

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

INSTITUTO DE QUÍMICA DE ARARAQUARA

**ESTUDO DA DETERMINAÇÃO DO 1-NITROPIRENO EM MATERIAL
PARTICULADO ATMOSFÉRICO**

Ricardo Cambiaghi Azevedo

Orientadora: Profa. Dra. Mary Rosa R. M. Santiago Silva

Dissertação apresentada ao
Instituto de Química da UNESP
para obtenção do título de Mestre
em Química.

Araraquara – SP
Junho de 2002

COMISSÃO EXAMIDORA

Mary Rosa Rodrigues de Marchi Santiago da Silva (Orientadora)
Instituto de Química de Araraquara - UNESP

Maria Olimpia de Oliveira Rezende
Instituto de Química de São Carlos - USP

Alberto José Cavaleiro
Instituto de Química – UNESP - Araraquara

DADOS CURRICULARES

RICARDO CAMBIAGHI AZEVEDO

1. DADOS PESSOAIS

- | | | |
|------------|---------------------------|--|
| 1.1 | Nascimento | :16/08/1973 |
| 1.2 | Nacionalidade | :Brasileira |
| 1.3 | Naturalidade | :Araraquara – SP |
| 1.4 | Estado Civil | :Casado |
| 1.5 | Filiação | :Pai: José Antonio Azevedo
Mãe: Ana Maria Cambiaghi Azevedo |
| 1.6 | Documento de Identidade | :RG 22.500.462-8 |
| 1.7 | Cadastro de Pessoa Física | :CIC 159.860.788-02 |
| 1.8 | Endereço | :Rua Ângelo Salata, 364
Araraquara – SP |

2. FORMAÇÃO ACADÊMICA

2.1 Bacharel em Química

Curso de Bacharelado em Química concluído em 06/12/1996, no Instituto de Química de Araraquara – UNESP

2.2 Complementação Tecnológica

Concluído em 12/1997, no Instituto de Química – UNESP

2.3 Mestrado em Química

Curso de Pós-Graduação em Química, Área de concentração: Química Analítica, concluído em 07 de junho de 2002, no Instituto de Química de Araraquara – UNESP.

3. TRABALHOS APRESENTADOS

- ✓ FERRISSE, A.L.B.; AZEVEDO, R.C.; VILEGAS, W.; SILVA, M.R.R.M.S. Determinação de PAHs em fuligem da queimada de cana-de-açúcar. In: Jornada Científica, 6., 1994, Araraquara. **Resumos...** Araraquara: Instituto de Química / UNESP, 1994. p. 11.
- ✓ FERRISSE, A.L.B.; AZEVEDO, R.C.; SILVA, M.R.R.M.S. Otimização da extração de PAH de fuligem de cana-de-açúcar em banho ultrassônico. In: Encontro Nacional de Química Analítica, 8., 1995, Belo Horizonte. **Resumos...** Belo Horizonte: Departamento de Química – ICEX – UFMG, 1995. p. 274.
- ✓ CRESPI, M.S.; RIBEIRO, C.A.; AZEVEDO, R.C.; MANTOVANI, R.A. Utilização da análise térmica na determinação e quantificação de tintas sólidas. In: Semana da Química, 24., Jornada Científica, 8., Jornada Pedagógica, 2., 1996, Araraquara. **Resumos...** Araraquara: Instituto de Química / UNESP, 1996. p. 13.
- ✓ AZEVEDO, R.C.; MANTOVANI, R.A. Utilização da análise térmica na determinação e quantificação de tintas sólidas. In: Congresso de Iniciação Científica, 8., 1996, Guaratinguetá. **Resumos...** Guaratinguetá: Câmpus de Guaratinguetá / UNESP, 1996. p. 53.
- ✓ MANTOVANI, R.A.; AZEVEDO, R.C.; Caracterização de resinas, aditivos e cargas, constituintes de tintas em pó por métodos termoanalíticos. In: Congresso de Iniciação Científica, 8., 1996, Guaratinguetá. **Resumos...** Guaratinguetá: Câmpus de Guaratinguetá / UNESP, 1996. p. 54.

4. EXPERIÊNCIA PROFISSIONAL

- ***Refrescos Ipiranga S/A.***

Local: Ribeirão Preto/SP

Período: 10/1997 – 03/2000

Cargo: Analista da Asseguração da Qualidade I

- ***Art Dent Ind. e Com. de Produto Odontológico***

Local: Araraquara/SP

Período: 08/1996 – 06/1997

Cargo: Responsável Técnico

- ***Sociedade Educacional Duque de Caxias S/C Ltda***

Local: Araraquara/SP

Período: 03/1995 – 12/1995

Função: Técnico de Laboratório Didático

- ***Livraria Alvorada Araraquara Ltda.***

Local: Araraquara/SP

Período: 12/1989 – 12/1989

Função: Auxiliar de vendas

- ***Livraria Alvorada Araraquara Ltda.***

Local: Araraquara/SP

Período: 12/1988 – 01/1989

Função: Auxiliar de vendas

“Já perdemos muito tempo brincando de perfeição.
Esquecemos o que somos: SIMPLES DE CORAÇÃO”

Humberto Gessinger

Agradeço à Deus por ter me dado o dom da sabedoria e do discernimento e por ter iluminado mais uma vez meu caminho, me carregando no colo quando eu mais precisava.

Agradeço à Alessandra, minha esposa, por toda a paciência, compreensão, carinho, amizade, companheirismo e apoio nesta nova etapa. Não há palavras para expressar o que sinto por ela.

Agradeço à Profa. Dra. Mary Rosa pela oportunidade oferecida e orientação para
que pudesse vencer mais esta etapa de minha vida.

AGRADECIMENTOS

A meus pais, pois sem eles seria impossível chegar até aqui e ainda ter forças para querer ir mais adiante.

Ao meu irmão Rodrigo que tanto me ajudou nesta conquista, ora perto, ora longe, mas valeu muito sua força.

Ao grande amigo “irmão” Barbie (Ailton) pelo companheirismo tanto dentro da Universidade quanto fora dela.

Aos eternos amigos “irmãos” Catanduva e Suzy e suas respectivas esposa e namorada (Alessandra e Ivanilda) pela consideração e pelo apoio.

Aos amigos de laboratório: Sandro, Sandra, Carol, Zezinho, Felipe e Rodrigo.

Ao Prof. Dr. Clóvis Augusto Ribeiro (IQ – UNESP) e À Profa. Dra. Raquel F. P. Nogueira (IQ – UNESP) pelas contribuições no exame de qualificação.

A Profa. Dra. Maria Olimpia de Oliveira Rezende (IQSC – São Carlos) e ao Prof. Dr. Alberto José Cavalheiro (IQ – UNESP) pelas contribuições na defesa da dissertação

Aos funcionários do IQ – UNESP, principalmente os da biblioteca e da pós-graduação.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

À todos que de alguma forma contribuíram, direta ou indiretamente para execução desse trabalho.

RESUMO

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos nitrados (NHPAs) constituem a classe de compostos aromáticos que têm pelo menos um grupo nitro ($-\text{NO}_2$) ligado à cadeia aromática de um hidrocarboneto policíclico aromático (HPA). Nos anos 70 a descoberta das propriedades mutagênicas destes compostos, presentes em material particulado atmosférico e na exaustão de motores a diesel, aumentaram o interesse científico sobre a ocorrência dos mesmos no ambiente. Estes compostos, como os HPAs, estão associados a fontes de combustão como automóveis, sistemas de aquecimento (baseados na queima de biomassa ou de combustíveis fósseis); queima de biomassa (cigarro, florestas, culturas agrícolas, etc), por causa disso pode-se prever que tenham uma distribuição abrangente no ambiente.

Os NHPAs são produtos da reação dos HPAs com óxidos de nitrogênio na atmosfera, apresentando-se em concentrações muito baixas neste compartimento ambiental. A análise de NHPAs é muito difícil, principalmente pelos artefactos de amostragem e pela interferência analítica causada por HPAs e outros compostos. Assim sendo, a investigação de métodos alternativos que sejam sensíveis e seletivos são de extrema importância na determinação de NHPAs em amostras atmosféricas.

Neste trabalho estudou-se um método para determinação de 1-nitropireno em material particulado proveniente da queima de cana-de-açúcar. O método inclui a redução do grupo nitro a amino, com posterior determinação por HPLC/fluorescência. O método proposto tem limite de detecção de $0,930\text{ng mL}^{-1}$ e limite de determinação de $1,250\text{ng mL}^{-1}$, apresentando recuperação entre 77,00 e 86,34%, para 5,00 e $50,00\text{ng mL}^{-1}$ respectivamente.

Palavras-chave: Nitro-PAH, HPLC-Flu, Material Particulado Atmosférico

ABSTRACT

Nitrated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (NPAHs) are the class of aromatic compounds with at least one nitro group ($-\text{NO}_2$) enhanced to aromatic chain of a Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH). In 70's the discovery of mutagenic properties of these compounds present in atmospheric particulate matter and in gas exhaust of diesel motors are increased the scientific interest on occurrence of NPAHs into environment. These compounds, as PAHs, are associated with combustion sources as automobiles; harming systems (biomass and combustible based); burning of biomass (cigarette, florest, agricultural cultures, etc), because this they have a ubicous dissemination on environment.

NPAHs are product of reaction of PAHs with nitrogen oxides on atmosphere, and they are present there at very low concentrations. The analysis of NPAHs in atmospheric samples is very difficult, because of artefacts of sampling process and PAH and other compounds interference on analytical determination. Because this, investigation of alternative methods sensitive and selective is necessary for NPAHs determination in atmospheric samples.

In this work is studied a method for determination of 1-nitropyrene from particulate matter of sugar cane burning. The method include reduction of nitro group to amino, and analysis by HPLC/ Fluorescence. The proposed method has detection limit of $0,930\text{ng mL}^{-1}$ and quantification limit of $.1,250\text{ng mL}^{-1}$ showing recovery ranged between 77,00 and 86,34% for concentrations of 5,00 and $50,00\text{ng mL}^{-1}$, respectively.

Key words: Nitro-HPA, HPLC-Flu, Atmospheric Particulate Matter

Lista de Abreviações

AML – Amazônia legal
ASE – Accelerate Solvent Extrtaction
C₆H₁₂:DCM – Ciclohexano:diclorometano
CO – Centro oeste
CV – Coeficiente de variação
DB-50 - 50% fenil, 50% metil polissiloxano
DCM:MeOH – Diclorometano:metanol
EPA – Environmental Protection Agency
FID – Flame Ionization Detection
Flu – Fluorescência
GC/MS – Gas Chromatography / Mass Spectrometry
Hidroxi-HPA - Hidrocarboneto Policíclico Aromático Hidroxilado
HPA – Hidrocarboneto Policíclico Aromático
HPLC – High Performance Liquid Chromatography
HRGC – High Resolution Gas Chromatography
LD – Limite de detecção
LQ – Limite de quantificação
MP – Material Particulado
MPA – Material Particulado Atmosférico
MPO – Material orgânico particulado
N – Norte
NE – Nordeste
NHPA - Hidrocarboneto Policíclico Aromático Nitrado
PCI – Produtos de combustão incompleta
S – Sul
SE – Sudeste
SPE – Solid Phase Extraction
TSD – Thermionic Specific Detector
UV – Ultra violeta

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema de mecanismo para formação de HPA por meio de pirólise....	2
Figura 2: Focos de queimadas no Estado de São Paulo entre 1996 e 2001.....	6
Figura 3: Focos de queimadas no estado de São Paulo nos anos de 2000 e 2001.....	9
Figura 4: Focos de queimadas no estado de São Paulo nos anos de 2000 e 2001.....	10
Figura 5: Pressões de vapor de alguns HPAs com distribuição vapor-partícula....	19
Figura 6: Níveis eletrônicos de energia e transições para os HPAs.....	20
Figura 7: Formação de 2-nitrofluoranteno em fase vapor.....	30
Figura 8: Formação de 2-nitropireno em fase vapor.....	31
Figura 9: Partição vapor-partícula e remoção da atmosfera.....	33
Figura 10: Fluxograma do procedimento para Curva de Calibração do 1-nitropireno.....	48
Figura 11: Fluxograma para extração do 1-nitropireno.....	49
Figura 12: Cromatograma do 1-nitropireno em fuligem sem enriquecimento, com enriquecimento e em solução padrão.....	53
Figura 13: Cromatograma após cleanup da amostra utilizando cartucho Sep-Pack C-18.....	54
Figura 14: Curva de calibração do 1-nitropireno com intervalo de concentração entre 0,50 e 50,00ng mL ⁻¹	58
Figura 14: Curva de calibração do 1-nitropireno com intervalo de concentração entre 10,00 e 50,00ng mL ⁻¹	59
Figura 15: Curva de calibração do 1-nitropireno com intervalo de concentração entre 0,50 e 5,00ng mL ⁻¹	60
Figura 16: Gráfico de linearidade do sistema HPLC/Flu para o 1-nitropireno com intervalo de concentração entre 0,50 e 50,00ng mL ⁻¹	61
Figura 17: Gráfico de linearidade do sistema HPLC/Flu para o 1-nitropireno com intervalo de concentração entre 10,00 e 50,00ng mL ⁻¹	62
Figura 18: Gráfico de linearidade do sistema HPLC/Flu para o 1-nitropireno com intervalo de concentração entre 0,50 e 5,00ng mL ⁻¹	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Compostos emitidos nos diferentes estágios da combustão de biomassa.....	3
Tabela 2: Comparativo das estimativas de emissão de gases e partículas em nível mundial.....	4
Tabela 3: Fontes de emissão de HPAs para a atmosfera.....	5
Tabela 4: Características físicas e sinônimos de 17 HPAs.....	18
Tabela 5: Carcinogenicidade e mutagenicidade de HPA e NHPA.....	22
Tabela 6: Média das concentrações de NHPAs encontradas na região central da Dinamarca no período noturno de fevereiro de 1998 a fevereiro de 1999.....	28
Tabela 7: Comprimentos de onda para os NHPAs após redução.....	44
Tabela 8: Estudo de recuperação do 1-nitropireno por nível de enriquecimento.....	51
Tabela 9: Áreas dos picos dos padrões do 1-nitropireno nas diversas concentrações estudadas.....	52
Tabela 10: Limites de detecção para 1-nitropireno encontrados na literatura pesquisada.....	56
Tabela 11: Resposta do sistema HPLC/Flu para 1-nitropireno.....	57

LISTA DE MAPAS

Mapa 1: Monitoramento orbital de queimadas no Brasil.....	11
Mapa 2: Evolução das queimadas entre 2000 e 2001 no Brasil.....	12
Mapa 3: Monitoramento orbital de queimadas na região Sudeste do Brasil.....	13
Mapa 4: Evolução das queimadas entre 2000 e 2001 na região Sudeste do Brasil.....	14

I.1 – QUEIMA DE BIOMASSA – A GERAÇÃO DE HPAS

É sabido que a queima incompleta de biomassa resulta na formação de HPAs dentre outras espécies orgânicas, cujas propriedades carcinogênicas e/ou mutagênicas têm sido bastante estudadas (SUZUKI et al., 1996; VAN BEKKUM et al., 1997; PADULA et al., 1997; ANGER et al., 1997; HADDAD et al., 1997; GEMEINER et al., 1998; GERDE et al., 1998; WUNT et al., 1998; BENTSEN et al., 1998; BOUCHARD & VIAU, 1998).

Estes compostos são encontrados na fase vapor e principalmente adsorvidos à pequenas partículas consideradas inaláveis (menores de 10µm de diâmetro aerodinâmico). O tamanho e a composição química da partícula depende fundamentalmente do processo que a originou, e estas duas propriedades influenciam no efeito de adsorção dos HPAs (LOPES et al., 1996).

As emissões das queimadas variam com o tipo de combustível utilizado, intensidade do fogo e fase da combustão (*smoldering* ou *flaming*). A fase *flaming* é caracterizada pela combustão com chamas altas (temperatura de 340°C ou maiores); a fase *smoldering*, com temperaturas mais baixas, é caracterizada pela combustão incompleta, sem chamas ou com pequenas chamas onde a conversão pirolítica da biomassa sem oxigênio, predomina.

Os HPAs são emitidos principalmente na forma gasosa, mas uma porção significativa, os HPAs mais pesados, estão associados às partículas finas carbonadas (VASCONCELLOS et al., 1998).

A combustão se processa em três estágios: ignição, *flaming*, e *smoldering*. A ignição é o processo inicial no qual se tem pequenas chamas. No segundo estágio a

combustão é mais eficiente e há emissão de CO_2 , H_2O , N_2 , NO_x e SO_2 . No terceiro estágio, processo de baixa temperatura e ausência de chama, há emissão de grandes quantidades de compostos oxidados incompletamente: CO , CH_4 e outros hidrocarbonetos particulados. A quantidade de emissão de produtos durante a combustão de biomassa é fortemente dependente da razão da combustão *flaming/smoldering* (CRUTZEN et al., 1992). Entre os dois últimos estágios tem-se a formação de etino (C_2H_2) e cianogênio (NCCN). O etino sofre polimerização via radicais livres até a formação de núcleos aromáticos, dando origem aos HPAs **Figura 1**. Alguns HPAs contendo menor número de anéis aromáticos (Naf, Fen e Ant) reagem formando outros HPAs de maior peso (LOPES et al., 1996; HEPP et al., 1995).

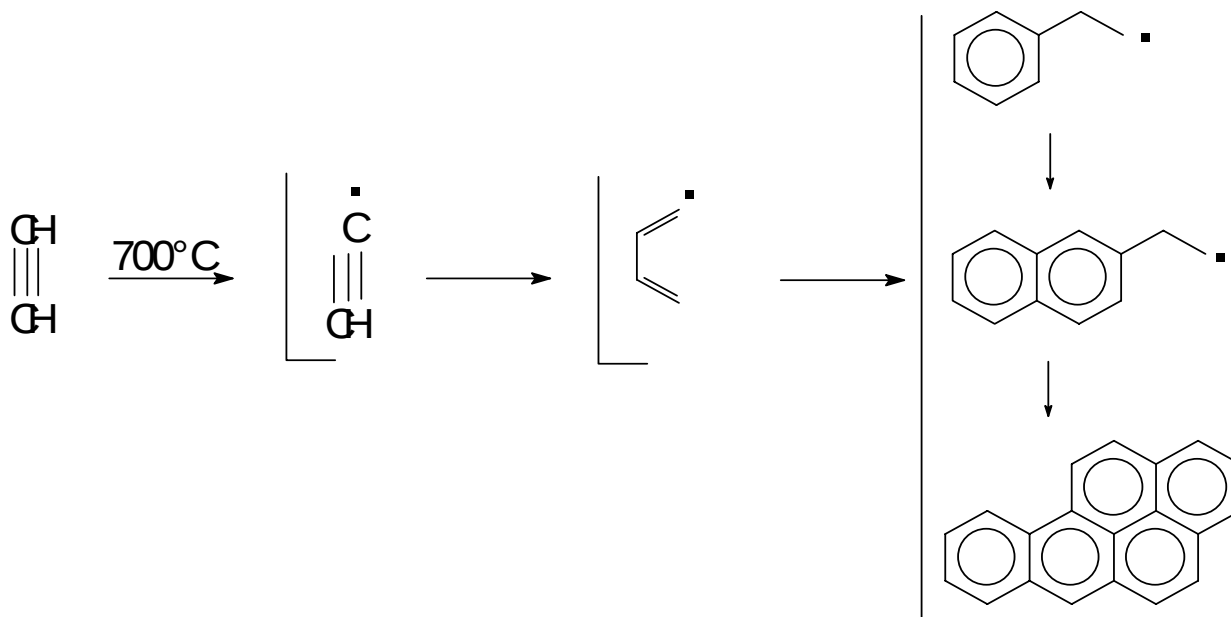


Figura 1: Esquema de mecanismo para formação de HPA por meio de pirólise. (LOPES et al., 1996)

Um resumo dos compostos emitidos nos diferentes estágios da combustão está apresentado na **Tabela 1**. Do total dos compostos carbônicos emitidos, a maioria é referente aos oxigenados. Somente 2 a 3% é de hidrocarbonetos, dos quais 0,5% são atribuídos aos HPAs juntamente com outros hidrocarbonetos saturados.

Tabela 1. Compostos emitidos nos diferentes estágios da combustão de biomassa (JONES et alii, 1978).

ESTÁGIO <i>FLAMING</i>	INTERMEDIÁRIO	ESTÁGIO <i>SMOLDERING</i>
• dióxido de carbono (CO₂) • óxido nítrico (NO) • dióxido de enxofre (SO₂) • óxido nitroso (N₂O) • nitrogênio (N₂) • partículas com alta % de carbono elementar	• etino (C₂H₂) • cianogênio (NCCN)	• monóxido de carbono (CO) • metano (CH₄) • hidrocarbonetos (HC, HPA) • cianeto de hidrogênio (HCN) • cianeto de metila (CH₃CN) • aminas, heterocíclicos, aminoácidos • cloreto de metila (CH₃Cl) • compostos sulfurados (H₂S, COS, DMS, DMDS) • partículas com baixa % de carbono elementar

A queima de biomassa é a maior fonte de emissão de MP, que chega a ser estimada em 104 Tg/ano (104.000.000.000 kg/ano). A estimativa da emissão de gases da combustão de biomassa estão listadas na **Tabela 2**, que também mostra as emissões totais (de todas as fontes) mundial.

Tabela 2. Comparativo das estimativas de emissão de gases e partículas em nível mundial (CRUTZEN et al., 1992).

ESPÉCIES	EMISSIONES DA QUEIMA DE BIOMASSA	EMISSIONES MUNDIAIS (todas as fontes)
CO	120 – 510 Tg C/ano	600 – 1300 Tg C/ano
CH ₄	11 – 53 Tg c/ano	400 – 600 Tg C/ano
H ₂	5 – 16 Tg/ano	~36 Tg/ano
CH ₃ Cl	0,5 – 2 Tg/ano	~2 Tg/ano
NO	2,1 – 5,5 Tg N/ano	25 – 60 Tg N/ano
HCN, CH ₃ CN	0,5 – 1,7 Tg N/ano	>0,4 Tg N/ano
COS	0,04 – 0,20 Tg S/ano	0,6 – 1,5 Tg S/ano
carbono orgânico particulado	24 – 102 Tg/ano	~180 Tg/ano
Carbono elementar	6,4 – 28 Tg/ano	20 – 30 Tg/ano

Os HPAs são oriundos também de fontes tecnológicas que podem ser móveis ou estacionárias. Entre as fontes móveis, destaca-se o motor de combustão interna como o principal emissor de HPA para o ambiente, estando presente em diversos veículos de transporte de cargas e passageiros. As fontes estacionárias são subdivididas entre as utilizadas na geração de energia elétrica e calor e aquelas ligadas à atividade industrial (e.g., produção de alumínio) e de incineração (principalmente de rejeitos químicos) e podem emitir uma grande variedade de PCI. As fontes veiculares de emissão têm uma grande importância devido à complexidade e quantidade, cada vez maior, de material que é lançado na atmosfera. O material particulado emitido por veículos à diesel, por exemplo, é constituído principalmente de carbono elementar que atua como superfície de condensação de HPA e de outros compostos orgânicos. O pequeno tamanho destas partículas determina o longo tempo de residência na atmosfera e a eficiência do processo de deposição na região alveolar dos pulmões (VASCONCELLOS et al., 1998).

