados na pirólise, na maioria radicais, recombina-se para formar hidrocarbonetos aromáticos relativamente estáveis.

Em altas temperaturas, compostos orgânicos são convertidos em moléculas menores instáveis (pirólise). Estas e outros radicais recombina-se para formar moléculas maiores e estáveis (pirossíntese). Uma vez formados, os HPAs podem sofrer reações pirossintéticas, originando estruturas mais complexas com anéis altamente condensados (BETTIN & FRANCO, 2005). A Figura 4 ilustra a síntese hipotética proposta para o benzo[a]pireno (LEE *et al.*, 1981; SILVA, 2006).

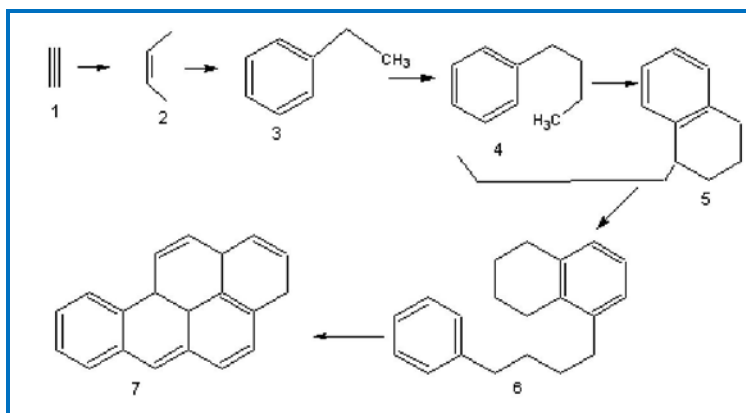


Figura 4: Proposta hipotética de síntese do Benzo[a]pireno. A espécie 1 é o acetileno, a 2 é 2,3-butadieno, a espécie 3 é o estireno ou etilbenzeno (LEE *et al.*, 1981; SILVA, 2006).

Os HPAs são considerados os principais poluentes do petróleo, pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USA ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2006) e pela Comunidade Européia, sendo 16 deles identificados como os principais carcinogênicos e/ou mutagênicos (USA ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1986) (Figura 5). O órgão norte-americano de Segurança e Saúde Ocupacional (NATIONAL INSTITUTE FOR OCCUPATIONAL AND SAFETY HEALTH, 2007) monitora além dos 16 HPAs considerados prioritários pela EPA, o benzo[e]pireno devido à suas propriedades de mutagenicidade e/ou carcinogenicidade. As capacidades carcinogênicas e mutagênicas dos diferentes HPAs são significativas para aqueles que possuem mais de quatro anéis aromáticos fundidos e maiores para os que apresentam cinco ou seis anéis aromáticos (BETTIN & FRANCO, 2005).



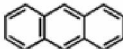
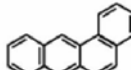
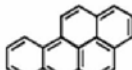
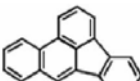
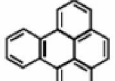
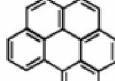
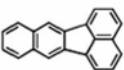
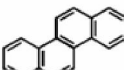
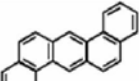

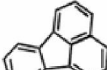

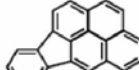


 Acenafteño	 Acenafteño (Não fluorescente)	 Antraceno	 Benzo[a]antraceno
 Benzo[a]pireno	 Benzo[b]fluoranteno	 Benzo[e]pireno	 Benzo[g,h,i]perileno
 Benzo[k]fluoranteno	 Criseno	 Dibezo[a,h]antraceno	 Fenantreno
 Fluoranteno	 Fluoreno	 Indeno[1,2,3-cd]pireno	 Naftaleno
 Pireno			

Figura 5: Estruturas químicas referentes aos 17 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) considerados prioritários pelo NIOSH, U.S. National Institute for Occupational and Safety Health (PEREIRA NETTO, 2000; NATIONAL INSTITUTE FOR OCCUPATIONAL AND SAFETY HEALTH, 2007).

Esses compostos apresentam de dois a seis anéis aromáticos fundidos entre si, com a massa molecular (MM) variando entre 128 e 278 g mol⁻¹. O destino e a migração de contaminantes no meio ambiente são controlados pelas propriedades físico-químicas, como solubilidade (S), pressão de vapor (PV) e coeficiente de partição octanol/água (K_{oc}) (FROEHNER & MARTINS, 2008). Essas características são fatores relevantes na distribuição desses contaminantes entre as fases solúvel e particulada em meio atmosférico, aquoso e biótico. A solubilidade dos HPAs em água varia entre os altamente insolúveis (benzo[g,h,i]perileno = 0,003 mg L⁻¹) a pouco solúveis em água (naftaleno = 31 mg L⁻¹), enquanto a pressão de vapor transita entre compostos

altamente voláteis (naftaleno) e compostos relativamente pouco voláteis (dibenzo[a,h]antraceno). Em geral, a solubilidade e a pressão de vapor diminuem com o aumento da massa molecular (MEIRE *et al.*, 2007a; PARAÍBA & SAITO, 2005).

Os HPAs que apresentam baixa pressão de vapor e são hidrofóbicos apresentam pouca mobilidade ao atingirem o solo, entretanto, HPAs parcialmente dissolvidos em água tendem a se adsorverem nos sólidos suspensos no solo (matéria orgânica) e em sedimentos depositados ou transportados pela água, devido ao alto valor do K_{oc} correlacionado com substâncias orgânicas (PARAÍBA & SAITO, 2005). Conseqüentemente, os HPAs presentes em corpos d'água podem acumular-se em tecidos gordurosos de organismos que compõem a cadeia trófica (FROEHNER & MARTINS, 2008).

Na Tabela 2 estão sumarizadas algumas das propriedades físico-químicas dos HPAs considerados prioritários.

Tabela 2: Propriedades físicas e químicas de alguns Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) (LOPES & ANDRADE, 1996; COSTA, 2001; SILVA, 2006; MEIRE et al., 2007a).

HIDROCARBONETO POLICÍCLICO AROMÁTICO (HPA)	FÓRMULA MOLECULAR	MASSA MOLAR (g/mol)	NÚMERO DE ANEIS	PONTO DE FUSÃO (°C)	PONTO DE EBULIÇÃO (°C)	PRESSÃO DE VAPOR A 25°C (Pa)	COEFICIENTE DE PARTIÇÃO OCTANOL/ÁGUA (log K _{ow})	SOLUBILIDADE EM ÁGUA 25°C (µg/L)	CONSTANTE DE HENRY A 25°C (Pa m ³ .mol ⁻¹)	TEMPO DE MEIA VIDA NO SOLO
Naftaleno	C ₁₀ H ₈	128,17	2	80,2	218,0	10,4	3,4	3,17.10 ⁴	43,01	< 125 dias
Acenafieno	C ₁₂ H ₁₀	154,21	3	93,4	279,0	2,9.10 ⁻¹	3,92	3,93.10 ³	12,17	?
Acenaftileno	C ₁₂ H ₈	152,20	3	92,5	280,0	8,9.10 ⁻¹	4,07	1,61.10 ⁴	8,41	43-60 dias
Fluoreno	C ₁₃ H ₁₀	166,22	3	115,0	295,0	8,0.10 ⁻²	4,18	1,98.10 ³	7,87	32 dias
Antraceno	C ₁₄ H ₁₀	178,23	3	215,0	340,0	8,0.10 ⁻⁴	4,50	45	3,96	50 dias-1,3 anos
Fenantreno	C ₁₄ H ₁₀	178,23	3	99,2	340,0	1,6.10 ⁻²	4,6	1,29.10 ³	3,24	2 dias
Fluoranteno	C ₁₆ H ₁₀	202,26	4	108,0	384,0	1,2.10 ⁻³	5,22	2,60.10 ²	1,037	?
Pireno	C ₁₆ H ₁₀	202,26	4	151,0	404,0	6,0.10 ⁻⁴	5,18	135	0,98	210 dias-5,2 anos
Benzo[a]Antraceno	C ₁₈ H ₁₂	228,29	4	167,0	435,0	2,8.10 ⁻⁵	5,61	14	0,581	?
Criseno	C ₁₈ H ₁₂	228,29	4	258,0	448,0	8,4.10 ⁻⁵	5,91	2,0	0,065	?
Benzo[a]Pireno	C ₂₀ H ₁₂	252,32	5	177,0	495,0	7,3.10 ⁻⁷	6,50	3,8	0,046	269 dias-8,2 anos
Benzo[b]Fluoranteno	C ₂₀ H ₁₂	252,32	5	168,0	?	?	5,80	1,5	?	?
Benzo[e]Pireno	C ₂₀ H ₁₂	252,32	5	178,0	311,0	7,4.10 ⁻⁷	6,44	5,07 (23°C)	?	?
Benzo[k]Fluoranteno	C ₂₀ H ₁₂	252,32	5	217,0	480,0	1,3.10 ⁻⁷	6,84	0,76	0,016	?
Dibenzo[a,h]Antraceno	C ₂₂ H ₁₄	278,35	5	270,0	524,0	1,3.10 ⁻⁸	6,50	0,5 (27°C)	?	?
Benzo[g,h,i]Perileno	C ₂₂ H ₁₂	276,34	6	278,3	545,0	1,4.10 ⁻⁸	7,10	0,26	0,075	< 9,5 anos
Indeno[1,2,3-cd]Pireno	C ₂₂ H ₁₂	276,34	6	163,4	536,0	1,3.10 ⁻⁸	6,58	62	0,003	?

? = dado não disponível na literatura consultada

Segundo o IARC - Agência Internacional para Pesquisas em Câncer - os HPAs com maior potencial carcinogênico são os benzofluorantenos, benzo[a]pireno, benzo[a]Antraceno, dibenzo[a,h]antraceno e indeno[1,2,3-cd]pireno. Dentre os HPAs mencionados, destaca-se o benzo[a]pireno (B[a]P), o qual é monitorado em vários compartimentos ambientais, considerado o mais cancerígeno dos HPAs (WILD & JONES, 1995; KAYAL & CONELL, 1995, INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2009).

Os HPAs são altamente lipossolúveis na membrana celular e rapidamente absorvidos pelos pulmões, intestinos e pele de seres humanos e animais. Uma vez absorvidos pelas células, os HPAs são metabolicamente ativados e, desta maneira, tornam-se reativos a grupos nucleofílicos presentes em macromoléculas celulares. A formação de adutos de DNA é considerada essencial na carcinogenicidade química desses xenobióticos (MEIRE *et al.*, 2007a).

A biotransformação dos HPAs abrange uma série de reações de oxidação, redução, hidrólise e de conjugação que são realizadas principalmente no fígado por enzimas do sistema de monooxigenases de função mista da super família dos citocromos P450 (KLAASSEN *et al.*, 1996). Do ponto de vista toxicológico, informações atuais apontam que os HPAs agem como antiestrogênicos em mamíferos, além de apresentarem efeitos teratogênicos e embriotóxicos (FROEHNER & MARTINS, 2008).

1.3. HPAs E A INTERAÇÃO COM OS COMPARTIMENTOS AMBIENTAIS

O transporte desses poluentes no ambiente ocorre principalmente por via atmosférica associado ao material particulado fino, referente às partículas inaláveis, ou seja, menores que $10 \mu\text{m}$ (PM_{10}), o que permite uma ampla distribuição desses compostos no ambiente. Uma vez emitidos na atmosfera, os HPAs podem ser depositados por via seca (vapor ou particulada) ou úmida (precipitação sob a forma dissolvida ou particulada) sobre sistemas aquáticos e terrestres (GARBAN *et al.*, 2002; ROSE & RIPPEY, 2002).

A atmosfera constitui o principal meio de transporte e depósito para os compostos orgânicos emitidos por fontes poluidoras. O potencial tóxico dessas partículas em suspensão na atmosfera dependerá da sua composição química e do grau de retenção dessas partículas na principal via de ingresso, a via respiratória (ACEVES & GRIMALT, 1993, ANDRADE, 2004).

O aumento da atividade humana próxima à costa tem levado a sérios problemas de poluição. Ecossistemas de mangue comumente encontrados nas zonas entre - marés de regiões tropicais e subtropicais são freqüentemente expostos ao estresse da poluição e são dissipadores ou receptores de vários poluentes sintéticos (TAM & WONG, 1999; ZHENG *et al.*, 2000).

Os HPAs são contaminantes traços ubíquos no ambiente marinho e possuem alta toxicidade e efeitos subletais em organismos marinhos, podem bioacumular-se em organismos, contaminando desta maneira, todos os elos da cadeia alimentar. Os sedimentos de manguezais possuem características únicas, tais como elevada produtividade, abundância de detritos, altas concentrações de carbônico orgânico, tornando locais preferenciais para a adsorção e preservação de HPAs antropogênicos (FONTANA *et al.*, 2006).

Devido sua carcinogenicidade em animais experimentais e a ampla ocorrência em todos os compartimentos ambientais, HPAs tem atraído mais a atenção do mundo (OHKOUCHI *et al.*, 1999; ZAKARIA *et al.*, 2002; MAI *et al.*, 2003; KANNAN *et al.*, 2005). HPAs são introduzidos para os ambientes

aquáticos através de derrames de óleo acidentais, descargas de operações industriais, municipais e urbanas; precipitação atmosférica, etc. Devido as suas características hidrofóbicas, em ecossistemas aquáticos, os HPAs adsorvem-se preferencialmente aos sedimentos através da alta concentração de matéria orgânica (MO), as condições anóxicas entre 1 - 3 cm próximas a camada superficial, a natureza de baixa energia do ambiente, e o fluxo de corrente reduzido, podem favorecer a deposição e acumulação desses contaminantes (TAM & WONG, 1999, 2000; TAM & YAO, 2002; ZHENG *et al.*, 2002).

Alguns processos de distribuição e transformação direcionam o destino de HPAs, sendo que o comportamento de partição entre água e ar, entre água e sedimento e entre água e a biota, são processos importantes na distribuição de HPAs no ambiente. Esses poluentes apresentam alto coeficiente de partição entre solventes orgânicos e água. Isso nos permite prever processos cumulativos em compartimentos, como sedimentos e solos (ricos em matéria orgânica adsorvida), assim como na bioacumulação em determinados organismos aquáticos, como no caso de invertebrados marinhos (NEFF, 1984; MEIRE *et al.*, 2008).

O ecossistema aquático é um dos maiores sumidouros de contaminação de HPAs, que tem recebido mais atenção devido à sua característica lipofílica e efeito da bio-concentração (HAITZER *et al.*, 1998). HPAs podem entrar no ambiente aquático através da deposição atmosférica, industrial e residencial, descarga de águas residuais, ou urbanas e de enxurradas, além da poluição causada pelos navios petroleiros (HEEMKEN *et al.*, 2000; TAO *et al.*, 2003; CELINO *et al.*, 2008). Sistemas aquáticos, não só são importantes sumidouros, no ciclismo mundial de HPAs, mas também são fontes secundárias de contaminação (SANDERS *et al.*, 1996).

Como os HPAs ocorrem no ambiente em misturas complexas, a avaliação de HPAs em matrizes ambientais quanto à identificação de suas origens específicas são limitadas (YUNKER *et al.*, 2002). A tentativa de avaliar a concentração desses contaminantes com relação ao seu perfil característico está voltada para as origens petrogênicas ou de combustão (PAGE *et al.*, 1999; YUNKER *et al.*, 2002).

Estudos demonstram uma relação direta entre o desenvolvimento de atividades urbanas e industriais e os níveis de HPAs encontrados nos compartimentos ambientais (ar, solo, sedimento e biota) (ROSE & RIPPEY, 2002; BARRA *et al.*, 2005; HAFNER *et al.*, 2005).

Os HPAs de origem petrogênica podem estar associados a contaminações locais, como próximo a refinarias, rodovias e rotas marítimas de navegação e são constituídos predominantemente por 2 e 3 anéis aromáticos (naftaleno, fluoreno e fenantreno), enquanto HPAs oriundos de queima apresentam uma maior frequência relativa para compostos com 4 a 6 anéis (fluoranteno, pireno, benzo[b,k]fluorantenos e benzo[g,h,i]perileno (MANTIS *et al.*, 2005).

Pesquisas realizadas em aerossóis da cidade de São Paulo sugerem que a relativa abundância de pireno, criseno e fluoranteno, é originária principalmente da exaustão de veículos motores a gasolina enquanto, criseno, pireno e benzo[a]antraceno são emitidos tanto por veículos a gasolina, como por veículos que utilizam diesel (VASCONCELLOS *et al.*, 2003, BOUROTTE *et al.*, 2005). Além disso, foi verificado que a presença em material particulado atmosférico de benzo[a]pireno e Pireno, pode estar relacionada com fontes pontuais originárias da queima de carvão por termoelétrica (SANTOS *et al.*, 2004).

Diversos estudos vêm utilizando razões de HPAs individuais com o intuito de identificar e calcular possíveis fontes de origem desses contaminantes (BUDZINSKI *et al.*, 1997; PAGE *et al.*, 1999; READMAN *et al.*, 1984). A utilização dessas razões está baseada na temperatura de formação dos HPAs, levando-se em consideração a estabilidade química individual de cada composto. HPAs com $MM= 202 \text{ g mol}^{-1}$ (pireno e fluoranteno) e $MM= 276 \text{ g mol}^{-1}$ (benzo[g,h,i]perileno, indeno[1,2,3cd]pireno) são indicadores na distinção entre fontes de origem petrogênicas versus pirolíticas, como indicado na Tabela 3 (MEIRE *et al.*, 2007b).

Tabela 3: Caracterização de origens de HPAs através das razões entre compostos não alquilados (YUNKER *et al.*, 2002; MEIRE *et al.*, 2007b).

RAZÃO	CARACTERIZAÇÃO DE ORIGEM		REFERÊNCIAS
	PETROGÊNICO	PIROLÍTICO	
[Fen/Antr]	> 15	< 10	BUDZINSKI <i>et al.</i> , 1997
[Fluor/Pir]	< 1	> 1	READMAN <i>et al.</i> , 1984
[Naf/Fen]	>> 1	---	STEINHAEUER & BOEHM, 1992
[Ind /B[ghi]P]	> 1	< 1	WASSERMAN <i>et al.</i> , 2001
[Fluor/(Fluor +Fen)]	< 0,10	> 0,10	YUNKER <i>et al.</i> , 2002
[Fluor/(Fluor + Pir)]	< 0,50	> 0,50	YUNKER <i>et al.</i> , 2002
[Ind /(Ind + B[ghi]P)]	0,20 - 0,50	> 0,50	YUNKER <i>et al.</i> , 2002
[Ant]/[Ant]+[Fen]	< 0,10	> 0,10	YUNKER <i>et al.</i> , 2002
[BaA]/[BaA]+[Cri]	0,20 - 0,35	> 0,35	YUNKER <i>et al.</i> , 2002

Fen: fenantreno Fluor: fluoranteno Naf: naftaleno B[ghi]P: benzo[ghi]perileno
 Antr: antraceno Pir: pireno Ind: indeno[1,2,3-cd]pireno Cri: criseno
 BaA: benzo[a]antraceno

Em contrapartida, pode-se ressaltar que HPAs com $MM= 228 \text{ g mol}^{-1}$ (criseno e benzo[a]antraceno) e $MM= 278 \text{ g mol}^{-1}$ (dibenzo[a,h]antraceno) apresentam baixa capacidade como indicadores de origem (BRITO *et al.*, 2005). Estudos realizados no sistema estuarino de Santos e São Vicente (Santos, SP) verificaram elevada predominância de HPAs originários da combustão por carvão (oriundos de atividade metalúrgica), óleo cru, diesel oriundos de refinaria e navegação, e da queima de biomassa proveniente da população do entorno (JAPENGA *et al.*, 1987; BÍCEGO *et al.*, 2006).

No Brasil, os maiores níveis de HPAs são observados nos grandes centros urbanos e industriais do país, como no caso dos estados do Rio de Janeiro e São Paulo. Sistemas estuarinos próximo ao complexo industrial de Cubatão (Santos, SP) apresentaram elevadas concentrações de HPAs (22,6 a 68.130 ng g^{-1}) (NISHIGIMA *et al.*, 2001; BÍCEGO *et al.*, 2006). Elevadas concentrações de HPAs em sedimento foram encontradas em trabalhos realizados na Baía de Guanabara (8.035 ng g^{-1}) e no rio Paraíba do Sul 40.000 ng g^{-1} , localizados no Rio de Janeiro, RJ (MENICONI *et al.*, 2002; TORRES *et al.*, 2002). Além disso,

foram observados que o processo de deposição atmosférica de HPAs pode atingir concentrações acima de 2.000 ng m⁻² diários em regiões industrializadas (Volta Redonda, RJ) (PEREIRA NETTO *et al.*, 2000).

Entretanto, atividades agrícolas relacionadas à queima de biomassa vegetal (cana-de-açúcar), também são caracterizadas como fontes importantes de HPAs no ambiente (AZEVEDO *et al.*, 2002; GOMES & AZEVEDO, 2003, ANDRADE, 2004; CRISTALE, 2008). Concentrações de HPAs em torno de 342 ng m⁻³ foram obtidas em estudos realizados no material particulado atmosférico da cidade de Campos dos Goytacazes, RJ, cuja atividade agrícola predominante envolve a monocultura de cana-de-açúcar (AZEVEDO *et al.*, 2002). No município de Araraquara, SP, região que predomina a cultura de cana-de-açúcar, os estudos indicam que as concentrações de HPAs na safra está em torno de 3,34 a 6,05 ng m⁻³ e na entressafra variam de 0,62 a 0,71 ng m⁻³ (ANDRADE, 2004).

A presença dos HPAs em solos é amplamente influenciada pelas suas concentrações na atmosfera, e alguns trabalhos afirmam que decrescem exponencialmente com o aumento da distância da fonte emissora. Além disso, deve-se levar em consideração o tempo de meia-vida de cada HPA, podendo ocorrer fotodegradação e reações radicalares (WILCKE, 2000).

A interação dos HPAs com outras moléculas orgânicas pode potencializar a persistência desses compostos no ambiente (MEIRE *et al.*, 2007a).

Como a grande maioria dos microorganismos do solo não possui a capacidade de degradar os HPAs, isso faz com que ocorra um acúmulo no ambiente, causando contaminação dos vários compartimentos ambientais (JACQUES *et al.*, 2007). Por isso, o grande interesse e importância de realizar a determinação destas moléculas em solo é que os HPAs possam através da lixiviação, chegar aos corpos hídricos e afetar, em primeira instância, os organismos aquáticos, podendo chegar ao homem via ingestão dos organismos contaminados ou pelo contato com a água e sedimento contaminados (PARAÍBA & SAITO, 2005).

1.4. LEGISLAÇÃO AMBIENTAL PARA OS HPAs

No Brasil, somente o estado de São Paulo possui legislação para contaminação em solo e águas subterrâneas pelos HPAs, que são definidos pela CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Esses valores orientadores, estabelecidos como referência de qualidade, alerta e intervenção visam prevenir e controlar a poluição no Estado de São Paulo atuando através do monitoramento da qualidade de solos e águas subterrâneas e no controle de áreas contaminadas (COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2009).

A necessidade do controle e a fiscalização da qualidade dos solos e das águas subterrâneas devem-se principalmente:

- **ÁGUA:** por ser um recurso que apresenta abastecimento simples, confiável, eficiente, de baixo custo e com alta disponibilidade, fez com que aumentasse a demanda do recurso hídrico subterrâneo para o abastecimento público. Atualmente, 71,6% do Estado de São Paulo são total ou parcialmente abastecidos por esse recurso. Isto mostra a importância deste recurso para o abastecimento, devido principalmente à precariedade dos sistemas de saneamento básico, da quantidade insuficiente e dos elevados custos dos sistemas de tratamento necessários para o atendimento aos padrões de potabilidade, o que reforça a necessidade de proteção da qualidade destas águas (COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2001).
- **SOLO:** por apresentar a capacidade limitada de depuração e retenção de grande parte dos poluentes atmosféricos depositados em sua superfície, pode ocorrer o efeito cumulativo, levando também a contaminação das águas subterrâneas (MOREIRA-NODERMANN, 1987; COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2009). Por isso, faz-se necessário a implementação de ações específicas que permitem uma análise sobre os efeitos dos solos na qualidade das águas subterrâneas, identificando-se as

prioridades de ação no controle da poluição desses meios (COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2009).

A tendência mundial é o estabelecimento de uma lista orientadora geral de valores de referência de qualidade, com base em análises de amostras de solo e de águas subterrâneas, de valores de alerta, com caráter preventivo e de valores de intervenção, derivados a partir de modelos matemáticos de avaliação de risco, utilizando-se diferentes cenários de uso e ocupação do solo previamente definidos, considerando-se diferentes vias de exposição e quantificando-se as variáveis toxicológicas (DIAS & CASARINI, 1996).

Através da avaliação e comparação entre várias legislações para solos e águas subterrâneas, a CETESB elegeu a metodologia holandesa como base para o estabelecimento de valores orientadores próprios para o Estado de São Paulo (COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, 1997).

A Lista Holandesa é seguida e aceita por diversos países, pois além de basear-se em critérios científicos, usando modelagem matemática de avaliação de risco à saúde humana, permite alterações nos valores das variáveis básicas do modelo, facilitando assim a adaptação às condições do Estado de São Paulo e a introdução de diferentes cenários de uso e ocupação do solo, como é feito na França, Canadá e Alemanha e o conceito de valor de alerta com base no valor de precaução, introduzido em 1999, pela Lei Federal alemã de proteção de solos (COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2009).

Após toda a adequação das metodologias internacionais para as condições do Estado de São Paulo, foi possível propor três níveis de valores orientadores (COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2009):

- Ø **VALOR DE REFERÊNCIA DE QUALIDADE (VRQ):** é dado pela concentração de determinada substância no solo ou na água subterrânea com base em interpretação estatística de análises físico-químicas de amostras de diversos tipos de solo e amostras de águas subterrâneas de diversos aquíferos do Estado de São Paulo. Significa que em concentrações iguais ou menores a esta, o solo pode ser considerado

- “limpo” e possível de ser utilizado para qualquer finalidade. Deve ser utilizado como referência nas ações de prevenção da poluição do solo e das águas subterrâneas e de controle de áreas contaminadas (COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2009).
- Ø **VALOR DE PREVENÇÃO (VP):** é a concentração de determinada substância acima da qual podem ocorrer alterações prejudiciais à qualidade do solo e da água subterrânea. Determinado para o solo em ensaios com receptores ecológicos. Esse valor é um indicativo da qualidade de um solo capaz de sustentar as suas funções primárias, protegendo-se os receptores ecológicos e a qualidade das águas subterrâneas. Deve ser utilizada para disciplinar a introdução de substâncias no solo (COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2009).
- Ø **VALOR DE INTERVENÇÃO (VI):** é a concentração de determinada substância no solo ou água subterrânea acima da qual existem riscos potenciais, diretos ou indiretos, à saúde humana. Indica que há riscos para a saúde humana e para o ambiente, sendo que a ultrapassagem desse valor em um volume de solo de 25 m³ ou em 100 m³ de água subterrânea impõem a necessidade de implementação na área avaliada de ações voltadas para a sua remediação. Com relação ao solo, esse valor foi calculado utilizando-se procedimento de avaliação de risco à saúde humana para cenários de exposição agrícola – Área de proteção máxima (APMax), residencial e industrial. Para água subterrânea, os valores considerados são aqueles que causam risco à saúde humana, listados na Portaria 518, de 26 de março de 2004, do Ministério da Saúde (MS), juntamente com os padrões de potabilidade do Guia da Organização Mundial de Saúde (OMS) (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2008; COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2009).

Na Tabela 4 são apresentados os valores orientadores para Solo e Água subterrânea no Estado de São Paulo (COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2005).

Tabela 4: Valores orientadores da CETESB para solo e água subterrânea para HPAs (COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2005).

Substância	CAS Nº	Referência de qualidade	Solo (mg.kg ⁻¹ de peso seco) ⁽¹⁾				Água Subterrânea (µg.L ⁻¹)
			Prevenção	Intervenção			Intervenção
				Agrícola APMax	Residencial	Industrial	
Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos ⁽²⁾							
Antraceno	120-12-7	na	0,039	-	-	-	-
Benzo(a)antraceno	56-55-3	na	0,025	9	20	65	1,75
Benzo(k)fluoranteno	207-06-9	na	0,38	-	-	-	-
Benzo(g,h,i)perileno	191-24-2	na	0,57	-	-	-	-
Benzo(a)pireno	50-32-8	na	0,052	0,4	1,5	3,5	0,7
Criseno	218-01-9	na	8,1	-	-	-	-
Dibenzo(a,h)antraceno	53-70-3	na	0,08	0,15	0,6	1,3	0,18
Fenantreno	85-01-8	na	3,3	15	40	95	140
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	193-39-5	na	0,031	2	25	130	0,17
Naftaleno	91-20-3	na	0,12	30	60	90	140

(2) Para avaliação de risco, deverá ser utilizada a abordagem de unidade toxicológica por grupos de substâncias.
na: não se aplica para substâncias orgânicas.

A Agência Ambiental do Estado de São Paulo efetua desde 2002 um levantamento de áreas contaminadas no Estado de São Paulo. Segundo os dados de 2006, os HPAs são os responsáveis pela contaminação de 695 destas áreas (Figura 6). Esta contaminação está relacionada em sua grande maioria, a vazamento de combustíveis em postos de abastecimento (COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2009).

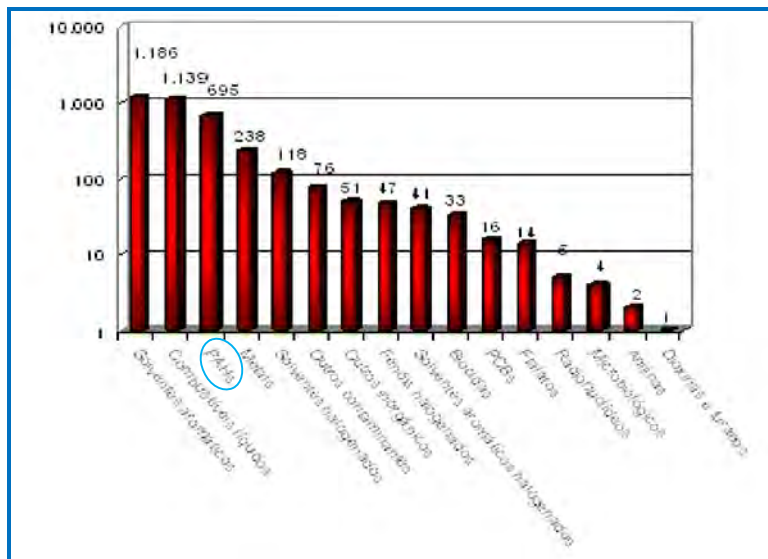


Figura 6: Principais grupos de substâncias encontrados nas áreas contaminadas do Estado de São Paulo, segundo dados da CETESB (COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2009).

Uma estratégia para eliminação dos HPAs dos solos contaminados a biorremediação, que é a utilização de processo ou atividade biológica para transformar os contaminantes em substâncias inertes (HOLLIGER *et al.*, 1997). Esta biotecnologia vem sendo utilizada há vários anos em outros países e, em alguns casos, apresenta menor custo e maior eficiência na remoção dos contaminantes do que as técnicas físicas e químicas (como incineração e lavagem do solo), sendo atualmente utilizada em escala comercial no tratamento de diversos resíduos e na remediação de áreas contaminadas (BAMFORTH & SINGLETON, 2005).

Entretanto, a degradação dos HPAs no solo pode ser limitada pela incapacidade dos microrganismos naturalmente presentes no solo em metabolizar eficientemente esses compostos, pela falta de nutrientes à microbiota degradadora ou pela baixa biodisponibilidade dos HPAs aos microrganismos degradadores, devido à sorção à fase orgânica do solo (JOHNSEN *et al.*, 2005).

Em vista da ampla distribuição dos HPAs no ambiente, da possibilidade em ocasionarem problemas sérios à saúde de humanos e animais, e dos limites impostos pela legislação ambiental, sua eliminação do ambiente deve ser buscada, visando à redução da exposição e absorção pelos seres vivos.

1.5. ANÁLISE DE HPAs EM MATRIZES AMBIENTAIS

A análise de misturas presentes em matrizes complexas consiste na extração e no isolamento dos analitos de interesse, de forma a determiná-los qualitativa e quantitativamente por intermédio de uma técnica analítica adequada (LANÇAS, 2004a).

O desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em compartimentos ambientais não é considerado trivial devido aos problemas relacionados às etapas de amostragem, extração e método de quantificação utilizado (BISINOTI & JARDIM, 2004).

A etapa de preparo e quantificação dos compostos orgânicos envolve diversas etapas analíticas como extração, separação e detecção. Normalmente, os contaminantes orgânicos encontram-se em concentrações extremamente baixas no meio ambiente, podendo ocorrer baixa recuperação dos mesmos na etapa de extração. Desta maneira, torna-se necessário o desenvolvimento de métodos analíticos cada vez mais seletivos, precisos e sensíveis (GODOI *et al.*, 2003).

Outro fator que deve ser considerado é a complexidade das matrizes ambientais, sendo que, para a avaliação da contaminação e ecotoxicidade de determinado ambiente é de extrema importância à realização de amostragem representativa, extração com exatidão e precisão do analito de interesse e quantificação por um método que apresente baixo limite de detecção, elevada seletividade e baixo custo (LANÇAS, 2004a).

A escolha do método de preparo de amostra e do equipamento a ser utilizado para a quantificação final dependerá de uma série de fatores, tais como: disponibilidade, adaptabilidade, capacidade do método, tempo de análise, recuperação dos analitos, custos envolvidos, seletividade ou especificidade, sensibilidade, exatidão, precisão, repetibilidade,

reprodutibilidade, robustez, faixa linear, limites de detecção e quantificação, dentre outros (BISINOTI & JARDIM, 2004).

A grande maioria dos métodos empregados na análise de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) é baseada nos métodos de separação cromatográfica, tais como cromatografia gasosa e cromatografia líquida de alta eficiência. O anexo I apresenta uma breve introdução às técnicas cromatográficas.

Na análise de HPAs em solos e sedimentos são muitos os métodos descritos na literatura. Em basicamente todos os métodos descritos o objetivo é a determinação de HPAs em amostras oriundas de processos de contaminação maciça, como derramamento de petróleo por exemplo. Na Tabela 5 estão sumarizados os métodos encontrados na literatura e que estão mais relacionados aos objetivos do presente trabalho.

Tabela 5: Trabalhos descritos na literatura envolvendo os analitos de interesse em amostras ambientais.

REFERÊNCIA	MATRIZ E LOCAL	TRATAMENTO DA AMOSTRA	HPAS QUANTIFICADOS, CONCENTRAÇÕES, LD e LO	TÉCNICA DE ANÁLISE
TUHÁCKOVÁ et al., 2001	Solo/Praga, coletado de 5 a 15 cm de profundidade Dois locais: próxima e distante (500 m) de uma rodovia.	20 g de amostra. Extração: Soxhlet, 100 mL hexano:acetona (3:1, v:v), 12 h.	Σ [HPAS]= 106 ng g ⁻¹ (500 m da rodovia) e Σ [HPAS]= 3095 ng g ⁻¹ (próximo da rodovia) [BaP] = 6,47 - 178 ng g ⁻¹ (afastado e próximo da rodovia) HPAs analisados: BaA, BaP, BbFluo, BgP, BkFlu, Chry, Phe, Fluo, IndP, Pyr	HPLC/DAD
HUANG et al, 2004	Solo, zona rural, Waterloo/ Canadá	20 g de amostra foi coletada em 0 - 14 - 30 -60-90-120 dias, conservadas à 4 °C. Extração: ultrassom, 20 min, 10 mL hexano:acetona (1:1) (v:v)	[Ac]= 39,87 g L ⁻¹ , [Ace]= 2,25 g L ⁻¹ , [A]= 11,27 g L ⁻¹ , [BaA]= 7,53 g L ⁻¹ , [BaP]= 2,75 g L ⁻¹ , [BbFluo]= 3,43 g L ⁻¹ , [BgP]= 0,31 g L ⁻¹ , [BkFluo]= 1,22 g L ⁻¹ , [Chry]= 6,15 g L ⁻¹ , [DiBaHPi]= 0,74 g L ⁻¹ , [Phe]= 83,11 g L ⁻¹ , [Fluo]= 59,91 g L ⁻¹ , [FI]= 29,17 g L ⁻¹ , [IndP]= 0,56 g L ⁻¹ , [N]= 58,03 g L ⁻¹ , [Pyr]= 38,64 g L ⁻¹	HPLC - DAD
ÁLVAREZ-BERNAL et al., 2007	Solo agrícola, Acolman, México, 2250 m de altitude.	1,5 g de amostra, Na ₂ SO ₄ anidro, acetona, ultrassom por 20 min, vortex por 15 s e ultrassom novamente por 20 min, centrifugação	Análise de 3 HPAS: A, Phe, BaP Recuperação: Phe: 86%; A: 90%; BaP: 84% LD: Phe=0,03 µg.kg ⁻¹	GC - FID
JIAO et al., 2007	Solo de arrozal, no Japão, coletados de 1952-2002	Metodo EPA 3630 -Amostragem: 1 kg de amostra -Extração: 4 g de amostra, soxhlet, DCM por 16 h. Uso de padrões deuterados: naftaleno-d ₈ , acenafileno-d ₈ , fluoranteno-d ₁₀ , pireno-d ₁₀ , benzo[a]pireno-d ₁₂ , benzo[g,h,i]perileno-d ₁₂ , p-terfenil-d ₁₄ como padrões internos.	Análise de 20 HPAS: N, Ac, Ace, Fl, Phe, A, Fluo, Pyr, BaA, Chry, BbFluo, BkFluo, BaP, IndP, DiBaA, BghiP, BeP, Per, P/c, BbChry Uso de padrões deuterados: naftaleno-d ₈ , acenafileno-d ₈ , fluoranteno-d ₁₀ , pireno-d ₁₀ , benzo[a]pireno-d ₁₂ , Benzo[g,h,i]perileno-d ₁₂ , p-terfenil-d ₁₄ -Faixa linear: 52,9 - 2180 µg kg ⁻¹ -[Σ HPAS]= 496 µg kg ⁻¹ -LQ= 0,01 - 0,2 µg kg ⁻¹	GC - MS

Tabela 5: Continuação dos trabalhos descritos na literatura envolvendo os analitos de interesse em amostras ambientais.

