

Vitor Cid Ferrizzi

Caracterização de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA)
em rios da bacia hidrográfica do Turvo/Grande

São José do Rio Preto-SP
2011

Vitor Cid Ferrizzi

Caracterização de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA)
em rios da bacia hidrográfica do Turvo/Grande

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Química, área de Química Ambiental
junto ao Programa de Pós-Graduação em Química
do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas
da Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Altair B. Moreira
Professor Assistente Doutor
UNESP – São José do Rio Preto
Orientador

Prof. Dr. Eduardo Alves de Almeida
Professor Assistente Doutor
UNESP – São José do Rio Preto

Prof. Dr. Ronaldo José Torres
Doutor
UFSCar – São Carlos

São José do Rio Preto-SP
2011

Ferrizzi, Vitor Cid.

Caracterização de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) em rios da bacia hidrográfica do Turvo/Grande / Vitor Cid Ferrizzi. - São José do Rio Preto : [s.n.], 2011.

113 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Altair Benedito Moreira

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Química ambiental. 2. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA). 3. Bacias hidrográficas. 4. Rios. I. Moreira, Altair Benedito. II. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. III. Título.

CDU – 547.555:556.51

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE
Campus de São José do Rio Preto - UNESP

Aos meus pais João e Iara e meus irmãos
André, João, Lucas e Hugo.

Agradecimentos

Agradeço ao meu orientador, Prof. Altair, pela oportunidade, paciência e pelos ensinamentos transmitidos ao longo do curso de mestrado.

Agradeço também a Profa. Márcia, pela atenção e pelas discussões que foram muito importantes para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus amigos Bruno e Carlos, pelos momentos de descontração, conversas e companheirismo.

Ao colegas do Laboratório de Estudos em Ciências Ambientais, Mariele, Flavia, Renata, Glaucia, Fábio, Amanda, que me ajudaram em diversas fases durante a realização deste trabalho.

Agradeço aos colegas de trabalho Rita, Claudinei, Eliani e Daniela, pelo auxílio em momentos importantes.

Agradeço ao apoio do Prof. Dr. Francisco Langeani Neto, Profa. Dra. Lilian Casatti e MSc. Roselene da Silva Costa Ferreira do Laboratório de Ictiologia, do Departamento de Zoologia e Botânica, IBILCE-UNESP, pela identificação dos peixes coletados neste trabalho.

Agradeço a FAPESP pela bolsa concedida (processo n° 2009/06814-4).

Resumo

Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA) fazem parte de uma classe de compostos denominados Substâncias Tóxicas Persistentes, tendo como principais características elevada toxicidade e persistência no ambiente, sendo as fontes petrogênicas, pirogênicas e biogênicas as que mais contribuem para o aporte destes compostos. A Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande (BHTG) é caracterizada por pequenos parques industriais e intensa atividade agrícola com destaque a cana-de-açúcar, que vem acompanhada por processos de queimadas. Neste contexto, este trabalho teve como principal objetivo utilizar a determinação de 1-hidróxipireno em bÍlis de peixes como biomarcador de exposição para HPA e também determinar o histórico destes em sedimentos de rios da BHTG. As coletas de amostras de peixe (160 amostras) e sedimento (superficial e profundidade) nos rios Preto (CAPRP), Turvo (PORTUR e RTURG) e Grande (RGRANDE) foram feitas em dois períodos distintos: fevereiro e julho de 2010. A determinação do 1-hidroxipireno nas amostras de bÍlis de peixes foi realizada de acordo com o método proposto por Ariase *et alii* (1993). Os HPA dos sedimentos foram extraídos de acordo com o método 3540C (EPA) e a quantificação foi realizada empregando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector de Fluorescência (HPLC-DF). As concentrações do 1-hidróxipireno no ponto RTURG da coleta de fevereiro de 2010 variaram na faixa de 210 a 1025 $\mu\text{g L}^{-1}$, com valor médio de $780 \pm 281 \mu\text{g L}^{-1}$. Para as amostras de peixes coletadas em julho de 2010 no ponto CAPRP, os valores estiveram na faixa de 397 - 6463 $\mu\text{g L}^{-1}$, com valor médio de $1300 \pm 1130 \mu\text{g L}^{-1}$. Para os pontos PORTUR e RTURG, os valores médios de concentração de 1-hidróxipireno na bÍlis dos peixes foram $1643 \pm 744 \mu\text{g L}^{-1}$ e $588 \pm 183 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Os valores de concentrações de HPA ao longo do perfil de sedimentos apresentaram comportamentos semelhantes. De forma geral, para todos os HPA houve uma tendência de redução das concentrações com o aumento da profundidade no testemunho de sedimento. A concentração total de HPA (ΣHPA) no sedimento superficial foi maior para o ponto CAPRP, com valores de 2476 ng g^{-1} e 867 ng g^{-1} para as coletas de fevereiro e julho de 2010, respectivamente.

Palavra-chave : Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos; 1-hidróxipireno; Bacia Hidrográfica Turvo/Grande

Title: Characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in rivers of the Turvo/Grande basin

Abstract

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) constitute a class of compounds denominated as Persistent Toxic Substances, having as main characteristics high toxicity and persistence in the environment, being that the sources petrogenic, pyrogenic and biogenic contribute most to the intake of these compounds. Turvo/Grande watershed (BHTG) is characterized by a small industrial facilities and intensive agriculture especially sugarcane activity, which is accompanied by the burning process. In this context, this work aimed to use the determination of 1-hydroxypyrene in fish bile as a biomarker of exposure to PAHs and also determine the history of these in the sediments from BHTG rivers. The sampling of fish (160 samples) and sediment (surface and deep) in the Preto (CAPRP), Turvo (PORTUR e RTURG) e Grande (RGRANDE) rivers, were made in two distinct periods: February and July of 2010. The determination of 1-hydroxypyrene in fish bile samples was performed according to the method proposed by Ariase *et alii* (1993). PAHs were extracted of the sediments according to the method 3540C (EPA) and the quantification was performed using high performance liquid chromatography with fluorescence detector (HPLC-FD). Concentrations of 1-hydroxypyrene in fish bile samples collected in RTURG (February 2010) ranged from 210 to 1025 $\mu\text{g L}^{-1}$, the average values $780 \pm 281 \mu\text{g L}^{-1}$. For fish samples collected in CAPRP in July 2010, values ranged 397-6463 $\mu\text{g L}^{-1}$, with an average of $1300 \pm 1130 \mu\text{g L}^{-1}$. For PORTUR and RTURG, the mean concentration of 1-hydroxypyrene in fish bile were $1643 \pm 744 \mu\text{g L}^{-1}$ and $588 \pm 183 \mu\text{g L}^{-1}$, respectively. PAHs concentration along the sediment profile showed similar behavior. In general, for all PAHs there was a trend of reduction with increasing depth in sediment cores. The total concentration of PAHs (ΣPAHs) were higher in the surface sediment to the CAPRP, with values of 2476 ng g^{-1} and 867 ng g^{-1} for the campaign of February and July 2010, respectively.

Keyword: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons; 1-hydroxypyrene; Turvo/Grande Basin

i) Lista de Figuras

Figura 1. Estrutura dos 15 HPA não-substituídos de 2 a 6 anéis analisados neste trabalho.	21
Figura 2. Mapa esquemático contendo os principais corpos aquáticos bem como a localização dos pontos de amostragem de peixe e sedimento (1 a 5) representados por pontos vermelhos, ao longo dos principais rios da Bacia do Turvo/Grande.	31
Figura 3. Localização do ponto de coleta na nascente do Rio Preto (a) (indicado pela seta) e imagem do local de amostragem (b).	32
Figura 4. Local de coleta adjacente a ponte na rodovia que liga SJRP à Olímpia, representando o Rio Turvo (a) (indicado pela seta), bem como foto do local de amostragem (b).	33
Figura 5. Ponto de coleta no Rio Turvo antes de desaguar no Rio Grande (indicado pela seta) (a) e imagem do local de amostragem (b).	33
Figura 6. Vista ampliada da Represa Municipal de São José do Rio Preto, mostrando o ponto de coleta (indicado pela seta) (a) e foto do local de amostragem (b).	34
Figura 7. Represa Municipal de São José do Rio Preto e rodovias (CAPRP) adjacentes (Washington Luiz e BR-153).	34
Figura 8. Ponto de coleta no Rio Grande (indicado pela seta) (a) e imagem do local de amostragem (b).	35
Figura 9. Espécies de peixes coletados no ponto RGRANDE e RTURARG.	38
Figura 10. Espécies de peixes coletados no ponto CAPRP.	39
Figura 11. Espécies de peixes coletados no ponto PORTUR.	40
Figura 12. Procedimento de amostragem da bÍlis dos peixes. Antes da extração foi medido o peso (Figura 12a) e o comprimento dos peixes (Figura 12b) e em seguida a vesícula biliar, indicada pela seta, foi localizada e a bÍlis foi extraída com uma seringa hipodérmica (Figura 12c).	41
Figura 13. Coletor de sedimentos superficial tipo Van Veen (A) e coletor de testemunho de sedimentos tipo Kajak (B).	42
Figura 14. Conjuntos extratores Soxhlet utilizados na extração dos HPA em sedimento.	44
Figura 15. Colunas cromatográficas empacotadas com sílica gel e sulfato de sódio para retirar as impurezas do extrato contendo os HPA.	45
Figura 16. Esquema da programação da eluição por gradiente utilizando acetonitrila/água como fase móvel: 0 a 9 minutos com 60 % de acetonitrila (ACN); de 9 a 27 minutos 60 % de ACN para 100 %; 27 a 42 minutos permanece constante com 100% de ACN.	48

Figura 17. Curva analítica para a quantificação de 1-hidróxipireno em bÍlis de peixe.	50
Figura 18. Comparação das concentrações do 1-hidróxipireno entre os pontos CAPRP, PORTUR e RTURG pelos gráficos de boxplot.	57
Figura 19. Cromatograma do padrão misto contendo os 15 HPA de interesse empregando uma coluna cromatográfica EnvirosepPP 125 mm x 4,6 mm d.i. A separação dos analitos foi executada com fluxo de 1,3 mL/min da fase móvel composta de acetonitrila e água com eluição por gradiente.	59
Figura 20. Gráfico de linearidade para o Naftaleno (o valor médio do fator de resposta foi determinado independente dos valores discrepantes).	61
Figura 21. Cromatograma do material referência certificado para os 15 HPA de interesse empregando uma coluna cromatográfica ZORBAX Eclipse PAH 250 mm x 4,6 mm d.i. A separação dos analitos foi executada com fluxo de 1,3 mL/min da fase móvel composta de acetonitrila e água com eluição por gradiente.	61
Figura 22. Valores totais da soma das concentrações individuais dos 16 HPA analisados em amostras de sedimentos superficiais coletados no Rio Preto (CAPRP e Nascente), Rio Grande (RGRANDE) e no Rio Turvo (RTURARG e PORTUR), em fevereiro de 2010.	63
Figura 23. Valores totais da soma das concentrações individuais dos 16 HPA analisados em amostras de sedimentos superficiais coletados no Rio Preto (CAPRP e Nascente), Rio Grande (RGRANDE) e no Rio Turvo (RTURARG e PORTUR), em julho de 2010.	63
Figura 24. Concentração individual dos HPA em amostras de sedimento superficiais coletados no Rio Preto (CAPRP e Nascente), Rio Grande (RGRANDE) e no Rio Turvo (RTURARG e PORTUR), em fevereiro de 2010.	68
Figura 25. Concentração individual dos HPA em amostras de sedimento superficiais coletados no Rio Preto (CAPRP e Nascente), Rio Grande (RGRANDE) e no Rio Turvo (RTURARG e PORTUR), em julho de 2010.	68
Figura 26. Valores da soma das concentrações individuais dos HPA de 2-3 e de 4-5 anéis aromáticos analisados em amostras de sedimentos superficiais coletados no Rio Preto (CAPRP e Nascente), Rio Grande (RGRANDE) e no Rio Turvo (RTURARG e PORTUR), em fevereiro de 2010.	69
Figura 27. Valores da soma das concentrações individuais dos HPA de 2-3 e de 4-5 anéis aromáticos analisados em amostras de sedimentos superficiais coletados no Rio Preto (CAPRP e Nascente), Rio Grande (RGRANDE) e no Rio Turvo (RTURARG e PORTUR), em julho de 2010.	70
Figura 28. Perfil da concentração total (Σ HPA) nos testemunhos de sedimento dos pontos CAPRP, RGRANDE e RTURARG para as campanhas de fevereiro de 2010 e julho de 2010.	72

Figura 29. Perfis de concentração para Naftaleno, Acenafteno e Fluoreno em testemunhos de sedimento coletados no Rio Preto (CAPRP), Rio Turvo (RTURARG) e Rio Grande (RGRANDE) em fevereiro de 2010.....	73
Figura 30. Perfis de concentração para Fenantreno, Antraceno e Fluoranteno em testemunhos de sedimento coletados no Rio Preto (CAPRP), Rio Turvo (RTURARG) e Rio Grande (RGRANDE) em fevereiro de 2010.....	74
Figura 31. Perfis de concentração para Pireno, Benzo(a)antraceno e Benzo(b)fluoranteno em testemunhos de sedimento coletados no Rio Preto (CAPRP), Rio Turvo (RTURARG) e Rio Grande (RGRANDE) em fevereiro de 2010.....	75
Figura 32. Perfis de concentração para Benzo(k)fluoranteno e Benzo(g,h,i)perileno em testemunhos de sedimento coletados no Rio Preto (CAPRP), Rio Turvo (RTURARG) e Rio Grande (RGRANDE) em fevereiro de 2010.	76
Figura 33. Perfis de concentração para Naftaleno, Acenafteno e Fluoreno em testemunhos de sedimento coletados no Rio Preto (CAPRP), Rio Turvo (RTURARG) e Rio Grande (RGRANDE) em julho de 2010.....	77
Figura 34. Perfis de concentração para Fenantreno, Antraceno e Fluoranteno em testemunhos de sedimento coletados no Rio Preto (CAPRP), Rio Turvo (RTURARG) e Rio Grande (RGRANDE) em julho de 2010.....	78
Figura 35. Perfis de concentração para Pireno, Benzo(a)antraceno e Benzo(b)fluoranteno em testemunhos de sedimento coletados no Rio Preto (CAPRP), Rio Turvo (RTURARG) e Rio Grande (RGRANDE) em julho de 2010.	79
Figura 36. Perfis de concentração para Benzo(k)fluoranteno e Benzo(g,h,i)perileno em testemunhos de sedimento coletados no Rio Preto (CAPRP), Rio Turvo (RTURARG) e Rio Grande (RGRANDE) em julho de 2010.	80
Figura 37. Porcentagem relativa dos HPA no testemunho de sedimento	81
Figura 38. Porcentagem relativa dos HPA no testemunho de sedimento	81
Figura 39. Porcentagem relativa dos HPA no testemunho de sedimento	82
Figura 40. Cruzamento dos valores das razões Fenantreno/Antraceno e Fluoranteno/Pireno para estimar a fonte dos HPA nos sedimentos superficiais coletados no Rio Preto (CAPRP e Nascente), Rio Grande (RGRANDE) e no Rio Turvo (RTURARG e PORTUR), em fevereiro e julho de 2010.	84
Figura 41. Cruzamento dos valores das razões Antraceno/Antraceno + Fenantreno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno para estimar a fonte dos HPA nos sedimentos superficiais coletados no Rio Preto (CAPRP e Nascente), Rio Grande (RGRANDE) e no Rio Turvo (RTURARG e PORTUR), em fevereiro e julho de 2010.	85

Figura 42. Uso das razões Fenantreno/Antraceno, Antraceno/Antraceno + Fenantreno, Fluoranteno/Pireno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento do Rio Preto (CAPRP) em fevereiro de 2010.	88
Figura 43. Uso das razões Fenantreno/Antraceno, Antraceno/Antraceno + Fenantreno, Fluoranteno/Pireno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno, para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento do Rio Preto (CAPRP) em julho de 2010.	89
Figura 44. Cruzamento dos valores das razões Fenantreno/Antraceno e Fluoranteno/Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento coletado no Rio Preto (CAPRP) em fevereiro de 2010.	90
Figura 45 .Cruzamento dos valores das razões Antraceno/Antraceno + Fenantreno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento coletado no Rio Preto (CAPRP) em fevereiro de 2010.....	91
Figura 46. Cruzamento dos valores das razões Fenantreno/Antraceno e Fluoranteno/Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento coletado no Rio Preto (CAPRP) em julho de 2010.....	91
Figura 47. Cruzamento dos valores das razões Antraceno/Antraceno + Fenantreno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento coletado no Rio Preto (CAPRP) em julho de 2010.	92
Figura 48. Uso das razões Fenantreno/Antraceno, Antraceno/Antraceno + Fenantreno, Fluoranteno/Pireno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno, para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento do Rio Grande (RGRANDE) em fevereiro de 2010.....	93
Figura 49. Uso das razões Fenantreno/Antraceno, Antraceno/Antraceno + Fenantreno, Fluoranteno/Pireno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno, para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento do Rio GRANDE (RGRANDE) em julho de 2010.	94
Figura 50. Uso das razões Fenantreno/Antraceno, Antraceno/Antraceno + Fenantreno, Fluoranteno/Pireno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno, para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento do Rio Turvo (RTURARG) em fevereiro de 2010.	95
Figura 51. Uso das razões Fenantreno/Antraceno, Antraceno/Antraceno + Fenantreno, Fluoranteno/Pireno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno, para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento do Rio Turvo (RTURARG) em julho de 2010.	96
Figura 52 .Cruzamento dos valores das razões Fenantreno/Antraceno e Fluoranteno/Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento coletado no Rio Grande (RGRANDE) em fevereiro de 2010.	97
Figura 53. Cruzamento dos valores das razões Antraceno/Antraceno + Fenantreno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento coletado no Rio Grande (RGRANDE) em fevereiro de 2010.....	98

Figura 54. Cruzamento dos valores das razões Fenantreno/Antraceno e Fluoranteno/Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento coletado no Rio Grande (RGRANDE) em julho de 2010 98

Figura 55. Cruzamento dos valores das razões Antraceno/Antraceno + Fenantreno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento coletado no Rio Grande (RGRANDE) em julho de 2010. 99

Figura 56 . Cruzamento dos valores das razões Fenantreno/Antraceno e Fluoranteno/Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento coletado no Rio Turvo (RTURARG) em fevereiro de 2010. 100

Figura 57. Cruzamento dos valores das razões Antraceno/Antraceno + Fenantreno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento coletado no Rio Turvo (RTURARG) em fevereiro de 2010. 100

Figura 58. Cruzamento dos valores das razões Fenantreno/Antraceno e Fluoranteno/Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento coletado no Rio Turvo (RTURARG) em julho de 2010 101

Figura 59. Cruzamento dos valores das razões Antraceno/Antraceno + Fenantreno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento coletado no Rio Turvo (RTURARG) em julho de 2010. 101

ii) Lista de Tabelas

Tabela 1. Características Físico-Químicas dos HPA analisados neste trabalho ^{a,b}	23
Tabela 2. Razão entre HPA para estimar a fonte de origem.	26
Tabela 3. Localização dos pontos de coleta, denominações e suas respectivas coordenadas geográficas.....	32
Tabela 4. Reagentes utilizados nas análises dos HPA em sedimentos.	36
Tabela 5. Identificação das espécies coletadas com número total de indivíduos e nome popular das amostras coletadas nos dias 08 e 10 de fevereiro de 2010 e, 26 e 28 de julho de 2010 nos rios Preto, Turvo e Grande.	37
Tabela 6. Denominações dos padrões individuais e concentração dos 15 HPA analisados na solução estoque.....	47
Tabela 7. Pares de comprimento de onda de excitação/emissão utilizados na detecção dos HPA. ..	48
Tabela 8. Concentração de 1-hidróxipireno de peixes da espécie <i>Serrasalmus Maculatus</i> , <i>Schizodon Knerii</i> , <i>Cyphocharax Modestu</i> e <i>Serrasalmus Marginatus</i> coletados na CAPRP no mês de fevereiro de 2009.	52
Tabela 9. Concentração de 1-hidróxipireno na bÍlis de peixes da espécies <i>Schizodon Knerii</i> e Dourado*, 6 coletadas no ponto PORTUR no mês de fevereiro de 2009.....	52
Tabela 10. Concentração de 1-hidróxipireno na bÍlis de peixes da espécies <i>Serrasalmus Maculatus</i> , <i>Schizodon Knerii</i> e <i>Leporinus friderici</i> coletadas no RTURG no mês de fevereiro de 2009.	52
Tabela 11. Concentrações de 1-hidróxipireno de peixes da espécie <i>Geophagus proximus</i> coletados na confluência do Rio Turvo com o Rio Grande (RTURG), em fevereiro de 2010.....	53
Tabela 12. Concentrações de 1-hidroxipireno de peixes da espécie <i>Shizodon nasutus</i> coletados no ponto de captação do Rio Preto (CAPRP), em julho de 2010.....	54
Tabela 13. Concentrações de 1-hidróxipireno na bÍlis de peixes da espécie <i>Geophagus proximus</i> coletados no ponto RTURG, em julho de 2010.....	55
Tabela 14. Concentrações de 1-hidróxipireno de peixes da espécie <i>Leporinus Friderici</i> coletados na Ponte na rodovia que liga SJRP à Olímpia (PORTUR), em julho de 2010.	55
Tabela 15 .Comparação entre os valores de concentração de 1-hidróxipireno na bÍlis dos peixes de mesma espécie entre os pontos de coleta CAPRP (fev 2009), RTURG (fev 2009) e PORTUR (fev 2009 e jul 2010)	57
Tabela 16. Valores de concentração para 1-hidróxipireno de trabalhos descritos na literatura.	58
Tabela 17. Tempo de retenção para cada HPA e identificação dos picos do cromatograma mostrado na Figura 19.	59

Tabela 18. Faixa Linear, Coeficiente de correlação, de Variância e Limites de Detecção e Quantificação para os 15 HPA.	60
Tabela 19. Comparação entre os valores de concentração dos HPA encontrados pela análise de materiais de referência certificados e os respectivos valores certificados.	62
Tabela 20. Valores de concentração individual e concentração total dos HPA analisados neste trabalho nos sedimentos superficiais dos pontos NRP, CAPRP, PORTUR, RTURARG e RGRANDE, para as campanhas de Fevereiro e Julho de 2010.	66
Tabela 21. Valores diagnósticos para interpretação da fonte de HPA para os pontos de coleta NRP, CAPRP, PORTUR, RTURARG e RGRANDE das campanhas de fevereiro e julho de 2010.	83
Tabela 22. Valores numéricos para critérios de qualidade de sedimentos para HPA propostos pelo órgão ambiental canadense (Environment Canadá, 1999) e por Ingersoll <i>et alii</i> . 2001, apud Almeida, 2003.	102
Tabela 23. Comparação entre os valores de HPA das amostras dos rios Preto (pontos CAPRP, RGRANDE e RTURARG) de amostras coletadas nos meses de fevereiro e julho de 2010 com os valores numéricos TEL e PEL.	103
Tabela 24. Espécies de peixes coletadas na Represa Municipal de São José do Rio Preto (ponto CAPRP) com seus respectivos pesos e comprimento em fevereiro de 2010.	112
Tabela 25. Espécies de peixes coletadas no Rio Turvo no ponto PORTUR, seus respectivos pesos e comprimento em fevereiro de 2010.	114
Tabela 26. Espécies de peixes coletadas na confluência do Rio Turvo com o Rio Grande (RTURG), seus respectivos pesos e comprimento em fevereiro de 2010.	114
Tabela 27. Espécies de peixes coletadas na Represa Municipal de São José do Rio Preto	116
Tabela 28. Espécies de peixes coletadas no Rio Turvo (ponto PORTUR) com seus respectivos pesos e comprimento em julho de 2010.	117
Tabela 29. Espécies de peixes coletadas na confluência do Rio Turvo com o Rio Grande (ponto RTURG), seus respectivos pesos e comprimento em julho de 2010.	117

Lista de Abreviaturas

Acena – Acenafteno

ACN – Acetonitrila

Ant – Antraceno

ATSDR - Agência de Registro de Doenças por Substâncias Tóxicas dos Estados Unidos

Benz(a)ant – Benz(a)antraceno

Benz(a)pir – Benz(a)pireno

Benz(g,h,i)per – Benz(g,h,i)perileno

Benzo(b)fluo – Benzo(b)fluoranteno

Benzo(k)fluo – Benzo(k)fluoranteno

BHTG - Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande

CAPRP - Ponto de Captação de Água no Rio Preto

CERCLA - The Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act

Cris – Criseno

Dibenz(a,h)ant – Dibenz(a,h)antraceno

Fenan – Fenantreno

Fluo – Fluoreno

Fluoran – Fluoranteno

HPA - Hidrocarbonetos Políclicos Aromáticos

HPLC-DF - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector de Fluorescência

Inden(1,2,3-cd)pir – Indeno(1,2,3-cd)pireno

LD – Limite de Detecção

LQ – Limite de Quantificação

Naft – Naftaleno

NRP – Nascente do Rio Preto

Pir – Pireno

PORTUR - Ponto próximo da ponte que liga São José do Rio Preto a Olímpia

RGRANDE – Rio Grande

RTURG - Ponto da Confluência do Rio Turvo com o Rio Grande

RTURRG – Rio Turvo antes de desaguar no Rio Grande

STP - Substâncias Tóxicas Persistentes

U.S. EPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estado Unidos

ΣHPA - Soma total das concentrações individuais dos HPA

Sumário

Resumo.....	7
i) Lista de Figuras	9
ii) Lista de Tabelas.....	14
1. Introdução.....	19
2. Revisão Bibliográfica.....	20
2.1. Origem e comportamento ambiental.....	21
2.2. Propriedades Físico- Químicas dos HPA Estudados	22
2.3. HPA em Sedimentos	23
2.4. Razões para estimar a origem dos HPA.....	25
2.5. 1-hidróxipireno em bÍlis de peixe como biomarcador de exposição	27
3. Objetivos.....	29
3.1. Objetivos especÍficos	29
4. Parte Experimental	30
4.1 Área de Estudo	30
4.2 Pontos de Amostragem	30
4.3 Materiais e Equipamentos.....	35
4.4 Reagentes	36
4.5 Amostragem	36
4.5.1 Coleta dos Peixes, preservação e amostragem da bÍlis	36
4.5.2 Coleta, preservação e amostragem dos sedimentos	41
4.6 Determinação do 1-hidróxipireno na bÍlis de peixes por Espectroscopia de Fluorescncia Molecular, no Modo Sincronizada	42
4.6.1 Procedimento	42
4.6.2 Parâmetros de desempenho analÍtico	43
4.7 Análise de HPA no sedimento	43
4.7.1 Preparo da amostra e extração dos HPA no sedimento.....	43
4.7.2 Método de limpeza ou <i>clean-up</i>	44
4.7.3 Identificação e quantificação dos HPA por HPLC - DF	46
4.7.4 Parâmetros de desempenho analÍtico	49
4.7.4.1. Limites de Detecção e Quantificação	49
4.7.4.2. Linearidade	49
4.7.4.3. Exatidão	49
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
	17

5.1. Análise do 1-hidróxipireno na bÍlis dos peixes por fluorescência sincronizada.....	50
5.1.1. Parâmetros de desempenho analítico	50
5.1.2. Identificação e caracterização das espécies de peixes.....	50
5.1.3. Quantificação do 1-hidróxipireno na bÍlis de peixes por fluorescência sincronizada.....	51
5.2. Adaptação dos métodos para quantificação dos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA) em amostras de sedimento.....	58
5.2.1. Separação e identificação dos HPA	58
5.2.2. Parâmetros de desempenho analítico da análise dos HPA	60
5.3 Quantificação dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos no sedimento superficial.	62
5.4. Quantificação dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em amostras de perfil de sedimento.	70
5.5 Uso de razões diagnósticas entre os HPA para identificação das fontes.....	82
5.6 Critério de qualidade de sedimentos.....	102
6. Conclusões.....	105
7. Referências Bibliográficas:.....	106
Anexos.....	112

1. Introdução

O termo hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) refere-se a compostos constituídos de carbono e hidrogênio formando unidades moleculares contendo no mínimo duas unidades aromáticas fundidas. Além da alta persistência no ambiente, os HPA apresentam geralmente elevada toxicidade sendo que muitos deles apresentam atividades carcinogênicas e/ou mutagênicas, inclusive para o ser humano (Araujo *et alii*, 2006; Xue e Warshawsky, 2005), sendo denominados de Substâncias Tóxicas Persistentes (STP) (Almeida *et alii*, 2007). A persistência dos HPA no ambiente varia em função da estrutura, sendo os de baixa massa molecular degradados mais facilmente ($t_{1/2}$ no sedimento de 9 a 43 dias para o naftaleno e antraceno, respectivamente), enquanto os de elevada massa molecular são mais persistentes (valores de $t_{1/2}$ em solos e sedimentos atingem alguns anos) (U.S. EPA, 1998, Lee *et alii*, 1981). Destaca-se que os HPA podem ser encontrados no ambiente mesmo que a fonte geradora tenha cessado.

Vários compostos do grupo dos HPA podem ser empregados para identificar as fontes nos compartimentos ambientais de acordo com sua origem. Zeng e Vista (1997) sugerem o emprego das razões fenantreno/antraceno, fluoranteno/pireno e benzo(a)antraceno/criseno para a identificação das fontes de HPA. Considerando que a estabilidade termodinâmica do fenantreno é maior que a do antraceno, a razão fenantreno/antraceno é frequentemente empregada para diferenciar fontes petrogênicas de pirogênicas no meio ambiente, onde razões fenantreno/antraceno superiores a 10 são indicativas de HPA de origem petrogênica. Quando a razão fluoranteno/pireno é superior a 1 é indicativo de fontes pirogênicas. Outro parâmetro que pode ser empregado para este fim é a proporção em massa entre os HPA de menor e maior massa molecular, sendo os de maior massa molecular associados às fontes pirogênicas. Por fim, razão pireno/fenantreno maior que 1, pode ser empregada para indicar HPA proveniente da queima de combustível de origem veicular (Benlahcen *et alii*, 1997).

A investigação dos níveis de HPA em águas superficiais é de grande complexidade em função das baixas concentrações encontradas e a limitação pelos métodos analíticos disponíveis. Neste contexto, os peixes como todos os vertebrados, possuem um eficiente mecanismo de biotransformação de xenobióticos. Quando hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, assim como vários outros tipos de xenobióticos adentram nestes organismos, eles rapidamente são metabolizados pelo fígado em compostos mais polares (algumas vezes também há a formação de intermediários com um potencial tóxico maior, mecanismo o qual é chamado de ativação metabólica), sendo secretados na bÍlis, armazenados na vesícula biliar e excretados juntamente com

as fezes (Rios *et alii*, 2005; Oost *et alii*, 2003; Schiedek *et alii*, 2006). Desta maneira, a avaliação dos metabólitos de HPA em bÍlis de peixes pode ser empregada como um biomarcador de exposição recente a HPA e uma caracterização indireta do impacto sofrido pelo corpo aquático (Ariese *et alii*, 1993).

A região noroeste do estado de São Paulo é muito forte em agroindústria de cana-de-açúcar e de laranja, com uma área de aproximadamente 300 mil hectares de plantação de cana. Para facilitar a colheita faz-se o emprego da queima da palha da cana-de-açúcar, as quais podem levar a formação e liberação de HPA para a atmosfera. Vale ainda ressaltar que a região de São José do Rio Preto é contemplada por duas rodovias de grande tráfego, a rodovia Washington Luís (SP-310) e a rodovia Transbrasiliana (BR-153), as quais podem contribuir com o aporte de HPA na atmosfera por meio da emissão de veículos que utilizam combustíveis fósseis tais como gasolina e diesel. A rodovia Assis Chateaubriand (SP-425) é também uma das principais rodovias com grande tráfego de veículos. Frente ao exposto, este trabalho é o pioneiro na região em investigação dos níveis de HPA em sedimentos e seus metabólitos em bÍlis de peixe.

2. Revisão Bibliográfica

A ATSDR (Agência de Registro de Doenças por Substâncias Tóxicas dos Estados Unidos) juntamente com a EPA têm elaborado desde 1997 uma lista denominada CERCLA (*Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act*), que contém substâncias prioritárias para monitoramento ambiental. Essas substâncias são consideradas prioritárias devido ao potencial para causar danos a saúde humana devido a sua toxicidade suspeita ou conhecida para exposição humana. Com relação aos HPA, doze dos hidrocarbonetos aromáticos estudados no presente trabalho estão presentes na lista dos poluentes prioritários publicada em 2007 (dos 15 HPA analisados apenas antraceno, benzo[ghi]perileno e fluoreno não estão listados) (CERCLA, 2007). A Figura 1 mostra a estrutura de HPA de 2 a 6 anéis não substituídos e estudados neste trabalho.

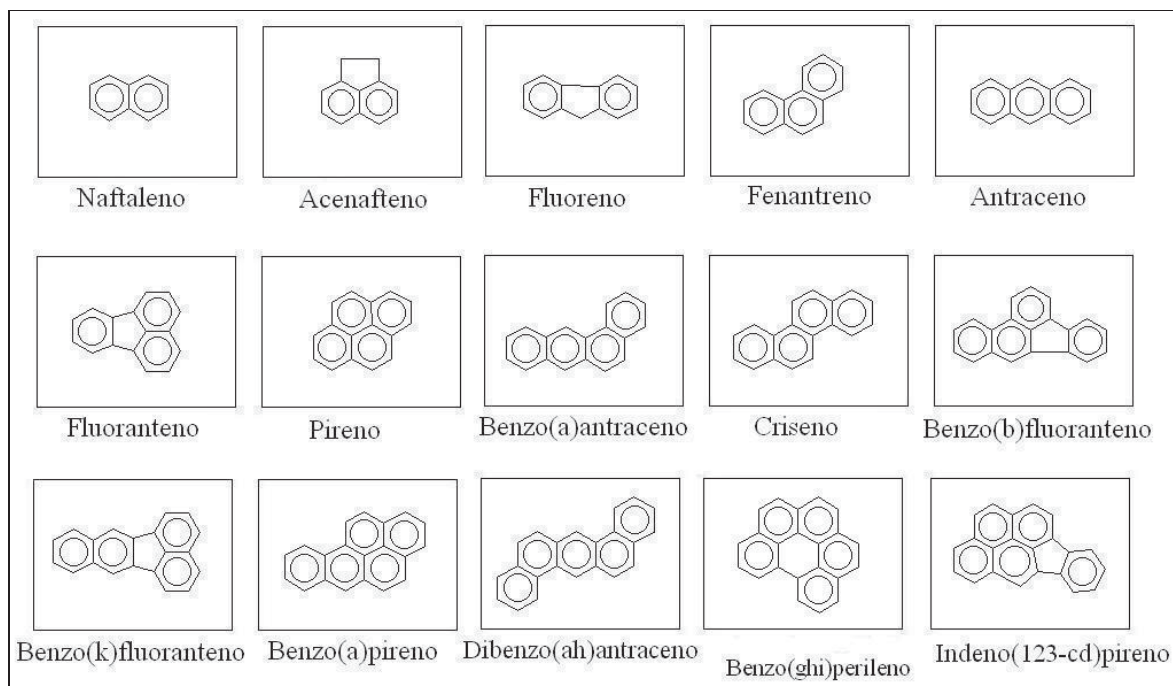


Figura 1. Estrutura dos 15 HPA não-substituídos de 2 a 6 anéis analisados neste trabalho.

2.1. Origem e comportamento ambiental

Os HPA são poluentes que podem ser originados de fontes naturais e antrópicas. De acordo com o tipo de processo ou evento, as fontes de HPA antrópicas são classificadas em pirogênicas e petrogênicas. A combustão interna de motores que utilizam combustíveis derivados do petróleo, o uso de incineradores e aquecedores residenciais são algumas das principais fontes pirogênicas de HPA (Bodnár *et alii*, 2005). Usinas Termoeletricas, as quais utilizam carvão como matéria prima para obtenção de energia elétrica contribuem para as emissões atmosféricas de HPA. Entretanto, no Brasil, as principais fontes de emissão atmosférica dos 16 HPA considerados prioritários pela EPA são as queimas de lenha e queimadas da biomassa. Juntas elas compreendem 94,8% do total de HPA emitido (7346 t/ano), sendo 83,8% das emissões resultantes da queima de lenha e 11,1% da queima da biomassa (Almeida *et alii*, 2007).

Segundo a EPA (1998) o mecanismo de formação dos HPA durante a combustão incompleta se processa por duas reações distintas, a pirólise e a pirosíntese. A pirólise é consequência da quebra parcial de compostos orgânicos em moléculas menores e mais instáveis a altas temperaturas, enquanto a pirosíntese é consequência da recombinação destes fragmentos (normalmente radicais), gerando hidrocarbonetos maiores e relativamente estáveis. Portanto, qualquer composto orgânico contendo carbono e hidrogênio pode servir como precursor de HPA no ambiente.

