Desenvolvimento, otimização e validação da técnica HS-SPME-GC/MS para análise de amostras obtidas do Rio Atibaia através da aplicação de uma sistemática "ISO" para diagnóstico ambiental de áreas contaminadas

Igor Renato Berton Olivares

Tese apresentada ao Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo para a obtenção de título de Doutor em Ciências (Química Analítica).

Orientador: Prof. Dr. Fernando M. Lanças

São Carlos
2006

**AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL
DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU
ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE
CITADA A FONTE**

DEDICATÓRIA

Considerando que a vida é uma obra que a cada dia se completa com nossas experiências, sem dúvida, se ela não tiver um alicerce sólido, a cada tempestade teríamos que reconstruí-la totalmente. E com um alicerce baseado em um forte conceito de família, é que acredito vencer as tempestades e continuar a construir minha própria obra. Por isso dedico este trabalho a minha família (em especial a Fernando; Silvia; Fabiana e Karen), a minha futura família, e em especial a você, Raquel.

Este trabalho também é dedicado a todos aqueles que em algum momento participaram ou participam, mais ou menos intensamente, da minha vida e que de alguma forma colaboraram para o meu desenvolvimento pessoal e profissional, seja com uma palavra, às vezes uma frase, horas de conversa ou ainda com grandes atitudes, e, dentre estes, principalmente aqueles que eu tenho o orgulho de chamar de amigo.

AGRADECIMENTOS

- A minha família por sempre apoiar meus diversos projetos
- Ao Prof. Dr. Fernando M. Lanças pela orientação
- Além de todos os amigos que sempre me auxiliaram direta ou indiretamente, agradeço especialmente aqueles que participaram mais ativamente deste projeto:
 - Guilherme Theodoro Nascimento Pereira de Lima
 - Marco A. Barbirato
 - Vitor Hugo Polisel Paccas
- À todos os funcionários do CROMA pela constante colaboração:
 - Alcimar Claro Valério
 - Elaine Aparecida Alves Ferreira Gobato
 - Luis Antonio Cheriato Depetri
 - Odete J. Milão
- A CAPES pelo apoio financeiro, ao IQSC e à USP pelo apoio institucional.
- A todos que colaboraram, direta ou indiretamente, com este trabalho.

Resumo

Neste trabalho foi desenvolvida, otimizada, e validada, uma metodologia para análise de 15 pesticidas organoclorados em sedimento através de HS/SPME-GC/MS. Esta metodologia foi aplicada para análise de amostras reais visando à realização de um diagnóstico da contaminação por pesticidas organoclorados do Rio Atibaia, principalmente em sua região próxima a contaminação oriunda da empresa Shell Brasil S.A. unidade de Paulínia.

Para realização deste diagnóstico, também foi desenvolvida uma metodologia padronizada para diagnóstico ambiental de áreas contaminadas, embasada principalmente em conceitos de Gestão de Qualidade e Meio Ambiente abordadas nas normas ISO 17025, ISO 14001 e GLP.

Finalmente, aplicando a metodologia analítica validada, e a metodologia para realização de um diagnóstico ambiental, foi realizado o diagnóstico da presença de pesticidas organoclorados no Rio Atibaia, indicando a existência de diferentes pesticidas organoclorados em sedimento, com destaque para os compostos DDE e γ BHC que se encontraram em valores acima dos recomendados pela legislação canadense.

Os resultados encontrados também demonstraram que as metodologias desenvolvidas foram adequadas para análise de uma contaminação real.

Abstract

In this work a methodology was developed, optimized and validated for the analysis of 15 organochlorine pesticides in sediment through HS/SPME-GC/MS. This methodology was applied to the analysis of real samples for diagnosis of the organochlorine pesticides contamination of the Atibaia River, mainly in its region close the contamination from company Shell Brasil S.A. site of Paulínia.

For accomplishment of this diagnosis, also a standard methodology for environmental diagnosis of contaminated areas was developed, mainly based in concepts of Quality Management and Environmental Management find in standards like ISO 17025, ISO 14001 and GLP.