REFERÊNCIA	MATRIZ E LOCAL	TRATAMENTO DA AMOSTRA	HPAS QUANTIFICADOS, CONCENTRAÇÕES, LD e LQ	TÉCNICA DE ANÁLISE
PENA et al., 2007 (a)	Lodo de esgoto, solo agricultável com contribuições de queimadas de florestas. Louro, Galícia, noroeste da Espanha.	Material de referência BCR-524 (solo industrial contaminado) e BCR-088 (lodo de esgoto) Extração por saponificação, 0,2 g de amostra seca é colocado em um tubo de microondas e 0,8 mL de água. 4 mL de solução saturada de KOH em MeOH. A extração é realizada a 129 °C por 17 min. Uma vez resfriados, os frascos foram abertos e as fases orgânica e aquosa separadas pela centrifuga, a 3000 rpm. 2 mL do extrato orgânico foi evaporado e purificado com sílica e Florisil.	Análise dos 16 HPAs: N, Ace, Ac, Fi, Phe, A, Flu, Pyr, BaA, Chry, BbFluo, BkFluo, BaP, DiahA, BghiP, IndP. LQ= 0,4 - 14,8 µg kg ⁻¹ Recuperação: 60 - 100%	HPLC / DAD e Fluor
OLESZUCK & BARAN, 2004	Lodo de esgoto/ Lublin, Polónia, coletadas de três estações de tratamento.	Para validação do método: Amostras de 1,0 g fortificadas com os 16 HPAs (10, 25 e 50 mg kg ⁻¹). Extração DCM, banho de ultrassom, 90 min. Centrifugação e evaporação à secura. Solubilização do resíduo em 4 mL de ACN:H ₂ O (1:1) (v:v). Cleanup em coluna de sílica, eluição com 4 mL de ciclohexano.	Recuperação dos 16 HPAs: 92-100% Faixa linear= 0,25 - 25 µg L ⁻¹ Coeficiente de correlação r ² : 0,9982 - 0,9998 Precisão: 2 - 6% LD= 0,05 µg mL ⁻¹	HPLC-UV λ= 254nm
PENA et al., 2007 (b)	Solo agricultável com contribuições de queimadas de florestas, Louro, Galícia, noroeste da Espanha.	Material de referência BCR 524 (solo industrial contaminado). 500 g de solo fortificado com 250 mL de uma solução padrão mista. Os analitos foram extraídos com 6,0 mL de Hex: Ace (1:1) (v:v), evaporado até 0,5 mL	Análise dos 16 HPAs: N, Ace, Ac, Fi, Phe, A, Flu, Pyr, BaA, Chry, BbFluo, BkFluo, BaP, DiahA, BghiP, IndP. LQ= 0,01 - 0,6 ng g ⁻¹ Recuperação: 92%	HPLC/ DAD HPLC/Fluo
SHEN et al., 2007	44 amostras de lodo de esgoto, utilizadas na agricultura, coletadas na área Delta do Rio Yang-Tse, China	5 g do lodo de esgoto, fortificado com HPAs. Extração: ultrassom, 20 mL de DCM; 2 h. Evaporação a secura com N ₂ , 2 mL de ciclohexano foi adicionado ao extrato seco..	Análise dos 16 HPAs: 0,0167 - 15,4860 mg kg ⁻¹ [HPA] _{médias} = 1,376 mg kg ⁻¹ LD= 1 - 13 µg g ⁻¹ (HPAs contendo de 8 - 16 C) LD= 7 - 87 µg g ⁻¹ (demais HPAs) Recuperação: 60,4% (BaP), 85,7% (Phe e Pyr)	GC-MS

Tabela 5: Continuação dos trabalhos descritos na literatura envolvendo os analitos de interesse em amostras ambientais.

REFERÊNCIA	MATRIZ E LOCAL	TRATAMENTO DA AMOSTRA	HPAS QUANTIFICADOS, CONCENTRAÇÕES, LD e LO	TÉCNICA DE ANÁLISE
HONDA et al., 2007	Solo coletado ao longo de rodovias, de área residencial, parque, suburbana e rural, em Dalian, na China.	5,0 g de amostra Na ₂ SO ₄ anidro + Cu em pó -Extração: 30mL de acetona:DCM (1:1) (v:v), 30 min, ultrassom. Centrifugação. Cleanup: coluna empacotada com sílica gel, de 5 cm, eluição com 30 mL de hexano:DCM (1:1) (v:v).	Análise de 14 HPAs: Ac, Fl, Phe, A, Flu, Pyr, BaA, Chry, BbFluo, BkFluo, BaP, DiBaH ₄ , BghiP, IndP. -LD= 0,30 - 0,60 ng g ⁻¹ -Recuperação: BbFluo: 73% BaP: 92% -RSD: 16% -[ΣHPAs]= 219 - 18727 ng g ⁻¹ -Níveis de HPAs nos seguintes locais: rodovia= 6506 ng g ⁻¹ residência/parque= 650 ng g ⁻¹ suburbana= 407 ng g ⁻¹ rural= 223 ng g ⁻¹	GC - MS
OLESZCZUK et al., 2007	4 tipos de solo: silte e sedimento uniforme, silte e sedimento não-uniforme	DCM, em ultrassom por 90 min. Secagem em rotaevaporador, ressuspensão em 4 mL de ACN:H ₂ O (1:1) (v:v). Cleanup: cartuchos de sílica eluição com 4 mL de ciclohexano.	Análise de 16 HPAs: N, Ace, Ac, Fl, Phe, A, Flu, Pyr, BaA, Chry, BbFluo, BkFluo, BaP, DiahA, BghiP, IndP. -[ΣHPAs]= 72,5 - 764,0 µg kg ⁻¹	HPLC - UV
NCIBI et al., 2007	3 tipos de solo: argila silte, 2 solos com diferentes teores de matéria orgânica (solos representativos da Europa, zona do Mediterrâneo)	6 g de amostra, 18 mL de solvente (água, metanol e butanol-1), ultrassom, 10 min, centrifugação por 15 min, soxhlet usando DCM por 3 h.	[N] inicial= 15,0 mg mL ⁻¹ [Phe] inicial= 0,50 mg mL ⁻¹ Após 1 ano de "aging", a absorção aumentou: -N: 59% para 83% -Phe: 85% para 97%	HPLC - UV Difração de Raios-X (características químicas das amostras)

Tabela 5: Continuação dos trabalhos descritos na literatura envolvendo os analitos de interesse em amostras ambientais.

REFERÊNCIA	MATRIZ E LOCAL	TRATAMENTO DA AMOSTRA	HPAS QUANTIFICADOS, CONCENTRAÇÕES, LD e LQ	TÉCNICA DE ANÁLISE
SONG et al., 2007	Solo da China, coletado de 0 a 5 cm de profundidade	10 g de amostra fortificada com [Phe]: 1,0 µg g ⁻¹ e [Pyr]: 2,0 µ g ⁻¹ . -Extração: ultrassom, 1,0 g de amostra, 10 mL de dietil éter por 1 h. -Extração por solvente acelerada (ASE) de 1,0 g Extraído com água contendo várias concentrações de surfactantes aniônicos ou microemulsões.	-Faixa linear [Pyr]: 0,05 - 1,0 µg mL ⁻¹ r: 0,9953 LD= 10,0 ng mL ⁻¹ -Faixa linear [Phe]= 0,01 - 2,5µg mL ⁻¹ r: 0,9968 LD= 5,0 ng mL ⁻¹	Espectrofotômetro de Fluorescência
LEGENDA				
Ac: Acenafeno		C: Carbone	OPCs: Pesticidas organoclorados	
Ace: Acenafileno		Chry: Criseno	Phe: Fenantreno	
Ac ₁₀ : Acenafeno d. ₁₀		Chry ₁₀ : Criseno d. ₁₀	Pl: Padrão Interno	
ACN: Acetonitrila		DCM: Diclorometano	Pyr: Pireno	
A: Antraceno		DiBahA: Dibenz[<i>a,h</i>]Antraceno	Pyr ₁₀ : Pireno d. ₁₀	
A ₁₀ : Antraceno d. ₁₀		Fluo: Fluoranteno	r: Coeficiente de correlação	
BaA: Benzo[<i>A</i>]Antraceno		Fl: Fluoreno	SDS: Dodecil sulfato de sódio	
BaP: Benzo[<i>A</i>]Pireno		Hex: Hexano	HP LC: Cromatografia líquida de alta eficiência	
BbFluo: Benzo[<i>b</i>]Fluoranteno		IndP: Indeno[1,2,3- <i>cd</i>]Pireno	HP LC/DAD: Cromatografia líquida com detector de arranjo de diodos	
BjFluo: Benzo[<i>j</i>]Fluoranteno		LD: Limite de detecção	HP LC/FLU: Cromatografia líquida com detector de Fluorescência	
BkFluo: Benzo[<i>k</i>]Fluoranteno		LQ: Limite de quantificação	HP LC/UV: Cromatografia líquida com detector UV	
B ₁ jkFluo: Benzo[<i>b,j,k</i>]Fluoranteno		MeOH: Metanol	CG/FID: Cromatografia a gás com detector de ionização em chama	
BghiPe: Benzo[<i>g,h,i</i>]Perileno		N: Nattaleno		

1.6. VALIDAÇÃO ANALÍTICA

Para o desenvolvimento de um método, a etapa de validação é essencial para que se possa avaliar objetivamente o grau de confiabilidade dos resultados que serão obtidos na aplicação de tal método. Os principais parâmetros são descritos a seguir (DÓREA et al, 2008; LANÇAS, 2004b):

- **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. Garante que o pico de resposta seja exclusivamente do composto de interesse. Se a seletividade não for assegurada, a linearidade, a exatidão e a precisão estarão seriamente comprometidas (ROCKVILLE, 1999; VESSMAN *et al.*, 2001; RIBANI *et al.*, 2004b).

- **EXATIDÃO:** A exatidão expressa a concordância entre o valor encontrado e o valor aceito como verdadeiro ou como referência. Normalmente, é determinada através da fortificação da matriz em estudo pelo padrão certificado do(s) analito(s) de interesse, para que o método seja validado (LANÇAS, 2004b, DÓREA *et al.*, 2008).

- **PRECISÃO:** A precisão de um método expressa a concordância entre vários resultados analíticos obtidos para uma mesma amostra, e pode ser expressa com valores de repetitividade, reprodutibilidade e/ou precisão intermediária (LANÇAS *et al.*, 2004b; DÓREA *et al.*, 2008).

- **REPETITIVIDADE:** A repetitividade (“repeatability”) representa a concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo método para uma mesma amostra, efetuadas sob as mesmas condições de

medição, chamadas condições de repetitividade e pode ser expressa através da estimativa do desvio padrão relativo (RSD) (LANÇAS, 2004b, RIBANI *et al.*, 2004; DÓREA *et al.*, 2008).

- **REPRODUTIBILIDADE:** A reprodutibilidade é o grau de concordância entre os resultados das medições de uma mesma amostra, efetuadas sob condições variadas (mudança de operador, local, equipamentos, etc.). Refere-se aos resultados dos estudos de colaboração entre laboratórios e deve ser considerada em situações como a padronização de procedimentos analíticos. Este parâmetro também pode ser medido através do cálculo do RSD das replicatas (LANÇAS 2004b; RIBANI *et al.*, 2004; DÓREA *et al.*, 2008).

- **LINEARIDADE:** A linearidade é a resposta obtida em função da concentração do analito, a qual deve ser estudada em um intervalo de concentração apropriado (LANÇAS, 2004b, DÓREA *et al.*, 2008).

- **RECUPERAÇÃO:** A recuperação é uma medida de eficiência do processo de isolamento do analito de interesse da matriz na qual se encontra presente. A recuperação obtida a partir de amostras fortificadas com o analito de interesse é freqüentemente utilizada para a estimativa da exatidão do método. A recuperação pode ser determinada pela relação (LANÇAS, 2004b; DÓREA *et al.*, 2008):

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{\text{valor obtido}}{\text{valor adicionado}} \times 100$$

Esses estudos são efetuados adicionando-se soluções do padrão analítico de interesse com concentração conhecida à matriz isenta do analito. Na maioria dos procedimentos analíticos de validação, recuperações

dentro da faixa 70 - 120% são aceitas. A quantificação do analito durante os estudos de recuperação pode ser realizada através do método do padrão externo ou do padrão interno (LANÇAS, 2004b; DÓREA *et al.*, 2008).

- **SENSIBILIDADE:** A sensibilidade de um método indica a sua capacidade de discriminar, com uma fidelidade estabelecida, concentrações próximas de um analito. A sensibilidade pode ser determinada por intermédio da inclinação do gráfico de calibração. No caso de uma reta, quanto maior o ângulo de inclinação da reta, mais sensível (LANÇAS, 2004b; DÓREA *et al.*, 2008).

- **LIMITES DE DETECÇÃO:** O Limite de Detecção (LD) corresponde à menor quantidade ou concentração de um analito que pode ser diferenciada do ruído do sistema, porém não necessariamente quantificada como um valor exato (LANÇAS, 2004b; DÓREA *et al.*, 2008).

- **LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO:** O Limite de Quantificação (LQ) corresponde à menor quantidade de um analito que pode ser quantificada com exatidão e fidelidade, conforme a exigência da metodologia (LANÇAS, 2004b; DÓREA *et al.*, 2008).

1.7. SOLO

1.7.1. COMPOSIÇÃO DO SOLO

Diversos tipos de solos ocorrem em diferentes paisagens, segundo padrões identificados a cerca de 125 anos pelo pedólogo pioneiro russo Vasily Dokuchaev (1846 - 1903), em função dos seguintes fatores: material de origem, clima, relevo e dos organismos vivos que atuam ao longo do tempo. A Figura 7 ilustra as principais interações entre pedosfera (solo), biosfera (plantas e animais), litosfera (rochas), hidrosfera (água) e atmosfera (ar) (PLANETEARTH, 2009).

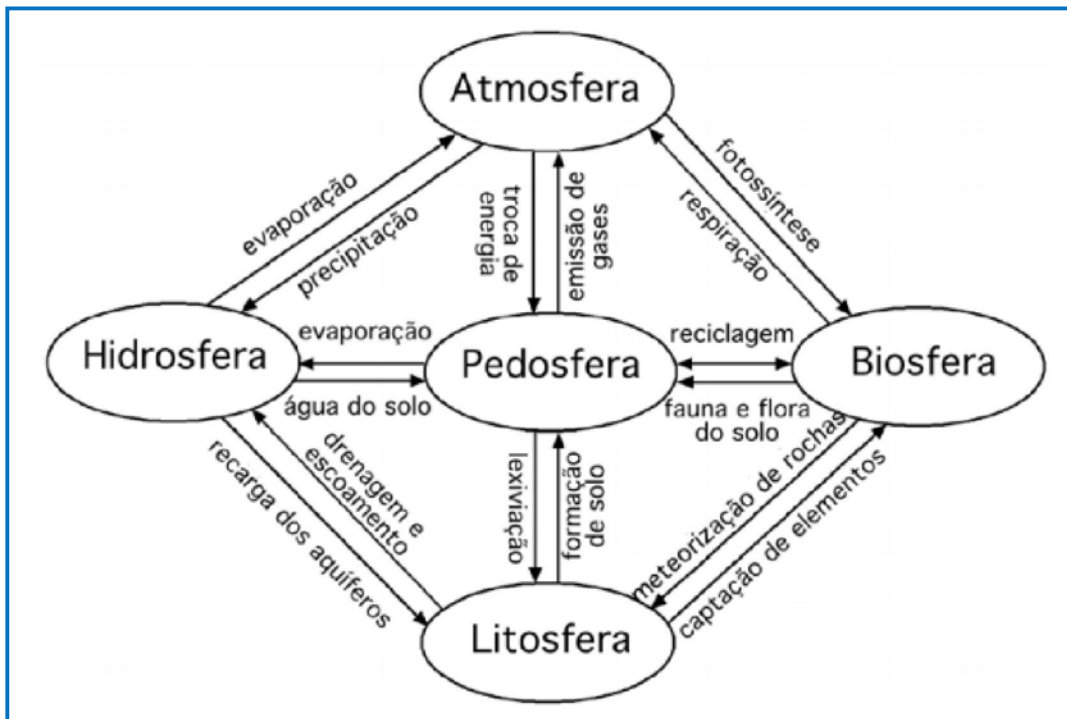


Figura 7: Principais interações do solo entre os vários compartimentos ambientais (PLANETEARTH, 2009).

Estes fatores são chamados de agentes formadores do solo e podem ser divididos em: (VIEIRA, 1988; SCHIAVETTI, 2009)

- agentes ativos: clima e biosfera, e
- agentes passivos: rocha e relevo.

O tempo determina a maturidade do processo de formação do solo, dividindo os solos em jovens e maduros, dependendo da intensidade da atuação. Os solos, de maneira geral, são compostos por sais minerais dissolvidos em água, seres vivos e rochas em decomposição. Os solos diferenciam-se nos mais variados aspectos, com os horizontes distinguindo-se pela cor, textura, estrutura, propriedades químicas e pela quantidade de matéria orgânica existente (AMARAL, 1978; BERTOLINI *et al.*, 1994; COMPOSIÇÃO DO SOLO, 2009).

Dependendo da composição do material da rocha de origem e da ação exercida pelo clima e pelos organismos sobre este material formam-se solos com características diferentes: uns mais férteis (mais ricos em nutrientes) outros mais pobres em nutrientes (Figura 8).

O tipo de solo encontrado em um lugar vai depender de vários fatores: o tipo de rocha matriz que o originou, o clima, a quantidade de matéria orgânica, a vegetação que o recobre e o tempo que se levou para ser formado.

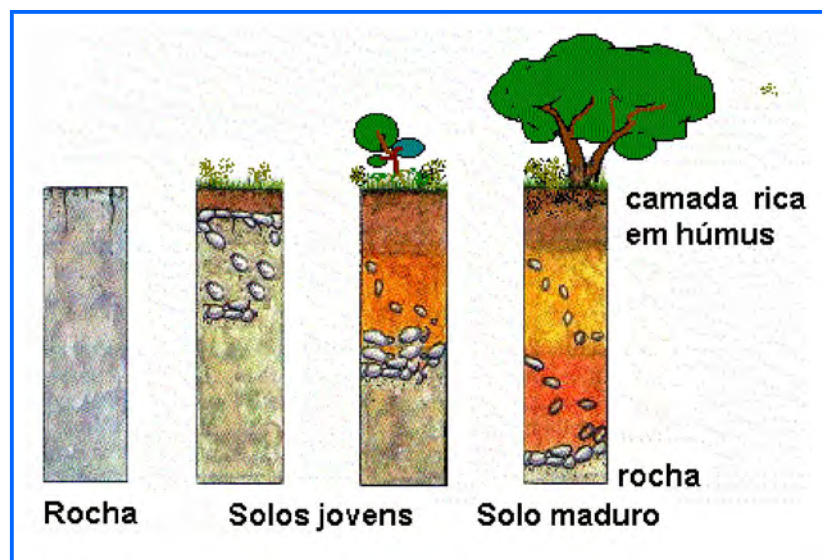


Figura 8: Solos com diferentes estágios de maturação (EDUCAÇÃO AMBIENTAL, 2009).

Os mapas de solos retratam diferentes tipos de solo, conforme a região, permitindo uma variedade de interpretações para utilização prática (PLANETEARTH, 2009). A Figura 9 ilustra o Mapa pedológico do Brasil (MAPA PEDOLÓGICO DO SOLO BRASILEIRO, 2009). Observa-se que o solo tipo latossolo compõe a grande maioria dos solos brasileiros.

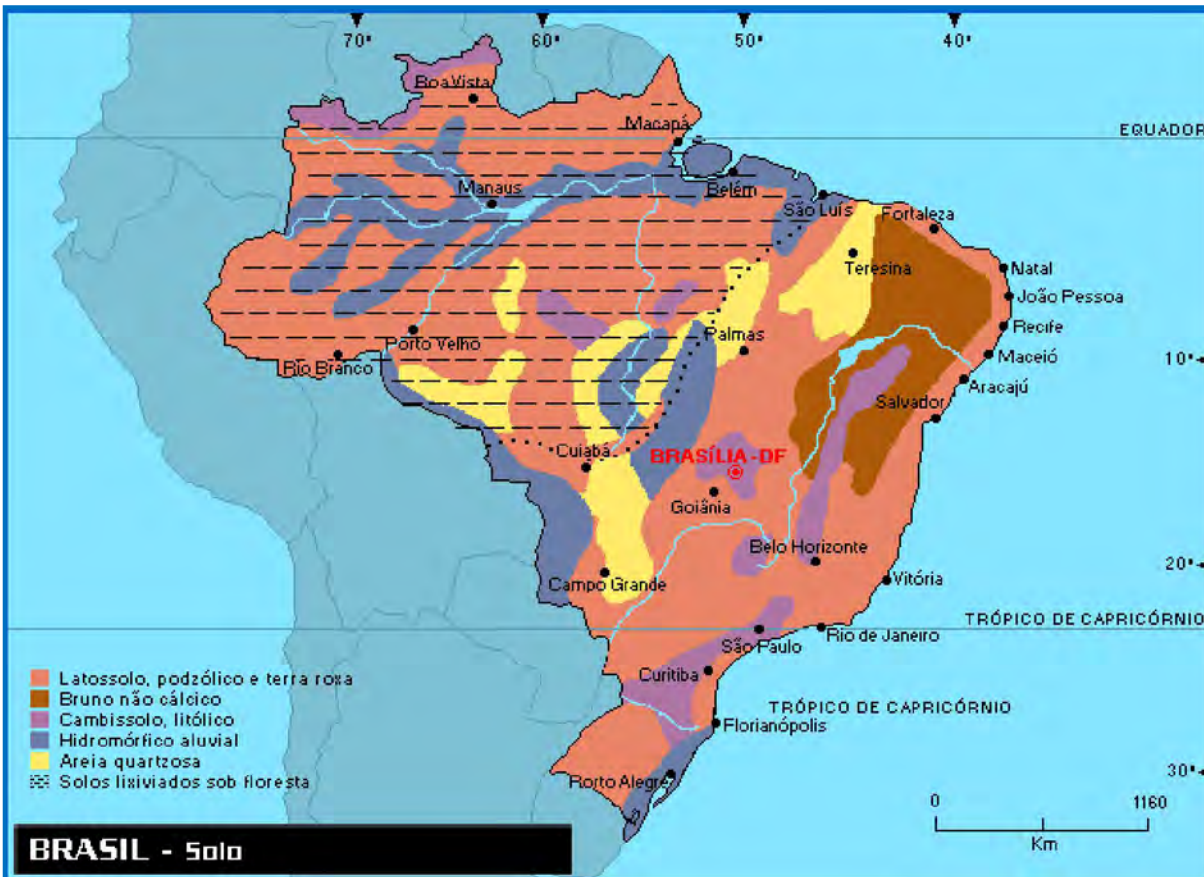


Figura 9: Mapeamento pedológico do solo brasileiro (MAPA PEDOLÓGICO DO SOLO BRASILEIRO, 2009).

1.8. DESCRIÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

Araraquara localiza-se na região central do estado de São Paulo, a 21°47'31" de latitude e 48°10'52" de longitude (Figura 10). O Município possui um clima "Tropical de altitude", caracterizado por duas estações bem definidas: um verão com temperaturas altas (média de 31° C) e pluviosidade elevada e um inverno de temperaturas amenas e pluviosidade reduzida. A área total do município de Araraquara é de 1.312 km², com cerca 80 km² ocupados pelo espaço urbano (ANDRADE, 2004). A partir de 1930, a cultura do café na região de Araraquara gradativamente foi sendo substituída pela cultura da cana-de-açúcar. Atualmente, o município de Araraquara reflete um cenário com desenvolvimento econômico fortemente apoiado na expansão da cultura canavieira, sendo que apenas no município de Araraquara a extensão dessa cultura chega à cerca de 32 mil hectares, constituindo o maior complexo agroindustrial da região (MOSCHINI, 2005). A área dedicada à cultura de cana-de-açúcar, estimada pelo IEA (Instituto de Economia Agrícola) para o plantio do deve alcançar 1.728.995 hectares no estado de São Paulo, aumentando 3% em relação aos 1.672.906 plantados na safra de 2008. Segundo o último levantamento do IEA (Instituto de Economia Agrícola), órgão ligado ao governo do Estado de São Paulo, o município de Araraquara tem um crescimento previsto de 10,2% da área utilizada para o plantio da cana-de-açúcar (SOUZA, 2009).



Figura 10: Localização do município de Araraquara (ANDRADE, 2004).

As atividades agro-industriais predominantes em Araraquara incluem citros (principalmente laranja) e cana-de-açúcar. O gráfico da Figura 11 ilustra a progressão do plantio de cana-de-açúcar para o município de Araraquara entre 2003-2009, indicando a expansão dessa cultura no período considerado. Esta expansão também é ilustrada pelos dados da Tabela 6 (INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS, 2009b; 2009c).

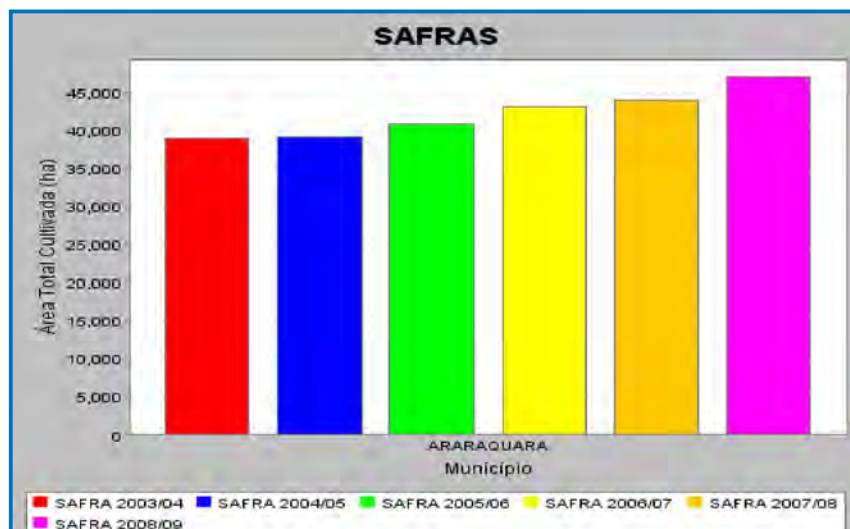


Figura 11: Evolução da área ocupada pelo cultivo de cana-de-açúcar no município de Araraquara (INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS, 2009b).

Tabela 6: Estimativa 2007-2009 da expansão da cultura de cana-de-açúcar no município de Araraquara (INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS, 2009c).

ANO	ÁREA DE SOCA (Km ²)	ÁREA REFORMADA (Km ²)	ÁREA EM EXPANSÃO (Km ²)	ÁREA DISPONÍVEL PARA COLHEITA (Km ²)	ÁREA EM REFORMA (Km ²)	ÁREA TOTAL CULTIVADA (Km ²)
2007/2008	33.218	4.139	1.966	39.323	4.698	44.021
2008/2009	33.839	4.635	2.965	41.439	5.555	46.994

2. OBJETIVOS

Considerando-se que o Estado de São Paulo é o maior produtor de cana-de-açúcar do Brasil devido essa cultura ocupar mais de 70% da área agricultável; e que a região central do Estado tem um peso considerável nesta produção, e vem sendo utilizada a prática da queimada como manejo agrícola desta cultura desde 1970, este trabalho teve como objetivo geral avaliar o impacto das queimadas na presença de HPAs no solo, no município de Araraquara. Para isso, os objetivos específicos foram:

- Otimizar e validar método para a determinação de HPAs em solo;
- Utilizar o método validado para a determinação de HPAs em amostras de solo em áreas com cultivo de cana-de-açúcar, nas épocas de safra e entressafra desta cultura;
- Comparar os perfis quali e quantitativos dos HPAs, nas duas épocas de coleta, buscando avaliar a influência da queima de cana-de-açúcar.

3. EXPERIMENTAL

Este capítulo será dividido em duas seções para melhor entendimento:

- a) DESENVOLVIMENTO ANALÍTICO, onde será descrito o desenvolvimento e validação do método empregado para as análises de HPAs em amostras de solo;
- b) ESTUDO AMBIENTAL, onde será descrita a obtenção das amostras, sua caracterização e análise.

3.1. DESENVOLVIMENTO ANALÍTICO

3.1.1. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

- Padrões sólidos individuais de HPAs (pureza 98%), com exceção do Acenafteeno (pureza 75%) fornecidos pelo laboratório SIGMA ALDRICH BRASIL Ltda; e Benzo[e]Pireno (pureza 99%) fornecido pelo laboratório FLUKA.
- Detergente alcalino Extran (MERCK);
- Acetonitrila, Metanol, n-Hexano, Isooctano, Acetona, Diclorometano, Acetato de Etila, grau HPLC, da MALLINKRODT Chemicals e TEDIA Company Inc.
- Água Deionizada obtida do sistema Milli-Q plus (MILLIPORE)
- Hidróxido de Potássio, KOH, SIGMA ALDRICH
- Sílicagel C18, 50 μ , 70-230 mesh, 60Å, PHENOMENEX
- Florisil, MgO₃Si, 60-100 mesh, SIGMA ALDRICH
- Alumina, Al₂O₃, ativada, neutra, 150 mesh, 58Å, SIGMA ALDRICH
- Celite 545, 0,02-0,20mm, MERCK CHEMICALS

- Lã de vidro, fibra média, ISOFAR
- Insert Agilent 500µL
- Seringa de vidro, 5mL
- Micropipetas 20-200µL/100 -1000µL, TEDIA/EPPENDORF
- Ponteiros Eppendorf
- Papel de filtro n^o 41, 110mm, WHATMAN
- Parafilm Laboratory Film, Pechiney Plastic Pack
- Unidade filtrante em celulose regenerada com membrana 0,45µm, 13mm, não-estéril, WHATMAN
- Vial de borossilicato, âmbar, volumes 2/20/30mL, tampa com rosca de polipropileno, septo PTFE/Silicone, LA PHA PACK
- Balança METTLER TOLEDO AG245, ± 0,1mg;
- Banho de Ultra-som THORNTON – 40KHz;
- Mufla EDG 3P-S, Modelo F-7000 3P, EDG Equipamentos
- Evaporador Rotativo Tecnal TE-210; TECNAL
- HPLC modelo Pro Star Autosampler 4000 e Detector de Fluorescência 360 VARIAN
- HPLC modelo LC-920 VARIAN com detector de Fluorescência VARIAN
- Coluna C-18 SUPELCOSIL LC PAH (250mm x 4,6 mm x 5µm) - SUPELCO
- GC 3800 MS Saturn 2000 com Autosamper 8200 VARIAN
- Coluna FACTOR FOUR™ VF- 5 – MS (5% Fenil, 95% Polissiloxano) – Varian (30m x 0,25mm x 0,25µm)

3.1.2. LIMPEZA DA VIDRARIA

O material de vidro utilizado no desenvolvimento do trabalho foi deixado imerso em solução de Extran (20%) por 12 horas e enxaguado em água corrente exaustivamente e, em seguida, em água destilada, água deionizada e acetona destilada, proveniente do Laboratório de Apoio Técnico do IQ/UNESP. A secagem da vidraria foi realizada em estufa à temperatura de 90°C, com exceção da vidraria volumétrica, que foi seca à temperatura ambiente.

Para avaliação da limpeza da vidraria, foi utilizado o mesmo procedimento de extração da amostra, a fim de verificar a interferência de substâncias que poderiam co-eluir no mesmo tempo de retenção dos analitos. Através do cromatograma apresentado na Figura 12, pode-se comprovar a inexistência de interferentes que possam prejudicar a avaliação da metodologia proposta para a análise de HPAs em solo.

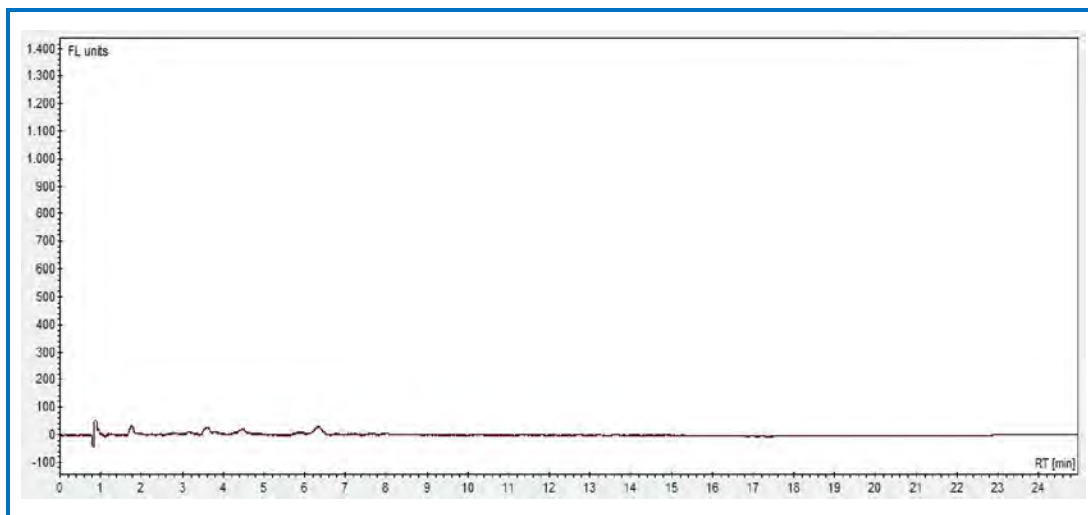


Figura 12: Cromatograma obtido através de HLPC-Fluo, referente à avaliação da limpeza da vidraria.

3.1.3. PREPARO DAS SOLUÇÕES DOS PADRÕES

3.1.3.1. ANÁLISES POR GC/MS/MS

A solução estoque da mistura dos padrões de HPA foi preparada a partir dos padrões sólidos, em isooctano, na concentração de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$. A partir desta solução, foram preparadas soluções intermediárias na concentração de $10 \mu\text{g mL}^{-1}$. As soluções mistas dos compostos foram preparadas por diluição das soluções intermediárias nas concentrações variando de 1 a $0,001 \mu\text{g mL}^{-1}$ (17 concentrações). Todas as soluções foram analisadas em triplicata para a construção dos gráficos de linearidade e as curvas analíticas.

3.1.3.2. ANÁLISES POR HPLC/FLUORESCÊNCIA

Como a resposta do detector de fluorescência varia para os HPAs em função da sua estrutura molecular, as concentrações de cada HPA nas soluções padrão mistas foram preparadas considerando-se a diferença de fator de resposta nas condições cromatográficas previamente estabelecidas.

Houve também diferença entre as respostas dos dois sistemas HPLC utilizados, por isso as concentrações das soluções padrão foram diferentes para ambos.

Todas as soluções padrão foram preparadas em acetonitrila, sendo que a solução estoque foi preparada a partir dos padrões sólidos e as de trabalho (utilizadas para a avaliação do desempenho dos sistemas e para as curvas analíticas) foram obtidas por diluições sucessivas da solução estoque, sendo preparadas soluções padrão de concentrações diferentes, que estão apresentadas no Anexo II. A Tabela 7 apresenta as concentrações de cada HPA na solução estoque mista para o sistema ProStar- Varian, enquanto que a Tabela 8 mostra a constituição da mesma solução para o sistema LC 920-Varian.

Tabela 7: Concentração dos HPAs na solução padrão estoque mista. ProStar-Varian

HPAs	CONCENTRAÇÃO ($\mu\text{g L}^{-1}$)	HPAs	CONCENTRAÇÃO ($\mu\text{g L}^{-1}$)
p ₁ : naftaleno	11	p ₉ : criseno	21
p ₂ : acenafteno	7	p ₁₀ : benzo[e]pireno	30
p ₃ : fluoreno	12	p ₁₁ : benzo[b]fluoranteno	25
p ₄ : fluoranteno	21	p ₁₂ : benzo[k]fluoranteno	4
p ₅ : antraceno	9	p ₁₃ : benzo[a]pireno	24
p ₆ : fluoranteno	25	p ₁₄ : dibenzo[ah]antraceno	9
p ₇ : pireno	21	p ₁₅ : benzo[ghi]perileno	13
p ₈ : benzo[a]antraceno	21	p ₁₆ : indeno[123cd]pireno	5

Tabela 8: Concentração dos HPAs na solução padrão estoque mista. LC 920 Varian

HPAs	CONCENTRAÇÃO ($\mu\text{g L}^{-1}$)	HPAs	CONCENTRAÇÃO ($\mu\text{g L}^{-1}$)
P ₁ : Naftaleno	11	P ₉ : Criseno	21
P ₂ : Acenafteno	7	P ₁₀ : Benzo[e]Pireno	30
P ₃ : Fluoreno	12	P ₁₁ : Benzo[b]Fluoranteno	25
P ₄ : Fluoranteno	21	P ₁₂ : Benzo[k]Fluoranteno	4
P ₅ : Antraceno	9	P ₁₃ : Benzo[a]Pireno	25
P ₆ : Fluoranteno	25	P ₁₄ : Dibenzo[ah]Antraceno	9
P ₇ : Pireno	21	P ₁₅ : Benzo[ghi]Perileno	14
P ₈ : Benzo[a]Antraceno	21	P ₁₆ : Indeno[123cd]Pireno	5

3.1.4. CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS

Como os HPAs podem ser analisados por GC/MS/MS ou por HPLC/Fluorescência, foi avaliado o desempenho destas duas técnicas para a escolha da que apresentasse melhor desempenho em relação ao estudo pretendido.

As condições cromatográficas utilizadas neste trabalho foram otimizadas anteriormente neste grupo de pesquisa, para o sistema HPLC/Fluorescência ProStar e para o sistema GC/MS/MS (SILVA, 2006, CRISTALE, 2008) e estão sumarizados na Tabela 9. Para o sistema HPLC/Fluorescência LC-920 as condições do sistema foram adaptadas a partir das condições do ProStar.

Tabela 9: Condições cromatográficas utilizadas na análise dos HPAs de interesse nos sistemas cromatográficos avaliados (SILVA, 2006; CRISTALE, 2008).

HPLC/FLUORESCÊNCIA						
CONDIÇÕES	VARIAN PROSTAR			VARIAN LC 920		
COLUNA CROMATOGRÁFICA	SUPELCOSIL LC PAH (250mm x 4,6mm x 5µm) SUPELCO					
ELUIÇÃO	ACN:H ₂ O 60% ACN (5') à (20') à 100% ACN (15')			ACN:H ₂ O 60% ACN (5') à 68% ACN(4') à 100% ACN (7')à 93% ACN (9')		
VAZÃO DA FASE MÓVEL	1 mL/min			1,8 mL/min		
TEMPERATURA DA COLUNA	Ambiente (sem forno)			30 °C (forno)		
VOLUME DE INJEÇÃO	30 µL			50 µL		
DETECÇÃO	Tempo (min)	λ_{exc}	λ_{em}	Tempo (min)	λ_{exc}	λ_{em}
	0-10	220	322	0-8.6	220	322
	10-32	240	392	8.6-22.80	240	392
	32-40	300	498	22.80-25	300	498
GC/MS/MS (Varian Saturno 2000)						
COLUNA CROMATOGRÁFICA	ZB-5 (Phenomenex), 5% fenil, 95% metilpolisiloxano. 30m x 0,25 mm x 0,25 µm					
TEMPERATURA DA COLUNA	100°C -- (10°C/min) -- 200°C -- (7°C/min) -- 250°C (5,86 min) -- 250°C -- 20°C/min -- 300°C (4,5 min)					
GÁS DE ARRASTE (vazão)	Hélio (1 mL/min)					
VOLUME DE INJEÇÃO (modo)	2µL (splitless)					
TEMPERATURA DO INJETOR	300 °C					
PARÂMETROS DO DETECTOR MS	Trap: 220°C Transfer line: 200°C Modo de excitação: não-ressonante à Amplitude excitação: 25,00V Scan rate: 0,5 scan/s					

Ainda, para as análises no GC/MS/MS, os íons escolhidos para refragmentação foram os mais intensos, correspondentes à MM de cada HPA e estão apresentados no Anexo III.

Tabela 10: Íon pai selecionado para sofrer a refragmentação no modo MS/MS.

HPA	<i>m/z</i>	HPA	<i>m/z</i>	HPA	<i>m/z</i>
Naftaleno	128	Fluoranteno	202	Benzo[k]Fluoranteno	253
Acenaftileno	152	Pireno	202	Benzo[a]Pireno	251
Acenafteno	153	Benzo[a]Antraceno	228	Dibenzo[ah]Antraceno	278
Fluoreno	165	Criseno	228	Benzo[ghi]Perileno	276
Fenantreno	178	Benzo[e]Pireno	251	Indeno[1,2,3cd]Pireno	276
Antraceno	178	Benzo[b]Fluoranteno	253		

3.1.5. OBTENÇÃO DOS GRÁFICOS DE LINEARIDADE, CURVAS ANALÍTICAS E LIMITES INSTRUMENTAIS DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

Os dados experimentais estão sujeitos a erros originários de diversas fontes, as quais podem resultar em “outliers”, ou seja, valores denominados “anômalos”, que devem ser removidos para garantir a confiabilidade dos resultados obtidos (DAVIES, 1988; MILLER, 1993). Esses valores anômalos podem ser identificados estatisticamente através de procedimentos adequados de tratamento de dados, tais como o Teste de Huber, que é considerado um método de estatística robusta (HUBER, 1981; BARNETT, 1984; AUGUSTO, 1990, PINI, 1995).