As fontes petrogênicas de HPA estão principalmente associadas a óleos crus e a produtos derivados de petróleo. A composição e concentração de HPA em óleos são variáveis e dependem da origem e tipo do mesmo. As refinarias, plantas petroquímicas e plataformas de petróleo são responsáveis pelo aporte de óleo bruto contendo HPA no corpo aquático (Manoli e Samara, 1999). Por fontes naturais, podem ser citados as queimadas ou incêndios naturais, as emissões vulcânicas, a percolação de óleo do fundo de oceanos e a síntese por microorganismos (biogênicas). Erupções vulcânicas e queimadas de florestas são as principais fontes de HPA na atmosfera (Netto *et alii*, 2000; Neves, 2006; Sisinni *et alii*, 2003).

Uma vez na atmosfera os HPA podem permanecer na forma gasosa ou adsorvido ao material particulado, podendo neste último caso ser transportado a longas distâncias. O principal mecanismo de remoção da atmosfera se dá pela deposição seca e úmida, que acabam agindo com uma fonte difusa destes poluentes para corpos aquáticos e outros ambientes (Tasdemir e Esen, 2007; Sharma *et alii*, 2007).

Nas superfícies das águas, os HPA podem sofrer uma série de processos que vão desde sua volatilização, oxidação, bio e/ou fotodegradação. Nos ambientes aquáticos, os HPA podem ainda associar ao material particulado, ser depositado no sedimento ou ainda acumular-se nos organismos aquáticos. Devido a sua baixa solubilidade em água e alta afinidade com o carbono orgânico, os HPA no sistema aquático são encontrados preferencialmente associados ao sedimento ou a partículas em suspensão na coluna d'água (IPCS, 1998). No sedimento, o principal mecanismo de remoção dos HPA é a biodegradação. A velocidade de biodegradação no sedimento depende de vários fatores como pH, quantidade de oxigênio disponível, tipo de sedimento, nutrientes, presença de outras substâncias, temperatura e da população microbiana (Verrhiest *et alii*, 2002). Desta maneira, o sedimento tem um papel fundamental em estudos da química da biogeoquímica de ambientes aquáticos, uma vez que o mesmo pode atuar com fonte ou sumidouro de HPA.

2.2. Propriedades Físico- Químicas dos HPA Estudados

Os HPA são caracterizados por serem sólidos a temperatura ambiente, possuírem alto ponto de fusão e ebulição e serem muito pouco solúveis em água. Eles são solúveis em muitos solventes orgânicos como acetonitrila, diclorometano, benzeno, entre outros (Index Merck, 2001). A Tabela 1 mostra algumas características físico-químicas dos HPA analisados neste trabalho.

Tabela 1. Características Físico-Químicas dos HPA analisados neste trabalho^{a,b}.

HPA	¹ FM	² MM	³ PF (°C)	⁴ PE (C°)	⁵ K _{ow}
Naftaleno	C ₁₀ H ₈	128,2	80,2	217,9	2300
Acenafteno	C ₁₂ H ₁₀	154,2	95	279	21000
Fluoreno	C ₁₃ H ₁₀	166,2	116-117	295	15000
Fenantreno	C ₁₄ H ₁₀	178,2	100	340	29000
Antraceno	C ₁₄ H ₁₀	178,2	218	342	28000
Fluoranteno	C ₁₆ H ₁₀	202,3	108	384	340000
Pireno	C ₁₆ H ₁₀	202,3	156	404	2x10 ⁵
Benzo[a]antraceno	C ₁₈ H ₁₂	228,3	160	-	4x10 ⁵
Criseno	C ₁₈ H ₁₂	228,3	254	448	4x10 ⁵
Benzo[k]fluoranteno	C ₂₀ H ₁₂	252,3	217	480	7x10 ⁶
Benzo[b]fluoranteno	C ₂₀ H ₁₂	252,32	168	-	4x10 ⁶
Benzo[a]pireno	C ₂₀ H ₁₂	252,3	179-179,3	310-312	10 ⁶
Indeno[1,2,3-cd]pireno	C ₂₂ H ₁₂	276,3	164	-	5x10 ⁷
Dibenzo[a,h]antraceno	C ₂₂ H ₁₄	278,4	266	-	10 ⁶
Benzo[g,h,i]perileno	C ₂₂ H ₁₂	276,3	278	-	10 ⁷

¹Fórmula molecular; ²Massa molecular; ³Ponto de Fusão; ⁴Ponto de Ebulição; ⁵Coefficiente de partição entre octanol e água. a) Merck Index (2001); b) Manoli e Samara (1999).

2.3. HPA em Sedimentos

Sedimentos são materiais depositados consistindo de matéria orgânica em vários estágios de decomposição, material mineral particulado e compostos orgânicos de origem biogênica. Os mesmos são constituídos de partículas de tamanhos variados, desde argila (<2µm), seguido de silte (2-63 µm), até partículas de areia (63µm-2mm), bem como pedras e detritos (> 2mm) (Mozeto 2006). A mineralogia do sedimento pode diferir de um ambiente para outro, mas a associação dos poluentes orgânicos é confinada ao material orgânico presente no sedimento. Portanto, na maioria dos casos o destino final de poluentes orgânicos lançados em um corpo aquático é o sedimento, sendo estes considerados ora fonte ou sumidouro de poluentes em função de sua composição (Viguri *et alii*, 2002; Meire *et alii*, 2008). Por fim, os sedimentos lacustres podem ser considerados como a memória da bacia de drenagem na qual o corpo aquático está inserido. De acordo com Mozeto (2006) os sedimentos constituem verdadeiros arquivos de informações química, biológica e física, sendo frequentemente empregados como ecossistemas sentinelas.

A granulometria do sedimento é um fator que influência na afinidade dos compostos orgânicos por essa matriz. Vários trabalhos demonstraram a correlação existente entre os diversos tipos de sedimento. Os HPA tem maior afinidade por sedimentos constituídos principalmente de

argila, sendo que em sedimentos nos quais ocorre a predominância de areia a afinidade é relativamente menor.

Este compartimento na maioria das vezes retém fortemente os HPA que permanecem inalterados por muito tempo devido a sua resistência aos processos de degradação. Assim, a avaliação dos níveis e da distribuição do HPA no sedimento pode indicar a origem e intensidade da atividade antrópica, levando em consideração que estes compostos estão associados a fontes características de poluição (Nishigima, *et alii*, 2001). O tipo de matéria orgânica que constitui o sedimento representa um papel chave no tempo de residência que o HPA permanecerá neste compartimento ambiental. Isto se deve ao fato que a sorção destes compostos no sedimento pode se tornar um processo contínuo e alcançar sítios de sorção no interior da molécula, consequentemente menos superficiais (Almeida, 2003).

Viguri e colaboradores (2002) identificaram e quantificaram vários HPA em amostras de sedimentos superficiais coletadas na Baía de Santander localizada ao norte da Espanha. Na análise foram levados em consideração os 16 HPA listados como prioritários pela EPA. Nos locais de amostragem próximos a indústrias metalúrgicas de fundição de aço e ferro foram encontrados valores elevados (8404-4631 $\mu\text{g/g}$), quando comparados com outras regiões onde a atividade industrial era menos intensa (134-305 $\mu\text{g/g}$; 113 $\mu\text{g/g}$; 31-32 $\mu\text{g/g}$). Locais próximos a cidades, onde ocorre o tráfego principal de veículos também apresentaram valores relativamente altos (453-1076 $\mu\text{g/g}$).

Alguns estudos vêm sendo realizados com objetivo de avaliar a concentração de HPA nos sedimentos e estudar os efeitos destes sobre a vida aquática e ao homem, bem como relacioná-los a fonte geradora (Almeida, 2003; Almeida *et alii*, 2007; Maskaoui e Hu, 2009 ; Venturini *et alii*, 2008). Morales-Caselles (2008) e colaboradores, realizaram estudos de toxicidade e disponibilidade de HPA presentes em sedimentos de duas regiões da Costa da Galícia, Norte da Espanha, afetadas por um grande derramamento de óleo com objetivo de avaliar a qualidade ambiental. Os autores utilizaram um anfípode da espécie *Ampelisca brevicornis* e um poliqueta da espécie *Arenicola marina*, organismos que vivem no sedimento (bênticos). A soma das concentrações de 16 HPA analisados e quantificados nos sedimentos coletados em diferentes pontos variou na faixa de 38-323 $\mu\text{g/kg}$. Os resultados demonstraram que não houve toxicidade aguda à exposição das espécies aos sedimentos contaminados com HPA, porém a espécie *A. marina* apresentou elevada acumulação dos compostos de interesse em comparação com os organismos da mesma espécie expostos ao sedimento de referência, os quais apresentaram concentrações de HPA menores que 0,005 $\mu\text{g/kg}$, indicando que os organismos aquáticos podem ser uma via de remoção de HPA da coluna d'água.

No tocante à qualidade dos sedimentos, a legislação brasileira se resume somente a duas resoluções: a Resolução CONAMA 344 de 2004 e a Resolução SMA 39 de 2004. Essas resoluções estabelecem diretrizes para a caracterização de sedimentos a serem dragados visando o gerenciamento de sua disposição em águas jurisdicionais e solos, respectivamente. Deste modo, não há uma lei que determine valores máximos permitidos para hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) e outras substâncias nos sedimentos aquáticos que não estejam sujeitos à dragagem. Sendo assim, neste trabalho as concentrações de HPA nos sedimentos serão comparadas com valores de Critérios de Qualidade de Sedimentos Canadense (CQSC). O método utilizado pelo órgão canadense para gerar os valores de referência considera os bancos de dados de efeito e não-efeito. Os valores de CQSC são apresentados como dois níveis de concentração de cada contaminante, para os quais se associam a probabilidade de ocorrer ou não efeitos adversos à biota. O nível limiar de efeitos (*threshold effects level* - TEL) corresponde à concentração do contaminante, onde efeitos adversos raramente ocorrem. Já o nível de efeitos prováveis (*probable effects level* - PEL) indica que sedimentos nos quais a concentração de um contaminante excede o seu valor há maior probabilidade de causar efeito adverso à biota (Swartz, 1999).

2.4. Razões para estimar a origem dos HPA

Os valores obtidos a partir de razões específicas entre isômeros de HPA são amplamente aplicados como indicadores para estimar e diferenciar a origem desses hidrocarbonetos (Shen *et alii*, 2009; Liu *et alii*, 2000; Veiga, 2003; Lourenço, 2003). Utilizando essas razões é possível estimar se os HPA são oriundos de processos de combustão como queima de biomassa (resíduos agrícolas e de alimentos, lenha, entre outros), exaustão de veículos movidos a combustíveis fósseis e queima de carvão ou se são originados a partir de produtos derivados de petróleo como óleos lubrificantes, óleo bruto, gasolina e diesel. O uso dessas razões fundamenta-se no fato que a composição dos HPA apresenta perfis característicos de acordo com a fonte emissora.

Levando em consideração que a composição dos HPA é característica da fonte geradora e que alguns hidrocarbonetos aromáticos apresentam taxas de degradação semelhantes, as concentrações de alguns compostos estão sujeitas a co-variarem no ambiente. Soclo *et alii* (2000) determinaram os HPA que estavam sujeitos a co-variarem no ambiente aplicando a análise de fatores de correlação para os valores de concentrações de HPA encontradas em amostras de sedimento. A partir dessa abordagem foi possível verificar quais razões entre os HPA são promissoras para serem aplicadas na determinação da fonte emissora. As razões descritas no trabalho destes autores foram:

a razão Fenantreno/Antraceno + Fenantreno (Fen/ Antr + Fen); Fluoranteno/ Pireno + Fluoranteno (Fluo/Pir + Fluo); Criseno/Criseno + Benzo[a]antraceno Cris/(Cris + BaA). Essas razões são descritas e aplicadas em vários trabalhos encontrados na literatura para estimar a origem dos HPA (Luo *et alii*, 2008; Yunker *et alii*, 1999; Meire *et alii*, 2008). A Tabela 2 contém razões utilizadas para estimar a origem bem como as interpretações extraídas a partir dos valores obtidos.

O fenantreno e o antraceno podem ser co-gerados em processos pirolíticos ou petrogênicos, porém em proporções que variam de acordo com as características e condições da fonte geradora. Em relação ao antraceno, o fenantreno é predominantemente formado em processos de maturação da matéria orgânica a baixas temperaturas (27 °C, fonte petrogênica), rendendo razões Antr/Antr + Fen < 0,10. Processos de alta temperatura (427 °C - 727 °C, combustão e pirólise), favorece o aumento da produção de antraceno e o valor da razão Antr/Antr + Fen alcança valores > 0,10. Dessa maneira, pode ser estabelecido que valores para as razões Fen/Antr + Fen < 0,10 estão relacionadas com origens petrogênicas e a razão Fen/Antr + Fen > 0,10 está relacionada a fontes pirolíticas (Budzinski *et alii*, 1997).

Tabela 2. Razão entre HPA para estimar a fonte de origem.

Razão	Origem
^a Antr/Antr + Fen < 0,1	Petrogênica
Antr/Antr + Fen > 0,1	Pirogênica
^a Fluo/Pir + Fluo < 0,5	Petrogênica
Fluo/Pir + Fluo 0,4 – 0,5	Pirogênica: combustão de combustíveis fósseis
Fluo/Pir + Fluo > 0,5	Pirogênica: combustão de madeira, carvão e grama
^b BaA / BaA+ Cris < 0,2	Petrogênicas: petróleo e derivados
BaA / BaA+ Cris 0,2-0,35	Fonte mista: petrogênica e pirogênica
BaA / BaA+ Cris > 0,35	Pirogênica
^b Inper / Bper + Inper < 0,2	Petrogênica
Inper / Bper + Inper 0,2-0,35	Pirogênica: combustão de combustíveis fósseis
Inper / Bper + Inper > 0,5	Pirogênica: combustão de madeira, grama e carvão

(a) Budzinski *et alii*, 1997; Yunker e Macdonald, 2009; (b) Gogou *et alii*; Soclo *et alii*, 2000

A razão Fluo/Pir + Fluo também é aplicada para diferenciar a origem dos HPA entre pirolítica ou petrogênica, porém esta parece ser menos definitiva que a razão Fen/Antr + Fen. Valores para a razão Fluo/Pir + Fluo são < 0,5 para a maioria das amostras de petróleo e acima de 0,5 na combustão de madeira, querosene, carvão e grama. Valores dessa razão abaixo de 0,5 também são atribuídos a combustão de gasolina, diesel e óleo cru. O valor da razão Fluo/Fluo + Pir que define a transição entre fonte petrogênica/pirolítica está mais próximo de 0,4 do que 0,5. Valores entre 0,4 e 0,5 são característicos de combustão de combustíveis fósseis líquidos, tanto para

emissões veiculares quanto para óleos crus, enquanto valores maiores que 0,5 são atribuídos para combustão de madeira, grama e carvão (Yunker e Macdonald, 2003; Budzinsky *et alii* 1997).

Os valores gerados pela razão Fen/Antr + Fen e Fluo/Pir + Fluo são comumente plotados em um mesmo gráfico para melhor definir a origem dos HPA. O gráfico desse cruzamento de dados resulta em duas regiões distintas, onde uma sugere a origem petrogênica dos HPA e a outra implica origens pirolíticas (Yunker *et alii*, 1999; Meire *et alii*, 2008).

A razão entre os isômeros BaA/BaA+ Cris e Indeno(1,2,3-cd)pireno/Indeno(1,2,3-cd)pireno + Benzo(g,h,i)perileno (Inpir/Inpir + Bper) são usados com menos frequência para estimar a fonte de HPA. Valores menores que 0,2 para a razão BaA/BaA + Cris são atribuídos a petróleo e seus derivados, enquanto os resultados entre 0,2 e 0,35 pode indicar fontes de petróleo ou combustão e por último valores acima de 0,35 são atribuídos a combustão. Para a razão Inpir/Bper + Inper, valores menores que 0,2 indicam fontes petrogênicas, valores entre 0,2 e 0,5 são atribuídos a combustão de combustíveis derivados de petróleo líquidos e acima de 0,5 implicam combustão de madeira, carvão e biomassa (Martin, 2005; Gogou *et alii*, 2000; Yunker e Macdonald, 2003).

2.5. 1-hidróxipireno em bÍlis de peixe como biomarcador de exposiÇão

A avaliação da qualidade do ambiente aquático por meio do monitoramento de parâmetros tais como os HPA muitas vezes não é trivial devido às baixas concentrações que estes compostos são encontrados no ambiente. Isto é atribuído às características apresentadas por tais compostos onde o sedimento acaba sendo muitas vezes o destino final. Em contrapartida, as técnicas analíticas disponíveis nem sempre são sensíveis o suficiente para permitir a quantificação dos diversos HPA. Neste sentido o emprego de biomarcadores de exposição tem se mostrado uma alternativa viável (Ruddock *et alii* (2003); Fenet *et alii* (2006); Hosnedl *et alii* (2003); Yang e Baumann, 2006), uma vez que estes são associados as alterações bioquímicas provocadas pela exposição a agentes tóxicos.

A determinação dos metabólitos de HPA em bÍlis de peixe vem sendo comumente utilizada e apresentando boas respostas (Barsiene *et alii*, 2006; Rios *et alii*, 2005; Ariese *et alii*, 1993, Neves, 2006) para inferir a exposição recente do compartimento ambiental a esta classe de poluentes. Nesse sentido, o derivado 1-hidróxipireno é frequentemente encontrado em maiores proporções na bÍlis de peixes expostos a ambientes contaminados por HPA (Ruddock *et alii*, 2003).

O pireno pode ser produzido a partir da pirólise de resíduos orgânicos, combustão incompleta de combustíveis fósseis como diesel, gasolina e também pode ser formado em óleos lubrificantes usados em veículos automotivos (Wang *et alii*, 1999; Sauer *et alii*, 1998; Corrêa e Arbilla, 2006). Este pode atingir o ambiente aquático através da deposição seca e úmida do material particulado atmosférico ao qual é associado, enxurradas urbanas ou através de despejos

acidentais ou proposicionais de óleos derivados de petróleo. Uma vez no corpo aquático ele pode se depositar no sedimento ou associar ao material particulado (Sharma *et alii*, 2007)

Na biotransformação, o pireno é convertido em derivados mais polares que são mais facilmente excretáveis. A Fase I da biotransformação de xenobióticos envolve reações de redução, hidrólise e/ou oxidação, responsáveis por introduzir grupos funcionais no xenobiótico. Nas reações da Fase II da biotransformação, ocorre reações de conjugação. O 1-hidróxipireno é o principal metabólito do pireno formado na Fase I da biotransformação, enquanto o pireno-1-glucoronídeo e em menor quantidade o pireno 1-sulfato, são metabólitos formados nas reações da Fase II (Azevedo e Chasin, 2003; Vuorinen *et alii*, 2006). Destaca-se que após a exposição, o composto é absorvido, distribuído e biotransformado e posteriormente excretado pela bÍlis dos peixes.

O emprego de bioindicadores na avaliação de ambientes poluídos também é importante. Fenet e colaboradores (2006) fizeram um estudo utilizando enguias da espécie *Anguilla anguilla* como bioindicadores. Os resultados obtidos revelaram uma maior quantidade de compostos fluorescentes aromáticos na bÍlis de peixes que se situavam próximos de uma ponte com grande tráfego de veículos e também próxima de uma estação de tratamento de esgoto de uma cidade com 50.000 habitantes e a três quilômetros de um local de despejo de efluentes industriais, do que em uma região considerada não poluída, tido como controle.

Neves (2007) desenvolveu estudo para avaliar a viabilidade da aplicação de peixes da espécie *Mugil liza* (tainha) como bioindicador de contaminação aquático por petróleo e seus derivados utilizando a análise do metabólito de HPA 1-hidróxipireno em bÍlis de peixe por fluorescência. A área de estudo foi a Baía de Guanabara, situada na região metropolitana do estado do Rio de Janeiro e as coletas foram realizadas em fevereiro, agosto e dezembro de 2005. Esta região está sujeita a contaminações crônicas e agudas por petróleos e seus derivados, sendo um dos eventos marcantes o vazamento de 2,8 milhões de litros de óleo combustível de um duto que liga a Refinaria de Duque de Caxias (RJ) ao terminal da Ilha d'Água. A outra área sob análise foi na praia de Itaipu situada na região oceânica da cidade de Niterói na qual não havia relatos de acidentes com petróleo e derivados até o presente momento das coletas. Os resultados indicaram que foi possível diferenciar áreas contaminadas por HPA de áreas não contaminadas. Na região da Baía de Guanabara foi encontrado um valor médio de $7,0 \pm 3,4$ µg de equivalente de pireno por mL de bÍlis enquanto na região de Itaipu foi $1,8 \pm 0,7$ µg por mL de bÍlis em amostras de peixes coletadas em agosto/2005.

A análise do metabólito 1-hidróxipireno em bÍlis de peixe para aplicações no biomonitoramento de ambientes poluídos por HPA é normalmente realizada por técnicas como GC-MS, HPLC-FD, Espectroscopia de Fluorescência Fixa e Espectroscopia de Fluorescência

Sincronizada (Ariese *et alii*, 2005; Budzinski *et alii*, 2004; Pikkarainen, 2006). As análises pelas técnicas de Cromatografia Líquida e Gasosa exigem etapas de hidrólise dos metabólitos da bÍlis e alguns trabalhos também realizam a derivatização do metabólito hidrolisado. Essas técnicas são mais dispendiosas quando comparadas com as técnicas de Fluorescência Fixa e Sincronizada e demandam um tempo de análise relativamente maior. Na determinação do 1-hidrÓxipireno por Espectrometria de Fluorescência Sincronizada a análise da bÍlis é direta e não necessita das etapas de hidrólise e derivatização, apenas da diluição da amostra em um solvente apropriado. Além disso, o uso desta técnica fornece espectros de fluorescência mais simplificados e em casos ideais somente a banda do composto de interesse é observada.

3. Objetivos

O objetivo principal deste projeto foi determinar o estoque de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) nos sedimentos dos rios Preto, Turvo e Grande (bacia hidrográfica do Turvo/Grande), com ênfase a caracterização e identificação das respectivas fontes e associação com níveis de 1-hidrÓxipireno em bÍlis de peixes.

3.1. Objetivos específicos

- Adaptação dos métodos para quantificação e preparo de amostras para análises de HPA em sedimentos e bÍlis de peixes por Fluorescência Molecular e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção por Fluorescência (HPLC-DF, sigla em inglês).
- Identificar e quantificar HPA em bÍlis de peixes coletados em rios da região correlacionando estes valores com os obtidos em outras áreas do Brasil e do mundo;
- Identificar e quantificar HPA em sedimentos coletados em rios da região e correlacionar os resultados obtidos com as possíveis fontes de contaminação (pirogênicas e petrogênicas).
- Avaliar o emprego da análise de 1-hidroxipireno em bÍlis de peixe como biomarcador de exposição à pireno.
- Comparação dos valores de HPA com valores numéricos de critérios de qualidade de sedimentos da literatura.

4. Parte Experimental

4.1 Área de Estudo

A Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande é composta por 64 municípios e possui uma área de drenagem de 16.037 km², sendo os principais corpos aquáticos constituintes os rios São Domingos, Turvo, Grande, Preto e Ribeirão da Onça. Estes recursos hídricos envolvem desde a Usina Hidroelétrica (UHE) de Marimondo até a foz do rio Paranaíba. Quanto ao uso e ocupação do solo observa-se a presença de atividades urbana, industrial e agropecuária, sendo que as culturas de cana-de-açúcar e laranja ocupam a maior parte da área rural, e em menor escala as pastagens (Perfil Regional, 2009).

A região está situada em uma altitude em torno de 500 m e 78% do seu território é correspondente à topografia ondulada, 19% plana e 3% montanhosa (Perfil Regional, 2009), sendo o argilossolo vermelho amarelo, latossolo amarelo e latossolo vermelho os tipos de solo predominantes na região (IBGE, 2009). Vale enfatizar ainda que grande parte do território da bacia apresenta elevado risco de erosão (Perfil Regional, 2009).

Quanto à atividade industrial na região, observa-se a presença de indústrias alimentícias, metalúrgicas e joalherias, usinas de açúcar e álcool, abatedouros, indústrias plásticas, fábricas de papel/papelão. Outro ponto a destacar é que o estado de São Paulo é responsável por 60% da produção brasileira de açúcar e álcool, onde a Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande já conta com 30% deste total produzidos por 30 usinas (MAPA/SPAE, 2007). Cabe ressaltar também que dos municípios pertencentes à bacia, São José do Rio Preto é o mais populoso, com cerca de 400 mil habitantes, possuindo elevadas taxas de urbanização e desempenhando um papel importante como centro comercial, industrial e de serviços da região (Perfil Regional, 2009). A Figura 2 mostra um esquema da bacia hidrográfica do Turvo/Grande com os locais de amostragem.

4.2 Pontos de Amostragem

Os pontos amostrados estão destacados na Figura 2 e são descritos como: Represa do Rio Preto (CAPRP, ponto 2), Rio Turvo na ponte que liga a cidade de São José do Rio Preto a Olímpia (PORTUR, ponto 3) e Rio Turvo antes de desaguar no Rio Grande (RTURARG, ponto 4), Rio Grande (RGRANDE, ponto 5) e a Nascente do Rio Preto (NRP, ponto 1). Na Tabela 3 são

apresentadas as coordenadas geográficas, localização e denominações dos pontos de coleta enquanto as Figuras de 3 a 8 mostram imagens ampliadas dos locais de amostragem.

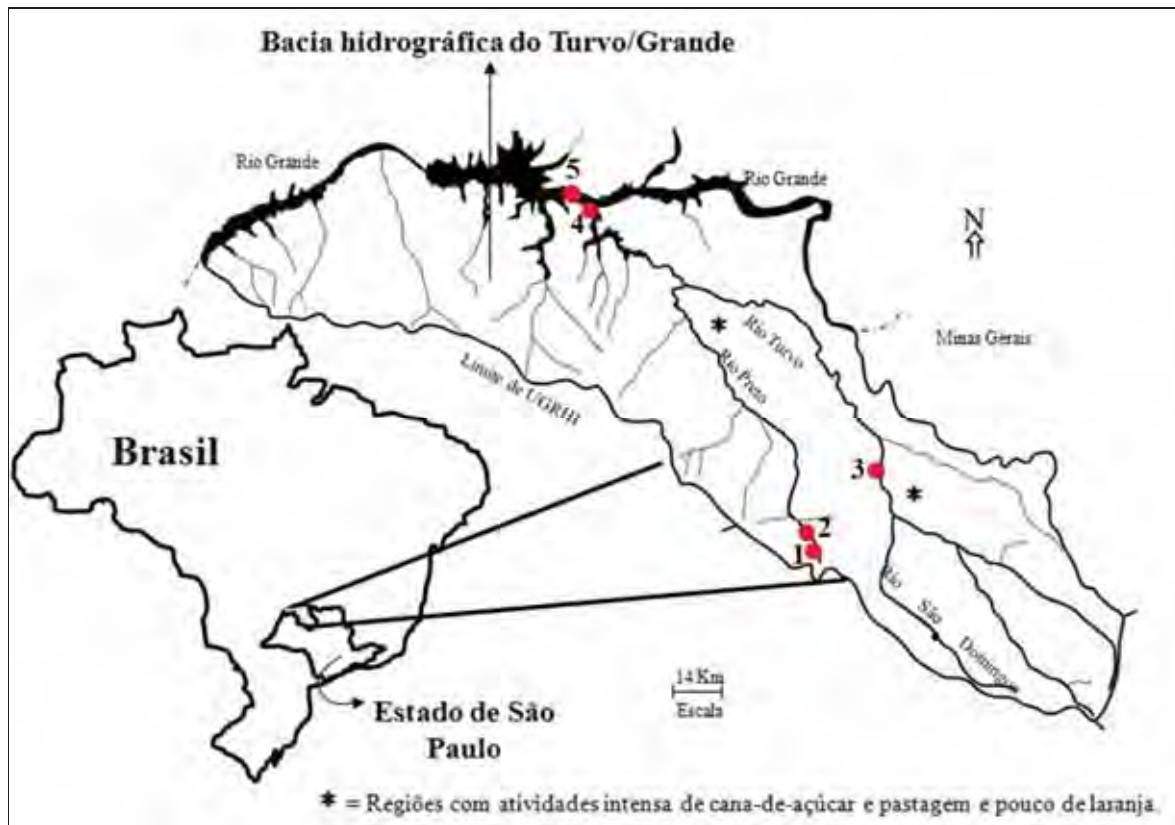


Figura 2. Mapa esquemático contendo os principais corpos aquáticos bem como a localização dos pontos de amostragem de peixe e sedimento (1 a 5) representados por pontos vermelhos, ao longo dos principais rios da Bacia do Turvo/Grande.

Tabela 3. Localização dos pontos de coleta, denominações e suas respectivas coordenadas geográficas.

Locais de amostragens	Siglas	Corpo Hídrico	Município	Coordenadas Geográficas
1. Nascente do Rio Preto	NRP	Rio Preto	Cedral	S20°55'11,3" W049°17'59,9"
2. Captação do Rio Preto	CAPRP	Rio Preto	São José do Rio Preto	S20°48'29,2" W049°22'24,1"
3. Ponte na rodovia que liga SJRP à Olímpia	PORTUR	Rio Turvo	Olímpia	S20°44'31,8" W049°06'11,4"
4. Rio Turvo antes de desaguar no Rio Grande	RTURARG	Rio Turvo	Cardoso	S19°58'09,8" W049°53'37,1"
5. Rio Grande após receber água dos Rios Preto e Turvo	RGRANDE	Rio Grande	Cardoso	S19°56'28,7" W049°55'23,1"



(a)



(b)

Figura 3. Localização do ponto de coleta na nascente do Rio Preto (a) (indicado pela seta) e imagem do local de amostragem (b).



(a)



(b)

Figura 4. Local de coleta adjacente a ponte na rodovia que liga SJRP à Olímpia, representando o Rio Turvo (a) (indicado pela seta), bem como foto do local de amostragem (b).



(a)



(b)

Figura 5. Ponto de coleta no Rio Turvo antes de desaguar no Rio Grande (indicado pela seta) (a) e imagem do local de amostragem (b).



(a)



(b)

Figura 6. Vista ampliada da Represa Municipal de São José do Rio Preto, mostrando o ponto de coleta (indicado pela seta) (a) e foto do local de amostragem (b).



(a)



(b)

Figura 7. Represa Municipal de São José do Rio Preto e rodovias (CAPRP) adjacentes (Washington Luiz e BR-153).



Figura 8. Ponto de coleta no Rio Grande (indicado pela seta) (a) e imagem do local de amostragem (b).

O ponto correspondente à Represa do Rio Preto (CAPRP) está localizado na área urbana da cidade de São José do Rio Preto (Figura 7), o qual fica próximo do ponto da captação de água para abastecimento público. Este local é caracterizado por forte assoreamento e por lançamento de esgoto doméstico, além de ser receptor dos impactos da carga poluidora difusa da área urbana durante os eventos de precipitação. Além disso, no entorno da Represa Municipal ocorre tráfego veicular urbano e rodoviário. A Rodovia Transbrasiliana-BR 153, a qual atravessa sobre a Represa Municipal é responsável por um tráfego intenso de veículos nos horários das 06:00 – 08:00 da manhã e 5:00 – 8:00 da noite (Figura 7). A amostragem nos rios Turvo e Grande foi realizada em pontos localizados na área rural como pode ser visualizado nas Figuras 4, 5 e 8, respectivamente, entretanto à jusante das cidades de São José do Rio Preto, Tanabi, Cardoso, as quais são fontes potenciais de HPA. Do mesmo modo, o ponto Nascente do Rio Preto (NRP) também está localizado na zona rural, entretanto à montante das cidades descritas acima (Figura 2). Dessa maneira, este ponto de amostragem está menos sujeito a impactos decorrentes tráfego veicular e despejos de esgoto doméstico, assim este ponto foi escolhido como controle dentre os pontos amostrados.

4.3 Materiais e Equipamentos

Os seguintes materiais e equipamentos disponíveis no Laboratório de Estudos de Ciências Ambientais (LECA), localizado no Departamento de Química e Ciências Ambientais do IBILCE/UNESP/SJRP e, adquiridos com recursos da FAPESP no projeto auxílio JP estão sendo utilizados para o desenvolvimento do estudo proposto:

A) Vidrarias (Laborglas), B) Micropipetas (Eppendorf – Research), C) Sistema de produção de água deionizada (Millipore – Direct-Q), D) Balança analítica (Shimadzu – AX200), E)

Espectrofotômetro de UV-Vis (Femto – 700Plus), F) Espectrofluorímetro (Varian – Cary Eclipse), G) Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência com detector de Fluorescência (Shimadzu Prominence) e H) Evaporador Rotativo a vácuo (Fisatom-801) I) Extrator Soxhlet (Laborglas) J) Banho Ultratermostatizado (Marconi-MA184), K) Medidor de oxigênio dissolvido portátil e impermeável com microprocessador para águas Hanna, modelo HI 9146, L) Medidor portátil de pH, condutividade elétrica, sólidos totais dissolvidos e temperatura para águas Hanna, modelo HI 991300 e M) Medidor portátil de turbidez para águas Hanna, modelo HI 93703.

4.4 Reagentes

Os reagentes utilizados no processo de amostragem (extração), clean-up e separação, identificação e quantificação dos HPA no sedimento foram da Sigma-Aldrich. Na Tabela 4 são apresentados os reagentes utilizados em cada etapa da análise dos HPA.

Tabela 4. Reagentes utilizados nas análises dos HPA em sedimentos.

Etapa Analítica	Reagente
Extração	n-Hexano, Pestanal® Acetona, Pestanal® Sulfato de Sódio anidro, reagente A.C.S, 99% de pureza. Iso-octano, Chromasolv®
Clean-up	Sulfato de Sódio anidro, reagente A.C.S, 99% de pureza. Sílica Gel, Grau 923. Diclorometano, Chromasolv® n-Hexano, Pestanal®
Separação, Identificação e Quantificação	Metanol, puriss p.a, reagente A.C.S 16 HPA sólidos individuais (EPA 610-N PAH Kit) Mistura de 16 HPA em acetonitrila (Sigma – Aldrich)

Os padrões e solventes empregados na análise dos metabólitos do pireno em bÍlis de peixes 1-hidrÓxipireno (Sigma-Aldrich) foram os seguinte: 1-hidrÓxipireno (Sigma-Aldrich), Álcool etÍlico (Synth), diclorometano (DinÁmica) e Água deionizada obtida de um sistema de purificação Milli-Q.

4.5 Amostragem

4.5.1 Coleta dos Peixes, preservação e amostragem da bÍlis

Foram realizadas trÊs coletas, representando o perÍodo de seca e o perÍodo chuvoso. As coletas foram realizadas em fevereiro de 2009 e 2010 (perÍodo chuvoso) e julho de 2010 (perÍodo de seca). É importante destacar, que na coleta de Fevereiro de 2010 foi possÍvel extrair a bÍlis dos peixes apenas para o ponto RTURG (confluência do rio turvo com o rio grande). Dessa maneira,

para fins de comparação, foi inserido na discussão os resultados da coleta de fevereiro de 2009, na qual foram coletados peixes dos pontos PORTUR, CAPRP e RTURG. Na Tabela 5 estão apresentadas as espécies de peixes coletadas com número total de indivíduos e o nome popular em cada um dos períodos. As Figuras 9 - 11 ilustram as espécies de peixes capturadas durante as coletas. As coletas foram realizadas com o apoio da Polícia Ambiental de São José do Rio Preto, que forneceu um barco e redes para a captura dos peixes. Cabe ressaltar, que na duas campanhas (fevereiro e julho 2010) o IBAMA emitiu autorização para coleta dos peixes nos rios estudados. A identificação das espécies contou com a ajuda da bióloga profa. Dra. Lilian Casati, do Departamento de Zoologia e Botânica do IBILCE-UNESP.

Tabela 5. Identificação das espécies coletadas com número total de indivíduos e nome popular das amostras coletadas nos dias 08 e 10 de fevereiro de 2010 e, 26 e 28 de julho de 2010 nos rios Preto, Turvo e Grande.

Coleta de fevereiro de 2010		
<i>Satanoperca pappaterra</i>	Cará	36
<i>Schizodon altoparana</i>	Lambari	10
<i>Serrasalmus maculatus</i>	Piranha	3
<i>Serrasalmus marginatus</i>	Piranha	8
<i>Acestrorhynchus lacustres</i>	Cachorra	1
<i>Geophagus proximus</i>	Porquinho	10
<i>Astyanax altiparanae</i>	Lambari	2
<i>Galeocharax knerii</i>	Peixe cadela	3
<i>Schizodon borelli</i>	Piava	13
Coleta de julho de 2010		
Espécie	Nome popular	Número de indivíduos
<i>Schizodon nasutus</i>	Timboré	44
<i>Serrasalmus marginatus</i>	Piranha	3
<i>Prochilodus lineatus</i>	Curimba	1
<i>Galeocharax knerii</i>	Peixe Cadela	2
<i>Salminus brasiliensis</i>	Dourado	1
<i>Leporinus obtusidens</i>	Piapara	4
<i>Leporinus friderici</i>	Piau	7
<i>Astyanax altiparanae</i>	Lambari	4
<i>Satanoperca pappaterra</i>	Zóiuo	2
<i>Cichla temensis</i>	Tucunaré	11



Geophagus proximus



Serrasalmus marginatus

Figura 9. Espécies de peixes coletados no ponto RGRANDE e RTURARG.