A emissão de motores de veículos é considerada a principal fonte de HPAs atmosféricos em áreas metropolitanas. Estudos realizados nos EUA em 1990-1991, indicam que as fontes veiculares contribuem com 35% do total de HPA emitido. Outras fontes como a produção industrial de alumínio, queima de florestas, aquecimento residencial, geração de energia elétrica, etc. também contribuem para formação e emissão de HPA e derivados para a atmosfera **Tabela 3** (KHALILI et al., 1995; BENNER et al., 1989).

Tabela 3: Fontes de emissão de HPA para atmosfera (EUA). (LOPES et al., 1996)

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

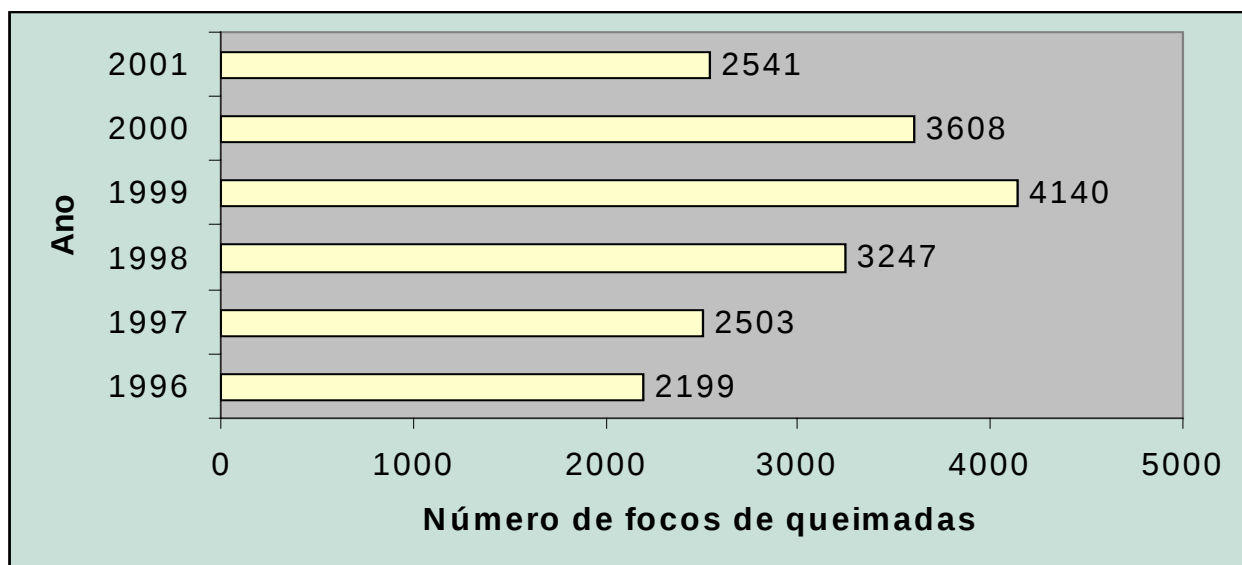
No Brasil não existe ainda uma base de dados que permita estimar as quantidades e as fontes de HPAs lançados na atmosfera.

Os NHPAs também são emitidos diretamente por diversas fontes de combustão. Já foram identificados em material coletado de emissão de motor a diesel e a gasolina, em fumaça de cigarro e madeira. Também, foram encontrados em *toner* de fotocopiadoras, negro de carbono e em material particulado de atmosferas urbanas (WHITE, 1985; JACOB, et al., 1986; MOREIRA, et al., 1995; TANNER, et al., 1983).

No Brasil, há contribuição de MPs provenientes das queimadas no cerrado, no Amazonas e em processo agrícolas. Na Amazônia, as partículas inaláveis superam $300\mu\text{g m}^{-3}$ (CRUTZEN et al., 1992).

A **Figura 2** mostra os dados de focos de queimadas registrados pelo Satélite NOAA no estado de São Paulo nos últimos anos. Observa-se que entre 1996 e 1999 o número de focos aumentou a cada ano, havendo decréscimo entre 1999 e 2001.

Figura 2: Focos de queimadas no Estado de São Paulo entre 1996 e 2001. (EMBRAPA, 2002) (www.cnpm.embrapa.br / acessado em 16 de abril de 2002)



O MP afeta a saúde humana – principalmente os pulmões, provocando efeito crônico na respiração, o ecossistema, pois se depositam sobre as folhas interferindo na adsorção de CO₂ e O₂, e a biosfera, uma vez que pode afetar diversas espécies, alterando a cadeia alimentar e bloqueando a luz solar provocando mudanças climáticas (BOTKIN et al., 1995).

I.1.1 – AS QUEIMADAS EM 2001

Ao longo do ano de 2001, o monitoramento das queimadas foi objeto de uma série de interpretações e análises, por parte de uma equipe multidisciplinar e multi-institucional, além da disponibilização da totalidade dos mapas semanais e mensais no site da Embrapa Monitoramento por Satélite. Os mapas semanais foram sistematicamente

geocodificados e analisados pela ECOFORÇA, no tocante às áreas onde estão ocorrendo as queimadas, sua origem, uso das terras em cada local, impacto ambiental decorrente etc.

Os mosaicos de imagens do satélite Landsat elaborados para a Amazônia e o Nordeste permitiram um apoio relevante para essas interpretações (www.cdbrasil.cnpm.embrapa.br), além de uma rede de contatos no campo com as secretarias estaduais de agricultura e os diversos centros da Embrapa.

Várias mudanças foram introduzidas no site do monitoramento de queimadas da Embrapa Monitoramento por Satélite: balanços anuais, recorte por estados disponíveis sobre toda a base de dados etc. visando atender novas demandas e interesses dos usuários. Notas quinzenais sobre a dinâmica das queimadas, acompanhadas de tabelas, gráficos e mapas foram distribuídas sistematicamente para as autoridades da Embrapa e do MAPA, bem como para organizações não governamentais e para a mídia.

I.1.2 - PRINCIPAIS RESULTADOS NUMÉRICOS E CARTOGRÁFICOS

1.1.2.1 – DADOS NUMÉRICOS DE 2001

O monitoramento orbital de queimadas registrou, entre o início de junho e o final de novembro de 2001, um total de 135.246 focos de fogo, em território nacional, ou 40,7% a mais do que os 96.111 focos do ano passado. O resultado é pior do que o obtido no ano 2000, mas equivalente ao balanço de 1999, que somou 131.234 queimadas, em igual período.

As queimadas foram mais numerosas nos estados do Centro-Oeste, Norte e Nordeste e menos numerosas nos estados do Sul e Sudeste. O Centro Oeste apresentou

aumento de 29,5%; o Norte, de 44% e o Nordeste bateu o recorde, com 91,2% de aumento. A região Sudeste apresentou redução de 28,2% e Sul, menos 45%. Os dados da região Sul devem ser considerados com cautela dadas suas características climáticas particulares.

A **Figura 3** mostra os dados relativos de focos de queimadas do estado de São Paulo no período de junho à novembro dos anos de 2000 e 2001, bem como a **Figura 4** demonstra os mesmos dados, porém com referência a todo o território nacional.

São apresentados os mapas relativos aos totais anuais das queimadas detectadas em 2001 no Brasil e na região Sudeste **Mapas 1 e 3**, bem como os mapas das relações de focos de queimadas entre 2000 e 2001 também no Brasil e na região Sudeste **Mapas 2 e 4**, respectivamente.

FIGURA 3: Focos de queimadas no estado de São Paulo nos anos de 2000 e 2001. (gráfico construído a partir dos dados fornecidos pela EMBRAPA. (www.cnpqm.embrapa.br / acessado em 16 de abril de 2002).

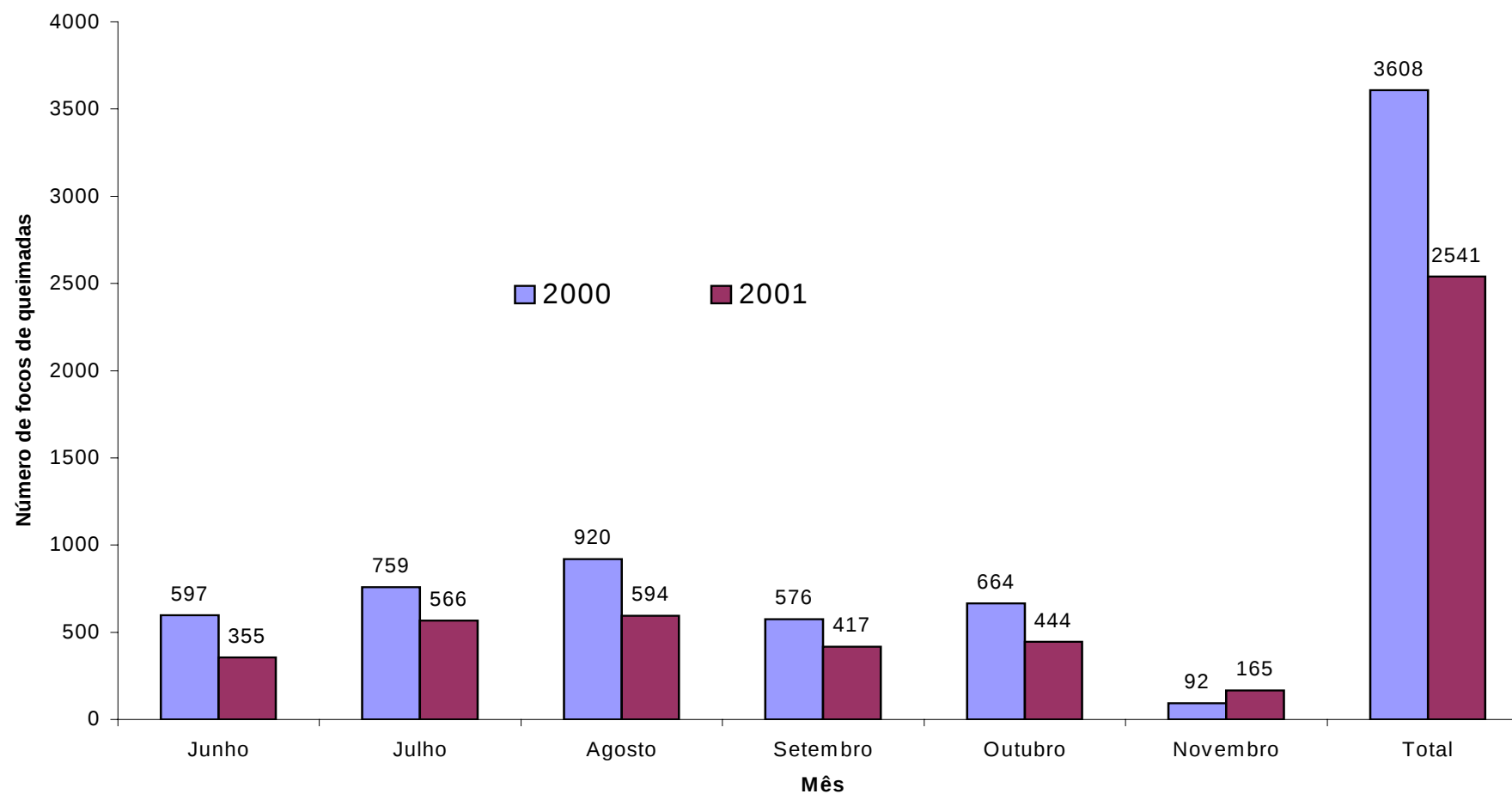
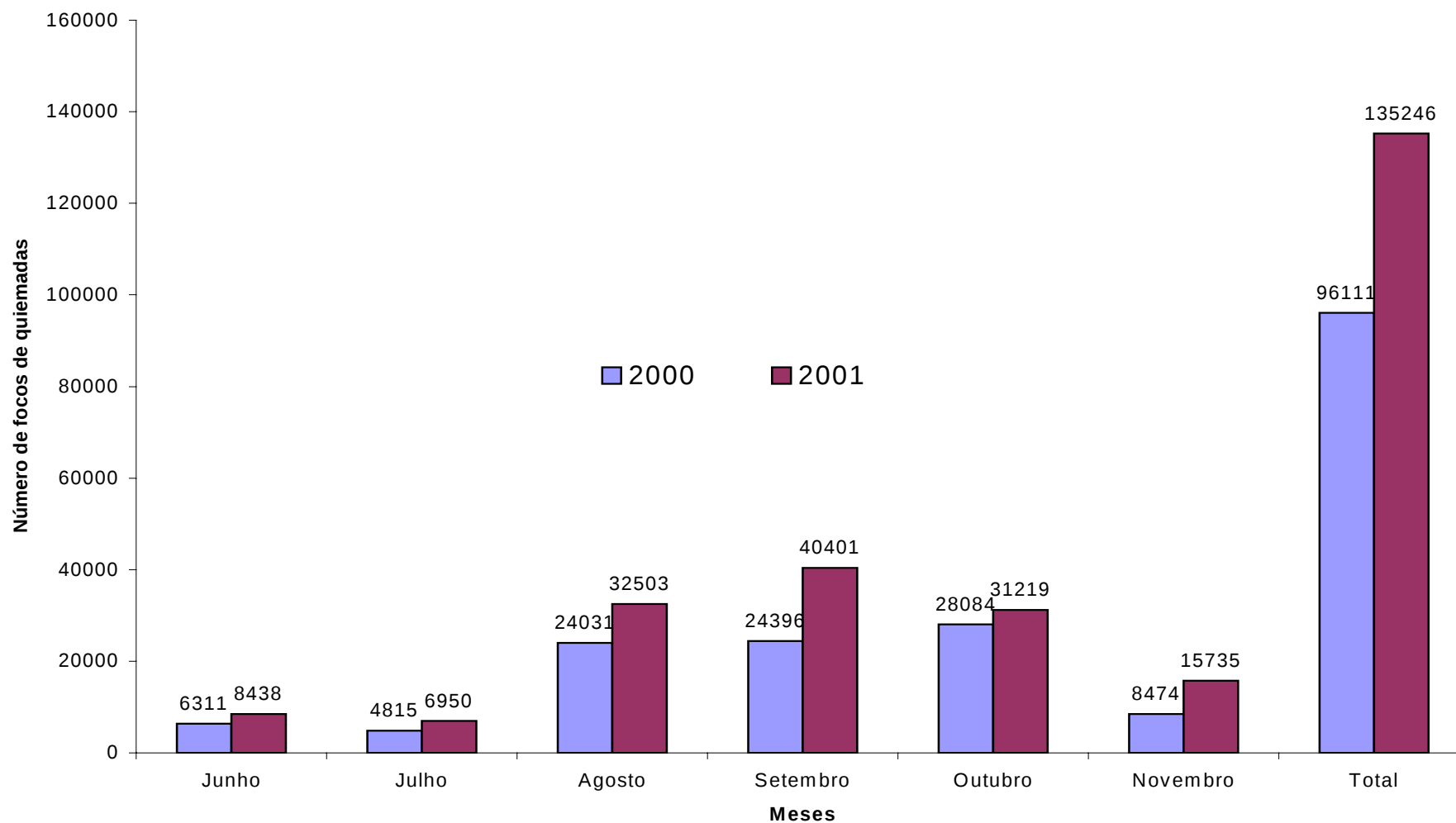


FIGURA 4: Focos de queimadas no Brasil nos anos de 2000 e 2001. (gráfico construído a partir dos dados fornecidos pela EMBRAPA. (www.cnpm.embrapa.br / acessado em 16 de abril de 2002).



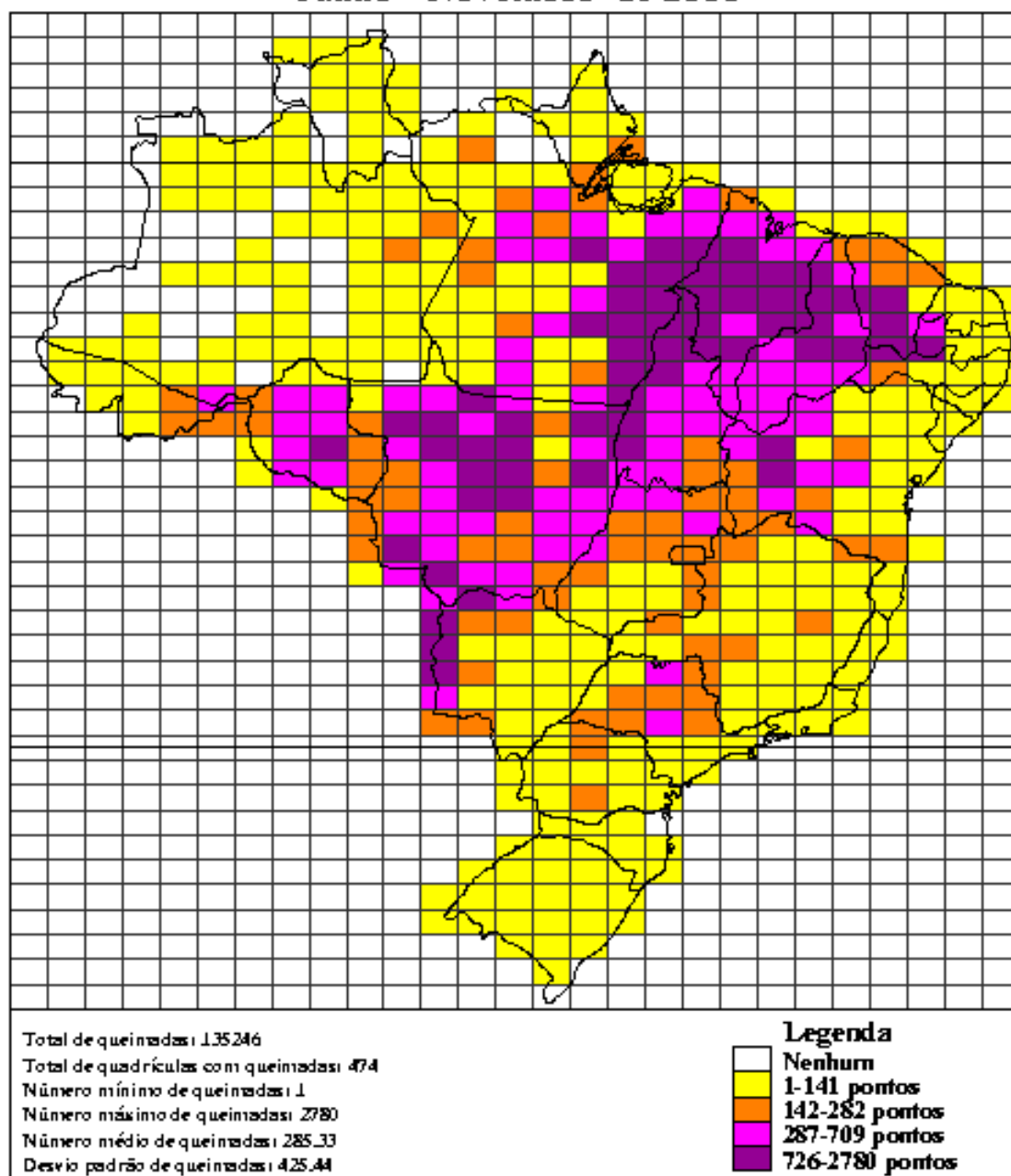


Monitoramento por Satélite

Monitoramento Orbital de Queimadas

Brasil

Junho - Novembro de 2001



Dados do Satélite NOAA: Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE-MCT)
 Mapeamento Digital e Arte Final: Embrapa Monitoramento por Satélite (CNPq)
 Interpretação Espacial e Análise Ambiental (ECO FORÇA)
 Difusão: Agência Estado (AE)

Mapa 1: Monitoramento orbital de queimadas no Brasil (www.queimadas.cnpm.embrapa.br)

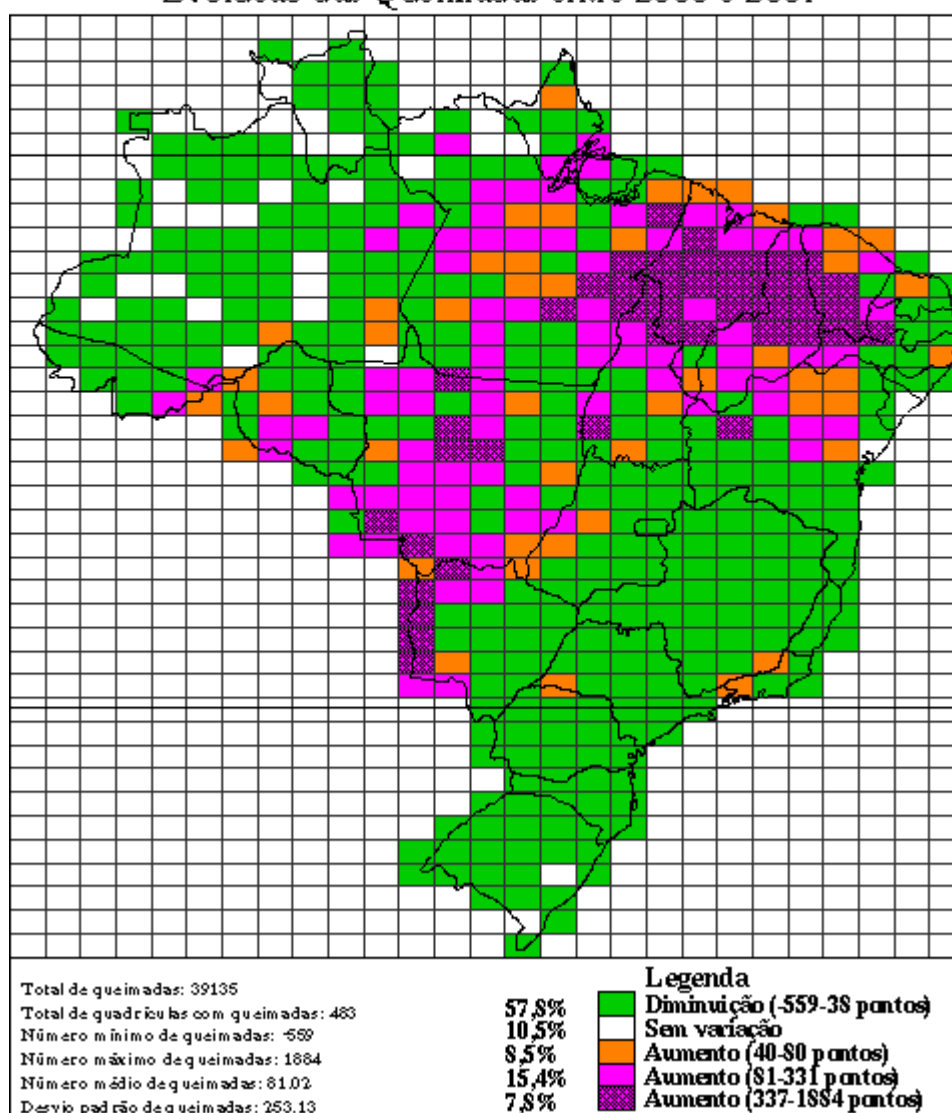


Monitoramento por Satélite

Monitoramento Orbital de Queimadas

Brasil

Evolução das Queimadas entre 2000 e 2001



Mapa 2: Evolução das queimadas entre 2000 e 2001 no Brasil
(www.queimadas.cnpm.embrapa.br)