A regra de eliminação de Huber é realizada da seguinte maneira: calcula-se a mediana (x_{mediana}) dos valores obtidos para as análises em replicata da amostra (x_1, x_2, \dots, x_n), os resíduos ($u_1 = |r_1|, |r_2|, \dots, u_n = |r_n|$) e a mediana dos resíduos absolutos (u_{mediana}). A partir disso, são considerados anômalos todos os valores x_i que satisfizerem a seguinte condição:

$$|x_i - x_{\text{mediana}}| \geq k \cdot u_{\text{mediana}}$$

O parâmetro k é arbitrário, varia de 1 a 8, de forma que é sugerido que ele seja escolhido após simulações experimentais e interpretação das sucessivas rejeições obtidas (HUBER, 1981). Na prática, quanto maior for o valor de k mais permissivo é o critério de linearidade adotado, uma vez que amplia o intervalo de confiança.

Neste trabalho, essas simulações foram realizadas em planilha eletrônica (Microsoft Excel), sendo determinado o valor $k=5$, pois forneceu uma diminuição expressiva do desvio padrão entre as triplicatas das medidas realizadas para a mistura de referência (mistura padrão).

Foram construídos gráficos (Área/Concentração vs Concentração) em que são plotados os limites de confiança (superior e inferior) como ilustrado na

Figura 13 para cada um dos HPA. Estes limites foram calculados de acordo com a expressão:

$$X_{\text{mediana}} \pm k \cdot U_{\text{mediana}}$$

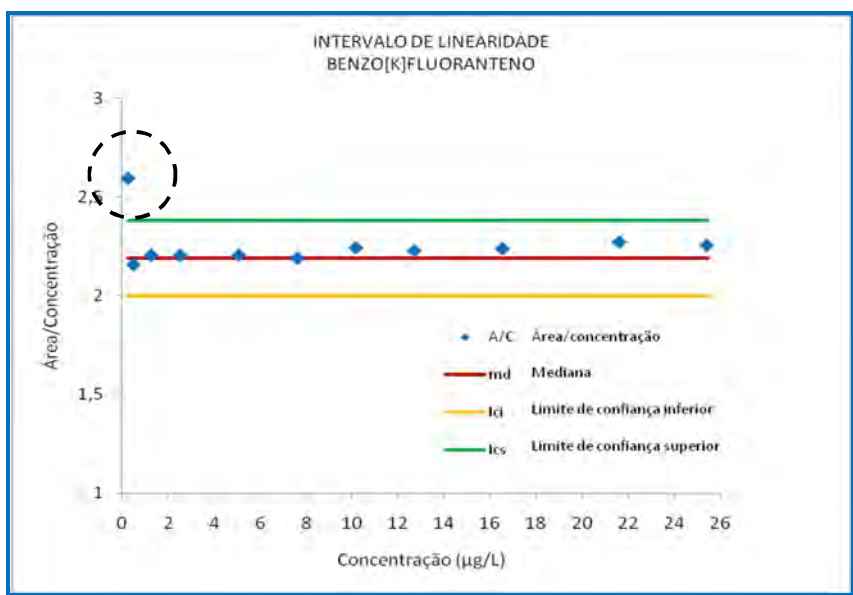


Figura 13: Gráfico do Teste de Huber para o benzo[b]fluoranteno.

Os valores que se encontram fora destes limites são considerados anômalos e devem ser eliminados, sendo que a curva analítica deve ser construída com os pontos que efetivamente encontravam-se no intervalo de linearidade, como ilustrado na Figura 14.

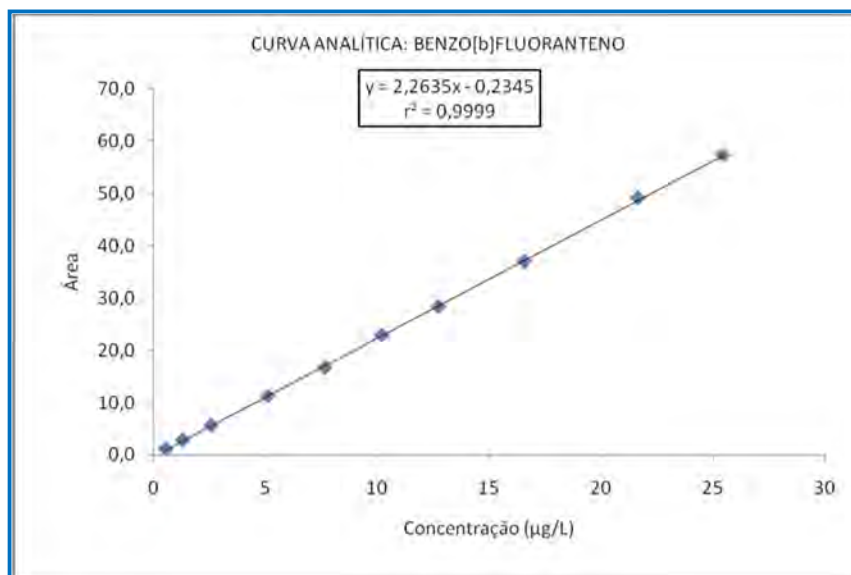


Figura 14: Curva analítica para o benzo[b]fluoranteno.

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) instrumentais podem ser calculados através de três maneiras distintas (RIBANI *et al.*, 2004):

- **MÉTODO VISUAL:** consiste na injeção de diferentes concentrações do analito; verificando experimentalmente a menor concentração que permite a distinção entre o sinal produzido pelo analito e a linha de base dada pelo equipamento.
- **MÉTODO RELAÇÃO SINAL/RUÍDO:** (normalmente três vezes) para o cálculo de LD e cinco a dez vezes para o LQ.
- **MÉTODO BASEADO EM PARÂMETROS DA CURVA ANALÍTICA:** Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) do equipamento para os analitos de interesse podem ser determinados seguindo o método recomendado pela IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) (CURRIE, 1999):

$$LD = 3 \times Sd/b$$

$$LQ = 3 \times LD$$

Sendo:

b: coeficiente angular da curva analítica do analito e;

Sd: desvio padrão da curva analítica.

Neste estudo foi utilizado o método visual para a determinação do LD, enquanto que o intervalo de confiança (ou de linearidade) e o limite de quantificação (LQ) foram estabelecidos pelo gráfico de análise de resíduos (Teste de Hubber), ou seja, o LQ é a concentração mais baixa que pertence ao intervalo de linearidade (RIBANI *et al.*, 2004).

3.1.6. DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DO MÉTODO PARA ANÁLISE DE HPAs EM SOLO

3.1.6.1. OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS DE SOLO TESTEMUNHA E SUA CARACTERIZAÇÃO

Os materiais de referência certificados para HPAs em solo, que estão comercialmente disponíveis, são constituídos por solo altamente impactado, geralmente por derramamento de petróleo ou derivados, o que distancia muito este material do contexto analítico/ambiental em estudo. Desta maneira, neste estudo de otimização e validação metodológica foram utilizadas amostra de solo enriquecidas com os HPAs.

Contando com a colaboração do Prof. Dr. Luis Vitor S. Sacramento (Faculdade de Ciências Farmacêuticas/UNESP/AQA), foram escolhidos os locais de amostragem e procedeu-se à coleta de amostras.

Os solos utilizados no processo de otimização do método para a análise de HPAs foram obtidos de dois locais distintos no município de Araraquara, sendo que o solo pobre em matéria orgânica (SPMO) foi obtido em uma área erodida (“barranco”) enquanto que o solo rico em matéria orgânica (SRMO) foi proveniente de uma área não cultivada do Horto de Plantas Tóxicas e Medicinais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP.

A coleta de amostras seguiu o preconizado pela Embrapa para coleta de solo para fins de análise de interesse agrícola (SILVA, 1999). Sucintamente a recomendação inclui:

- coletas de amostras representativas do ambiente amostral;
- homogeneidade na amostragem, com a divisão da área a ser amostrada em glebas (áreas menores);
- profundidade: 10 cm;
- coleta do material a ser analisado no laboratório deverá ser quarteado da amostra composta coletado em zigue-zague pelas glebas.

Após a coleta das amostras de campo e homogeneização, por quarteamentos sucessivos foram obtidas as amostras de laboratório, constituídas de cerca de 1 kg de cada tipo de solo. As amostras de laboratório foram acondicionadas em recipientes metálicos (marmitas de alumínio) e transportadas sob refrigeração (gelo reciclável, aproximadamente 20°C) ao IQ/UNESP. Após o processo de secagem ao ar em temperatura ambiente, as amostras foram destorroadas, trituradas em almofarriz de porcelana, peneiradas (tamiz de inox, 250 MESH) e armazenadas sob refrigeração (10°C) em frasco de vidro âmbar fechado, para serem posteriormente analisadas.

As fotos da Figura 15 ilustram o aspecto dos solos coletados.

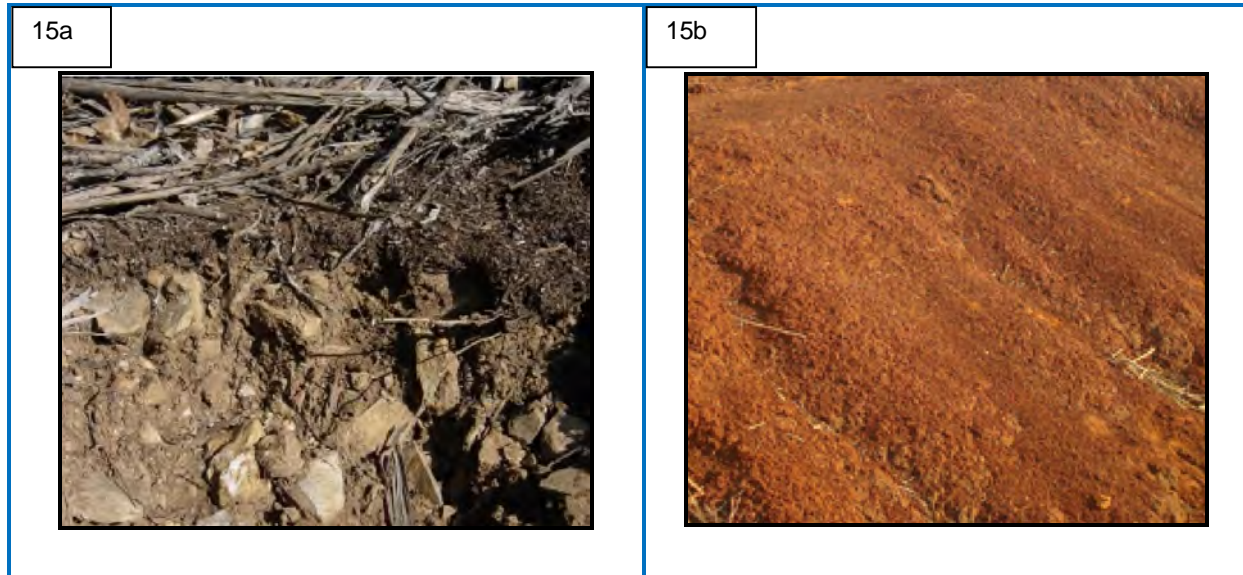


Figura 15: Solos coletados no município de Araraquara. Solo 15a – SRMO (Solo rico em matéria orgânica), e o solo 15b – SPMO (Solo pobre em matéria orgânica).

As análises do teor de matéria orgânica das amostras de solo foram realizadas no Laboratório de Solos do IQ-Unesp - AQU, o qual segue a metodologia preconizada pela EMBRAPA (SILVA *et al.*, 1999).

Na figura 16 está sumarizado o procedimento utilizado na determinação do teor de matéria orgânica do solo (SILVA, 1999; FUJITA, 2004).

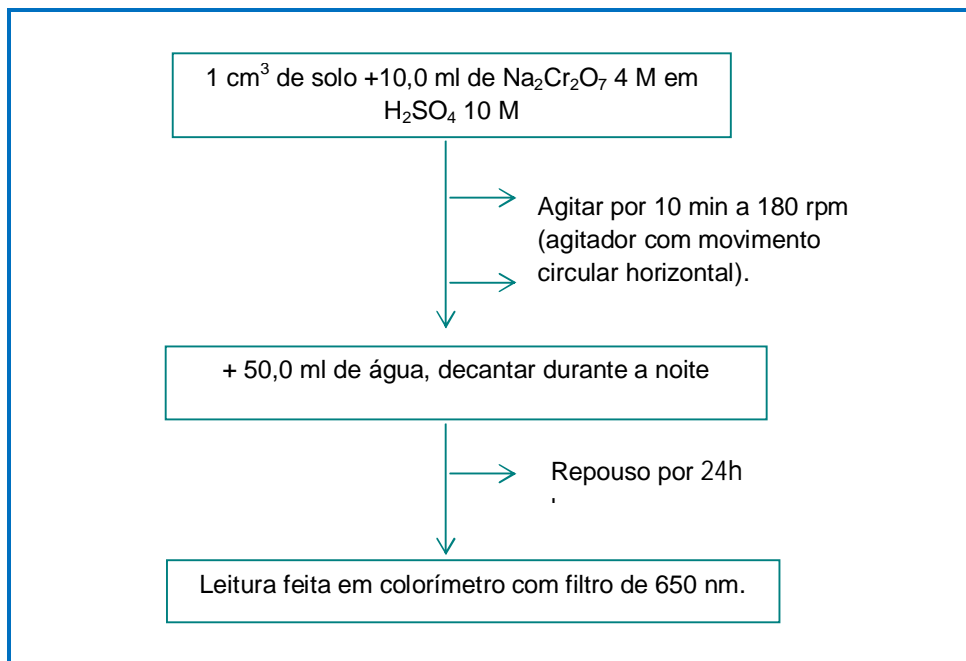


Figura 16: Fluxograma de análise de matéria orgânica segundo recomendação da EMBRAPA e IAC (SILVA, 1999; FUJITA, 2004).

Análises de MO nos solos amostrados nessa etapa do desenvolvimento do trabalho foram realizadas em triplicata, e posteriormente, denominados como:

- solo rico em MO (SRMO) e;
- solo pobre em MO (SPMO).

3.1.7. OTIMIZAÇÃO DO TRATAMENTO DA AMOSTRA

3.1.7.1. ENRIQUECIMENTO (OU FORTIFICAÇÃO) DAS AMOSTRAS DE SOLO TESTEMUNHA COM HPAS

Para avaliar a recuperação dos HPAs no processo de extração, foram utilizadas amostras de solo anteriormente caracterizadas quanto ao teor de MO em sua composição, e em seguida foram enriquecidas no laboratório com a solução padrão mista contendo os 16 HPAs nas concentrações explicitadas na Tabela 11. Estas concentrações foram escolhidas por representarem extratos que estão na região central do intervalo de linearidade para o sistema HPLC/Flu.

Tabela 11: Concentração dos HPAs na amostra fortificada utilizada no estudo de otimização do método.

HPAs	CONCENTRAÇÃO (ng g ⁻¹)	HPAs	CONCENTRAÇÃO (ng g ⁻¹)
P ₁ : Naftaleno	3,2	P ₉ : Criseno	6,2
P ₂ : Acenafteno	2,0	P ₁₀ : Benzo[e]Pireno	9,1
P ₃ : Fluoreno	3,8	P ₁₁ : Benzo[b]Fluoranteno	7,6
P ₄ : Fluoranteno	6,4	P ₁₂ : Benzo[k]Fluoranteno	1,2
P ₅ : Antraceno	2,8	P ₁₃ : Benzo[a]Pireno	7,4
P ₆ : Fluoranteno	7,6	P ₁₄ : Dibenzo[ah]Antraceno	2,8
P ₇ : Pireno	6,2	P ₁₅ : Benzo[ghi]Perileno	4,1
P ₈ : Benzo[a]Antraceno	6,2	P ₁₆ : Indeno[123cd]Pireno	1,6

O processo de fortificação da amostra consistiu na adição de 500µL de uma solução padrão mista de concentração adequada para que a amostra final

tivesse as concentrações da Tabela 11. A amostra foi homogenizada por agitação em vortex por 10 min. Depois disso foi deixada em repouso, ao abrigo da luz e sob refrigeração, por cerca de 4 horas. Decorrido este período, alíquotas da amostra foram submetidas ao tratamento em estudo.

O processo de fortificação foi o mesmo para amostras com diferentes teores de matéria orgânica (SRMO e SPMO).

3.1.7.2. EXTRAÇÃO COM SOLVENTE EM BANHO DE ULTRASSOM

Após a caracterização inicial das amostras de solo utilizadas no processo de otimização da metodologia para análise de HPAs, partiu-se para a etapa de extração e recuperação dos analitos. Os métodos para análise de solo encontrados na literatura, que empregam banho de ultrassom, utilizam sempre massa de amostra menor do que 10 g, pois em sua maioria enfocam solos provenientes de áreas altamente impactadas, principalmente por derramamento de petróleo e/ou derivados, como descrito na Tabela 5 (SONG *et al.*, 2007; CASTRO *et al.*, 2007; SÁNCHEZ-BRUNETE *et al.*, 2006; D'AGOSTINHO & FLUES, 2006; ÁLVAREZ-BERNAL *et al.*, 2007; HONDA *et al.*, 2007).

Para o município de Araraquara, infere-se que uma quantidade menor do que 10 g de amostra de solo poderia comprometer a quantificação dos HPAs nessa matriz, por se tratar de um solo que não é altamente impactado e conseqüentemente, a concentração dessas substâncias não deve ser tão elevada. Desta maneira, optou-se por empregar 10 g de amostra para estes estudos de otimização envolvendo banho de ultrassom.

Para a extração de HPAs de solo é relatado na literatura o uso de diferentes sistemas extratores. DCM:MeOH (1:4) (v/v) já havia sido utilizado em trabalhos desenvolvidos por este grupo de pesquisa para a extração de HPAs, envolvendo diferentes tipos de matrizes (fuligem de palha de cana-de-açúcar, rapadura e material particulado atmosférico), com recuperação dos analitos entre 80-95% (ANDRADE, 2000, 2004; POPPI, 2000; ZAMPERLINI, 1997; SILVA, 2006; CRISTALE, 2008). Mais recentemente, neste grupo de pesquisa avaliou-se o uso da mistura Hexano:Acetona (1:1, v/v) na extração de HPAs de

material particulado atmosférico, demonstrando excelente recuperações (CRISTALE, 2008), situando-se entre 70 - 85% o que é corroborado por outros autores (TUHÁCKOVA *et al.*, 2001; HUANG *et al.*, 2004). Na literatura também há citações fazendo o uso do solvente acetato de etila na extração de HPAs de solo (SÁNCHEZ-BRUNETE *et al.*, 2006).

Desta maneira, nesta etapa avaliou-se o desempenho do uso dos seguintes sistemas extratores:

- DCM:MeOH (1:4) (v/v) ;
- Hexano:Acetona (1:1) (v/v) e,
- Acetato de etila

O procedimento de extração utilizado está sumarizado no fluxograma da Figura 17.

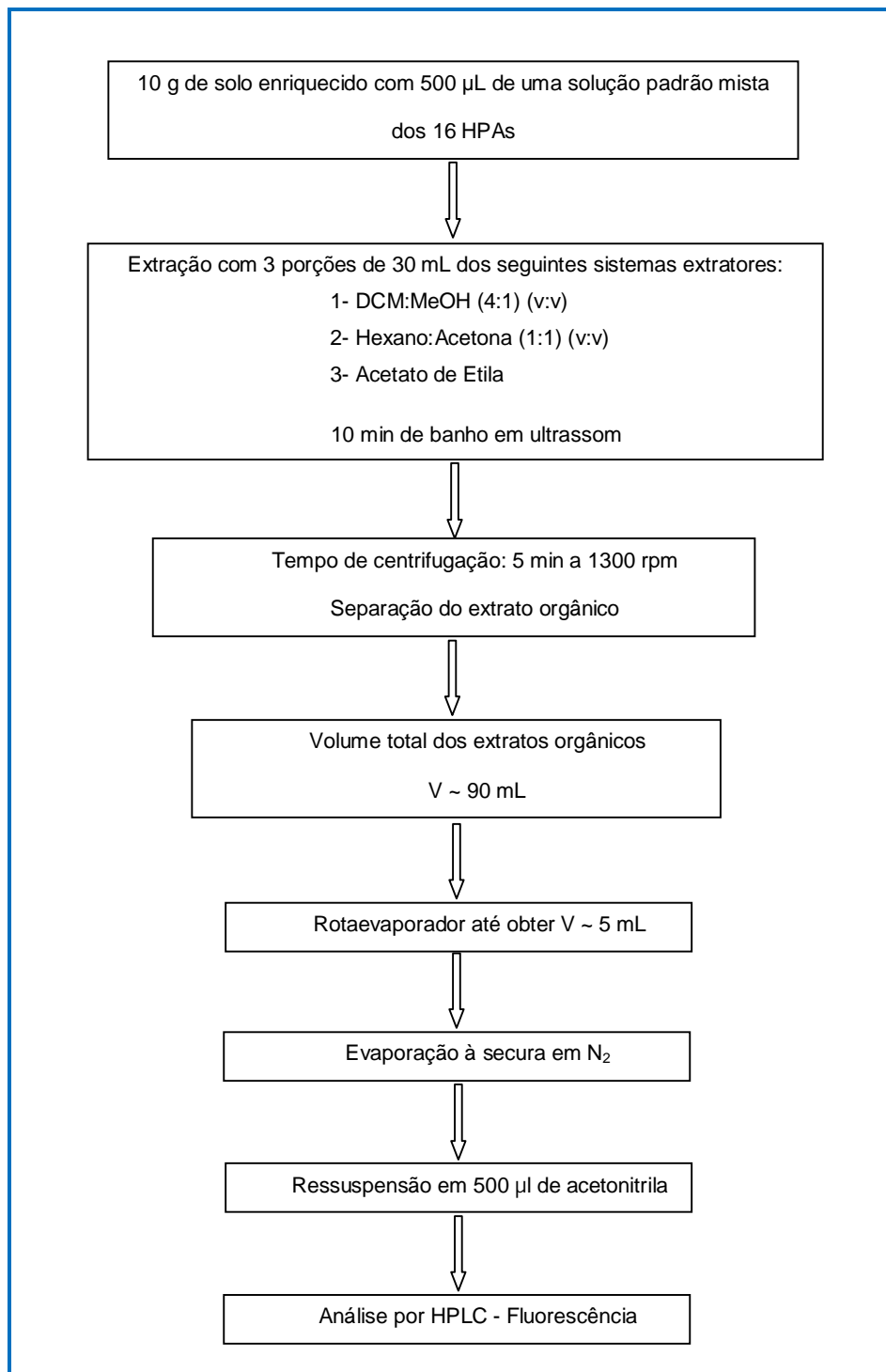


Figura 17: Fluxograma do procedimento de extração da amostra de solo em banho de ultrassom.

3.1.7.3. DISPERSÃO DA MATRIZ EM FASE SÓLIDA

A complexidade das amostras a serem analisadas e a exigência em quantificar níveis de concentração cada vez menores aponta para a necessidade de novos métodos de extração, equipamentos e novas técnicas para a análise traços presentes nos vários compartimentos ambientais. A etapa de preparação da amostra torna-se um desafio para a obtenção de métodos mais rápidos, que utilizem menores quantidades de solventes orgânicos, com maior seletividade para matrizes com baixas concentrações de analitos (LOPES & DÓREA, 2004).

Um método muito empregado atualmente na análise de matrizes sólidas e semi-sólidas é a dispersão da matriz em fase sólida (MSPD). Esse método consiste na dispersão da amostra sólida ou semi-sólida em um adsorvente apropriado para extração de resíduos ambientais e alimentares, e engloba a extração e *cleanup* dos extratos numa única etapa (PINHO et al., 2008; BAKER, 2000).

A amostra é introduzida em um recipiente contendo um suporte sólido (sorvente), misturada até a homogeneização e esse material (matriz + sorvente) é transferido para uma coluna de vidro e procede-se a eluição dos analitos de interesse com um solvente adequado. O suporte sólido ou dispersante atua como um abrasivo, promovendo o rompimento da estrutura física da amostra e como adsorvente de compostos na matriz. O material misturado pode ser empacotado em uma coluna e os analitos eluídos imediatamente (LOPES & DÓREA, 2004).

A escolha do suporte-adsorvente depende da polaridade do analito e da natureza da matriz. Normalmente, para aplicações que requerem uma fase lipofílica quimicamente ligada, o suporte-adsorvente utiliza materiais como C₁₈ ou C₈. O isolamento de analitos mais polares é realizado com suportes polares e o de analitos menos polares com suportes com menor polaridade (LANÇAS, 2004b).

O condicionamento e a pré-lavagem da mistura matriz-suporte na coluna de DMFS também podem ser utilizados para a ativação do adsorvente e eliminação de interferentes. Geralmente, o eluato da coluna DMFS está

satisfatoriamente limpo para ser injetado diretamente no cromatógrafo, entretanto, na maioria das vezes é necessário a remoção dos interferentes através de uma etapa de *cleanup*, conectando-se em série uma segunda coluna (co-coluna) contendo outra fase sólida na coluna DMFS, ou colocando-se uma fase sólida, como por exemplo, alumina, florissil, sílica, C₈ ou C₁₈ na coluna DMFS antes de adicionar a mistura matriz-suporte (DÓREA & LANÇAS, 1999).

O esquema ilustrativo do processo de extração utilizando a técnica dispersão da matriz em fase sólida (MSPD) pode ser visto na Figura 18 (LANÇAS, 2004b).

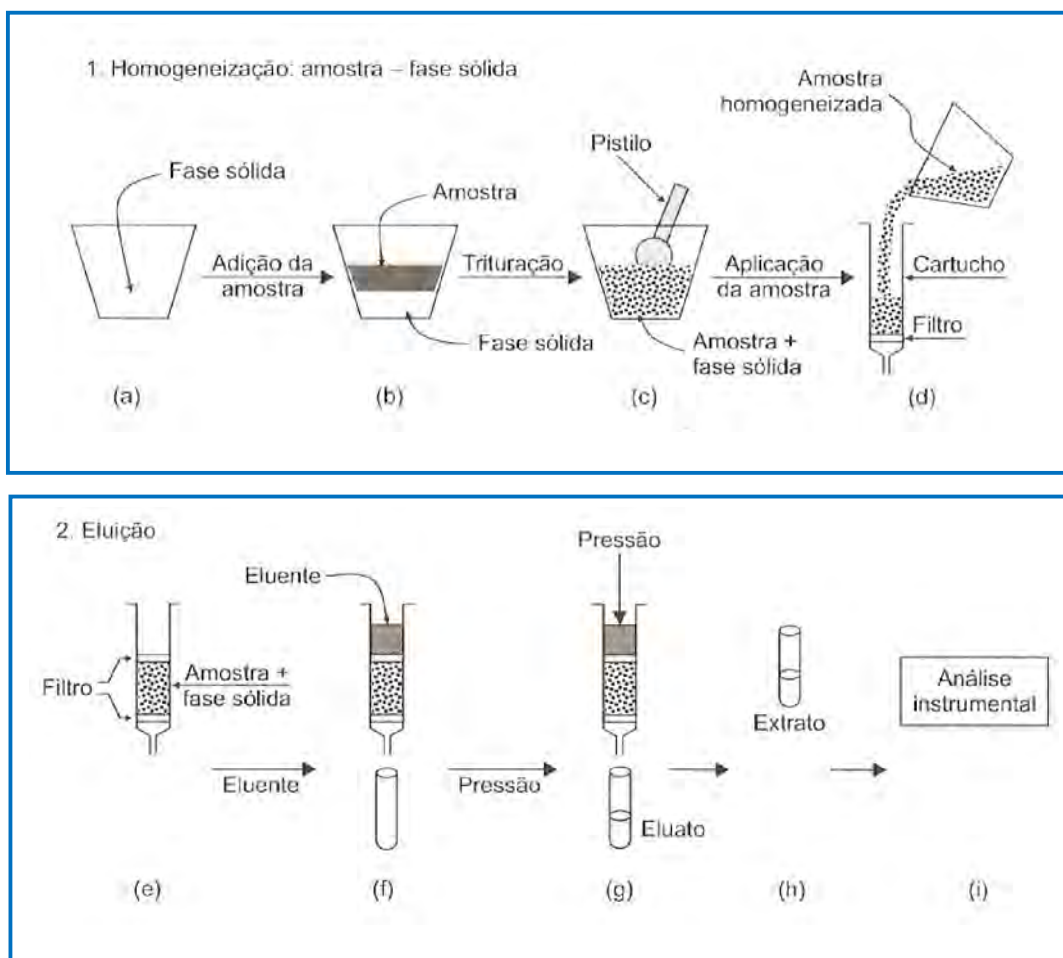


Figura 18: Etapas envolvidas no processo de Dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) (LANÇAS, 2004b).

O fluxograma da Figura 19 ilustra o procedimento que foi utilizado nesta etapa para extração de HPAs, utilizando a dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) para as amostras de solo (PENA *et al.*, 2006, 2007a, 2007b).

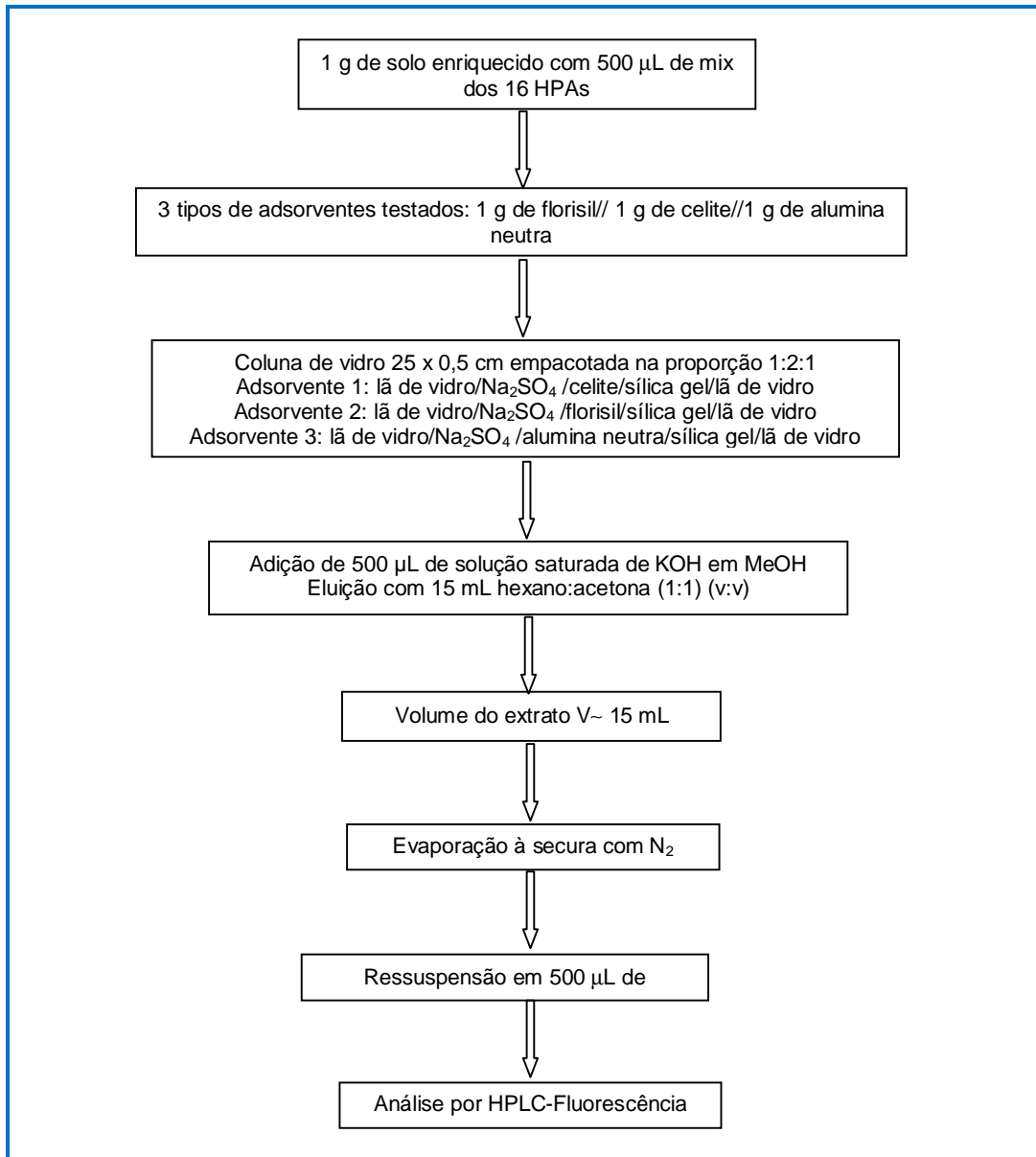


Figura 19: Fluxograma do procedimento de extração utilizando a Dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) para as amostras de solo (PENA *et al.*, 2006, 2007a, 2007b).

Como adsorvente na etapa de trituração foram utilizados: celite, florissil e alumina ativada e desativada. Na transferência do solo macerado com o

adsorvente para a coluna de vidro (25 x 0,5 cm) utilizou-se sílica como co-coluna, ou co-sorvente.

A Figura 20 apresenta a estrutura química da alumina, adsorvente utilizado tanto na etapa de maceração com o solo, quanto na etapa de eluição na coluna de vidro (AQUINO NETO, 2003).

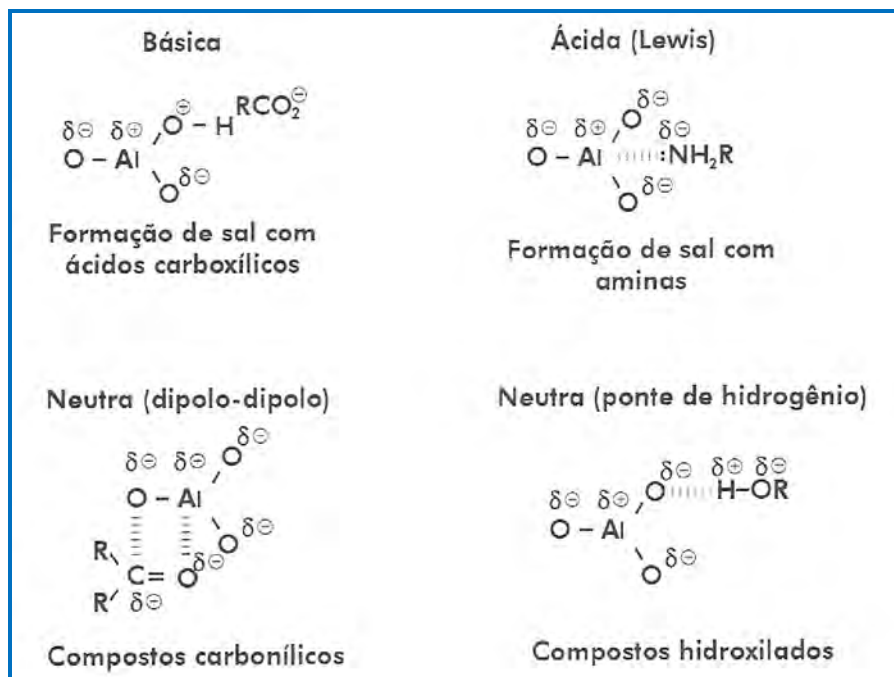


Figura 20: Estrutura química da alumina (Al₂O₃) utilizada como adsorvente nas etapas de maceração e eluição dos analitos (AQUINO NETO, 2003).

A escolha do sistema eluente foi baseada nas recuperações obtidas com os sistemas testados anteriormente: DCM:MeOH (4:1) (v:v), hex:ace (1:1) (v:v), acetato de etila. Dos 3 sistemas testados, hex:ace (1:1) (v:v) mostrou-se condizente com o processo de extração utilizado, além de que, há uma busca incessante pela diminuição na utilização de solventes clorados, a fim de minimizar os impactos ambientais, além da alta toxicidade apresentada pelos sistemas solventes que incluam DCM.

Segundo o IARC (Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer), o DCM pertence ao grupo 2B, o qual é classificado como possivelmente

carcinogênico a seres humanos. (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, 2009). Para o NIOSH (Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional dos EUA) o DCM é considerado uma substância com potencial carcinogênico ocupacional, por ser causador de câncer de pulmão, fígado e glândulas salivares em animais (NATIONAL INSTITUTE FOR OCCUPATIONAL AND SAFETY HEALTH, 2009).

Em contrapartida, o hexano e a acetona não apresentam nenhuma restrição em ambas às agências citadas anteriormente. Além disso, o Protocolo de Kyoto sugere a substituição dos compostos organo-clorados por outros que apresentem uma menor toxicidade (CAVALCANTE *et al.*, 2008).

3.1.7.4. AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DO MÉTODO

Nesta etapa foram utilizadas amostras fortificadas, da mesma maneira já explicitada no item 3.1.7.1, porém com concentrações que representam extratos no início, meio e final da curva analítica. As concentrações das amostras enriquecidas para esta fase do trabalho estão na tabela 12.

O enriquecimento nestes níveis foi efetuado para amostra de SPMO e SRMO. As análises foram feitas em triplicata.

Tabela 12: Concentrações de HPAs nas amostras de solo fortificadas.

	HPAs	Nível 1	Nível 2	Nível 3
		ng g ⁻¹		
1	Naftaleno	1,06	3,19	5,31
2	Acenafteno	0,65	1,95	3,25
3	Fluoreno	1,25	3,75	6,25
4	Fenantreno	2,12	6,36	10,61
5	Antraceno	0,93	2,79	4,65
6	Fluoranteno	2,54	7,62	12,70
7	Pireno	2,07	6,20	10,33
8	Benzo[a]Antraceno	2,08	6,23	10,38
9	Criseno	2,07	6,22	10,37
10	Benzo[e]Pireno	3,02	9,06	15,10
11	Benzo[b]Fluoranteno	2,54	7,63	12,71
12	Benzo[k]Fluoranteno	0,38	1,15	1,91
13	Benzo[a]Pireno	2,45	7,36	12,27
14	Benzo[g,h,i]Perileno	0,94	2,82	4,70
15	Dibenzo[a,h]Antraceno	1,35	4,06	6,77
16	Indeno [1,2,3-cd]Pireno	0,53	1,59	2,65

3.2. ESTUDO AMBIENTAL

3.2.1. LOCALIZAÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

As amostras de solo foram coletadas em duas usinas, situadas no município de Araraquara- Usina Zanin e Usina Santa Cruz- em duas áreas de aproximadamente 1000 m² previamente demarcados pelas usinas para a realização do presente trabalho, sendo que em cada usina havia áreas com alto e baixo teor de matéria orgânica.

A escolha das usinas ocorreu devido ao interesse das mesmas em dar abertura para o desenvolvimento do trabalho, fornecendo todo o suporte técnico adequado, desde a demarcação da área até a disponibilidade de funcionários das respectivas usinas para realizar as coletas das amostras ambientais. Nos locais de amostragem ocorre queima de cana-de-açúcar há pelo menos sete anos consecutivos.

As usinas mencionadas comprometeram-se a manterem as mesmas condições do solo, tanto na safra quanto na entressafra. Não houve a adição de vinhaça nesses locais configurados para a amostragem, o que poderia contribuir com o aumento da matéria orgânica e interferentes que poderiam resultar em conclusões distorcidas da situação real. Na Tabela 13 estão descritas as coordenadas e características dos locais amostrados. Nas Figuras 21 e 22 estão ilustrados os mapas referentes à localização da amostragem.

Tabela 13: Coordenadas dos locais de coleta, teor de matéria orgânica e classificação do solo. (SILVA, 1999; USINA SANTA CRUZ, 2009; USINA ZANIN, 2009)

LOCAL DE AMOSTRAGEM	COORDENADAS	MATÉRIA ORGÂNICA (g dm ⁻³)	CLASSIFICAÇÃO DO SOLO
Ponto 1 Usina Zanin	Lat: 21 ^o 51' 41,80" Long: 48 ^o 08' 49,93"	36	Latossolo
Ponto 2 Usina Zanin	Lat: 21 ^o 51' 18,17" Long: 48 ^o 16' 57,84"	11 - 13	Latossolo
Ponto 1 Usina Santa Cruz	Lat: -21 ^o 40' 12" Long: -47 ^o 57' 41"	11 - 15	Latossolo
Ponto 2 Usina Santa Cruz	Lat: -21 ^o 40' 23" Long: -47 ^o 57' 23"	22 - 24	Latossolo

Análises realizadas em triplicata pelo Laboratório de Solos do IQ/Unesp.