Satanoperca pappaterra



Schizodon altoparana



Serrasalmus marginatus



Serrasalmus maculatus



Acestrorhynchus lacustres



Geophagus cf. proximus

Figura 10. Espécies de peixes coletados no ponto CAPRP.



Astyanax altiparanae



Schizodon borelli

Figura 11. Espécies de peixes coletados no ponto PORTUR.

Antes da extração dos líquidos biliares, os peixes foram colocados em um recipiente contendo solução de benzocaína 1% (v/v) em quantidade suficiente para serem anestesiados. Após verificar que o peixe não apresentava nenhum sinal vital, foi pesado e teve seu comprimento medido (Figura 12 a, b). Para a extração do líquido biliar, a região peitoral dos peixes foram abertas com auxílio de uma tesoura cirúrgica e a vesícula biliar foi localizada (Figura 12 c). A bÍlis extraída com uma seringa hipodérmica foi transferida para um tubo do tipo *eppendorff*, que permaneceu armazenada em um freezer a temperatura de -80 °C até o momento da análise.



a)



b)



c)

Figura 12. Procedimento de amostragem da bÍlis dos peixes. Antes da extração foi medido o peso (Figura 12a) e o comprimento dos peixes (Figura 12b) e em seguida a vesÍcula biliar, indicada pela seta, foi localizada e a bÍlis foi extraÍda com uma seringa hipodérmica (Figura 12c).

4.5.2 Coleta, preservação e amostragem dos sedimentos

Os procedimentos de amostragem e preservação de amostras de sedimento seguiram as recomendações propostas pela NBR 9898 (ABNT, 1987) e pelo SOP 2016 (Standardization Operation Procedure) (EPA, 1994). As amostras de sedimento foram coletadas, com o auxílio de amostradores Van Veen e Kajak (Figura 13), disponibilizados pelo Laboratório de Biogeoquímica Ambiental, coordenado pelo Prof. Dr. Antonio Aparecido Mozeto, do Departamento de Química da

Universidade Federal de São Carlos (DQ-UFSCar). Para cada ponto de amostragem foram coletados 3 (três) testemunhos e três amostras superficiais. Os testemunhos foram fatiados em camadas de 3 cm de espessura num intervalo de 0 - 40 cm e a partir destes foram feitas amostras compostas. Essas amostras foram armazenadas em recipientes de alumínio para evitar contaminação com compostos orgânicos que podem ser interferentes na análise dos HPA. Em seguida, as amostras foram acomodadas em caixa de isopor com gelo ($\sim 4^{\circ}\text{C}$) durante o transporte ao laboratório, onde permaneceram congeladas (-18°C) até o momento da análise.



Figura 13. Coletor de sedimentos superficial tipo Van Veen (A) e coletor de testemunho de sedimentos tipo Kajak (B).

4.6 Determinação do 1-hidróxipireno na bÍlis de peixes por Espectroscopia de Fluorescência Molecular, no Modo Sincronizada

4.6.1 Procedimento

A determinação do 1-hidroxipireno na bÍlis de peixes foi realizada de acordo com o método proposto por Ariese *et alii*, 1993. O equipamento empregado foi um Espectrofluorímetro da Varian, modelo Cary Eclipse. Uma cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico foi utilizada. A voltagem da fotomultiplicadora, a velocidade de varredura e abertura da fenda de excitação e emissão foram respectivamente, 600V, 600nm/min e 5nm. Para a construção da curva analítica, assim como para a leitura das amostras de bÍlis dos peixes, o sinal de fluorescência no modo sincronizado foi obtido empregado um $\Delta\lambda$ de 40 nm e o máximo de fluorescência em 347 nm.

O sistema solvente utilizado para preparar as soluções estoque e os padrões foi uma solução etanol/água 48% (v/v). Por se tratar de composto pouco solúvel nesta mistura, o 1-hidróxipireno foi

previamente dissolvido em 10 mL de diclorometano e em seguida foi diluído em etanol/água 48%. Deste modo, uma massa do padrão de 1-hidróxipireno de 0,0015 g de foi pesada em uma balança analítica e dissolvida em diclorometano em balão volumétricos de 10,00 mL. Em seguida uma alíquota desta solução foi transferida para um balão volumétricos de 10,00 mL para obter uma solução com concentração igual a 2,00 mg L⁻¹. A partir desta solução foram preparados os padrões para obtenção da curva analítica para o 1-hidróxipireno. É importante destacar que todas amostras de bÍlis dos peixes coletados foram previamente diluídas em solução de etanol/água 48% (v/v) na proporção de 1:500 antes das leituras (Ariese *et alii*, 1993).

4.6.2 Parâmetros de desempenho analítico

Os limites de detecção e quantificação foram determinados de acordo com Miller e Miller (1993). Dez medidas do branco (solução etanol/água 48 % (v/v)) foram realizadas ($\lambda_{ex} = 347$ nm) e o sinal no comprimento de onda no ponto de maior intensidade de fluorescência ($\lambda_{em} = 387$ nm) do 1-hidróxipireno foram obtidas. O limite de detecção (LD) foi determinado de acordo como descrito na Equação 1, onde SD é o desvio padrão de dez medidas do branco e B é o coeficiente angular da curva analítica.

$$LD = 3 \times SD (\text{branco})/B \quad \text{Eq. 1}$$

O limite de quantificação (LQ) foi calculado de acordo com a Eq. 2 :

$$LQ = 3,3 \times LD \quad \text{Eq. 2}$$

4.7 Análise de HPA no sedimento

4.7.1 Preparo da amostra e extração dos HPA no sedimento

Previamente à extração do HPA, os sedimentos superficiais coletados e as seções do testemunho foram secos em capela de exaustão à temperatura ambiente. As amostras foram dispostas em placas de petri e a capela ficou mantida com fluxo ligado e semi-aberta (cerca de 15 cm) para manter uma atmosfera perturbada, que diminui o tempo de secagem e contaminações causadas pelo ambiente do laboratório. Pedras e fragmentos de matéria orgânica como galhos e folhas foram retiradas, sendo que o tempo de secagem variou de 2-5 dias.

Para a extração dos HPA dos sedimentos seguiram-se as recomendações do método 3540 C da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (U.S. EPA). Para todas as amostras de sedimento (testemunho e superficial), as extrações foram realizadas em duplicata. Dessa maneira, cerca de 2-5 gramas de amostra de sedimento foram pesadas com em uma balança analítica e homogeneizadas, com um almofariz e pistilo, com a mesma massa de sulfato de sódio previamente

calcinado em mufla durante 4 horas a 400 °C. A mistura foi transferida para cartuchos de celulose denominados *thimble* que funcionam como um suporte para a amostra permitindo somente o fluxo do solvente extrator através dos seus poros. O *thimble* contendo a amostra foi transferido para o conjunto extrator soxhlet e os HPA foram extraídos do sedimento com 150 mL de uma mistura de solvente contendo acetona e hexano na proporção 1:1 (v/v) durante 16 horas (Figura 14). Após a extração, o balão contendo a mistura de solventes e os HPA foi levado a um evaporador rotativo a vácuo e o volume do solvente foi reduzido para cerca de 2 mL, tomando-se o cuidado para que o extrato não entrasse em ebulição pois, neste caso poderia haver perdas de HPA. Nesta etapa a temperatura do banho foi mantida na faixa de 35-40°C. Ao balão contendo o extrato concentrado foi adicionado 20 mL de isooctano para efetuar a troca do solvente. O extrato foi novamente concentrado, com a temperatura do banho mantida na faixa de 50-55°C, até aproximadamente 2 mL.



Figura 14. Conjuntos extratores Soxhlet utilizados na extração dos HPA em sedimento.

4.7.2 Método de limpeza ou *clean-up*

O método de limpeza ou *clean-up* do extrato foi executado de acordo com o método 3630C da USEPA. Este procedimento foi adotado para retirar impurezas polares que interferem na identificação e quantificação do HPA pelo método analítico empregado. As colunas empregadas nesta etapa foram feitas de acordo com o procedimento descrito por Almeida (2003) (Figura 15). Dessa maneira, colunas de 40 cm de comprimento e 1 cm de diâmetro interno contendo um

reservatório para solventes na parte superior (volume de 100 mL), foram empacotadas com 10 g de sílica gel (100-200 mesh) ativada em estufa a 130 °C por 16 horas. O empacotamento foi realizado a partir da transferência de uma mistura contendo a sílica gel (10 g) dispersa em 40 mL de diclorometano. Na parte superior da sílica gel foi adicionado uma camada de sulfato de sódio anidro de 1-2 cm de comprimento.

A coluna contendo a sílica gel e sulfato de sódio foi pré-eluída com 40 mL de hexano antes da transferência do extrato contendo os HPA. Em seguida, o extrato em isooctano (volume de 2 mL) foi transferido quantitativamente para a coluna de *clean-up*. Logo após, o extrato foi eluído com 25 mL de uma mistura contendo cloreto de metileno/hexano na proporção 2:3 (v/v), sendo esta fração coletada em um balão volumétrico, a qual foi levada ao evaporador rotativo a vácuo para proceder a troca do solvente. Dessa maneira, a solução contendo os HPA dissolvidos em cloreto de metileno/hexano foi concentrada até cerca de 2 mL e 20 mL de acetonitrila foi adicionado ao extrato contendo os HPA e o volume foi reduzido novamente para cerca de 2 mL. Esse volume foi reduzido para 1,0 mL com fluxo brando de nitrogênio e o extrato final foi então armazenado em frasco de vidro âmbar no freezer a temperatura de -18 °C até o momento da análise.

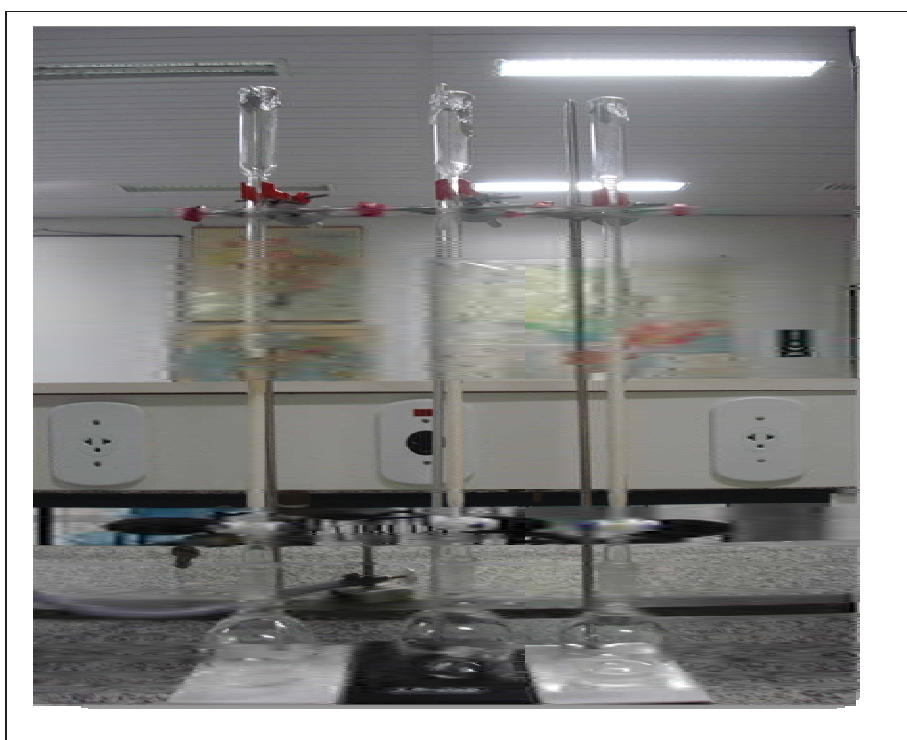


Figura 15. Colunas cromatográficas empacotadas com sílica gel e sulfato de sódio para retirar as impurezas do extrato contendo os HPA.

4.7.3 Identificação e quantificação dos HPA por HPLC - DF

Para identificação e quantificação dos HPA em sedimentos foi utilizado um Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência, Shimadzu Prominence, com detector de fluorescência (HPLC – DF). Os módulos que integram o cromatógrafo são: bomba de alta pressão modelo LC-20AT, um degaseificador de membrana modelo DGU-20A3, sistema controlador do CLAE e interface para o computador modelo CBM-20A e detector de fluorescência modelo RF-10AXL.

A identificação dos HPA foi feita por meio de comparação com o tempo de retenção característico de cada um deles. Para alguns HPA, a confirmação foi feita por meio de adições do mesmo na amostra em concentração conhecida e assim confirmado pelo aumento da área do pico. A quantificação dos analitos de interesse foi realizada pelo método do padrão externo. Dessa maneira, uma solução padrão contendo os 16 HPA de interesse foi preparada a partir de padrões individuais sólidos de cada analito. 0,00100 g de cada HPA foi pesado em uma balança analítica de cinco casas (marca *Ohaus*). Os HPA pouco solúveis em acetonitrila (criseno, indeno[1,2,3-cd]pireno, dibenzo[a,h]antraceno e benzo[g,h,i]perileno) foram dissolvidos individualmente em balões de 25 mL e os demais foram dissolvidos separadamente em acetonitrila em balões de 10,0 mL. Diferentes alíquotas de cada solução individual dos analitos foram transferidas para um balão de 10 mL e dissolvidos com acetonitrila. O padrão misto resultante é a solução contendo os 16 HPA de interesse e este foi armazenado à temperatura de -18 °C em frasco de vidro para posterior preparação das curvas analíticas. A concentração de cada HPA na solução padrão é mostrada na Tabela 6.

Tabela 6. Denominações dos padrões individuais e concentração dos 15 HPA analisados na solução estoque.

Padrão	HPA	Concentração na solução padrão (ng/mL)
P1	Naftaleno	504,0
P2	Acenafteno	456,0
P3	Fluoreno	540,1
P4	Fenantreno	1203,6
P5	Antraceno	128,0
P6	Fluoranteno	3454,2
P7	Pireno	201,6
P8	Benzo[a]antraceno	378,0
P9	Criseno	622,8
P10	Benzo[b]fluoranteno	1804,0
P11	Benzo[k]fluoranteno	288,0
P12	Benzo[a]pireno	322,1
P13	Dibenzo[a,h]antraceno	3960,0
P14	Benzo[g,h,i]perileno	3947,0
P15	Indeno[1,2,3-cd]pireno	4044,8

A separação dos HPA de interesse foi realizada com a coluna ZORBAX Eclipse PAH, 250mm x 4.6 diâmetro interno e tamanho de partícula de 5 µm, da marca Agilent. O tipo de eluição foi por gradiente de baixa pressão utilizando acetonitrila e água como fase móvel, em um fluxo de 1,3 mL/min. A programação da eluição está mostrada na Figura 16.

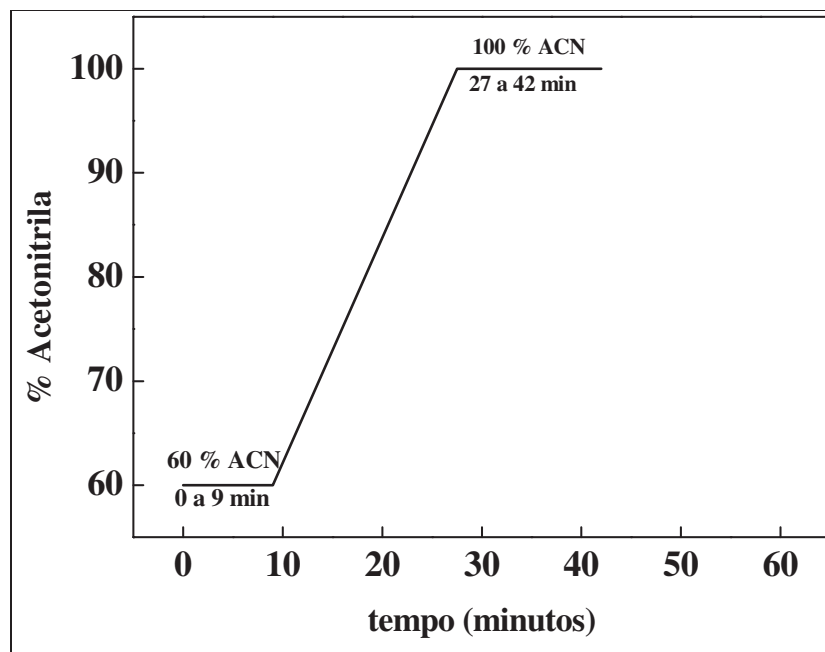


Figura 16. Esquema da programação da eluição por gradiente utilizando acetonitrila/água como fase móvel: 0 a 9 minutos com 60 % de acetonitrila (ACN); de 9 a 27 minutos 60 % de ACN para 100 %; 27 a 42 minutos permanece constante com 100% de ACN.

Para a detecção dos HPA foram selecionados três pares de comprimento de onda excitação/emissão de acordo com Silva (2006). A Tabela 7 mostra os comprimento de onda de excitação e emissão empregados para três grupos de HPA de forma a obter o melhor sinal de fluorescência para cada um deles.

Tabela 7. Pares de comprimento de onda de excitação/emissão utilizados na detecção dos HPA.

HPA	Comprimentos de onda Excitação (nm)	Comprimento de onda de Emissão (nm)
Naftaleno a Fluoreno	220	322
Fenantreno a Benzo[g,h,i]perileno	240	398
Indeno[1,2,3-cd]pireno	300	498

4.7.4 Parâmetros de desempenho analítico

4.7.4.1. Limites de Detecção e Quantificação

Os Limites de Detecção e Quantificação foram calculados de acordo com o método descrito por Lanças (2009). Dessa maneira, sete brancos foram injetados na coluna e a partir do sinal medido foi calculado o LD e o LQ como sendo:

$$\text{Eq. 3} \quad LD = 3s;$$

$$\text{Eq. 4} \quad LQ = 10s$$

onde s é o desvio padrão das análises do branco.

4.7.4.2. Linearidade

A linearidade dos pontos da faixa de trabalho foi verificada pelos gráficos plotados com área do analito/concentração do analito (fator de resposta) versus a sua concentração em escala logarítmica (Ribani *et alli*, 2004). Duas faixas horizontais paralelas no gráfico com 110 % e 90 % para faixa linear são traçadas, e a resposta é considerada linear até o ponto que intercepta os limites dessas faixas. Verificada a linearidade, cinco pontos foram selecionados e a curva analítica foi traçada pelo método dos mínimos quadrados e a equação da curva analítica que relaciona a resposta do detector (área) com a concentração do analito foi determinada.

4.7.4.3. Exatidão

A exatidão do método analítico foi verificada por meio da análise do material referência certificado denominado SEM 1944.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Análise do 1-hidróxipireno na bÍlis dos peixes por fluorescência sincronizada

5.1.1. Parâmetros de desempenho analítico

A Figura 17 mostra a curva analítica empregada para a determinação do 1-hidróxipireno na bÍlis de peixes utilizando a técnica de fluorescência sincronizada, a qual apresentou coeficiente de correlação de 0,9922. A faixa de concentração empregada para a determinação deste composto variou de 1,0 a 20,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os limites de detecção e quantificação foram de 0,077 e 0,77 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

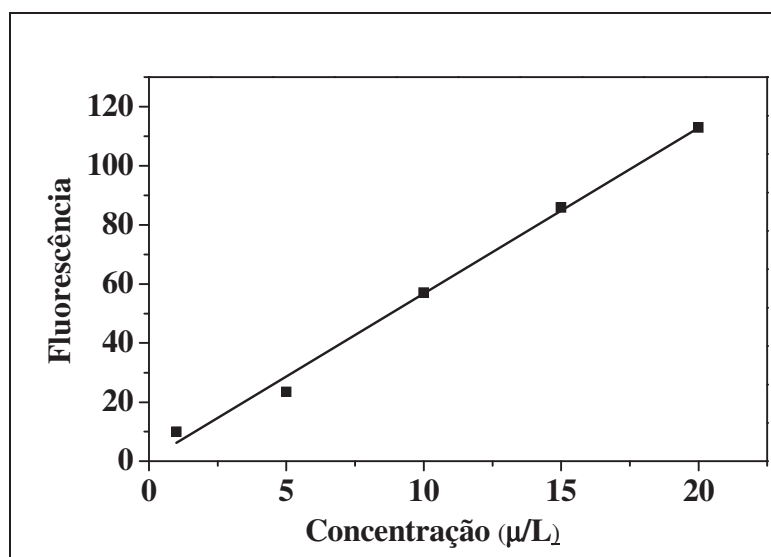


Figura 17. Curva analítica para a quantificação de 1-hidróxipireno em bÍlis de peixe.

5.1.2. Identificação e caracterização das espécies de peixes

As Tabelas de 24 a 26 (Anexo 1) mostram as espécies de peixes capturadas na coleta de fevereiro de 2010, nos pontos CAPRP, PORTUR e RTURG, respectivamente, bem como o peso e comprimento para cada espécie, enquanto as Tabelas de 27 a 29 (Anexo 2) correspondem às espécies coletadas em julho 2010. Na coleta de fevereiro 2010, no ponto CAPRP foram coletadas 4 espécies de peixes: *Schizodon altoparana*, *Satanoperca pappaterra*, *Serrasalmus marginatus* e *Serrasalmus maculatus*, no ponto PORTUR, foram coletados peixes das espécies *Astyanax altiparanae*, *Galeocharax knerii* e *Schizodon borelli* e no ponto RTURG apenas duas espécies de peixes foram coletadas, sendo a maioria espécie *Geophagus proximus*, e em menor quantidade da espécie *Serrasalmus marginatus*. Na coleta de julho de 2010, no ponto CAPRP, foram coletados peixes da espécie *Schizodon nasutus*, no ponto RTURG peixes da espécie *Geophagus proximus* e no ponto PORTUR peixes da espécie *Leporinus friderici*.

5.1.3. Quantificação do 1-hidróxipireno na bÍlis de peixes por fluorescência sincronizada

Vale ressaltar que todas os valores das concentrações médias são apresentadas juntamente com os respectivos desvios padrões. Os resultados de concentrações individuais de 1-hidróxipireno na bÍlis das espécies de peixes do ponto de coleta CAPRP para campanha de 2009, bem como o valor da concentração média calculado levando em consideração todas as espécies, são mostrados nas Tabelas 8. As concentrações individuais variaram na faixa de 1693 - 8356 $\mu\text{g L}^{-1}$, sendo que a concentração média foi $3384 \pm 2163 \mu\text{g L}^{-1}$.

As Tabelas 9 e 10 mostram os valores de concentração de 1-hidróxipireno na bÍlis dos peixes dos pontos PORTUR e RTURG, respectivamente, para campanha de fevereiro de 2009. Para o ponto PORTUR, apenas a bÍlis de duas amostras de peixes foram analisadas, sendo que as concentrações de 1-hidróxipireno obtidas foram 489 e 1264 $\mu\text{g L}^{-1}$. No ponto RTURG, a concentração de 1-hidróxipireno variou na faixa de 198 a 1166 $\mu\text{g L}^{-1}$ e a concentração média foi $371 \pm 302 \mu\text{g L}^{-1}$.

A Tabela 11 mostra os valores individuais de 1-hidróxipireno para a espécie *Geophagus proximus*, coletadas no ponto RTURG na campanha de fevereiro de 2010, bem como a concentração média de todas as amostras analisadas. Como pode ser observado, os valores variaram de 210 a 1025 $\mu\text{g L}^{-1}$, sendo o valor médio obtido correspondente a $780 \pm 281 \mu\text{g L}^{-1}$.

A Tabela 12 mostra as concentrações de 1-hidroxipireno em peixes da espécie *Shizodon nasutus* coletados no ponto da captação do Rio Preto (CAPRP), em julho de 2010. Os valores variaram de 397 a 6463 $\mu\text{g L}^{-1}$ e a concentração média foi $1300 \pm 1130 \mu\text{g L}^{-1}$. A Tabela 13 mostra os valores de concentração de 1-hidroxipireno na bÍlis dos peixes da espécie *Geophagus proximus* coletados no ponto RTURG na campanha de julho de 2010. Nessa campanha treze indivíduos de peixes foram coletados, porém apenas para dois peixes a quantidade de líquido biliar extraído foi suficiente para realizar as análises. As concentrações obtidas foram 458 e 717 $\mu\text{g L}^{-1}$.

No ponto PORTUR na campanha de julho de 2010, foi quantificado a concentração de 1-hidróxipireno na bÍlis de quatro peixes da espécie *Leporinus friderici*. Os valores de concentração, variaram na faixa de 849 a 2638 $\mu\text{g L}^{-1}$, com concentração média de $1643 \pm 744 \mu\text{g L}^{-1}$ (Tabela 14).

Tabela 8. Concentração de 1-hidróxipireno de peixes da espécie *Serrasalmus Maculatus*, *Schizodon Knerii*, *Cyphocharax Modestu* e *Serrasalmus Marginatus* coletados na CAPRP no mês de fevereiro de 2009.

Amostra	Espécie	*Concentração 1-hidróxipireno ($\mu\text{g L}^{-1}$)
RP 7	<i>Serrasalmus Maculatus</i>	3874
RP 9	<i>Serrasalmus Maculatus</i>	2033
RP 11	<i>Serrasalmus Maculatus</i>	1750
RP 17	<i>Schizodon Knerii</i>	1905
RP 18	<i>Schizodon Knerii</i>	3068
RP 4	<i>Schizodon Knerii</i>	5858
RP 6	<i>Schizodon Knerii</i>	2266
RP 1	<i>Serrasalmus Marginatus</i>	8356
RP 13	<i>Serrasalmus Marginatus</i>	3035
RP 3	<i>Cyphocharax Modestus</i>	1693
	Concentração média	3384 $\pm$ 2163

Tabela 9. Concentração de 1-hidróxipireno na bÍlis de peixes da espécies *Schizodon Knerii* e Dourado*, 6 coletadas no ponto PORTUR no mês de fevereiro de 2009.

Amostra	Espécie	*Concentração 1-hidróxipireno ($\mu\text{g L}^{-1}$)
PORTUR (1)	<i>Schizodon Knerii</i>	489
PORTUR (3)	Dourado*	1264

*Somente a espécie deste peixe não foi possível ser identificada.

Tabela 10. Concentração de 1-hidróxipireno na bÍlis de peixes da espécies *Serrasalmus Maculatus*, *Schizodon Knerii* e *Leporinus friderici* coletadas no RTURG no mês de fevereiro de 2009.

Amostra	Espécie	*Concentração 1-hidróxipireno ($\mu\text{g L}^{-1}$)
RTG 1	<i>Serrasalmus Maculatus</i>	1166
RTG 8	<i>Schizodon Knerii</i>	263
RTG 15	<i>Schizodon Knerii</i>	215
RTG 21	<i>Schizodon Knerii</i>	255
RTG 11	<i>Leporinus friderici</i>	342
RTG 14	<i>Leporinus friderici</i>	198
RTG 19	<i>Leporinus friderici</i>	306
RTG 20	<i>Leporinus friderici</i>	319
RTG 22	<i>Leporinus friderici</i>	277
	Concentração Média	371 $\pm$ 302

Tabela 11. Concentrações de 1-hidróxipireno de peixes da espécie *Geophagus proximus* coletados na confluência do Rio Turvo com o Rio Grande (RTURG), em fevereiro de 2010.

Amostra	Espécie	*Concentração 1-hidróxipireno ($\mu\text{g L}^{-1}$)
RTG11	<i>Geophagus proximus</i>	980
RTG 4	<i>Geophagus proximus</i>	210
RTG 2	<i>Geophagus proximus</i>	940
RTG 10	<i>Geophagus proximus</i>	1025
RTG 13	<i>Geophagus proximus</i>	1014
RTG 18	<i>Geophagus proximus</i>	730
RTG 9	<i>Geophagus proximus</i>	800
RTG 17	<i>Geophagus proximus</i>	500
RTG 1	<i>Geophagus proximus</i>	1001
	Concentração média	780 $\pm$ 281

Tabela 12. Concentrações de 1-hidroxipireno de peixes da espécie *Schizodon nasutus* coletados no ponto de captação do Rio Preto (CAPRP), em julho de 2010.

Amostra	Espécie	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)
RP 28	<i>Schizodon nasutus</i>	1245
RP 24	<i>Schizodon nasutus</i>	1144
RP 29	<i>Schizodon nasutus</i>	664
RP 18	<i>Schizodon nasutus</i>	784
RP 25	<i>Schizodon nasutus</i>	705
RP 15	<i>Schizodon nasutus</i>	593
RP 19	<i>Schizodon nasutus</i>	627
RP 23	<i>Schizodon nasutus</i>	1123
RP 17	<i>Schizodon nasutus</i>	840
RP 4	<i>Schizodon nasutus</i>	852
RP 16	<i>Schizodon nasutus</i>	2689
RP 1	<i>Schizodon nasutus</i>	539
RP 27	<i>Schizodon nasutus</i>	397
RP 13	<i>Schizodon nasutus</i>	1859
RP 11	<i>Schizodon nasutus</i>	496
RP 6	<i>Schizodon nasutus</i>	1093
RP 12	<i>Schizodon nasutus</i>	1206
RP 9	<i>Schizodon nasutus</i>	825
RP 30	<i>Schizodon nasutus</i>	620
RP 3	<i>Schizodon nasutus</i>	990
RP 21	<i>Schizodon nasutus</i>	731
RP 8	<i>Schizodon nasutus</i>	1075
RP 10	<i>Schizodon nasutus</i>	2406
RP 7	<i>Schizodon nasutus</i>	1056
RP 32	<i>Schizodon nasutus</i>	1149
RP 51	<i>Schizodon nasutus</i>	848
RP 40	<i>Schizodon nasutus</i>	841
RP 48	<i>Schizodon nasutus</i>	1101
RP 42	<i>Schizodon nasutus</i>	1259
RP 31	<i>Schizodon nasutus</i>	6463
RP 36	<i>Schizodon nasutus</i>	2340
RP 45	<i>Schizodon nasutus</i>	1238
RP 46	<i>Schizodon nasutus</i>	1185
RP 38	<i>Schizodon nasutus</i>	5193
RP 35	<i>Schizodon nasutus</i>	781
RP 50	<i>Schizodon nasutus</i>	507
RP 44	<i>Schizodon nasutus</i>	1250
RP 49	<i>Schizodon nasutus</i>	674

Continuação da Tabela 12

RP 47	<i>Schizodon nasutus</i>	2147
RP 37	<i>Schizodon nasutus</i>	1063
RP 34	<i>Schizodon nasutus</i>	1250
RP 20	<i>Schizodon nasutus</i>	1181
RP 17	<i>Schizodon nasutus</i>	1281
RP 22	<i>Schizodon nasutus</i>	879
	Concentração Média	1300 ± 1130

Tabela 13. Concentrações de 1-hidróxipireno na bÍlis de peixes da espécie *Geophagus proximus* coletados no ponto RTURG, em julho de 2010.

Amostra	Espécie	*Concentração 1-hidroxipireno ($\mu\text{g L}^{-1}$)
RTURG 2	<i>Geophagus proximus</i>	458
RTURG 6	<i>Geophagus proximus</i>	717

Tabela 14. Concentrações de 1-hidróxipireno de peixes da espécie *Leporinus Friderici* coletados na Ponte na rodovia que liga SJRP à Olímpia (PORTUR), em julho de 2010.

Amostra	Espécie	Concentração 1-hidroxipireno ($\mu\text{g L}^{-1}$)
PORTUR (04)	<i>Leporinus Friderici</i>	2638
PORTUR (08)	<i>Leporinus Friderici</i>	849
PORTUR (15)	<i>Leporinus Friderici</i>	1642
PORTUR (16)	<i>Leporinus Friderici</i>	1444
	Concentração média	1643 ± 744

O Gráfico *boxplot* ilustrado na Figura 18 mostra a distribuição dos valores de concentração do 1-hidróxipireno com os valores máximos, mínimos e a média e mediana, para os peixes coletados na CAPRP, PORTUR e RTURG, nas campanhas de fevereiro de 2009 e 2010 e julho de 2010. Comparando os resultados entre os pontos CAPRP, RGRANDE e PORTUR, para a campanha de Fevereiro de 2009, é possível observar que os maiores valores de concentração de 1-hidróxipireno na bÍlis foram obtidos para os peixes coletados na CAPRP. Em relação à campanha de julho de 2010, a maior concentração média para o 1- hidróxipireno em bÍlis de peixes foi obtida para o ponto PORTUR. Porém, os valores de concentrações individuais do 1-hidróxipireno na bÍlis dos peixes dos pontos CAPRP e PORTUR (julho 2010) estão em faixas muito próximas, com exceção dos valores de concentração das amostras RP 38 ($5193\mu\text{g L}^{-1}$) e RP 31 ($6463\mu\text{g L}^{-1}$) do ponto CAPRP, os quais estão discrepantes em relação aos outros valores.

Um outro ponto a destacar, é que as amostras de peixes analisadas na CAPRP (n=44) são muito mais representativas do local de amostragem do que as amostras de peixes analisadas no PORTUR (n=4) e no RTURG (n=2), devido ao número total de amostras e levando em consideração que a maioria dos indivíduos são da mesma espécie. Dessa maneira, fica dificultada a comparação dos resultados de concentração do 1-hidróxipireno entre os pontos de coleta CAPRP, PORTUR e RTURG para a coleta de julho de 2010.

Também é importante destacar que apenas alguns exemplares de peixes coletados entre os diferentes pontos de coleta (CAPRP, PORTUR e RTURG) eram da mesma espécie, o que também dificultou a comparação entre os resultados. A Tabela 15 mostra os valores de concentração de 1-hidróxipireno para as espécies de peixes que eram idênticas em pelo menos dois pontos de coleta. Comparando os valores de concentração de 1-hidróxipireno entre os pontos CAPRP (fevereiro 2009), RTURG (fevereiro de 2009) e PORTUR (fev 2009), é possível observar que o valor médio na bÍlis das espécies *Schizodon knerii* capturadas no ponto CAPRP é 13 e 7 vezes maior do que os valores obtidos na mesma espécie para os pontos RTURG e PORTUR, respectivamente. Porém, no ponto PORTUR da coleta de fevereiro de 2009, apenas um exemplar da espécie *Schizodon Knerii* foi capturado, dificultando a comparação com os outros pontos de coleta e interpretação dos resultados. A falta de mais exemplares, também dificultou a comparação dos resultados entre os indivíduos da espécie *Serrasalmus Maculatus* dos pontos CAPRP (fevereiro 2009) e RTURG (fevereiro 2009). Entre os pontos RTURG (fevereiro 2009) e PORTUR (julho 2010), a concentração média de 1-hidróxipireno foi 6 vezes maior para as espécies *Leporinus friderici* do ponto PORTUR do que para as mesmas espécies do ponto RTURG.

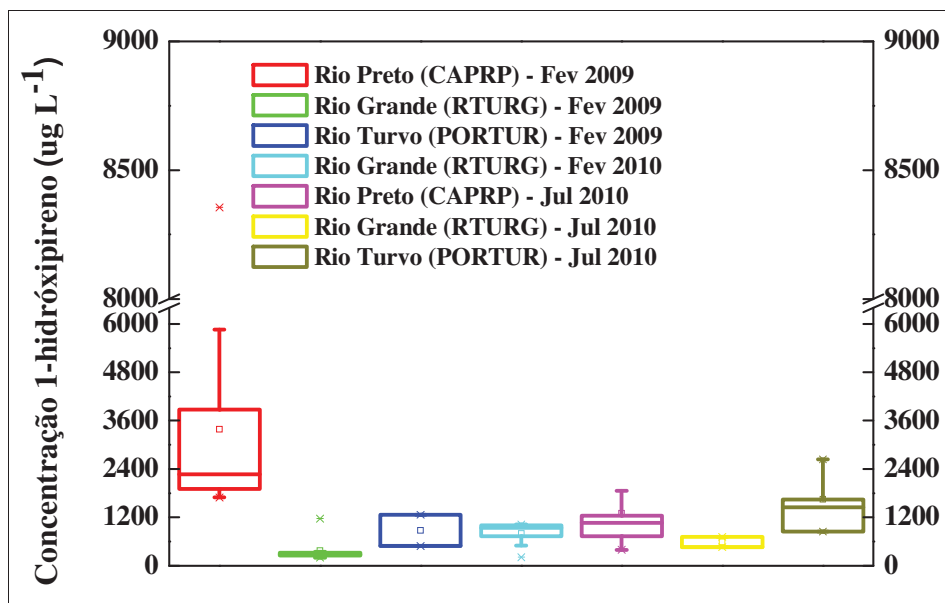


Figura 18. Comparação das concentrações do 1-hidróxipireno entre os pontos CAPRP, PORTUR e RTURG pelos gráficos de boxplot.