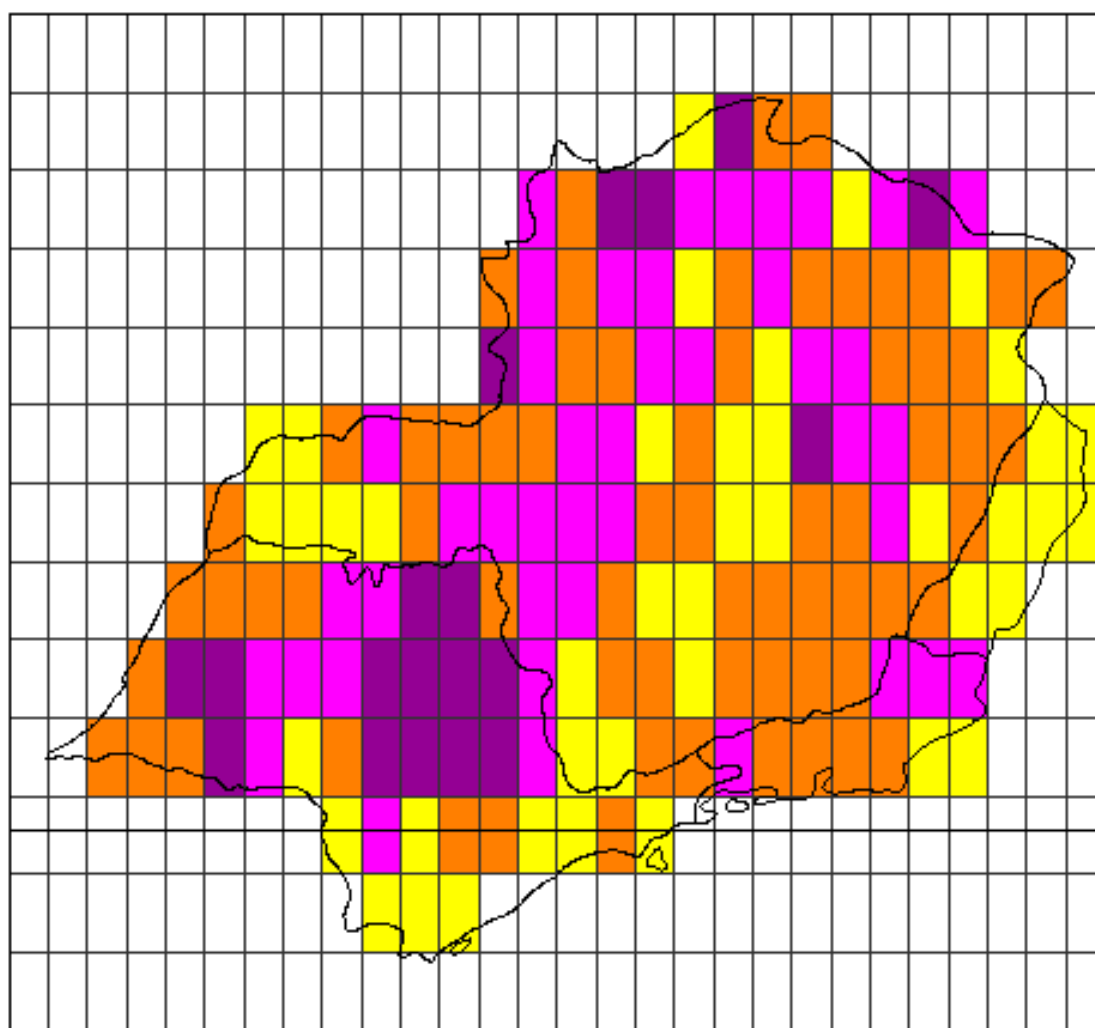


Monitoramento por Satélite

Monitoramento Orbital de Queimadas

Região Sudeste

Junho - Novembro de 2001



Total de queimadas: 6494
 Total de quadrículas com queimadas: 169
 Número mínimo de queimadas: 1
 Número máximo de queimadas: 234
 Número médio de queimadas: 38,43
 Desvio padrão de queimadas: 33,44

Legenda
 Nenhum
 1-18 pontos
 19-36 pontos
 38-69 pontos
 73-234 pontos

Dados do Satélite NOAA: Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE-MCT)
 Mapeamento Digital e Arte Final: Embrapa Monitoramento por Satélite (CNPM)
 Interpretação Espacial e Análise Ambiental (ECO FORÇA)
 Difusão: Agência Estado (A/E)

Mapa 3: Monitoramento orbital de queimadas na região Sudeste do Brasil (www.queimadas.cnpm.embrapa.br)

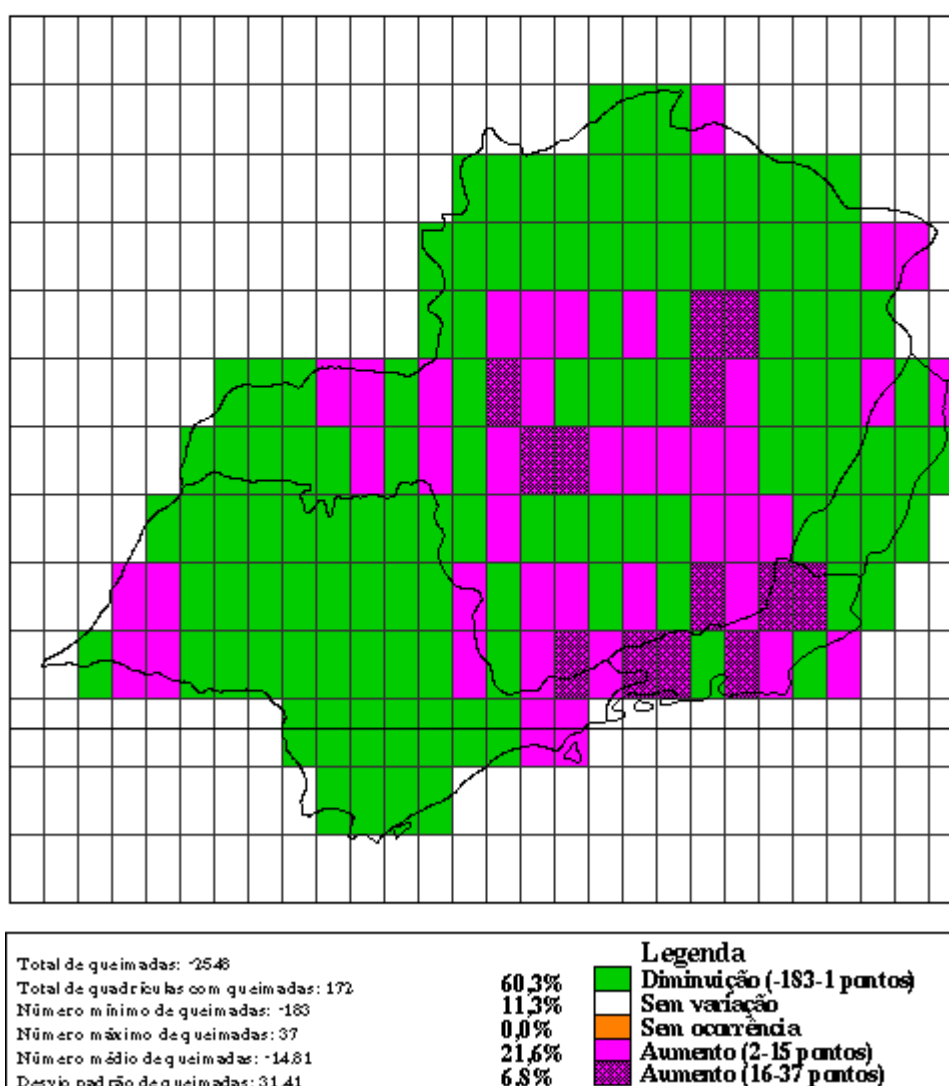


Monitoramento por Satélite

Monitoramento Orbital de Queimadas

Região Sudeste

Evolução das Queimadas entre 2000 e 2001



Mapa 4: Evolução das queimadas entre 2000 e 2001 na região Sudeste do Brasil (www.queimadas.cnpm.embrapa.br)

I.1.3 – A CANA-DE-AÇÚCAR E A REGIÃO DE ARARAQUARA

Oficialmente, foi Martim Affonso de Souza que em 1532 trouxe a primeira muda de cana ao Brasil e iniciou seu cultivo na capitania de São Vicente, mas foi efetivamente no nordeste do Brasil, principalmente nas capitanias de Pernambuco e da Bahia que os engenhos de açúcar se multiplicaram. Era o início de uma indústria que encontrou no Brasil, dentre todas as nações que mais tarde também se tornariam produtoras, seu campo mais fértil para uma rápida expansão e perpetuação por quase quinhentos anos sem interrupção. (MACHADO, 2000)

Hoje a cana-de-açúcar é uma importante matéria prima, uma vez que dela derivam etanol (principalmente para uso como combustível automotivo), outros álcoois, açúcar, óleo fúsel, fertilizantes, produtos para a indústria cosmética como o ácido glicólico, entre outros.

O mercado sucroalcoleiro movimenta cerca de 12,7 bilhões por ano, com faturamentos diretos e indiretos (correspondendo a 2,3% do PIB brasileiro). Este setor faz do Brasil o maior produtor mundial de açúcar de cana (o cultivo da cana é feito em quase todos os estados brasileiros ocupando uma área de 4 milhões de hectares) e o único país do mundo a implantar em larga escala um combustível alternativo ao petróleo. Na safra 99/2000 foram produzidas 315 milhões de toneladas de cana, sendo 20 milhões de toneladas de açúcar e 12,8 milhões de litros de álcool. No estado de São Paulo, a produção de açúcar chegou perto de 260 milhões de sacas e aproximadamente 8 bilhões de litros de álcool. O parque sucroalcoleiro nacional possui 308 indústrias em atividade, sendo 81 destilarias autônomas e 227 usinas de açúcar/álcool. (JORNALCANA, 2000; OLIVARES, 2000).

A colheita de cana-de-açúcar é efetuada por cerca de 6 meses (maio a novembro a cada ano). Imediatamente antes da colheita - em geral a queimada é feita no

final da tarde/início da noite e o corte inicia-se pela manhã - os canaviais são submetidos à queimada com o duplo propósito de diminuir a quantidade de água nas plantas (por ação do calor), aumentando consequentemente o teor de sacarose por volume cortado; e facilitar o corte que é predominantemente manual. Desta operação de queima resulta uma fuligem que permanece algum tempo em suspensão no ar e tem sido apontada como responsável pelo aumento da incidência de casos de afecções respiratórias na população. Esta fuligem contém diversos HPAs considerados prioritários pela EPA além de alguns alquil-substituídos (ZAMPERLINI, 1997a; SIMÕES, 2000).

O uso do fogo para queimar restos das culturas ou a palha, (se as palhas fossem queimadas em caldeiras, gerariam energia equivalente a ½ Itaipú) para facilitar o plantio e a colheita, é uma prática antiga e considerada por muitos agricultores como a mais econômica, mas a economia obtida tem curta duração. Ao longo dos anos, o fogo empobrece e elimina microorganismos que dão força ao solo, o que acarreta queda na produtividade das lavouras. As queimadas também afetam negativamente a biodiversidade e a dinâmica dos ecossistemas além de prejudicar a qualidade do ar (ZAMPERLINI, 1997 b; ESTADO DE SÃO PAULO, 2000a).

No estado de São Paulo, somam cerca de 220 mil os trabalhadores rurais que atuam no corte de cana-de-açúcar (LIMA, 2000). A produtividade do cortador de cana no estado de São Paulo é a maior do país, cortam por dia aproximadamente 20 toneladas. O piso para uma jornada de 8 horas é de R\$ 300,00 mensais. (ESTADO DE SÃO PAULO, 2000 b, FERREIRA, 1997.)

I.1.4 – PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS DOS HPAs

À temperatura ambiente os HPAs são sólidos. A característica comum a estes compostos são altos pontos de fusão e ebulição, baixa pressão de vapor e muito

baixa solubilidade em água que tende a decrescer com o aumento da massa molecular. São solúveis em solventes orgânicos, altamente lipofílicos e pouco reativos. Quando reagem, ocorrem dois tipos de reação: substituição eletrofílica e adição (WHO, 1998). Algumas características físicas são apresentadas na **Tabela 4**.

Tabela 4: Características físicas e sinônimos de 17 HPAs.

<i>HPA</i>	<i>Sinônimo</i>	<i>FM</i>	<i>PM</i>	<i>PF (°C)</i>	<i>PE (°C)</i>
Acenafteno		C ₁₂ H ₁₀	154,21	93,4	279
Acenaftileno	acenaftaleno	C ₁₂ H ₈	152,20	92,5	280(d)
Antraceno		C ₁₄ H ₁₀	178,23	215	340(s)
Benzo[a]antraceno	1,2-bezantraceno; benzo[b]fenantreno; 2,3-benzofenantreno; tetrafen	C ₁₈ H ₁₂	228,29	167	435(s)
Benzo[e]acefenantrileno	Benzo[b]fluoranteno 3,4-benzofluoranteno 2,3-benzofluoranteno	C ₂₀ H ₁₂	252,32	168	--
Benzo[k]fluoranteno	11,12-benzofluoranteno	C ₂₀ H ₁₂	252,32	217	480
Benzo[g,h,i]perileno	1,12-benzoperileno	C ₂₂ H ₁₂	276,34	278	525(s)
Benzo[a]pireno	3,4-benzopireno; 6,7-benzopireno	C ₂₀ H ₁₂	252,32	177	495
Benzo[e]pireno	1,2-benzopireno 4,5-benzopireno	C ₂₀ H ₁₂	252,32	178	311
Criseno	1,2-benzofenantreno; benzo[a]fenantreno	C ₁₈ H ₁₂	228,29	258	448(s)
Dibenzo[a,h]antraceno	1,2,5,6-dibenzoantraceno	C ₂₂ H ₁₄	278,35	270	524(s)
Fluoranteno	Benzo[j,k]fluoreno	C ₁₆ H ₁₀	202,26	108	384(s)
Fluoreno		C ₁₃ H ₁₀	166,22	115	295(sv)
Indeno[1,2,3-cd]pireno	2,3-fenilenopireno	C ₂₂ H ₁₂	276,34	164	--
Naftaleno	nafteno	C ₁₀ H ₈	128,17	80,2	218(s)
Fenantreno		C ₁₄ H ₁₀	178,23	99,2	340 (sv)
Pireno	Benzo[d,e,f]fenantreno	C ₁₆ H ₁₀	202,26	151	404(s)

PM = peso molecular; FM = fórmula molecular; PE = ponto de ebulição; PF = ponto de fusão;

(s)= sublima; (sv)= sublima a vácuo; (d)= decomposição

Os HPAs podem ser encontrados na fase vapor ou particulada, sendo esta propriedade determinada pela pressão de vapor do composto e temperatura ambiente. A **Figura 5** ilustra as pressões de vapor e as fases em que se encontram os HPAs (LANE, 1989).

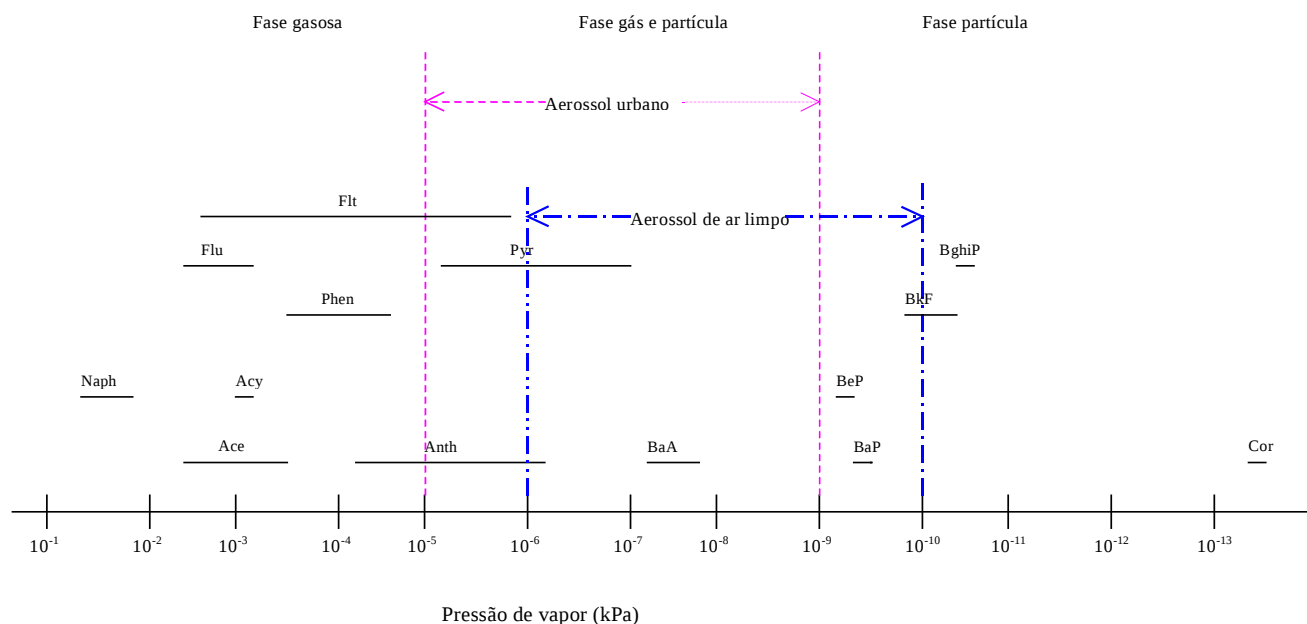


Figura 5: Pressões de vapor de alguns HPAs com distribuição vapor-partícula.

Abreviações: Ace (acenafteno); Acy (acenaftileno); Anth (antraceno); BaA (benzo[a]antraceno); BaP (benzo[a]pireno); BeP (benzo[e]pireno); BghiP (benzo[ghi]perileno); BkF (benzo[k]fluoranteno); Cor (coroneno); Flu (fluoreno); Naph (naftaleno); Phen (fenantreno); Pyr (pireno).

Devido presença dos anéis aromáticos, os HPAs possuem características fluorescentes.

Os espectros eletrônicos produzidos por transições $\sigma \rightarrow \sigma^*$ se situam nas zonas de comprimentos de ondas mais curtos do espectro eletromagnético. Os elétrons π , ao contrário, estão mais livres do que os elétrons σ . O espectro de emissão correspondente se situa na região de comprimentos de onda mais longos. (SIERRA, 1996; ANDRADE, 2000).

Devido a disponibilidade dos orbitais π ligantes de alta energia e os π^* antiligantes de relativa baixa energia, os HPAs absorvem radiação UV ou visível pela transição de um elétron de um orbital π para um π^* que dá espectros característicos de absorção e fluorescência. O processo ocorre quando luz UV ou visível é absorvida pelo HPA. Excitação leva a molécula do estado S_0 (estado fundamental) para o estado S_1 (estado excitado). Em sistemas condensados, qualquer excesso de energia vibracional, é

perdido em picosegundos transferidos para a vizinhança. Do estado S_1 a molécula pode retornar ao estado S_0 por conversão interna ou por fluorescência ou então ser convertida a níveis vibracionais excitados do estado triplete menor T_1 e por uma conversão interna (crossing intersystem- ISC) muito rápida (menor do que 1ps) passa para o menor nível vibracional de T_1 **Figura 6**.

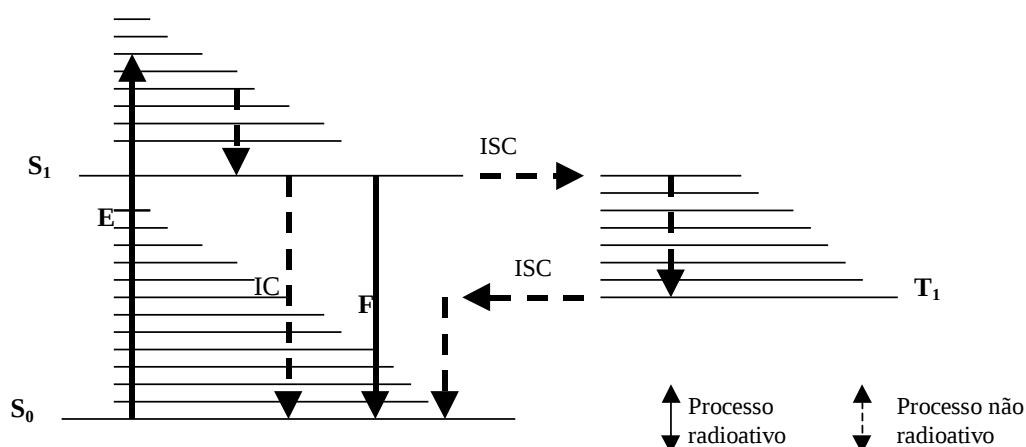


Figura 6: Níveis eletrônicos de energia e transições para os HPAs (LEE, 1981).

I.1.5 - CARACTERÍSTICAS MUTAGÊNICAS E CARCINOGÊNICAS DOS HPAS

I.1.5.1 – ATIVIDADES BIOLÓGICAS

Uma grande variedade de substâncias químicas presentes no ambiente, e.g., na água, atmosfera, solo, plantas, alimentos, etc., são benignas ou ativamente benéficas. Contudo, tem aumentado muito o relato de poluentes ambientais que apresentam atividade mutagênica e cancerígena. A caracterização da atividade biológica e a quantificação destes compostos no ambiente não é suficiente para determinar o risco individual. Geralmente, após absorção pelo organismo, estas substâncias são convertidas em metabólitos ativos. Uma rigorosa avaliação dos riscos requer a determinação dos

efeitos resultantes da exposição, conhecimento da relação dose-resposta e compreensão do mecanismo de mutagênese para cada substância química considerada. Isto finalmente depende de metodologias analíticas adequadas para a quantificação de metabólitos ativos oriundos de poluentes ambientais (WISHNOK, 1922).