Figura 21: Localização da Usina Zanin e os locais de onde foram realizadas as coletas ambientais (USINA ZANIN, 2009).



Figura 22: Localização da Usina Santa Cruz e os locais de onde foram realizadas as coletas ambientais (USINA SANTA CRUZ, 2009).

3.2.2. OBTENÇÃO, ARMAZENAMENTO E TRATAMENTO DAS AMOSTRAS DE SOLO

Foram coletadas amostras, na profundidade de aproximadamente 10 cm, cerca de 500 g em 15 pontos distribuídos randomicamente em cada área demarcada de cada um dos sítios de amostragem. As amostras de cada área foram reunidas e por quarteamentos sucessivos obteve-se a amostra de laboratório (cerca de 2 kg).

Para obtenção das amostras foi utilizado um trado (Figura 23). Ambos os trados utilizados para realizar as coletas de solo eram de aço inoxidável, a fim de evitar contaminação das amostras pelas tintas e pelos banhos utilizados para a proteção contra a oxidação das ferramentas feitas em aço carbono (SONDATERRA, 2009).

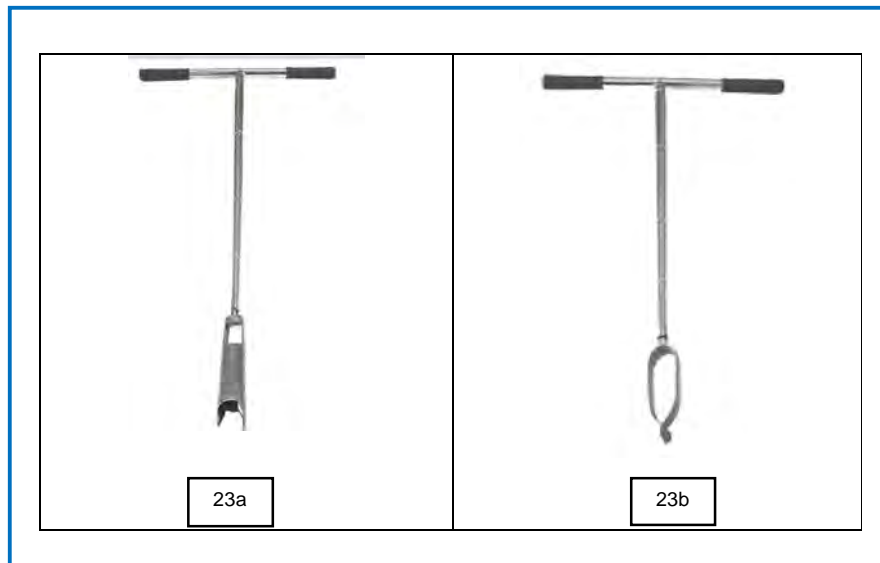


Figura 23: Trado Caneco (Usina Zanin) (23a) e Trado Holandês (Usina santa Cruz) (23b) (SONDATERRA, 2009).

O armazenamento e tratamento das amostras do estudo ambiental foi o mesmo já descrito para as amostras de solo-testemunha.

Nas Figuras 24, 25 e 26 ilustram as áreas demarcadas para o estudo no período da safra e entressafra, e as coletas realizadas nos respectivos períodos. Foram seguidas as mesmas condições de amostragem para as áreas de trabalho.

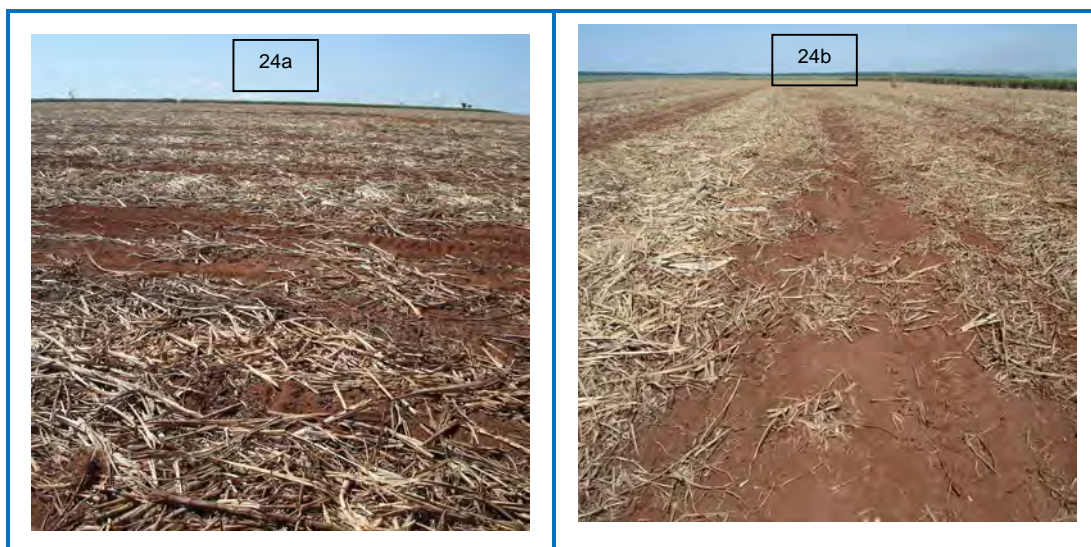


Figura 24: Área de solo rico (SRMO - 24a) e pobre (SPMO - 24b) em matéria orgânica, na época da safra para o desenvolvimento do trabalho, usina Santa Zanin.

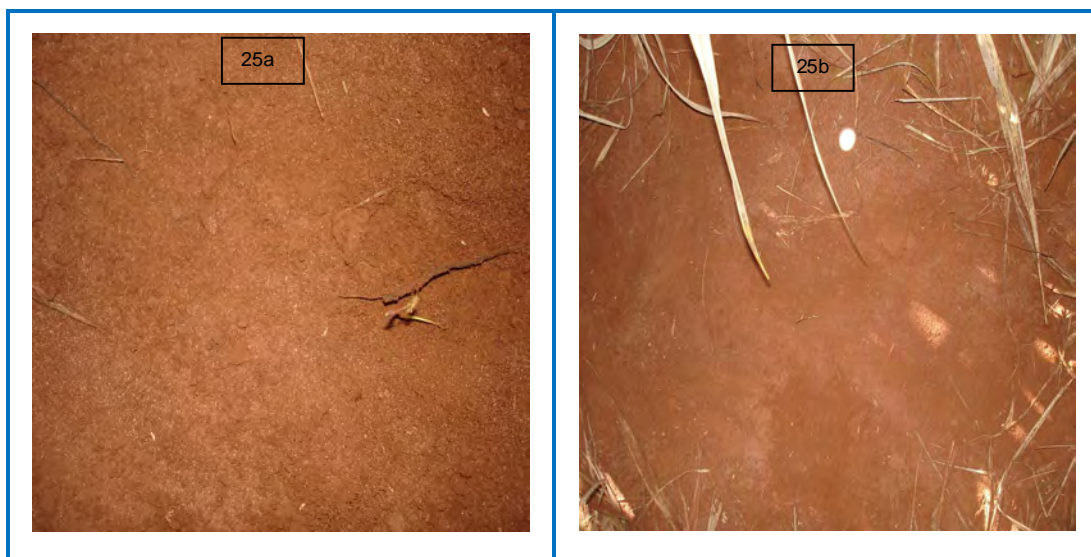


Figura 25: Área de solo rico (SRMO - 25a) e pobre (SPMO - 25b) em matéria orgânica, na época da entressafra para o desenvolvimento do trabalho, usina Santa Cruz.



Figura 26: Etapas da coleta de solo pobre em matéria orgânica (SPMO), na época da entressafra, usina Santa Cruz.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. DESENVOLVIMENTO ANALÍTICO

4.1.1. COMPARAÇÃO DOS SISTEMAS ANALÍTICOS

GC/MS/MS (VARIAN, SATURNO 2000) E

HPLC/FLUORESCÊNCIA (VARIAN PRO STAR E VARIAN
LC920)

As Figuras 27 e 28 ilustram o desempenho na resolução analítica obtida para soluções padrão contendo os 16 HPAs.

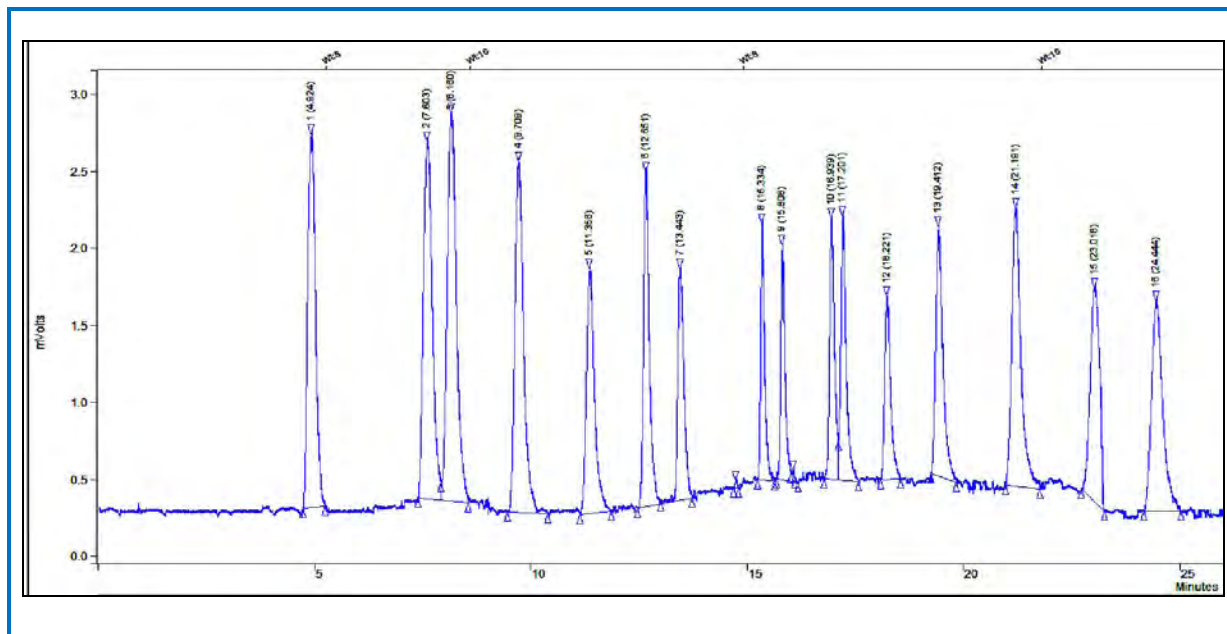


Figura 27: Cromatograma (HPLC/Flu) obtido da análise de uma solução padrão dos 16 HPAs (concentrações do ponto 6 da Tabela 24 do anexo II) no sistema ProStar VARIAN.

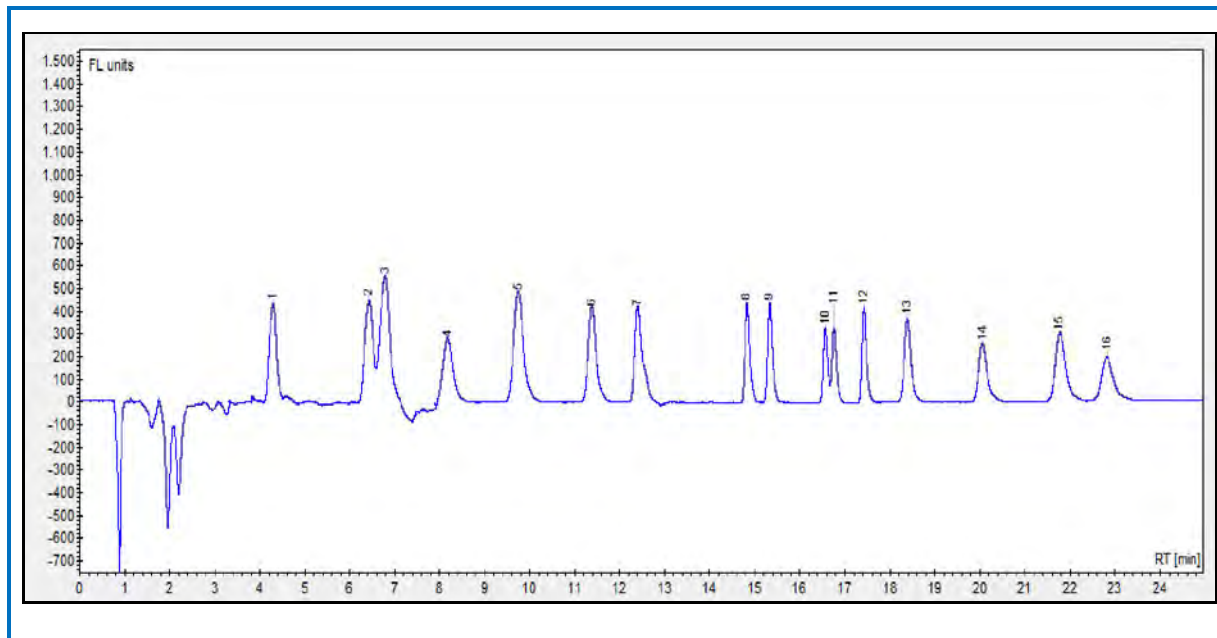


Figura 28: Cromatograma (HPLC/Flu) obtido da análise de uma solução padrão dos 16 HPAs (concentrações do ponto 7 da Tabela 25 do anexo II) no sistema LC 920 VARIAN.

Em termos de resolução cromatográfica e de tempo de análise os sistemas são muito similares.

Os gráficos de linearidade (Teste de Huber) e as respectivas curvas analíticas para cada um dos HPAs avaliados estão listadas no Anexo IV.

Nas Tabelas 14, 15 e 16 são apresentados os dados do desempenho de cada um dos sistema cromatográficos avaliados.

Tabela 14: Limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e coeficiente de correlação para os 17 HPAs analisados por GC-MS/MS (SILVA, 2006; CRISTALE, 2008).

HPAs	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO r^2
1- Naftaleno	1,94	7,79	0,9996
2- Acenaftileno	1,96	7,84	0,9999
3- Acenafteno	1,94	7,76	0,9999
4- Fluoreno	1,92	7,68	0,9998
5- Fenantreno	1,95	7,80	0,9998
6- Antraceno	1,93	7,73	0,9998
7- Fluoranteno	1,94	7,78	0,9999
8- Pireno	1,94	7,78	0,9999
9- Benzo[a]Antraceno	1,94	8,02	0,9998
10- Criseno	1,95	7,80	0,9999
11- Benzo[e]Pireno	1,90	7,62	0,9994
12- Benzo[b]Fluoranteno	1,98	7,93	0,9995
13- Benzo[k]Fluoranteno	1,96	7,86	0,9995
14- Benzo[a]Pireno	1,97	7,90	0,9998
15- Dibenzo[ah]Antraceno	1,98	7,93	0,9954
16- Benzo[ghi]Perileno	1,96	7,87	0,9765
17- Indeno[1,2,3-cd]Pireno	1,94	7,76	0,9971

Tabela 15: Limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e coeficiente de correlação para os 16 HPAs analisados por HPLC-Fluorescência PRO STAR VARIAN (CRISTALE, 2008).

HPAs	INTERVALO DE QUANTIFICAÇÃO ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	EQUAÇÃO DA RETA	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO r^2
1- Naftaleno	0,21 - 3,43	-	$y = 1,58 \cdot 10^{-5} x - 0,112$	0,9952
2- Acenafteno	0,05 - 0,80	-	$y = 4,76 \cdot 10^{-5} x + 0,0232$	0,9968
3- Fluoreno	0,15 - 2,50	0,3	$y = 3,03 \cdot 10^{-5} x - 0,695$	0,9943
4- Fenantreno	0,57 - 9,20	0,9	$y = 3,13 \cdot 10^{-5} x + 0,232$	0,9998
5- Antraceno	0,02 - 0,25	0,03	$y = 5,13 \cdot 10^{-5} x - 0,0927$	0,9920
6- Fluoranteno	1,70 - 26,0	2,8	$y = 4,41 \cdot 10^{-4} x + 7,63$	0,9986
7- Pireno	0,14 - 2,30	0,2	$y = 9,54 \cdot 10^{-6} x + 0,304$	0,9987
8- Benzo[a]Antraceno	0,10 - 1,70	0,2	$y = 1,80 \cdot 10^{-5} x + 0,0524$	0,9999
9- Criseno	0,43 - 7,00	0,7	$y = 3,94 \cdot 10^{-5} x + 0,066$	0,9972
10- Benzo[e]Pireno	0,29 - 4,70	0,5	$y = 4,57 \cdot 10^{-5} x + 0,588$	0,9999
11- Benzo[b]Fluoranteno	0,02 - 2,90	0,3	$y = 6,17 \cdot 10^{-5} x + 0,327$	0,9983
12- Benzo[k]Fluoranteno	0,02 - 0,37	0,04	$y = 1,30 \cdot 10^{-5} x + 0,005$	0,9924
13- Benzo[a]Pireno	0,05 - 0,79	0,08	$y = 1,08 \cdot 10^{-5} x + 0,077$	0,9924
14- Dibenzo[ah]Antraceno	1,40 - 22,0	2,3	$y = 1,55 \cdot 10^{-4} x + 5,250$	0,9980
15- Benzo[ghi]Perileno	2,20 - 35,0	3,7	$y = 3,90 \cdot 10^{-4} x + 6,160$	0,9985
16- Indeno[1,2,3-cd]Pireno	2,10 - 34,0	3,6	$y = 2,36 \cdot 10^{-4} x + 8,190$	0,9974

Tabela 16: Limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e coeficiente de correlação para os 16 HPAs analisados por HPLC-Fluorescência LC 920 VARIAN.

HPA	INTERVALO DE QUANTIFICAÇÃO ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	EQUAÇÃO DA RÉTA	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO r^2
1- Naftaleno	0,53 - 10,62	0,11	$y = 22,81.x - 4,1667$	0,9981
2- Acenafteno	0,13 - 6,50	0,07	$y = 35,293.x - 1,2356$	0,9999
3- Fluoreno	0,63 - 12,50	0,13	$y = 19,509.x - 1,0399$	0,9999
4- Fenantreno	0,42 - 21,21	0,23	$y = 13,897.x - 1,5546$	0,9928
5- Antraceno	0,10 - 9,30	0,19	$y = 34,494.x - 1,9047$	0,9997
6- Fluoranteno	0,27 - 25,40	0,27	$y = 7,5211.x - 0,7964$	0,9998
7- Pireno	0,41 - 20,65	0,22	$y = 10,551.x - 1,2464$	0,9998
8- Benzo[a]Antraceno	0,22 - 20,75	0,22	$y = 6,4345.x - 0,9211$	0,9998
9- Criseno	0,22 - 20,73	0,22	$y = 6,7403x - 0,8377$	0,9997
10- Benzo[e]Pireno	0,32 - 25,69	0,32	$y = 2,3056.x - 0,5976$	0,9997
11- Benzo[b]Fluoranteno	0,51 - 25,42	0,27	$y = 2,2635.x - 0,2345$	0,9999
12- Benzo[k]Fluoranteno	0,08 - 3,82	0,04	$y = 29,95.x - 0,8043$	0,9999
13- Benzo[a]Pireno	0,26 - 24,53	0,26	$y = 6,3185.x - 1,4304$	0,9996
14- Dibenzo[ah]Antraceno	0,10 - 9,40	0,10	$y = 15,465.x - 0,9138$	0,9999
15- Benzo[ghi]Perileno	0,27 - 13,53	0,14	$y = 15,027.x - 1,8489$	0,9993
16- Indeno[1,2,3-cd]Pireno	0,27 - 5,30	0,06	$y = 28,155.x - 1,8752$	0,9995

Como este estudo envolve análise de traços é extremamente importante a utilização de uma técnica que apresente baixos limites de detecção e de quantificação. Elemento-traço é aquele presente em baixa concentração em um meio e que pela sua presença fornece informações relevantes ou por suas propriedades químicas e físicas exerce uma marcante influência (positiva ou

negativa) sobre o meio. (HOWARD & STATHAM, 1993; VANDECASTEELE & BLOCK, 1993) Devido os limites de detecção e quantificação serem menores em relação ao GC-MS, será utilizada a técnica HPLC-Fluorescência para a quantificação dos HPAs nas matrizes de interesse. A grande maioria dos trabalhos relatados na literatura estão em concordância quanto a alta seletividade e sensibilidade apresentada pelo HPLC acoplado ao detector de Fluorescência (WEIßHOFF *et al.*, 2002; LAAK *et al.*, 2006, CONTE *et al.*, 2001; NADAL *et al.*, 2004). Esse tipo de detector detecta somente moléculas que fluorescem no comprimento de onda de excitação e emissão característicos. Entretanto, a técnica GC-MS será empregada para confirmação da identidade dos HPAs, quando necessário.

O sistema ProStar sofreu avarias no último ano e ficou inoperante 4 meses, em dezembro/2008 foram instalados dois novos sistemas HPLC-Fluorescência (LC-920, VARIAN) no laboratório da orientadora. Como o sistema ProStar, embora operante nesta data, estivesse com a resposta aquém do habitual, fez também o estudo da resposta do novo sistema HPLC, como consta na Tabela 9.

Comparando os dois sistemas cromatográficos HPLC, pode-se observar que a resposta do sistema LC-920 apresenta uma maior sensibilidade na aquisição dos dados em relação ao HPLC Pro Star, fato esse confirmado pelas diluições.

Um fator importante que deve ser mencionado é que o volume injetado no equipamento: o HPLC Pro Star $V_{inj} = 30 \mu\text{L}$; o LC-920 $V_{inj} = 50 \mu\text{L}$. Como se trata de amostras traço (ordem de $\mu\text{g g}^{-1}$), quanto maior o volume injetado no equipamento, maiores as chances dessas substâncias serem detectadas durante a análise. Curvas analíticas para os 16 HPAs foram construídas utilizando os pontos que efetivamente encontravam-se no intervalo de linearidade (avaliado pelo Teste de Huber), sendo que as injeções de cada ponto da curva no sistema cromatográfico foram realizadas em triplicata. A Tabela 16 apresenta a equação da reta, o intervalo de linearidade e o coeficiente de correlação (r^2) para os 16 HPAs analisados por HPLC-Flu (LC 920).

A Figura 29 apresenta como exemplo, os gráficos de Intervalos de linearidade e da curva analítica de dois HPAs. Observa-se uma tendência aos

pontos localizados nas extremidades da curva analítica de não estarem dentro do intervalo de linearidade. Isso ocorre devido aos desvios inerentes a Lei de Lambert-Beer, que nas extremidades da curva analítica têm-se concentrações muito baixas e muito altas, respectivamente. Esse fato faz com que ocorra alterações na absorbância, e conseqüentemente leva aos desvios da lei de Lambert-Beer (LENS, 1997).

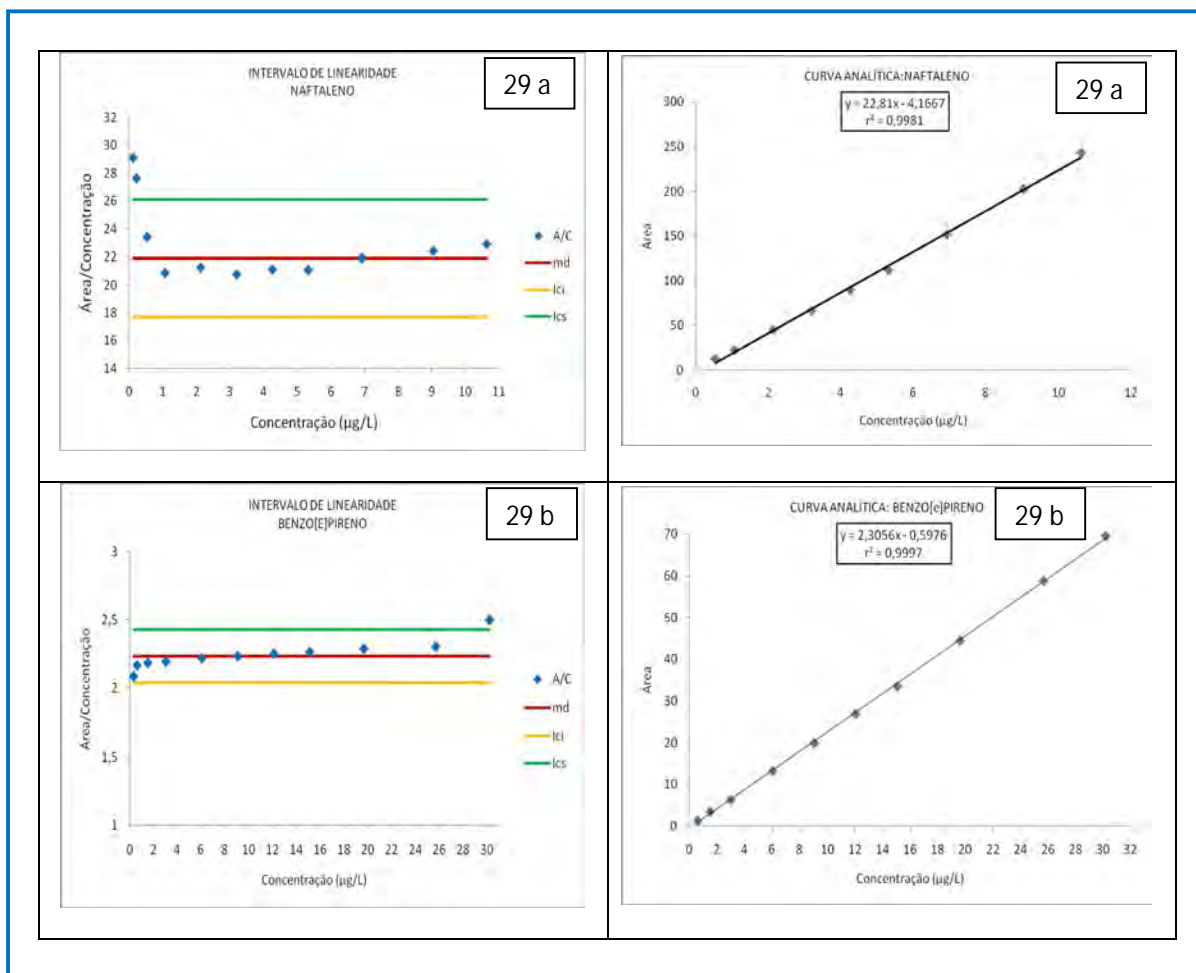


Figura 29: Exemplos de gráfico de linearidade e curva analítica: naftaleno (29a) e benzo[e]pireno(29b).

Como pode ser observado, pelos dados apresentados nas Tabelas 15 e 16, o sistema LC-920 apresenta limites de quantificação e detecção melhores do que o sistema ProStar.

4.1.2. DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DO MÉTODO PARA ANÁLISE DE HPA EM SOLO

4.1.2.1. CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS TESTEMUNHA, EM TERMOS DE MATÉRIA ORGÂNICA

Os valores de MO pelo método da EMBRAPA (resultados expressos em g/dm^3) são apresentados na Tabela 17.

Tabela 17: Resultados obtidos para a análise de Matéria Orgânica (MO) em solo.

AMOSTRA DE SOLO		LABORATÓRIO UNESP SATQ (g dm^{-3})
SOLO RICO EM MO SRMO	1	34
	2	34
	3	32
SOLO POBRE EM MO SPMO	1	14
	2	15
	3	14

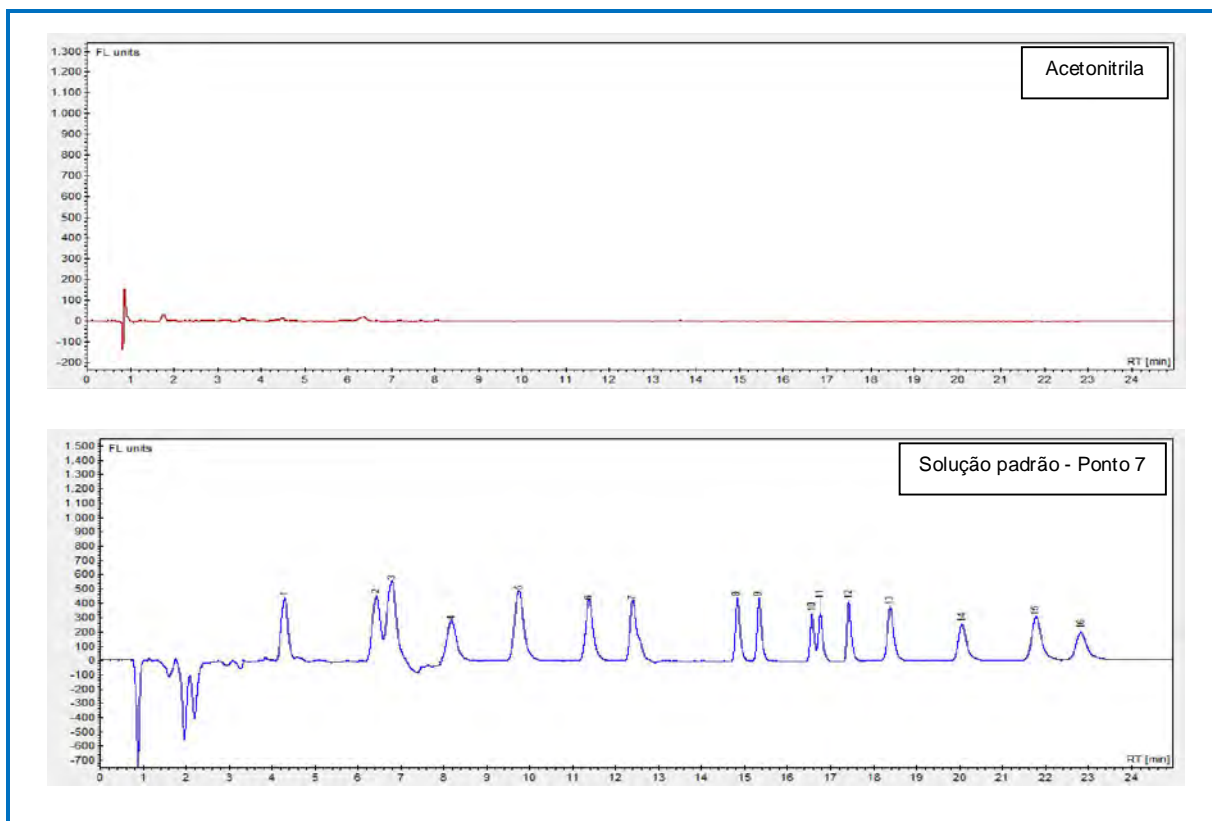
Com os resultados obtidos para a análise de MO, pode-se constatar uma superestimação do C orgânico pelo método de calcinação. Além disso, como o método realizado pelo Laboratório de solos da Unesp utiliza a metodologia seguida pela Embrapa, as demais análises de solo foram todas caracterizadas por esse método.

De acordo com estes resultados, para efeito do estudo efetuado, o solo com mais de 30 g MO dm^{-3} foi denominada “solo rico em MO” e o solo com menos de 15 g MO dm^{-3} , foi denominado “solo pobre em MO”.

4.1.2.2. EXTRAÇÃO COM SOLVENTE EM BANHO DE ULTRASSOM

Estes estudos iniciais permitiram concluir que os resultados obtidos com as análises dos extratos não foram satisfatórios, pois forneceram baixas porcentagens de recuperação para os HPAs, que neste caso apresentaram recuperações com valores muito discrepantes (15 - 230%) do que é aceitável (70 - 120%) para os sistemas extratores testados. Isso ocorreu provavelmente porque a matriz ambiental em questão possui alta complexidade, impossibilitando a extração dos analitos de interesse utilizando apenas ultrassom.

Com isso, iniciou-se a busca por alternativas que viabilizassem a recuperação dos analitos de interesse. A Figura 30 ilustra os cromatogramas obtidos para o sistema extrator hex:ace (1:1) (v:v) em ultrassom, sistema que apresentou o melhor resultado dentre os extratores testados.



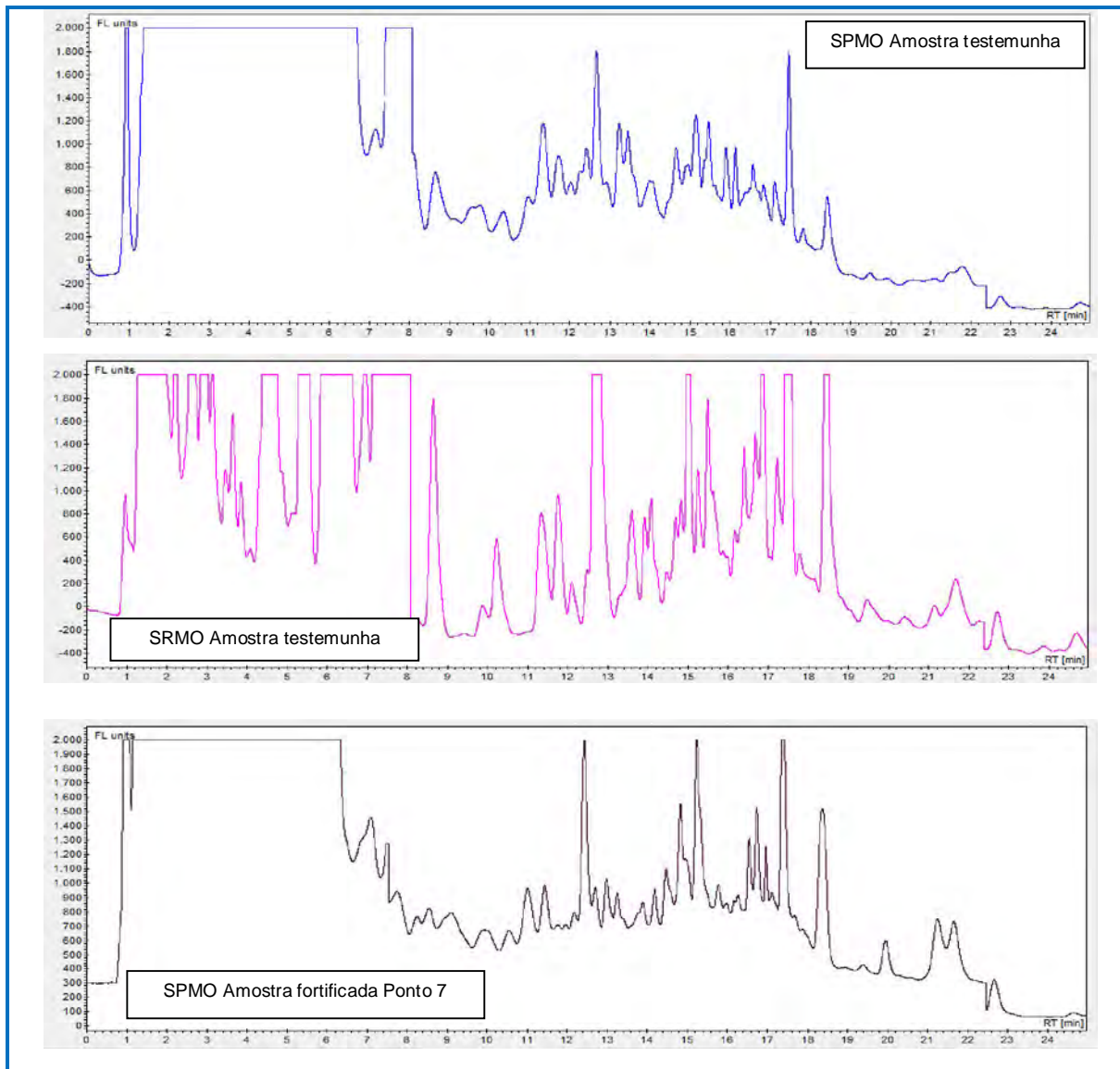
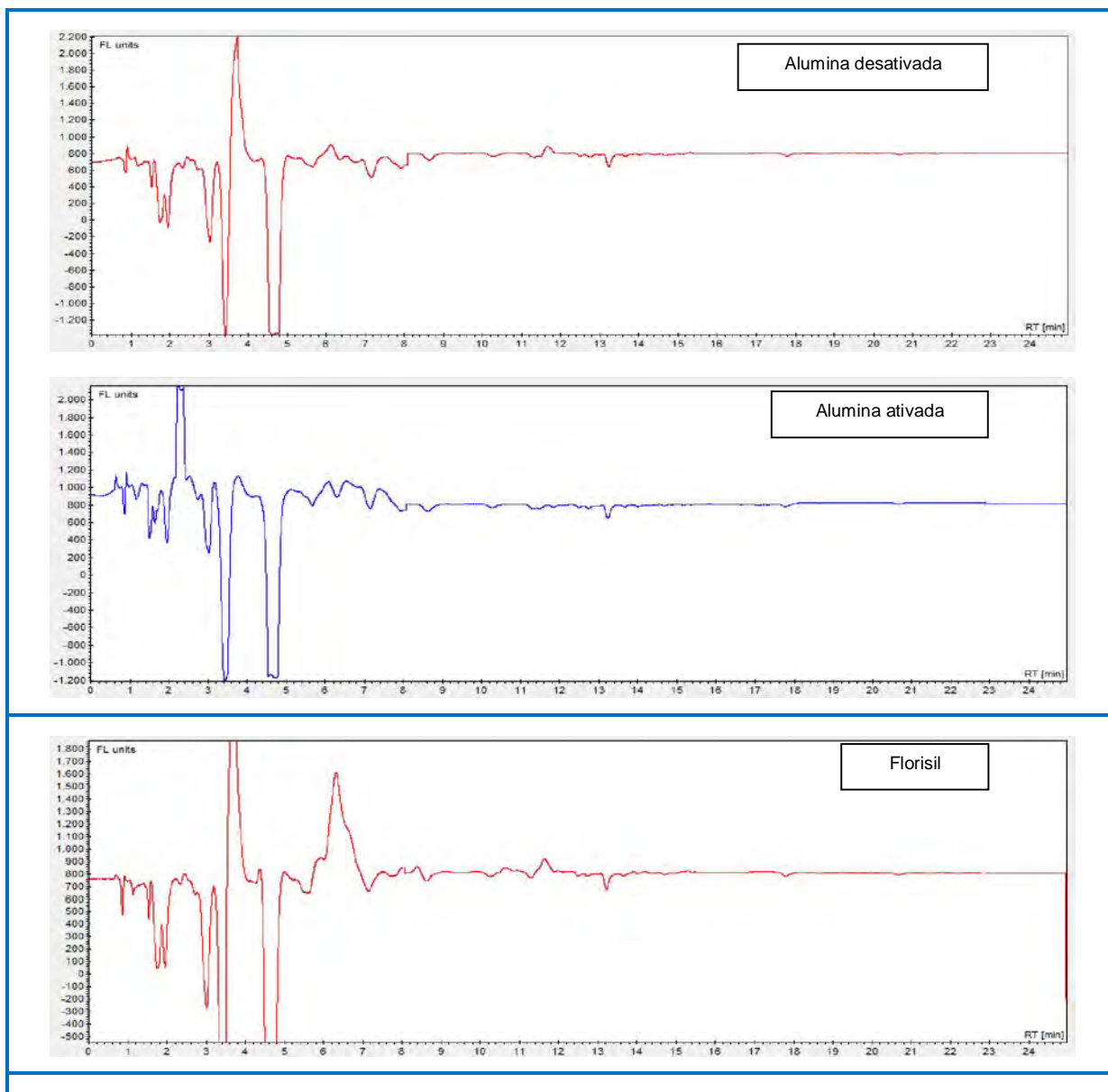


Figura 30: Cromatogramas obtidos para o sistema extrator Hex: Ace (1:1) (v:v) em ultrassom.