Finally, applying the validated analytical methodology and the methodology proposed for environmental diagnosis, the diagnosis of the organochlorine pesticide presence in the Atibaia River was performed, indicating different organochlorine pesticides in sediment, mainly DDE and γ BHC, which were found in values above of those recommended by the Canadian legislation.

The results also demonstrated that the developed methodologies are adequate for analysis of a real contamination.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Foto aérea da empresa Shell Brasil S/A no Bairro Recanto dos Pássaros em Paulínia.	20
Figura 2. Modelo para diagnóstico ambiental de áreas contaminadas	61
Figura 3. Comparação da eficiência de extração de pesticidas organoclorados para 06 fibras de SPME. Foi utilizado um tempo de extração de 60 minutos a temperatura ambiente com agitação da amostra (Doong; Liao, 2001).	71
Figura 4. Acoplamento de forno microondas para extração por SPME em headspace de compostos organoclorados em água (Li; Li; Jen, 2003).	76
Figura 5. Eficiência de extração de diferentes camadas de fibras para amostragem de organoclorados. A eficiência de extração relativa representada graficamente é uma média das áreas dos picos obtidos para cada organoclorado (amostras com 20 mL de água contendo 0,01 µg de cada organoclorado) (Li; Li; Jen, 2003)	76
Figura 6. Cromatograma do íon total (TIC) típico, ilustrando a separação de uma mistura na concentração de 0,1ppm (injeção com seringa) contendo 15 organoclorados nas condições otimizadas (modo SCAN)	92
Figura 7. Cromatograma do íon total (TIC) típico, da separação de uma mistura na concentração de 0,1ppm (injeção com seringa) contendo 15 organoclorados nas condições otimizadas (modo SIM)	93
Figura 8. Sobreposição dos picos cromatográficos de uma análise de Alfa, Beta, Gama e Delta BHC (respectivamente), da mesma amostra fortificada nas mesmas condições cromatográficas, alterando o diâmetro interno do liner. Picos cromatográficos indicados pela cor verde: liner com diâmetro interno de 3,4mm (adquirido comercialmente); Picos cromatográficos indicados pela cor azul: liner de diâmetro interno 0,8mm (produzido no CROMA para este trabalho).	95
Figura 9. Comparação das áreas dos picos cromatográficos dos 15 compostos organoclorados (na ordem de eluição conforme Tabela 8), de duas amostras fortificadas analisadas nas mesmas condições cromatográficas, alterando programação de temperatura da coluna. – Cor verde: A corrida cromatográfica se inicia a 150°C durante 1 minuto; Cor azul: A corrida cromatográfica se inicia a 100°C durante 5 minutos.	97
Figura 10. Comparação das áreas dos picos cromatográficos dos 15 compostos organoclorados (na ordem de eluição conforme Tabela 8), de duas amostras fortificadas analisadas nas mesmas condições cromatográficas, utilizando 03 diferentes fibras de SPME. – Verde: PDMS 7µm; Azul: PDMS 30µm; Amarelo: PDMS 100µm.	98
Figura 11. Resultados da variação da temperatura de extração para os 15 analitos estudados.	100
Figura 12. Resultados da variação do tempo de extração para os 15 analitos estudados.	101
Figura 13. Resultados da variação da massa de amostra (para o mesmo volume de 15mL de água) para os 15 analitos estudados.	102
Figura 14. Resultados da variação do volume de Headspace para a mesma proporção de massa de amostra x volume de solvente (para os 15 analitos estudados).	103
Figura 15. Resultados da variação da quantidade de sal adicionada (NaCl), para os 15 analitos estudados.	105