O HPAs estão entre aqueles poluentes ambientais que apresentam atividade cancerígena e mutagênica e que, já comprovado, provocam tumoração em animais e mutação em bactérias (WISHNOK, 1922; SELKIRK, 1980; MOREIRA et al., 1995; PITTS et al., 1978; MOLLER, et al., 1980; SIAK et al., 1985).

A incidência de câncer pulmonar é maior em áreas urbanas do que na zona rural, havendo a suspeita de que o MPA contribua para este fato. O benzo[a]pireno que está presente no aerossol atmosférico urbano é um agente cancerígeno (JACOB et al., 1984; HENDERSON et al., 1975). O extrato orgânico de aerossol atmosférico, que contém HPA e derivados, apresenta atividade mutagênica em ensaios *in vitro* (DAISEY et al., 1980). A atividade mutagênica do MPA ambiental é muito similar àquela dos aerossóis provenientes da emissão de motores a diesel que contém compostos com ação mutagênica direta como o 1-nitropireno (CHAN et al., 1981; LACOURSE et al., 1985).

A comparação entre a atividade mutagênica do Pireno (inativo), Benzo[a]Pireno (2,3 mutantes/nmol) e 1,8-dinitropireno (254.000 mutantes/nmol), por meio de teste *Ames*, indica que os nitroarenos são potentes agentes mutagênicos com atividade cancerígena equivalente aos dinitropirenos. A conclusão é que a mutagenicidade potencial não é necessariamente convertida em carcinogenicidade potencial (WHITE, 1985; MOREIRA et al., 1995; OHGAKI et al., 1984). O grau de carcinogenicidade e mutagenicidade de alguns HPAs são mostrados na **Tabela 5** (JACOB et al., 1984).

Tabela 5: Carcinogenicidade e mutagenicidade de HPA e NHPA (JACOB et al.; 1984).

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

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

I.1.5.1.1 - MUTAGÊNESE:

Mutação é toda alteração do material genético de uma célula que não resulta de segregação ou recombinação. Substâncias químicas com propriedades mutagênicas podem provocar modificações no material genético das células de modo que estas sejam transmitidas às novas células durante a divisão. Estas mutações podem ocorrer tanto em células somáticas quanto em células reprodutivas. Dependendo da célula afetada, as mutações podem acarretar desde a inviabilidade de desenvolvimento da célula ovo, passando por morte do embrião ou feto até o desenvolvimento de anormalidades congênitas que podem ser transmitidas hereditariamente (LARINI, 1997; OGA, 1996).

I.1.5.1.2 - CARCINOGENESE:

O termo câncer refere-se a qualquer das várias doenças que ocorrem quando o processo da divisão celular, pela qual os tecidos normalmente crescem e/ou se renovam, descontrola-se, levando ao desenvolvimento de células malignas (MENDES, 1995). Muitas são as teorias para explicar a origem do câncer, uma das mais difundidas é a que está explicitada a seguir. A aplicação de um carcinógeno não leva ao imediato

aparecimento de tumor. Há uma série de mudanças após a etapa de iniciação induzida pelo carcinógeno. A etapa subsequente - promoção tumoral – pode ser produzida pelo carcinógeno ou por outras substâncias (agentes promotores) os quais, isoladamente, não causam o aparecimento de tumores. A iniciação, que é o primeiro passo essencial no processo, é muito rápida, mas, uma vez que a mudança inicial teve lugar, as células iniciadas podem persistir por tempo considerável, até mesmo toda a vida de um indivíduo. O local mais provável de ocorrência do primeiro evento é o material genético (DNA), embora haja outras possibilidades. Acredita-se que o carcinógeno modifique ou destrua genes específicos provavelmente no DNA das células de linhagem primitiva do tecido envolvido (FRANKS, 1990).

As células iniciadas permanecem latentes até que sobre elas atuem os agentes promotores. Muitas dessas células “transformadas” nunca crescerão ou o farão muito lentamente. Agentes promotores não são carcinogênicos em si mesmos, mas induzem a divisão celular em um tecido iniciado. Muitos agentes são indutores de divisão celular, mas somente os promotores provocarão desenvolvimento tumoral, de forma que embora o crescimento celular seja necessário para o desenvolvimento do tumor, outros fatores deverão também estar envolvidos (FRANKS, 1990).

A seqüência completa de eventos no processo de formação tumoral é quase que certamente a consequência de mudanças gênicas, embora a expressão de genes possa ser influenciada pelo hospedeiro.

Uma área muito importante mas ainda inexplicada, diz respeito à escala de tempo da carcinogênese. O período de latência entre a iniciação e o aparecimento de tumores é um dos aspectos menos compreendidos do desenvolvimento tumoral. Após exposição a carcinógenos industriais, pode-se passar um período superior a 20 anos antes que o tumor se desenvolva. (FRANKS, 1990).

Nos últimos 20 anos, acumularam-se evidências de que na grande maioria dos casos (80% ou mais) o câncer é, primariamente, o resultado da exposição a fatores exógenos e, ainda, do acaso, que tem um importante papel na distribuição aleatória de mutações sobre o DNA. Muitos desses fatores exógenos são encontrados no ambiente de trabalho (MENDES, 1995).

I.1.5.2 - CLASSIFICAÇÃO DOS AGENTES QUÍMICOS QUANTO AO POTENCIAL TÓXICO

Segundo o potencial tóxico, os agentes químicos podem ser classificados em grupos conforme preconizado pela *International Agency for Research on Cancer* (IARC, 2000; LARINI, 1997).

- ♦ **Grupo 1:** o toxicante é provavelmente carcinogênico, existindo evidências suficientes de carcinogenicidade em estudos que incluem o homem (estudos epidemiológicos);
- ♦ **Grupo 2:** o toxicante é provavelmente carcinogênico. Este grupo compreende dois subgrupos:
 - **Subgrupo 2A:** existem evidências limitadas de carcinogenicidade em seres humanos e evidências suficientes em animais de laboratório.
 - **Subgrupo 2B:** é usado quando existem evidências inadequadas ou inexistência de carcinogenicidade em relação ao homem e evidências suficientes em animais de laboratório.
- ♦ **Grupo 3:** o agente tóxico é possivelmente carcinogênico para o homem. Neste grupo estão incluídos os compostos com evidências limitadas em estudos com animais de laboratório e ausência de evidências no homem.

- ♦ **Grupo 4:** o agente tóxico não pode ser classificado em função da ausência de informações ou pela existência de estudos, no homem e em animais, com evidências inadequadas.
- ♦ **Grupo 5:** o toxicante não é carcinogênico, existindo estudos que comprovam a ausência de efeitos ao homem e animais de laboratório.

Até o final dos anos 60, considerava-se que os HPAs eram incapazes de mutar células em cultura. Isto ocorria porque muitos carcinógenos necessitavam ser metabolizados por enzimas celulares a derivados reativos antes de se tornarem efetivos, e os testes celulares utilizados até então eram deficientes em uma ou mais funções metabólicas e incapazes de ativar o carcinógeno. Da mesma maneira, estes compostos químicos precisam ser metabolizados a derivados eletrofílicos antes de se tornarem carcinogênicos (WIGLEY, 1990).

I.1.6 - FONTES DE EXPOSIÇÃO HUMANA AOS HPAS

A exposição da população em geral aos HPAs ocorre porque estes compostos estão presentes no ambiente devido as atividades como processamento de carvão, de gás e óleo; fundição de alumínio, ferro e aço; combustão de resíduos, tráfego de veículos a motor, fumo, queima de biomassa, aquecimento residencial, etc. (WHO, 1998). Outra fonte são os alimentos como carne assada e defumada, folhas vegetais, grãos, óleos e gorduras (MENZIE, 1992, NOLL, 1993, CAMARGO, 1998). Acredita-se que a presença dos HPAs em folhas e grãos seja causada por deposição atmosférica, sendo a concentração de HPAs nestes alimentos na ordem de ppb (WHO, 1998).

A exposição ocupacional aos HPAs é de grande importância, uma vez que altas concentrações de HPAs são encontradas no ambiente de trabalho. As exposições

ocorrem durante o uso de carvão e produtos do óleo mineral nas coqueiras, refinarias de petróleo, pavimentação das estradas, impregnação da madeira com creosoto, etc.

A queima de cana-de-açúcar é uma atividade da qual resultam HPAs (ZAMPERLINI, 1997a).

I.1.7 – NHPAs

Dentre as substâncias consideradas mutagênicas e/ou carcinogênicas associadas ao MPA também podem ser encontradas outras classes de HPAs, tais como, os HPAs contendo substituintes nitrogenados, como os NHPAs e lactonas de NHPAs, os hidroxi-HPAs, HPAs que contêm grupos hidroxilas, etc. (DURANT et al., 1998).

Enquanto os HPAs são emitidos durante a queima de biomassa, os derivados nitrados são produzidos, principalmente, pela reação dos primeiros com agentes nitrantes (NO , HNO_3 , N_2O_5 e radicais NO_3) (VASCONCELOS et al., 1998; WHITE, 1985). A formação atmosférica dos NHPAs na fase gasosa pode ser iniciada a partir da reação dos HPAs com radicais OH ou NO_3 (ATKINSON & AREY, 1994). A identificação dos NHPAs em emissões de fontes de combustão, por outro lado, é uma clara indicação de suas formações durante o processo de combustão. No entanto, a descoberta nos anos 80 que a natureza dos nitro isômeros e suas abundâncias relativas diferem entre fontes e a atmosfera indicam que os NHPAs também poderiam ser formados na atmosfera. Desta maneira, em um curto espaço de tempo o 1-Nitropireno tende a predominar em amostras de motores à diesel bem como o 2-Nitrofluoranteno em MPA o qual não foi identificado como um poluente primário emitido de fontes de combustão. Pesquisas em laboratórios tem mostrado que tais compostos podem ser formados da reação em fase gasosa entre os HPAs parentes com o radical OH na presença de NO_x a luz do dia, ou com pentóxido de dinitrogênio à noite (LOPES, 1996).

Os NHPAs são a classe de compostos aromáticos com no mínimo um grupo funcional nitro ($-\text{NO}_2$) ligado à cadeia aromática de um HPA. Nos anos 70, a descoberta do potencial mutagênico dos NHPAs presentes em extratos orgânicos de MPA e posteriormente em extratos de motores a diesel conduziu a um grande aumento no interesse sobre a ocorrência destes compostos no meio ambiente. Estes compostos estão associados geralmente a fontes de combustão como veículos automotores, aquecedores a querosene e queima de biomassa (cigarro, florestas, etc), podendo-se esperar uma importante disseminação no ambiente. Como são substâncias semi-voláteis têm o potencial de dividir-se entre a fase vapor e a adsorção em partículas atmosféricas, dependendo principalmente da pressão de vapor de cada composto e das condições ambientais, em similaridade com o que ocorre para os HPAs (LOPES, 1996).

O impacto causado pelos HPAs e derivados nitrados e oxigenados ao ambiente não está ainda completamente estabelecido. A maior preocupação, contudo, diz respeito ao que poderá acontecer no futuro, e, conseqüentemente, que ações podem ser tomadas para controle das fontes de emissão, e como neutralizar os efeitos e reparar os danos causados à natureza (LOPES, 1996).

A Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) (MOREIRA et al., 1995) considera os NHPAs como uma das classes de substâncias que pode estar associada com o aumento da incidência de câncer nos últimos anos. A genotoxicidade destes compostos depende da estrutura do composto, do número e da posição dos átomos de nitrogênio. A maioria dos NHPAs são agentes mutagênicos diretos, em bactérias, sendo a mutagenicidade dependente da redução enzimática da função nitro à hidroxilamina correspondente. O mecanismo de ação é semelhante ao verificado para metabólitos dos HPAs (ROSENKRANZ et al., 1985).

Apesar dos NHPAs encontrarem-se largamente disseminados no ambiente, em geral apresentam-se em baixíssimas concentrações e na presença de complexas

matrizes orgânicas. Espécies com polaridade similar, como os HPAs, cetonas aromáticas e quinonas, podem co-eluir com os NHPAs em diversos sistemas cromatográficos .

A ocorrência de NHPAs associados com MPA foi investigado por FEILBERG et al., 2001 em uma região urbana e uma região semi rural da Dinamarca. Para este trabalho um método baseado em GC/MS foi desenvolvido e aplicado, utilizando-se de uma coluna capilar de sílica fundida DB-5 com 30m de comprimento e do modo do íon extraído para detecção dos analitos. Os níveis de NHPAs foram comparados com níveis de outros poluentes atmosféricos incluindo HPAs, gases inorgânicos e material particulado, bem como com parâmetros meteorológicos. Na **Tabela 6** podem ser vistas as concentrações encontradas para NHPAs neste estudo.

Tabela 6: Média das concentrações de NHPAs encontradas na região central da Dinamarca no período noturno de fevereiro de 1998 até fevereiro de 1999 (FEILBERG et al., 2001)

Composto	Média (pg m⁻³)
9 – Nitroantraceno	14,3 ± 16,5
2 – Nitrofluoranteno	40,9 ± 33,1
3 – Nitrofluoranteno	29,0 ± 25,0
1 – Nitropireno	17,4 ± 18,7
2 – Nitropireno	3,8 ± 3,5

I.1.7.1 – REAÇÕES DOS HPAs COM ÓXIDOS DE NITROGÊNIO

O efeito da luz sobre a velocidade de nitratação dos HPAs também é um tema de resultados contraditórios. O pentóxido de nitrogênio (N₂O₅), uma espécie produzida somente à noite, mostrou ser reativo (LANE, 1989; 1991).

A presença de 2-nitropireno em amostras atmosféricas não é bem explicada. Foi sugerido que a reação do dióxido de nitrogênio com ambas fases vapor e partícula se dá através de um radical hidróxi (OH) que leva à espécie mononitrada (NIELSEN, 1984). Nem o 2-nitropireno nem o 2-nitrofluoranteno foram identificados como produtos de

combustão, embora apareçam nas amostras atmosféricas, o que evidencia que tais reações atmosféricas ocorrem de fato. Reações com radicais hidróxi somente ocorrem durante o dia.

I.1.7.1.1 – FORMAÇÃO E OCORRÊNCIA DOS NHPAS NA ATMOSFERA – MECANISMO DE REAÇÃO

A presença de NHPAs associados com partículas na atmosfera foi relatada por vários autores durante os últimos 20 anos (AREY et al., 1987, 1988; CICCIOIOLI et al., 1996; NIELSEN et al., 1984; PITTS Jr. et al., 1985).

É esperado que NHPAs com 3 ou 4 anéis aromáticos estejam preferencialmente associados com MPA (AREY et al., 1987; FAN et al., 1995). Acredita-se que o 1-nitropireno e o 3-nitrofluoranteno sejam formados a partir de fontes de emissão primárias (PITTS et al., 1985; NIELSEN et al., 1984). O 1-nitropireno é um dos NHPAs mais abundantes, desta classe de compostos, encontrados em extratos particulados e embora a concentração dos dinitropirenos, tais com, 1,3-dinitropireno, 1,6-dinitropireno e 1,8-dinitropireno, seja bem menor que a concentração do 1-nitropireno, suas atividades mutagênicas são muito maiores (LI et al., 1994).

Os HPAs podem ser nitrados, nitrosados ou oxidados como resultado destas reações. A reação pode ocorrer em fase vapor ou sobre material particulado. A formação de NHPA pode também ocorrer durante o processo de coleta, constituindo-se, neste caso, um artefato de amostragem. *Pitts et al* demonstraram que HPA depositado sobre filtros são convertidos a NHPA pela passagem de NO₂ (JACOB et al., 1986; KAGAN, et al., 1990).

Uma evidência direta de que tais reações atmosféricas ocorrem, de fato, foi obtida pelo isolamento do 2-nitrofluoranteno e do 2-nitropireno de MOP. Estes dois NHPAs não são relatados em processos de emissão direta de fontes de combustão nem são formados em condições características de amostragem do MOP. Por outro lado 2-

nitrofluoranteno e 2-nitropireno estão entre os mais abundantes NHPAs presentes no MOP ambiental sendo, possivelmente, resultante das transformações atmosféricas de fluoranteno e pireno (AREY, et al.; 1985).

O 2-nitrofluoranteno é formado em fase vapor, com bom rendimento, através da reação com OH^- em presença de NO_x e, também, pela interação com N_2O_5 . Nas mesmas condições são também formados, com rendimentos menores, o 2-nitropireno, 7-nitrofluoranteno, e 8-nitrofluoranteno, como mostrado na **Figura 7** (PITTS et al., 1985; ZIELINSKA et al., 1989).

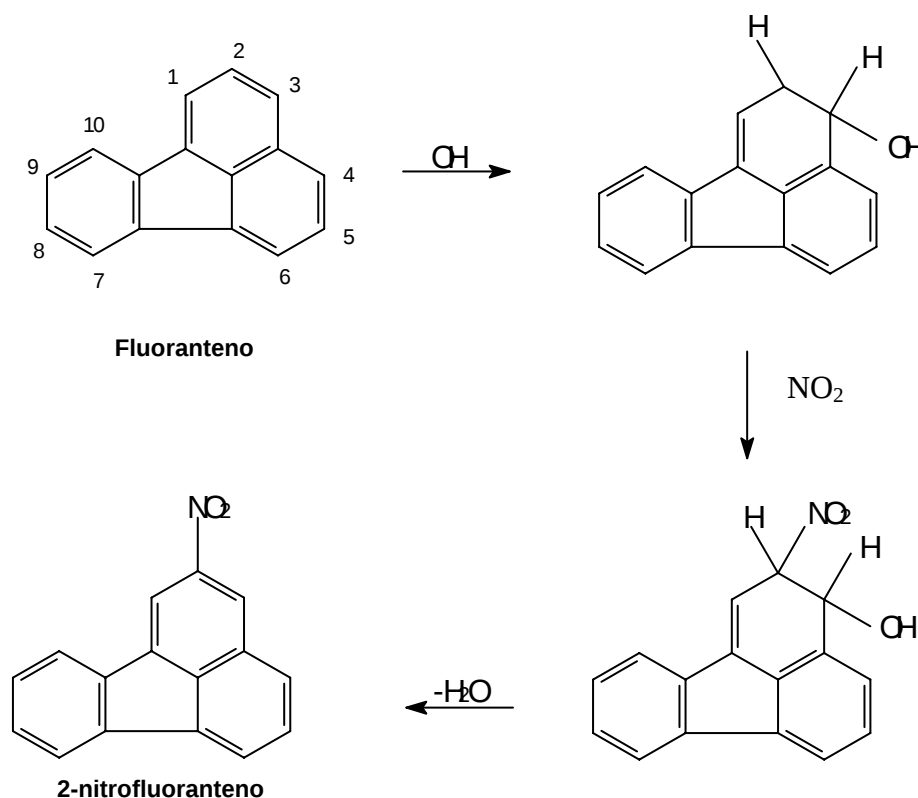


Figura 7: Formação de 2-nitrofluoranteno em fase vapor (PITTS et al., 1985; ZIELINSKA et al., 1989).

A reação do pireno com OH/NO_x fornece o 2-nitropireno como produto principal enquanto a reação com N_2O_5 em fase vapor resulta em rendimentos muito baixos, **Figura 8** (BADGER et al., 1958; PITTS et al., 1985).

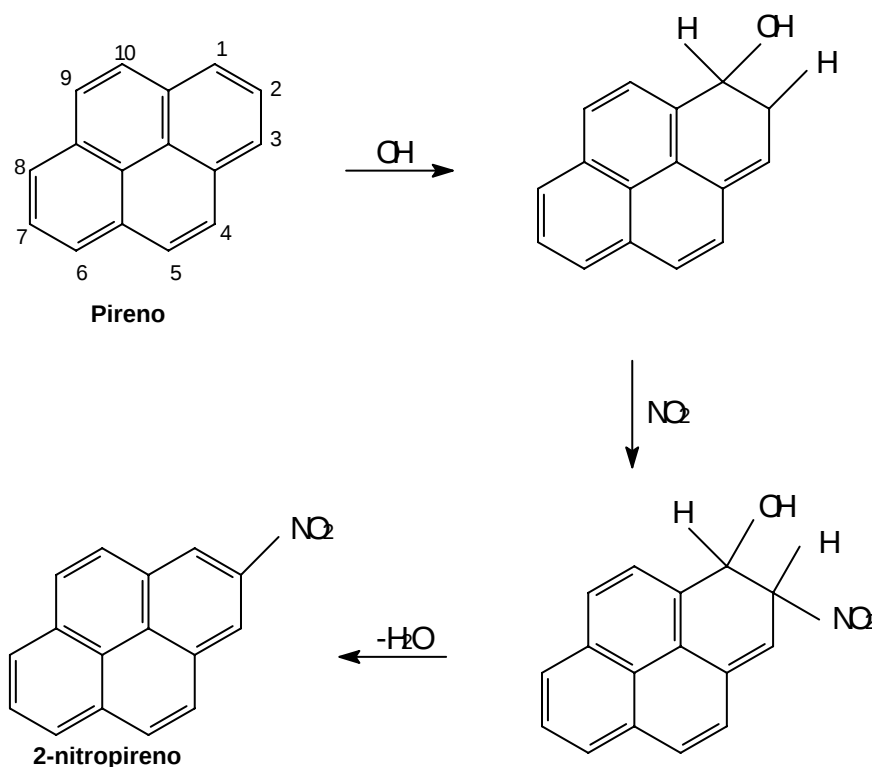


Figura 8: Formação de 2-nitropireno em fase vapor (BADGER et al., 1958; PITTS et al., 1985).

Deste modo, 2-nitrofluoranteno é formado durante o dia em reações iniciadas pelo radical OH e durante a noite pela ação do N_2O_5 , enquanto o 2-Nitropireno é formado somente pela reação com OH/ NO_x . É importante observar que os nitroarenos formados na reação com OH/ NO_x e N_2O_5 não incluem os produtos principais da substituição eletrolítica aromática dos HPAs correspondentes. A nitração eletrolítica do Pireno conduz quase que exclusivamente ao 1-nitropireno e a reação com fluoranteno fornece o 3-nitrofluoranteno como produto principal. Os estudos mostram que a reação com OH/ NO_x pode ser uma importante rota para a formação de 2-nitrofluoranteno e 2-nitropireno observado no MOP ambiental (PITTS et al., 1985).