Tabela 15 . Comparação entre os valores de concentração de 1-hidróxipireno na bÍlis dos peixes de mesma espécie entre os pontos de coleta CAPRP (fev 2009), RTURG (fev 2009) e PORTUR (fev 2009 e jul 2010)

CAPRP – Fev 2009		RTURG – Fev 2009		PORTUR – Fev 2009		PORTUR – Jul 2010	
Espécie	Conc. média (µg L ⁻¹)	Espécie	Conc. média (µg L ⁻¹)	Espécie	Conc. média (µg L ⁻¹)	Espécie	Conc. média (µg L ⁻¹)
<i>Serrasalmus Maculatus</i>	2552	<i>Serrasalmus Maculatus</i>	1166*	-----		-----	
<i>Schizodon Knerii</i>	3274	<i>Schizodon Knerii</i>	244	<i>Schizodon Knerii</i>	489*	-----	
-----		<i>Leporinus friderici</i>	288	-----		<i>Leporinus friderici</i>	1643

* valor de concentração de apenas uma amostra

A comparação dos resultados obtidos neste trabalho com aqueles de outros autores é dificultada pelo fato de diferentes métodos analíticos serem aplicados na determinação do 1-hidróxipireno em bÍlis de peixes. Outro fator que prejudica a comparação é que a concentração do 1-hidróxipireno é apresentada de maneiras distintas. A Tabela 16 mostra a concentração do 1-hidróxipireno em bÍlis de peixes encontradas em alguns trabalhos descritos na literatura. Como é possível observar a concentração do 1-hidróxipireno determinada nesse trabalho está na mesma ordem de grandeza que os valores encontrados no trabalho de Neves (2006), onde os peixes foram coletados de uma região cronicamente contaminada por petróleo e seus derivados.

Os maiores valores de 1-hidróxipireno na bÍlis dos peixes coletados no ponto CAPRP em relaçao aos demais locais de amostragem podem ser possivelmente atribuÍdos ao intenso tráfeço de veÍculos que ocorre diariamente no entorno deste ponto, à queima da palha de cana-de-açúcar e o despejo de efluentes domésticos.

Tabela 16. Valores de concentraçao para 1-hidróxipireno de trabalhos descritos na literatura.

Método de Análise	Peixe	Local	Concentraçao média	Unidade	Descriçao
^a Espectroscopia de Fluorescência de sincronizada	<i>Mugil liza</i>	Baía de Guanabara, Rio de Janeiro	7.000 - 10.400	µg L ⁻¹ (µg equivalentes de pireno)	Local com contaminaçao crônica por petróleo e seus derivados
^b Cromatografia a Gás/ Detecçao por espectroscopia de massa	<i>Solea solea</i>	Rio Loire, França	1.400	ng g ⁻¹ de bÍlis	Local afetado pelo derramamento de 20.000 t de óleo combustÍvel próxima a costa Atlântica da França
^c Cromatografia Líquida de Alta Eficiência/Detecçao por Espectroscopia de Fluorescência Fixa	<i>Anguilla anguilla</i>	Rio de água doce, no sudeste da França	1,4 - 2,0	µg g ⁻¹ de bÍlis	Local afetado por descargas industriais e por efluentes de uma planta de tratamento de esgoto
^d Espectroscopia de Fluorescência de sincronizada	ver Tabela 8	CAPRP – Fev 2009	1.693 - 8.356	µg L ⁻¹ de bÍlis	Local sujeito a contaminaçao de HPA por combusto de matéria orgânica e combustÍveis fósseis
	ver Tabela 12	CAPRP – Jul 2010	397 - 6463	µg L ⁻¹ de bÍlis	

a) Neves *et alii* (2006); **b)** Budzinski *et alii* (2004); **c)** Fenet *et alii* (2006); **d)** Este trabalho

5.2. Adaptaçao dos métodos para quantificaçao dos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA) em amostras de sedimento

5.2.1. Separaçao e identificaçao dos HPA

A Figura 19 mostra um cromatograma dos 15 HPA de interesse empregando as condiçaes cromatográficas descritas na seçao 4.6.3. Como pode ser observado, todos os HPA tiveram boa separaçao. Os HPA correspondentes a cada pico esto descritos na Tabela 17, bem como seus respectivos tempos de retençao.

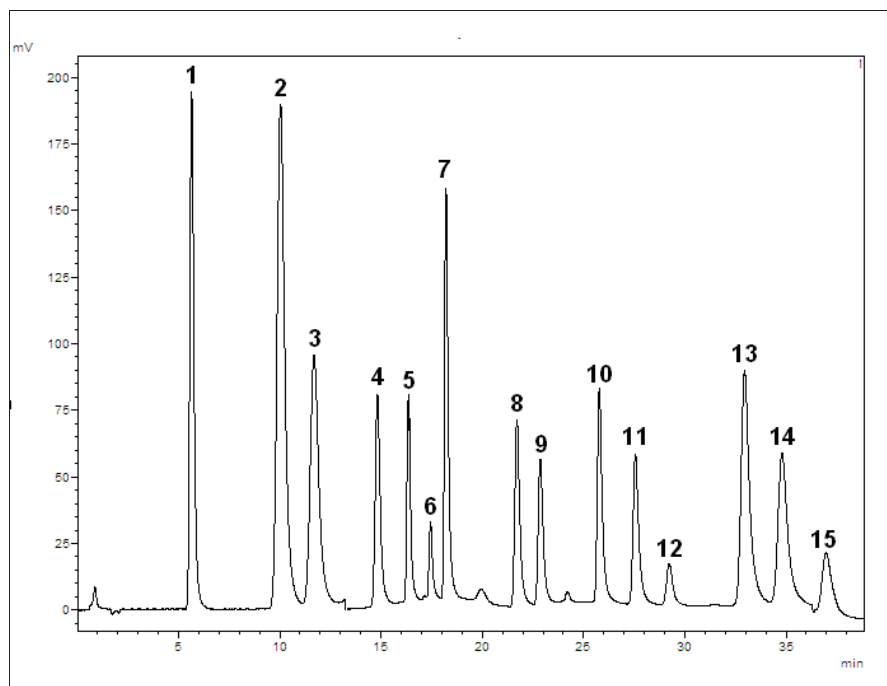


Figura 19. Cromatograma do padrão misto contendo os 15 HPA de interesse empregando uma coluna cromatográfica EnvirosepPP 125 mm x 4,6 mm d.i. A separação dos analitos foi executada com fluxo de 1,3 mL/min da fase móvel composta de acetonitrila e água com eluição por gradiente.

Tabela 17. Tempo de retenção para cada HPA e identificação dos picos do cromatograma mostrado na Figura 19.

Número do Pico	HPA	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Tempo de retenção (min)
1	Naftaleno	25,2	5,70
2	Acenafteno	22,8	10,1
3	Fluoreno	27,1	11,8
4	Fenantreno	60,2	14,9
5	Antraceno	6,4	16,4
6	Fluoranteno	172,7	17,4
7	Pireno	20,2	18,1
8	Benzo[a]antraceno	18,9	21,6
9	Criseno	31,1	22,7
10	Benzo[b]fluoranteno	90,2	25,7
11	Benzo[k]fluoranteno	14,4	27,4
12	Benzo[a]pireno	16,1	29,1
13	Dibenzo[a,h]antraceno	198,0	32,8
14	Benzo[g,h,i]perileno	394,7	34,6
15	Indeno[1,2,3-cd]pireno	202,2	37,2

5.2.2. Parâmetros de desempenho analítico da análise dos HPA

A Tabela 18 mostra as faixas lineares, coeficientes de correlação, de variância e os limites de detecção e quantificação para os 15 HPA contemplados para os estudos neste projeto. As faixas lineares foram determinadas plotando-se o fator de resposta (área/concentração do analito) versus a concentração do analito em escala logarítmica, obtendo-se assim a curva de linearidade como mostrado na Figura 20. Este procedimento foi feito para todos os HPA. As curvas analíticas foram obtidas plotando-se a área de cada HPA em função da concentração do analito, totalizando cinco pontos para cada HPA. Os coeficientes de correlação obtidos estão de acordo com os valores preconizados pelo INMETRO ($> 0,9$) e pela ANVISA ($> 0,99$) (INMETRO, 2003; ANVISA, 2003).

Tabela 18. Faixa Linear, Coeficiente de correlação, de Variância e Limites de Detecção e Quantificação para os 15 HPA.

HPA	Faixa Linear (ng/mL)	Coeficiente de correlação (R^2)	Coeficiente de Variância em porcentagem (CV em %)	Limite de Detecção (ng/mL)	Limite de Quantificação (ng/mL)
Naftaleno	6,6 – 78,6	0,9982	4,49	1,2	4,0
Acenafteno	5,9 – 71,3	0,9979	5,35	0,8	2,6
Fluoreno	1,8 – 84,4	0,9998	6,73	0,3	1,0
Fenantreno	2,0 – 188,1	0,9998	2,78	0,7	2,1
Antraceno	2,6 – 20,0	0,9984	4,57	0,5	1,6
Fluoranteno	11,2 – 539,7	0,9994	3,83	1,4	4,5
Pireno	0,33-10,5	0,9991	5,66	0,08	0,26
Benzo[a]antraceno	1,2 – 59,1	0,9990	4,23	0,35	1,2
Criseno	36,1 – 281,9	0,9990	2,81	1,5	4,8
Benzo[b]fluoranteno	8,8 – 281,9	0,9953	2,66	0,74	2,4
Benzo[k]fluoranteno	5,8 – 45,0	0,9980	5,05	0,87	2,9
Benzo[a]pireno	6,4 – 25,1	0,9962	3,38	1,4	4,1
Dibenzo[a,h]antraceno	19,3 – 618,8	0,9989	3,19	1,2	3,9
Benzo[g,h,i]perileno	12,8 – 307,9	0,9998	7,98	1,1	3,5
Indeno[1,2,3-cd]pireno	13,1 – 632,0	0,9974	6,30	0,78	2,6

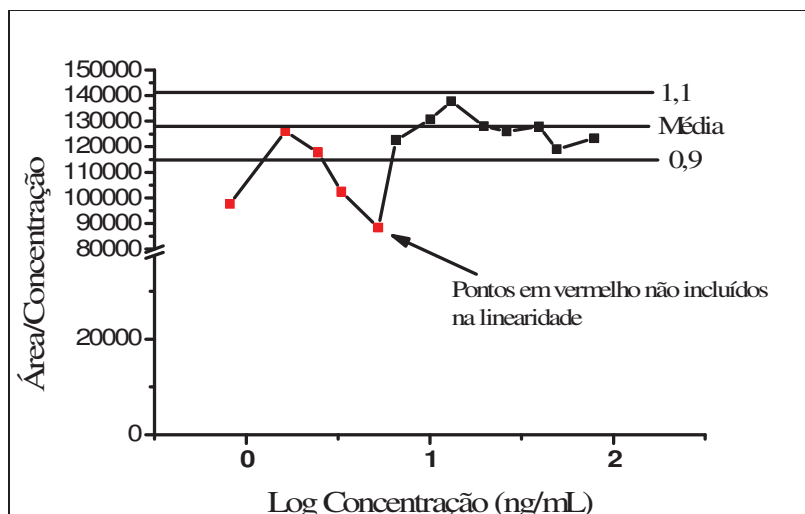


Figura 20. Gráfico de linearidade para o Naftaleno (o valor médio do fator de resposta foi determinado independente dos valores discrepantes).

A exatidão do método foi verificada extraíndo-se um Material Referência Certificado (SEM 1944), cujo cromatograma e recuperações obtidas encontram-se ilustrados na Figura 21 e Tabela 19. As recuperações variaram de 68,8 a 101,6%.

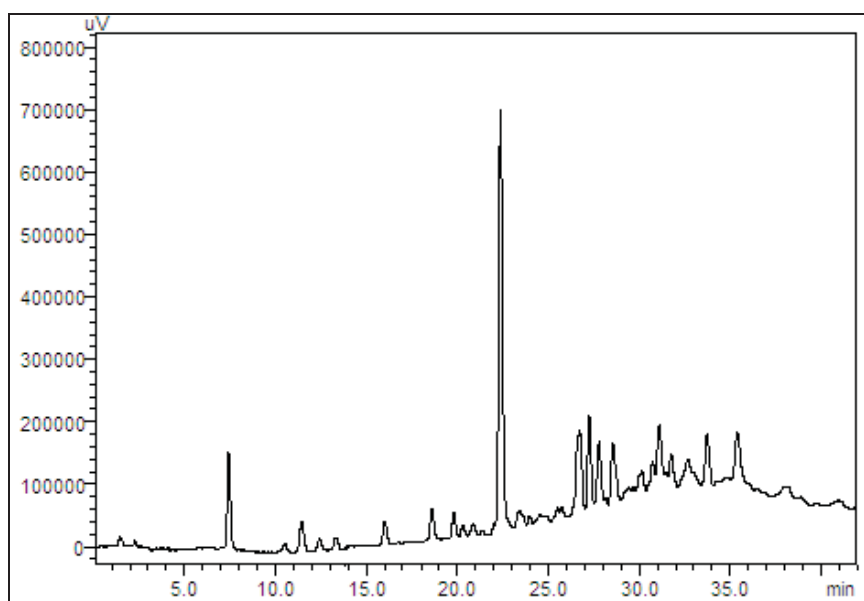


Figura 21. Cromatograma do material referência certificado para os 15 HPA de interesse empregando uma coluna cromatográfica ZORBAX Eclipse PAH 250 mm x 4,6 mm d.i. A separação dos analitos foi executada com fluxo de 1,3 mL/min da fase móvel composta de acetonitrila e água com eluição por gradiente.

Tabela 19. Comparação entre os valores de concentração dos HPA encontrados pela análise de materiais de referência certificados e os respectivos valores certificados.

HPA	Concentração de HPA (mg kg ⁻¹)		Recuperação (%)
	Amostra referência 1944		
	Valor certificado	Valor obtido*	
Naftaleno	1,65 ± 0,31	1,14 ± 0,04	68,8
Fenantreno	5,27 ± 0,22	4,46 ± 0,53	84,6
Antraceno	1,77 ± 0,33	1,70 ± 0,04	96,0
Fluoranteno	8,92 ± 0,32	8,69 ± 0,17	97,5
Pireno	9,70 ± 0,42	9,85 ± 0,18	101,6
Benzo[a]antraceno	4,72 ± 0,11	4,52 ± 0,10	95,7
Criseno	4,86 ± 0,10	4,80 ± 0,05	98,7

* Valores com desvio padrão das extrações dos HPA do Material Referência Certificado, em duplicata.

5.3 Quantificação dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos no sedimento superficial.

Nas Figuras 22 e 23 são mostrados os comportamentos do somatório da concentração total dos HPA para os pontos de coleta nos rios Preto, Turvo e Grande, nas campanhas de fevereiro e julho de 2010, enquanto na Tabela 20 são mostrados os valores individuais para a concentração dos HPA e o valor da soma total das concentrações individuais (Σ HPA). Os valores da Σ HPA na coleta de fevereiro de 2010 foram 67, 2476, 34, 118 e 319 ng g⁻¹ para os pontos NRP, CAPRP, PORTUR, RTURARG e RGRANDE, respectivamente. Na coleta de julho de 2010 os valores da Σ HPA foram 37, 867, 59, 82 e 63 ng g⁻¹ para os pontos NRP, CAPRP, PORTUR, RTURARG e RGRANDE, respectivamente.

Os maiores valores de concentrações dos HPA no ponto CAPRP em relação aos demais pontos de coleta já era esperado, isso se justifica pelo fato do ponto CAPRP estar inserido na Represa Municipal de São José do Rio Preto, a qual está localizada na região central do município.

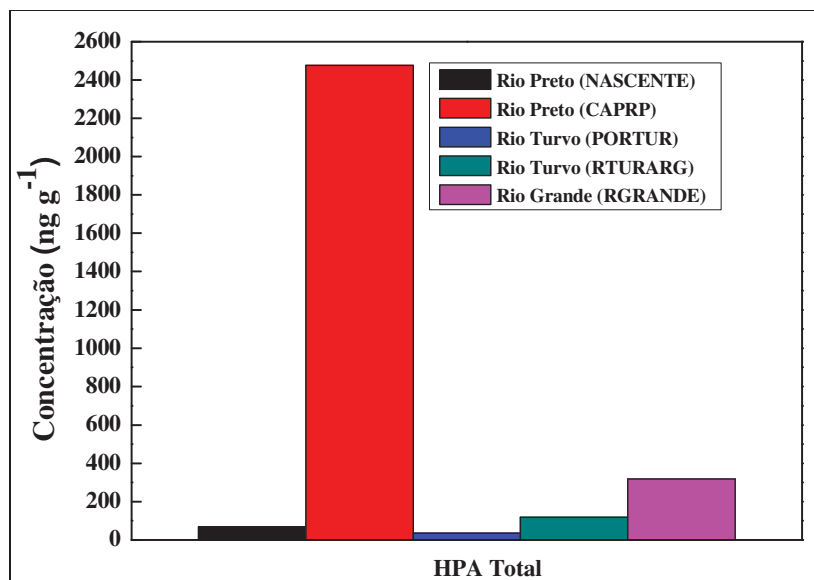


Figura 22. Valores totais da soma das concentrações individuais dos 16 HPA analisados em amostras de sedimentos superficiais coletados no Rio Preto (CAPRP e Nascente), Rio Grande (RGRANDE) e no Rio Turvo (RTURARG e PORTUR), em fevereiro de 2010.

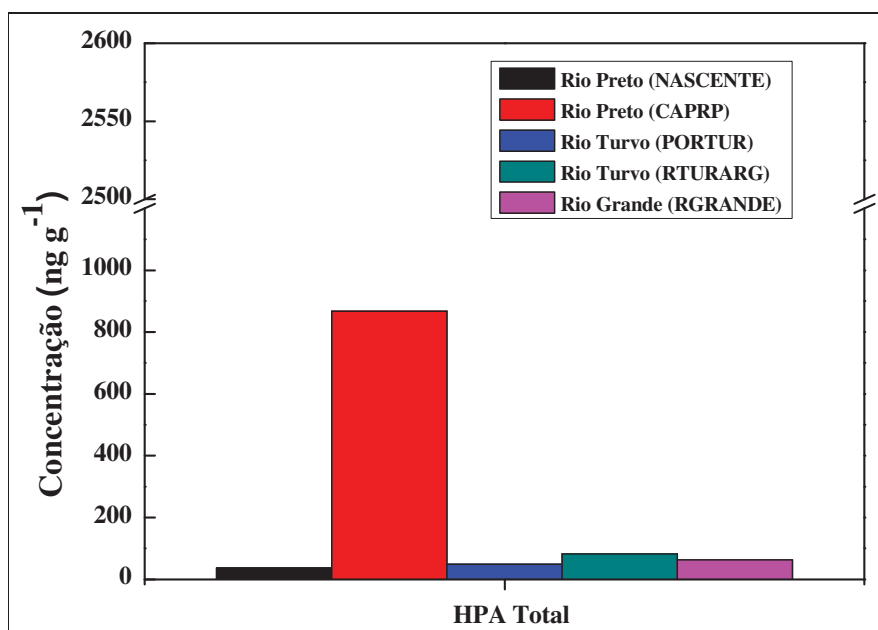


Figura 23. Valores totais da soma das concentrações individuais dos 16 HPA analisados em amostras de sedimentos superficiais coletados no Rio Preto (CAPRP e Nascente), Rio Grande (RGRANDE) e no Rio Turvo (RTURARG e PORTUR), em julho de 2010.

Na represa municipal (CAPRP), o aporte de produtos derivados de petróleo, está relacionado com o despejo de águas de limpeza provenientes de oficinas mecânicas e lava jatos (ou diretamente de produtos de derivados de petróleo), as quais podem atingir as redes de captação de água de chuva ou esgoto e chegar na Represa. Produtos derivados de petróleo contêm HPA na sua composição. A quantidade dos HPA nesses produtos derivados de petróleo está relacionada com os componentes utilizados nas suas formulações, uma vez que diferentes componentes apresentam diferentes quantidades de HPA na sua composição (Skrobonja *et alii*, 2005). Dessa maneira, e levando em consideração que o aporte de produtos derivados de petróleo por oficinas mecânicas e lava jatos constituem fontes difusas de contaminação, a contribuição por essas fontes torna-se difícil de ser determinada. O que é possível afirmar é que provavelmente, essas atividades estão contribuindo para o aporte de HPA de origem petrogênica para a represa municipal.

Efluentes domésticos também podem conter hidrocarbonetos policíclicos aromáticos provenientes de vários alimentos que são descartados diretamente na pia (Bolaños *et alii*, 2010). Óleos comestíveis, por exemplo, podem conter quantidades significativas de HPA. Pandey e colaboradores (2004) analisaram 296 amostras de óleos comestíveis e relataram que em 66 % das amostras a concentração de HPA total foi maior que $25 \mu\text{g kg}^{-1}$, sendo que a concentração máxima ($265 \mu\text{g kg}^{-1}$) para a soma das concentrações de HPA de alta massa molecular foi obtida para óleo de oliva.

O tráfego veicular no entorno do ponto CAPRP também é responsável pelo aporte de HPA na represa municipal. Diariamente, uma grande quantidade de veículos como carros, motos, ônibus e caminhões circulam nas proximidades da represa municipal. Dessa maneira, o material particulado e gases de exaustão provenientes da queima dos combustíveis fósseis nos motores desses veículos são lançados na atmosfera. Uma vez na atmosfera, os HPA associados ao material particulado ou na forma de aerossol podem alcançar a represa por meio da precipitação seca ou úmida (IPCS, 1998).

Vários trabalhos têm demonstrado que a concentração de HPA atmosférico é maior em locais próximos a centros urbanos onde ocorre tráfego veicular intenso (Masih *et alii*, 2010; Cincinelli *et alii*, 2007; Lee *et alii*, 2001). Hanedar e colaboradores (2011) determinaram a concentração atmosférica dos 16 HPA considerados prioritários pela EPA em três locais de amostragem, sendo dois deles considerados como locais urbanos, onde diariamente ocorre um tráfego veicular intenso e o terceiro considerado como área rural. O valor obtido para a soma das

concentrações dos 16 HPA analisados foram 100,7 e 84,6 para os pontos urbanizados e 25,1 ng m⁻³ para o ponto rural.

Outra fonte de HPA atmosférico na região da represa municipal pode estar relacionado à queima da cana-de-açúcar. Segundo dados fornecidos pela Prefeitura Municipal de São José do Rio Preto, em 2009, a área de cana-de-açúcar plantada (HA), a área (HA) e quantidade colhida (ton) corresponde a 5.650, 4.000 e 400.000, respectivamente (Conjuntura Econômica São José do Rio Preto, 2010). O trabalho de Andrade e colaboradores (2010) indica que no período de colheita da cana-de-açúcar, no qual ocorre a queima da palha da cana, a concentração total de HPA foi maior do que no período entre-safra, no qual não ocorre a queima da palha. A concentração média total dos HPA no período de colheita foi 11,6 ng m⁻³, enquanto no período entre-safra o valor obtido foi 2,5 ng m⁻³. Os valores individuais da concentração dos HPA também foram maiores para o período de safra do que os valores obtidos para o período entre-safra.

Os valores da Σ HPA obtidos na CAPRP podem ser comparados com valores de regiões moderadamente poluído. Shen e colaboradores (2009) obtiveram valores para soma total das concentrações dos 16 HPA considerados poluentes prioritários para monitoramento, segundo a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, na faixa de 1410 - 3900 ng g⁻¹ para os rios Liangshui e Fenggangjian, que ficam localizados na região de Tiagin, próxima a Pequim, China. No entorno dos rios observa-se áreas residenciais e agrícolas e atividades industriais.

O ponto CAPRP, como citado anteriormente, está sujeito à contaminação antrópica, enquanto os demais pontos de coleta estão localizados em regiões rurais, nas quais ocorre o predomínio do cultivo de cana-de-açúcar. Dessa maneira, as fontes de contaminação de HPA para os pontos NRP, PORTUR, RTURARG e RGRANDE, podem estar relacionadas com a prática de queima da palha da cana-de-açúcar.

Tabela 20. Valores de concentração individual e concentração total dos HPA analisados neste trabalho nos sedimentos superficiais dos pontos NRP, CAPRP, PORTUR, RTURARG e RGRANDE, para as campanhas de Fevereiro e Julho de 2010.

HPA	NRP Fev 2010	NRP Jul 2010	CAPRP Fev 2010	CAPRP Jul 2010	PORTUR Fev 2010	PORTUR Jul 2010	RTURARG Fev 2010	RTURARG Jul 2010	RGRANDE Fev 2010	RGRANDE Jul 2010
Concentração HPA (ng g⁻¹)										
Naft	14,3	8,0	441,5	27,6	1,3	2,5	19,6	10,7	63,2	10,7
Acena	1,0	0,5	5,5	1,7	1,2	1,9	1,2	0,3	2,1	0,6
Fluo	3,2	1,8	16,8	8,8	1,4	3,2	2,8	2,6	10,1	2,7
Fenan	4,6	2,6	107,2	31,5	3,2	5,7	3,6	9,7	57,4	11,0
Ant	0,3	0,1	11,0	2,6	0,3	0,8	0,2	0,6	6,8	1,1
Fluoran	10,1	5,6	450,6	222,7	9,2	14,9	6,9	24,4	97,0	26,1
Pir	4,4	2,4	88,4	44,8	0,5	1,2	5,6	8,5	41,4	9,0
Benz (a)ant	0,4	0,2	10,7	9,7	1,0	1,6	0,4	1,0	4,5	0,5
Cris	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
Benz(b)fluo	8,7	4,8	530,0	348,8	4,8	8,5	3,5	5,1	18,2	0,3
Benz(k)fluo	0,5	0,3	54,7	56,3	0,8	1,6	1,7	0,6	1,5	0,4
Benz(a)pir	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
Dibenz(a,b)ant	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
Benz(g,h,i)per	19,1	10,6	759,6	112,2	10,6	17,6	72,1	60,1	16,4	1,0
Inden (1,2,3-cd) pir	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
□HPA	67,0	37,0	2476,0	867,0	34,0	59,5	118,0	124,0	319,0	63,0

As Figuras 24 e 25, ilustram o perfil de concentração individual para os HPA no sedimento superficial. Observa-se claramente que os maiores valores de concentração de HPA foram obtidos no ponto CAPRP, localizado no Rio Preto. Considerando a sazonalidade, neste mesmo ponto, os maiores valores de concentrações foram obtidos no período de chuva (coleta fevereiro 2010), destacando-se as concentrações de Naftaleno (441 ng g^{-1}), Fenantreno (107 ng g^{-1}), Fluoranteno (451 ng g^{-1}) e Benzo(g,h,i)perileno (760 ng g^{-1}). No período de seca (coleta julho 2010) para o ponto CAPRP destacam-se as concentrações de Naftaleno (28 ng g^{-1}), Fenantreno (31 ng g^{-1}), Fluoranteno (223 ng g^{-1}), Benzo(b)fluoranteno (349 ng g^{-1}) e Benzo(g,h,i)perileno (113 ng g^{-1}). Os maiores valores de concentrações dos HPA no ponto CAPRP em relação aos demais pontos de coleta já era esperado, isso se justifica pelo fato do ponto CAPRP estar inserido na Represa Municipal de São José do Rio Preto, a qual está localizada na região central do município (prováveis fontes já discutidas acima). Ainda que no ponto CAPRP, as concentrações de HPA tenham sido superiores do que todos os outros pontos de coleta, importantes diferenças foram observadas nos pontos RTURARG e PORTUR, as quais devem ser destacadas. Como mostra as Figuras 24 e 25 é possível observar que para alguns HPA, os valores obtidos são maiores no ponto RTURARG do que no ponto PORTUR. Para a coleta de fevereiro de 2010 os HPA que tiveram esse comportamento foram o naftaleno, fluoreno, fenantreno, pireno, benzo(k)fluoranteno e benzo(g,h,i)perileno, enquanto que na coleta de julho de 2010 foram naftaleno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno e benzo(g,h,i)perileno. Para o ponto RTURARG da coleta de Fevereiro de 2010, as concentrações que se destacaram foram as de naftaleno ($19,6 \text{ ng g}^{-1}$), fluoranteno ($6,9 \text{ ng g}^{-1}$), pireno ($5,6 \text{ ng g}^{-1}$) e benz(g,h,i)perileno ($72,1 \text{ ng g}^{-1}$). Já na coleta de Julho de 2010, as maiores concentrações de HPA foram obtidas para naftaleno ($10,7 \text{ ng g}^{-1}$), fenantreno ($9,7 \text{ ng g}^{-1}$), fluoranteno ($24,4 \text{ ng g}^{-1}$) e benzo(g,h,i)perileno ($60,1 \text{ ng g}^{-1}$).

Já o ponto RGRANDE, o qual fica a montante do ponto RTURARG, os valores de concentrações dos HPA foram de forma geral superiores a todos os pontos estudados, com exceção do ponto CAPRP, sendo que este comportamento foi mais acentuado na coleta de fevereiro de 2010. Para as duas campanhas (fevereiro de 2010 e julho 2010), destacaram-se as concentrações de Naftaleno, Fenantreno, Fluoranteno e Pireno (Tabela 20).

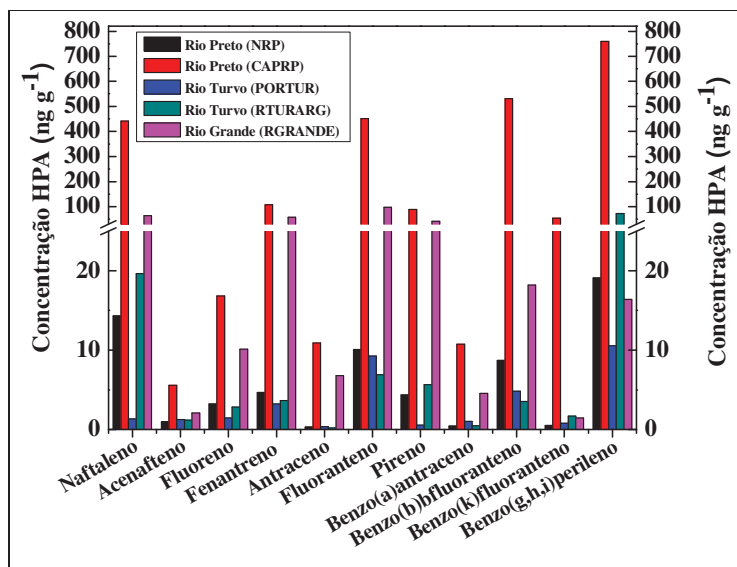


Figura 24. Concentração individual dos HPA em amostras de sedimento superficiais coletados no Rio Preto (CAPRP e Nascente), Rio Grande (RGRANDE) e no Rio Turvo (RTURARG e PORTUR), em fevereiro de 2010.

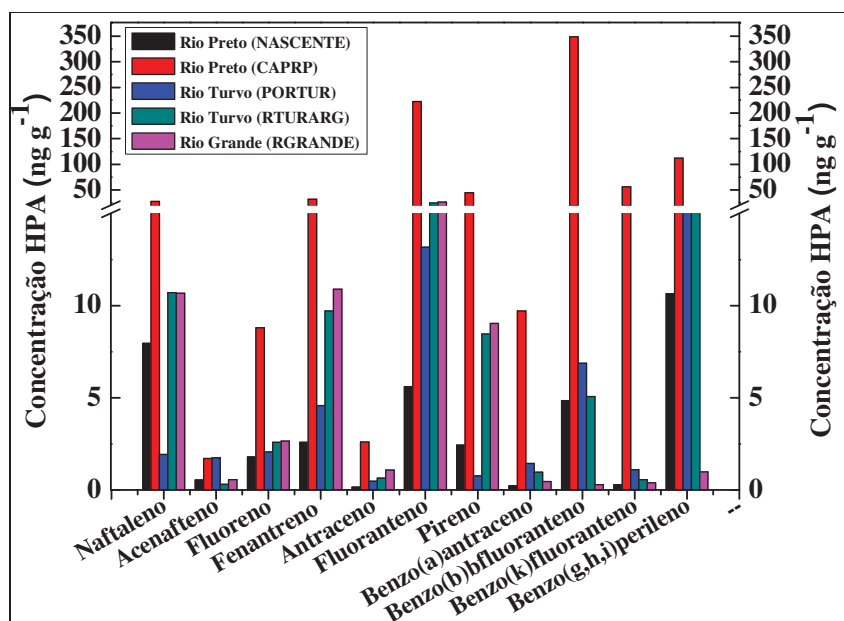


Figura 25. Concentração individual dos HPA em amostras de sedimento superficiais coletados no Rio Preto (CAPRP e Nascente), Rio Grande (RGRANDE) e no Rio Turvo (RTURARG e PORTUR), em julho de 2010.

As Figuras 26 e 27 ilustram a soma das concentrações dos HPA de 2-3 anéis aromáticos e 4-5 anéis aromáticos para as coletas de Fevereiro e Julho de 2010, respectivamente. Os HPA de 2-3 anéis aromáticos são característicos de fonte petrogênicas, enquanto os HPA de 4-5 anéis aromáticos são atribuídos principalmente a fontes pirogênicas (Wang *et alii*, 2010; Masih *et alii*, 2010). No ponto CAPRP para as coletas de Fevereiro e Julho de 2010, observa-se a predominância dos HPA de 4-5 anéis aromáticos, indicando origem pirogênica para os HPA no sedimento. Para os pontos RGRANDE e RTURARG para as coletas de Fevereiro e Julho de 2010, os HPA de 2-3 anéis aromáticos são mais abundantes em relação aos HPA de 4-5 anéis aromáticos, indicando que fontes petrogênicas são responsáveis pelo aporte de HPA nesses corpos aquáticos. Para os pontos PORTUR e NRP das campanhas de Fevereiro e Julho de 2010, não foi observada diferença significativa entre as somas das concentrações dos HPA de 2-3 e 4-5 anéis aromáticos.

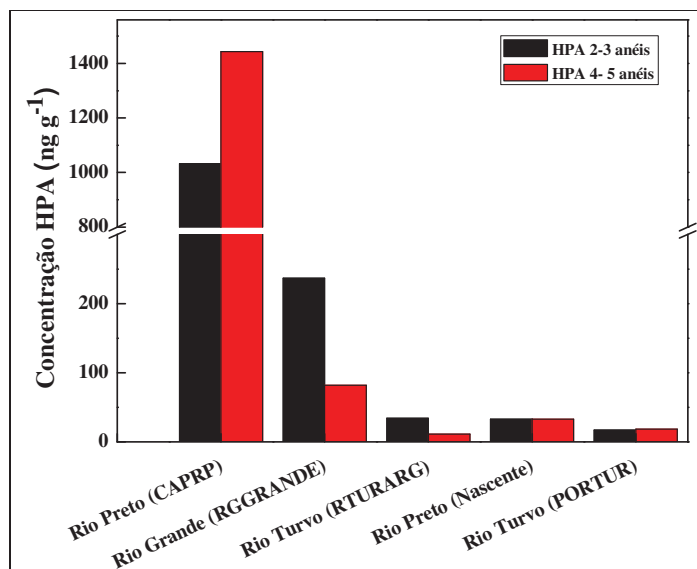


Figura 26. Valores da soma das concentrações individuais dos HPA de 2-3 e de 4-5 anéis aromáticos analisados em amostras de sedimentos superficiais coletados no Rio Preto (CAPRP e Nascente), Rio Grande (RGRANDE) e no Rio Turvo (RTURARG e PORTUR), em fevereiro de 2010.

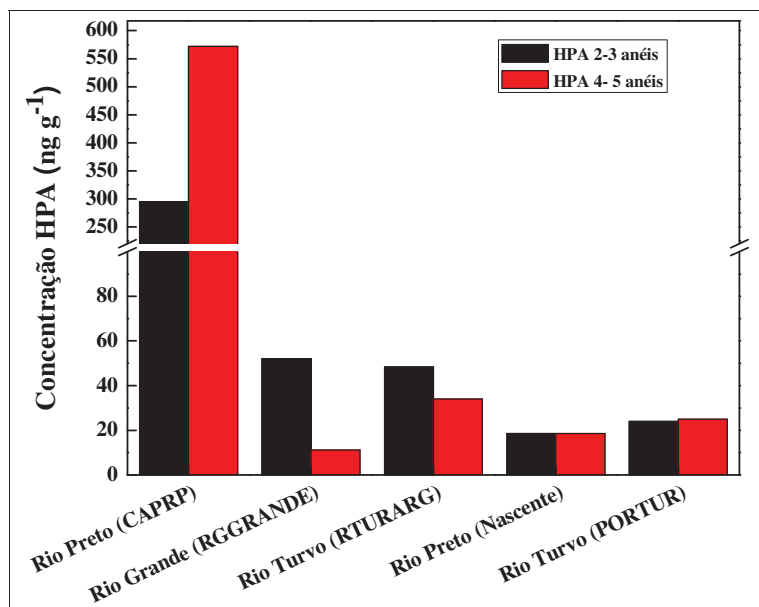


Figura 27. Valores da soma das concentrações individuais dos HPA de 2-3 e de 4-5 anéis aromáticos analisados em amostras de sedimentos superficiais coletados no Rio Preto (CAPRP e Nascente), Rio Grande (RGRANDE) e no Rio Turvo (RTURARG e PORTUR), em julho de 2010.

5.4. Quantificação dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em amostras de perfil de sedimento.

A Figura 28 ilustra os gráficos de perfil da concentração total em ng g^{-1} dos HPA ($\square$ HPA) em testemunhos de sedimentos para os pontos CAPRP, RTURARG e RGRANDE nas coletas de fevereiro e julho de 2010, enquanto as Figuras 29 – 36 ilustram o perfil de concentração individual dos HPA. Os valores da $\square$ HPA no ponto CAPRP em fevereiro e julho de 2010 variaram de 1020 - 2476 ng g^{-1} e 94 - 1460 ng g^{-1} , respectivamente.