4.1.2.3. DISPERSÃO DE MATRIZ EM FASE SÓLIDA

O desempenho de cada um dos adsorventes pode ser verificado através dos cromatogramas obtidos com a análise dos extratos ressuspensos em acetonitrila da Figura 31.



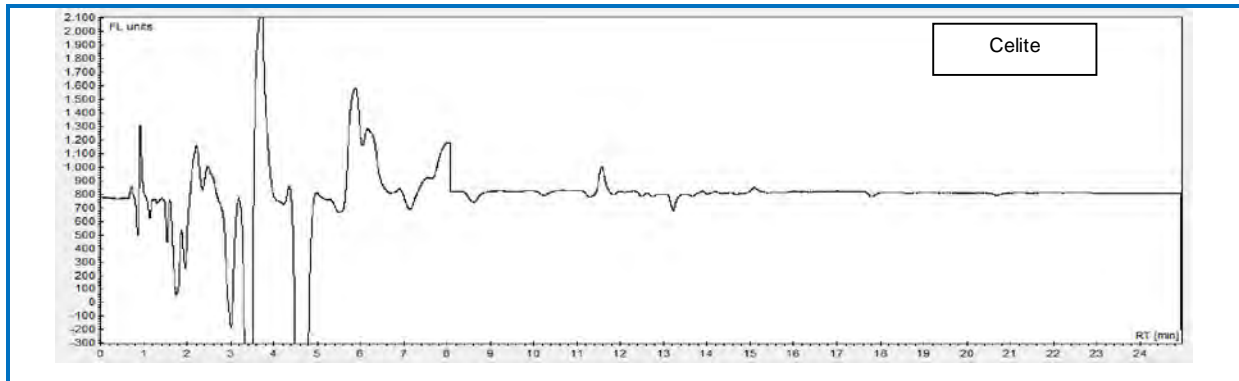


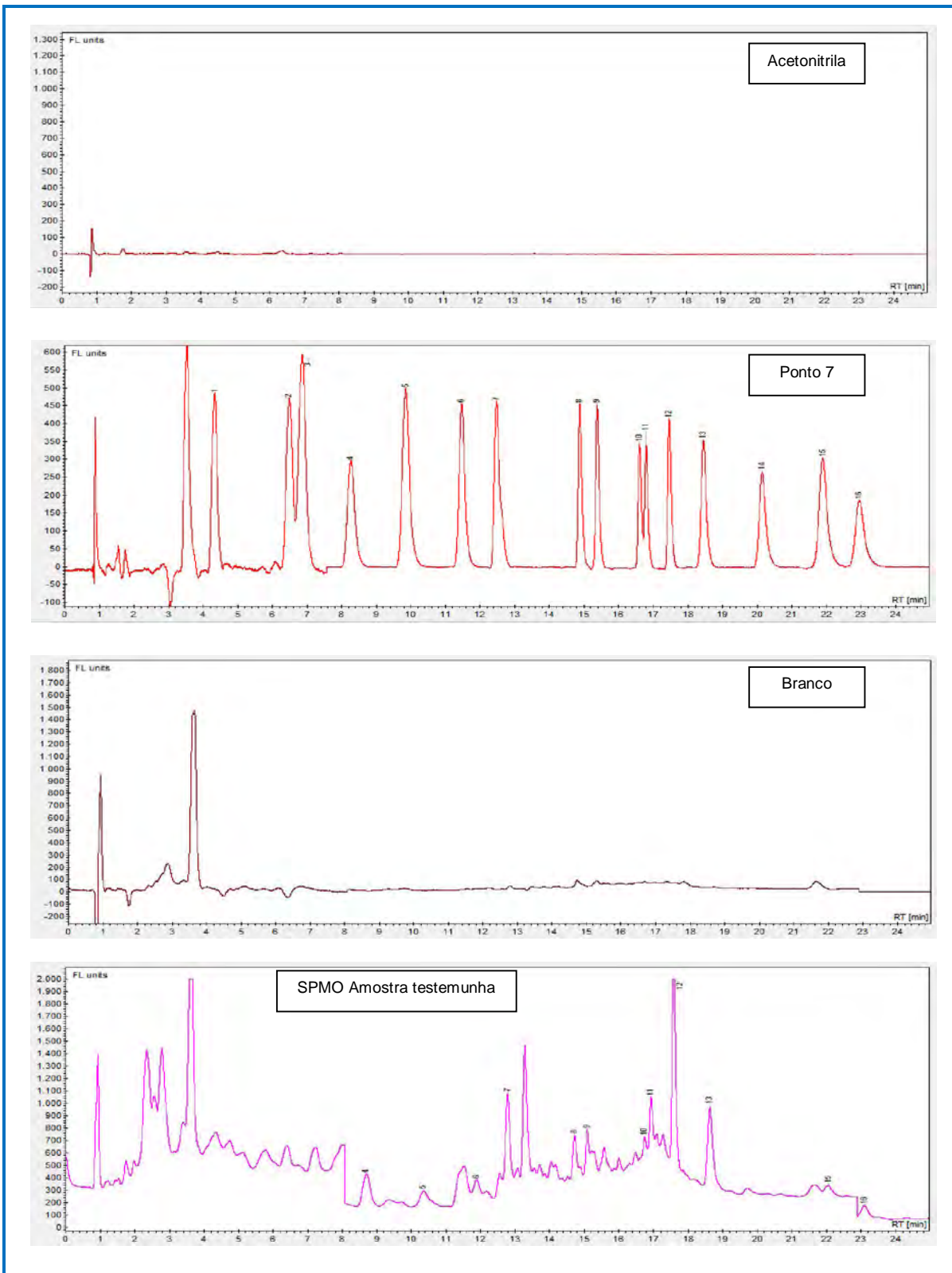
Figura 31: Análises (HPLC/Flu) do branco do método com dispersão em fase sólida, empregando diferentes sorventes, tendo como eluente o sistema extrator hex:ace (1:1) (v:v).

Dos sorvente utilizados a celite foi o que apresentou maior número de interferentes e com maior intensidade, em contraponto, a alumina foi o sorvente com menos interferências no branco.

A Figura 32 ilustra os cromatogramas obtidos para o sistema extrator hexano:acetona (1:1) (v:v) utilizando dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) com o uso de co-sorventes sílica: alumina (1:2) (m:m).

A Figura 33 ilustra os cromatogramas obtidos para o sistema extrator hexano:acetona (1:1) (v:v) utilizando dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) sem o uso de co-sorventes sílica: alumina (1:2) (m:m).

Observa-se que é praticamente impossível a quantificação de qualquer HPA.



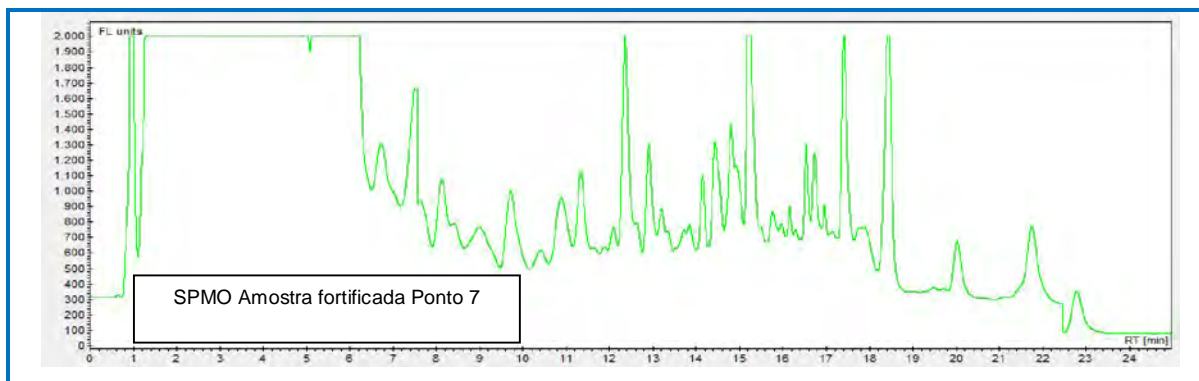
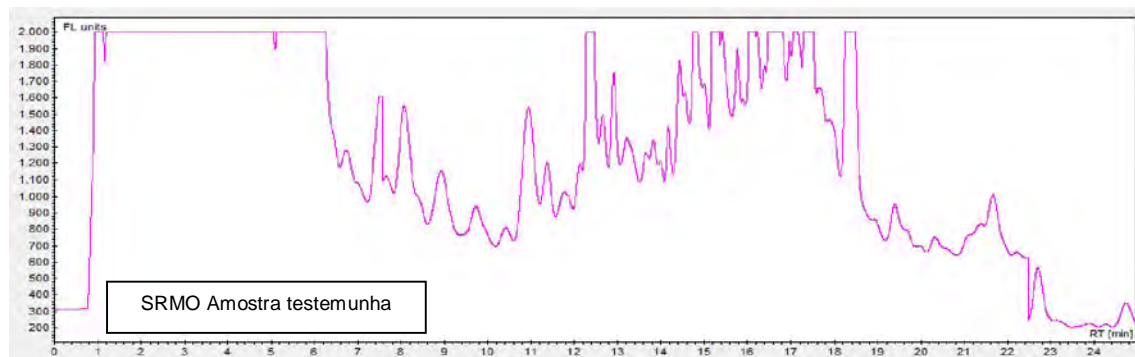
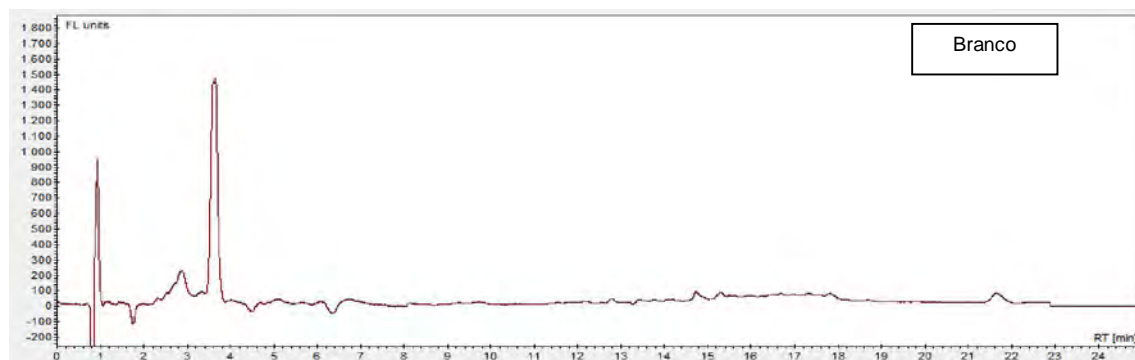
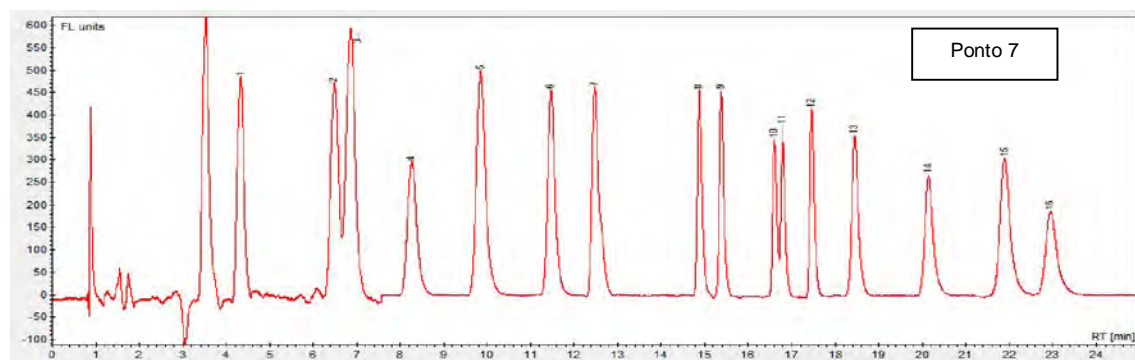
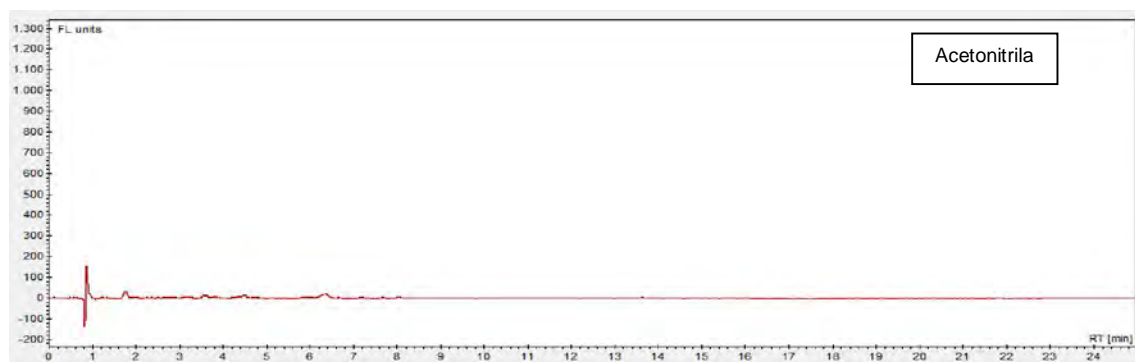


Figura 32: Cromatogramas obtidos para o sistema extrator hex:ace (1:1) (v:v) utilizando dispersão da matriz em fase sólida (DMFS), com o co-solventes (sílica: alumina desativada (1:2) (m:m).



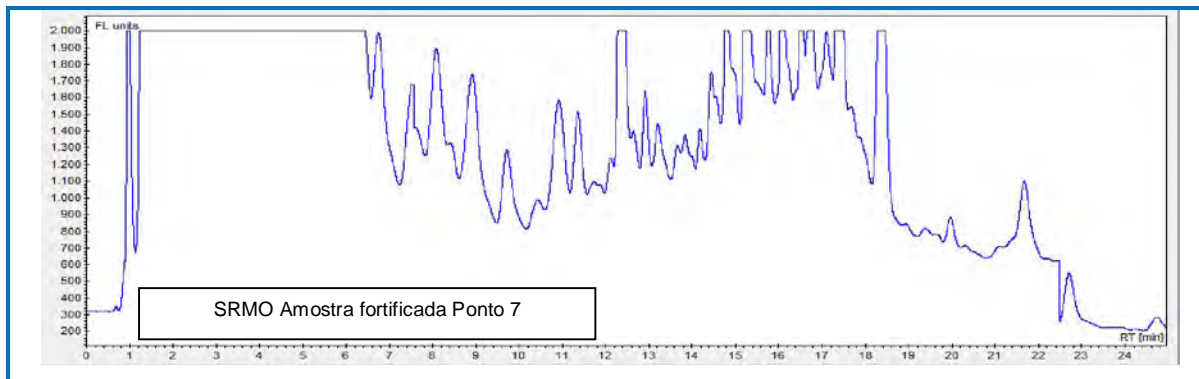
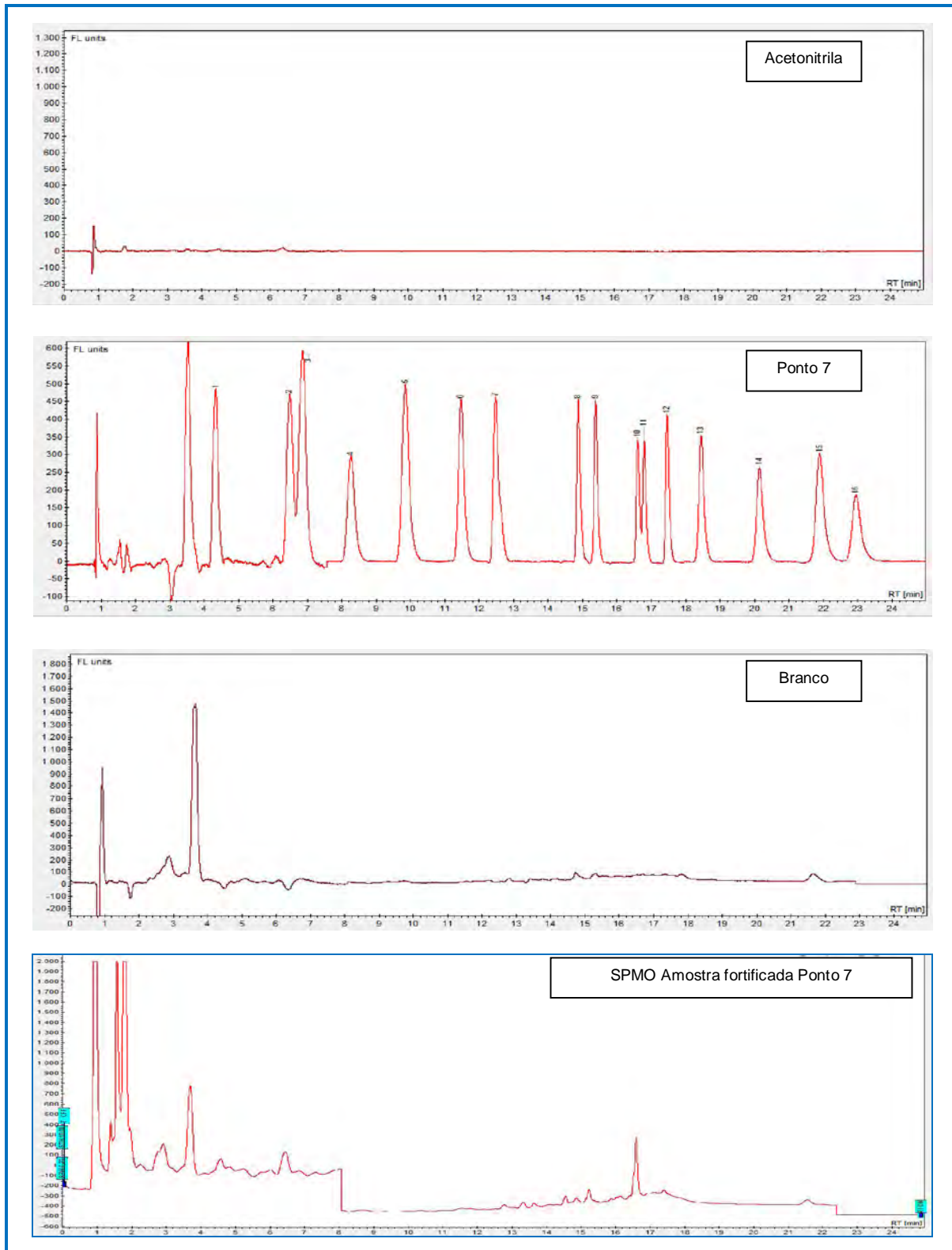


Figura 33: Cromatogramas obtidos para o sistema extrator hex:ace (1:1) (v:v) utilizando dispersão da matriz em fase sólida (DMFS), sem o co-sorventes (sílica: alumina desativada (1:2) (m:m).

Dos adsorventes testados nessa primeira etapa da dispersão da matriz em fase sólida (DMFS), pode-se concluir que a alumina desativada apresentou melhor desempenho, conforme comprovado pelo cromatograma obtido na Figura 31.

Para melhorar o aspecto do cromatograma e possibilitar a quantificação mais fidedigna dos analitos, buscou-se introduzir uma etapa de cleanup. Baseando-nos em estudos publicados na literatura (PENA *et al.*, 2006, 2007a, 2007b). O trabalho desenvolvido por PENA *et al.* é bastante semelhante em vários aspectos: o solo coletado apresenta contribuições de queimadas florestais na região da Galícia, na Espanha, enquanto o presente trabalho é solo com contribuições de queimadas de cana-de-açúcar. O diferencial do trabalho da Espanha está na % de matéria orgânica encontrada nos solos, e na realização de saponificação para extrair os HPAs da matriz, o que aumenta consideravelmente a % de recuperação desses analitos (92%).

Introduzindo a etapa de saponificação com KOH e sílica:alumina (1:2) (m:m) como co-sorventes os resultados foram bem melhores, como pode ser observado na Figura 34.



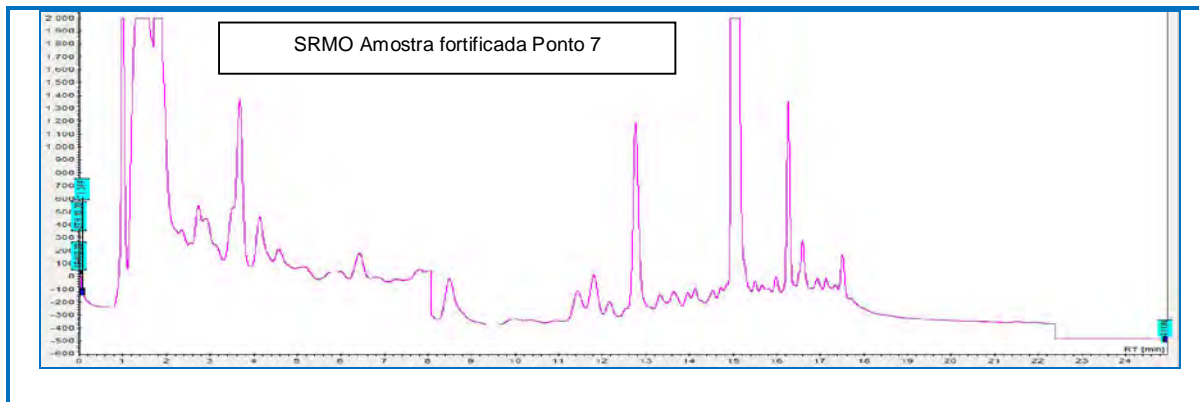


Figura 34: Cromatogramas obtidos para o sistema extrator hex:ace (1:1) (v:v) utilizando dispersão da matriz em fase sólida (DMFS), com o co-solvente (sílica: alumina desativada (1:2) (m:m) e KOH no processo de extração.

4.1.2.4. AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DO MÉTODO

As Tabelas 18 e 19 apresentam os dados de exatidão (estimada pela recuperação do método) e precisão do método (CV%). Os HPAs mais voláteis (naftaleno, acenafteno e fluoreno) não foram considerados no estudo de avaliação de desempenho do método, uma vez que há grande perda por volatilização durante a manipulação da amostra.

É considerado aceitável que a recuperação situe-se entre 70 - 120% com CV < 20%, o método pode ser considerado de bom desempenho para a aplicação desejada.

O limite de quantificação do método pode ser estimado como sendo a menor concentração da amostra fortificada que atendeu ou requisitos de validação (recuperação entre 70 - 120% e CV<20%). Assim sendo, os limites de quantificação, neste estudo, são as concentrações do nível 1 de fortificação, tanto para SPMO quanto para SRMO.

Tabela 18: Concentração dos HPAs nas amostras de solo SPMO (solo pobre em matéria orgânica) fortificadas, em três níveis de concentração, porcentagem de recuperação e coeficiente de variação.

	HPAs	Nível 1 (ng g ⁻¹)	Rec (%)	CV (%)	Nível 2 (ng g ⁻¹)	Rec (%)	CV (%)	Nível 3 (ng g ⁻¹)	Rec (%)	CV (%)
4	Fenantreno	2,12	70	5	6,36	73	1	10,61	100	2
5	Antraceno	0,93	76	5	2,79	100	1	4,65	95	1
6	Fluoranteno	2,54	69	11	7,62	109	4	12,70	94	1
7	Pireno	2,07	79	7	6,20	93	5	10,33	94	1
8	Benzo[a]Antraceno	2,08	110	2	6,23	94	11	10,38	113	2
9	Críseno	2,07	117	2	6,22	98	3	10,37	109	2
10	Benzo[e]Pireno	3,02	107	11	9,06	69	9	15,10	106	4
11	Benzo[b]Fluoranteno	2,54	114	6	7,63	91	8	12,71	85	9
12	Benzo[k]Fluoranteno	0,38	83	11	1,15	96	8	1,91	85	6
13	Benzo[a]Pireno	2,45	81	6	7,36	67	2	12,27	86	3
14	Benzo[g,h,i]Perileno	0,94	94	4	2,82	79	9	4,70	87	4
15	Dibenzo[a,h]Antraceno	1,35	nd	nd	4,06	99	3	6,77	90	1
16	Indeno [1,2,3-cd]Pireno	0,53	90	4	1,59	100	2	2,65	92	4

Rec: recuperação CV: coeficiente de variação nd: não determinado

Tabela 19: Concentração dos HPAs nas amostras de solo SRMO (solo rico em matéria orgânica) fortificadas em três níveis de concentração, porcentagem de recuperação e coeficiente de variação.

	HPAs	Nível 1 (ng g ⁻¹)	Rec (%)	CV (%)	Nível 2 (ng g ⁻¹)	Rec (%)	CV (%)	Nível 3 (ng g ⁻¹)	Rec (%)	CV (%)
4	Fenantreno	2,12	77	6	6,36	100	4	10,61	114	1
5	Antraceno	0,93	47	9	2,79	74	3	4,65	107	3
6	Fluoranteno	2,54	70	6	7,62	64	3	12,70	112	2
7	Pireno	2,07	117	5	6,20	105	4	10,33	114	4
8	Benzo[a]Antraceno	2,08	113	6	6,23	111	6	10,38	114	4
9	Criseno	2,07	103	9	6,22	116	3	10,37	115	2
10	Benzo[e]Pireno	3,02	109	8	9,06	108	3	15,10	119	7
11	Benzo[b]Fluoranteno	2,54	118	9	7,63	101	3	12,71	121	2
12	Benzo[k]Fluoranteno	0,38	92	7	1,15	105	5	1,91	116	5
13	Benzo[a]Pireno	2,45	106	6	7,36	102	4	12,27	112	4
14	Benzo[g,h,i]Perileno	0,94	81	9	2,82	71	4	4,70	119	4
15	Dibenzo[a,h]Antraceno	1,35	83	5	4,06	112	4	6,77	113	2
16	Indeno [1,2,3-cd]Pireno	0,53	90	1	1,59	105	4	2,65	120	3

Rec: recuperação CV: coeficiente de variação

Os dados das Tabelas 18 e 19 foram obtidos das recuperações das amostras de solo pobre (SPMO) e rico em matéria orgânica (SRMO) em três níveis de fortificação. As características do solo, componentes e quantidade de matéria orgânica podem influenciar o comportamento e destinos dos HPAs (MEANS *et al.*, 1980).

A Dispersão da matriz em fase sólida (DMFS) é uma técnica de tratamento de amostra, que pode ser utilizada para o propósito de purificação; eliminando os possíveis interferentes da matriz, e, além disso, como os analitos são extraídos com pequenos volumes de sistemas extratores, possibilita a concentração dos analitos. Tratando-se de amostras ambientais em que a concentração dos analitos de interesse estão presentes na ordem de ppb, esse fato é extremamente importante, pois pequenas quantidades de solvente são requeridas e o tempo de extração é curto (OLESCZUK & BARAN, 2004).

A boa recuperação dos HPAs deve-se ao fato da inserção de KOH em MeOH na etapa de extração desses analitos utilizando dispersão da matriz em fase sólida, pois em meio alcalino ocorre a desprotonação dos grupos funcionais carboxílicos e fenólicos contidos na matéria orgânica, aumentando a polaridade das macromoléculas do solo e fazendo com que haja uma menor interação hidrofóbica com os HPAs (BUCHELI *et al.*, 2004; CELINO *et al.*, 2008).

Os processos de transporte entre uma fase dissolvida e particulada ou entre a fase aquosa e solo, ou sedimentos, são fortemente influenciadas pelo conteúdo de matéria orgânica (SHI *et al.*, 2005). Estudos relatam que a matéria orgânica particulada tanto pode acelerar ou retardar o transporte e a transformação dos HPAs em diferentes sistemas aquáticos, influenciando significativamente na bioconcentração, biodisponibilidade e remediação dessas substâncias, enquanto que no solo há indícios que a sorção de HPAs influencia a biodisponibilidade destes compostos à microbiota degradadora e, conseqüentemente, a eficiência da biorremediação (HAITZER *et al.*, 1998; SABBAH *et al.*, 2004; JAQUES *et al.*, 2007).

A interação físico-química dos HPAs com a matéria orgânica é o principal mecanismo para determinar o comportamento e destino dos mesmos, e afeta padrões de dispersão, biodisponibilidade e o impacto sobre a biota aquática e

terrestre, além de apresentar uma correlação com as impressões digitais dessas substâncias (YUNKER *et al.*, 2002).

4.2. APLICAÇÃO DO MÉTODO OTIMIZADO PARA ANÁLISE DE HPAs EM SOLO PARA AS AMOSTRAS AMBIENTAIS

As Tabelas 20 e 21 apresentam os dados obtidos para amostras coletadas na safra (outubro/2008) e na entressafra (maio/2009), respectivamente, nos sítios de amostragem já explicitados.

Estudos sugerem correlação entre a concentração de fluoranteno e o conteúdo de matéria orgânica contida agregada ao solo (ZHOU *et al.*, 1999; BUCHELI *et al.*, 2004; CELINO *et al.*, 2008).

Estudos corroboram para a maior frequência dos HPAs com 3 a 4 anéis em processos que envolvem queima ou combustão, pois estão associados a uma atmosfera pobre em oxigênio (KHALFI *et al.*, 2000; CONDE *et al.*, 2005). Fenantreno e antraceno têm sido citados como importantes contribuições de fontes de emissões veiculares (ROGGE *et al.*, 1993; TSAPAKIS & STEPHANOU, 2005, CONDE *et al.*, 2005). Acenafteno e benzo[ghi]perileno não tem sido detectados como fontes de processos pirolíticos (CONDE *et al.*, 2005).

Tabela 20: Quantificação dos HPAs nas amostras ambientais na época da safra de cana-de-açúcar (maio/2009). Valores expressos em ng g^{-1} . (média \pm sd). Análises feitas em triplicata.

HPAS	Usina Zanin		Usina Santa Cruz	
	Ponto 1 MO: 32 g dm^{-3}	Ponto 2 MO: 12 g dm^{-3}	Ponto 1 MO: 23 g dm^{-3}	Ponto 2 MO: 13 g dm^{-3}
3 Fluoreno*	3360,5 \pm 0,8	3806 \pm 2	5425 \pm 1	7361 \pm 2
4 Fenantreno	1797,4 \pm 0,8	1023 \pm 1	2104 \pm 2	1975 \pm 1
5 Antraceno	4728,8 \pm 0,5	4337 \pm 2	8158 \pm 1	2709 \pm 2
6 Fluoranteno	489,7 \pm 0,7	249,9 \pm 0,6	337 \pm 1	272 \pm 2
7 Pireno	2923 \pm 1	2815 \pm 2	4511 \pm 6	3490 \pm 3
8 Benzo[a]Antraceno	334 \pm 4	427 \pm 1	279 \pm 1	198 \pm 1
9 Criseno	1031 \pm 1	346,4 \pm 0,7	439 \pm 2	439 \pm 2
10 Benzo[e]Pireno	73,0 \pm 0,9	130 \pm 1	27,0 \pm 0,7	66,7 \pm 0,9
11 Benzo[b]Fluoranteno	378 \pm 1,0	60,0 \pm 0,7	215 \pm 2	49 \pm 1
12 Benzo[k]Fluoranteno	2333 \pm 1	9131 \pm 1	10306 \pm 2	3669 \pm 2
13 Benzo[a]Pireno	668 \pm 1	475,6 \pm 0,7	630 \pm 1	538 \pm 2
14 Benzo[ghi]Perileno	157,8 \pm 0,4	nd	nd	nd
15 Dibenzo[a,h]Antraceno	1672,7 \pm 0,7	nd	1142 \pm 1	499 \pm 1
16 Indeno [1,2,3-cd]Pireno	1056 \pm 0,9	408,4 \pm 0,6	639,3 \pm 0,7	476,0 \pm 0,5
Σ HPAS	21003	23210	34212	21742

*Valores estimados, uma vez que o método não foi validado para este HPA. MO = matéria orgânica, valor em g dm^{-3} . nd: não detectado.

Tabela 21: Quantificação dos HPAs nas amostras ambientais na época da entressafra de cana-de-açúcar (maio/2009). Valores expressos em ng g^{-1} (média \pm sd). Análises foram feitas em triplicata.

HPAS	Usina Zanin		Usina Santa Cruz	
	Ponto 1 MO: 32 g dm^{-3}	Ponto 2 MO: 12 g dm^{-3}	Ponto 1 MO: 23 g dm^{-3}	Ponto 2 MO: 13 g dm^{-3}
3 Fluoreno*	1311,3 \pm 0,9	5742,2 \pm 1	2564 \pm 2	3331 \pm 3
4 Fenantreno	3492 \pm 1	1247,6 \pm 0,5	886 \pm 2	1126 \pm 3
5 Antraceno	4545 \pm 2	1408 \pm 1	919,3 \pm 0,8	nd
6 Fluoranteno	353 \pm 1	134,4 \pm 0,5	250,8 \pm 0,8	166 \pm 1
7 Pireno	4914 \pm 2	2480,8 \pm 0,8	3289 \pm 1	2234 \pm 1
8 Benzo[a]Antraceno	392,2 \pm 0,9	598,9 \pm 0,4	284,4 \pm 0,5	437 \pm 2
9 Criseno	730,9 \pm 0,8	240,2 \pm 0,5	310,1 \pm 0,9	349 \pm 3
10 Benzo[e]Pireno	59 \pm 1	52,2 \pm 0,7	26,7 \pm 0,7	60 \pm 1
11 Benzo[b]Fluoranteno	344 \pm 2	37,4 \pm 0,7	221,6 \pm 0,6	64 \pm 1
12 Benzo[k]Fluoranteno	10504,8 \pm 0,9	999,0 \pm 0,8	9433 \pm 2	2729 \pm 2
13 Benzo[a]Pireno	399 \pm 2	nd	199,8 \pm 0,8	171 \pm 1
15 Dibenzo[a,h]Antraceno	346,7 \pm 0,8	nd	690,5 \pm 0,6	1051 \pm 1
16 Indeno [1,2,3-cd]Pireno	1201 \pm 2	nd	525,6 \pm 0,5	323 \pm 1
Σ HPAS	28403	12940	19601	12041

*Valores estimados, uma vez que o método não foi validado para este HPA. MO = matéria orgânica, valor em g dm^{-3} . nd: não detectado.

No período em que as coletas da entressafra foram realizadas, o estado de São Paulo estava sob a tutela de uma lei elaborada pelo município de Botucatu-SP, Lei Nº 4.446/03, que proibia a queima da palha da cana-de-açúcar, o que não comprometeu a coletas das amostras de solo. Segundo os órgãos atuantes no setor sucroalcooleiro, UNICA - União da Indústria de Cana-de-Açúcar e Sipesp - Sindicato da Indústria de Fabricação do Álcool do Estado de São Paulo, argumentaram que apenas a União e o Estado têm competência para legislar sobre meio ambiente e que a Lei Estadual 11.241/02 permite o uso do fogo na pré-colheita. Ainda de acordo com o sindicato, o município não teria atribuição para tratar do assunto e ainda mais passar por cima de uma normativa estadual. Atualmente, após determinação judicial, a lei foi considerada inconstitucional e a queima ocorre normalmente em todo o estado de São Paulo (PRODUTOS PARA SEGURANÇA LTDA, 2009).

Para a soma total de HPAs para cada local de amostragem, quando comparado nas épocas, diferem significativamente, cerca de 50%, sendo maior o somatório para a época da safra (Tabelas 20 e 21). Para uma mesma época, observa-se que a diferença entre o valor do somatório de HPAs está diretamente relacionado com o teor de matéria orgânica, de acordo com o que traz a literatura (AZEVEDO *et al.*, 2002; SANTOS *et al.*, 2002; JACQUES *et al.*, 2007).

No entanto, quando são analisados os dados para cada HPA, observa-se que existem diferenças de comportamento. Por exemplo, na época da entressafra (maio/2009, Figura 35) o teor de matéria orgânica propiciou um maior acúmulo de benzo[k]Fluoranteno, enquanto que este efeito não foi observado para o pireno, cujas concentrações relativas diferem muito pouco em relação ao teor de matéria orgânica do solo. Já para o fenantreno e antraceno, não pode ser observado nenhum tipo de correlação entre a concentração relativa e o teor de matéria orgânica. Embora a literatura traga dados mostrando a correlação positiva entre o acúmulo de HPAs em solo e o teor de matéria orgânica, estes estudos referem-se invariavelmente a concentrações muito maiores de HPAs para as quais fatores como a degradação biológica e/ou físico-química (reações de oxidação química ou fotoquímica) não são relevantes (JACQUES *et al.*, 2007). Para as

concentrações encontradas nestas amostras a variabilidade de comportamento em relação à matéria orgânica talvez possa ser explicada por estes fatores.

Para a época de safra (outubro/2008), observa-se que há um aumento substancial na concentração total de HPAs. Analisando-se as concentrações individuais de HPAs nota-se que os HPAs com maior incremento da concentração são fluoreno, antraceno, pireno e benzo[k]fluoranteno.

Quando observado os gráficos das concentrações relativas (Figuras 36 e 37) pode-se notar que os constituintes majoritários são os mesmos para as duas épocas: benzo[k]fluoranteno, pireno, antraceno, fenantreno e fluoreno, cujas concentrações são apenas indicativas, uma vez que o método não pode ser validado para este analito.

Estes dados estão de acordo com trabalhos da literatura que trazem como constituintes majoritários da queima de gramíneas fenantreno, fluoreno e pireno com uma pequena contribuição do antraceno. Estudos realizados citam Pireno como sendo um HPA traçador da queima da biomassa (AZEVEDO *et al.*, 2002; SANTOS *et al.*, 2002).

Comparando-se os resultados encontrados neste trabalho com outros da literatura, para solo impactado com queima de florestas ou restos agrícolas, pode-se constatar que pireno se sobressai entre os HPAs encontrados no solo da Galícia, Espanha pelos pesquisadores, comprovando a correlação com a queima pirolítica (PENA *et al.*, 2007a, 2007b).

Com o objetivo de verificar a relação entre a queima de cana-de-açúcar e a origem dos HPAs encontrados nas amostras ambientais avaliadas pela Tabela 22 em comparação com os dados descritos pela literatura na Tabela 3, constata-se com as razões de HPAs [fenantreno/antraceno], [fluoranteno/(fluoranteno + fenantreno)], [antraceno/(antraceno + fenantreno)] e [benzo[a]antraceno/benzo[a]antraceno + criseno] estão relacionadas com as fontes pirolíticas ou de combustão, que podem provavelmente serem oriundas da contribuição de queima de biomassa.

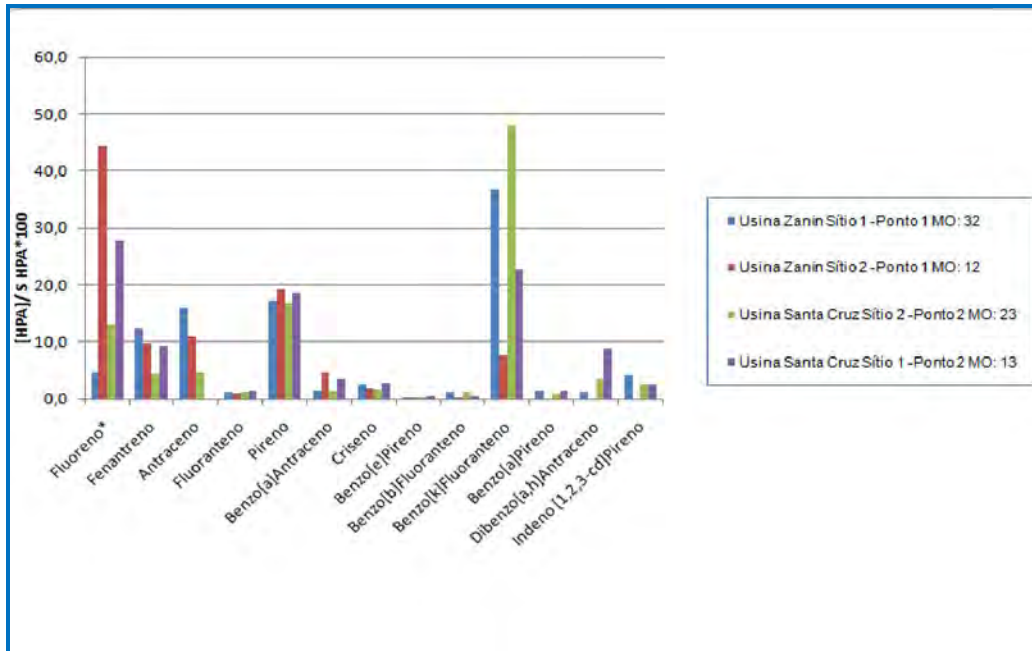


Figura 35: Concentração percentual ($[HPA]/\Sigma HPA \cdot 100$) nos pontos de amostragem, na época da entressafra (maio/2009).