Figura 16. Cromatograma da separação de amostra fortificada na concentração de 10ppb (10ng/g) para os 15 organoclorados (na ordem de eluição conforme Tabela 8) nas condições de extração otimizadas	106
Figura 17. Fórmula para cálculo de desvio padrão	111
Figura 18. Fórmula para cálculo do coeficiente de variação	112
Figura 19. Fórmula para cálculo da exatidão	113
Figura 20. Diagrama de causa – efeito para calculo da incerteza da metodologia proposta neste trabalho	118
Figura 21. Equação para cálculo de incerteza das variações aleatórias em y segundo guia Eurachem / Citac	118
Figura 22. Equação para cálculo do desvio padrão residual (S) segundo guia Eurachem / Citac	118
Figura 23. Equação para cálculo do desvio padrão residual (Sxx) segundo guia Eurachem / Citac	118
Figura 24. UGRHI 05 – Piracicaba, Capivari e Jundiá	132
Figura 25. Localização dos pontos de amostragem próximos à antiga área da empresa Shell	150
Figura 26. Amostrador tipo testemunho: (01) desmontado; (02) montado.	154
Figura 27. Ponto de amostragem 01 – Ponte sobre o Rio Atibaia na cidade de Paulínia, próximo à empresa Syngenta.	155
Figura 28. Ponto de amostragem 02 – Final do contorno do Rio Atibaia na empresa Shell (região de curva).	156
Figura 29. Ponto de amostragem 03 – Córrego com água da Kraton (funcionando atualmente na antiga área da Shell) que desemboca no Atibaia.	157
Figura 30. Ponto de amostragem 04 – Confluência do Rio Atibaia com o Rio Jaguari formando o Rio Piracicaba.	158
Figura 31. Placa indicando a interdição do Bairro Recanto dos Pássaros.	159
Figura 32. Ponto de amostragem 05 – Próximo a ferrovia que corta o Rio Atibaia.	160
Figura 33. Ponto de amostragem 06 – Abaixo da ferrovia que corta o Rio Atibaia.	161
Figura 34. Ponto de amostragem 07 – Próximo ao oleoduto da Petrobrás que corta o Rio Atibaia.	162
Figura 35. Ponto de amostragem 08 – Margem oposta à antiga área da empresa Shell (região de curva).	163
Figura 36. Ponto de amostragem 09 – Montante da barreira hidráulica instalada pela empresa Shell.	164
Figura 37. Ponto de amostragem 10 – Próxima à barreira hidráulica instalada pela empresa Shell.	165
Figura 38. Ponto de amostragem 11 – Jusante da barreira hidráulica instalada pela empresa Shell.	166
Figura 39. Ponto de amostragem 12 – Margem oposta à antiga área da empresa Shell (próximo à estação de captação água e emissão de efluentes).	167
Figura 40. Ponto de amostragem 13 – Próximo à estação de captação água e emissão de efluentes.	168
Figura 41. Cromatograma dos íons selecionados (SIM) indicando a presença de BHC no ponto de amostragem 01 (γ BHC: 2,29 ppb).	172

Figura 42. Cromatograma íons selecionados (SIM) indicando a presença de BHC no ponto de amostragem 04 (γ BHC: < LOQ).	172
Figura 43. Cromatograma íons selecionados (SIM) indicando a presença de DDE no ponto de amostragem 05 (DDE: 3,88 ppb).	172
Figura 44. Cromatograma íons selecionados (SIM) indicando a presença de Heptachlor Epoxido no ponto de amostragem 05 (Heptachlor Epoxido: < LOQ).	173
Figura 45. Cromatograma íons selecionados (SIM) indicando a presença de DDE no ponto de amostragem 06 (DDE: 0,51 ppb).	173
Figura 46. Cromatograma íons selecionados (SIM) indicando a presença de DDE no ponto de amostragem 07 (DDE: 2,67 ppb).	173
Figura 47. Cromatograma íons selecionados (SIM) indicando a presença de BHC no ponto de amostragem 08 (γ BHC: 11,12 ppb).	174
Figura 48. Cromatograma íons selecionados (SIM) indicando a presença de DDE no ponto de amostragem 08 (DDE: < LOQ).	174
Figura 49. Cromatograma íons selecionados (SIM) indicando a presença de BHC no ponto de amostragem 10 (γ BHC: < LOQ).	174
Figura 50. Cromatograma íons selecionados (SIM) indicando a presença de BHC no ponto de amostragem 11 (γ BHC: 0,90 ppb).	175
Figura 51. Cromatograma íons selecionados (SIM) indicando a presença de BHC no ponto de amostragem 12 (γ BHC: 2,42 ppb).	175
Figura 52. Cromatograma íons selecionados (SIM) indicando a presença de BHC no ponto de amostragem 13 (γ BHC: 6,37 ppb).	175