As concentrações dos HPA ao longo do perfil de sedimento apresentaram comportamentos semelhantes. Em geral, houve uma redução das concentrações ao longo do perfil para os pontos CAPRP e RGRANDE para a coleta de fevereiro de 2010 e para o ponto CAPRP na coleta de julho de 2010. Entretanto, observa-se que o ponto RTURARG para a coleta de fevereiro de 2010 e os pontos RGRANDE e RTURARG para coleta de julho de 2010 foi observado aumento da concentração para as primeiras frações de aproximadamente 100 para 400 ng g^{-1} de sedimento e posteriormente apresentou tendência de redução da concentração.

Para o ponto CAPRP, a tendência observada ao longo do testemunho foi a diminuição da concentração total dos HPA com o aumento da profundidade. Na coleta de fevereiro de 2010, vários valores de concentração se destacaram ao longo do perfil para CAPRP, enquanto que na coleta de

julho de 2010 na profundidade entre 21-24 cm foi observado o maior valor de concentração total de HPA no testemunho.

No ponto RGRANDE da coleta de fevereiro de 2010, a concentração total de HPA foi diminuindo com o aumento da profundidade, com um pico de concentração na seção de 12-15 cm. Já na coleta de julho de 2010, não foi observado uma tendência bem definida ao longo do testemunho de sedimento. Os maiores valores da Σ HPA foram obtidos nas seções 09-12 cm (180 ng g⁻¹) e 12-15 cm (294 ng g⁻¹).

Para o ponto RTURARG, na coleta de fevereiro de 2010, destacaram-se as concentrações entre as seções 15-18 a 24-27, onde os maiores valores foram obtidos ao longo do testemunho. Na coleta de julho de 2010 ocorreu o aumento da Σ HPA com o aumento da profundidade no testemunho, com um pico de concentração na seção 27-30 cm, o qual corresponde ao maior valor de concentração no sedimento (365 ng g⁻¹).

Este comportamento, principalmente para o ponto CAPRP, o qual apresentou concentrações superiores a 1000 ng g⁻¹ nas frações superiores, fica evidente que a partir de um determinado momento ele passou a sofrer aporte de HPA originado de fontes antrópicas. Este ponto está inserido no reservatório de água para abastecimento público da cidade de SJRP (Represa Municipal de São José do Rio Preto), que fica localizado na parte central do município. As enxurradas urbanas também podem ser consideradas como fontes de contaminantes para a represa municipal. A parte central do município de SJRP conta com poucos pontos de drenagem de água superficial e como a represa está localizada em um ponto baixo da cidade, em eventos de precipitação intensa, esse reservatório funciona como receptor de águas de enxurradas.

Os gráficos das Figuras 29 - 36 ilustram o perfil de concentração dos HPA individuais para os pontos CAPRP, RTURARG e RGRANDE, enquanto as Figuras 37, 38 e 39, ilustram os gráficos da abundância relativa de cada HPA ao longo do perfil de sedimento, para os pontos CAPRP, RGRANDE e RTURARG, respectivamente. Para o ponto CAPRP na coleta de Fevereiro de 2010, os HPA mais abundantes no testemunho de sedimentos foram naftaleno (16 %), fluoranteno, (26 %), benzo(b)fluoranteno (14 %) e benzo(g,h,i)perileno (29 %). Na coleta de Julho de 2010, para o ponto CAPRP, os HPA que se destacaram no testemunho de sedimento foram fluoranteno (27 %), benzo(b)fluoranteno (19 %) e benzo(g,h,i)perileno (31 %).

Para o ponto RGRANDE na coleta de Fevereiro de 2010, os HPA presentes em maior abundância foram naftaleno (24 %), fenantreno (11 %), fluoranteno (35 %) e pireno (13 %), enquanto que na coleta de julho de 2010 os HPA que mais contribuíram para a concentração total no testemunho de sedimento foram naftaleno (19 %), fenantreno (13 %) e fluoranteno (37 %).

Para o ponto RTURARG, os HPA mais abundantes para as campanhas de Fevereiro e Julho de 2010, foram naftaleno, fluoranteno e benzo(g,h,i)perileno. Na coleta de Fevereiro de 2010, naftaleno, fluoranteno e benzo(g,h,i)perileno contribuíram com 12%, 28 % e 47 %, respectivamente, enquanto na coleta de Julho de 2010, eles representam 12 %, 15 % e 53 %, respectivamente, para o total de HPA no testemunho de sedimento.

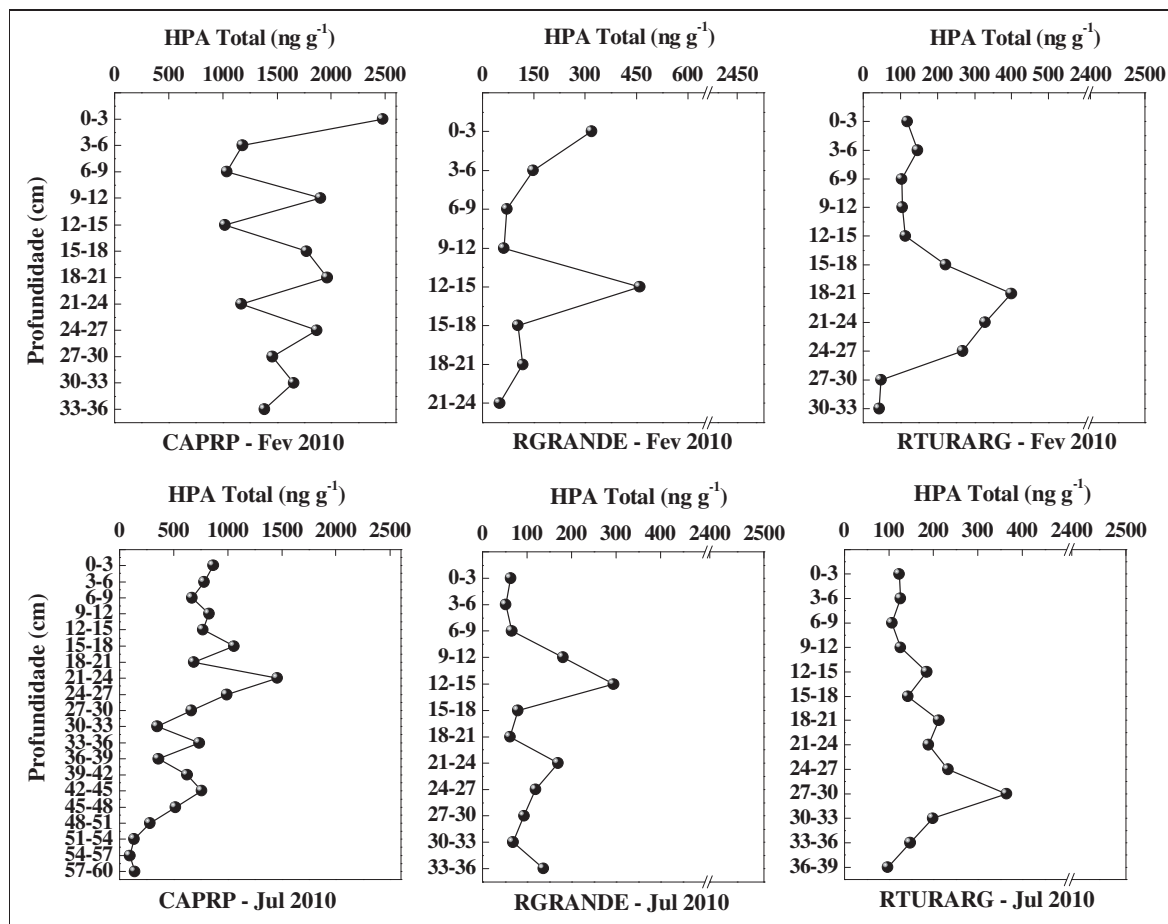


Figura 28. Perfil da concentração total (□HPA) nos testemunhos de sedimento dos pontos CAPRP, RGRANDE e RTURARG para as campanhas de fevereiro de 2010 e julho de 2010.

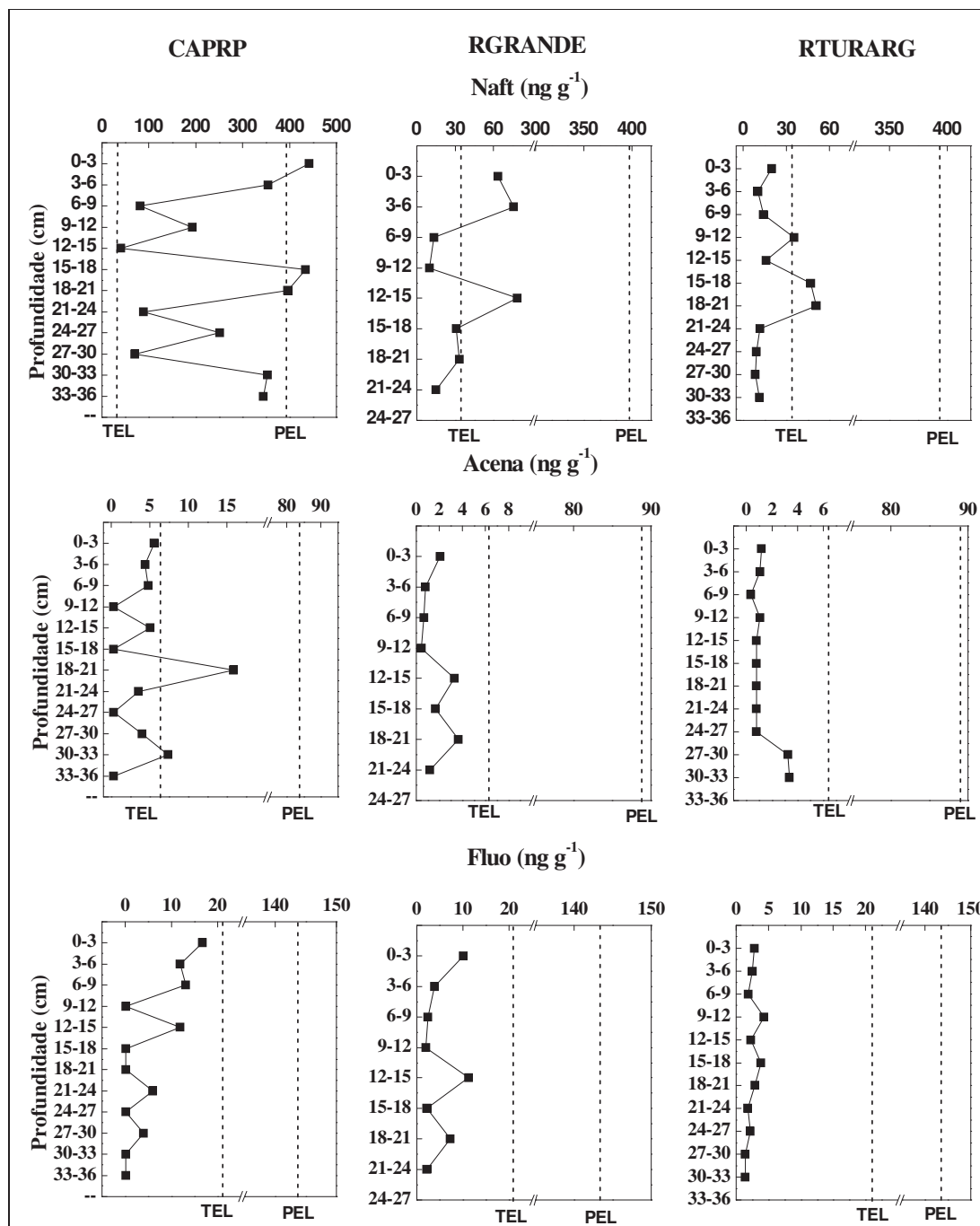


Figura 29. Perfis de concentração para Naftaleno, Acenafeno e Fluoreno em testemunhos de sedimento coletados no Rio Preto (CAPRP), Rio Turvo (RTURARG) e Rio Grande (RGRANDE) em fevereiro de 2010.

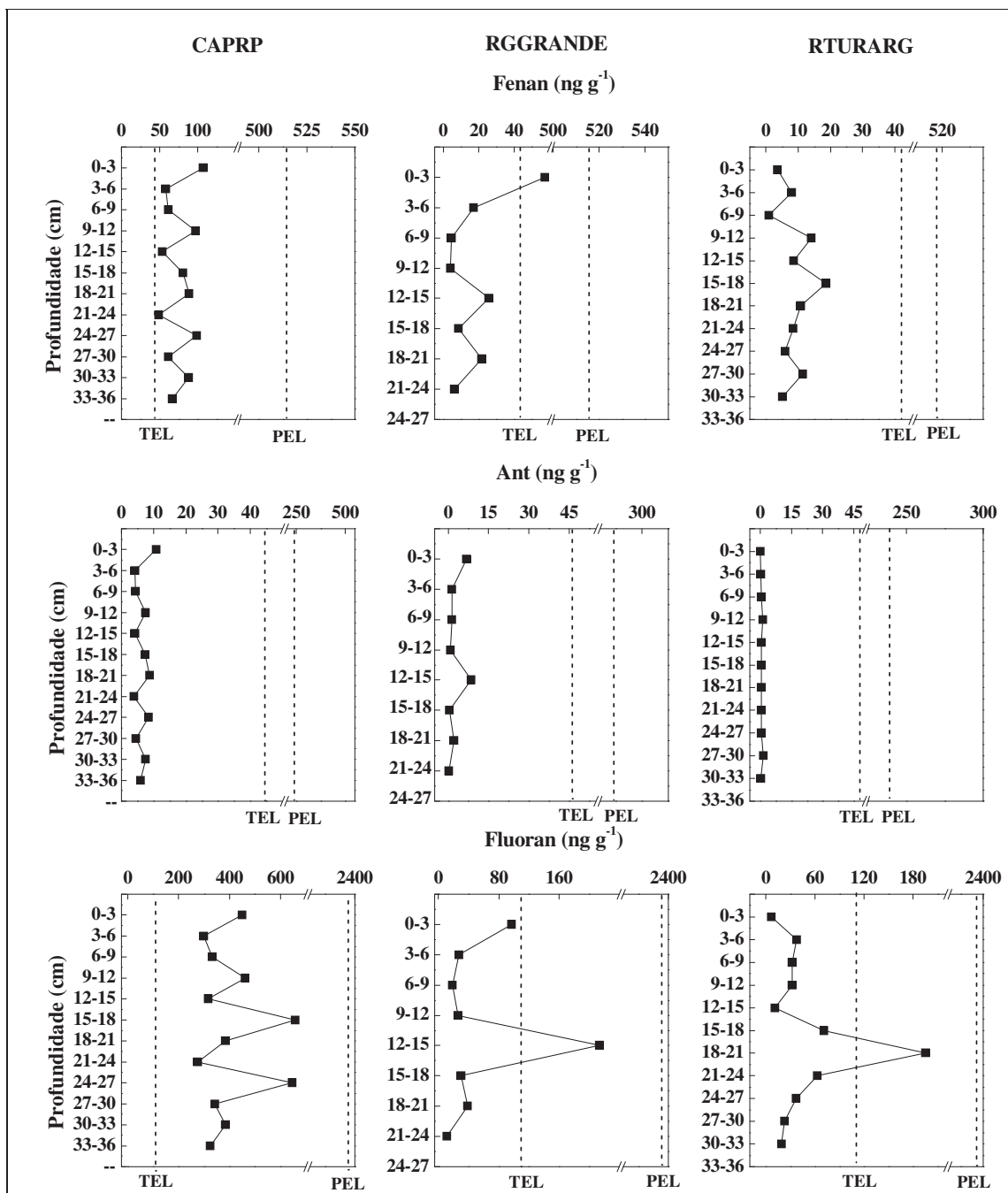


Figura 30. Perfis de concentração para Fenantreno, Antraceno e Fluoranteno em testemunhos de sedimento coletados no Rio Preto (CAPRP), Rio Turvo (RTURARG) e Rio Grande (RGRANDE) em fevereiro de 2010.

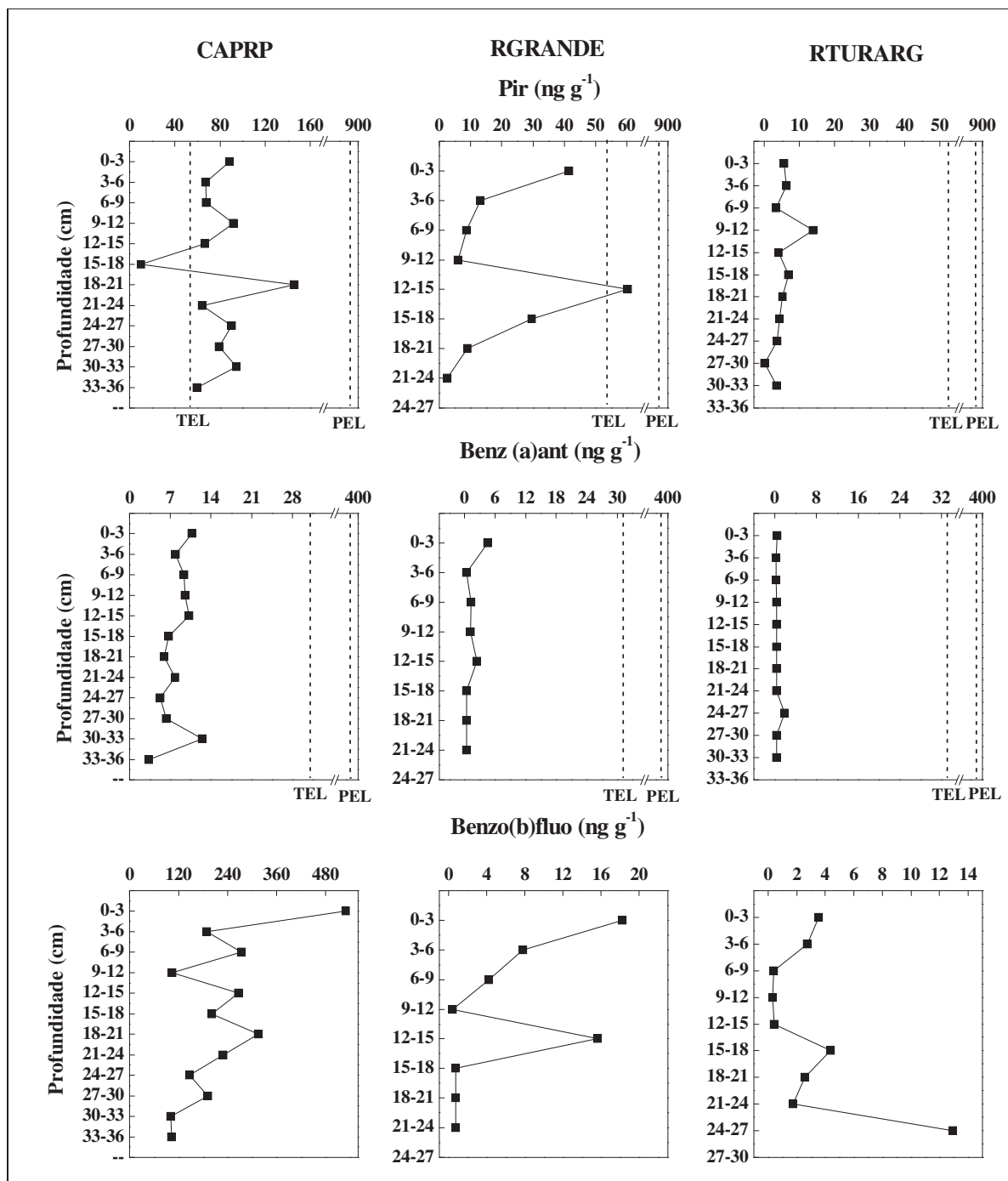


Figura 31. Perfis de concentração para Pireno, Benzo(a)antraceno e Benzo(b)fluoranteno em testemunhos de sedimento coletados no Rio Preto (CAPRP), Rio Turvo (RTURARG) e Rio Grande (RGRANDE) em fevereiro de 2010.

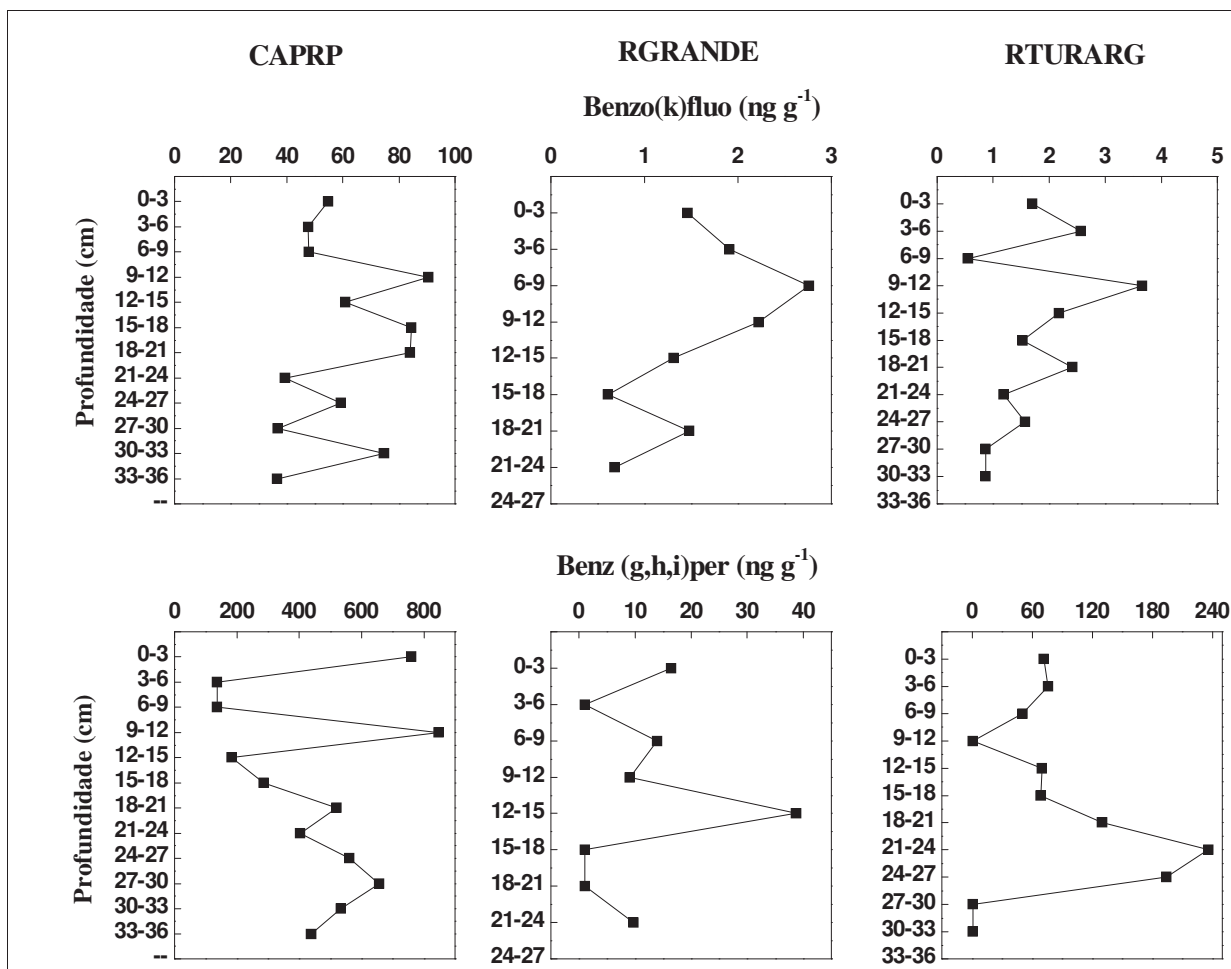


Figura 32. Perfis de concentração para Benzo(k)fluoranteno e Benzo(g,h,i)perileno em testemunhos de sedimento coletados no Rio Preto (CAPRP), Rio Turvo (RTURARG) e Rio Grande (RGRANDE) em fevereiro de 2010.

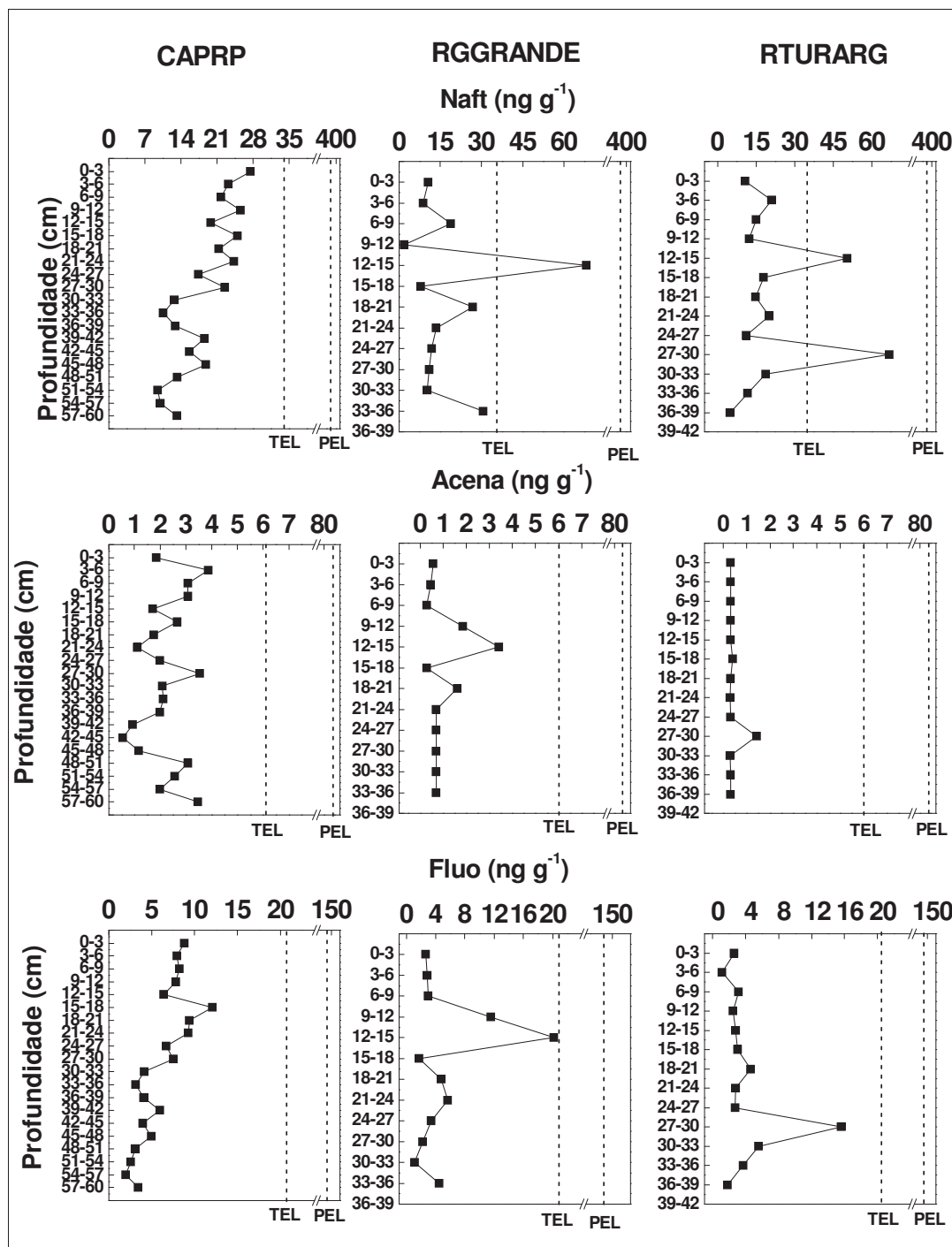


Figura 33. Perfis de concentração para Naftaleno, Acenafteno e Fluoreno em testemunhos de sedimento coletados no Rio Preto (CAPRP), Rio Turvo (RTURARG) e Rio Grande (RGRANDE) em julho de 2010.

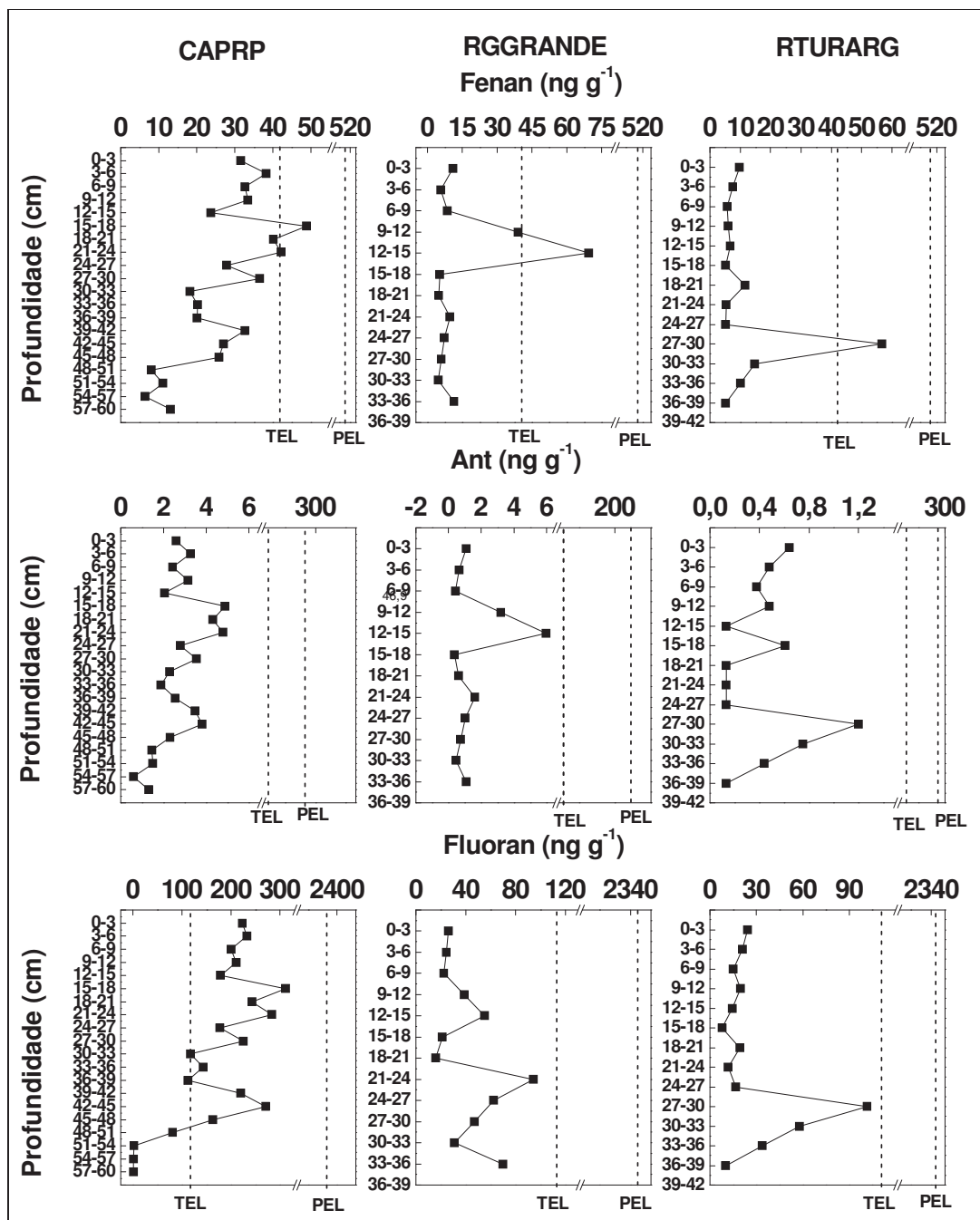


Figura 34. Perfis de concentração para Fenantreno, Antraceno e Fluoranteno em testemunhos de sedimento coletados no Rio Preto (CAPRP), Rio Turvo (RTURARG) e Rio Grande (RGRANDE) em julho de 2010.

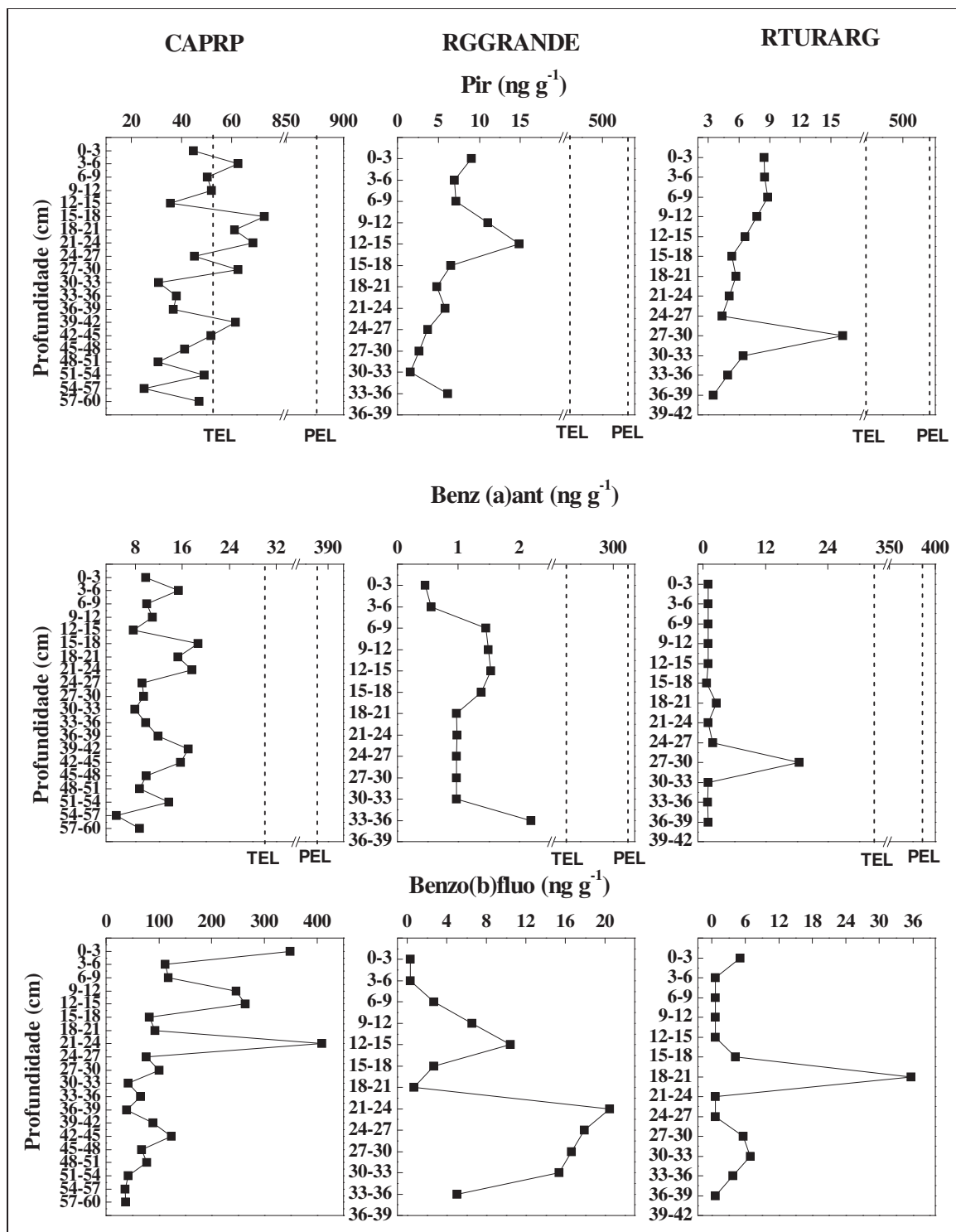


Figura 35. Perfis de concentração para Pireno, Benzo(a)antraceno e Benzo(b)fluoranteno em testemunhos de sedimento coletados no Rio Preto (CAPRP), Rio Turvo (RTURARG) e Rio Grande (RGRANDE) em julho de 2010.