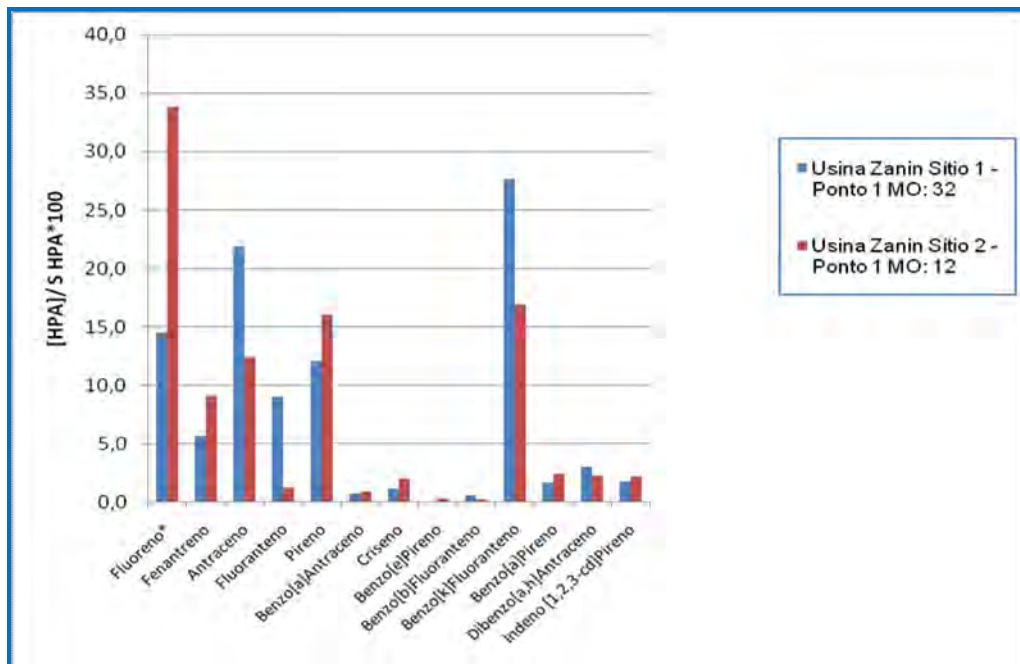


Figura 36: Concentração percentual ($[HPA]/\Sigma HPA \cdot 100$) nos pontos de amostragem, na época da safra (outubro/2008).

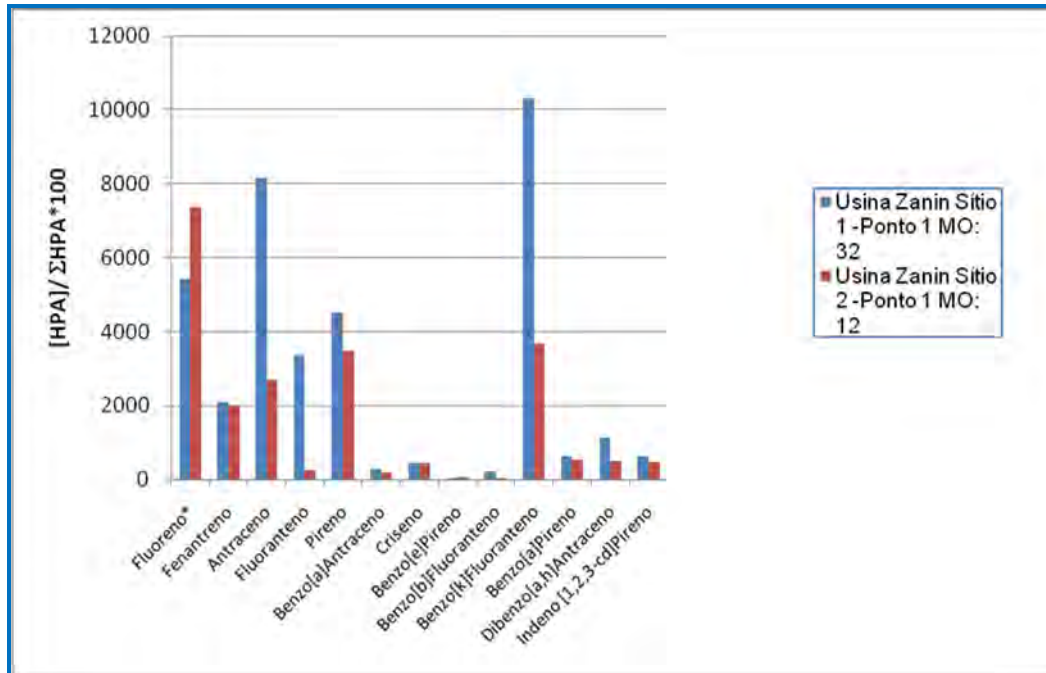


Figura 37: Concentração percentual ($[HPA]/\Sigma HPA*100$) nos pontos de amostragem, na época da entressafra (maio/2009).

Na Figura 35 é apresentada a somatória de concentração de HPAs encontrados na época de entressafra de cana-de-açúcar, para todos os pontos amostrados. Pode ser observado que as somatórias das concentrações de HPAs são relevantes para fluoreno, fenantreno, pireno e benzo[k]fluoranteno.

Analisando os gráficos apresentados nas figuras 36 e 37, períodos correspondentes a safra e entressafra de cana-de-açúcar respectivamente, os quais indicam a razão da concentração individual de HPA pela somatória de HPAs, pode-se constatar que os HPAs fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno e benzo[k]fluoranteno apresentam uma contribuição maior em relação aos demais HPAs avaliados no mesmo período avaliado.

Tabela 22: Caracterização das fontes de HPAs para a safra e entressafra da cana-de-açúcar.

RELAÇÃO HPAS	USINA ZANIN				USINA SANTA CRUZ			
	SAFRA		ENTRESSAFRA		SAFRA		ENTRESSAFRA	
	SRMO	SPMO	SRMO	SPMO	SRMO	SPMO	SRMO	SPMO
[fenantreno/antraceno]	0,38	0,24	0,77	0,89	0,26	0,73	0,96	nd
[fluoranteno/pireno]	0,17	0,09	0,07	0,05	0,07	0,08	0,08	0,07
[naftaleno/fenatreno]	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
[Indeno[123cd]pireno/benzo[ghi]perileno]	6,69	nd	nd	nd	nd	nd	0,76	0,31
[fluoranteno/(fluoranteno+fenantreno)]	0,21	0,20	0,09	0,10	0,14	0,12	0,09	0,13
[fluoranteno/(fluoranteno+pireno)]	0,14	0,08	0,09	0,10	0,07	0,07	0,07	0,07
[indeno[123cd]pireno/(indeno[123cd]pireno+benzo[ghi]perileno)]	0,39	1,0	0,78	nd	0,36	0,49	0,43	0,24
[antraceno/(antraceno + fenantreno)]	0,72	0,81	0,57	0,53	0,21	0,58	0,51	nd
[benzo[a]antraceno/(benzo[a]antraceno + criseno)]	0,24	0,45	0,35	0,71	0,61	0,69	0,48	0,56

nd: não determinado

5. CONCLUSÕES

O método cromatográfico otimizado apresentou-se compatível com os parâmetros relacionados a confiabilidade analítica descritos na literatura (SNYDER, 1997; RIBANI *et al.*, 2004).

Com o método utilizado no tratamento da amostra, dispersão da matriz em fase sólida, seguida da adição de KOH e cleanup foi possível obter recuperações aceitáveis, exceto para naftaleno, acenafteno e fluoreno que, por serem mais voláteis que os demais HPAs, tendem a perder-se no processo de extração. Apesar de fluoreno estar presente em altas concentrações nas amostras de solo analisadas, não foi possível validar o método para o mesmo, uma vez que a recuperação é dificultada pelo processo de volatilização.

Entretanto, tendo em vista que este trabalho correlacionando a queimada de cana-de-açúcar para a contribuição do acúmulo de HPAs no solo é inédito, faz-se necessário a continuidade dos estudos nessa área, haja visto que o Estado de São Paulo apresenta mais do 70% de sua área territorial com cultivares de cana-de-açúcar e que as propriedades carcinogênicas e/ou mutagênicas de alguns HPAs conferem a esses contaminantes a razão para inclusão na maioria dos programas de monitoramento ambiental e saúde humana em diversos países (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1998; USA ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1986). Pode-se constatar, através das análises realizadas nas amostras ambientais uma grande contribuição para o solo de antraceno, benzo[k]fluoranteno, fenantreno, fluoranteno e pireno.

O comportamento dos HPAs no ambiente depende das características físico-químicas, como pressão de vapor e solubilidade em água. Os HPAs que apresentam baixa pressão de vapor e são hidrofóbicos apresentam pouca mobilidade ao atingirem o solo, sendo a adsorção um importante processo, tanto nos solos, sedimentos e também no material particulado. A biodegradação é o processo que ocorre para a remoção dos HPAs no meio ambiente, no entanto, como os HPAs são parcialmente solúveis em água, tendem a se adsorverem no sólidos suspensos e em sedimentos, devido ao

alto valor de K_{oc} , ou serem lixiviados e contaminarem outros compartimentos ambientais (FROEHNER & MARTINS, 2008).

A avaliação de HPAs e a identificação de suas origens específicas são limitadas, devido principalmente a complexidade das matrizes ambientais. Na grande maioria dos casos a caracterização desses perfis está relacionada com as origens petrogênicas ou pirolíticas (PAGE *et al.*, 1999; YUNKER *et al.*, 2002).

Com os dados das amostragens de solo realizadas na safra e entressafra (Tabelas 20 e 21) foi possível correlacionar com os dados oriundos de diversos estudos relatados na Tabela 3, a qual estabelece a caracterização de origens dos HPAs através das razões de HPAs individuais com o intuito de identificar e calcular possíveis fontes de origem desses contaminantes (BUDZINSKI *et al.*, 1997; PAGE *et al.*, 1999; READMAN *et al.*, 2002, MEIRE *et al.*, 2007b). A utilização dessas razões está baseada na temperatura de formação dos HPAs, levando-se em consideração a estabilidade química individual de cada HPA. Para minimizar as diferenças de volatilidade, solubilidade em água, adsorção, e outros fatores que poderiam interferir diretamente na análises dessas razões, utiliza-se moléculas que sejam isômeros entre si, tais como os HPAs com massas moleculares (MM) de 178 g mol^{-1} (fenantreno e antraceno), 202 g mol^{-1} (pireno e fluoranteno) e 276 g mol^{-1} (benzo[ghi]perileno e indeno[1,2,3 cd]pireno) são indicadores usados na distinção entre fontes de origem petrogênica *versus* pirolíticas. Utilizando as diferenças de reatividade e solubilidade de dois isômeros de HPAs, como o fenantreno/antraceno, fluoranteno/pireno, benzo[a]antraceno /criseno, benzo[b]fluoranteno/benzo[k]fluoranteno e indeno[123cd]pireno /benzo[ghi]perileno (YUNKER *et al.*, 1996, 2002; MEIRE *et al.*, 2007b; CELINO *et al.*, 2008). As razões obtidas através das razões dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos calculadas na Tabela 22 indicaram a existência de fontes de hidrocarbonetos relacionadas a produtos da pirólise, provavelmente queima de biomassa, com concentrações mais elevadas no período de safra.

Os HPAs oriundos de processos de queima apresentam maior frequência relativa para compostos com 4 a 6 anéis aromáticos (fluoranteno, pireno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno e benzo[ghi]perileno) (MEIRE *et al.*, 2007b).

Além disso, a interação dos HPAs com outras moléculas pode amplificar a persistência desses compostos no ambiente. Com isso, pode ocorrer uma competição pelos sítios ativos da matéria orgânica por metais, através de processos de complexação.

6. DESTINAÇÃO DOS RESÍDUOS

Os resíduos gerados no desenvolvimento do presente trabalho eram constituídos basicamente de solventes orgânicos (principalmente acetonitrila) e HPAs. Ambos resíduos foram segregados (conforme as Normas para Gerenciamento de Resíduos Químicos do IQ/UNESP), armazenados no Depósito de Resíduos do IQ/UNESP e encaminhados posteriormente à incineração (UNESP, 2009).

ANEXO I

I.1. MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

A tabela 23 ilustra a classificação dos métodos cromatográficos.

Tabela 23: Classificação dos métodos cromatográficos (CERDEIRA, 2005).

TIPO	FASE MÓVEL	FASE ESTACIONÁRIA	MECANISMO DE SEPARAÇÃO
GASOSA		Líquida	Partição
		Sólida	Adsorção
LÍQUIDA		Líquida	Partição
		Sólida	Adsorção
			TROCA IÓNICA
			EXCLUSÃO MOLECULAR

Os Detectores podem ser classificados da seguinte maneira (CERDEIRA, 2005):

- **Universais:** Geram um sinal para qualquer composto
- **Seletivos:** Geram um sinal apenas para compostos com determinadas características
- **Específicos:** Geram um sinal para compostos que tenham um determinado elemento químico ou grupamentos funcionais presentes na sua estrutura.

As principais características dos Detectores são descritas abaixo:
(CERDEIRA, 2005)

- Resposta rápida e linear
- Ser altamente sensível
- Boa estabilidade durante grandes intervalos de tempo
- Responder a uma grande variedade de compostos

A técnica analítica e detectores empregados no desenvolvimento do presente trabalho foram:

- Cromatografia Gasosa/Espectrômetro de Massas (GC-MS) e
- Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)/Detector de Fluorescência, devido a alta seletividade aos poliaromáticos.

I.2. CROMATOGRAFIA

A cromatografia é uma técnica de separação baseada na distribuição dos componentes de uma mistura entre um fluido (fase móvel ou eluente) e um adsorvente (fase estacionária). A fase estacionária pode ser um sólido ou um líquido depositado num sólido inerte, empacotado numa coluna ou espalhado por uma superfície formando uma camada fina. A cromatografia tem inúmeras aplicações como método de separação (LANÇAS, 2004a).

A cromatografia é originária do grego "*Chroma* (cor) + *graphein*" (escrita), ganhou importância como método de separação por volta de 1903, com o botânico Mikhail Seenovich Tswett, o qual é considerado o pai da Cromatografia devido à sua valiosa contribuição no desenvolvimento desta técnica analítica. Realizou inúmeros experimentos no domínio da separação de extratos de plantas por adsorção diferencial em colunas, utilizando carbonato de cálcio (CaCO_3) como fase estacionária (FE) e di-sulfureto de carbono como eluente (Fase Móvel – FM), como ilustrado na Figura 38. Nestas experiências, verificou-se a formação de bandas de cores diferentes nas colunas utilizadas devido à adsorção diferencial dos pigmentos corados, que percolavam com velocidades diferentes e emergiam separadamente da coluna (ETTRE, 2003).

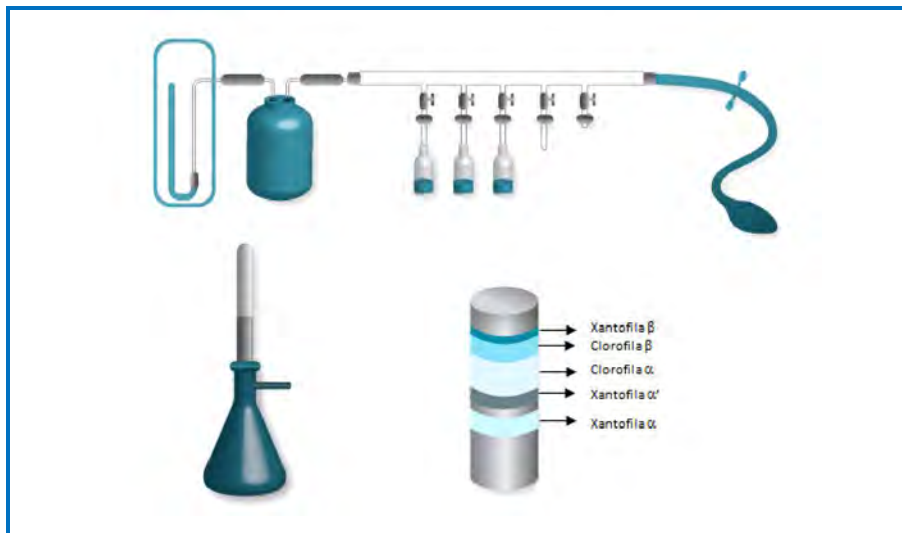


Figura 38: Esquema cromatográfico utilizado por Tswett para a separação de pigmentos de plantas (ETTRE, 2003).

A classificação da cromatografia, segundo o modo de separação, leva em consideração os princípios físicos e químicos subjacentes na partição dos solutos entre as fases móvel (FM) e estacionária (FE). A escolha da natureza da fase química da fase sólida depende dos interferentes, das impurezas e da natureza química da matriz onde encontram-se os analitos de interesse. As separações cromatográficas ocorrem através de interações eletrostáticas e forças de Van Der Waals entre a fase estacionária (sólido) e os componentes a separar da fase móvel (líquido ou gás). A natureza da fase estacionária pode ser muito diversa, normalmente sílica gel, alumina, celulose, C18 (LANÇAS, 2004a).

I.2.1. CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA AO DETECTOR DE ESPECTROMETRIA DE MASSAS (GC-MS)

Em 1957, Holmens & Morrel realizaram o primeiro acoplamento do GC com o Espectrômetro de Massas. Este consta de um cromatógrafo gasoso com uma

interface para ligação dos dois sistemas, uma câmara de ionização, um analisador de massa e um sistema para a detecção dos íons. A maior dificuldade no acoplamento é a redução da pressão de saída da coluna (com vazão do gás de até 50 mL/min) para valores menores que 10^{-3} kPa (vácuo) na câmara de ionização para GC (BISINOTI & JARDIM, 2004).

A Figura 49 ilustra os principais componentes de um Cromatógrafo Gasoso (AQUINO NETO & NUNES, 2003).

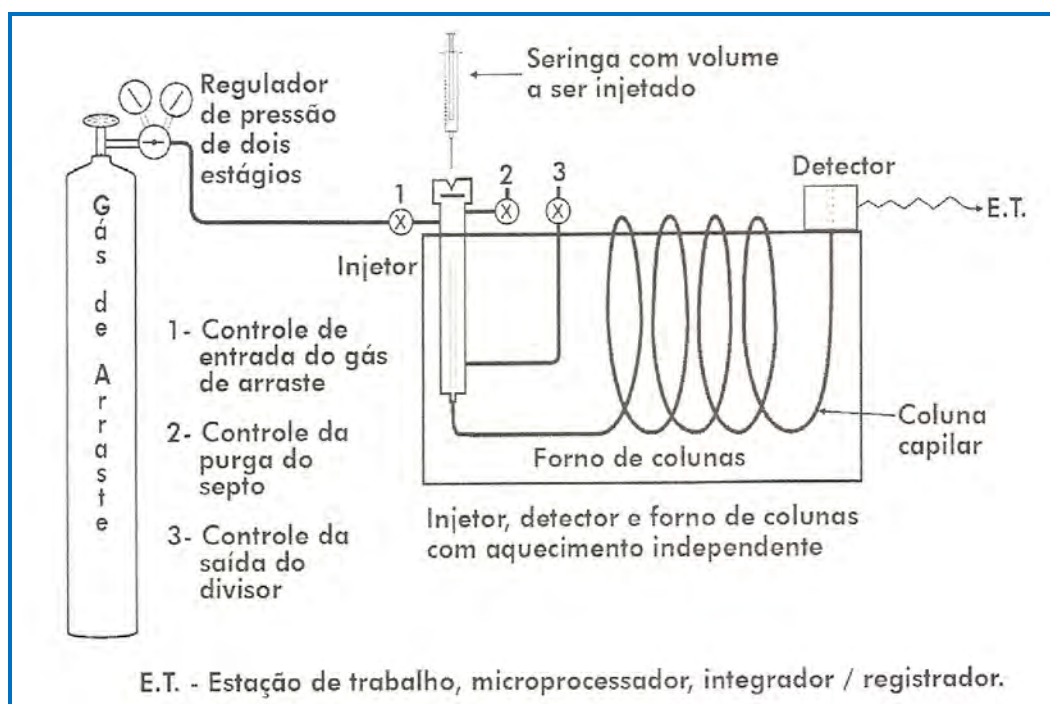


Figura 39: Componentes integrantes de um sistema para Cromatografia Gasosa (AQUINO NETO & NUNES, 2003).

A amostra é injetada e arrastada pela fase móvel (FM) através da coluna que contém a fase estacionária (FE), onde ocorre a separação dos analitos de interesse. Os analitos saem da coluna dissolvidas na fase móvel e passam por um detector que gera um sinal eléctrico proporcional à quantidade de material separado (CERDEIRA, 2005).

As principais características da Fase móvel (FM) ou Gás de arraste são dadas a seguir (AQUINO NETO & NUNES, 2003; CERDEIRA, 2005):

- Inerte: não há interação com a amostra e nem com a Fase estacionária (FE), apenas o transporte da amostra através da coluna.
- Pura: ser isento de impurezas que possam contaminar a amostra, ou gerar ruído no sinal
- Compatível com o Detector empregado
- Principais Gases de Arraste: He, N₂ e H₂.

O He é o gás de arraste preferido devido a condutividade térmica elevada em relação à dos vapores da maior parte dos compostos orgânicos. Associados a esta fonte de gás de arraste em alta pressão, estão os reguladores de pressão e medidores de vazão, os quais permitem controlar e monitorar o escoamento do gás de arraste (AQUINO NETO & NUNES, 2003).

A efetiva separação dos componentes da amostra é realizada na coluna cromatográfica, O material utilizado como fase estacionária (FE) deve apresentar granulometria uniforme, ter boas características operacionais e ser capaz de constituir um leito uniforme na coluna. A área específica do material adsorvente deve ser elevada a fim de proporcionar uma distribuição peculiar da fase móvel (FM) e assegurar, dessa maneira, o rápido equilíbrio entre as fases (AQUINO NETO & NUNES, 2003).

A Figura 40 ilustra o esquema de separação entre as fases móvel e estacionária (CERDEIRA, 2005).

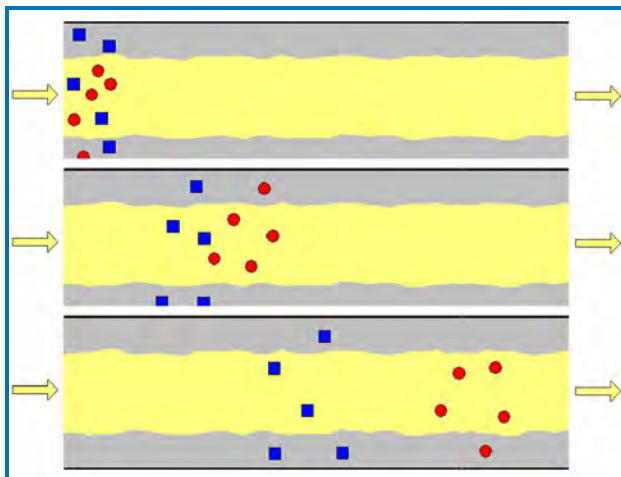


Figura 40: Separação cromatográfica dos componentes da amostra entre as fases móvel e estacionária (CERDEIRA, 2005).

O acoplamento do Cromatógrafo gasoso ao Espectrômetro de Massas ocorre através de uma interface, a qual está ilustrada na Figura 41 (HARRIS, 1999).

O Espectrômetro de Massas (EM) é um detector utilizado para identificar os diferentes átomos que compõe uma substância. Uma substância sofre o bombardeamento por elétrons para produzir íons, ou átomos eletricamente carregados. Os íons atravessam um campo magnético que curva suas trajetórias de modos diferentes, dependendo de suas massas. O campo separa os íons em um padrão chamado espectro de massas. A razão massa/carga (m/z) dos íons podem ser medidas por sua posição no espectro. Os cientistas identificam assim os elementos e isótopos presentes na amostra (SILVERSTEIN *et al.*, 1979).

Portanto, a Espectrometria de Massas identifica entidades massa/carga, que correspondem a compostos, devidamente separadas umas das outras e expressa esses achados de maneira gráfica, dando origem ao espectro (SILVERSTEIN *et al.*, 2007).

Quando se conhece o espectro de massa de um composto, basta realizar uma busca computadorizada em uma biblioteca de correspondência de valores m/z e seu respectivo composto já cadastrado para identificá-lo. A coincidência dos espectros de massas é uma evidência convincente da identificação. No caso de compostos desconhecidos, utiliza-se o íon molecular, a seqüência de

fragmentação e evidências espectrométricas de outra natureza na tentativa de se identificar o novo composto (SILVERSTEIN *et al.*, 2007).

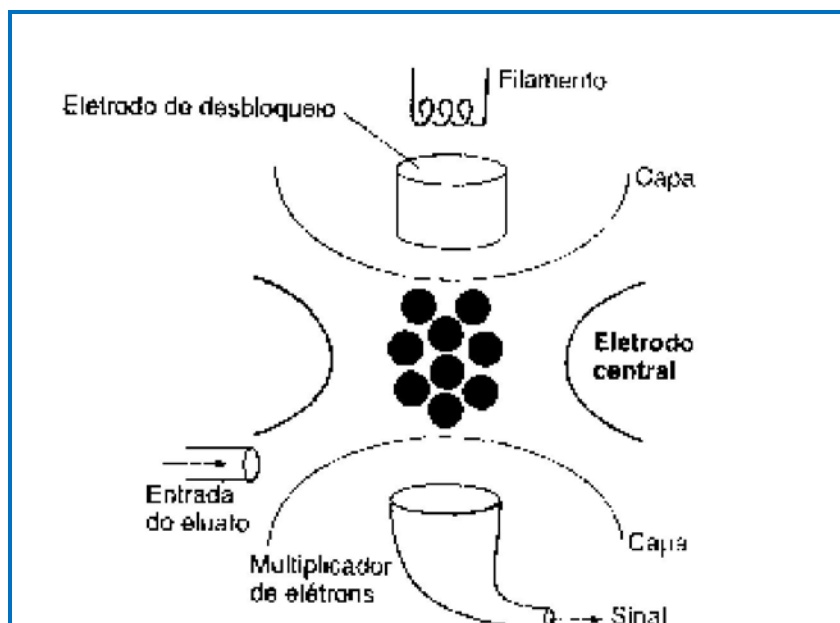


Figura 41: Diagrama esquemático de analisador de íons, tipo, íon-trap (HARRIS, 1999).

Uma das técnicas utilizadas na Espectrometria de Massas é o Impacto de Elétrons (EI) no qual se utiliza um feixe de elétrons de alta energia - 70 eV - para bombardear moléculas que estão no estado de vapor e expressa as entidades massa/carga (m/z) carregadas positivamente. A molécula atingida acaba por ficar com energia em excesso, o que leva a uma série de fragmentos iônicos. Após a ionização, as espécies carregadas passam por um campo magnético, onde são defletidos de acordo com a razão massa/carga (m/z) para um tubo analisador e detectados (SILVERSTEIN *et al.*2007).

I.2.2. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA ACOPLADO AO DETECTOR DE FLUORESCÊNCIA

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é uma técnica de separação utilizada para fins qualitativos e quantitativos, devido à possibilidade de separar espécies não voláteis e termicamente instáveis, com destaque para a indústria farmacêutica, bem como em determinações ambientais e análise de traços em amostras complexas, como sangue, urina, solo, alimentos, petróleo, etc. (TONHI *et al.*, 2002; ANÁLISE INSTRUMENTAL, 2009). A Figura 42 ilustra os componentes de um sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

Emprega pequenas colunas, recheadas de materiais especialmente preparados e uma fase móvel (FM) que é eluída sobre altas pressões. Ela tem a capacidade de realizar separações e análises quantitativas de uma grande quantidade de compostos presentes em vários tipos de amostras, em escala de tempo de poucos minutos, com alta resolução, eficiência e sensibilidade (ANÁLISE INSTRUMENTAL, 2009).

Os solventes utilizados como fase móvel na cromatografia líquida de alta eficiência dependem da intensidade de absorção ou série eluotrópica. As interações ocorrem através da competição pelos sítios ativos da fase estacionária pela fase móvel. A pureza dos solventes é de extrema importância para não afetar o desempenho da coluna cromatográfica (AQUINO NETO & NUNES, 2003).

A Tabela 24 descreve as fases estacionária (FE) e móvel (FM) que são utilizadas em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) no modo normal ou em fase reversa.

Tabela 24: Fases estacionária (FE) e móvel (FM) comumente utilizadas em CLAE em fase normal ou reversa (AQUINO NETO & NUNES, 2003).

TIPO ¹	FN ²	FR ³	SOLVENTE TÍPICO ⁴
Octadecilsilano	-	✓	ACN; MeOH; THF; H ₂ O
Octilsilica	-	✓	ACN; MeOH; THF; H ₂ O
Sílica porosa	✓	-	n-Hx; CH ₂ Cl ₂ ; CHCl ₃ ; iso-PrOH
Aminopropilsilano	✓	-	ACN; H ₂ O
Nitrila em sílica	✓	-	ACN; MeOH; THF; H ₂ O
Fenila em sílica	-	✓	ACN; MeOH; THF; H ₂ O
Troca iônica ácida forte			Solução tampão
Troca iônica básica forte de sal de amônio quaternário			Solução tampão
Estireno-divinilbenzeno sulfonado na forma H ⁺			Solução H ₂ SO ₄
Estireno-divinilbenzeno sulfonado na forma Ca ⁺⁺			Solução de sulfato de cálcio
Copolímero estireno e divinilbenzeno reticulado	-	✓	THF; TCB; DMF; Tol; CHCl ₃

¹ Fase estacionária; ² FN – fase normal; ³ FR – fase reversa; ⁴ fase móvel.
 ACN – acetonitrila; MeOH – metanol; THF – tetrahidrofurano; iso-PrOH – isopropanol; TCB – triclorobenzeno; DMF – dimetilformamida; Tol – tolueno.

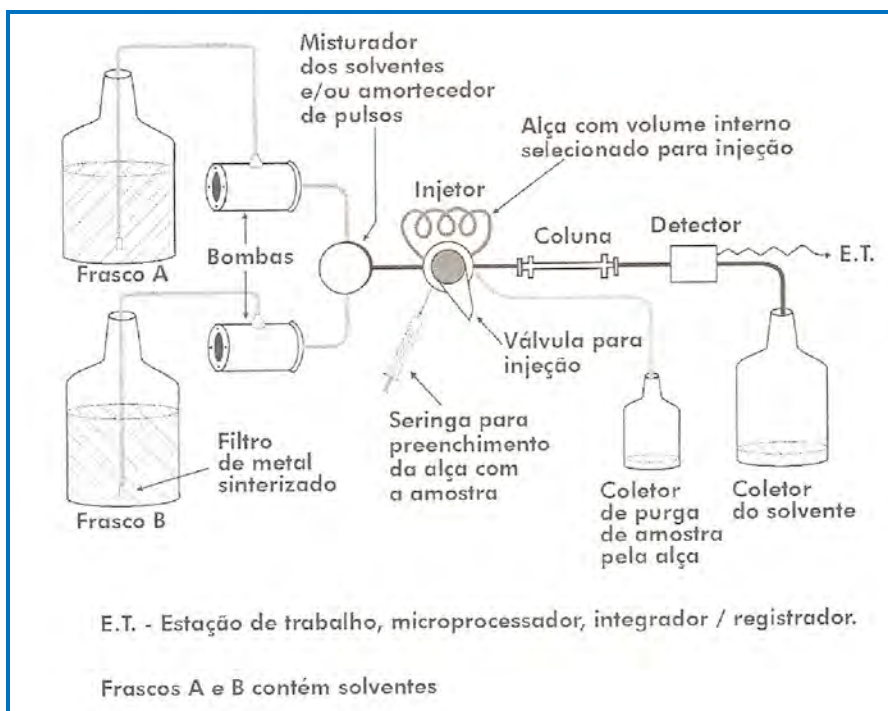


Figura 42: Componentes integrantes para cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (AQUINO NETO & NUNES, 2003).

A espectroscopia de fluorescência é um método de detecção dos mais sensíveis da atualidade, específico para compostos que fluorescem. Em boas condições é possível detectar quantidades da ordem de picogramas (10^{-12} g), o que é comparável aos detectores por captura de elétrons em CG. Uma alta intensidade de fluorescência é esperada de compostos que sejam conjugados simetricamente ou que não podem produzir estruturas fortemente iônicas, como é o caso dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (ANÁLISE INSTRUMENTAL, 2009).

Os detectores para fluorescência também podem proporcionar espectros de emissão das amostras retidas momentaneamente na sua cela com a combinação de um detector de absorvância UV-Vis (ANÁLISE INSTRUMENTAL, 2009). A Figura 43 ilustra os componentes de um detector de Fluorescência.

A grande maioria das moléculas encontra-se no nível energético mais baixo do estado eletrônico, conhecido como estado fundamental. A absorção de um *quantum* de luz promove a passagem dos elétrons a níveis maiores de energia, denominado estado excitado da molécula. O retorno da molécula ao estado fundamental faz com que ocorra a liberação de uma parte da energia absorvida, dando origem ao fenômeno conhecido como *Luminescência*. Se a energia é reemitida a partir do primeiro estado *singlete* excitado, o fenômeno corresponde à *Fluorescência*. A fluorescência corresponde em princípio, ao processo inverso ao fenômeno da absorção, uma vez que é produzida pela emissão de energia a partir do nível mais baixo do primeiro *singlete* excitado (LOPES *et al.*, 1996).

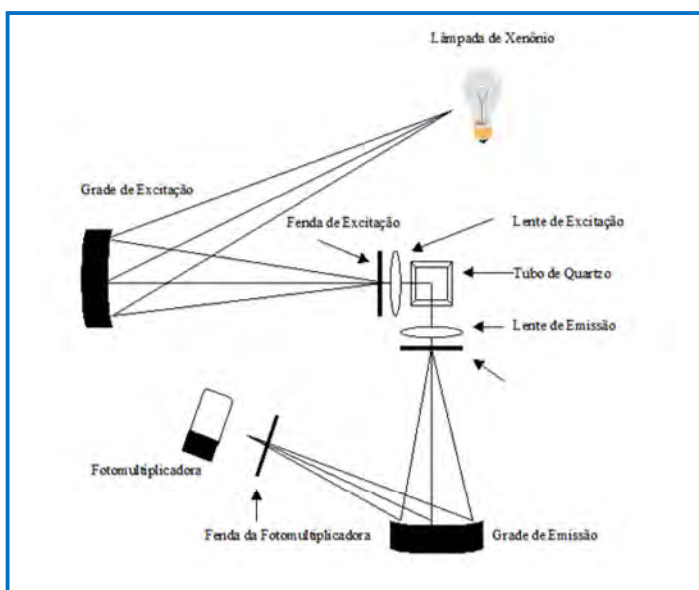


Figura 43: Detector de Fluorescência utilizado para detecção em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) (LOPES *et al*,1996).

ANEXO II

Tabela 25: Concentração dos HPAs na solução padrão estoque para sistema cromatográfico ProStar VARIAN (CRISTALE, 2008).

HPA	CONCENTRAÇÃO ($\mu\text{g L}^{-1}$)	HPA	CONCENTRAÇÃO ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Naftaleno	180	Criseno	370
Acenafteno	43	Benzo[e]Pireno	248
Fluoreno	134	Benzo[b]Fluoranteno	151
Fenantreno	484	Benzo[k]Fluoranteno	20
Antraceno	14	Benzo[a]Pireno	42
Fluoranteno	1406	Dibenzo[a,h]Antraceno	1177
Pireno	122	Benzo[g,h,i]Perileno	1882
Benzo[a]Antraceno	90	Indeno[1,2,3-cd]Pireno	1820

Tabela 26: Soluções padrão utilizadas para a construção dos gráficos de linearidade e curvas analíticas LC-920 VARIAN Fluorescência.

Concentração (µg/L)	PONTO 1	PONTO 2	PONTO 3	PONTO 4	PONTO 5	PONTO 6	PONTO 7	PONTO 8	PONTO 9	PONTO 10	PONTO 11
HPAs											
1- Nafaleno	0,11	0,21	0,53	1,06	2,12	3,19	4,25	5,31	6,91	9,03	10,62
2- Acenafteno	0,07	0,13	0,33	0,65	1,30	1,95	2,60	3,25	4,23	5,53	6,50
3- Fluoreno	0,13	0,25	0,63	1,25	2,50	3,75	5,00	6,25	8,13	10,63	12,50
4- Fenantreno	0,23	0,42	1,06	2,12	4,24	6,36	8,48	10,61	13,80	18,04	21,21
5- Antraceno	0,10	0,19	0,47	0,93	1,86	2,79	3,72	4,65	6,05	7,91	9,30
6- Fluoranteno	0,27	0,51	1,27	2,54	5,08	7,62	10,16	12,70	16,53	21,61	25,40
7- Pireno	0,22	0,41	1,03	2,07	4,13	6,20	8,26	10,33	13,44	17,57	20,65
8- Benzo[a]Antraceno	0,22	0,42	1,04	2,08	4,15	6,23	8,30	10,38	13,50	17,65	20,75
9- Criseno	0,22	0,41	1,04	2,07	4,15	6,22	8,29	10,37	13,49	17,63	20,73
10- Benzo[e]Pireno	0,32	0,60	1,51	3,02	6,04	9,06	12,08	15,10	19,65	25,69	30,20
11- Benzo[b]Fluoranteno	0,27	0,51	1,27	2,54	5,08	7,63	10,17	12,71	16,54	21,62	25,42
12- Benzo[k]Fluoranteno	0,04	0,08	0,19	0,38	0,76	1,15	1,53	1,91	2,49	3,25	3,82
13- Benzo[a]Pireno	0,26	0,49	1,23	2,45	4,91	7,36	9,81	12,27	15,96	20,87	24,53
14- Dibenzo[a,h]Antraceno	0,10	0,19	0,47	0,94	1,88	2,82	3,76	4,70	6,12	8,00	9,40
15- Benzo[g,h,i]Pireno	0,14	0,27	0,68	1,35	2,71	4,06	5,41	6,77	8,80	11,51	13,53
16- Indeno[1,2,3-cd]Pireno	0,06	0,11	0,27	0,53	1,06	1,59	2,12	2,65	3,45	4,51	5,30

ANEXO III

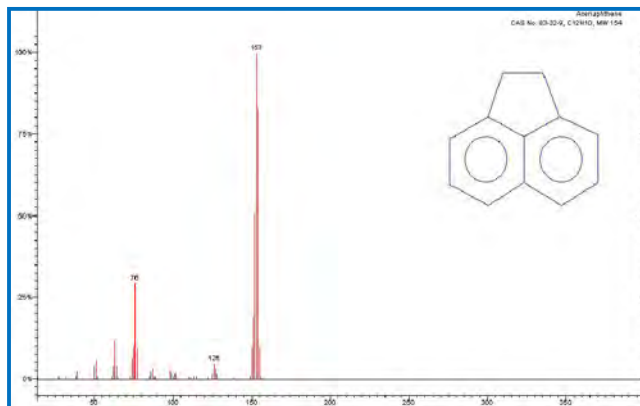


Figura 44: Fragmentograma do Acenafteño no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (153) foi selecionado para fazer o método MS-MS.