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Comparativo entre diferentes técnicas de extração de organoclorados em solo para posterior análise cromatográfica	29
Tabela 2: Fontes e tipos de informações específicas sobre cada área levantada durante a etapa da avaliação preliminar.	39
Tabela 3: Conceitos de gestão ambiental que podem ser aplicados para o estabelecimento do plano de amostragem.	46
Tabela 4: Conceitos de gestão da qualidade que podem ser aplicados para o desenvolvimento da metodologia analítica.	49
Tabela 5: Conceitos de gestão ambiental que podem ser aplicados para o desenvolvimento da metodologia analítica	52
Tabela 6: Características dos 15 organoclorados estudados:	85
Tabela 7: Otimização dos parâmetros do GC/MS QP 5000 para análise de organoclorados	90
Tabela 8: Tempo de retenção e faixa de monitoramento dos íons selecionados para cada pesticida organoclorado analisado	91
Tabela 9: Limites de Detecção (LOD) e Quantificação (LOQ) determinados para os 15 pesticidas organoclorados estudados	108
Tabela 10: LOQ em comparação a diferentes limites de tolerância de organoclorados em solo e sedimento	109
Tabela 11: Resultados da precisão para os 15 pesticidas organoclorados estudados	112
Tabela 12: Resultados da exatidão para os 15 pesticidas organoclorados estudados	114
Tabela 13: Resultados da linearidade expressos pelo coeficiente de determinação (r^2) para os 15 pesticidas organoclorados estudados	116
Tabela 14: Resultados do cálculo de incerteza para uma solução de 5ppb	120
Tabela 15: Conceitos de gestão da qualidade aplicados durante o desenvolvimento da metodologia analítica.	121
Tabela 16: Conceitos de gestão ambiental aplicados durante o desenvolvimento da metodologia analítica	123
Tabela 17: Caracterização da Bacia do Piracicaba (CETESB, 2005)	133
Tabela 18: Localização dos pontos de amostragem do plano de monitoramento da CETESB para o Rio Atibaia (CETESB, 2005)	134
Tabela 19: Resultados de análise das águas do Rio Atibaia, para o ano de 2005, expresso em diferentes índices (CETESB, 2005)	135
Tabela 20: Média dos resultados de análise das águas do Rio Atibaia para o ano de 2005 – Parâmetros Sanitários (CETESB, 2005)	136
Tabela 21: Porcentagem de resultados não conformes com os padrões de qualidade de água estabelecidos pela resolução CONAMA 357/2005 para o ano de 2005 (CETESB, 2005)	137
Tabela 22: Plano de amostragem para análise sedimento do Rio Atibaia quanto à presença de pesticidas organoclorados	149
Tabela 23: Descrição dos pontos de amostragem	151

Tabela 24: Conceitos de gestão ambiental aplicados para o estabelecimento do plano de amostragem. _____ 152

Tabela 25: Resultados comparados a diferentes legislações (quadros em destaque mostram discordância com a legislação) _____ 170