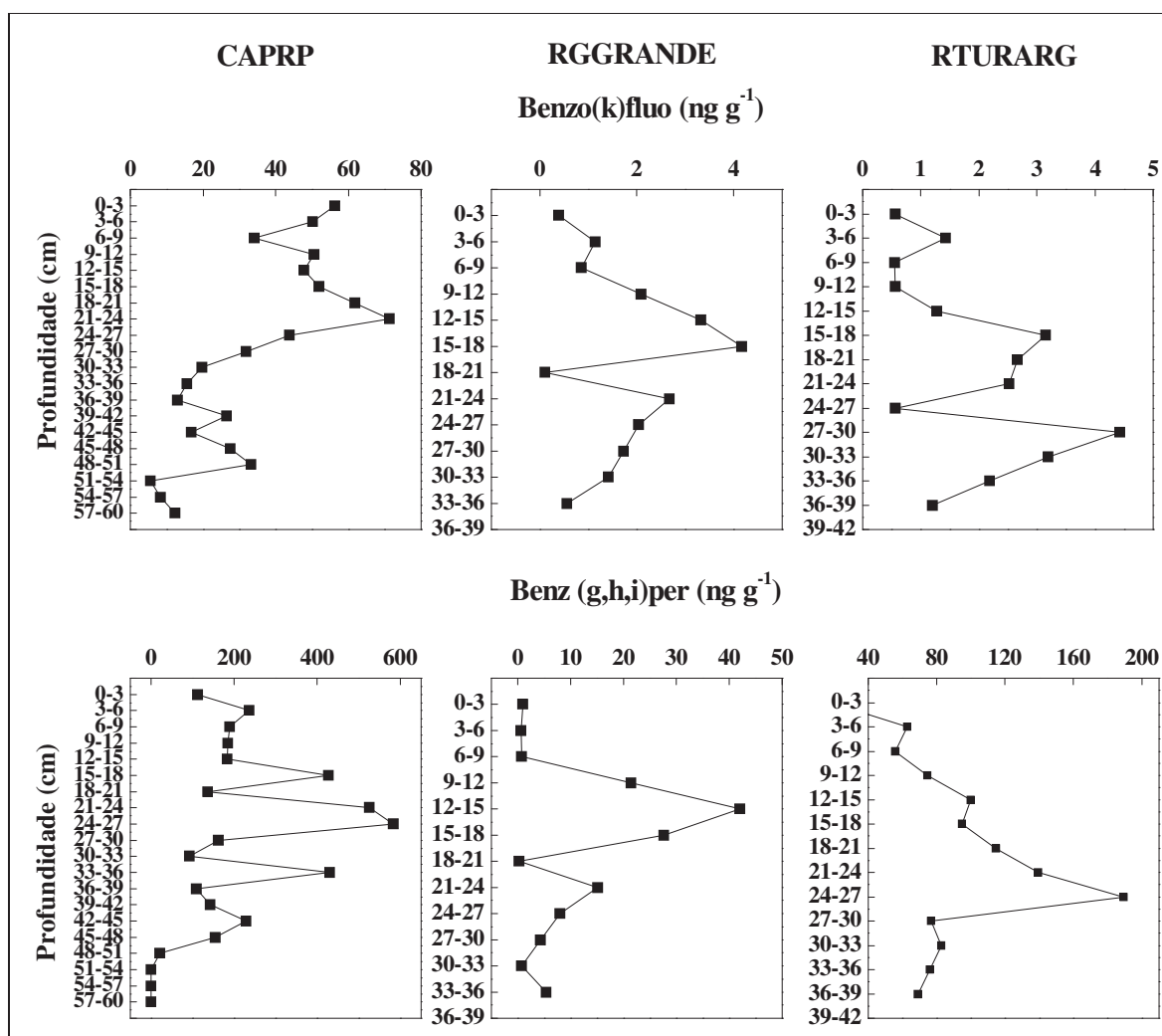


Figura 36. Perfis de concentração para Benzo(k)fluoranteno e Benzo(g,h,i)perileno em testemunhos de sedimento coletados no Rio Preto (CAPRP), Rio Turvo (RTURARG) e Rio Grande (RGRANDE) em julho de 2010.

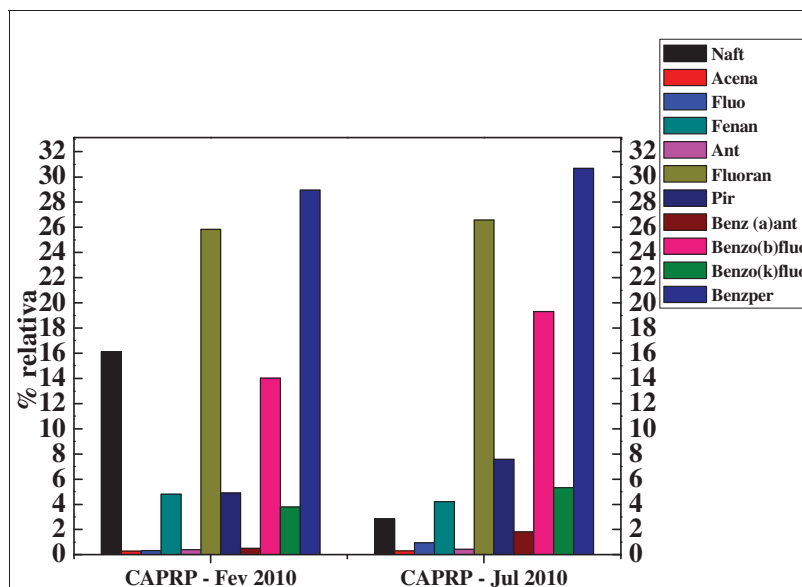


Figura 37. Porcentagem relativa dos HPA no testemunho de sedimento no ponto CAPRP, para as coletas de fevereiro e julho de 2010.

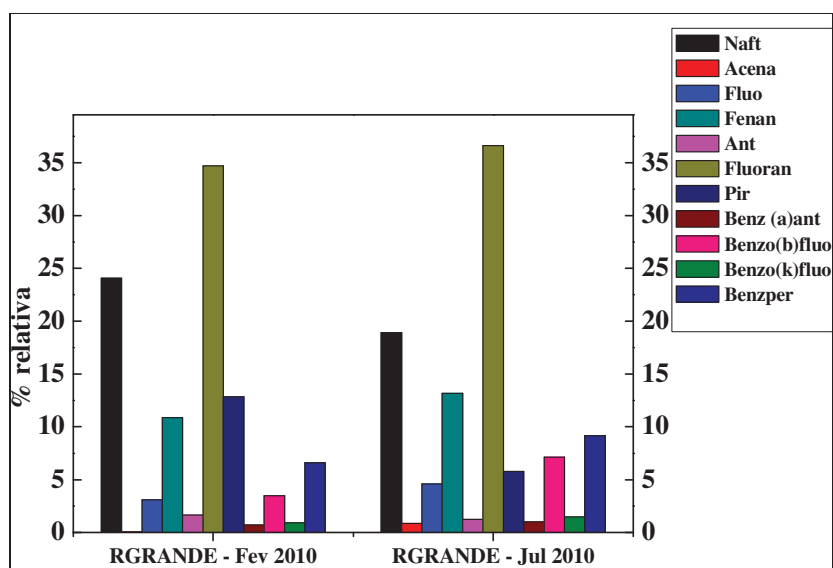


Figura 38. Porcentagem relativa dos HPA no testemunho de sedimento no ponto RGRANDE, para as coletas de fevereiro e julho de 2010.

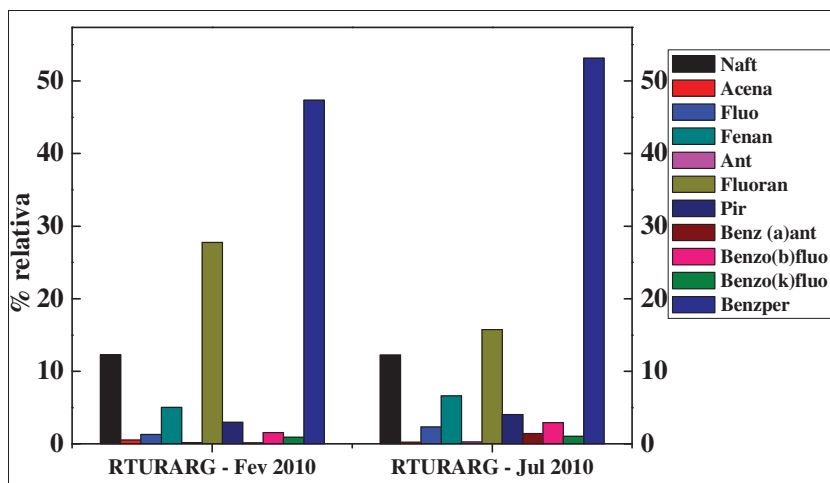


Figura 39. Porcentagem relativa dos HPA no testemunho de sedimento no ponto RTURARG, para as coletas de fevereiro e julho de 2010.

5.5 Uso de razões diagnósticas entre os HPA para identificação das fontes.

Para avaliar quais as possíveis fontes de HPA para os ambientes aquáticos estudados neste trabalho, foram aplicadas razões entre concentrações de HPA isômeros. As razões utilizadas foram Fenantreno/Antraceno (Fenan/Ant), Fluoranteno/Pireno (Fluoran/Pir) e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno (Fluoran/Fluoran + Pir) (Budzinski *et alii*, 1997; Yunker e Macdonald, 2009; Gogou *et alii*; Soclo *et alii*, 2000). A Tabela 21 mostra os valores das razões entre as concentrações de HPA nos sedimentos superficiais das coletas de fevereiro e julho de 2010, bem como os valores das razões diagnósticas utilizadas para interpretar a origem dos HPA.

Tabela 21. Valores diagnósticos para interpretação da fonte de HPA para os pontos de coleta NRP, CAPRP, PORTUR, RTURARG e RGRANDE das campanhas de fevereiro e julho de 2010.

	^(b) Razão Fenan/Ant	^(b) Fluoran/Pir	^(a) Fluoran/Fluoran + Pir
Interpretação			> 0,5 Combustão de carvão
			> 0,4 e <0,5 Combustão de petróleo
	< 10 Pirolítica	> 1 Pirolítica	
	> 10 Petrogênica	< 1 Petrogênica	< 0,4 Petrogênica
Ponto Coleta			
NRP - Fev 2010	17,10	2,30	0,70
CAPRP – Fev 2010	9,80	5,10	0,80
PORTUR - Fev 2010	9,40	17,13	0,94
RTURARG – Fev 2010	20,87	1,22	0,55
RGRANDE – Fev 2010	8,45	2,34	0,70
NRP - Jul 2010	17,08	2,30	0,70
CAPRP – Jul 2010	12,13	4,97	0,83
PORTUR - Jul 2010	7,13	12,42	0,93
RTURARG – Jul 2010	15,16	2,89	0,74
RGRANDE – Jul 2010	10,08	2,89	0,74

(a) - Budzinski *et alii*, 1997; Yunker e Macdonald, 2009

(b) - Gogou *et alii*; Soclo *et alii*, 2000

Para as amostras de sedimento superficial dos pontos NRP e RTURARG da campanha de fevereiro de 2010 e dos pontos NRP, CAPRP e RTURARG da campanha de julho de 2010, a razão Fenan/Ant, indica que a fonte dos HPA é de origem petrogênica. Para os demais pontos de coleta das campanhas de fevereiro de 2010 e julho de 2010, os valores dessas razões estão muito próximos dos valores que definem a origem dos HPA, dificultando a interpretação. Porém, utilizando as razões Fluoran/Pir e Fluoran/Fluoran + Pir os valores obtidos indicam que as origens dos HPA são de fontes pirogênicas.

Na tentativa de melhor esclarecer as origens dos HPA dos sedimentos superficiais, foi plotado um gráfico com os valores das razões entre as concentrações dos HPA. As Figuras 40 e 41 mostram o cruzamento entre as razões Fenan/Ant x Fluoran/Pir e Ant/Ant + Fenan x Fluoran/Fluoran + Pir, respectivamente, para as amostras de sedimento superficial das campanhas de fevereiro e julho de 2010. Na Figura 40, é possível observar que para os HPA nos sedimentos dos pontos de coleta RTURARG (coletas fevereiro e julho 2010), NRP (julho 2010) e CAPRP (julho 2010) a origem é de fontes mistas (pirogênica e petrogênica). Para os pontos RGRANDE (fevereiro de 2010) e PORTUR (fevereiro e julho de 2010), pela visualização gráfica, é possível verificar que a origem dos HPA nesses pontos é pirolítica. Para os demais pontos de coleta ficou

dificultada a interpretação da fonte, pois os resultados dos cruzamentos das razões entre os HPA ficaram em regiões muito próximas a linha limite que separa entre fontes mistas ou fontes pirogênicas, como pode ser observado no gráfico.

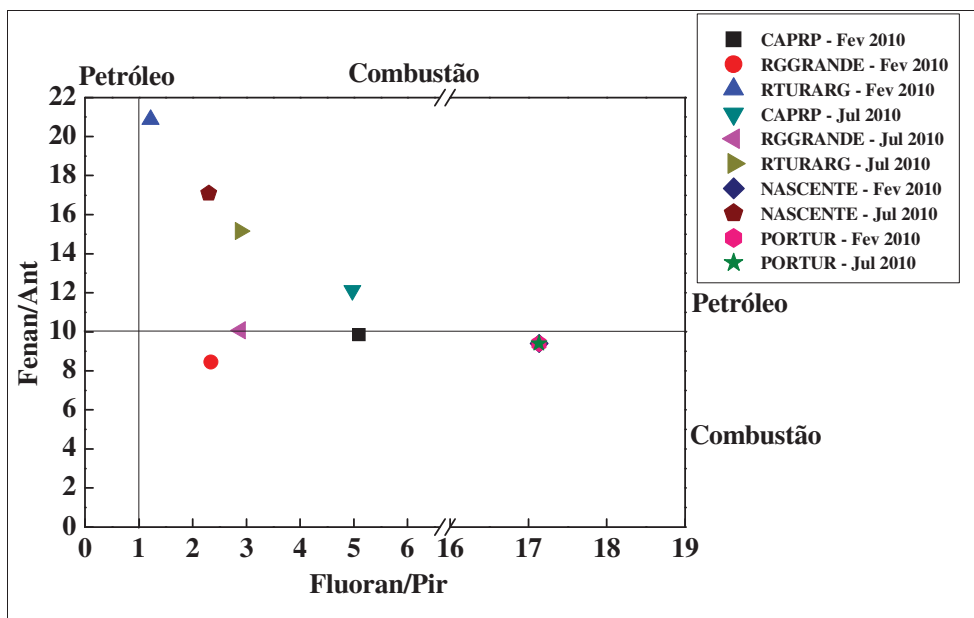


Figura 40. Cruzamento dos valores das razões Fenantreno/Antraceno e Fluoranteno/Pireno para estimar a fonte dos HPA nos sedimentos superficiais coletados no Rio Preto (CAPRP e Nascente), Rio Grande (RGRANDE) e no Rio Turvo (RTURARG e PORTUR), em fevereiro e julho de 2010.

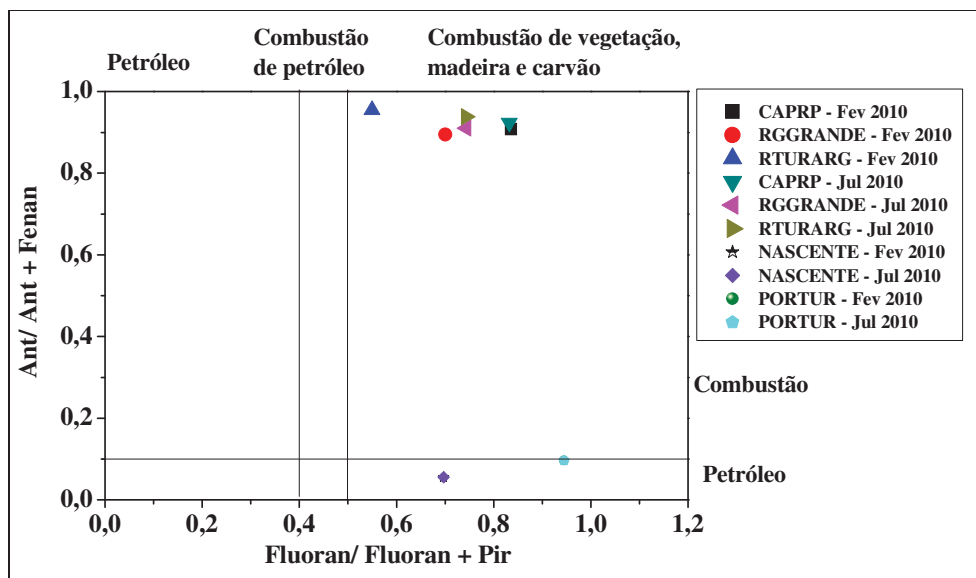


Figura 41. Cruzamento dos valores das razões Antraceno/Antraceno + Fenantreno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno para estimar a fonte dos HPA nos sedimentos superficiais coletados no Rio Preto (CAPRP e Nascente), Rio Grande (RGRANDE) e no Rio Turvo (RTURARG e PORTUR), em fevereiro e julho de 2010.

Com base no gráfico resultante do cruzamento entre as razões $\text{Ant}/\text{Ant} + \text{Fenan}$ x $\text{Fluoranteno}/\text{Fluoranteno} + \text{Pir}$, para os pontos NRP (Fev 2010 e Jul 2010) e PORTUR (Fev 2010 e Jul 2010), as fontes de HPA nos sedimentos desses locais é de origem petrogênica. A origem dos HPA dos pontos de coleta CAPRP (Fev e Jul 2010), RGRANDE (Fev e Jul 2010) e RTURARG (Fev e Jul 2010), como ilustrado no gráfico da Figura 41, são de origem pirolítica.

Para o ponto CAPRP, na coleta de Fevereiro de 2010, os índices moleculares utilizados para estimar a fonte indicam que os HPA são de origem pirolítica. Esta afirmação é reforçada pelo fato dos HPA de 4-5 anéis serem predominantes no sedimento desse local de amostragem, os quais são característicos de fontes pirogênicas. A queima de biomassa contribui com a introdução de HPA nesse corpo aquático, como é demonstrado pelo gráfico resultante do cruzamento entre as razões $\text{Ant}/\text{Ant} + \text{Fenan}$ x $\text{Fluoranteno}/\text{Fluoranteno} + \text{Pir}$. A queima de biomassa na região estudada está relacionada com a queima da palha da cana-de-açúcar, uma prática que é muito utilizada na época de safra para facilitar a colheita manual. A combustão de combustíveis fósseis também contribui com o aporte de HPA para a represa municipal, uma vez que no entorno da represa ocorre o tráfego de veículos como ônibus, caminhões, motos e carros, sendo que o fluxo desses automóveis é intensificado nos períodos da 07:00 – 08:00 h e 17:30 e 19:30.

Porém, para o sedimento coletado na CAPRP em julho de 2010, as razões diagnósticas aplicadas indicam tanto fontes petrogênicas quanto fontes pirolíticas. O cruzamento das razões Fenan/Ant x Fluoran/Pir, mostra que a fonte dos HPA na CAPRP é proveniente de fontes mistas, ou seja, petrogênica e pirogênica. De fato, produtos derivados de combustíveis fósseis provenientes de oficinas mecânicas e lava jatos são despejados na represa municipal.

No RGRANDE, as razões diagnósticas indicam que os HPA do sedimento desse ponto de amostragem são de origem pirolítica. Como pode ser observado no gráfico da Figura 41, o cruzamento das razões Ant/Ant + Fenan x Fluoran/Fluoran + Pir, indica que a queima de biomassa contribui com o aporte de HPA para a represa de águas vermelhas. A queima da palha da cana-de-açúcar na região desse represamento do Rio Grande é responsável pela introdução dos HPA de origem pirolítica.

No ponto RTURARG, como observado pelo cruzamento das razões Ant/Ant + Fenan x Fluoran/Fluoran + Pir, os HPA do sedimento desse local de amostragem é de origem pirogênica, mais especificamente devido a combustão de biomassa. No entanto, as razões diagnósticas Fenan/Ant e Fluoran/Pir indicam que os HPA também podem ser originados de fontes petrogênicas e o cruzamento das razões Fenan/Ant x Fluoran/Pir, indicam que os HPA são de fontes mistas. A queima da palha da cana-de-açúcar pode contribuir com os HPA devido a combustão incompleta da matéria orgânica. Não era esperado para a região do ponto de coleta do RTURARG que os HPA fossem originados de fontes petrogênicas, uma vez que nessa região a atividade predominante é agrícola. A origem dos HPA por fontes petrogênicas pode estar relacionada com eventos de contaminação local. No ponto PORTUR, as razões diagnósticas e o cruzamento das razões Fenan/Ant x Fluoran/Pir indicam que os HPA do sedimento desse local de amostragem são de origem pirolítica. Na região desse ponto de coleta a atividade agrícola é predominante. O cultivo da laranja era a atividade agrícola que se destacava nessa região, porém ela foi substituída pelo cultivo da cana-de-açúcar. Dessa maneira, atualmente, a contribuição com os HPA no sedimento do ponto PORTUR está provavelmente relacionada com a prática da queima da palha da cana-de-açúcar.

Na NRP, as razões diagnósticas indicam tanto fontes petrogênicas quanto pirolíticas para a origem dos HPA, enquanto o cruzamento das razões Fenan/Ant x Fluoran/Pir indicam fontes mistas. Na região do ponto NRP, as atividades agrícolas incluem a criação de gado e o cultivo de laranja e cana-de-açúcar. Esse ponto de amostragem fica logo abaixo de uma ponte, onde ocorre um tráfego regular de veículos como tratores, carros e caminhões. Mais acima do ponto NRP foi observado que a água de limpeza de tratores e maquinários agrícolas as quais contêm produtos

derivados de petróleo, é despejada no corpo aquático. Assim, os HPA de origem pirolítica são provenientes da queima da palha de cana-de-açúcar e da combustão de combustíveis fósseis, enquanto o aporte de HPA de origem petrogênica está relacionado com produtos derivados de petróleo provenientes de eventos de contaminação local.

As Figuras 42-47 mostram os gráficos dos valores das razões diagnósticas (Fenan/Ant, Fluoran/Pir e Fluoran/Fluoran + Pir) aplicadas para estimar a origem dos HPA ao longo do testemunho de sedimento, enquanto as Figuras 48-59 mostram os gráficos resultantes do cruzamento das razões diagnósticas para as coletas de fevereiro e julho de 2010. No ponto CAPRP da coleta de fevereiro de 2010 (Figura 42), a razão Fenan/Ant, indica que os HPA no testemunho de sedimento é predominantemente de origem petrogênica. Porém, as razões Fluoran/Pir e Fluoran/Fluoran + Pir, indicam que os HPA são de origem pirolítica.

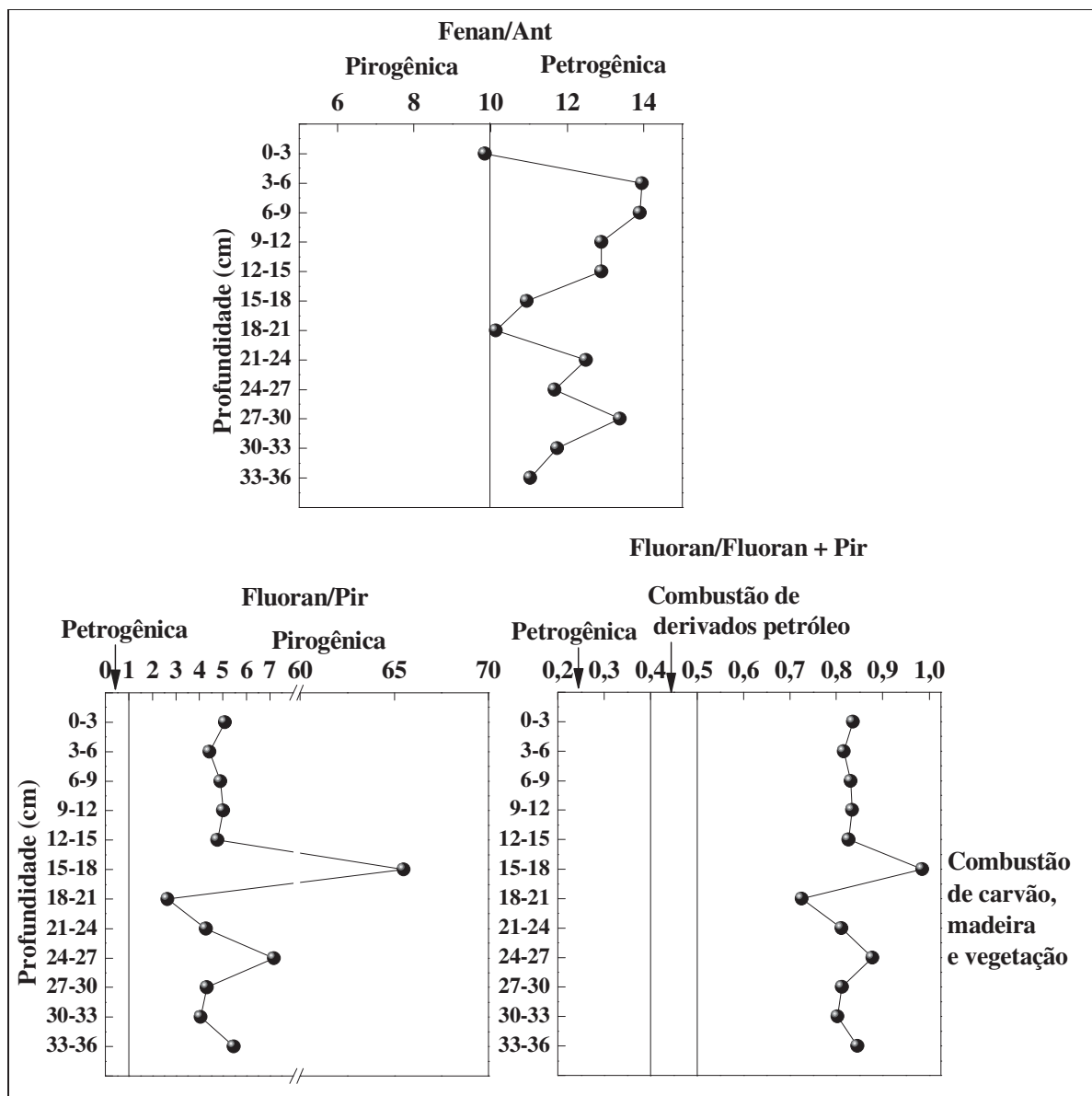


Figura 42. Uso das razões Fenantreno/Antraceno, Antraceno/Antraceno + Fenantreno, Fluoranteno/Pireno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento do Rio Preto (CAPRP) em fevereiro de 2010.

Na Figura 43, estão os gráficos das razões diagnósticas aplicados na interpretação das fontes de HPA para o ponto CAPRP da coleta de julho de 2010. Analisando pela razão Fenan/Ant, observou-se que os HPA das primeiras camadas (0-3 a 12-15 cm) são de origem petrogênica. Abaixo da profundidade de 15 cm do testemunho de sedimento, os HPA são predominantemente originados de fontes pirolíticas, sendo que apenas nas seções 33-36, 45-48 e 54-57 cm foi

observado que os HPA são de origem petrogênicas. As razões Fluoran/Pir e Fluoran/Fluoran + Pir, indicaram que os HPA no testemunho de sedimento são predominantemente de fontes pirolíticas, sendo que apenas na profundidade de 51 a 60 cm de profundidade a origem é de fontes petrogênicas.

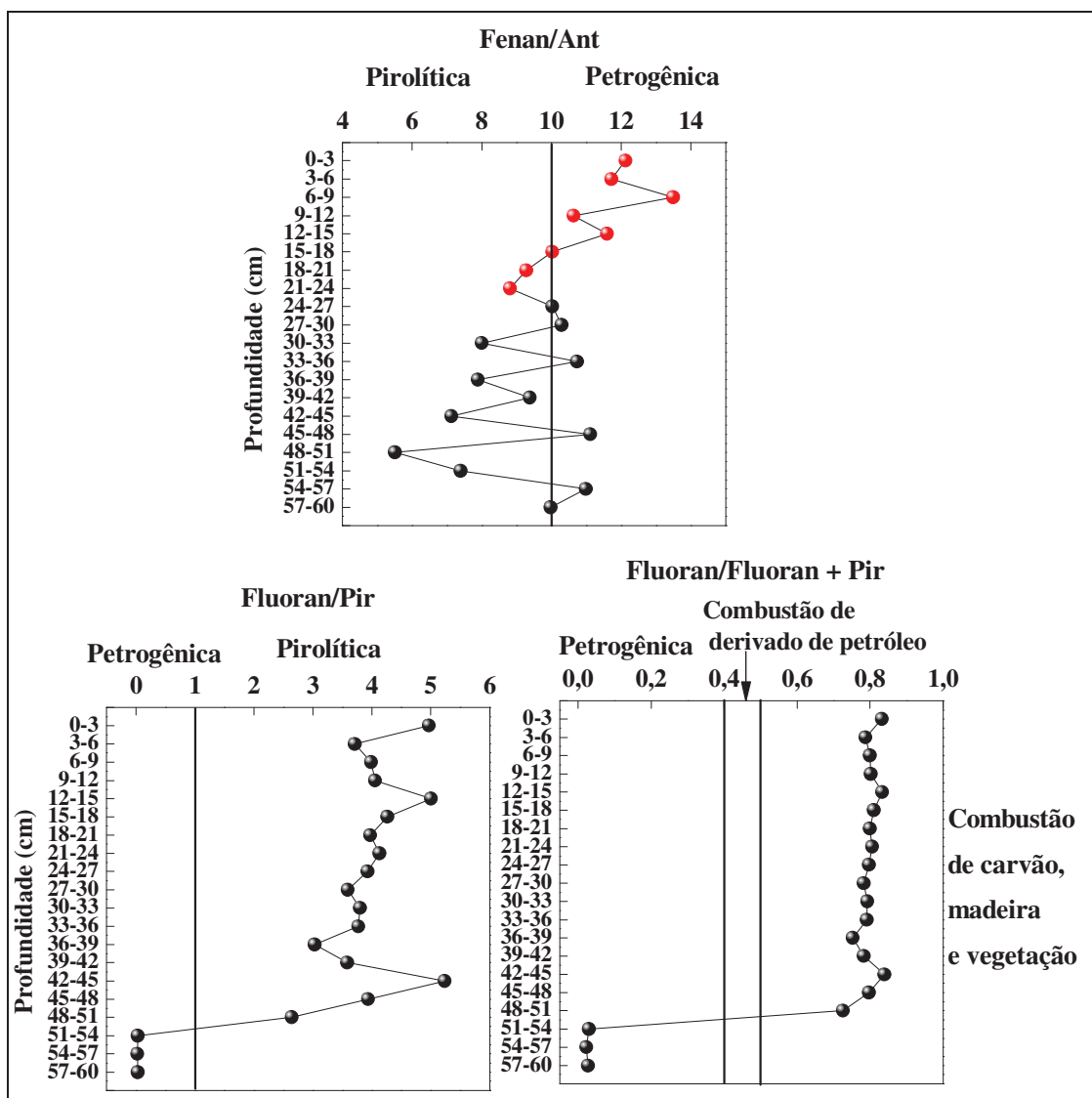


Figura 43. Uso das razões Fenantreno/Antraceno, Antraceno/Antraceno + Fenantreno, Fluoranteno/Pireno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno, para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento do Rio Preto (CAPRP) em julho de 2010.

Para o ponto CAPRP na coleta de fevereiro de 2010, o cruzamento dos valores das razões Fenan/Ant x Fluoran/Pir (Figura 44), indicam que fontes mistas são responsáveis pela introdução dos HPA no sedimento. Com o cruzamento das razões Ant/Ant + Fenan x Fluoran/Fluoran + Pir (Figura 45), foi observado que a origem dos HPA é petrogênica. Porém, neste último caso, os valores ficaram muito próximos do limite que separa entre fontes pirogênicas e fontes petrolíticas, dificultando a interpretação. Para CAPRP na coleta de julho de 2010 o cruzamento entre as razões Fenan/Ant x Fluoran/Pir (Figura 46), mostram que para as camadas mais superiores do testemunho de sedimento, (0-3 cm até 12-15 cm) os HPA são de fontes mistas. Abaixo da profundidade de 15 cm, a origem dos HPA para a maioria das seções é pirogênica, sendo que apenas nas três últimas seções (51-54, 54-57 e 57-60 cm) os HPA são de origem petrogênica.

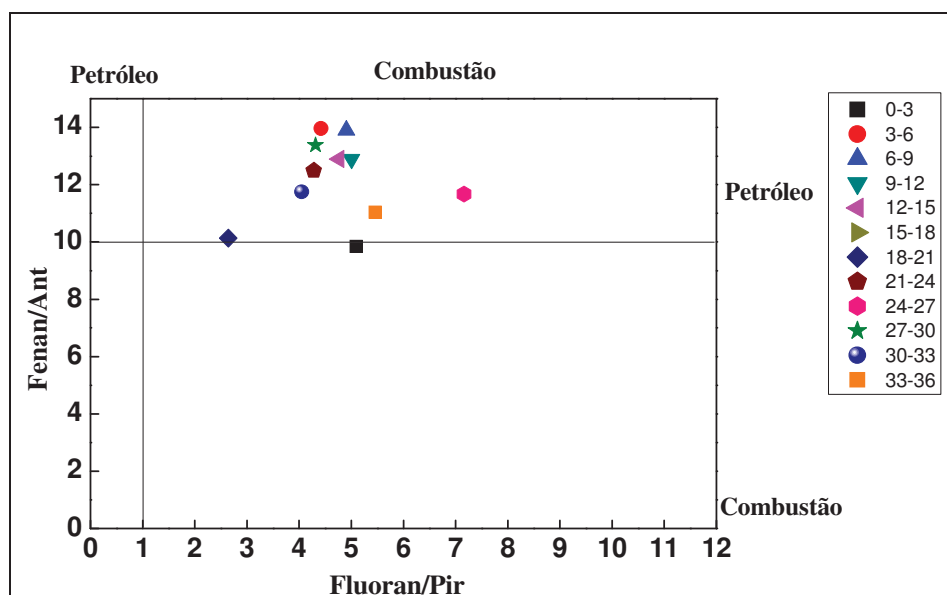


Figura 44. Cruzamento dos valores das razões Fenantreno/Antraceno e Fluoranteno/Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento coletado no Rio Preto (CAPRP) em fevereiro de 2010.

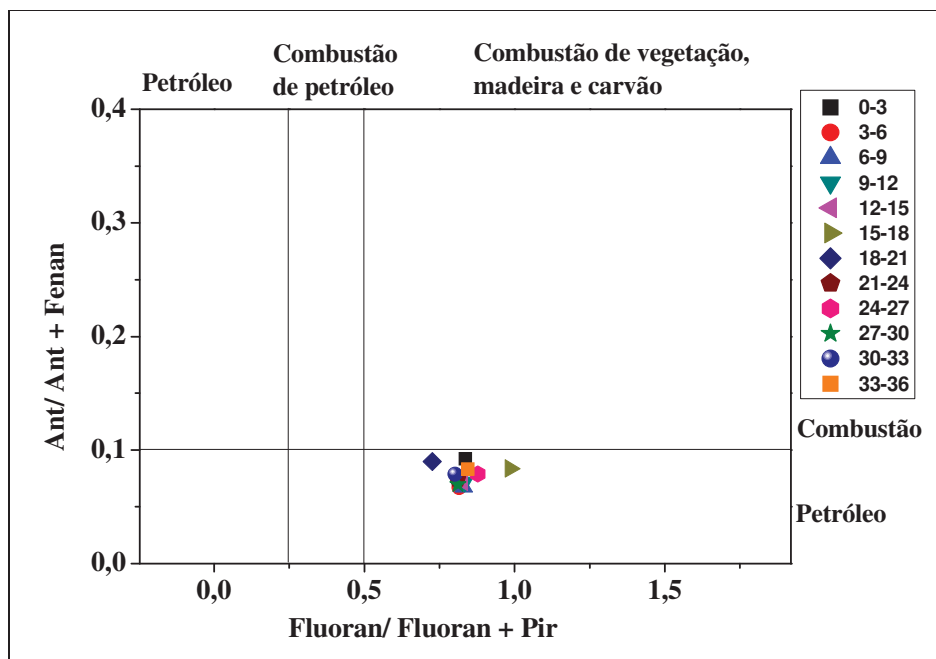


Figura 45 .Cruzamento dos valores das razões Antraceno/Antraceno + Fenantreno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento coletado no Rio Preto (CAPRP) em fevereiro de 2010.