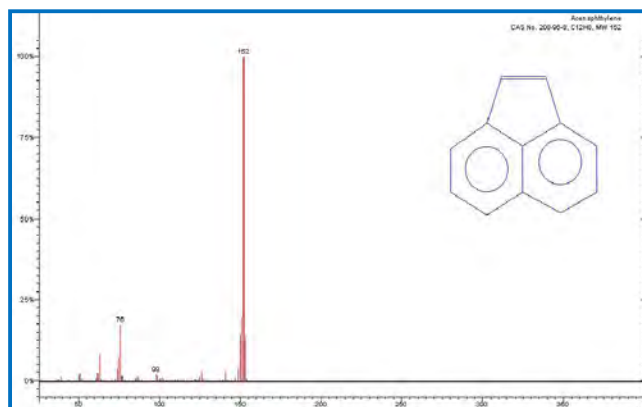


Figura 45: Fragmentograma do Acenaftileno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (152) foi selecionado para fazer o método MS-MS.

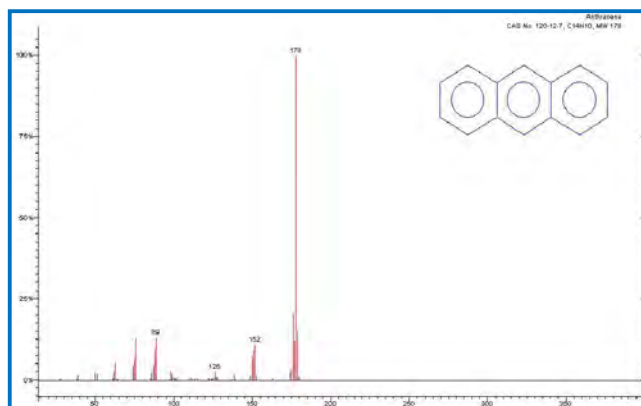


Figura 46: Fragmentograma do Antraceno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (178) foi selecionado para fazer o método MS-MS.

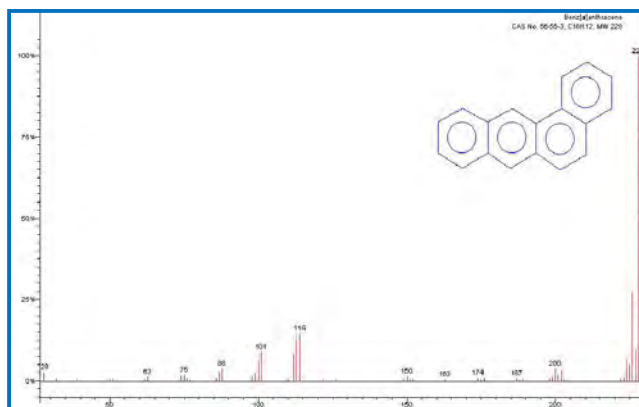


Figura 47: Fragmentograma do Benzo[a]Antraceno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (228) foi selecionado para fazer o método MS-MS.

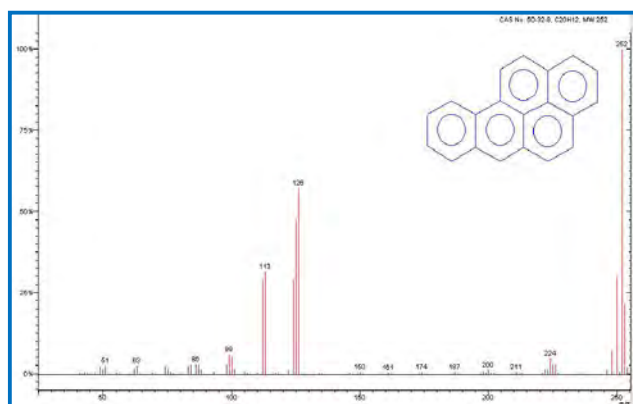


Figura 48: Fragmentograma do Benzo[a]Pireno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (252) foi selecionado para fazer o método MS-MS.

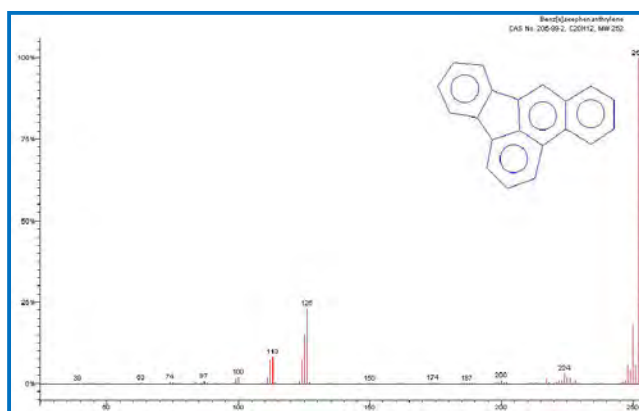


Figura 49: Fragmentograma do Benzo[b]Fluoranteno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (252) foi selecionado para fazer o método MS-MS.

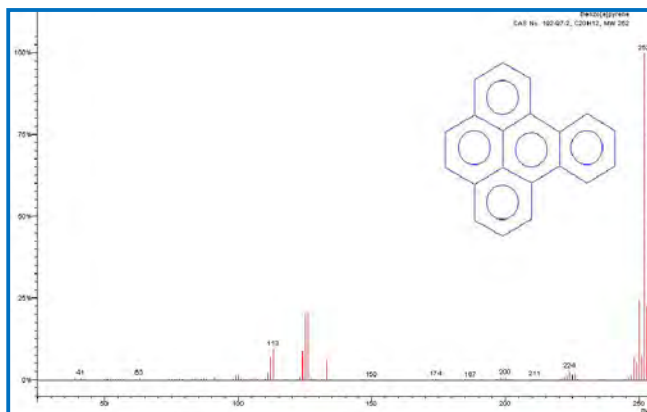


Figura 50: Fragmentograma do Benzo[e]Pireno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (252) foi selecionado para fazer o método MS-MS.

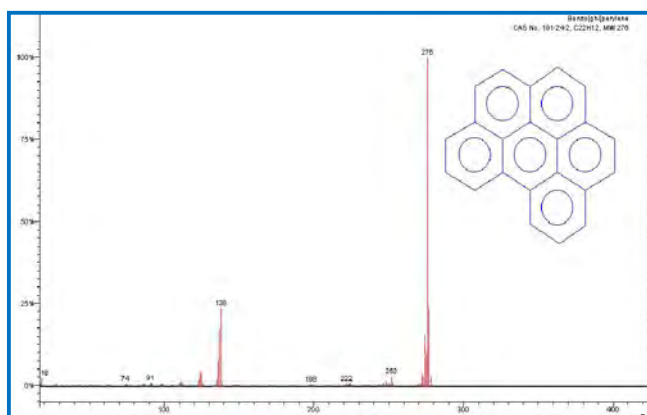


Figura 51: Fragmentograma do Benzo[g,h,i]Perileno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (276) foi selecionado para fazer o método MS-MS.

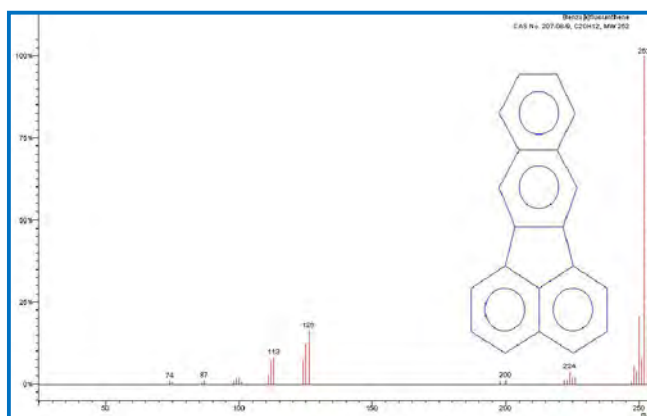


Figura 52: Fragmentograma do Benzo[k]Fluoranteno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (252) foi selecionado para fazer o método MS-MS.

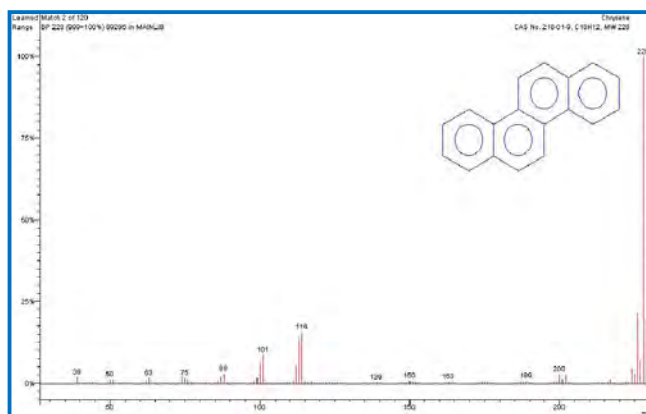


Figura 53: Fragmentograma do Criseno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (228) foi selecionado para fazer o método MS-MS.

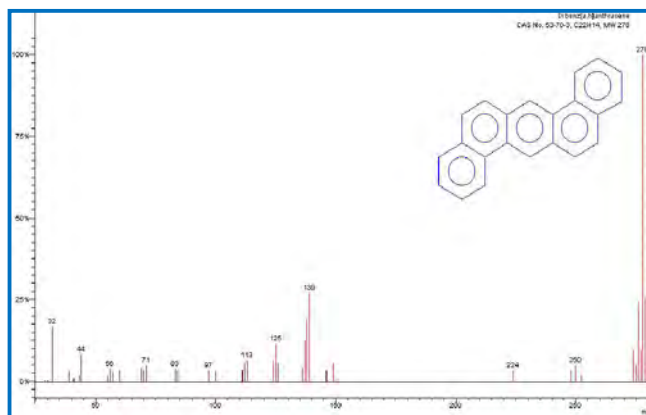


Figura 54: Fragmentograma do Dibenzo[a,h]Antraceno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (278) foi selecionado para fazer o método MS-MS.

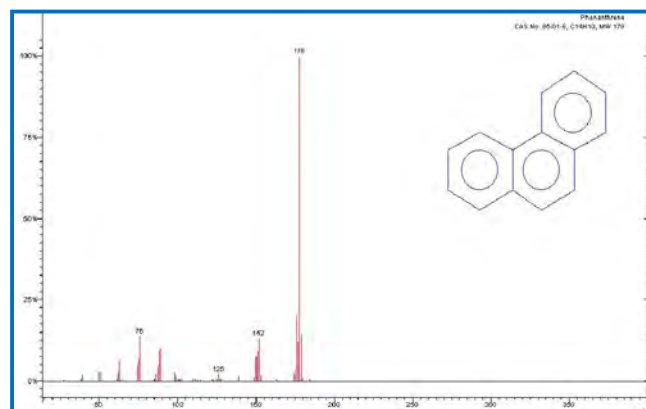


Figura 55: Fragmentograma do Fenantreno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (178) foi selecionado para fazer o método MS-MS.

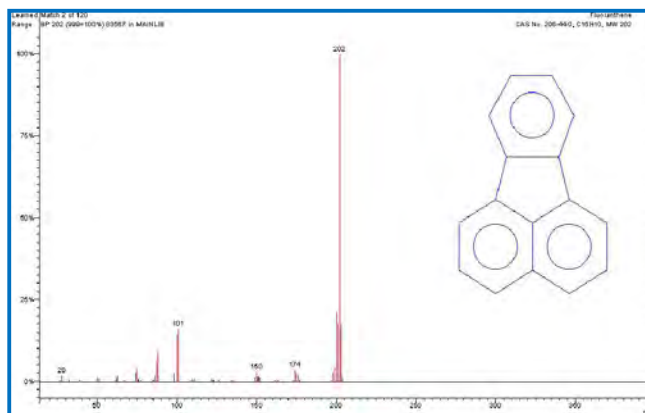


Figura 56: Fragmentograma do Fluoranteno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (202) foi selecionado para fazer o método MS-MS.

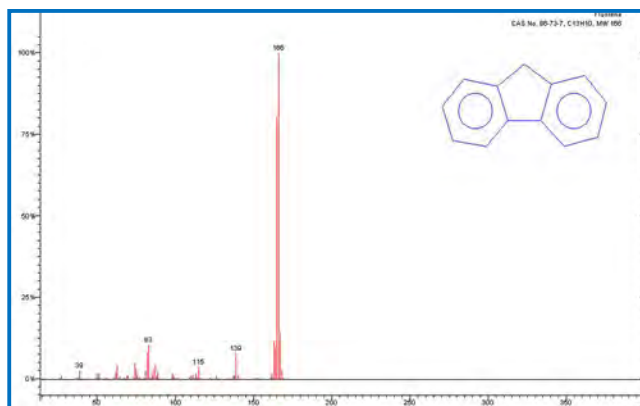


Figura 57: Fragmentograma do Fluoreno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (166) foi selecionado para fazer o método MS-MS.

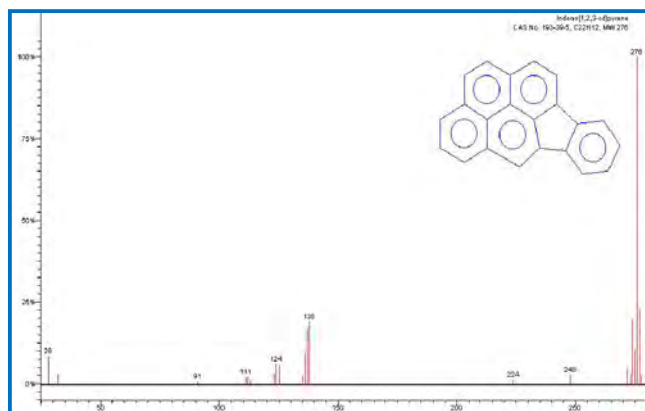


Figura 58: Fragmentograma do Indeno[1,2,3-cd]Pireno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (276) foi selecionado para fazer o método MS-MS.

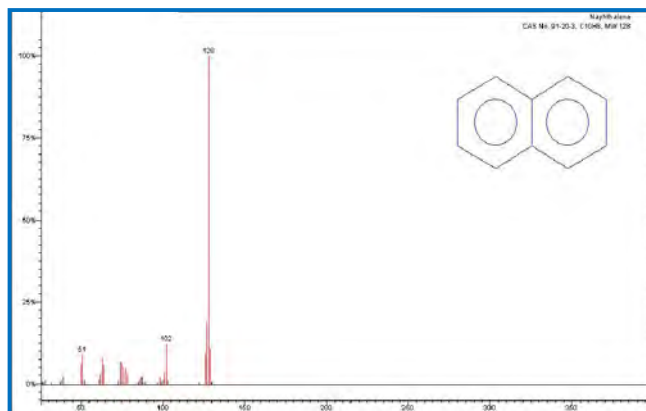


Figura 59: Fragmentograma do Naftaleno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (128) foi selecionado para fazer o método MS-MS.

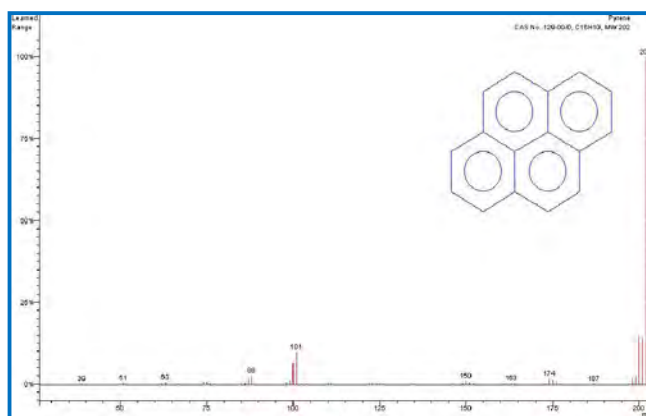


Figura 60: Fragmentograma do Pireno no modo MS, o íon de maior intensidade m/z (202) foi selecionado para fazer o método MS-MS.

ANEXO IV

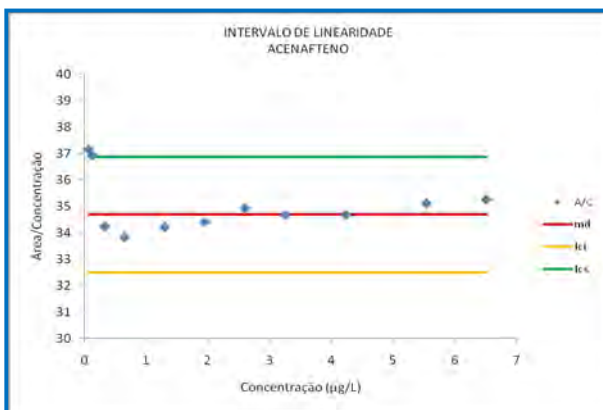


Figura 61: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Acenafteno.

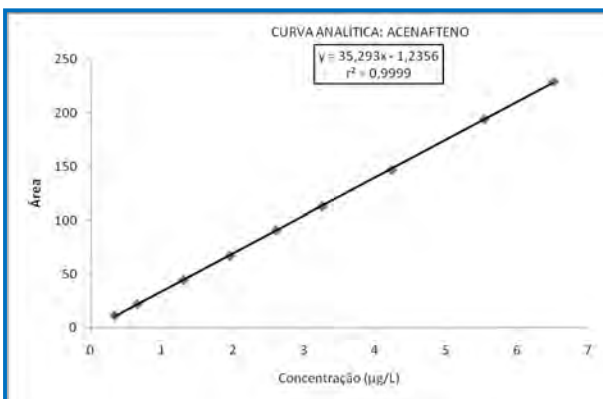


Figura 62: Gráfico da Curva Analítica para o Acenafteno.

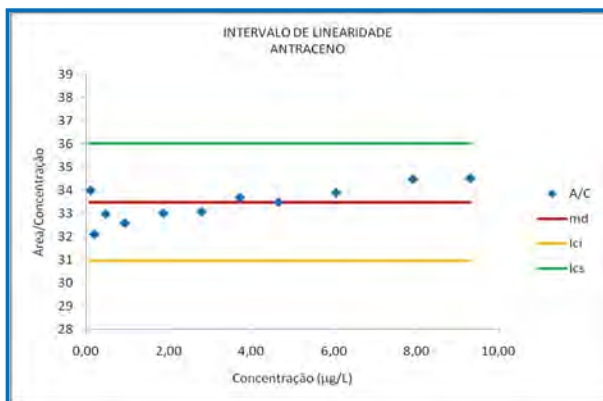


Figura 63: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Antraceno.

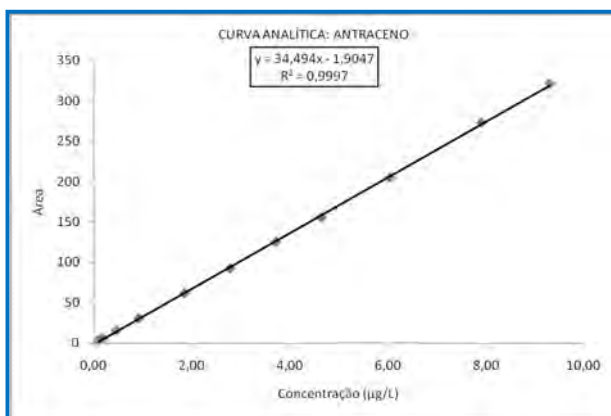


Figura 64: Gráfico da Curva Analítica para o Antraceno.

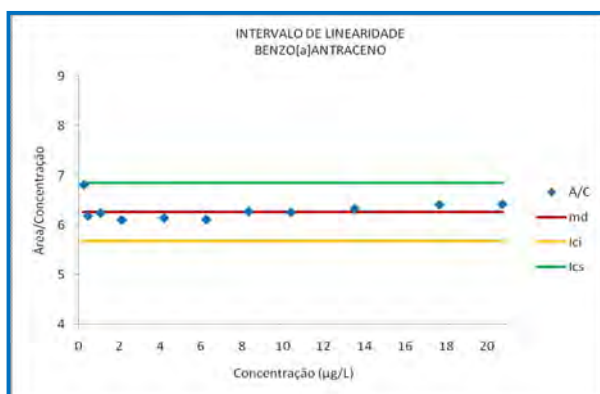


Figura 65: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Benzo[a]Antraceno.

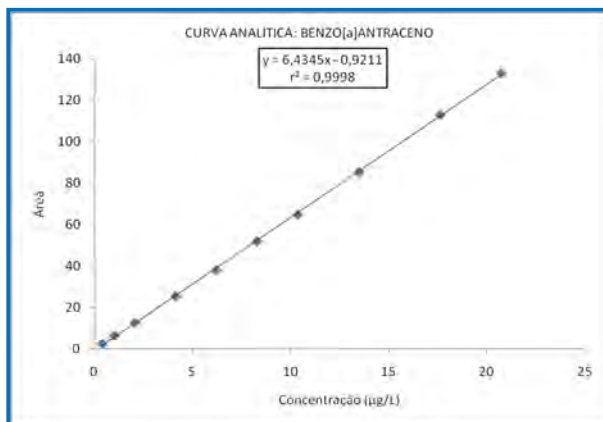


Figura 66: Gráfico da Curva Analítica para o Benzo[a]Antraceno.

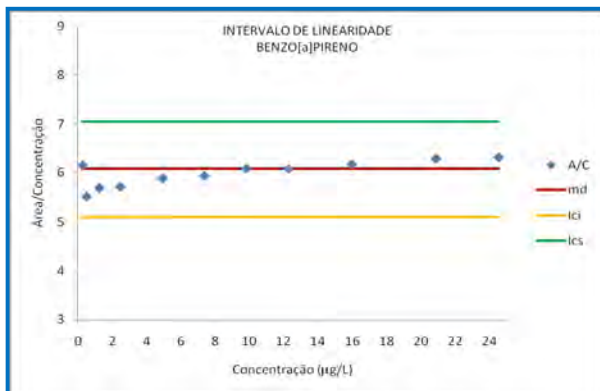


Figura 67: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Benzo[a]Pireno.

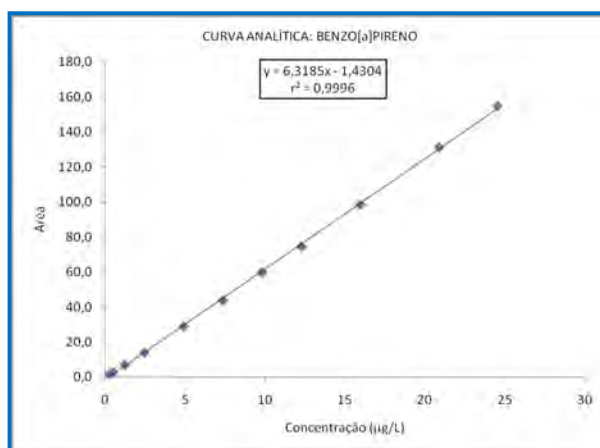


Figura 68: Gráfico da Curva Analítica para o Benzo[a]Pireno.

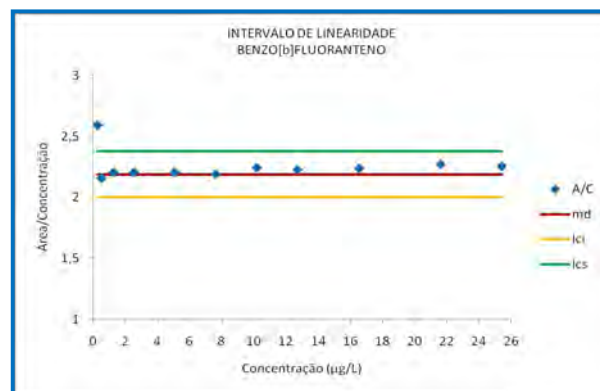


Figura 69: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Benzo[b]Fluoranteno.

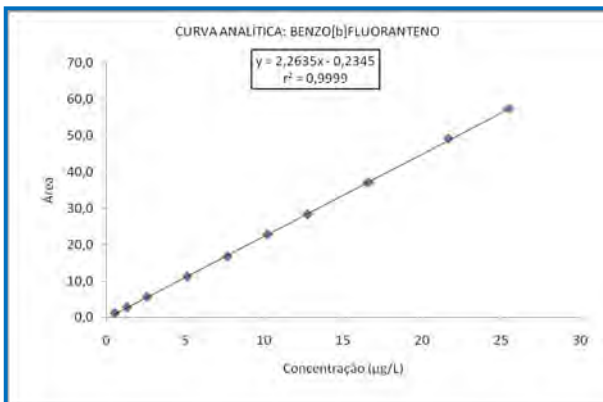


Figura 70: Gráfico da Curva Analítica para o Benzo[b]Fluoranteno.

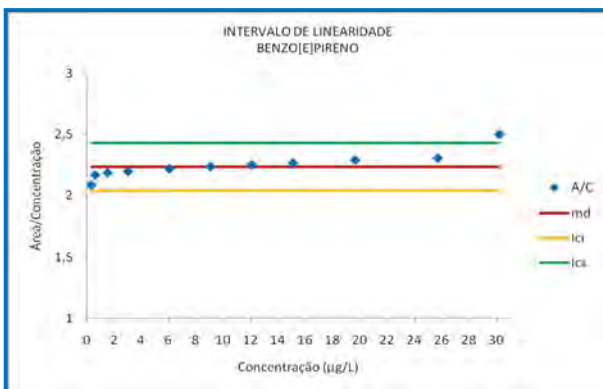


Figura 71: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Benzo[e]Pireno.

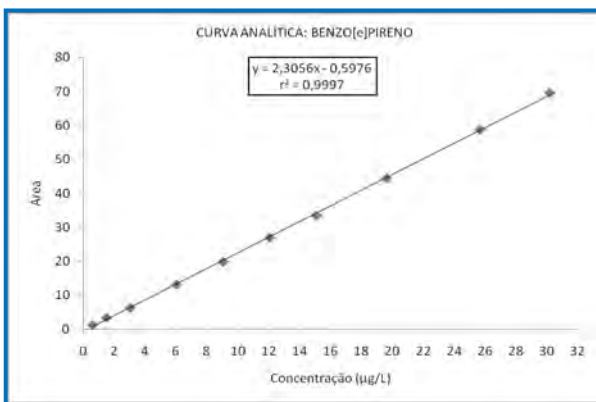


Figura 72: Gráfico da Curva Analítica para o Benzo[e]Pireno.

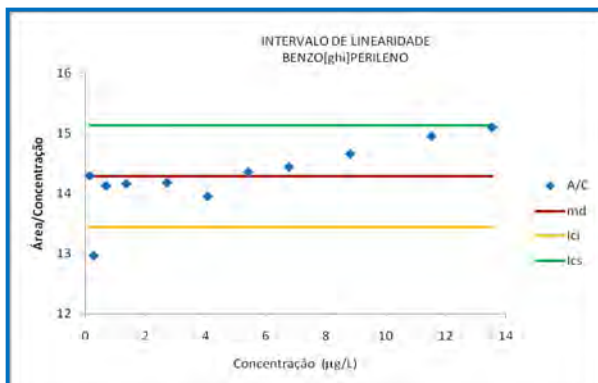


Figura 73: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Benzo[ghi]Perileno.

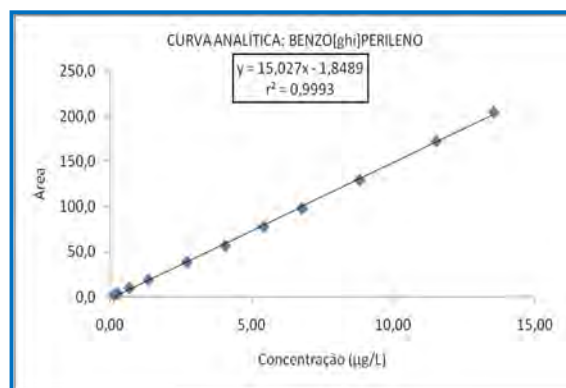


Figura 74: Gráfico da Curva Analítica para o Benzo[ghi]Perileno.

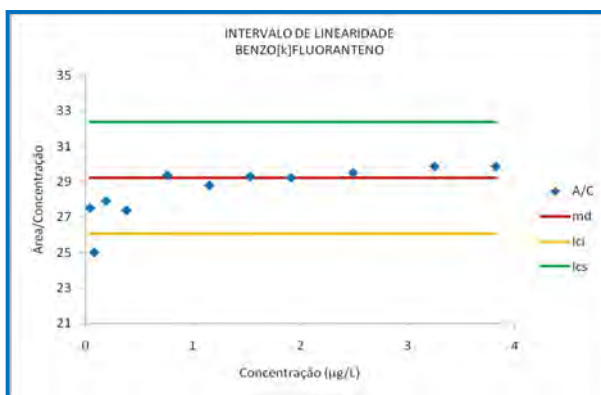


Figura 75: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Benzo[k]Fluoranteno.

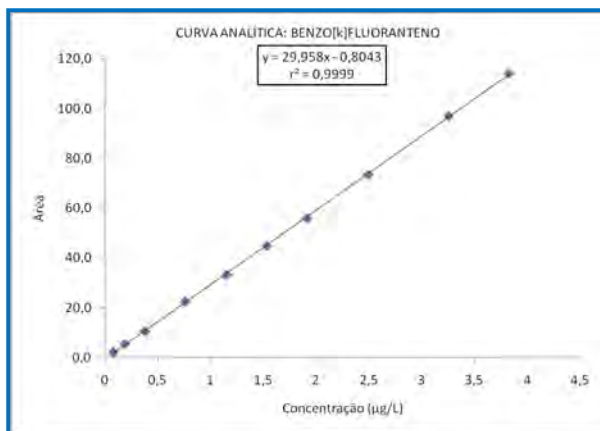


Figura 76: Gráfico da Curva Analítica para o Benzo[k]Fluoranteno.

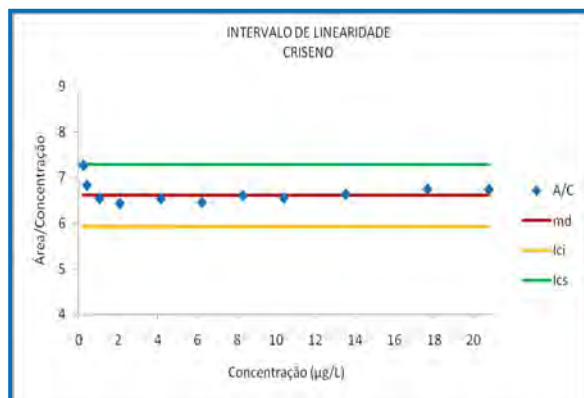


Figura 77: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Criseno.

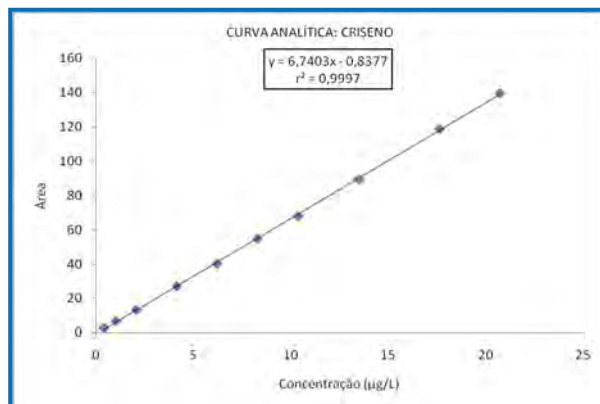


Figura 78: Gráfico da Curva Analítica para o Criseno.

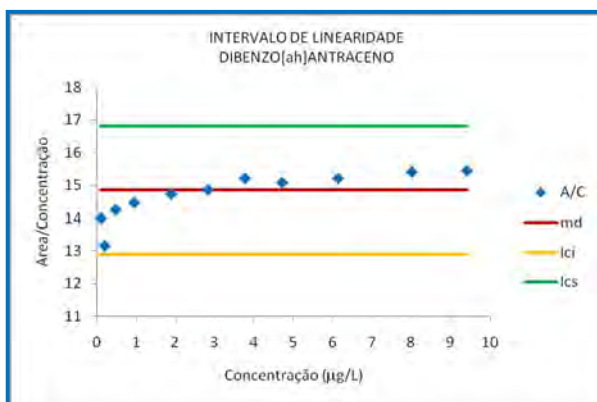


Figura 79: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Dibenzo[ah]Antraceno.

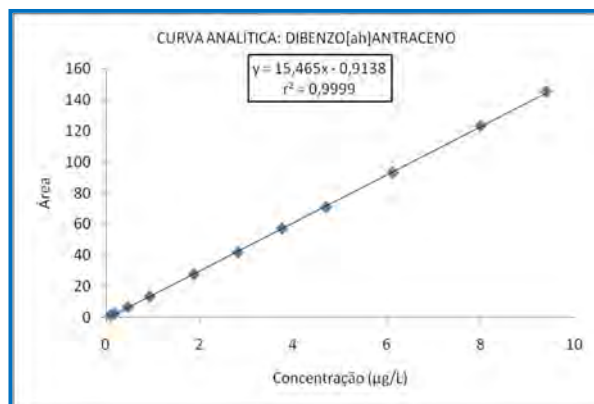


Figura 80: Gráfico da Curva Analítica para o Dibenzo[ah]Antraceno.

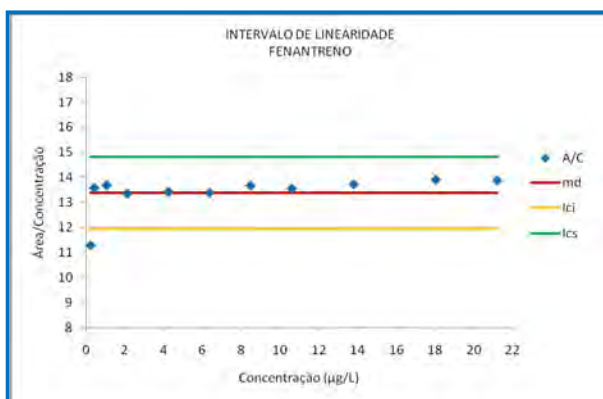


Figura 81: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Fenantreno.

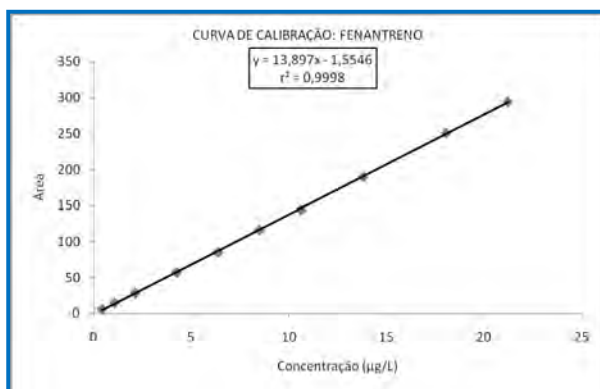


Figura 82: Gráfico da Curva Analítica para o Fenantreno.

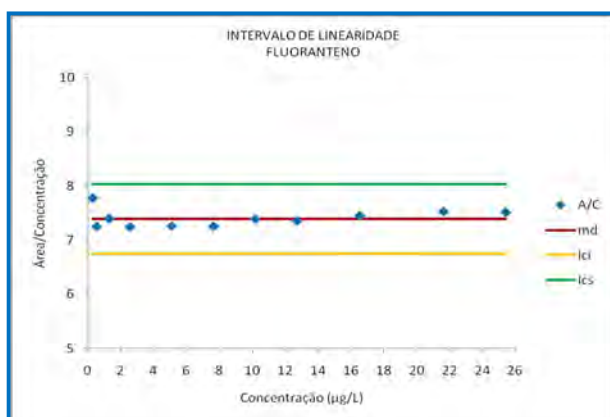


Figura 83: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Fluoranteno.

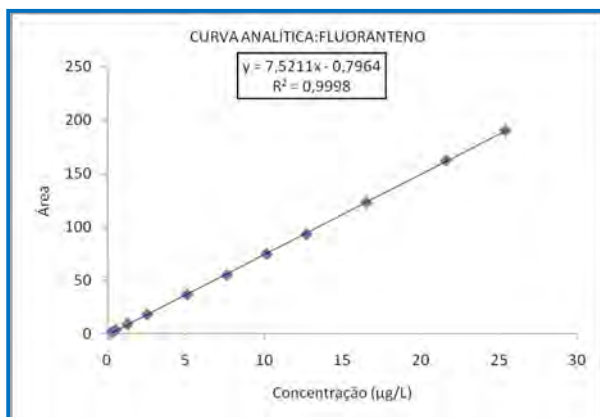


Figura 84: Gráfico da Curva Analítica para o Fluoranteno.

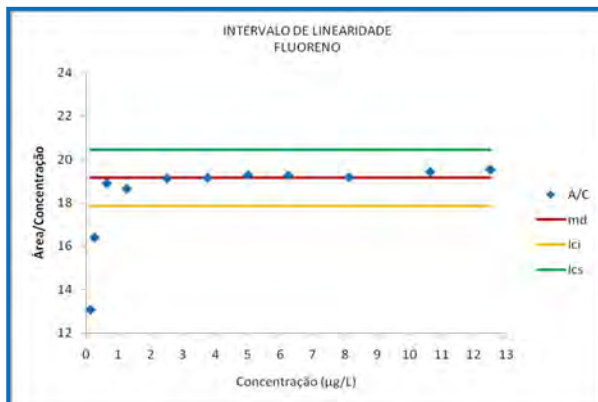


Figura 85: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Fluoreno.

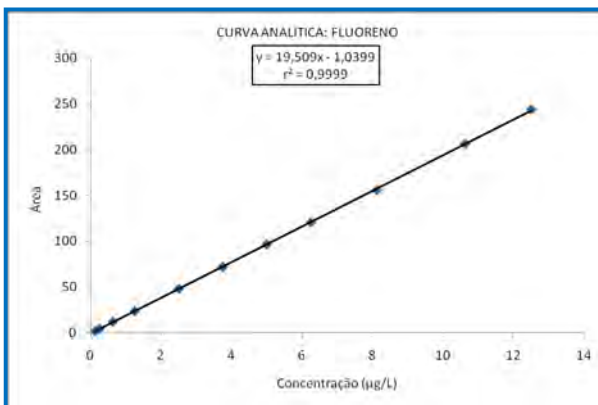


Figura 86: Gráfico da Curva Analítica para o Fluoreno.

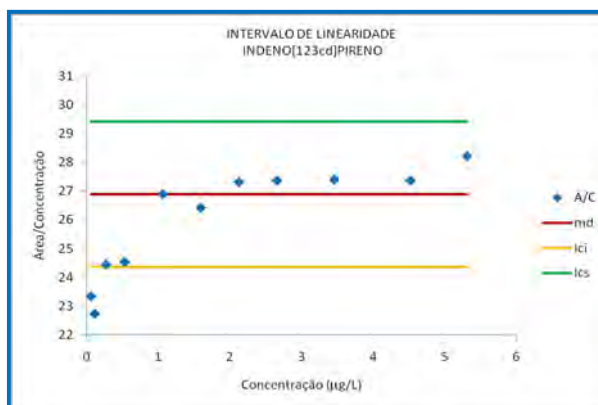


Figura 87: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Indeno[123cd]Pireno.

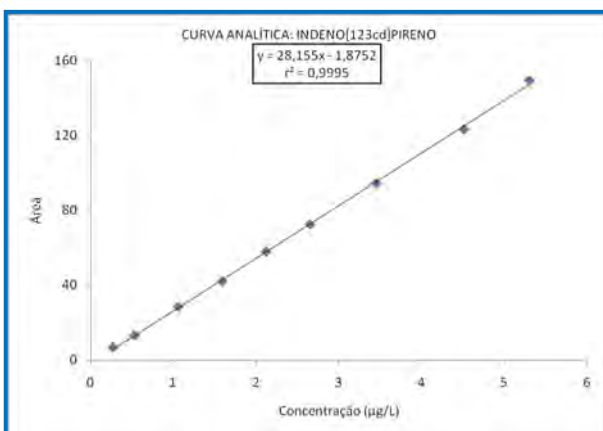


Figura 88: Gráfico da Curva Analítica para o Indeno[123cd]Pireno.