O composto 1-nitropireno tem sido detectado em vários tipos de processos de combustão incluindo partículas emitidas por veículos a diesel e a gasolina e a queima de carvão. Consistente com este fato o 1-nitropireno tem sido encontrado em todas as amostras de ar atmosférico examinadas com esta finalidade. Contudo, nenhum dos dois 2-nitrofluoranteno e 2-nitropireno tem sido detectado nas emissões acima referidas, mas

somente em processos de emissão industrial. Observando que o 2-nitrofluranteno é sempre mais abundante que o 1-nitropireno em MOP ambiental e que algumas vezes o 2-nitropireno também é mais abundante, pode-se considerar como estabelecida a importância da formação atmosférica dos nitroarenos (PITTS et al., 1985; HELMIG et al., 1992).

Como produtos da reação do fenantreno, sob condições atmosféricas simuladas, em câmara ambiental de reação, além dos NHPAs, foram também identificadas as nitrolactonas. Estas, que consistem em uma segunda classe de derivados mutagênicos de HPA, foram também encontradas em amostras de ar ambiental (SASAKI et al., 1995; HELMIG et al., 1992).

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

I.1.8 – PROCESSOS DE REMOÇÃO DE HPA E NHPA DA ATMOSFERA

Os HPA e NHPA são removidos da atmosfera por processos físicos e químicos que dependem de condições como incidência de radiação solar, clima (chuva, ventos, etc.), da presença de outros compostos poluentes e da reatividade química (FINLAYSON-PITTS et al. 1986).

I.1.8.1 – PROCESSOS FÍSICOS

A deposição seca e úmida são os principais processos físicos de remoção de HPA da atmosfera que existem em fase vapor ou associado a partículas. Estes

processos dependem das características físicas e do tamanho das partículas, que também influi diretamente no transporte atmosférico **Figura 9** (FINLAYSON-PITTS et al. 1986; BIDDLEMAN et al., 1988).

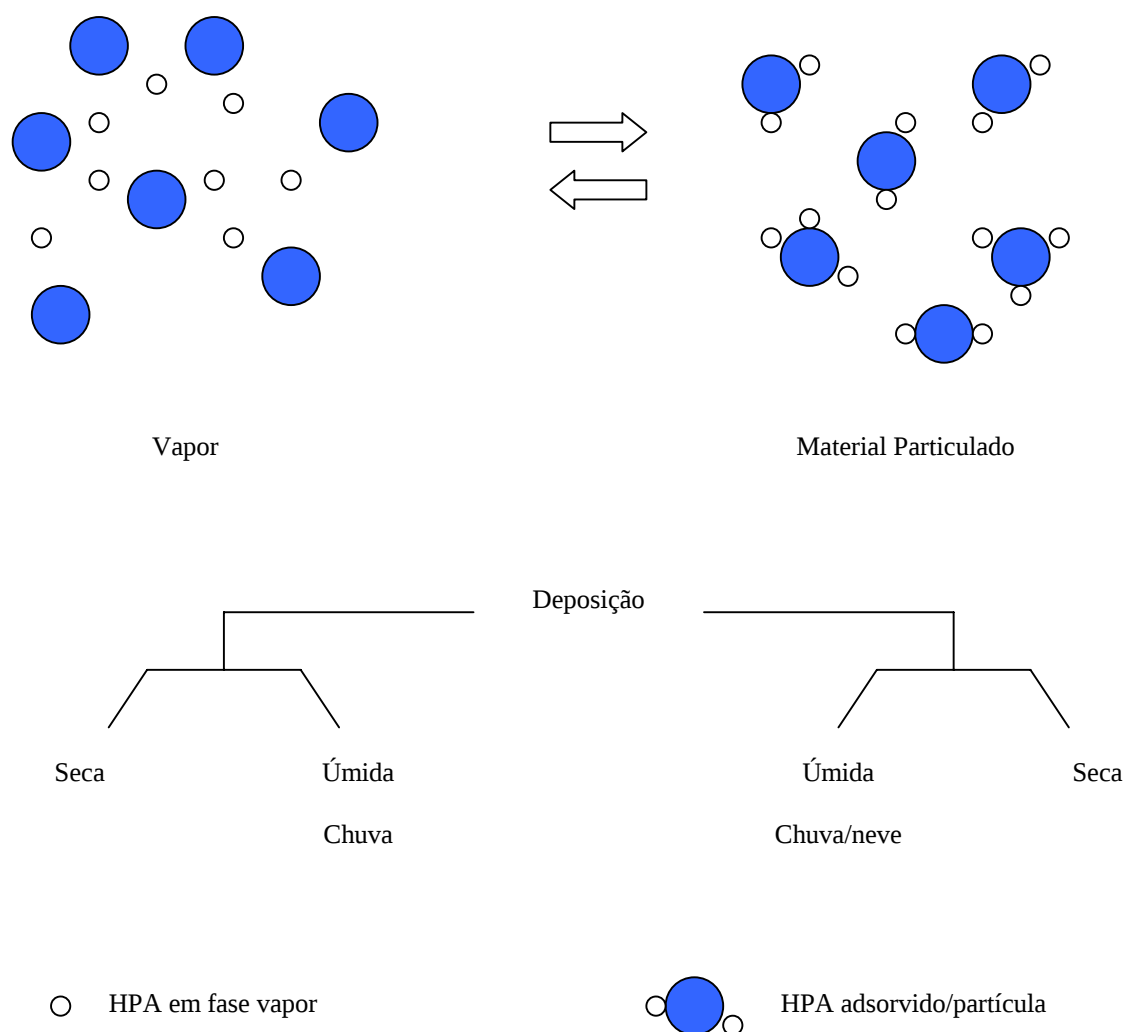


Figura 9: Partição vapor-partícula e remoção da atmosfera (FINLAYSON-PITTS et al. 1986; BIDDLEMAN et al., 1988).

O tamanho da partícula depende fundamentalmente do processo que a originou. Partículas consideradas como grandes ($d = 2 - 2,5\mu\text{m}$) são produzidas geralmente por processos mecânicos como levantamento de poeira do solo, *spray* marinho, atividade vulcânica e emissão industrial. Partículas pequenas ($d < 0,08\mu\text{m}$) são

originárias do processo de conversão vapor-partícula e conhecidas como *partículas nucleares* ou partículas de *Aitken*. As partículas médias ($0,08 < d < 2\mu\text{m}$) são também produzidas pela conversão vapor-partícula e pela coagulação das partículas de *Aitken* que, por este motivo, têm um tempo de vida muito curto na atmosfera (FINLAYSON-PITTS et al. 1986; BIDDLEMAN et al., 1988).

A deposição seca envolve a sedimentação e a impactação inercial induzida. A velocidade de deposição seca na atmosfera é controlada pelo tamanho da partícula e, como esperado, aumenta com o tamanho. Os resultados experimentais da medida de velocidade de deposição seca são compatíveis com aqueles obtidos por meio de cálculos teóricos (LIN et al., 1994).

Para uma partícula de $1\mu\text{m}$, a uma altura de 20m, com uma velocidade de vento de 14,4Km/h, o tempo de deposição é de 4 dias e corresponde a um transporte de 1400Km, assumindo que a velocidade e direção do vento permanecem constantes. Contudo, os HPAs e NHPAs estão associados preferencialmente a partículas submicrométricas, d.p. $< 1\mu\text{m}$, o que implica em maior tempo de permanência na atmosfera (MIGUEL et al., 1978; MIGUEL, 1984).

O processo de deposição úmida interfere na remoção de HPA atmosféricos em ambas as fases – gasosa e particulada. Estudos recentes demonstram que o coeficiente de remoção de HPA da atmosfera é positivamente relacionado com a intensidade da chuva (DICKHUT et al., 1995).

Compostos menos voláteis estão preferencialmente associados com o aerossol e sofrem maior interferência em processos de deposição úmida.

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

I.1.8.2 – PROCESSOS QUÍMICOS

Os processos químicos potencialmente mais importantes para a remoção de HPA da atmosfera são a fotólise e a reação com radical OH, durante o dia; a reação com radical NO₃ e com N₂O₅, no período noturno; e a reação com ozônio durante o dia e a noite (AREY et al., 1989).

I.1.9 – TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS APLICADAS À ANÁLISE DE NHPAs

Numerosas técnicas analíticas têm sido aplicadas para análise de NHPAs. A cromatografia líquida utilizando detetores seletivos, tais como, fluorescência ou eletroquímico vem sendo amplamente utilizada como uma das técnicas de análise de NHPAs.

O primeiro uso da cromatografia para análise de NHPAs foi relatado por STREITWIESER and FAHEY na Universidade da Califórnia, Berkeley, em 1962. Eles utilizaram um cromatógrafo gasoso para analisar os produtos resultantes da nitração do fluoranteno e naftaleno. Os extratos foram analisados usando uma coluna de 3,05 metros de comprimento, empacotada com Chromosorb recoberto com silicone e instalada em um cromatógrafo gasoso Modelo 17A F&M operado isotermicamente a 330°C.

Em 1978, FITCH and SMITH descreveram o uso do que eles chamaram de “índice de retenção relativo” de uma variedade de compostos, incluindo alguns NHPAs. Os resultados foram obtidos durante experimentos utilizando GC/MS utilizando uma programação de temperatura que foi de 150°C a 350°C a 4°C min⁻¹ e colunas empacotadas com fase estacionária Dexsil 300. Os “índices de retenção relativos” foram calculados usando *n*-parafinas como padrões. As amostras foram co-injetadas com três *n*-parafinas, os tempos de retenção das *n*-parafinas foram utilizados para calcular os

“índices de retenção relativos” dos constituintes da amostra utilizando procedimentos semelhantes àqueles descritos por NAU and BIEMANN (1974).

MURAHASHI (1997), propôs um método sensível para análise de NHPAs em material particulado atmosférico. Após a extração ultrassônica com benzeno/etanol, o extrato foi injetado em um sistema HPLC com detecção quimiluminescente. Os limites de detecção deste método situaram-se entre 0,3 e 5 fmol. Com isto este método foi utilizado na determinação da concentração atmosférica de 5 NHPAs (6-Nitrocriseno, 2-Nitrofluoranteno e 1-, 2- e 4-Nitropirenos) em Kanazawa (Japão).

Utilizando detetor eletroquímico para HPLC, JIN & RAPPAPORT, 1982, conseguiram detectar a presença do 1-nitropireno em extrato do material particulado proveniente de motores a diesel, utilizando um sistema de HPLC constituído de uma bomba Beckman/Altex 100A, uma coluna ODS Beckman Ultrasphere de 25m X 4mm de diâmetro interno (partículas esféricas de 5µm) com uma pré coluna Corasil C₁₈ (Waters) ambas mantidas a 50°C, em um sistema Bioanalítico com detetor eletroquímico. A fase móvel, 35% *n*-propanol em ácido monocloroacético 0,05M tamponado com acetato de sódio até pH 3,8.

Utilizando a determinação do 1-nitropireno como exemplo, SPITZER, 2000, demonstra as vantagens da inclusão de uma coluna de imunoafinidade sol-gel com alta seletividade na seqüência dos passos de clean-up utilizados em matrizes complexas. O esquema proposto de preparação da amostra combina extração com acetonitrila, cromatografia de exclusão e imunoafinidade. O 1-nitropireno é então separado de compostos interferentes por HPLC de fase reversa e determinado, depois de uma redução catalítica à sua amina correspondente, por espectrofluorimetria. A faixa de concentração detectada em copas de árvores foi de 0,1 a 1,4µg.kg⁻¹.

Para a técnica HPLC/Flu, a não fluorescência dos NHPAs obriga a uma etapa anterior de redução a suas aminas correspondentes utilizando uma variedade de técnicas. A utilização de boroidreto de sódio e cloreto de cobre II como agentes redutores para os NHPAs consegue solucionar este tipo de problema (GIBSON, 1982). Alguns trabalhos vem utilizando um procedimento catalítico on-line com posterior detecção fluorescente (McCREHAN & MAY, 1984).

OEHME et al., 1982, avaliou o uso de um sal alquílico em detetor TSD e um detetor FID convencional para análise de NHPAs. Este trabalho mostrou que o TSD não proporcionou nenhuma melhoria na seletividade da técnica a NHPAs.

Por outro lado, PAPUTA-PECK et al., 1983, relataram o sucesso do uso do TSD para facilitar a observação de NHPAs dos extratos particulados da exaustão de motores a diesel. Foi estimado um limite de detecção do 1-nitronaftaleno e 1,3-dinitropireno em um intervalo de 200 a 500pg utilizando uma coluna de sílica fundida DB-5 de 30m X 0,25mm de diâmetro interno. A coluna foi operada com uma programação de temperatura que iniciou-se a 120°C por 1 minuto seguida de uma programação de 8°C por minuto até 310°C permanecendo em 310°C durante 8 minutos. As amostras foram introduzidas no modo *splitless* no injetor a 275°C com o *vent* do solvente fechado durante 1,5 minutos após a injeção. A temperatura de trabalho do detetor foi de 310°C.

Similarmente D'AGOSTINO et al., 1983, mostraram o sucesso do uso simultâneo dos sistemas FID/TSD para análise de NHPAs de amostras previamente fracionadas. Eles concluíram que GC-FID/TSD é uma técnica adequada para identificação e detecção de rotina de NHPAs em amostras que tiveram um clean-up extensivo, apresentando um limite de detecção de aproximadamente 50 pg.

BERSET, et al., 1999, comparou diferentes tipos de secagem, extração e técnicas de detecção aplicadas a determinação de NHPAs em amostras reais de solos e suas influências foram estudadas com as respectivas concentrações finais de 16 HPAs

inclusos na lista de prioridades da EPA. O processo de secagem foi praticamente igual para todas as técnicas. A SPE e a ASE se mostraram mais eficientes que os métodos clássicos de extração. No entanto a extração utilizando Soxhlet mostrou uma menor variação nos resultados. Ultrassom se mostrou como sendo a técnica menos eficiente. A detecção que apresentou melhores resultados foi HRGC-MS.

Um procedimento para determinação de NHPAs em MPA e solos foi proposto por VICENTI, et al., 1996. As etapas de purificação e fracionamento foram eliminadas devido ao uso de ionização seletiva e ionização química com captura de elétrons, e uma fragmentação específica no processo de espectrometria de massa. Diferentes procedimentos de espectrometria de massas foram comparados. A melhor performance foi observada quando o íon molecular $[M]^-$ do NHPA foi selecionado pela primeira análise da reação múltipla do íon NO_2^- (m/z 46). Os limites de detecção foram da ordem de centenas de fentogramas determinados nos extratos de amostras ambientais reais. Isto corresponde de 5 a 15pg de NHPA por m^3 de ar amostrado. As curvas de calibração foram lineares com 3 ordens de magnitude.

DOUCE, et al., 1997, demonstrou que as copas das árvores podem funcionar como amostradores passivos de NHPAs. Após a amostragem ele efetuou uma extração com diclorometano e a fração de NHPA foi isolada utilizando extração em fase sólida em cartuchos de amino e alumina em série. A detecção dos NHPAs foi feita por cromatografia gasosa utilizando detetor de captura de elétrons e GC-MS em modo de ionização química negativa.

No presente trabalho procurou-se focar dois mono-NHPAs (1-nitropireno e 3-nitrofluoranteno) e três di-NHPAs (1,6-dinitropireno, 1,3-Dinitropireno e 1,8-Dinitropireno) por serem os mais abundantes em material proveniente de queima de biomassa, segundo relatos da literatura (KUO et al., 2000; JINHUI et al., 2000; JINHUI ET AL., 2001; VO-DINH et al., 1998; FEILBERG et al., 2001). Porém dentre os escolhidos

selecionou-se o 1-nitropireno por sua maior abundância e sua maior mutagenicidade, perante os demais, em MPA.

Este trabalho teve como objetivos principais:

- 1) Estudar a resposta dos sistemas HPLC/FLU e GC/TSD a NHPA
- 2) Otimizar método de extração e análise de NHPA de fuligem de cana-de-açúcar, através de técnicas cromatográficas.
- 3) Efetuar validação de método para determinação do 1-nitropireno, em material particulado proveniente da queima de cana-de-açúcar.

III.1. PREPARO DAS SOLUÇÕES-PADRÃO

Os padrões sólidos: 1-Nitropireno, 1,6-dinitropireno, 3-Nitrofluoranteno e soluções certificadas: 1,3-Dinitropireno ($5\text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ em Metanol) e 1,8-Dinitropireno ($10\text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ em Metanol) foram fornecidos pela empresa Dr. Ehrenstorfer (Ausburg, Alemanha). Para os padrões sólidos, prepararam-se soluções padrão de $1\text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ em ciclohexano.

III.2. ESTUDO DA RESPOSTA DOS SISTEMAS CROMATOGRÁFICOS

Foram preparadas soluções padrão individuais com concentrações nominais variando entre $0,5$ e 1000 ng mL^{-1} em ciclohexano.

III.2.1.– GC/TSD

Todas as soluções foram injetadas sob as condições cromatográficas a seguir especificadas. Estas condições estão baseadas em dados reportados na literatura (PAPUTA-PECK et al., 1983).

Cromatógrafo gasoso Varian 3800 com Auto Sampler 8200CX e detetor TSD

Gás de Arraste: Hidrogênio

Injeção: “Splitless” (1,5 minuto)

Volume de injeção: $1\text{ } \mu\text{L}$

Temperatura do injetor: 275°C

Vazão do gás de arraste: $1,5\text{ mL min}^{-1}$

Coluna utilizada: Supelco DB-50, sílica fundida, 30m, 25mmDI, 0,25 μ m de espessura do filme

Temperatura da coluna: 120°C por 1 minuto, seguido de uma programação de aquecimento de 8°C por minuto até 310°C permanecendo por 8 minutos a 310°C.

Temperatura do detetor: 310°C

Corrente da pérola: 2800 A

Vazão do make-up: 22mL.min⁻¹

Vazão de H₂: 4,4mL.min⁻¹

vazão de ar: 110mL.min⁻¹

III.2.2 – GC/MS

Todas as soluções foram injetadas sob as condições cromatográficas a seguir especificadas. Estas condições estão baseadas em dados reportados na literatura (SCHEEPERS et al., 1994).

Cromatógrafo gasoso Varian CP3800 com detetor Saturn2000 GC/MS/MS

Injeção: “Split” 40:1

Volume de injeção: 1 μ L

Temperatura do injetor: 250°C

Coluna utilizada: Supelco DB-50, sílica fundida, 30m, 25mmDI, 0,25 μ m de espessura do filme

Temperatura da coluna: 1 minuto a 95°C e depois em uma rampa de aquecimento de 20°C min⁻¹ até 200°C, seguida de outra programação de 5°C min⁻¹ até 280°C, permanecendo nesta temperatura por 5 minutos.

Temperatura do trap: 220°C

Temperatura da linha de transferência: 250°C

Vazão de He: 1mL min⁻¹

III.2.3 – HPLC/FLU

Para que os NHPAs fossem analisados por HPLC/Flu se fez necessário uma etapa de redução do grupamento nitro a amina, pois os HPAs ligados a grupamentos nitro não possuem características fluorescentes, já as aminas dos referidos NHPAs são fluorescentes, etapa esta feita através de uma solução redutora de Boroidreto de Sódio e Cloreto de Cobre diidratado, seguindo-se o procedimento proposto por GIBSON (1982).

O preparo destas soluções se deu da seguinte maneira:

- Boroidreto de Sódio

Foram dissolvidos 2,00g de boroidreto de sódio P.A. (Nuclear, Brasil), em uma mistura contendo 50mL de metanol (grau HPLC, Mallinkrodt) e 50mL de água (desionizada, Milli Q), e utilizado imediatamente.

- Cloreto de Cobre diidratado

Utilizando-se $\text{CuCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (Mallinkrodt, EUA), foi preparada uma solução 0,05% (m/v) em água deionizada.

Adicionou-se 2,0mL desta solução à solução de Boroidreto de Sódio, obtendo-se assim a solução redutora necessária para reduzir os NHPAs a amino-HPAs.

Em seguida tomou-se 2,5mL da solução padrão, 10,0mL da solução redutora (Boroidreto de Sódio/Cloreto de Cobre diidratado), misturou-se as duas soluções

em um frasco tampado e envolto com papel alumínio para proteger da ação luz, deixando o mesmo em repouso por 6 horas a temperatura ambiente. Após as 6 horas tomou-se a fase orgânica desta mistura e analisou-se por HPLC/Flu.

As condições do HPLC/Flu foram baseadas em relatos da literatura (GIBSON 1982). e incluíam:

- HPLC/Flu Pro-Star Varian com Auto Sampler Model 400 e detetor Model 360
- Fase estacionária: coluna de fase reversa C-18 Microsorb-MV 100A, com tamanho de partícula de 5 μ m e dimensões da coluna 4,6 X 250mm.
- Fase móvel: Acetonitrila:Água (65:35), tamponada com Hidróxido de Amônio 2%, com fluxo de 1mL min⁻¹,
- volume de injeção: 10 μ L, com tempo de análise de 30 minutos.
- Comprimentos de onda utilizados

Tabela 7: Comprimentos de onda para os NHPAs após a redução (TEJADA et al., 1986)

<u>Composto</u>	<u>Excitação</u> λ (nm)	<u>Emissão</u> λ(nm)
1 – Aminopireno	360	430
1,3 – Diaminopireno	396	446
1,6 – Diaminopireno	370	442
1,8 – Diaminopireno	396	454
3 – Amino fluoranteno	300	530

III.3 – VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA

Existem inúmeros parâmetros envolvidos na validação de um método analítico, como pode ser observado na literatura (LEITE, F.,1998; CAMPANERO, et al., 1997) no entanto, os principais elementos da validação são: linearidade, sensibilidade (limites de detecção e quantificação), precisão e exatidão (índice de recuperação).

III.3.1 – ESTUDO DA LINEARIDADE E DOS LIMITE DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

A linearidade de um equipamento é conhecida através da faixa de concentração na qual o sinal obtido no detetor é proporcional à concentração do analito.

O LD é definido como a menor concentração ou massa do analito que pode ser detectada por um procedimento experimental estabelecido.

O LQ do método é a menor concentração, de um analito, em uma amostra, que pode ser quantificado com precisão e exatidão aceitáveis, sob determinadas condições experimentais adotadas.

Os Limites de Detecção e Quantificação podem ser obtidos através das equações descritas abaixo. (LONG & WINEFORDNER, 1983)

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

$$LQ = 10 \times Sd/b$$

Onde “**b**” é o coeficiente angular e “**Sd**” o desvio padrão da variância residual ($y_{\text{experimental}}$ em relação ao $y_{\text{da reta}}$) da curva de calibração (área vs concentração em ng mL^{-1}).

$$\text{Variância residual: } S_r^2 = \sum (Y_i - Y)/N - 2$$

$$Sd = \sum [(Y_i - Y)/N - 2]^{1/2}$$

III.4 – EXTRAÇÃO DOS NHPAs

A extração dos NHPAs da fuligem sedimentável de cana-de-açúcar se deu da seguinte maneira:

A fuligem foi coletada diretamente do solo onde estava depositada (material particulado atmosférico sedimentável).