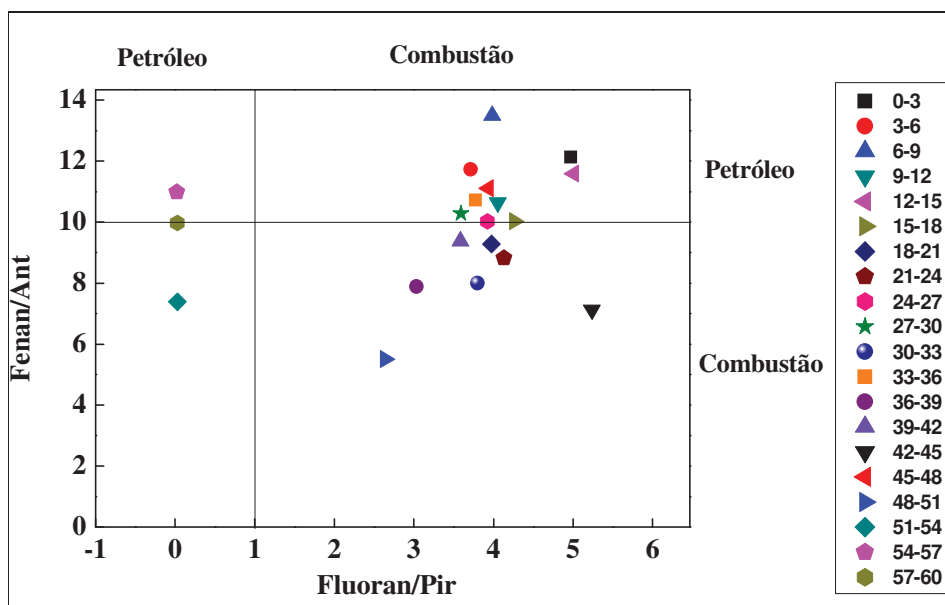


Figura 46. Cruzamento dos valores das razões Fenantreno/Antraceno e Fluoranteno/Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento coletado no Rio Preto (CAPRP) em julho de 2010

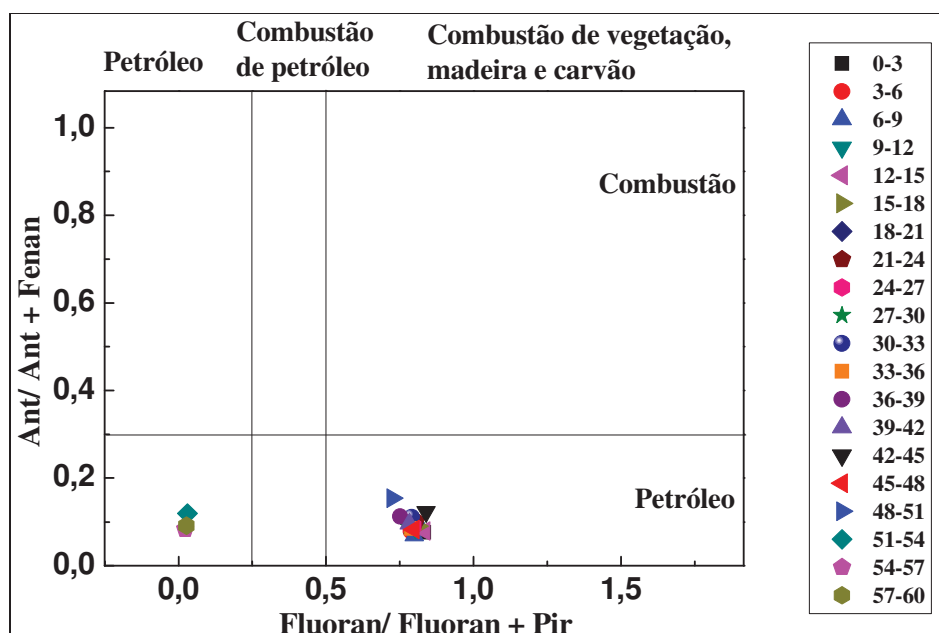


Figura 47. Cruzamento dos valores das razões Antraceno/Antraceno + Fenantreno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento coletado no Rio Preto (CAPRP) em julho de 2010.

Comparando os valores e o cruzamento das razões diagnósticas entre os dois períodos de coleta para CAPRP, é possível afirmar que não foi observado a mesma tendência ao longo do perfil de sedimento. No entanto, analisando as razões diagnósticas e o cruzamento dessas razões, foi observado que as fontes dos HPA presentes nos testemunhos de sedimento das duas campanhas são as mesmas.

Na Figura 48, são apresentados os gráficos que foram utilizados para estimar a origem dos HPA no testemunho de sedimento do ponto RGRANDE da coleta de Fev de 2010. Analisando a razão Fenan/Ant, identificou-se que de 6 a 15 cm de profundidade os HPA são de origem pirolítica e abaixo de 15 cm, os HPA são de origem petrogênica. Nas primeiras camadas (0-3 e 3-6 cm) é difícil interpretar a origem, pois os valores estão muito próximos do limite que separa entre fontes petrogênicas ou pirolíticas. Com a razão Fluoran/Pir e Fluoran/Fluoran + Pir, com exceção da seção de 15-18 cm, a origem dos HPA no testemunho de sedimento é de origem pirolítica.

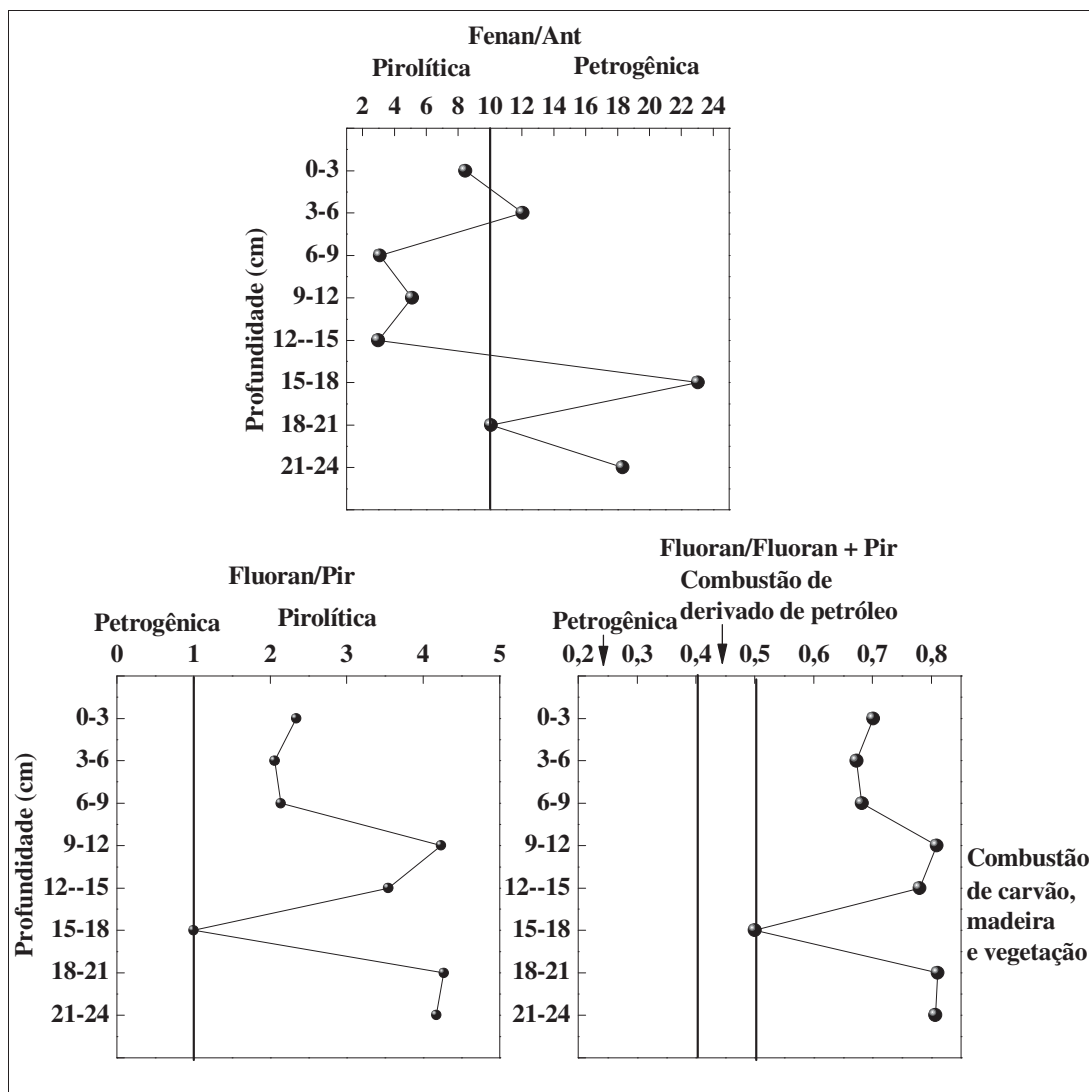


Figura 48. Uso das razões Fenantreno/Antraceno, Antraceno/Antraceno + Fenantreno, Fluoranteno/Pireno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno, para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento do Rio Grande (RGRANDE) em fevereiro de 2010.

A Figura 49 mostra os gráficos de perfil da razão entre HPA para estimar a origem no testemunho de sedimento do ponto RGRANDE na campanha de julho de 2010. Com base na razão Fenan/Ant, de 6-9 cm até 15-18 cm, os HPA são de origem petrogênica, e de 18-21 cm até 27-30 cm, os HPA são de origem pirolíticas. Os HPA das camadas mais superiores (0-3 cm e 3-6 cm) e mais inferiores (30-33 cm e 33-36 cm) são de origem petrogênicas. Com a razão Fluoran/Pir e Fluoran/Fluoran + Pir, ao longo de todo o testemunho de sedimento, os HPA são de origem pirolíticas.

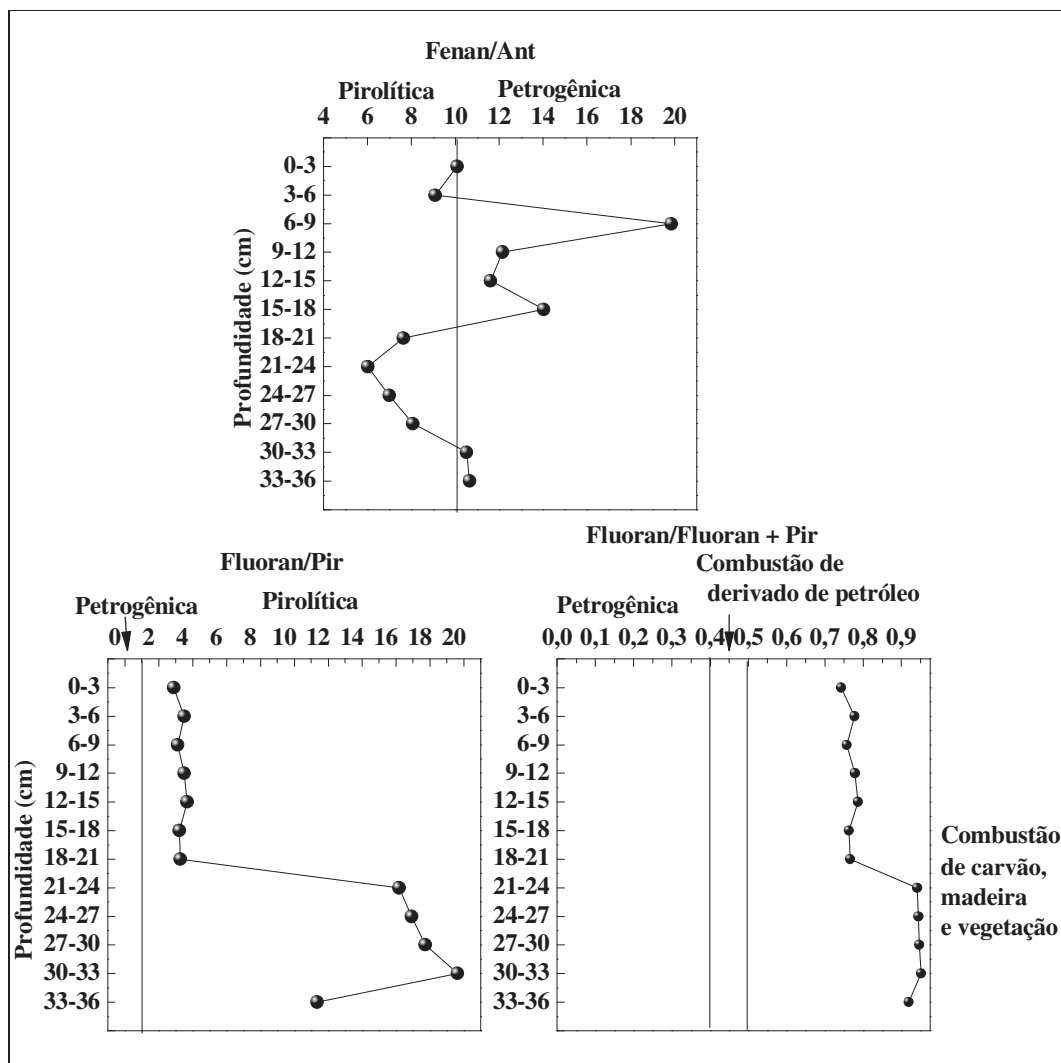


Figura 49. Uso das razões Fenantreno/Antraceno, Antraceno/Antraceno + Fenantreno, Fluoranteno/Pireno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno, para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento do Rio GRANDE (RGRANDE) em julho de 2010.

Para o ponto RTURARG, na coleta de fevereiro de 2010, os valores das razões diagnósticas ao longo do perfil estão ilustrados na Figura 50. A razão Fenan/Ant, indica que a origem dos HPA no testemunho de sedimento é de origem petrogênica, com exceção nas seções 6-9 e 27-30 cm, nas quais os HPA são de origem pirolítica. Com as razões Fluoran/Pir e Fluoran/Fluoran + Pir, foi observado que os HPA no testemunho do RTURARG são de fontes pirolíticas. Para o RTURARG na coleta de julho de 2010 (Figura 51), a razão Fenan/Ant indica que a origem dos HPA no testemunho de sedimento é petrogênica, com exceção da seção 15-18 cm. Ao contrário, as razões Fluoran/Pir e Fluoran/Fluoran + Pir, demonstram que a origem dos HPA no sedimento é pirolítica.

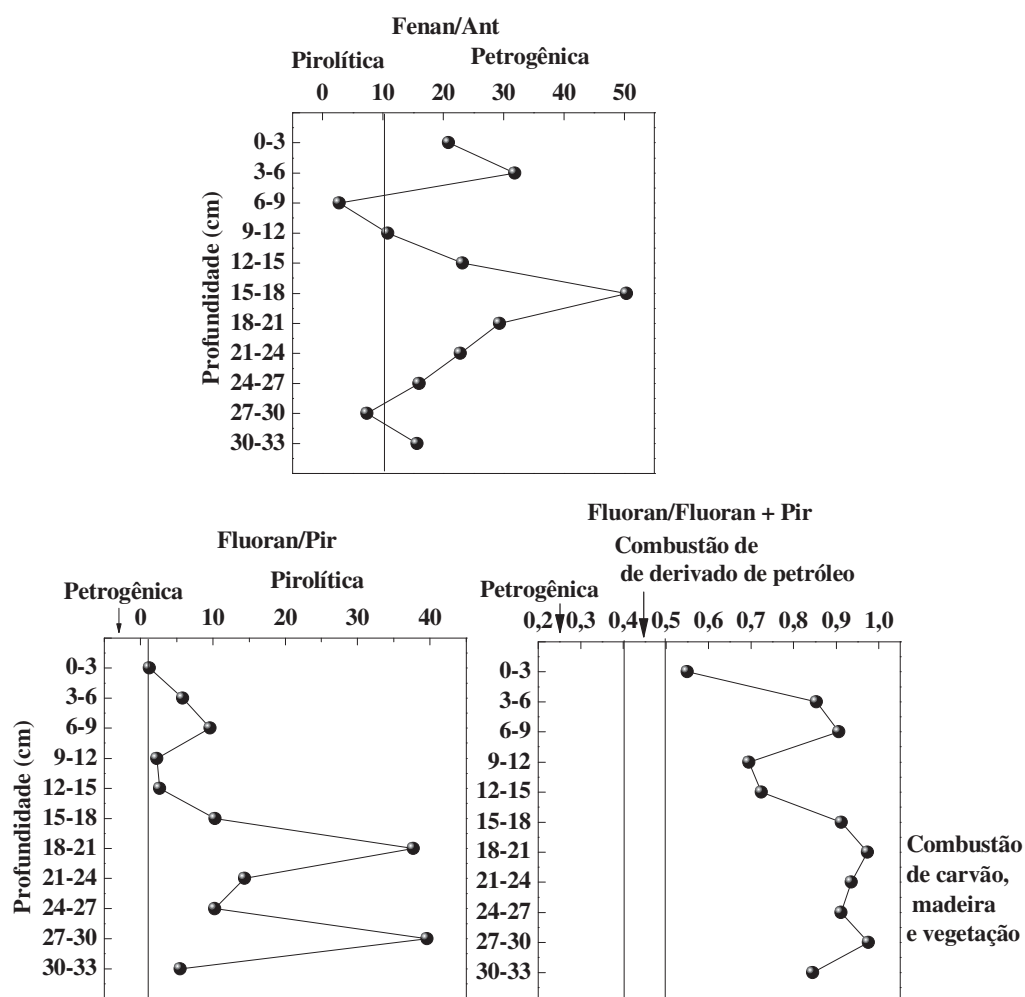


Figura 50. Uso das razões Fenantreno/Antraceno, Antraceno/Antraceno + Fenantreno, Fluoranteno/Pireno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno, para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento do Rio Turvo (RTURARG) em fevereiro de 2010.

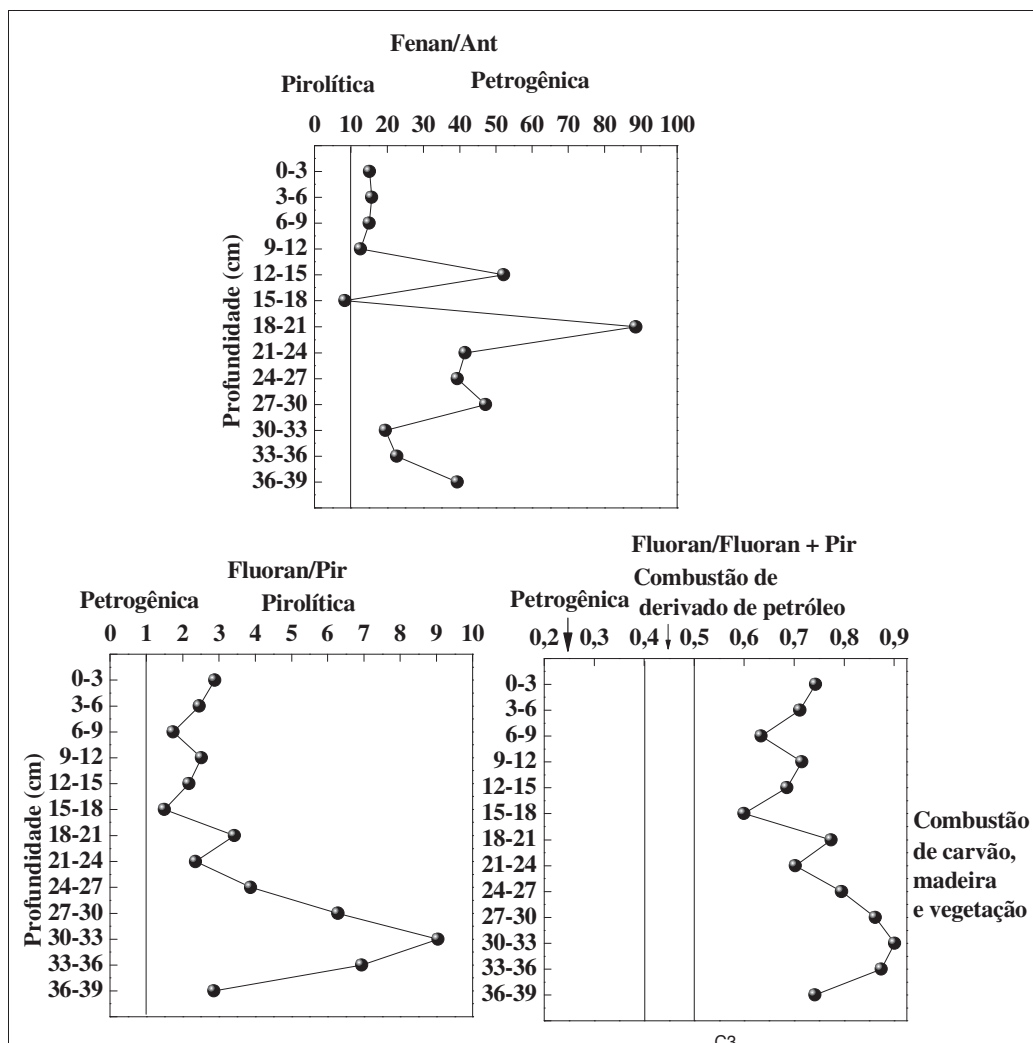


Figura 51. Uso das razões Fenantreno/Antraceno, Antraceno/Antraceno + Fenantreno, Fluoranteno/Pireno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno, para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento do Rio Turvo (RTURARG) em julho de 2010.

As Figuras 52-55 ilustram os gráficos do cruzamento dos valores das razões diagnósticas para o ponto RGRANDE. Para coleta de fevereiro de 2010, os HPA no testemunho de sedimento são de fontes mistas e pirogênicas. Na coleta de julho de 2010, para as seções de 0-3 cm até 18-21 cm, os HPA são de fontes mistas, e para as camadas abaixo de 21 cm, a origem dos HPA no sedimento é pirogênica.

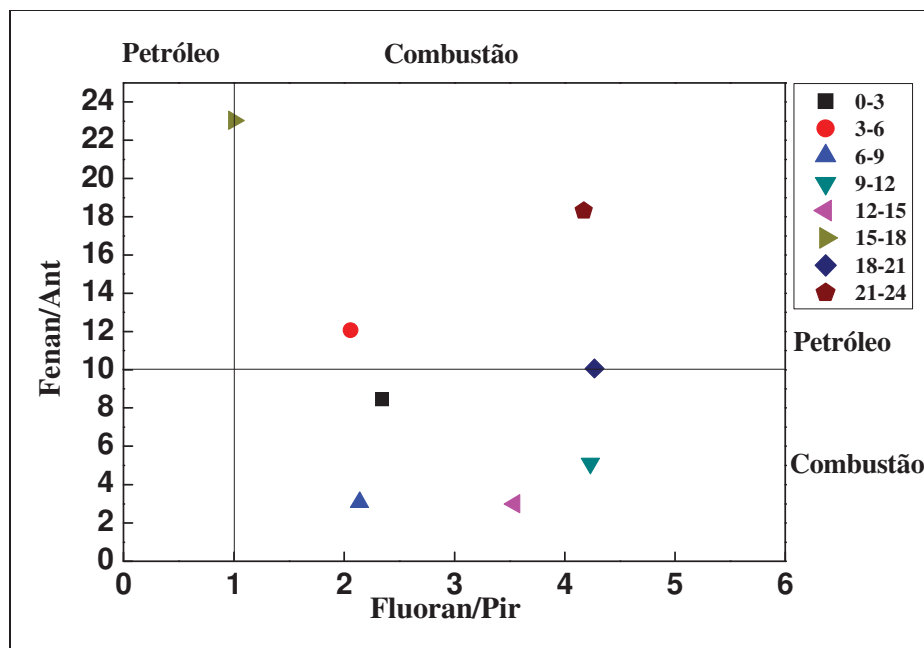


Figura 52 .Cruzamento dos valores das razões Fenantreno/Antraceno e Fluoranteno/Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento coletado no Rio Grande (RGRANDE) em fevereiro de 2010.

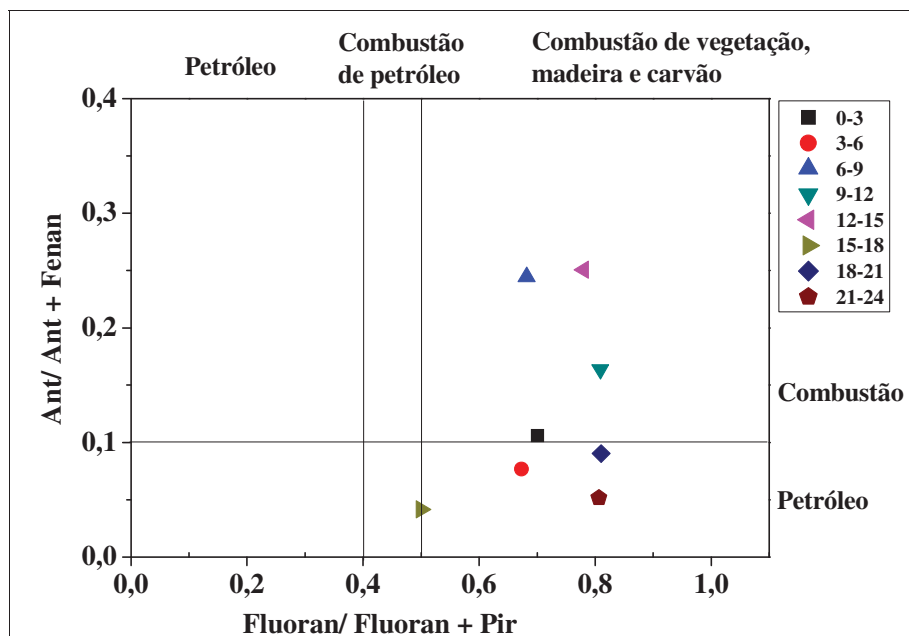


Figura 53. Cruzamento dos valores das razões Antraceno/Antraceno + Fenantreno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento coletado no Rio Grande (RGRANDE) em fevereiro de 2010.

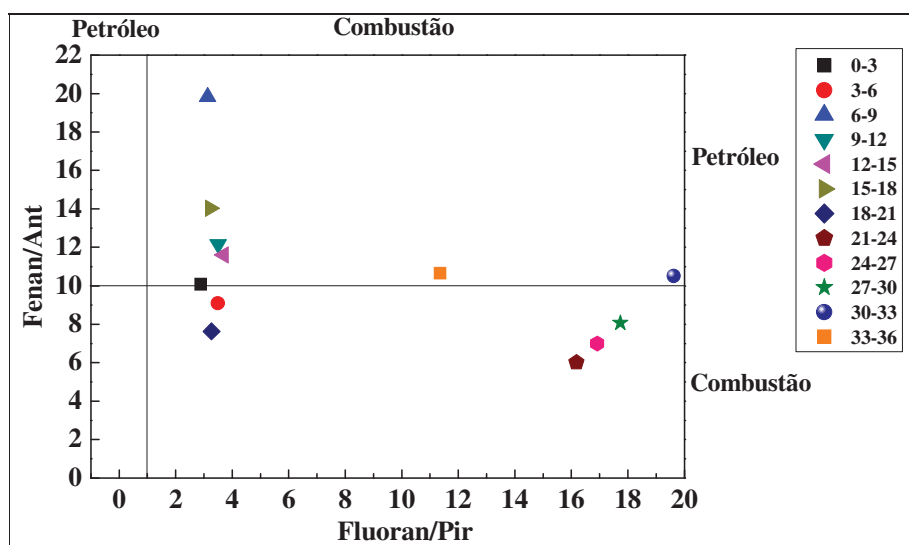


Figura 54. Cruzamento dos valores das razões Fenantreno/Antraceno e Fluoranteno/Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento coletado no Rio Grande (RGRANDE) em julho de 2010

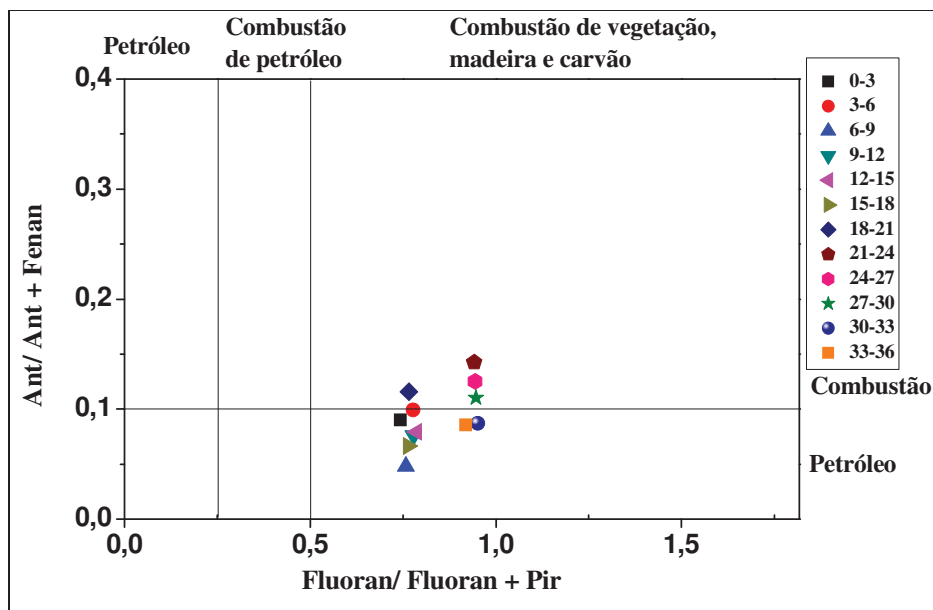


Figura 55. Cruzamento dos valores das razões Antraceno/Antraceno + Fenantreno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento coletado no Rio Grande (RGRANDE) em julho de 2010.

Para o ponto RTURARG, da coleta de fevereiro de 2010, o cruzamento das razões Fenan/Ant x Fluoran/Pir (Figura 56), mostra que os HPA são de fontes mistas. Porém, o cruzamento das razões Ant/Ant + Fenan x Fluoran/Fluoran + Pir (Figura 57), demonstra que a origem dos HPA é petrogênica. Na coleta de julho de 2010, o ponto RTURARG demonstrou o mesmo comportamento da coleta de fevereiro de 2010. Com o cruzamento das razões Fenan/Ant x Fluoran/Pir (Figura 58) os HPA no testemunho de sedimento são de fontes mistas, enquanto com o uso do cruzamento razões Ant/Ant + Fenan x Fluoran/Fluoran + Pir (Figura 59), o HPA demonstram ser de fontes petrogênicas.

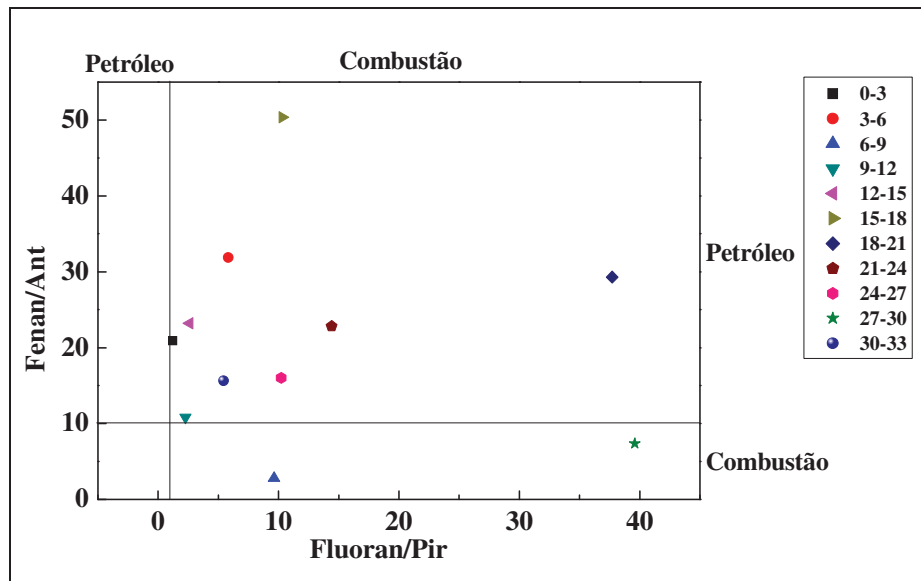


Figura 56 . Cruzamento dos valores das razões Fenantreno/Antraceno e Fluoranteno/Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento coletado no Rio Turvo (RTURARG) em fevereiro de 2010.

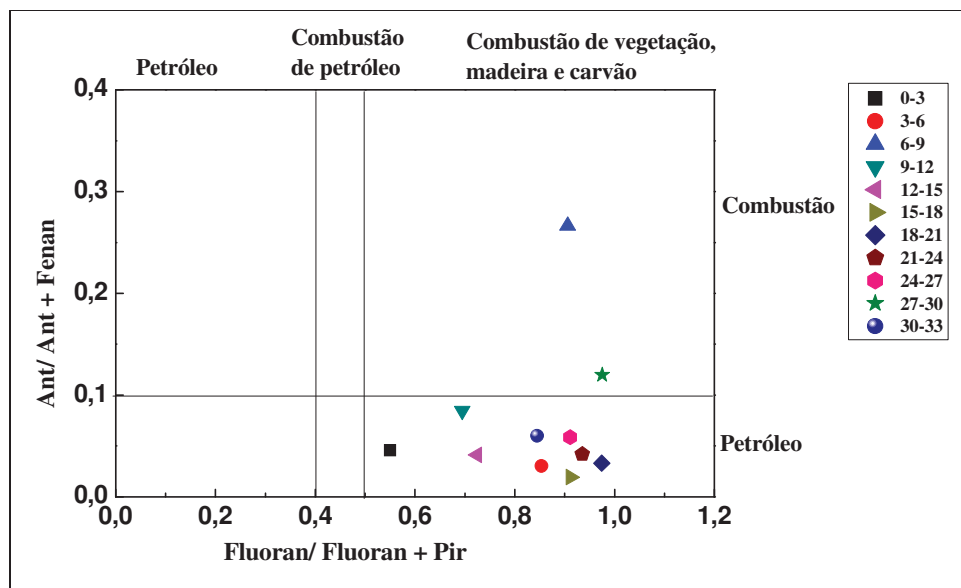


Figura 57. Cruzamento dos valores das razões Antraceno/Antraceno + Fenantreno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento coletado no Rio Turvo (RTURARG) em fevereiro de 2010.

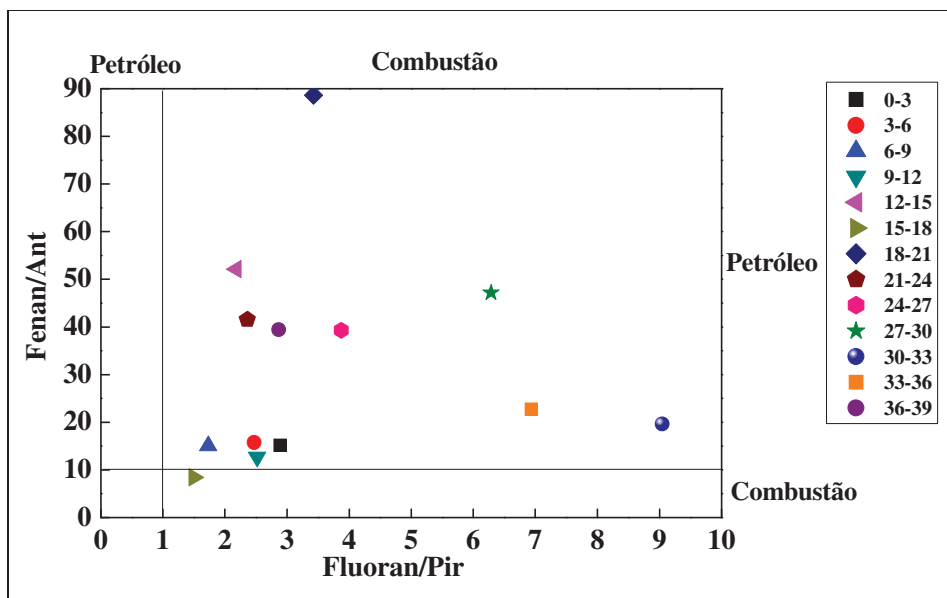


Figura 58. Cruzamento dos valores das razões Fenantreno/Antraceno e Fluoranteno/Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento coletado no Rio Turvo (RTURARG) em julho de 2010

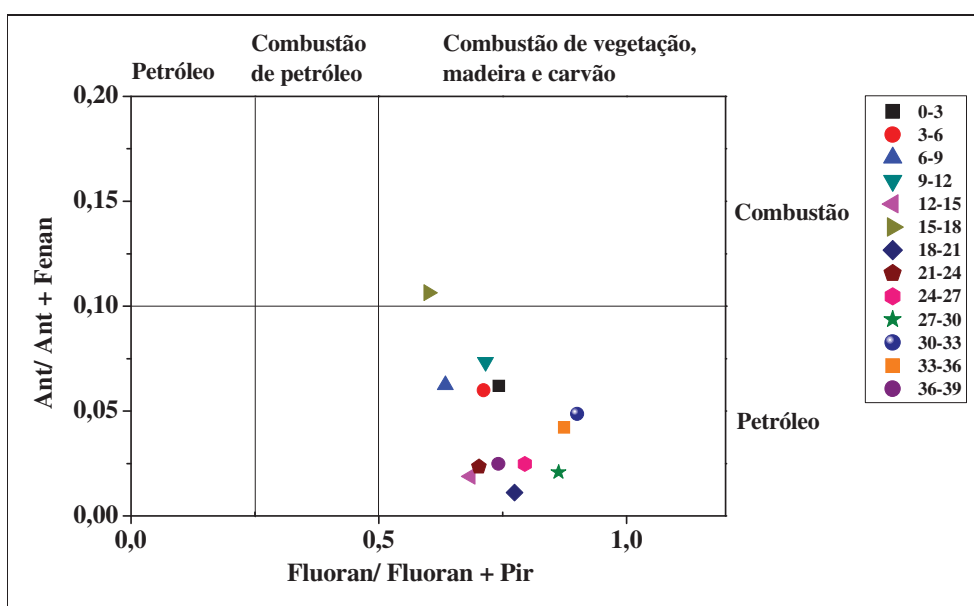


Figura 59. Cruzamento dos valores das razões Antraceno/Antraceno + Fenantreno e Fluoranteno/Fluoranteno + Pireno para estimar a fonte dos HPA no testemunho de sedimento coletado no Rio Turvo (RTURARG) em julho de 2010.