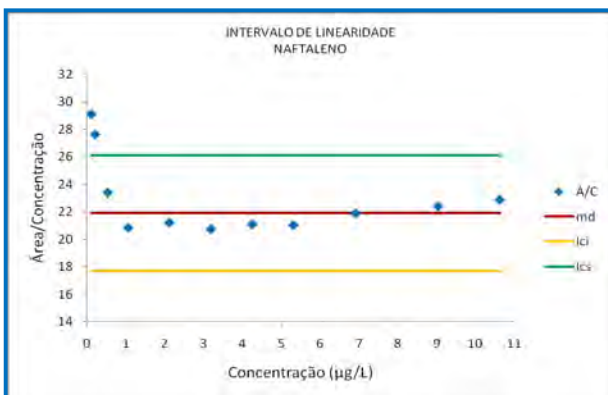


Figura 89: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Naftaleno.

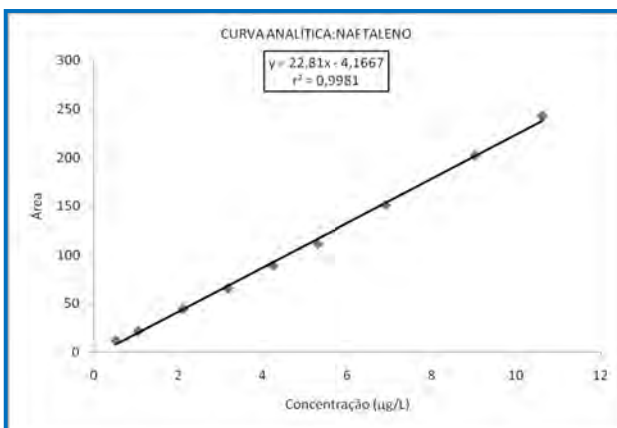


Figura 90: Gráfico da Curva Analítica para o Naftaleno.

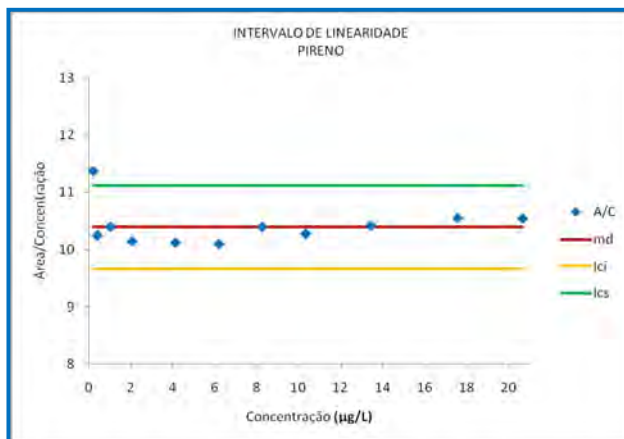


Figura 91: Gráfico do Teste de Huber para a rejeição de dados das curvas da mistura padrão para o Pireno.

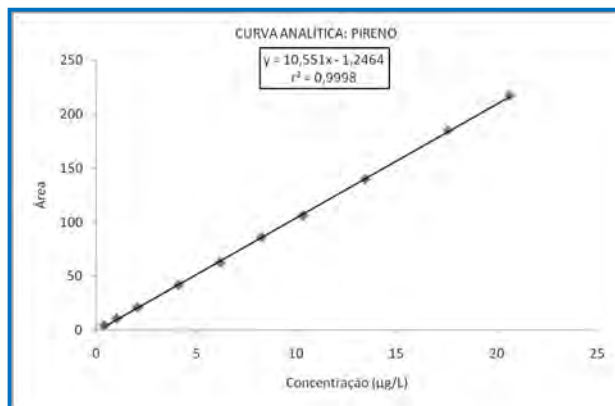


Figura 92: Gráfico da Curva Analítica para o Pireno.

REFERÊNCIAS

ACEVES, M.; GRIMALT, J. O. Seasonally dependent size distributions of aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in urban aerosols from densely populated areas. *Environmental Science Technology*. v. 27, p. 2896-2908, 1993.

ÁLVAREZ-BERNAL, D.; CONTRERAS-RAMOS, S.; MARSCH, R.; DENDOOVEN, L. Influence of catclaw *Mimosa monacistra* on the dissipation of soils PAHs. *International Journal of Phytoremediation*, v. 9, p. 79-90, 2007.

AMARAL, N. D. *Noções de conservação do solo*. 2. Ed. São Paulo: Nobel, 1978.

ANÁLISE INSTRUMENTAL. Cromatografia líquida de alta resolução. Cefet - Química, Unidade Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://www.ifrj.edu.br/aluno/a/instrumental/CLAE.pdf>>. Acesso em: 20 out. 2009.

ANDRADRE, S. J. **Otimização e validação de metodologia analítica para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em urina**. 2000. 73 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2000.

ANDRADRE, S. J. **Investigação sobre a composição química e avaliação da mutagenicidade do material particulado atmosférico sob a influência da fuligem da queima de cana-de-açúcar**. 2004. 120 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2004.

AQUINO NETO, F. R. de; NUNES, D. da S. e S. **Cromatografia princípios básicos e técnicas afins**. Rio de Janeiro: Interciência, 2003.

AZEVEDO, D. A.; SANTOS, C. Y. M.; AQUINO NETO, F. R. de. A. Identification and seasonal variation of atmospheric organic pollutants in Campo dos Goytacazes, Brazil. **Atmospheric Environment**, v. 36, p. 2383-2395, 2002.

BAEK, S. O.; FIELD, R. A.; GOLDSTONE, M. E.; KIRK, P. W.; LESTER, J. N. A review of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: sources, fate and behavior. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 60, p. 279-300, 1991.

BAKER, A. "Fluorescence Excitation-Emission Matrix Characterization of Some Sewage-Impacted Rivers." **Environmental Science and Technology**, v. 35, n. 5, p. 948-953, 2001.

BAMFORTH, S.; SINGLETON, I. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: current knowledge and future directions. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 80, n. 7, p. 723-736, 2005.

BARRA, R.; POPP, P.; QUIROZ, R.; BAUER, C.; CID, H.; TUMPLING, W. V. Persistent toxic substances in soils and waters along an altitudinal gradient in the Laja river basin, central southern Chile. **Chemosphere**, v. 58, p. 905-915, 2005.

BETTIN, S. M.; FRANCO, D. W. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em aguardentes. **Ciência Tecnologia Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 234-238, 2005.

BÍCEGO, C.M.; TANIGUCHI, S.; YOGUI, G.T.; MONTONE, R.C.; SILVA, D.A.M.; LOURENÇO, R.A.; MARTINS, C.C.; SASAKI, S.T.; PELLIZARI, V.H. & WEBER, R.R. Assessment of contamination by polychlorinated biphenyls and aliphatic and aromatic hydrocarbons in sediments of the Santos and São Vicente Estuary System, São Paulo, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, n. 52, v. 12, p. 1804-1816, 2006.

BISINOTI, M. C.; JARDIM, W. de F. Emprego de técnicas analíticas na especificação dos metais pesados e a sua importância para o estudo ambiente. **Caderno Temático**, v. 2, jun. 2004.

BOUROTTE, C.; FORTI, M. C.; TANIGUCHI, S.; BÍCEGO, C.; LOTUFO, P. A. A wintertime study of PAHs in fine and coarse aerosols in São Paulo city, Brazil. **Atmospheric Environment**, v. 39, n. 21, p. 3799-3811, 2005.

BRITO, E. M. S.; VIEIRA, E. D. R.; TORRES, J. P. M.; MALM, O. Persistent organic pollutants in two reservoirs along the Paraíba do sul-Guandu river system, Rio de Janeiro. **Quimica Nova**, v. 28, n. 6, p. 941-942, 2005.

BUCHELI, T. D., BLUM, F., DESAULES, A., GUSTAFSSON, O. Polycyclic aromatic hydrocarbons, black carbon, and molecular markers in soils of Switzerland. **Chemosphere**, v. 56, p. 1061-1076, 2004.

BUDZINSKI, H.; JONES, I.; BELLOCQ, J.; PIÉRARD, C.; GARRIGUES, P. Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary. **Marine Chemistry**, v. 58, p. 85-97, 1997.

CAVALCANTE, R. M.; LIMA, D. M.; CORREIA, L.; NASCIMENTO, R. F.; Técnicas de extrações e procedimentos de cleanup para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) em sedimentos do Ceará, **Química Nova**, v.31, n.6, p. 1371-1377, 2008.

CELINO, J. J.; CORSEUIL, H. X.; FERNANDES, M.; SÁNCHEZ, G. M. Distribuição de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos entre sedimento e água nos ecossistemas costeiros e estuarinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ÁGUAS SUBTERRRÂNEAS, v. 15, p. 1-19, 2008.

CERDEIRA, R. Cromatografia gasosa: métodos experimentais em energia e ambiente. **INT- Center of Innovation, Technology and Policy Research 2005**. Disponível em: <<http://in3.dem.ist.utl.pt/labcombustion/EMEEcourse/apresentacoes.asp>>. Acesso em: 27 jan. 2009.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Relatório do levantamento geofísico para diagnóstico da contaminação da indústria Sulfabrás.** São Paulo, 1997.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Relatório de qualidade das águas interiores do Estado de São Paulo 2003.** São Paulo: CETESB. 2004.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo 2004/CETESB.** São Paulo, 2005.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. Secretaria de Estado do Meio Ambiente. **Relação de áreas contaminadas CETESB.** Disponível em: <[http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/áreas contaminadas/relação áreas.asp](http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/áreas%20contaminadas/relação%20áreas.asp)>. Acesso em: 28 maio 2009.

COMPOSIÇÃO DO SOLO: perfil do solo e os respectivos horizontes. Disponível em: <www.turfa.com.br>. Acesso em: 23 abr. 2009.

CONDE, F.J., AYALA, J.H., AFONSO, A.M., GONZALEZ, V. Emissions of polycyclic aromatic hydrocarbons from combustion of agricultural and silvicultural debris. **Atmospheric Environment**, v. 39, p. 6654-6663, 2005.

CONTE, P.; ZENA, A.; PILIDIS, G.; PICCOLO, A. Increased retention of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils induced by soil treatment with humic substances. **Environmental Pollution**, Greece, v. 112, p. 27-31, 2001.

CRISTALE, J. **Influência da queima de cana-de-açúcar na presença de HPAs em ambiente residencial.** 2008. 105 f. Dissertação (Mestrado em Química), Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2008.

CURIE, L. A. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995). **Analytica Chimica Acta**, v.391, n.1, p.105-126, 1999.

D'AGOSTINHO, A., FLUES, M. Determinação do coeficiente de distribuição (Kd) de benzo(a)pireno em solo por isotermas de sorção. **Química Nova**, n. 29, v. 4, p. 657-66, 2006.

DAVIES, I. L.; BARTLE, K. D.; WILLIAMS, P. T.; ANDREWS, G. E. *Anal. Chem.* v. 60, p. 204, 1988.

DIAS, C. L.; CASARINI, D. C. P. Gerenciamento da qualidade de solos e águas subterrâneas. **Relatório técnico de viagem na Holanda**, São Paulo, 1996.

DÓREA, H.S.; LANÇAS, F.M. Matrix solid-phase dispersion extraction of organophosphorus and synthetic pyrethroid pesticides in cashew nut and passion fruit. **Journal Microcolumn Separations**, v.11, n.5, p.367-375, 1999.

DÓREA, H. S.; CARDOSO, M. das G.; NAVICKIENE, S.; EMÍDIO, E. S.; SILVA, T. C. S.; SILVA, M. M. S. Análise de poluentes orgânicos tóxicos em cachaça. **Revista da FAPese**, v. 4, n. 2, p. 5-18, jul./dez. 2008.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Quality criteria for water 1986**: EPA 440/5-86-001. Washington, DC, 1986.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Current national recommended water quality criteria 2006**. Disponível em: <<http://www.epa.gov/ost/criteria/wqcriteria.html#priority>>. Acesso em 23 mar. 2009.

ETTRE, L. S. "M. S. Tswett and the invention of chromatography". **LCGC North America**, v. 21, p. 458-467, 2003.

FONTES EMISSORAS DE HPAs. Diversas fontes de contaminação dos existentes nos compartimentos ambientais. Disponível em: <www.jornaloimparcial.com.br/?p=3423>. Acesso em: 30 jul. 2009.

FONTANA, L. F.; SILVA, F. S. da; KREPSKY, N.; BARCELOS, M. A.; CRAPEZ, M. A. C. Natural attenuation of aromatic hydrocarbon from sandier sediment in boa viagem beach, Guanabara Bay, RJ, Brazil. *Geochimica Brasilensis*, v. 20, p. 78 - 86, 2006.

FROEHNER, S.; MARTINS, R. F. Avaliação do destino e bioacumulação de Benzo[a]Pireno através de simulação computacional. *Química Nova*, v. 31, n. 5, p. 1089-093, 2008.

FUJITA, A. T. Estudo sobre o cultivo de *Achillea millefolium* em solo tratado com compostos de resíduos sólidos urbanos: **desenvolvimento da planta, absorção de nutrientes e acúmulo de princípio ativo**. 2004. 60 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2004.

GARBAN, B.; BLANCHOU, H.; MOTALAY-MASSEI, A.; CHEVREUIL, M.; OLLIVON, D. Atmospheric bulk deposition of PAHs onto France: trends from urban to remote sites. *Atmospheric Environment*, v. 36, p. 5395-5403, 2002.

GODOI, A. F. L.; FAVORETO, R.; SANTIAGO-SILVA, M. Contaminação ambiental por compostos organoestânicos. *Química Nova*, v. 26, n. 5, p. 708-716, 2003.

GOMES, A. O.; AZEVEDO, D. A. Aliphatic and aromatic hydrocarbons in tropical recent sediments of Campo dos Goytacazes, RJ, Brazil. *Journal Brazillian Chemistry Society*, v. 14, n. 3, p. 358-368, 2003.

GONÇALVES, D. B. Sob as cinzas dos canaviais: o perigoso impasse das queimadas no estado de São Paulo. *Informações Econômicas*, v. 35, n. 8, ago. 1995.

HAFNER, W. D.; CARLSON, D. L.; HITES, R. A. Influence of local human population on atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons concentrations. **Environmental Science and Technology**, v. 39, n. 19, p. 7374-379, 2005.

HAITZER, M.; HOSS, S.; TRAUNSPURGER, W.; STEINBERG, C. Effects of dissolved organic matter (DOM) on the bioconcentration of organic chemicals in aquatic organisms - A review. **Chemosphere**, v. 37, p. 1335-1362, 1998.

HARRIS, D. **Análise química quantitativa**. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC, 1999.

HEEMKEN, O. P.; STACHEL, B.; THEOBALD, N.; WENCLAWIAK, B. W. Temporal variability of organic micropollutants in suspended particulate matter of the River Elbe at Hamburg and the River Mulde at Dessau, Germany. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 38, p.11-31, 2000.

HOLLIGER, C. GASPARD, S.; GLOD, G.; HEIJMAN, C.; SCHUMACHER, W.; SCHWARZENBACH, R. P.; VAZQUEZ, F. Contaminated environmental in the subsurface and bioremediation: organic contaminants. **FEMS Microbiology Review**, v. 20, n. 4, p. 517-523,1997.

HONDA, K.; MIZUKAMI, M.; UEDA, Y.; HAMADA, N.; Seike, N. Residue level of polycyclic aromatic hydrocarbons in Japanese paddy soils from 1959 to 2002. **Chemosphere**, v. 68, p. 1763-1771, 2007.

HOWARD, A. G.; STATHAM, P. J. **Inorganic trace analysis: phylosophy and practice**. John Wiley & Sons, 1993.

HUANG, X. -ALAWI, Y.; PENROSE, D. M.; GLICK, B. R.; GREENBERG, B. M. A multi-process phytoremediation system for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soil. **Environmental Pollution**, n. 130, p. 465-476, 2004.

HUBER, L. Validation of analytical methods: review and strategy. **LC/GC International**, p. 96-105,1998.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Agents reviewed by the IARC monographs**, v.1-98. Disponível em: <<http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/ListagentsCASnos.pdf>>. Acesso em: 08 fev. 2009.

INSTITUTE OF OCCUPATIONAL AND SAFETY HEALTH. **Polynuclear aromatic hydrocarbons by HPLC 5506**: manual of analytical methods. 4th ed. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/niosh/nmam/pdfs/5506.pdf>>. Acesso em: 21 ago. 2007.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS. **Mapeamento das usinas no estado de São Paulo**. Disponível em: <<http://www.dsr.inpe.br/canasat/frame.jsp>>. Acesso em: 24 jul. 2009a.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS. **Estimativa da safra de cana-de-açúcar para o município de Araraquara**. Disponível em: <http://www.dsr.inpe.br/cana_sat/grafico.jsp?grf=2&oid=ARARAQUARA> . Acesso em: 24 jul. 2009b.

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS. **Estimativa da produção de cana-de-açúcar para o município de Araraquara**. Disponível em: <<http://www.dsr.inpe.br/canasat/selmun.jsp?tabela=&ano=2007&state=&where=Araraquara>>. Acesso em: 24 jul. 2009c.

JACQUES, R. J. S. OKEKE, B. C.; BENTO, F. M.; PERALBA, M. do C. R.; CAMARGO, F. A. de O. Characterization of a polycyclic aromatic hydrocarbon degrading microbial consortium from a petrochemical sludge landfarming site. **Bioremediation Journal**, v.11, n.1, p.1-11, 2007.

JAPENGA, J.; WAGENAAR, W. J.; SMEDES, F.; SALOMONS, W. A new, rapid clean-up procedure for the simultaneous determination of different groups of organic

micropollutants in sediments; application in two European estuarine sediment studies. **Environmental Technology Letters**, v. 8, p. 9-20, 1987.

JACQUES, R. J. S.; BENTO, F. M.; ANTONIOLLI, Z. I.; CAMARGO, F. A. de O. Bioremediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons. **Ciência Rural**, v. 37, n. 4, p. 1192-1201, 2007.

JIAO, X. C.; XU, F. L.; DAWSON, R.; CHEN, S. H.; TAO, S. Adsorption and absorption of polycyclic aromatic hydrocarbons to rice roots. **Environmental Pollution**, v. 148, p. 230-235, 2007.

JOHNSEN, A. R.; WICKB, L. Y.; HARMSB, H. Principles of microbial PAH-degradation in soil. **Environmental Pollution**, v. 133, p. 71-84, 2005.

KHALfi, A., TROUVE, G., DELOBEL, R., DELFOSSE, L. Correlation of CO and PAH emissions during laboratory scale incineration of wood waste furnitures. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 56, p. 243-262, 2000.

KANALY, R. A.; HARAYAMA, S. Minireview: biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria. **Journal of Bacteriology**, v. 182, n. 8, p. 2059–2067, Apr. 2000.

KANNAN, K.; JOHNSON-RESTREPO, B.; YOHN, S. S.; GIESY, J. P.; LONG, D. T. Spatial and temporal distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from Michigan Inland Lakes. **Environmental Science Technology**, v. 39, p. 4700 - 4706, 2005.

KAYAL, S. I.; CONNELL, D. W. Polycyclic aromatic hydrocarbons in biota from the Brisbane River Estuary, Australia. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 40, p. 475-493, 1995.

KLAASSEN, C.D.; DOULL, J. & AMDUR, M.O. Casarett and doull's toxicology: **the basic science of poisons**. 5. ed. New York: McGraw-Hill, 1996.

LANÇAS, F. M. **Extração em fase sólida (SPE)**. São Carlos: RIMa, 2004a. (Métodos cromatográficos de análise 4).

LANÇAS, F. M. **Validação de métodos cromatográficos de análise**. São Carlos: RIMa, 2004b. (Métodos cromatográficos de análise 6).

LAW, R. J.; BISCAYA, J. L. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) - problems and progress in sampling, analysis and interpretation. **Marine Pollution Bulletin**, v. 29, p. 235-241, 1994.

L AAK, T. L. T.; AGBO, S. O.; BARENDREGT, A.; HERMENS, J. L. M. Freely dissolved concentrations of PAHs in soil pore water: measurements via solid-phase extraction and consequences for soils tests. **Environment Science Technology**, v. 40, p. 1307-1313, 2006.

LEE , M.; NOVOTNY, M. V.; BARTLE, K. D. **Analytical chemistry of polycyclic aromatic compounds**. New York: Academic Press, 1981.

LENS, G.; **Métodos Fotométricos**, Biofísica, 1997.

LOPES, W. A.; ANDRADE, J. B. Fontes, formação, reatividade e quantificação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) na atmosfera. **Química Nova**, v. 19, n. 5, p. 497-515, 1996.

LOPES, W. G.; DÓREA, H. S.; Application of the matrix solid phase dispersion (MSPD) technique in the analysis of pesticides in okra by GC-MS, **Química Nova**, n.6, v. 27, 2004.

MAI, B. X.; QI, S. H.; ZENG, E. Y.; YANG, Q. S.; ZHANG, G.; FU, J. M.; SHENG, G. Y.; PENG, P. A.; WANG, Z. S. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in the coastal region off Macao, China: assessment of input sources and transport pathways using compositional analysis. **Environmental Science Technology**, v. 37, p. 4855 - 4863, 2003.

MAPA PEDOLÓGICO DO SOLO BRASILEIRO: **classificação do solo brasileiro**. Disponível em: <www.portalbrasil.net/images/mapabrasil_solo>. Acesso em: 23 abr. 2009.

MANTIS, J.; CHALOULAKOU, A.; SAMARA, C. PM10-bound polycyclic hydrocarbons (PAHs) in the greater area of Athens, Greece. **Chemosphere**, v. 59, p. 593-604, 2005.

MAZZERA, D.; HAYES, T.; LOWENTHAL, D. & ZIELINSKA, B. Quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil at McMurdo Station, Antarctica. **The Science of Total Environment**, v. 299, p. 65-71, 1999.

MEANS J. C.; WOOD, S. G.; HASSETT, J. J.; BANWART, W. L. Sorption polynuclear aromatic hydrocarbons by sediments and soils. **Environmental Science and Technology**, v. 14. n. 12, p. 1524-1528, 1980.

MEIRE, R. O.; AZEREDO, A.; TORRES, J. P. M. Aspectos ecotoxicológicos de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, n. 2, p. 188-201, 2007a.

MEIRE, R. O. ; AZEREDO, A.; PEREIRA, M. de S.; TORRES, J. P. M. Avaliação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em áreas de proteção permanente no sudeste brasileiro. In: CRONEMBERGER, C.; CASTRO, E. B. V. de. **Ciência e conservação na Serra dos Orgãos**. Brasília, DF: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, 2007b.

MEIRE, R. O.; AZEREDO, A.; PEREIRA, M. S. de; TORRES, J. P. M.; MALM, O. Polycyclic aromatic hydrocarbons assessment in sediment of national parks in southeast Brazil. **Chemosphere**, v. 73, p. 180 - 185, 2008.

MENICONI, M.F.G.; GABARDO, I.T.; CARNEIRO, M.E.R.; BARBANTI, S.M.; SILVA, G.C. & MASSONE, C.G. Brazilian Oil Spills Chemical Characterization_____Case Studies. **Environmental Forensics**, n. 3, v. 3-4, p. 303-32, 2002.

MILLER, J.C.; MILLER, J.N., Errors in instrumental analysis; **regression and correlation**. In: HORWOOD_____Statistics for Analytical Chemistry, Chichester: John Wiley & Sons, cap. 5, p. 101-139, 1993.

MOSCHINI, L. E. **Diagnóstico e riscos ambientais relacionados à fragmentação de áreas naturais e semi-naturais da paisagem. Estudo de caso: município de Araraquara, SP.** 2005. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2005.

NADAL, M., SCHUHMACHER, M., & DOMINGO, J. L. Levels of PAHs in soil and vegetation samples from Tarragona County, Spain. **Environmental Pollution**, v. 132, p. 1–1, 2004.

NATIONAL INSTITUTE FOR OCCUPATIONAL SAFETY AND HEALTH. Polynuclear aromatic hydrocarbons by HPLC: method 5506. In: _____.**NIOSH manual of analytical methods (NMAM)**. 4th ed. 1998. Disponível em: <<http://www.cdc.gov.pugwash.lib.warwick.ac.uk/niosh/nmam/pdfs/5506.pdf>>. Acesso em: 8 fev. 2007.

NEFF, J. M. Bioaccumulation of organic micropollutants from sediments and suspended particulates by aquatic animals. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, v. 319, p. 132-136, 1984.

NCIBI, M. C.; MAHJOUR, B.; GOURDON, R. Effects of aging on the extractability of naphthalene and phenanthrene from Mediterranean soils. **Journal of Hazardous Materials**, v. 146, p. 378-384, 2007.

NISHIGIMA, F.N.; WEBER, R.R. & BICEGO, M.C. Aliphatic and aromatic hydrocarbons in sediments of Santos and Cananeia, SP, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 42, p. 1064-1072, 2001.

OHKOUCHI, N.; KAWAMURA, K.; KAWAHATA, H. Distributions of three- to seven-ring polynuclear aromatic hydrocarbons on the Deep Sea Floor in the Central Pacific. **Environmental Science Technology**, v. 33, p. 3086-3090, 1999.

OLESZCZUK, P.; BARAN, S.; Application os solid-phase extraction to determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludge extracts. **Journal of Hazardous Materials**, v. 113, p. 237-245, 2004.

OLIVEIRA, F. T. de; ARRUDA, J. A.; SILVA, I. de F.; ALVES, J. do C. Amostragem para avaliação da fertilidade do solo em função do instrumento de coleta das amostras e de tipos de preparo do solo. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 31, p. 973-983, 2007.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Programa Internacional sobre Segurança Química. **Substâncias químicas perigosas à saúde e ao ambiente**. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2008.

PAGE, D. S.; BOEHM, P. D.; DOUGLAS, G. S.; BENCE, A. E.; BURNS, W. A.; MANKIEWICZ, P. J. Pyrogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments record past human activity: a case study in Prince William Sound, Alaska. **Marine Pollution Bulletin**, v. 38, p. 247-266, 1999.

PARAÍBA, L. C.; SAITO, M. L. Distribuição ambiental de poluentes orgânicos encontrados em lodos de esgoto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 9, p. 853-860, set. 2005.

PENA, T.; PENSANDO, L.; CASAIS, C.; MEJUTO, C.; PHAN-THAN-LUU, R.; CELA, R. Optimization of a microwave-assisted extraction method for the analysis of

polycyclic aromatic hydrocarbons from fish samples. **Journal of Chromatography A**, v. 112, p. 163-169, 2006.

PENA, M. T.; CASAIS, M. C.; MEJUTO, M. C., CELA, R. Sample preparation of sewage sludge and soil samples for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons based on one-pot microwave-assisted saponification and extraction. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, n. 387, p. 2559-2567, 2007a.

PENA, M. T.; CASAIS, M. C.; MEJUTO, M. C.; CELA, R. Optimization of the solid-phase dispersion sample preparation procedure for analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils: comparison with microwave-assisted extraction. **Journal of Chromatography A**, n. 1165, p. 32-38, 2007b.

PEREIRA NETTO, A. D.; MOREIRA, J.; DIAS, A. E. X. O.; ARBILLA, G.; FERREIRA, L. F. V.; OLIVEIRA, A. S.; BAREK, J. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (NHPAs): uma revisão metodológica. **Química Nova**, v. 23, n. 6, p. 765-773, 2000.

PLANETEARTH. Solo: a pele da terra. Prospecto relativo a um tema-chave do ano internacional do Planeta Terra 2007-2009. **Earth science for society**, 2009.

POPPI, N. R. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos e outras substâncias orgânicas na combustão de madeira para a produção de carvão e em particulado atmosférico da cidade de Campo Grande/MS. 2000, 220 f. Tese (**Doutorado em Química**), Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2000.

PINI, G. F. Estudos da classificação de óleos essenciais com uso combinado de cromatografia gasosa e métodos quimiométricos. 1995, 74 f. **Dissertação (Mestrado em Química)**, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1995.

POTIN, O.; RAFIN, C.; VEIGNIE, E. Bioremediation of an aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-contaminated soil by filamentous fungi isolated from the soil. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 54, n. 1, p. 45-52, 2004.

PRODUTOS PARA SEGURANÇA LTDA. Lei 4.446/03 que proíbe a queima da cana-de-açúcar. Disponível em: <<http://www.protefer.com/noticias.php?ver=623>>. Acesso em 05 maio 2009.

QUEIMADA DE CANA-DE-AÇÚCAR. Disponível em: <<http://www.jornaldeuberaba.com.br/?MENU=CadernoA&SUBMENU=Politica&CODIGO=28252>>. Acesso em 23 mar. 2009.

RAIJ, B. V. **Análise química do solo para fins de fertilidade**. 1. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1987.

READMAN, J. W.; MANTOURA, R. F.C.; RHEAD, M. M. The physicochemical speciation of polycyclic aromatic-hydrocarbons (PAH) in aquatic systems. **Fresenius Zeitschrift fur Analytische Chemie**, v. 319, p. 126-131, 1984.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação de métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

ROCKVILLE. **United States Pharmacopeia Convention**; US Pharmacopeia 24; Validation of Compendial Methods <1225>; 1999.

ROGGE, W. F.; MAZUREK, M. A.; HILDEMANN, L. M.; CASS, G. R.; SIMONEIT, B. R. T. Quantification of urban organic aerosols at a molecular level: identification, abundance and seasonal variation. **Atmospheric Environment**, v. 27 A, p. 1309-1330, 1993.

ROSE, N. L.; RIPPEY, B. The historical record of PAH, PCB, trace metal and fly-ash particle deposition at a remote lake in north-west Scotland. **Environmental Pollution**, v. 117, p. 121-132, 2002.

SABBAH, I., Rebhun, M., Gerstl, Z. An independent prediction of the effect of dissolved organic matter on the transport of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Contaminant Hydrology*. v. 75, p. 55-70, 2004.

SÁNCHEZ-BRUNETE, C.; MIGUEL, E.; TADEO, J. L. Rapid method for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in agricultural soils by sonication-assisted extraction in small columns. **Journal Sep. Sci.**, 29, 2166-2172, 2006.

SANDERS, G., HAMILTON-TAYLOR, J.; JONES, K.C. PCB and PAH dynamics in a small rural lake. **Environmental Science and Technology**. v. 30, p. 2958-2966, 1996.

SANTOS, C. Y. M.; AZEVEDO, D. A.; AQUINO NETO, F. R. A. Selected organic compounds from biomass burning found in the atmospheric particulate matter over sugarcane plantation areas. **Atmospheric Environment**, Amsterdam, v. 36, n. 18, p. 3009-3019, 2002.

SANTOS, C.Y.M.; AZEVEDO, D.A.A. & NETO, F.R.A. Atmospheric distribution of organic compounds from urban areas near a coal-fired power station. **Atmospheric Environment**, v. 38, p. 1247-1257, 2004.

SCHIAVETTI, A. SOLOS. Disponível em: <<http://educar.sc.usp.br/biologia/prociencias/solos.html#solos1>>. Acesso em: 20 out. 2009.

SHEN, R. Y.; LUO, Y. M.; ZHANG, G. Y.; TENG, Y.; LI, Z. G.; WU, L. H. Contamination of PAHs in sludge samples from the yangtze river delta area. **Pedosphere**, v. 17, n. 3, p. 373-382, 2007.

SHI, Z., TAO, S., PAN, B., LIU, W. X., SHEN, W. R. Partitioning and source diagnostics of polycyclic aromatic hydrocarbons in rivers in Tianjin, China. **Environmental Pollution**, v. 146, p. 492-500, 2005.

SILVA, F. C. da. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Embrapa comunicação para transferência de tecnologia , DF. 1999.

SILVA, A. A. R. da; LOBO, I.; GUEDES, C. L. B.; PINTO, J. P. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils using ultrasonic agitation, heater/mini condenser tube and gaseous chromatography. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 27, n. 2, p. 105-112, jul./dez. 2006.

SILVA, F. S. **Otimização e validação de método para a análise de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) em rapadura**. 2006. 81 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1979.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007.

SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; GLAJXHR, J. L. **Practical HPLC method development**. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 1997.

SONDATERRA. Disponível em: <www.sondaterra.com/trado>. Acesso em: 05 jan. 2009.

SONG, G.; LU, C.; LI, J. Application of surfactants and microemulsions to the extraction of pyrene and phenanthrene from soil with three different extraction methods. **Analytica Chimica Acta**, v. 596, p. 312-318, 2007.

SOUZA, J. de. Cana avança em áreas menos tradicionais. Disponível em: <
http://www.pastoraldomigrante.com.br/index.php?option=com_content&view=article&id=840:cana-avanca-em-areas-menos-tradicionais-&catid=1:ultimasnoticias&Itemid=54>.
Acesso em: 20 out. 2009.

STEINHAUER, M. S.; BOEHM, P. D. The Composition and distribution of saturated and aromatic hydrocarbons in nearshore sediments, river sediments, and coastal peat of the Alaskan Beaufort Sea: implications for detecting anthropogenic hydrocarbon inputs. **Marine Environmental Research**, v. 33, n. 4, p. 223-253, 1992.

TAM, N. F. Y.; WONG Y. S. Mangrove soils in removing pollutants from municipal wastewater of different salinities. **Journal Environmental Quality**, v. 28, p. 556 - 64, 1999.

TAM, N. F. Y.; WONG Y. S. Spatial variation of heavy metals in surface sediments of Hong Kong mangrove swamps. **Environmental Pollution**, v.110, p.195-205, 2000.

TAM, N. F. Y.; YAO, M. W. Y. Concentrations of PCBs in coastal mangrove sediments of Hong Kong. **Marine Pollution Bulletin**, v.44, p.642-51, 2002.

TAO, S.; CAO, H. Y.; LIU, W. X.; LI, B. G.; CAO, J.; XU, F. L.; WANG, X. J.; COVENEY, R. M.; SHEN, W. R.; QIN, B. P.; SUN, R. Fate modeling of phenanthrene with regional variation in Tianjin, China. **Environmental Science and Technology**, 37, p. 2453-2459, 2003.

TSAPAKIS, M.; STEPHANOU, E. G. Occurrence of gaseous and particulate polycyclic aromatic hydrocarbons in the urban atmosphere: study of sources and ambient temperature effect on the gas/particle concentration and distribution. **Environmental Pollution**, v. 133, p. 147-156, 2005.

TEIXEIRA, M. E. T. A queimada de cana e seu impacto ambiental. Disponível em: <
<http://www.forumcarajas.org.br/art.php?id=76>>. Acesso em: 16 ago. 2007.

TFOUNI, S. A. V.; VITORINO, S. H. P.; TOLEDO, M. C. de F. Effect of the process on the contamination of sugar cane and its by-products by polycyclic aromatic hydrocarbons. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 76-82, jan./mar. 2007.

TONHI, E.; COLLINS, K. E.; JARDIM, I. C. S. F.; COLLINS, C. H. Fases estacionárias para cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE-FR) baseadas em superfícies de óxidos inorgânicos funcionalizados. **Química Nova**, v.25, p. 616-623, 2002.

TORRES, J. P. M.; MALM, O.; VIEIRA, E. D. R.; JAPENGA, J.; KOOPMANS, G. F. Organic micropollutants on river sediments from Rio de Janeiro, Southeast Brazil. **Caderno de Saúde Pública**, v. 18, n. 2, p. 477- 488, 2002.

TUHÁCKOVÁ, J.; CAJTHAML, T.; NOVÁK, K.; NOVONTNY, C.; MERTELÍK, J.; SASEK, V. Hydrocarbon deposition and soil microflora as affected by highway traffic. **Environmental Pollution**, v. 113, p. 255-262, 2001.

UNIÃO DOS PRODUTORES DE CANA-DE-AÇÚCAR DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Cana-de-açúcar: origem da atividade**. Disponível em: <http://www.unica.com.br/pages/cana_origem.asp>. Acesso em: 13 ago. 2009.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Instituto de Química. **Gerenciamento de resíduos químicos: normas gerais – revisão 2002**. Disponível em: <<http://www.iq.unesp.br/outros-links.php>>. Acesso em: 20 jul. 2009.

USINA SANTA CRUZ. Disponível em: <<http://earth.google.com.br/intl/pt-BR/>>. Acesso em: 10 jan. 2009.

USINA ZANIN. Disponível em: <<http://earth.google.com.br/intl/pt-BR/>>. Acesso em: 10 jan. 2009.

VANDECASTEELE, C.; BLOCK, .B. **Modern methods for trace element determination**. John Wiley & Sons, 1993.

VASCONCELLOS, P.C.; ZACARIAS, D.; PIRES, M.A.F.; POOL, C.S. & CARVALHO, L.R.F. Measurements of polycyclic aromatic hydrocarbons in airborne particles from the metropolitan area of São Paulo City, Brazil. **Atmospheric Environment**, n. 37, v. 2, p. 3009-3018, 2003.

VESSMAN, J.; STEFAN, R. I.; STADEN, J. F. V.; DANZER, K.; LINDNER, W.; BURNS, D. T.; FAJGELJ, A.; MÜLLER, H. **Pure Applied Chemistry**, v. 73, 138, 2001.

VIEIRA, L.S. **Manual da Ciência do Solo: com ênfase aos solos tropicais**. 2. ed. São Paulo: Agronomica CERES LTDA, 1988.

WEIßHOFF, H.; PREIß, A.; NEHLS, I.; WIN, T.; MÜGGE, C.; Development of an HPLC-NMR method for the determination of PAHs in soil samples – a comparison with conventional methods. **Analytical Bioanalytical Chemistry**, v. 373, p. 810-819, 2002.

WILCKE, W.; AMELUNG, W.; MARTIUS, C.; GARCIA, M. V. B.; ZECH, W. Biological sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the Amazonia forest. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 163, p. 27-30, 2000.

WILD, S. R.; JONES, K. C. Polynuclear aromatic hydrocarbons in the United Kingdom environment: a preliminary source inventory and budget. **Environmental Pollution**, v. 88, p. 91-108, 1995.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Selected non-heterocyclic Polycyclic Aromatics Hydrocarbons**. Geneva: International Programme on Chemical Safety, 1998.

YUNKER, M.B., MACDONALD, R.W., GOYETTE, D., PATON, D.W., FOWLER, B.R., SULLIVAN, D.; BOYD, J. Natural and anthropogenic inputs of hydrocarbons to the Strait of Georgia. **Science Total Environmental**, v.225, p. 181-209, 1999.

YUNKER, M. B.; MacDONALD, R. W.; VINGARZAN, R.; MITCHELL, R. H.; GOYETTE, D.; SYLVESTRE, S. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH sources and composition. **Organic Geochemistry**, v. 33, p. 489-515, 2002.

ZAKARIA, M. P.; TAKADA, H.; TSUTSUMI, S.; OHNO, K.; YAMADA, J.; KOUNO, E.; KUMATA, H. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in rivers and estuaries in Malaysia: a widespread input of petrogenic PAHs. **Environmental Science Technology**, v. 36, p.1907-1918, 2002.

ZAMPERLINI, G. C. M. Investigação da fuligem proveniente da queima de cana-de-açúcar com ênfase nos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos. 1997, 93 f. **Dissertação (Mestrado em Química)**, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 1997.

ZAMPERLINI, C. M. G.; SANTIAGO, M.; VILEGAS, W. Solid-phase extraction of sugar cane soot extract for analysis by gas chromatography with flame ionization and mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography, A**, v. 889, n. 1, p. 281-289, 2000.

ZHENG, G. J.; MAN, B. K. M.; LAM, J. C. W.; LAM, M. H. W.; LAM, P. K. S. Distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediment of a sub-tropical coastal wetland. **Water Resource**, v. 36, p.1457-68, 2002.

ZHENG, X. J.; BLAIS, J. F.; MERCIER, G.; BERGERON, M.; DROUGUI, P. PAH removal from spiked municipal wastewater sewage sludge using biological, chemical and electrochemical treatments. **Chemosphere**, v. 68, p. 1143-1152, 2007.

ZHOU, J. L.; FILEMAN, T. W.; EVANS, S.; DONKIN, P.; READMAN, J. W.; MANTOURA, R. F. C.; ROWLAND, S. The partition of fluoranthene and pyrene between suspended particles and dissolved phase in the Humber Estuary: A study of the controlling factors. **Science of the Total Environment**, v. 244, p. 305-321, 1999.