Tomou-se 1,00g da fuligem em um Erlenmeyer e adicionou-se 10,0mL de DCM:MeOH(4:1) e levou a um banho ultrassônico por 20 minutos. Retirou-se o sobrenadante e adicionou-se novamente 10mL de DCM:MeOH(4:1), repetindo esta operação por mais 2 vezes. Em seguida foi efetuada uma filtração simples utilizando papel de filtro qualitativo para separar o extrato da fuligem restante.

Para o processo de enriquecimento, tomou-se 1,00g da fuligem em um Erlenmeyer, adicionou-se 1,0mL do padrão do 1-nitropireno (50 ng mL^{-1}) e adicionou-se 10,0mL de DCM:MeOH(4:1), submetendo-se à extração em banho ultrassônico por 20 minutos. Retirou-se o sobrenadante e adicionou-se novamente 10,0mL de DCM:MeOH(4:1), repetindo esta operação por mais 2 vezes. Em seguida foi efetuada uma filtração simples para separar o extrato da fuligem restante. Após estas etapas a solução foi submetida a uma etapa de secagem em nitrogênio até próximo à secura e ressolubilizado em ciclohexano. Logo em seguida efetuou-se a etapa de derivação com Borohidreto de Sódio e Cloreto de Cobre II diidratado por um período de 6 horas. Em seguida foi separada a fase aquosa da fase ciclohexânica sendo esta levada para análise em HPLC/Flu.

A seguir podem ser vistos fluxogramas com os procedimentos de análise tanto para a construção da curva de calibração quanto para análise do 1-nitropireno em

fuligem de cana-de-açúcar **Figuras 10 e 11**. Para estes estudos as análises foram feitas em triplicatas.

III.5 CLEANUP SPE

Tomou-se 1,00g de fuligem em 10,0mL de DCM:MeOH 4:1, levou ao banho ultra-sônico por 20 minutos, em um tubo de centrífuga. Retirou o sobrenadante e adicionou mais 10,0mL de DCM:MeOH 4:1. Repetiu-se esta operação por mais 2 vezes. Em seguida levou-se para secar em fluxo de nitrogênio (fluxo de $1,0\text{mL min}^{-1}$). Após secar redissolveu-se em 2,5mL de ciclohexano. A solução foi passada em cartucho de sílica C-18, previamente condicionado com ciclohexano sendo a primeira fração eluída com 1,5mL de ciclohexano, coletada e descartada, e a segunda fração sendo eluída com 2,5mL de C_6H_{12} :DCM 4:1 (ZAMPERLINI, 1997). Na fração 2 foi adicionada a solução redutora deixando reagir por 6 horas a temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Após as 6 horas separou-se a fase orgânica da fase aquosa e levou-se a fase orgânica para análise em HPLC/Flu.

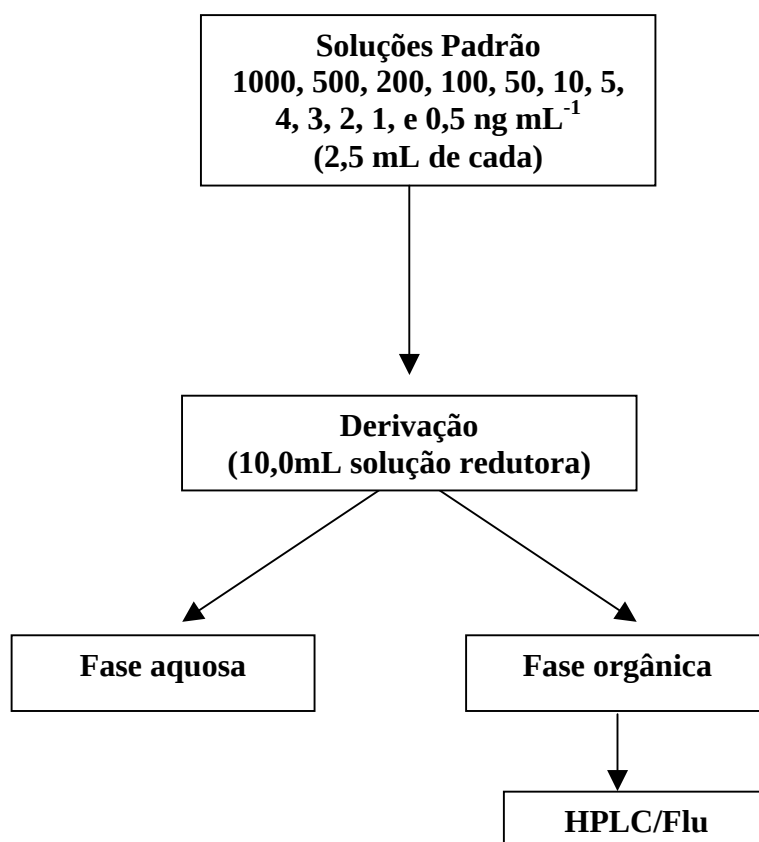
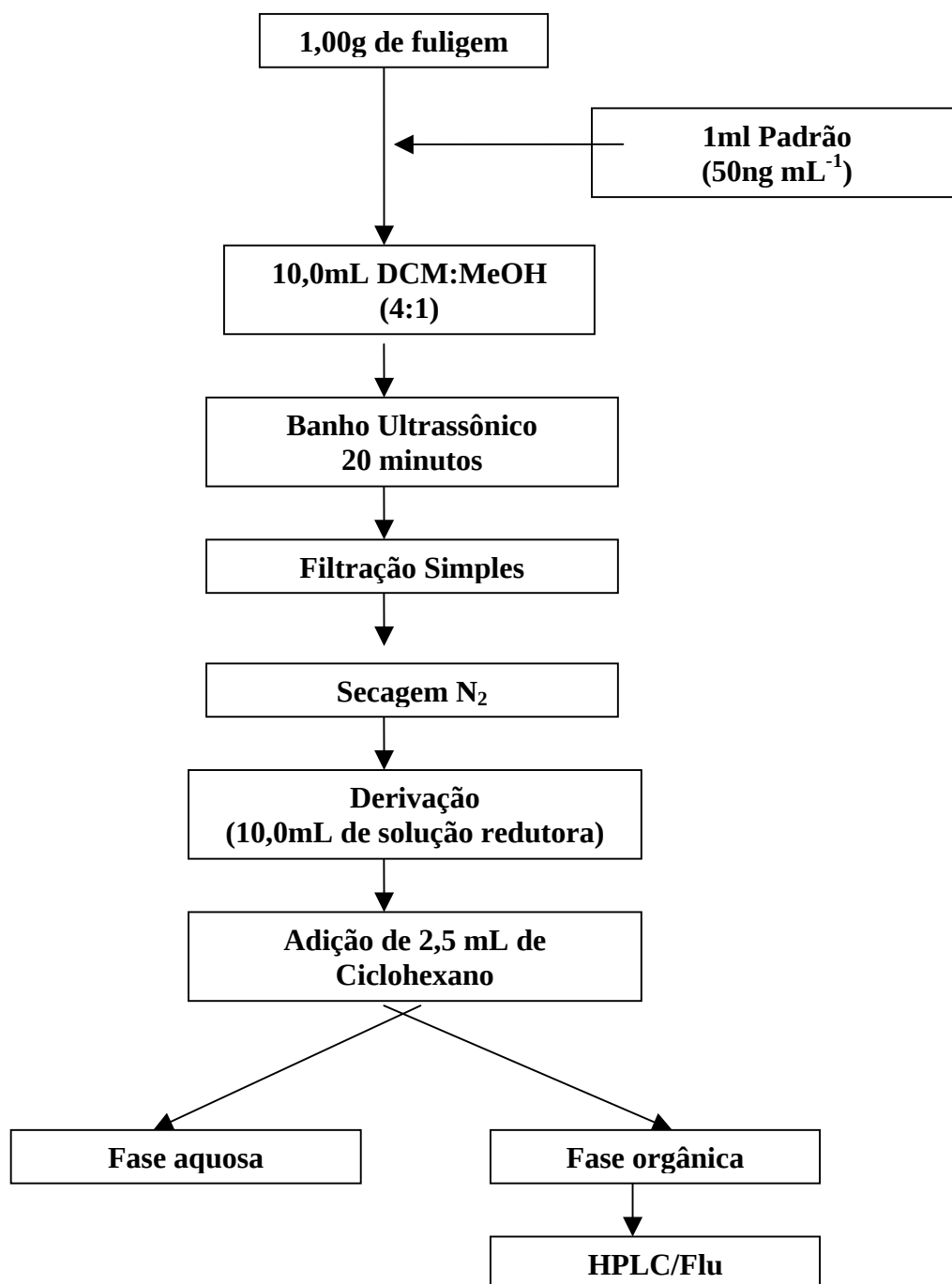
Figura 10: Fluxograma do procedimento para Curva de Calibração do 1-nitropireno.

Figura 11: Fluxograma para extração do 1-nitropireno.

IV.1 – GC/TSD

Tentou-se fazer um estudo da resposta do GC/TSD utilizando-se os parâmetros anteriormente apresentados, porém o estudo não obteve resultados satisfatórios, para as soluções padrão utilizadas.

O TSD é um detetor seletivo que exige otimização da resposta para cada tipo de analito, o que não pôde ser efetuado por problemas de avaria no equipamento.

IV.2 – GC/MS

Foi efetuado um estudo de resposta do equipamento GC/MS utilizando-se os parâmetros anteriormente descritos. Verificou-se no entanto um limite de detecção muito superior do que se espera encontrar para o 1-nitropireno em amostras reais. Este limite de detecção ficou em $1,0\mu\text{g mL}^{-1}$ (quando o sistema foi operado no modo SCAN) haja vista que espera-se encontrar unidades de ng mL^{-1} na amostra real.

IV.3 – HPLC/Flu

A técnica HPLC/Flu foi uma técnica boa para se determinar o 1-nitropireno em fuligem de cana-de-açúcar, porém para os demais compostos propostos no estudo não foi possível otimizar metodologia de análise nesta técnica devido provavelmente à eficiência da etapa de redução não ser satisfatória, pois apenas o 1-nitropireno apresentou uma resposta satisfatória próxima das concentrações esperadas do analito.

No estudo da recuperação do método, estudou-se o enriquecimento em um nível de concentração de $5,0\text{ng mL}^{-1}$, $10,0\text{ng mL}^{-1}$ e $50,0\text{ng mL}^{-1}$. Os cromatogramas

foram obtidos em forma de triplicata tanto para a amostra enriquecida com o padrão quanto para a amostra sem enriquecimento. Um cromatograma pode ser visualizado na **Figura 12**, onde se vê o cromatograma da solução padrão, da amostra enriquecida e da amostra sem enriquecimento.

Tabela 8: Estudo de recuperação do 1-nitropireno por nível de enriquecimento

Nível de enriquecimento	Recuperação	CV
5 ng ml ⁻¹	77,00%	2,37%
10 ng ml ⁻¹	82,76%	0,71%
50 ng ml ⁻¹	86,34%	0,19%

Deste estudo, chegou-se a uma recuperação média de 82%.

O cromatograma da amostra sem enriquecimento apresenta um pico no mesmo tempo de retenção do 1-nitropireno. Com o auxílio da curva de calibração do sistema para o referido analito pôde-se verificar que a concentração do mesmo é de aproximadamente 2,77 ng mL⁻¹ o que equivale a 6,93ng g⁻¹ na fuligem com CV igual a 0,42% após efetuar a interpolação da área do pico referente ao 1-nitropireno na amostra de fuligem de cana-de-açúcar.

A seguir estão apresentados na **Tabela 9** os valores das áreas dos picos das soluções padrão para o 1-nitropireno, a área dos picos da amostra real e as áreas da amostra enriquecida para o 1-nitropireno, bem como a média referente às 3 medidas realizadas e também os valores da área dividida pela concentração (dado este utilizado para confecção do gráfico de linearidade do sistema).

Tabela 9: Áreas dos picos dos padrões do 1-nitropireno nas diversas concentrações estudadas

Concentração	Média das Áreas	CV	A/C
0,50	1357	12,73	2715
1,00	2797	4,51	2797
2,00	5523	5,52	2762
3,00	8273	7,42	2758
4,00	10822	2,17	2706
5,00	14102	14,52	2820
10,00	30792	11,35	3079
20,00	61972	10,02	3099
30,00	95861	9,37	3195
40,00	121560	5,69	3039
50,00	158498	39,96	3170
100,00	1795449	1,19	17954
500,00	9541870	1,80	19084
1000,00	13022097	0,77	13022
Amostra real	7628	0,42	- X -
Amostra enriquecida com 5ng mL ⁻¹	10858	2,37	- X -
Amostra enriquecida com 10ng mL ⁻¹	25483	0,65	- X -
Amostra enriquecida com 50ng mL ⁻¹	136847	0,20	- X -

Verificando os dados de A/C da tabela acima descrita, pôde-se verificar que o sistema HPLC/Flu apresentou 2 faixas de linearidade para o 1-Nitropireno: 0,5 a 5,0ng mL⁻¹ e 10,0 a 50,0ng mL⁻¹ e para o estudo de quantificação do sistema foi utilizada a faixa de 0,5 – 50,0ng mL⁻¹.

O tempo médio de retenção para o 1-aminopireno foi de 3,656 minutos, tendo um desvio padrão de 0,021 minutos.

Figura 12: Cromatograma do 1-nitropireno em fuligem sem enriquecimento, com enriquecimento e em solução padrão.

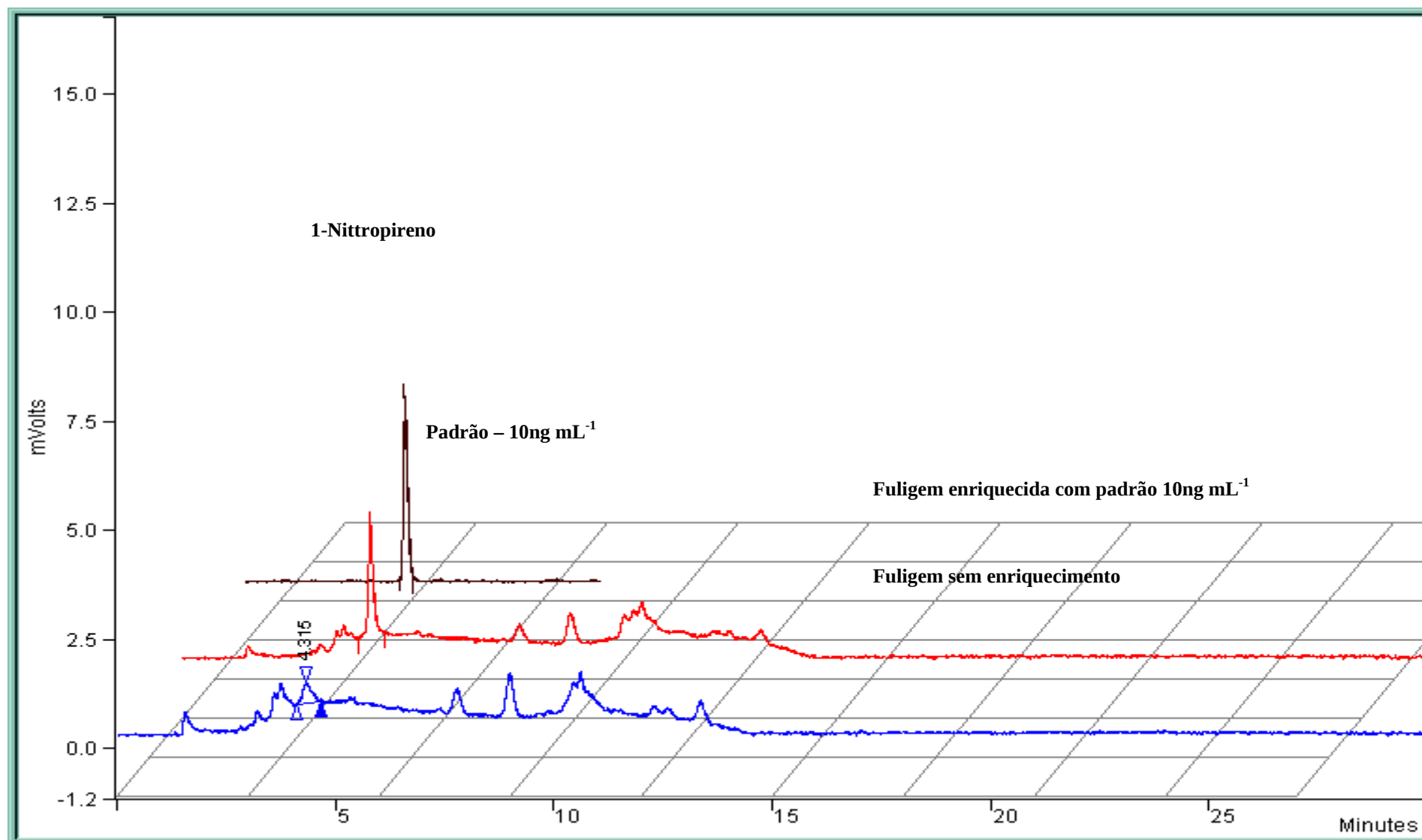
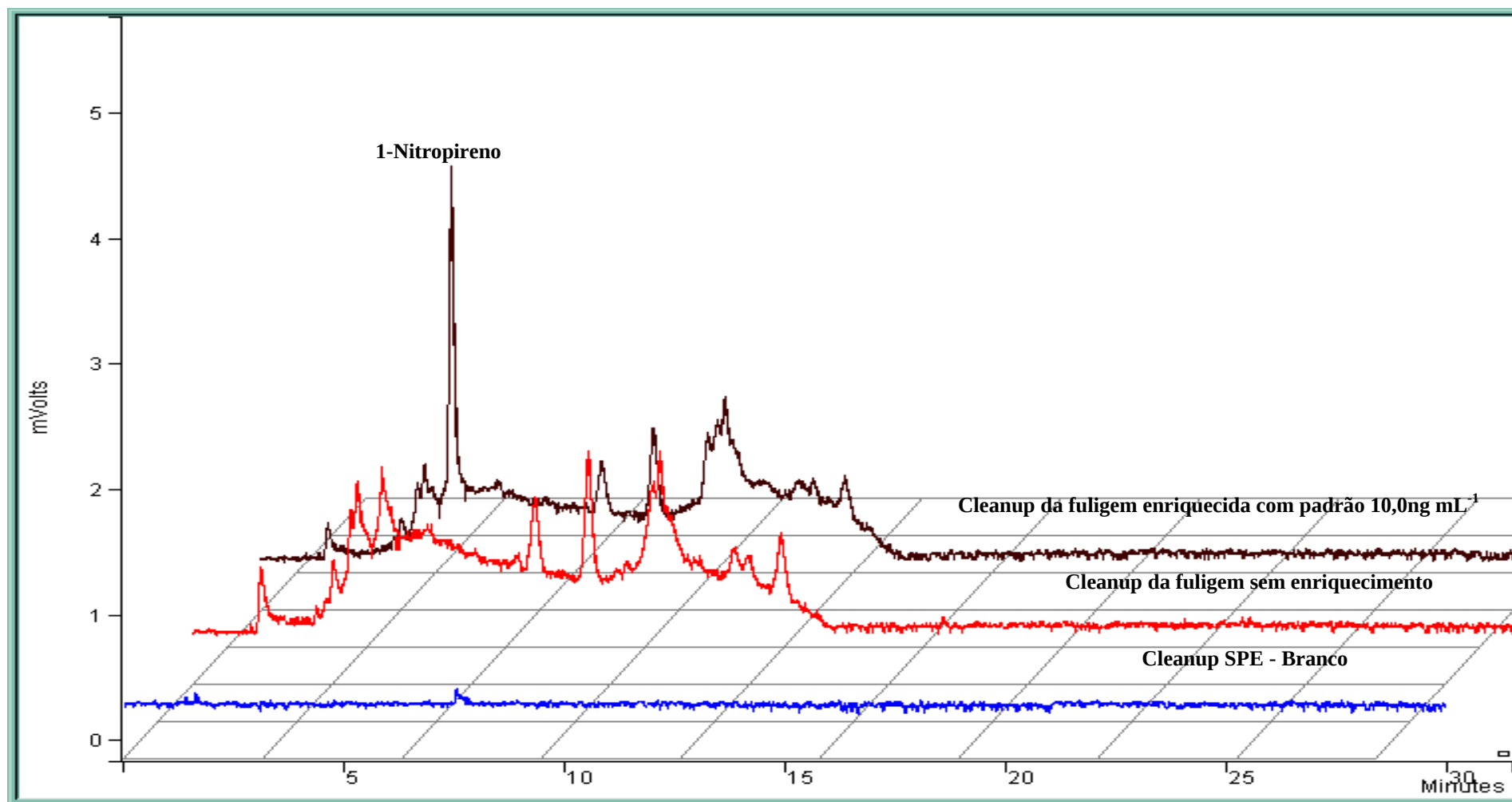


Figura 13: Cromatogramas após cleanup da amostra utilizando cartucho Sep-Pack C-18

Os resultados obtidos no estudo da resposta do sistema HPLC/FLU demonstram que o referido sistema possui uma excelente resposta na identificação do 1-nitropireno. Tais resultados podem ser observados nos gráficos de calibração das **Figuras 14, 15 e 16**, onde verificando os valores de R^2 podemos observar a boa linearidade do sistema.

Desta maneira, construiu-se o gráfico de linearidade apresentado na **Figura 17**, para o intervalo de concentração de 0,5 a 50,0 ng mL⁻¹. Através desse gráfico verificou-se duas faixas de linearidade para o sistema HPLC/Flu, uma no intervalo de concentração de 0,5 a 5,0 ng mL⁻¹ e outra no intervalo de 10,0 a 50,0 ng mL⁻¹.

Para o cálculo dos limites de detecção e quantificação foram utilizados os parâmetros da reta definida para o intervalo de linearidade contendo as concentrações mais baixas, ou seja, 0,5 a 5,0 ng mL⁻¹, observados nas **Figuras 18 e 19**. Com isto chegou-se a um limite de detecção de 2,363 ng g⁻¹ e um limite de quantificação de 7,875 ng g⁻¹ e também um limite de detecção operacional de 0,930 ng g⁻¹ e um limite de quantificação operacional de 1,250 ng g⁻¹, o que demonstra que o sistema possui uma excelente sensibilidade, pois esses valores são ótimos valores quando comparados com os valores encontrados na literatura para determinação do 1-nitropireno, como demonstrado na **Tabela 12**.

Na **Tabela 13** podem ser vistos os parâmetros que definem a resposta do equipamento para o analito estudado.