5.6 Critério de qualidade de sedimentos

A Tabela 22 mostra os dois níveis de classificação (TEL e PEL) de valores numéricos para HPA pela agência ambiental canadense, os quais representam uma referência da extensão de efeitos adversos à biota. Comparando esses valores com os valores de HPA determinados nos diferentes pontos dos rios Preto, Turvo e Grande (Tabela 23) nas amostras de sedimento superficial, observa-se que três pontos de coleta apresentaram para alguns HPA ultrapassaram os valores de TEL e somente para o naftaleno no ponto CAPRP Fev/2010 o valor de PEL foi superior ao estabelecido pelo órgão ambiental canadense. Entretanto, é importante esclarecer que esses valores foram estabelecidos para ambientes com características muito diferentes das encontradas no Brasil, por isto é fundamental que seja estabelecido valores limítrofes para a realidade aqui encontrada.

Nos gráficos de perfil de concentração individual para os HPA, ilustrados nas Figuras 29-36, estão mostrados também os valores de TEL e PEL.

Tabela 22. Valores numéricos para critérios de qualidade de sedimentos para HPA propostos pelo órgão ambiental canadense (Environment Canadá, 1999) e por Ingersoll *et alii.* 2001, apud Almeida, 2003.

HPA (ng/g)	TEL	PEL
Naftaleno	34,6	391
Acenafteno	6,71	88,9
Fluoreno	21,2	144
Fenantreno	41,9	515
Antraceno	46,9	245
Fluoranteno	111	2355
Pireno	53	875
Benzo[a]antraceno	31,7	385

TEL = Threshold Effect Level (Nível de Efeito Limiar); *PEL = Probable Effect Level* (Nível de Efeito Provável)

Tabela 23. Comparação entre os valores de HPA das amostras dos rios Preto (pontos CAPRP, RGRANDE e RTURARG) de amostras coletadas nos meses de fevereiro e julho de 2010 com os valores numéricos TEL e PEL.

HPA (ng/g)	CAPRP Fev/2010	CAPRP Jul 2010	RGRANDE Fev/2010	RGRANDE Jul/2010	RTURARG Fev/2010	RTURARG Jul/ 2010
Naftaleno	441,51	27,57	63,25	10,67	10,7	10,70
Acenafteno	5,56	1,71	2,09	0,57	0,31	<LQ
Fluoreno	16,8	8,79	10,11	2,66	2,59	2,59
Fenantreno	107,22	31,54	57,4	10,88	9,7	9,70
Antraceno	10,89	2,6	6,79	1,08	0,64	0,64
Fluoranteno	450,59	222,71	97,04	26,11	24,43	24,43
Pireno	88,44	44,8	41,39	9,03	8,46	8,46
Benzo[a]antraceno	10,72	9,71	4,53	0,45	0,97	<LQ

Para o ponto CAPRP da coleta de Fevereiro de 2010, algumas concentrações de HPA ao longo do perfil de sedimento ultrapassaram os valores de TEL e PEL estabelecidos pelo órgão ambiental canadense. Para o naftaleno, nas seções 0-3, 15-18 e 18-21 cm, os valores de concentração são superiores ao PEL, enquanto para as demais profundidades, as concentrações ficaram entre o intervalo dos valores de TEL e PEL. Para o acenafteno, a concentração ficou acima do valor de TEL nas seções 18-21 e 30-33 cm. Todos os valores de concentração para fenantreno e fluoranteno no perfil de sedimento ficaram no intervalo entre os valores de TEL e PEL. Para o pireno, com exceção da seção 15-18 cm, para todas profundidades ao longo do testemunho de sedimento os valores de concentração ficaram entre os valores de TEL e PEL. Na coleta de julho de 2010, para o ponto CAPRP, nenhum valor de concentração de HPA ficou acima do valor de PEL, porém para alguns HPA, os valores de TEL ficaram acima dos valores estabelecidos pelo órgão ambiental canadense. Para o fenantreno, o valor de concentração foi maior que o valor de TEL apenas na seção 15-18 cm. Para o fluoranteno, entre as seções 0-3 a 45-48 cm, com exceção das seções 30-33 e 36-39, os valores de concentração ficaram entre o intervalo dos valores de TEL e PEL. Para o pireno, nas seções 15-18, 18-21, 21-24, 27-30 e 39-42, os valores de concentração excederam o valor de TEL.

Para o ponto RGRANDE da coleta de Fevereiro de 2010, nenhum valor de concentração de HPA ficou acima dos valores de PEL, porém em algumas profundidades a concentração ficou

acima dos valores de TEL. Para o naftaleno, as concentrações que ficaram acima do valor de TEL foram nas seções 0-3, 3-6 e 12-15 cm. Para o fenantreno, apenas na seção de 0-3 cm o valor de concentração superou o valor de TEL. Para o fluoranteno e pireno, a concentração em 12-15 cm foi a única que ficou acima do valor de TEL. Na coleta de julho de 2010 para o ponto RGRANDE, apenas as concentrações de naftaleno e fenantreno na seção de 12-15 cm, ficaram acima do valor de TEL.

Para o ponto RTURARG da coleta de Fevereiro de 2010, apenas para o naftaleno e fluoranteno os valores de concentração ficaram acima dos valores de TEL. Para o naftaleno, isso ocorreu nas seções 15-18 e 18-21 cm e para fluoranteno o valor de concentração ficou acima do TEL na seção de 18-21 cm. No ponto RTURARG da coleta de julho de 2010, as concentrações dos HPA que ficaram acima dos valores de TEL foram as de naftaleno e fenantreno. Para o naftaleno, as concentrações nas seções 12-15 e 27-30 cm ficaram acima do valor de TEL e para o fenantreno na seção 27-30 cm a concentração ficou acima do valor de TEL.

6. Conclusões

Com relação à aplicação do 1-hidróxipireno como biomarcador de exposição, não foi possível verificar diferenças significativas entre a concentração deste metabólito determinado em peixes coletados no RTURG, CAPRP e PORTUR, com exceção do ponto CAPRP em fevereiro de 2010, no qual a concentração de 1-hidróxipireno foi maior em relação aos demais pontos e períodos de coleta.

Com relação a concentração de HPA em sedimentos, os maiores valores foram obtidos para o ponto CAPRP. Este resultado já era esperado, uma vez que o ponto CAPRP está inserido em uma região urbana, onde tráfego veicular, despejos de esgoto doméstico e a queima da palha de cana-de-açúcar, possivelmente contribuem com o aporte de HPA na represa municipal, enquanto os demais pontos de coleta localizam-se em regiões rurais.

A tendência geral observada para os HPA no perfil de sedimento foi a diminuição da concentração com o aumento da profundidade. Para os três pontos de coleta, os HPA mais abundantes ao longo do testemunho de sedimento foram fluoranteno e benzo(g,h,i)perileno, com exceção do ponto RGRANDE, no qual na coleta de fevereiro de 2010, o naftaleno foi um dos mais abundante.

Quanto ao critério de qualidade dos sedimentos, considerando o critério estabelecido pela agência ambiental canadense, a qual associa a concentração de cada contaminante à probabilidade de ocorrer ou não efeitos adversos à biota, considerando os valores estabelecidos para TEL e PEL, observou-se que em três pontos de coleta, alguns HPA ultrapassaram os valores de TEL e somente para o naftaleno no ponto CAPRP Fev/2010 o valor de PEL foi superior ao estabelecido pelo órgão ambiental canadense.

7. Referências Bibliográficas:

- Almeida, F. V. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, 2003.
- Almeida, F.V.; Centeno, A.J.; Bisinoti, M.C.; Jardim, W.F. Substâncias Tóxicas Persistentes (STP) no Brasil. *Química Nova*, 2007, 30, 1976-1985.
- Andrade, S. José de; Cristale, J.; Silva, F. S.; Zocolo, G. J., Marchi, M. R.R. Contribution of sugar-cane harvesting season to atmospheric contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Araraquara city, Southeast Brazil, *Atmospheric Environment*, 2010, 44, 2913-2919.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos, RE nº 899, de 29 de maio de 2003.
- Araújo, R.P.A.; Botta-Paschoal, C.M.R.; Silverio, P.F., Almeida, F.V.; Rodrigues, P.E.; Umbuzeiro, G.A.; Jardim, W.F.; Mozeto, A.A. Application of toxicity identification evaluation to sediment in a highly contaminated water reservoir in southeastern Brazil, *Environmental Toxicology And Chemistry*, 2006, 25, 581-588.
- Ariese, F.; Burgers, I.; Oudhoff, K.; Stroomborg, T. R. G.; Vethaak, D. Comparison of Analytical Approaches for PAH Metabolites in Fish Bile Samples for Marine and Estuarine Monitoring, Insitute for Environmental Studies, 1997.
- Ariese, F.; Kok, S.J.; Verkaik, M.; Gooijer, C.; Velthorst, N.H.; Hofstraat, J.W. Synchronous fluorescence spectrometry of fish bile: A rapid screening method for the biomonitoring of PAH exposure. *Aquatic Toxicology*, 1993, 26, 273-286.
- ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for Polycyclic aromatic hydrocarbons, 1995
- Azevedo, F. Antonio de; Chasin, A. A. da Mata. As bases toxicológicas da ecotoxicologia, 2003, 322 p.
- Barakat, A. O.; Qian, Y.; Kim, M.; Kennicutt, M. Chemical characterization of naturally weathered oil residues in arid terrestrial environment in Al-Alamein, Egypt, *Environment International*, 2001, 27, 291–310.
- Barsiene, J.; Lehtonen, K. K.; Koehler, A.; Broeg, K.; Vuorinen, P. J.; Lang, T.; Pempkowiak, J.; Syvokien, J.; Veronika, V.; Rybakovas, A.; Repecka, R.; Vuontisjarvi, H.; Kopecka, J. Biomarker responses in flounder (*Platichthys flesus*) and mussel (*Mytilus edulis*) in the Klaipeda-Buinge area (Baltic Sea). *Marine Pollution Bulletin*, 2006, 53, 422-436.
- Bodnár, E.; Polyák, K.; Hlavay, J. Material transport between the atmosphere and sediment of the Lake Balaton. *Microchemical Journal*, 2005, 79, 221-230.
- Budzinski, H.; Jones, I.; Bellocq, J.; Piérard, C.; Garrigues, P. Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary. *Marine Chemistry*, 1997, 58, 85-97.
- Budzinski, H.; Mazéas, O.; Tronczynski, J.; Désaunay, Y.; Bocquené, G.; Claireaux, G. Link between exposure of fish (*Solea solea*) to PAHs and metabolites: Application to the “Erika ” oil spill, *Aquatic. Living Resource*, 2004, 17, 329–334.
- CERCLA - Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act - Priority list of hazardous substances that will be the subject of toxicological profiles and support document.

U.S. Department of Health and Human Services Agency For Toxic Substances and Disease Registry Division of Toxicology em cooperação com U.S Environmental Protection Agency, 2007.

Cesarett and Doull's. Toxicology: The Basic Science of Poisons, 2001, p. 1029-1030.

Conjuntura Econômica de São José do Rio Preto, Secretaria Municipal de Planejamento e Gestão Estratégica de São José do Rio Preto, 25ª Edição, 2010.

Cincinelli, A.; Del Bubba, M.; Martellini, T.; Gambaro, A.; Lepri, L. Gas-particle concentration and distribution of n-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons in the atmosphere of Prato (Italy), *Chemosphere*, 2007, 68, 472 – 478.

Corrêa, S. M.; Arbilla, G. Aromatic hydrocarbons emissions in diesel and biodiesel exhaust, *Atmospheric Environment*, 2006, 40, 6821–6826.

Douglas, G.; Bence, A. E.; Prince, R. C.; McMillen, S. J.; Butler, E. L. Environmental Stability of Selected Petroleum Hydrocarbon Source and Weathering Ratios, *Environmental science and technology*, 1996, 30, 2332-2339.

EC - Environmental Canadian. Priority Substances List Assessment Report, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Canadian Environmental Protection Act*, 1994.

EPA - Environmental Protection Agency, Method 3540C, 1996 - Disponível em: [<http://www.epa.gov/epawaste/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3540c.pdf>], acessado em 20/03/2010].

EPA - Environmental Protection Agency, Method 3630C, 1996. Disponível em: [<http://www.epa.gov/epawaste/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3630c.pdf>], acessado em 20/03/2010].

EPA - Environmental Protection Agency; Locating and estimating air emissions from sources of polycyclic organic matter, EPA-454/R-98/014, 1998.

Fenet, H.; Gomez, E.; Rosain, D.; Casellas, C. Polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites and 7-Ethoxyresorufin O-Deethylase activity in caged europeans eels. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2006, 51, 232-236.

Gogou, A.; Bouloubassi, I.; Stephanou, E. G. Marine organic geochemistry of the Eastern Mediterranean: 1. Aliphatic and polyaromatic hydrocarbons in Cretan Sea surficial sediments, *Marine Chemistry*, 2000, 68, 265–282.

Hanedar, A.; Alp, K.; Kaynak, B.; Baek, J.; Avsar, E.; Odman, M. T. Concentrations and sources of PAHs at three stations in Istanbul, Turkey, *Atmospheric Research*, 2011, 99, 391 – 399.

Hosnedl, T.; Hasjslová, J.; Kocourek, V.; Tomaniová, M.; Volka, K. 1-Hydroxypyrene as a Biomarker for Fish Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, *Environmental Contamination and Toxicology*, 2003, 71, 465-472.

Hu, N. J.; Shi, X. F.; Huang, P.; Liu, J. H. Polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of Laizhou Bay, Bohai Sea, China, *Environmental Earth Science*, 2011, 121-133.

Huang, Yun-Jie; Lee, Chon-Lin; Fang, Meng-Der. Distribution and source differentiation of PAHs and PCBs among size and density fractions in contaminated harbor sediment particles and their implications in toxicological assessment, *Marine Pollution Bulletin*, 2011, 432-439.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>>. Acessado em 15 de Maio de 2010.

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Orientação sobre validação de métodos analíticos, DOQ-CGCRE-008, 2003.

Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO). Orientações sobre validação de métodos de ensaios analíticos, DOQ-CGCRE-008, Revisão 01- Março de 2003.

IPCS - International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criteria 155: Biomarkers and Risk Assessment: Concepts and Principles, 1993.

IPCS - International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criteria 202: Selected Non-Heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, 1998.

IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry. Nomenclature of fused and bridged fused ring systems. *Pure and Applied Chemistry*, 1998, 70, p. 143-216.

IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities, 1995.

Laças, F. M. Cromatografia Líquida Moderna HPLC CLAE. Átomo, 2009.

Lee, L.M.; Novotny, M.V.; Bartle, K.D. *Analytical Chemistry of Polycyclic Aromatic Compounds*. Academic Press: USA, 1981.

Lee, S.C.; Ho, K.F.; Chan, L.Y.; Zielinska, Barbara.; Chow, Judith C. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and carbonyl compounds in urban atmosphere of Hong Kong, *Atmospheric Environment*, 2001, 35, 5949 – 5960.

Liu, M.; Baugh, P.J.; Hutchinson, S.M.; Yu, L.; Xu, S. Historical record and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in core sediments from the Yangtze Estuary, China, *Environmental Pollution*, 2000, 110, 357 – 365.

Lourenço, R. A. Dissertação de Mestrado. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, 2003.

Luo, Xiao-Jun; Chen, She-Jun; Mai, Bi-Xian; Sheng, Guo-Ying; Fu, Jia-Mo; Zeng, Eddy Y. Distribution, Source Apportionment, and Transport of PAHs in Sediments from the Pearl River Delta and the Northern South China Sea, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2008, 55, 11-20.

Manoli, E.; Samara, C. Polycyclic aromatic hydrocarbons in natural waters: sources, occurrence and analysis. *Trends in analytical Chemistry*, 1999, 18, 417-428.

MAPA/SPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/docs/PAGE/MAPA/MENU_LATERAL/AGRICULTURA_PECUARIA/CANA_DE_ACUCAR_AGROENERGIA/SR_ESTATISTICAS/PDF%20-%20BALAN%C7O%20NACIONAL_0_0_0.PDF>. Acesso em: 20 de Abril de 2010.

Martins, C.C. Tese de Doutorado. Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, 2005.

Masih, A.; Saini, R.; Singhvi, R.; Taneja, A. Concentrations, sources, and exposure profiles of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in particulate matter (PM10) in the north central part of India, *Environmental Monitoring Assessment*, 2010, 163, 421-431.

Maskaoui, Khalid; Hu, Zhong. Contamination and Ecotoxicology risks of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Shantou Coastal Waters, China, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 2009, 82, 172-178.

Meire, R. O; Azeredo, A.; Pereira, M. de Souza; Torres, J. P. M.; Malm, O. Polycyclic aromatic hydrocarbons assessment in sediment of national parks in southeast Brazil, *Chemosphere*, 2008, 73, 180–185.

Miller, J. C.; Miller, J. N. Statistics for analytical chemistry. Third Edition. Chichester: Ellis Horwood Limited, 1993.

Morales-Caselles, C.; Kalman J.; Micaelo, C.; Ferreira, A.M.; Vale, C.; Riba, I.; DelValls, T.A. Sediment contamination, bioavailability and toxicity of sediments affected by an acute oil spill: Four years after the sinking of the tanker Prestige (2002), *Chemosphere*, 2008, 71, 1207-1213.

Mozeto, A. A.; Umbuzeiro, G. A.; Jardim, W. F. *Métodos de coleta, análises físico-químicas e ensaios biológicos e ecotoxicológicos de sedimentos de água doce*. São Carlos, SP: Cubo Multimídia & Propaganda, 2006.

Netto, A. D. P.; Moreira, J. C.; Dias, A. E. X. O.; Arbilla, G.; Ferreira, L. F. V.; Oliveira, A. S.; Barek, J. Evaluation of human contamination with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHS) and their nitrated derivatives (NHPAS): A review of methodology, *Química Nova*, 2000, 23, 765-773.

Neves, R. L. S.; Oliveira, T. F.; Zioli, Roberta L. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in fish bile (*Mugil liza*) as biomarkers for environmental monitoring in oil contaminated areas, *Marine Pollution Bulletin*, 2007, 54, 1813–1838

Nishigima, F.N.; Weber, R.R.; Bicego, M.C. Aliphatic and aromatic hydrocarbons in sediments of Santos and Cananeia, SP, Brazil, *Marine Pollution Bulletin*, 2001, 42, 1064-1072.

Pathiratne, K. A. S.; Silva, O. C. P. De.; Hehemann, D.; Atkinson, I.; Wei, R. Occurrence and Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Bolgoda and Beira Lakes, Sri Lanka, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2007, 135 – 140.

Perfil Regional de São José do Rio Preto, disponível em: <<http://www.planejamento.sp.gov.br/des/textos8/SJRioPreto.pdf>>. Acesso em 28 de Maio 2010.

Pikkarainen, Anna-Liisa. Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) activity and bile metabolites as contamination indicators in Baltic Sea perch: Determination by HPLC, *Chemosphere*, 2006, 1888-1897.

Review of analytical methods for determining metabolites of polycyclic aromatic compounds (PACs) in fish bile, *International Council for the exploration of the Sea, Techniques in Marine Environmental Sciences*, 2009, 39.

Ribani, M.; Bottoli, C. B. G.; Collins, C. H.; Jardim, I. C. S. F.; Melo, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos, *Química Nova*, 2004, 5, 771-780.

Rios, D. F.; Orrego, R.; Rudolph, A.; Mendoza, G.; Gavilan, J. F.; Barra, R. EROD activity and biliary fluorescence in *Schroederichthys chilensis* (Guichenot 1848): Biomarkers of PAH exposure in coastal environments of the South Pacific Ocean. *Chemosphere*, 2005, 61, 192-199.

Ruddock, P.J.; Bird, D. J.; McEvoy, J.; Peters, L.D. Bile metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in European eels *Anguilla anguilla* from United Kingdom estuaries, *The Science of the Total Environment*, 2003, 301, 105–117.

Sauer, T. C.; Hayes, J. Michaels and Miles; Aurand, Don V. Hydrocarbon characterization and weathering of oiled intertidal sediments along the Saudi Arabian coast two years after the gulf war oil spill, *Environment International*, 1998, 24, 43-60.

Sharma, H.; Jain, V. K.; Khan, Z. H. Characterization and source identification of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the urban environment of Delhi, *Chemosphere*, 2007, 66, 302–310.

- Shen, Q.; Wang K.Y.; Zhang, W.; Zhang, S. C.; Wang, X. J. Characterization and sources of PAHs in an urban river system in Beijing, China, *Environmental Geochemistry Health*, 2009, 31, 453-462.
- Shen, Q.; Wang, K. Y.; Zhang, W.; Zhang, S. C.; Wang, X. J. Characterization and sources of PAHs in an urban river system in Beijing, China, *Environmental Geochemistry Health*, 2009, 453-462.
- Silva, F. S. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, 2006
- Sisinno, C.L.S.; Netto, A.D.P.; Rego, E.C.P.; Lima, G.S.V. Polycyclic aromatic hydrocarbons in industrial solid waste: a preliminary evaluation of the potential risk of environmental and human contamination in waste disposal areas, *Caderno de Saúde Pública*, 2003, 19, 671-676.
- Škrobonja, L.; Tomic, T.; Šegudovic, N. Characterization of diesel fuel components using HPLC method, *Fuel and lubricants*, 2005, 44, n°3, 271-225.
- Soclo, H. H.; Garrigues, PH.; Ewald, M. Origin of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Coastal Marine Sediments: Case Studies in Cotonou (Benin) and Aquitaine (France) Areas, *Marine Pollution Bulletin*, 2000, 40, 387 – 396.
- Swartz, R.C. Consensus sediment quality guidelines for polycyclic aromatic hydrocarbon mixtures, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18 (1999), 780-787.
- Tasdemir, Y.; Esen, F. Urban air PAHs: Concentrations, temporal changes and gas/particle partitioning at a traffic site in Turkey, *Atmospheric Research*, 2007, 84, 1– 12.
- Tavares, M.; Pinto, J. P.; Souza, A. L.; Scarmínio, I. S.; Solci, M. C. Emission of polycyclic aromatic hydrocarbons from diesel engine in a bus station, Londrina, Brazil, *Atmospheric Environment*, 2004, 38, 5039–5044.
- The Merck index. 13th ed., Merck and Company Incorporated, 2001.
- The Merck Index. Merck & Company Incorporated, Whitehouse Station, New Jersey, USA, Thirteenth Edition, 2001.
- Veiga, I. G. Avaliação da origem de hidrocarbonetos em sedimentos superficiais de manguezais da região norte da Baía de Todos os Santos, Bahia. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2003.
- Venturini, N.; Muniz, P.; Bícago, M. C.; Martins, C. C.; Tommasi, L. R. Petroleum contamination impact on macrobenthic communities under the influence of an oil refinery: Integrating chemical and biological multivariate data, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2008, 78, 457-467.
- Verrhiest, G. J.; Clément, B.; Volat. B.; Montuelle, B.; Perrodin, Y. Interactions between a polycyclic aromatic hydrocarbon mixture and the microbial communities in a natural freshwater sediment, *Chemosphere*, 2002, 46, 187-196.
- Viguri, J.; Verde, J.; Irabien, A. Environmental assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface sediments of the Santander Bay, Northern Spain, *Chemosphere*, 2002, 48, 157-165.
- Vuorinen, P.J.; Keinanen, M.; Vuontisjarvi, H.; Barsien, J.; Broeg, K.; Forlin, L.; Gercken, J.; Kopecka, J.; Kohler, A.; Parkkonen, J.; Pempkowiak, J.; Schiedek, D. Use of biliary PAH metabolites as a biomarker of pollution in fish from the Baltic Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 2006, 53, 479-487.
- Wang, X. Y.; Li, Q. B.; Luo, Y. M.; Ding, Q.; Xi, L. M.; Ma, J. M.; Li, Y.; Liu, Y. P.; Cheng, C. L. Characteristics and sources of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Shanghai, China, *Environmental Monitoring Assessment*, 2010, 295 – 305.

- Wang,J.; Jia, C. R.; Wong, C. K.; Wong, P. K. Characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons created in lubricating oils, *Water, Air, and Soil Pollution*, 2000, 120, 381–396.
- Xuan, Y.; Baumann, P. C. Biliary PAH metabolites and the hepatosomatic index of brown bullheads from Lake Erie tributaries, *Ecological Indicators*, 2006, 6, 567-574.
- Xue, W.L.; Warshawsky, D. Metabolic activation of polycyclic and heterocyclic aromatic hydrocarbons and DNA damage: A review, *Toxicology And Applied Pharmacology*, 2005, 206, 73-93.
- 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, *The Science of the Total Environmen*, 1999, 225, 181-209
- Yunker, M. B.; Macdonald, R. W. Petroleum biomarker sources in suspended particulate matter and sediments from the Fraser River Basin and Strait of Georgia, Canada, *Organic Geochemistry*, 2003, 34, 1525–1541.

Anexos

Anexo 1 – Peso e comprimento dos peixes coletados nos pontos CAPRP, PORTUR e RTURG na coleta de fevereiro de 2010.

Tabela 24. Espécies de peixes coletadas na Represa Municipal de São José do Rio Preto (ponto CAPRP) com seus respectivos pesos e comprimento em fevereiro de 2010.

Amostra	Espécie	Peso (g)	Comprimento (cm)
RP 2	<i>Schizodon altoparana</i>	184,9	23,0
RP 5	<i>Schizodon altoparana</i>	132,3	23,0
RP 9	<i>Schizodon altoparana</i>	111,7	20,0
RP 12	<i>Schizodon altoparana</i>	184,3	24,0
RP 14	<i>Schizodon altoparana</i>	174,6	24,0
RP 16	<i>Schizodon altoparana</i>	163,5	22,5
RP 17	<i>Schizodon altoparana</i>	183,0	24,5
RP 18	<i>Schizodon altoparana</i>	111,6	20,0
RP 28	<i>Schizodon altoparana</i>	128,3	22,0
RP 29	<i>Schizodon altoparana</i>	117,3	19,5
RP 34	<i>Schizodon altoparana</i>	144,2	20,5
RP 57	<i>Schizodon altoparana</i>	256,4	26,5
RP1	<i>Satanoperca pappaterra</i>	55,0	13,5
RP 3	<i>Satanoperca pappaterra</i>	75,2	15,0
RP 6	<i>Satanoperca pappaterra</i>	53,8	13,0
RP 7	<i>Satanoperca pappaterra</i>	79,9	15,5
RP 8	<i>Satanoperca pappaterra</i>	61,7	14,5
RP 10	<i>Satanoperca pappaterra</i>	56,1	13,5
RP 13	<i>Satanoperca pappaterra</i>	69,4	13,5
RP 15	<i>Satanoperca pappaterra</i>	90,3	13,5
RP 21	<i>Satanoperca pappaterra</i>	61,1	14,0
RP 22	<i>Satanoperca pappaterra</i>	83,5	15,0
RP 24	<i>Satanoperca pappaterra</i>	60,6	13,5
RP 25	<i>Satanoperca pappaterra</i>	63,1	14,5
RP 26	<i>Satanoperca pappaterra</i>	53,2	13,5
RP 30	<i>Satanoperca pappaterra</i>	64,5	14,0
RP 31	<i>Satanoperca pappaterra</i>	54,0	13,5
RP 32	<i>Satanoperca pappaterra</i>	63,7	14,0
RP 35	<i>Satanoperca pappaterra</i>	59,6	13,5
RP 36	<i>Satanoperca pappaterra</i>	63,4	13,5
RP 37	<i>Satanoperca pappaterra</i>	85,8	13,5
RP 38	<i>Satanoperca pappaterra</i>	62,7	14,5
RP 39	<i>Satanoperca pappaterra</i>	74,2	14,5

Continua tabela 24

RP 40	<i>Satanoperca pappaterra</i>	65,7	13,0
RP 41	<i>Satanoperca pappaterra</i>	57,8	13,5
RP 42	<i>Satanoperca pappaterra</i>	64,5	13,5
RP 43	<i>Satanoperca pappaterra</i>	61,3	13,5
RP 44	<i>Satanoperca pappaterra</i>	54,4	12,5
RP 45	<i>Satanoperca pappaterra</i>	75,4	14,0
RP 46	<i>Satanoperca pappaterra</i>	78,6	15,5
RP 47	<i>Satanoperca pappaterra</i>	59,0	13,5
RP 48	<i>Satanoperca pappaterra</i>	94,2	15,0
RP 50	<i>Satanoperca pappaterra</i>	65,4	14,5
RP 51	<i>Satanoperca pappaterra</i>	64,8	13,5
RP 52	<i>Satanoperca pappaterra</i>	64,8	13,0
RP 53	<i>Satanoperca pappaterra</i>	62,6	14,0
RP 54	<i>Satanoperca pappaterra</i>	66,2	14,5
RP 55	<i>Satanoperca pappaterra</i>	55,8	12,5
RP 56	<i>Satanoperca pappaterra</i>	62,2	13,5
RP 4	<i>Serrasalmus Marginatus</i>	352,4	24,0
RP 11	<i>Serrasalmus Marginatus</i>	313,7	23,0
RP 33	<i>Serrasalmus Marginatus</i>	373,7	22,5
RP 19	<i>Serrasalmus maculatus</i>	72,5	13,5
RP 20	<i>Serrasalmus maculatus</i>	63	14,5
RP 27	<i>Serrasalmus maculatus</i>	44,3	11,5

Tabela 25. Espécies de peixes coletadas no Rio Turvo no ponto PORTUR, seus respectivos pesos e comprimento em fevereiro de 2010.

Amostra	Espécie	Peso (g)	Comprimento (cm)
RT1	<i>Astyanax Altiparanae</i>	46,0	13,0
RT 2	<i>Astyanax Altiparanae</i>	43,7	12,5
RT 3	<i>Astyanax Altiparanae</i>	45,2	12,5
RT 4	<i>Galeocharax Knerii</i>	148,1	24,5
RT 5	<i>Galeocharax Knerii</i>	180,4	26,0
RT 6	<i>Galeocharax Knerii</i>	103,1	22,5
RT 7	<i>Schizodon Borelli</i>	197,9	24,0
RT 8	<i>Schizodon Borelli</i>	172,6	22,5
RT 9	<i>Schizodon Borelli</i>	262,6	28,0
RT 10	<i>Schizodon Borelli</i>	168,4	22,5
RT 11	<i>Schizodon Borelli</i>	144,0	22,0
RT 12	<i>Schizodon Borelli</i>	151,8	20,5
RT 13	<i>Schizodon Borelli</i>	132,0	19,5
RT 14	<i>Schizodon Borelli</i>	177,0	22,5
RT 15	<i>Schizodon Borelli</i>	111,1	20,0
RT 16	<i>Schizodon Borelli</i>	392,0	29,5
RT 17	<i>Schizodon Borelli</i>	210,8	24,0
RT 18	<i>Schizodon Borelli</i>	185,1	22,5
RT 19	<i>Schizodon Borelli</i>	110,9	19,0
RT 20	<i>Schizodon Borelli</i>	431,7	29,5

Tabela 26. Espécies de peixes coletadas na confluência do Rio Turvo com o Rio Grande (RTURG), seus respectivos pesos e comprimento em fevereiro de 2010.

Amostra	Espécie	Peso (g)	Comprimento (cm)
RTG1	<i>Geophagus proximus</i>	69,2	15,5
RTG 2	<i>Geophagus proximus</i>	128,0	17,5
RTG 3	<i>Geophagus proximus</i>	149,8	21,0
RTG 5	<i>Geophagus proximus</i>	125,6	18,5
RTG 6	<i>Geophagus proximus</i>	111,9	17,0
RTG 7	<i>Geophagus proximus</i>	125,9	16,5
RTG 8	<i>Geophagus proximus</i>	110,4	16,5
RTG 9	<i>Geophagus proximus</i>	144,3	19,5
RTG 10	<i>Geophagus proximus</i>	133,1	19,5
RTG 11	<i>Geophagus proximus</i>	110,9	18,5
RTG 12	<i>Geophagus proximus</i>	74,0	16,0
RTG 13	<i>Geophagus proximus</i>	114,3	17,5
RTG 14	<i>Geophagus proximus</i>	113,8	18,0
RTG 15	<i>Geophagus proximus</i>	111,8	17,5
RTG 16	<i>Geophagus proximus</i>	139,5	19,0
RTG 17	<i>Geophagus proximus</i>	100,1	15,0
RTG 18	<i>Geophagus proximus</i>	103,6	15,5
RTG 19	<i>Serrasalmus marginatus</i>	51,6	14,5
RTG 20	<i>Serrasalmus marginatus</i>	101,0	15,5

Continua tabela 26

RTG 21	<i>Serrasalmus marginatus</i>	43,9	12,5
RTG 22	<i>Serrasalmus marginatus</i>	149,1	18,0
RTG 23	<i>Serrasalmus marginatus</i>	392,6	23,5
RTG 4	<i>Serrasalmus marginatus</i>	153,9	19,0

Anexo 2 – Peso e comprimento dos peixes coletados nos pontos CAPRP, PORTUR e RTURG na coleta de julho de 2010.

Tabela 27. Espécies de peixes coletadas na Represa Municipal de São José do Rio Preto (ponto CAPRP) com seus respectivos pesos e comprimento em julho de 2010.

Amostra	Espécie	Peso (g)	Comprimento (cm)
CAPRP 28	<i>Schizodon nasutus</i>	118,9	21,5
CAPRP 24	<i>Schizodon nasutus</i>	339,0	28,0
CAPRP 29	<i>Schizodon nasutus</i>	109,7	19,5
CAPRP 18	<i>Schizodon nasutus</i>	338,5	27,5
CAPRP 25	<i>Schizodon nasutus</i>	224,8	23,0
CAPRP 15	<i>Schizodon nasutus</i>	207,3	24,5
CAPRP 19	<i>Schizodon nasutus</i>	178,6	20,5
CAPRP 23	<i>Schizodon nasutus</i>	269,9	25,5
CAPRP 17	<i>Schizodon nasutus</i>	151,0	21,5
CAPRP 4	<i>Schizodon nasutus</i>	150,3	23,5
CAPRP 16	<i>Schizodon nasutus</i>	217,1	27,5
CAPRP 1	<i>Schizodon nasutus</i>	182,0	22,5
CAPRP 27	<i>Schizodon nasutus</i>	206,1	24,5
CAPRP 13	<i>Schizodon nasutus</i>	141,2	21,5
CAPRP 11	<i>Schizodon nasutus</i>	242,2	26,0
CAPRP 6	<i>Schizodon nasutus</i>	150,6	23,0
CAPRP 12	<i>Schizodon nasutus</i>	212,0	25,0
CAPRP 9	<i>Schizodon nasutus</i>	152,0	21,5
CAPRP 30	<i>Schizodon nasutus</i>	108,8	19,5
CAPRP 3	<i>Schizodon nasutus</i>	255,6	25,5
CAPRP 21	<i>Schizodon nasutus</i>	262,6	26,0
CAPRP 8	<i>Schizodon nasutus</i>	279,3	27,0
CAPRP 10	<i>Schizodon nasutus</i>	308,7	27,0
CAPRP 7	<i>Schizodon nasutus</i>	118,0	21,0
CAPRP 32	<i>Schizodon nasutus</i>	270,1	27,0
CAPRP 51	<i>Schizodon nasutus</i>	375,08	28,0
CAPRP 40	<i>Schizodon nasutus</i>	417,8	29,5
CAPRP 48	<i>Schizodon nasutus</i>	357,0	28,0
CAPRP 42	<i>Schizodon nasutus</i>	468,9	29,0
CAPRP 31	<i>Schizodon nasutus</i>	301,0	21,5
CAPRP 36	<i>Schizodon nasutus</i>	263,4	23,0
CAPRP 45	<i>Schizodon nasutus</i>	249,0	26,0
CAPRP 46	<i>Schizodon nasutus</i>	291,1	26,5
CAPRP 38	<i>Schizodon nasutus</i>	235,6	23,0
CAPRP 35	<i>Schizodon nasutus</i>	458,6	30,0

continua tabela 27

CAPRP 50	<i>Schizodon nasutus</i>	380,8	29,0
CAPRP 44	<i>Schizodon nasutus</i>	389,4	29,0
CAPRP 49	<i>Schizodon nasutus</i>	305,8	29,0
CAPRP 47	<i>Schizodon nasutus</i>	438,4	28,0
CAPRP 37	<i>Schizodon nasutus</i>	484,57	30,0
CAPRP 34	<i>Schizodon nasutus</i>	392,6	29,0
CAPRP 20	<i>Schizodon nasutus</i>	163,3	22,5
CAPRP 17	<i>Schizodon nasutus</i>	151,0	21,5
CAPRP 22	<i>Schizodon nasutus</i>	119,9	21,0

Tabela 28. Espécies de peixes coletadas no Rio Turvo (ponto PORTUR) com seus respectivos pesos e comprimento em julho de 2010.

Amostra	Espécie	Peso (g)	Comprimento (cm)
PORTUR 4	<i>Leporinus Friderici</i>	161,0	21,0
PORTUR 16	<i>Leporinus Friderici</i>	134,5	21,5
PORTUR 15	<i>Leporinus Friderici</i>	151,6	22,5
PORTUR 8	<i>Leporinus Friderici</i>	278,5	28,5

Tabela 29. Espécies de peixes coletadas na confluência do Rio Turvo com o Rio Grande (ponto RTURG), seus respectivos pesos e comprimento em julho de 2010.

Amostra	Espécie	Peso (g)	Comprimento (cm)
RTURG 2	<i>Geophagus proximus</i>	110,2	21,5
RTURG 6	<i>Geophagus proximus</i>	160,8	22,5