SUMÁRIO

<i>Capítulo I</i>	14
<i>Introdução Geral e Objetivos</i>	14
1. Diagnóstico Ambiental de Áreas Contaminadas	15
2. Contaminação por Compostos Organoclorados em Paulínia (SP)	18
3. Métodos para Análise de Organoclorados em Sedimento	24
3.1. Gestão ambiental como requisito para escolha da técnica de extração	26
3.2. Gestão da qualidade como requisito para escolha da técnica de extração	27
3.3. Comparação entre diferentes técnicas de extração de organoclorados em solo	28
4. Objetivos	32
 <i>Capítulo II</i>	 33
<i>Desenvolvimento de uma sistemática “ISO” para Diagnóstico Ambiental de Áreas Contaminadas</i>	33
1. Introdução	34
1.1 Sistemas de Gestão	34
1.2 Diagnóstico Ambiental	36
2. Parte Experimental/ Resultados e Discussões: Etapas do Modelo para Diagnóstico Ambiental de Áreas Contaminadas	37
2.1 Estudo Inicial	37
2.1.1. Identificação da região de interesse	37
2.1.2. Avaliação preliminar	38
2.1.3. Interpretação das informações iniciais	40
2.1.4. Aplicação dos métodos de screening	41
2.2. Plano de Amostragem	43
2.2.1. Utilização dos métodos de screening	43
2.2.2. Elaboração do plano de amostragem	44
2.3. Metodologia Analítica	45
2.3.1. Desenvolvimento da Metodologia Analítica	47
2.4. Amostragem / Transporte	53
2.4.1. Amostragem	53
2.4.2. Transporte e Armazenamento	54
2.5. Análise e Tratamento de Dados	54
2.5.1. Análise	54
2.5.2. Interpretação dos Resultados	54
3. Conclusões	59
 <i>Capítulo III</i>	 63
<i>Desenvolvimento da Metodologia Analítica</i>	63
1. Introdução	64
1.1. Cromatografia	64
1.2. SPME – Solid Phase Micro Extraction	68
1.2.1. Determinação de pesticidas organoclorados e seus metabólitos em amostras de solo utilizando headspace-SPME (Doong; Liao, 2001)	70

1.2.2. Determinação de pesticidas organoclorados em água utilizando forno microondas, microextração em fase sólida em headsapce e cromatografia gasosa (Li; Li; Jen, 2003)	74
1.3. Pesticidas Organoclorados	78
1.4. Sedimento como indicador ambiental	81
2. Parte Experimental/ Resultados e Discussões: Desenvolvimento e Otimização da Análise de Organoclorados por HS-SPME-GC-MS em Sedimento	82
2.1. Desenvolvimento e otimização das condições cromatográficas	82
2.2. Otimização do processo de extração	93
2.2.1. Otimização do liner para análise em SPME	95
2.2.2. Otimização da dessorção dos analitos	96
2.2.3. Otimização da fibra para análise em SPME	97
2.2.4. Otimização da temperatura de extração	99
2.2.5. Otimização do tempo de extração	100
2.2.6. Otimização da massa de amostra x volume de solvente	101
2.2.7. Otimização da força iônica	104
2.3. Validação	106
2.3.1. Limite de Detecção (LOD) e Quantificação (LOQ)	107
2.3.2. Precisão	111
2.3.3. Exatidão	113
2.3.4. Linearidade	114
2.4. Cálculo de incerteza	115
2.5. Aplicação de conceitos de gestão da qualidade e gestão ambiental ao desenvolvimento da metodologia analítica	120
3. Conclusões	125
 Capítulo IV	 127
<i>Aplicação do Modelo para Diagnóstico Ambiental de Áreas Contaminadas - Estudo de Caso: O Rio Atibaia (SP)</i>	127
1. Apresentação do Capítulo	128
2. Estudo Inicial	129
2.1. Identificação da região de interesse	129
2.2. Avaliação Preliminar	130
2.1.1. O Rio Atibaia	130
2.1.2. A contaminação da Shell Brasil S/A	140
2.3. Interpretação das informações iniciais	142
2.4. Aplicação de métodos de screening	143
3. Plano de Amostragem	143
4. Desenvolvimento da Metodologia Analítica	153
5. Amostragem e Transporte	153
6. Análise das Amostras e Tratamento dos Dados	169
7. Conclusões	179
 Capítulo V	 181
<i>Conclusão Geral</i>	181
 <i>Referências Bibliográficas</i>	 184

Capítulo I

Introdução Geral e Objetivos

1. Diagnóstico Ambiental de Áreas Contaminadas

Em termos gerais, uma área contaminada pode ser definida como região onde a deposição de substâncias pode gerar riscos potenciais a saúde humana e outros organismos vivos. Estas áreas cada vez mais são motivo de preocupação uma vez que o número destas tem aumentado consideravelmente. Nos Estados Unidos, já foram catalogadas aproximadamente 77.000 áreas contaminadas (EPA, 2004). Estas áreas podem estar presentes em diferentes ambientes como: rios; lagos; solos e águas subterrâneas; construções civis; ou qualquer outro meio onde a deposição de substâncias possa gerar riscos.