IV.4 – CLEANUP SPE

Através do cromatograma, pôde-se notar que a etapa de cleanup da amostra não melhorou a separação do 1-nitropireno na fuligem da cana-de-açúcar, porém vale ressaltar que essa etapa não foi devidamente otimizada, não podendo dessa maneira

obter resultados que satisfaçam a análise do 1-nitropireno, pois nessa otimização deve-se levar em consideração o solvente utilizado e a fase do cartucho de SPE, e de acordo com o que foi utilizado nesse estudo tanto o solvente quanto a fase do cartucho eram apolares, fazendo com que o cartucho não separasse o 1-nitropireno da amostra, pois o solvente ficaria retido na fase apolar do cartucho e o analito em questão atravessaria o cartucho sem separação.

IV.5 - Limites de Detecção

A **Tabela 10** demonstra abaixo alguns limites de detecção encontrados na literatura com suas respectivas técnicas de análise e em seguida a **Tabela 11** representa os limites de detecção que foram encontrados nas técnicas estudadas neste trabalho. Como pode-se observar a técnica é uma excelente técnica para identificação do 1-nitropireno, haja vista que, os limites de detecção e quantificação da técnica, bem como os limites de detecção e quantificação operacionais apresentaram valores muito baixos e bem melhores que algumas técnicas demonstrados na **Tabela 10**.

Tabela 10: Limites de detecção para 1-nitropireno encontrados na literatura pesquisada

Autor	Técnica	Limite de Detecção
Anders Feilberg et ali	GC/MS	0,127 ng.m ⁻³
Dawit Z. Bezabeh et ali	GC/MS	19 µg.g ⁻¹
Ching Tang Kuo et ali	HPLC/ECD	208pg.m ⁻³
M. T. Galceran et ali	GC/FID	404pg mL ⁻¹
Robert M. Campbell et ali	GC/MS	43µg.g ⁻¹
Marco Vicenti et ali	GC-EC-MS/MS	0,5µg.L ⁻¹
M. A. Campanero et ali	HPLC/UV	5ng.mL ⁻¹
MacCrehan W. A. et ali	HPLC/ECD	100ng.g ⁻¹
L. Bonfanti et ali	HPLC/MS	0,1ng g ⁻¹
P. T. J. Scheepers et ali	GC/MS	1,25ng.g ⁻¹

Limites de detecção encontrados nas técnicas disponíveis no laboratório.

Tabela 11: Resposta do sistema HPLC/FLU para o 1-nitropireno

Intervalos de linearidade	0,5 – 10ng mL ⁻¹ ($R^2 = 0,9989$) 100 – 1000ng mL ⁻¹ ($R^2 = 0,9236$)
Limite de detecção	2,363ng g ⁻¹
Limite de Quantificação	7,875ng g ⁻¹
Limite de detecção operacional	0,930ng g ⁻¹
Limite de quantificação operacional	1,250ng g ⁻¹

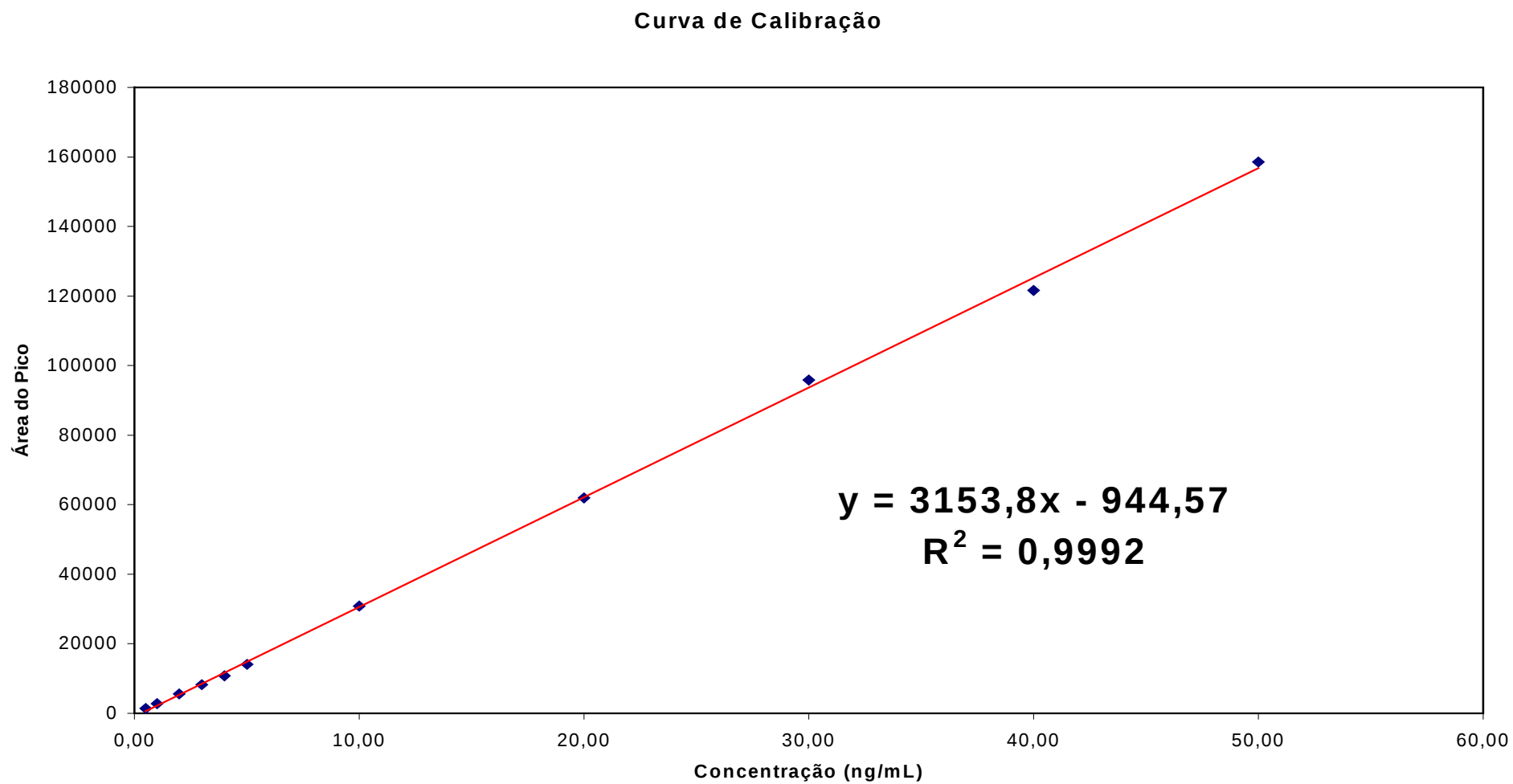


Figura 14: Curva de calibração do 1-nitropireno com intervalo de concentração entre 0,50 – 50,00ng mL⁻¹.

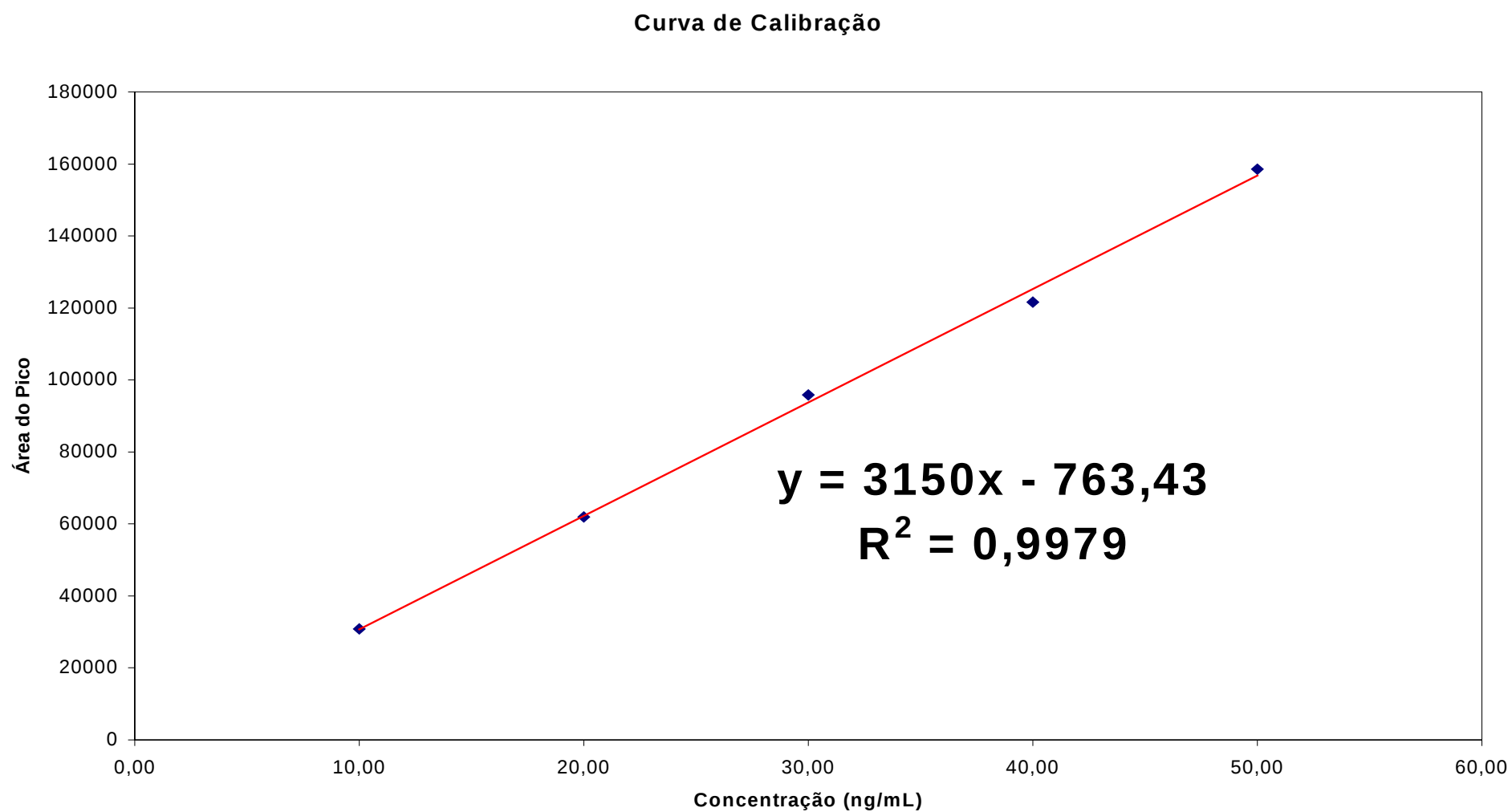


Figura 15: Curva de calibração do 1-nitropireno com intervalo de concentração entre 10,00 e 50,00ng mL⁻¹.

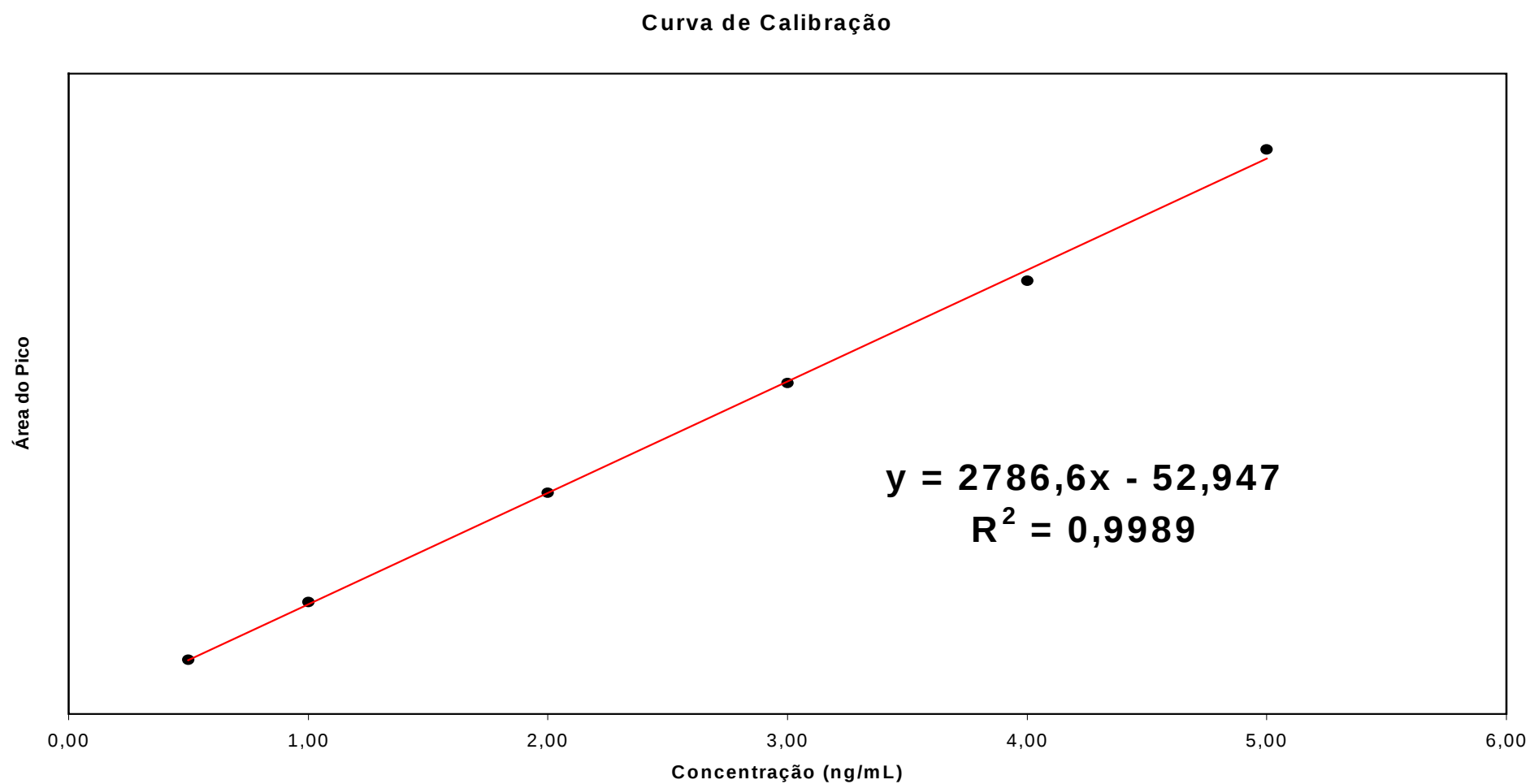


Figura 16: Curva de calibração para o 1-nitropireno com intervalo de concentração entre 0,50 – 5,00ng mL⁻¹.

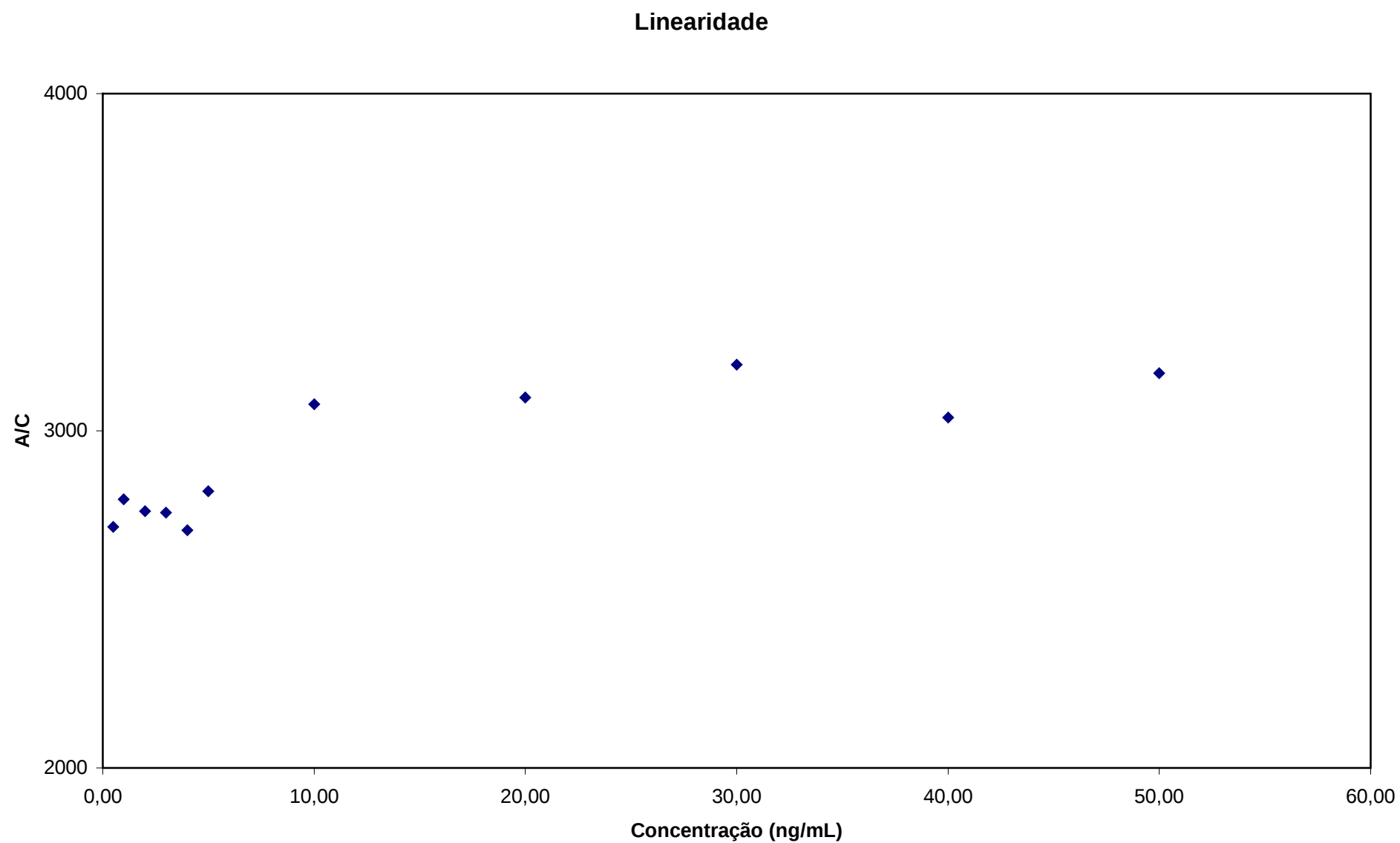


Figura 17: Gráfico da linearidade do sistema HPLC/Flu para o 1-nitropireno com intervalo de concentração entre 0,50 – 50,00ng mL⁻¹.

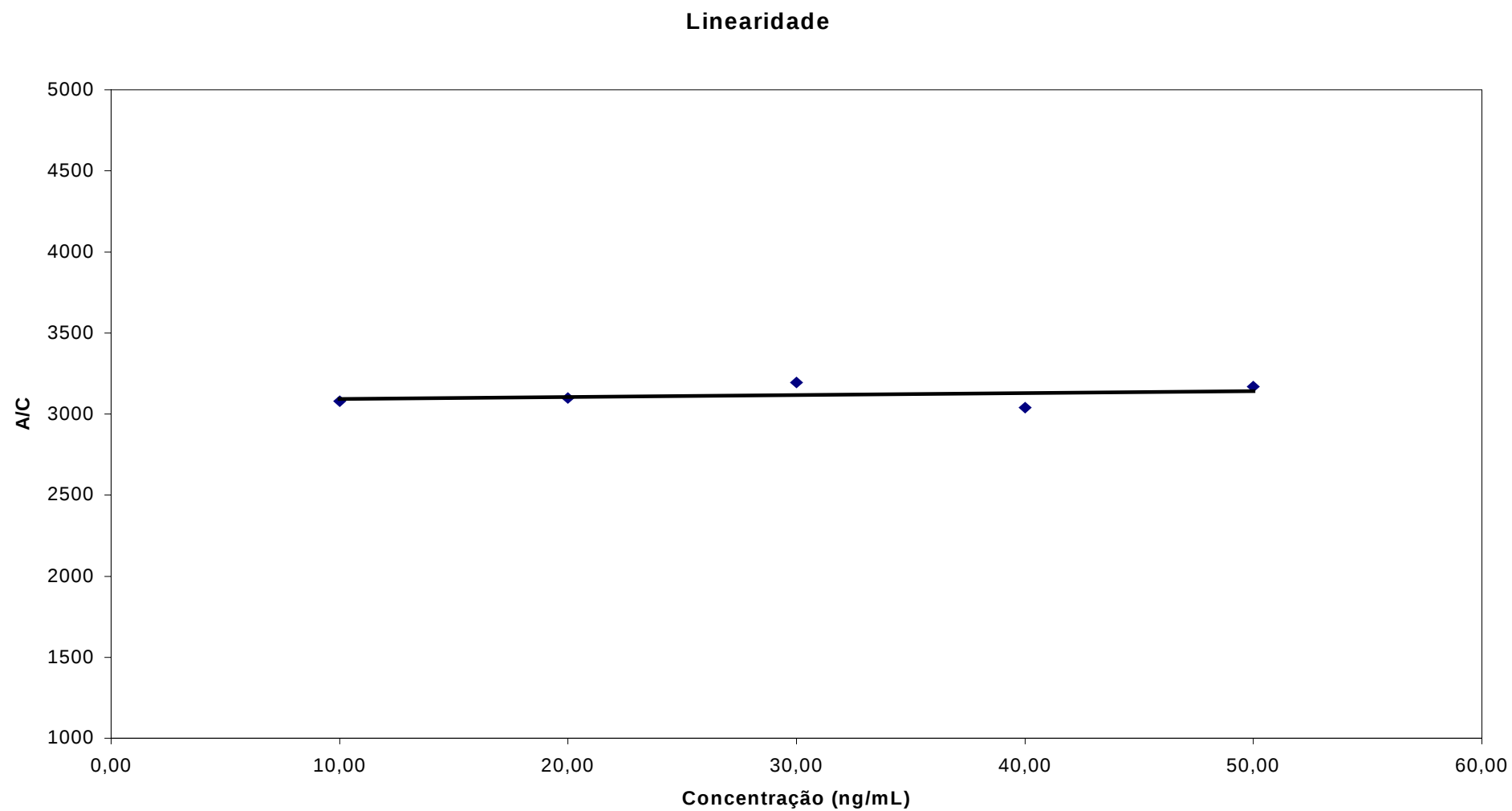


Figura 18: Gráfico da linearidade do sistema HPLC/Flu para o 1-nitropireno com intervalo de concentração entre 10,00 – 50,00ng mL⁻¹.