Dentre estes meios, a contaminação do solo pode ser considerada a mais preocupante, pois além de poder afetar as águas subterrâneas e até mesmo os rios, estas áreas são as que se apresentam em maior volume. Segundo a CETESB (2006), apenas no estado de São Paulo existem catalogadas 1.664 áreas com solos contaminados. Dados da *European Environment* (2002) mostram que áreas com solos contaminados em países da Europa apresentam impactos significantes, e são originárias, principalmente, devido a atividades industriais e deposição de lixo municipal.

Devido ao grande impacto gerado pelas áreas contaminadas, existe uma grande necessidade de gerenciá-las e remediá-las adequadamente;

no entanto, para isto é necessária a realização de um diagnóstico ambiental adequado da área. Apesar do diagnóstico apresentar apenas 10% (em média) do custo de todo processo de remediação, este é o maior determinante para indicar a eficiência, programação e custo das ações de remediação (EPA, 2004).

Como resultado de um diagnóstico ambiental de áreas contaminadas, é esperado um retrato fiel destas em relação aos possíveis contaminantes que possam apresentar. No entanto, a elaboração deste deve ser sistematizada, com embasamento técnico suficiente para garantir a qualidade dos dados analíticos gerados, e com controle de seus aspectos e impactos ambientais suficientes para que o diagnóstico não seja, também, uma nova fonte de contaminação.

Segundo Crumblin *et al.* (2001), a expectativa de que apenas controlar como os métodos analíticos são usados, será o suficiente para garantir a qualidade dos dados em um diagnóstico é sedutor, uma vez que isto evitaria dificuldades para o controle de outras etapas como: planejamento do projeto; representatividade da amostra; integração da competência profissional / técnica; avanços científicos dentro de todos os níveis da implementação do projeto. No entanto, para garantir a qualidade dos resultados de um diagnóstico também é necessária a utilização de ferramentas fundamentadas e reconhecidas da área de gestão da qualidade, como os princípios da GLP (Good Laboratory Practice) e normas internacionais de sistemas de qualidade como a ISO 17025, as quais

podem ser aplicadas a diferentes etapas do diagnóstico.

Além do controle da qualidade em um diagnóstico, o controle ambiental também é de grande importância, uma vez que seria destoante realizar um estudo para verificar o quanto determinada atividade antrópica contaminou o solo, sem se preocupar com os controles ambientais deste estudo, que poderiam ser uma nova fonte de contaminação. Este caso pode ser exemplificado com a quantidade de resíduos que pode ser gerada na etapa analítica.

Segundo a visão de Lesnik (2003) sobre as análises ambientais para o século 21, muitos laboratórios ainda estão utilizando técnicas de preparação e determinação da década de 80, os quais podem gerar grandes quantidades de resíduos quando comparadas a técnicas mais modernas. O desenvolvimento de técnicas mais modernas para redução da geração de resíduos nas análises químicas levou ao aparecimento do termo *Green Methods* para estas análises. Para o controle ambiental mais abrangente de um diagnóstico, seria necessário não só aplicar o conceito de *Green Methods* para a parte analítica, mas também os conceitos encontrados em ferramentas reconhecidas de gestão ambiental, como a norma ISO 14001, as quais podem ser aplicadas em diferentes etapas do diagnóstico.

Devido a importância em se gerenciar áreas contaminadas, é necessário que o diagnóstico ambiental seja realizado de forma adequada, visando retratar a realidade da área de estudo, apresentando qualidade

dos resultados, e com os devidos controles ambientais (os quais podem ser obtidos através da utilização de ferramentas de Gestão Ambiental e da Qualidade reconhecidas, como as normas ISO14001; ISO17025 e BPL). Desta maneira, para se atender adequadamente os objetivos de um diagnóstico é necessário sistematizar a realização deste, adotando vários conceitos em diferentes etapas, os quais devem abranger desde uma avaliação preliminar da área de estudo à interpretação dos resultados.