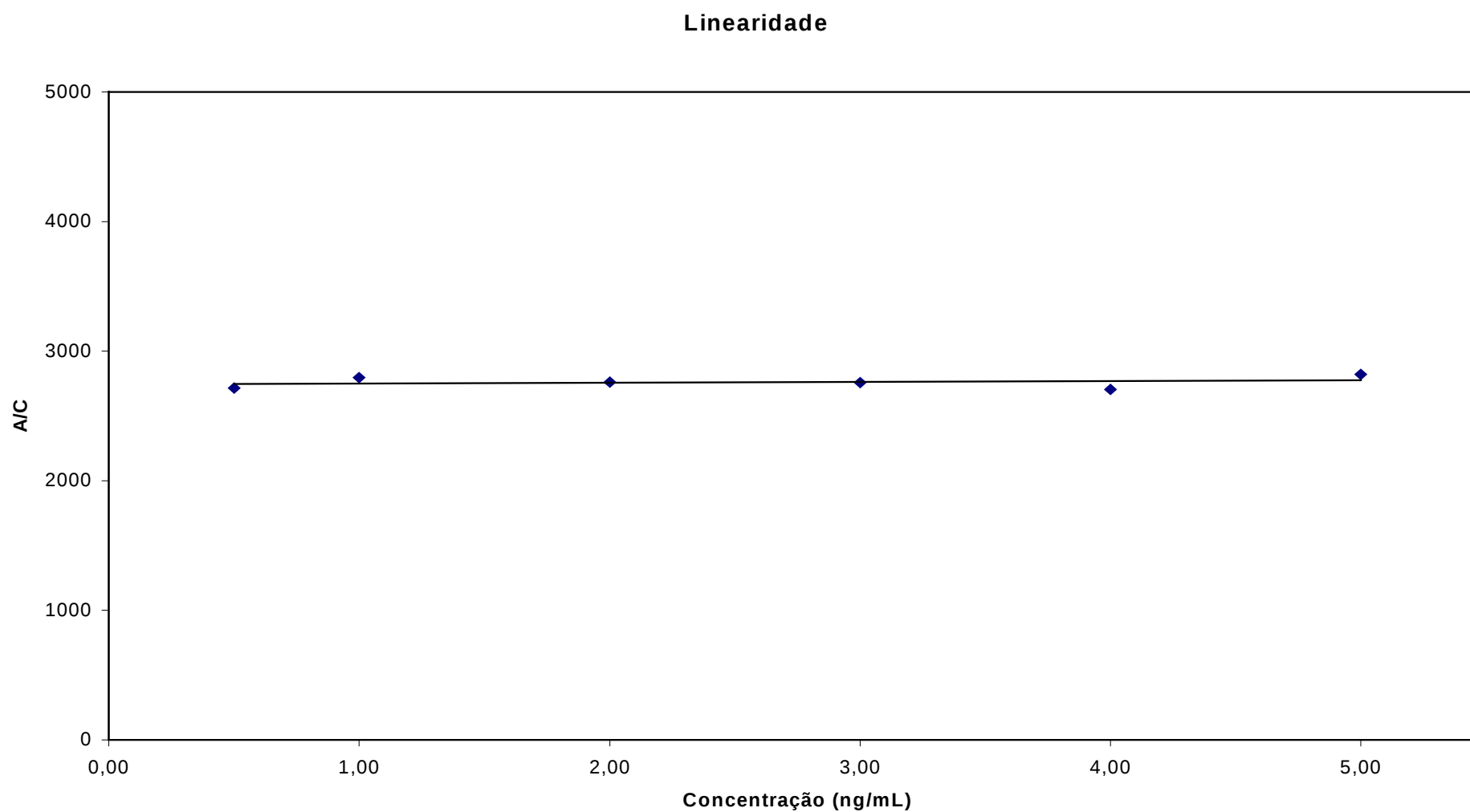


Figura 19: Gráfico da linearidade do sistema HPLC/Flu para o 1-nitropireno com intervalo de concentração entre 0,50 – 5,00ng mL⁻¹.

Pôde-se observar que a técnica de HPLC/Flu é uma técnica muito seletiva para compostos policíclicos aromáticos saturados com um grupamento nitro, neste caso específico, para o 1-nitropireno. Para os compostos com mais de um grupo nitro não pôde-se afirmar nada devido a falta de tempo hábil para otimizar o equipamento e consequentemente efetuar todo o estudo da metodologia para estes compostos na referida técnica.

Através da técnica de GC/MS, trabalhando-se no modo SCAN e íon extraído, de massa 247, pôde-se verificar que o limite de detecção é muito alto para o nível de concentração encontrado na amostra real, fazendo com que esta técnica não pudesse ser estudada com a amostra da fuligem de cana-de-açúcar.

Nos estudos com a amostra enriquecida, ficou evidenciada uma não simetria do pico referente ao 1-nitropireno, que podem ser outros NHPAs ou outros HPAs, substituídos ou não, porém pode-se utilizar cartuchos Sep-Pack para extração em fase sólida e desta maneira efetuar a separação correta do pico do 1-nitropireno.

Para o extrato do SPE o resultado obtido nesse estudo não apresentou resultados satisfatórios, pois não foi possível melhorar a separação do 1-nitropireno na amostra real, fazendo com que o cromatograma da referida extração tivesse as mesmas características do cromatograma sem SPE. Portanto se torna necessário otimizar essa etapa da análise, variando todos os parâmetros possíveis para que o SPE melhore a resolução da análise, podendo dessa forma efetuar a quantificação do referido analito em MPA.

Para avaliação da recuperação do método, utilizou-se como testemunha o extrato resultante do procedimento de extração da amostra, com a omissão apenas da amostra, ficando desta maneira apenas a solução padrão do 1-nitropireno para as

concentrações de 5,0, 10,0 e 50,0ng mL⁻¹. A área obtida para o 1-nitropireno nestas condições corresponde 100% de recuperação.

Quanto à validação do método o limite de quantificação (1,250 ng mL⁻¹) e a recuperação (82%) indicam que o método é adequado para a determinação de 1-nitropireno em amostras de fuligem de cana.

Não houve necessidade de se efetuar a eficiência da etapa de redução do grupo nitro para o grupo amino, devido ao fato da amostra real também Ter sido submetida a mesma reação, nas mesmas condições que os padrões, dessa maneira a perda será proporcional para ambas as amostras.

AGROINDÚSTRIA canavieira no Brasil um mercado de 12,7 bilhões. **Jornal Cana.**

Disponível em: <http://www.jornalcana.com.br/conteudo/DadoseEstatisticas.htm/> . Acesso em 14 de novembro de 2000.

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

ANGER, J.; MANNSCHRECK, C.; GUNDEL, J. **Intr. Arch Occup. Environ. Health**, v. 70, n.6, p. 365-377, 1997.

AREY, J.; ATKINSON, R.; ZIELINSKA, B.; McELROY, A. **Environ. Sci Technol.**, v.23, 321, 1989.

AREY, J.; ZIELINSKA, B.; ATKINSON, R.; WINER, A.M.; **Atmos. Environ.**, v.20, 2339, 1985.

ATKINSON, R.; AREY, J. **Environ. Health Perspec.**, v.102, 117-126, 1994.

BADGER, G.M.; BUTTERY, R.G.; KIMBER, R.W.L.; LEWIS, G.E.; MORITZ, A.G.; NAPIER, I.M. **J. Chem. Soc.**, p.2449, 1958.

BENTSEN, R.K.; HALGARD, K.; NOTO, H.; DAAE, H.L.; OVREBO, S. **Sci. Total Environ.**, v.212, n.1, p. 59-67, 1998.

BERSET, J.D.; EJEM, M.; HOLZER, R.; LISCHER, P. **Anal. Chim. Acta**, v.383, p.263-275, 1999.

BEZABEH, D.Z.; ALLEN, T.M.; McCAULEY, E.M.; KELLY, P.B.; JONES, A.D. **J. Am. Soc. Mass Spectrom.**, v.8, p.630-636, 1997

BIDLEMAN, T.F. **Environ. Sci. Technol.**, v.22, p.361, 1988.

BOUCHARD, M.; VIAU, C. **Toxicology**, v.127 n.1-3, p.69-84, 1998.

CAMARGO, M.S.F.O. **Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em óleo de milho, margarina, creme vegetal e maionese e efeito do processamento na contaminação**. 111 f. 1998. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

CAMPANERO, M.A. **Chromatographia**, v. 6, n.11/12, p.641-647, 1997.

CHAN, T.L.; LEE, P.S.; SIAK, J. **Environ. Sci. Technol.**, v.15, p.89, 1981.

D'AGOSTINO, P.A.; NARINE, D.R.; McCARRY, B.E.; QUILLIAM, M.A. In: COOKE, m.; DENNIS A.J. (Ed.) **Polynuclear aromatic hydrocarbons: formation, metabolism and formation**, 1983, Battelle Press, Columbus.

DAISEY, J.M.; KNEIP, T.J.; HAWRYLUK, I.; MUKAI, F. **Environ. Sci. Technol.**, v.14, p.1487, 1980.

DICKHUT, R.M.; KURT, E.G. **Environ. Sci Technol.**, v.29, p.1518, 1995.

DOUCE, D.S., CLENCH, M.R., COOKE, M., WANG, J. **J. Chrom. A**, v.786, p.275-283, 1997.

DURANT, J.L.; LAFLEUR, A.L.; PLUMMER, E.F.; TAGHIZADEH, K.; BUSBY Jr., W.F.; THILLY, W.G. **Environ.Sci.Technol.**, v.32, p.1894, 1998.

EMBRAPA lança ofensiva contra queimadas. **O Estado de São Paulo**, 24 jun. 2000. Disponível em <<http://www.estadao.com.br/agestado/nacional/2000/jun/24/11.htm>>. Acesso em: 13 de novembro de 2000.

EMBRAPA monitoramento por satélite. Disponível em:

<<http://www.queimadas.cnpm.embrapa.br>> acesso em 16 de abril de 2002.

FEILBERG, A.; POULSEN, M.W.B.; NIELSEN, T.; SKOV, H. **Atmos. Environ.**, v.35, p.353-366, 2001.

FERREIRA, L.L.; GONZAGA, M.C.; DONATELLI, S.; BUSSACOS, M.A. **Análise coletiva do trabalho dos cortadores de cana da região de Araraquara, São Paulo**. São Paulo: Fundacentro, 1997.

FRANKS, L.M.; TEICH, N. **Introdução a biologia celular e molecular do câncer**. São Paulo: Roca, 1990.

FU, P.P.; ZHANG, Y.; MAO, Y.L.; TUNGELN, L.S.V.; KIM, Y.; JUNG, H.; JUN, M.J. **J. Chrom.**, v.642, p.107-116, 1993.

GEMEINER, G.; KRASSNING, C.; SCHMID, E.; TAUSCH, H. **J. Chrom. B. Biomed. Sci. Appl.**, v.705, n.1, p.132-138, 1998.

GERDE, P.; MUGGENBURG, B.A.; SCOTT, G.G.; LEWIS, J.L.; PYON, K.H.; DAHL, A.R. **Carcinogenesis**, v. 19, n.3, p.493-500, 1998.

GIBSON, T.L. **Atmos. Environ.**, v.16, p.2037-2040, 1982.

HADDAD, S.; TARDIF, R.; WITHEY, J.; KRISHNAN, K. **Toxicol Lett.**, v.93, n.2-3, p.177-184, 1997.

HAYAKAWA, K.; BUTOH, M.; MIYAZAKI, M. **Anal.Chim.Acta**, v.266, p.251-256, 1992.

HELMIG, D.; AREY, J.; HARGER, W.P.; ATKINSON, R.; LÓPEZ-CANCIO; **Environ. Sci. Technol.**, 1992, 26, 622.

HENDERSON, B.E.; GORDON, R.J.; MENCK, H.; SOOHOO, J.; PIKE, M.C. **Am. J. Epidem.**, v.101, p.477, 1975.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. **Polynuclear aromatic compounds. Part I, Chemical, environmental and experimental data.** Lyon: IARC, 1983, v.32.

JACOB, J.; KARCHER, W.; BELLARDO, J.J.; DUMLER, R.; BOENKE, A. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v.340, p.755, 1991.

KAGAN, J.; WANG, T.P.; BENIGHT, A.S.; TUVESON, R.W.; WANG, G.; FU, P.P.; **Chemosphere**, v.20, p.453, 1990.

KUO, C.T.; CHEN, H.W. **J. Chrom. A**, v.897, p.393-397, 2000.

LaCOURSE, D.L.; JENSEN, T.E. **Anal.Chem.**, v.58, p.1894, 1986.

LANE, D.A. The fate of polycyclic aromatic compounds in the atmosphere and during sampling. In VO-DINH, T., **Chemical analysis of polycyclic aromatic compounds**, New York, John Wiley & Sons, 1989. cap. 2, p.34.

LARINI, L. **Toxicologia**. 3ed. São Paulo: Manole, 301p., 1997.

LEITE, F. **Validação em análise química**, Editora Átomo, 1998.

LI, H.; WESTERHOLM, R. **J. Chrom. A**, v.664, p.177-182, 1994.

LIMA, K. Pacto não evita expulsão na cana em SP. **O Estado de São Paulo**, 20 mai. 2000. Disponível em <<http://www.estadao.com.br/agestado/economia/2000/mai/20/78.htm>>. Acesso em: 13 de novembro de 2000.

LIN, J.J.; KENNETH, E.N.; HOLSEN, T.M. **Aerosol Sci. Technol.**, v.20, p.239, 1994

LONG, G.L.; WINEFORDNER, J.D. **Anal. Chem.**, v.55, n.7, p.712A-724A, 1983.

LOPES, W.A.; ANDRADE, J.B. **Química Nova**, v.19, n.5, p.497-516, 1996.

MacCREHAN, W.A.; MAY, W.E., **Anal. Chem.**, v.56, p.625-628, 1984.

MACHADO, F.B.P. Brasil, a doce terra. **Jornal Cana**. Disponível em:
<<http://www.jornalcana.com.br/conteudo/historiadoSetor.htm>>. Acesso em: 21 de novembro de 2000.

MECANIZAÇÃO eleva desemprego nos canaviais. **O Estado de São Paulo**, 17 jun. 2000.
Disponível em <<http://www.estadao.com.br/agestado/economia/2000/jun/17/70.htm>>.
Acesso em 13 de novembro de 2000.

MENDES, R. **Patologia do trabalho**. São Paulo: Atheneu, 1995. 643p.

MIGUEL, A.H. **Int. J. Environ. Anal. Chem.**, v.12, p.17, 1984.

MIGUEL, A.H.; FRIEDLANDER, S.K. **Atmos. Environ.**, v.12, p.2407, 1978.

MOLLER, M.; ALFHEIM, I. **Atmos. Environ.**, v.14, p.83, 1980.

MOREIRA, J.C.; BAREK, J. **Quím. Nova**, v.18, n.4, p.362, 1995.

MURAHASHI, T.; HAYAKAWA, K. **Anal. Chim. Acta**, v.343, p.251-257, 1997.

NIELSEN, T. **Anal. Chem.**, v.55, p.286-290, 1983.

NIMLOS, M.; MILNE, A. **Environ. Sci. Technol.**, v.26, p.545, 1992.

NOLL, I.S. **Avaliação da contaminação de carnes por hidrocarbonetos poliaromáticos**. 120 f. 1993. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

NY, E.T.; HEEDERIK D.; KROMHOUT, H.; JONGENEELLEN, F.J. The relationship between polycyclic aromatic hydrocarbons in air and urine workers in a Söderberg Potroom **Amer. Ind. Hyg. Assoc. J.**, v.54, n.6, p.277-284, 1993.

OEHME, M.; MANO, S.; STRAY, H. **HRC&CG**, v.5, p.417-423, 1982.

OGA, S. **Fundamentos de toxicologia**. São Paulo: Atheneu, 1996. 515 p.

OHGAKI, H.; MATSURA, N.; WAKABAYASHI, K.; KUSAMA, K.; SATO, S.; SUGIMURA, T.; **Carcinogenesis**, v.5, p.583, 1984.

OLIVARES, F.P.; BALDANI, J.I.; DÖBEREINER, J. Embrapa lança nova ofensiva contra queimadas. **O Estado de São Paulo**, 24 jun. 2000. Disponível em <<http://www.cnpab.embrapa.br/pesqand.html>> . Acesso em: 13 de novembro de 2000.

OVERALL evaluations of carcinogenicity to humans. Disponível em <<http://193.51.164.11/monoeval/crthall.html>>. Acesso em: 04 de dezembro de 2000.

PADULA, M.; AVERBERCK, S.; BOITEUX, S.; AVERBERCK, D., **J. Photochem. Photobiol. B.**, v.41, n.1-2, p.60-66, 1997.

PAPUTA-PECK, M.C.; MARANO, R.S.; SCHUETZLE, D.; RILEY, T.L.; HAMPTON, C.V.; PRATER, T.J.; SKEWES, L.M.; JENSEN, T.E.; RUEHLE, P.H.; BOSCH, L.C.; DUNCAN, W.P. **Anal. Chem.**, v.55, p.1946-1954, 1983.

PARTICULATE polycyclic organic matter. Washington: National Academy of Science, 1972.

PITTS Jr., J.N.; AREY, J.; ZIELINSKA, B.; WINER, A.M.; ATIKINSON, R.; **Atmos. Environ.**, v.19, p.1601, 1985.

PITTS, Jr., J.N.; VAN CAUWENBERGR, K.A.; GROSJEAN, D.; SCHIMIDT, J.P.; FITZ, D.R.; BELSER, W.L.; HYND, P.M. **Science**, v.202, p.515, 1978

POLYCYCLIC aromatic hydrocarbons: evaluation of sources and effects. Washington: National Academy of Science, 1983.

POPPI, N.R. **Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e outras substâncias orgânicas na combustão de madeira para produção de carvão vegetal e em material particulado atmosférico da cidade de Campo Grande/ MS**. 217 f. 2000. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara.

QUINLAN, R.; KOWALCZYK, G.; GARDINER, K.; CALVERT, I. Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in coal liquefaction workers: impact of a workwear policy on excretion of urinary 1-hydroxypyrene **Occup. and Environ. Medicine**, v.52, p.600-605, 1995.

RAMDAHL, T.; KVESETH, K.; BECHER, **HRC&CC**, v.5, p.19-26, 1982.

RAPPAPORT, S.M.; JIN, Z.L.; XU, X.B. **J. Chrom.**, v.204, p.145-154, 1982.

ROSENKRANZ, H.S.; MERMELSTEIN, R. The mutagenic and carcinogenic properties of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons. In: WHITE, C.M. (Ed). **Nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons**, Heidelberg, Hüthig, 1985, cap.6.

SALGADO, P. E. T. **Noções gerais de toxicologia ocupacional**. São Paulo: Secretaria de Estado da Saúde/ Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP, 1989.

SASAKI, J.; AREY, J.; HARGER, W.P. **Environ. Sci. Technol.**, v.29, p.1324, 1995

SELKIRK, J.K.; In SLAGA, T.J. (Ed). **Carcinogenesis: a comprehensive survey**; New York: Raven Press: New York, 1980. p.1. (*Modifiers Of Chemical Carcinogenesis*, v.5)

SIK, J.; CHAN, T.L.; GIBSON, T.L.; WOLFF, G.T.; **Atmos. Environ.**, v.19, p.369, 1985.

SIERRA, M.M.S; GIOVANELA, M.; DONARD, O.F.X.; BELIN, C. A utilização da espectroscopia de fluorescência no estudo da matéria orgânica dissolvida nas águas naturais: evolução e perspectivas. **Quím. Nova**, v.19, n. 3, p.294-301, 1996.

SIMÕES, J. Aumentam índices de poluição, no interior, durante o inverno. **O Estado de São Paulo**, 09 ago. 2000. Disponível em:
<<http://www.estadao.com.br/ciencia/aplicada/2000/ago/09/33.htm>>. Acesso em 13 de novembro de 2000.

SPITZER, B.; CICHNA, M.; MARKL, P.; SONTAG, G.; KNOPP, D.; NIESSNER, R. **J. Chrom. A**, v.880, p.113-120, 2000.

SUZUKI, T.; KANO, T.; ISHIMORI, M.; IKEDA, S.; OHKUNI, H. **J. Clin. Lab. Immunol.**, v.48, n.5, p.187-199, 1996.

TANNER, R.; FAJER, R.; **Anal. Chem.**; v.14, p.231, 1983.

TEJADA, S.B.; ZWEIDINGER, R.B.; Jr. SIGSBY, J.E. **Anal. Chem.**, v.58, p.1827-1834, 1986.

THOMPSON, D.J.; ELLENSON, W.D., **J. of Chrom.**, v.485, p.607-615, 1989.

VAN BEKKUM, Y.M.; SCHEEPERS, P.T.; VAN DEN BROEK, P.H.; VELDER, D.D.; NOORDHOEK, J.; BOS, R.P., **J. Chrom. B. Biom. Sci. Appl.**, v.701, n.1, p.19-28, 1997.

VASCONCELOS, P.; ARTAXO, P.E.; CICCIOI, P.; CECINATO, A.; BRANCALEONI, E.; FRATTONI, M. **Quím. Nova**, v.21, n.4, p.385-393, 1998

VICENTI, M.; MINERO, C.; PELIZZETTI, E.; FONTANA, M.; De MARIA, R. **J. Am. Soc. Mass Spectrom.**, v.7, p.1255-1265, 1996

WHITE, C.M. Analysis of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons by gas chromatography. In: WHITE, C.M. (Ed). **Nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons**, Heidelberg, Hüthig, 1985, cap.1.

WIGLEY, C. Carcinogênese química e lesões pré-cancerosas. In: FRANKS, L.M.; TEICH, N. **Introdução a biologia celular e molecular do câncer**. São Paulo: Roca, 1990. cap.7, p.136-137.

WISHNOK, J.S. **Anal. Chem.**, v.64, p.1126^A, 1992.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Selected non-heterocyclic aromatic hydrocarbons**. Geneva: WHO, 1998. 883 p. (Environmental Health Criteria, 202).

WUNT, M.T.; MYPIJ, D.; HO, C.K.; MAO, I.F.; CHEN, M.L.; LU, P.L.; CHISTIANI, D.C. **Epidemiol. Biomarkers Prev.**, v.7, n.2, p.169-173, 1998.

YERGEY, J.Y.; RISBY, T.H.; LESTZ, S.S.; **Anal. Chem.**, v.54, p.354, 1982.

ZAMPERLINI, G. C. M. **Identificação da fuligem proveniente da cana-de-açúcar com ênfase nos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAS)**. 93f. 1997a. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara.

ZAMPERLINI, G. C. M.; SILVA, M. R. R. M. S.; VILEGAS, W. **Chromatographia**, v.46, n. 11/12, p.655-663, 1997b.

ZIELINSKA, B.; AREY, J.; ATIKINSON, R.; WINER, A.M.; **Atmos. Environ.**, v.23, p.223, 1989.