A padronização da forma de realização de um diagnóstico ambiental se encaixa perfeitamente nos ideais de entidades como, por exemplo, a ISO (International Organization of Standardization), as quais buscam desenvolver e padronizar processos com o objetivo de garantir que os resultados sejam precisos e confiáveis. No entanto, ainda não existe um procedimento padronizado para realização de um diagnóstico ambiental que esteja embasado em normas internacionais, ou, por exemplo, dentro de uma sistemática “ISO”.

2. Contaminação por Compostos Organoclorados em Paulínia (SP)

A empresa Shell Brasil S/A instalou-se em Paulínia (SP), na década de 70, no Bairro Recanto dos Pássaros, em uma área de aproximadamente 80 hectares. Suas instalações consistem em 26

edificações que ocupam aproximadamente 14 hectares. Os limites destas instalações seguem o formato do Rio Atibaia ao norte, oeste e sul. A leste a divisa da propriedade é uma linha reta. O terreno da fábrica ainda é contornado por uma estrada, não pavimentada, que separa algumas residências particulares e, em seguida, o Rio Atibaia. A Figura 1 apresenta uma foto aérea da fábrica com detalhes de sua localização (Campos, 2001).

Suas instalações compreendem diferentes departamentos como áreas produtivas, de formulações, laboratórios, armazéns, incineradores, entre outros. Entre os produtos fabricados e manipulados por esta unidade destacam-se pesticidas da classe dos organoclorados, organofosforados, piretróides, triazinas, carbamatos, entre outros. Dentre estes produtos, os organoclorados merecem destaque devido a sua alta toxicidade, o que levou à expulsão das fábricas produtoras de “Drins” nos Estados Unidos pelo menos três anos antes da Shell se instalar no Brasil (em 1973). A fabricação de “Drins” no site de Paulínia ocorreu no período de 1975 a 1990, sendo que a partir de 1986, quando a comercialização destes foi proibida no Brasil (segundo portaria 329 de 02 de Setembro de 1985 do Ministério da Agricultura), passaram a ser produzidos apenas para exportação (Campos, 2001).

Figura 1. Foto aérea da empresa Shell Brasil S/A no Bairro Recanto dos Pássaros em Paulínia.

Em 1994, a negociação e venda da Shell para a Cyanamid incluiu uma ampla auditoria ambiental, a qual constatou a contaminação das águas subterrâneas e solo. Esta auditoria, realizada pela empresa ERM (Environmental Resources Management, Inc), constatou a contaminação de águas subterrâneas e parte do solo por solventes e xileno. A Shell reconheceu que a contaminação aconteceu devido a três acidentes ecológicos ocorridos em 1978, 1982 e 1985. Devido a este fato, a Shell

apresentou uma auto denúncia à Curadoria do Meio Ambiente de Paulínia. A curadoria autorizou a venda da fábrica, ficando para a Shell a responsabilidade de descontaminar o solo e as águas subterrâneas. Um ano depois, a empresa se comprometeu a realizar trabalhos de remediação, por meio de barreiras hidráulica, e o monitoramento da água (Campos, 2001).

Em 1996, a Shell coletou amostras de água e do solo e as enviou ao laboratório norte americano Lancaster, que constatou que as concentrações de defensivos agrícolas ultrapassavam até 16 vezes o permitido. No terreno da fábrica foram identificadas duas plumas de contaminação com concentrações de componentes orgânicos que excediam os limites permitidos, entre eles, o benzeno, 1,2-dicloroetano, cloreto de vinila, cloreto de metileno, clorofórmio, xileno, tolueno além de várias substâncias inorgânicas. Na contaminação do solo, houve três áreas as quais indicaram contaminantes acima dos limites permitidos para os produtos aldrin; dieldrin; endrin e endrin cetona (Campos, 2001).

Durante o ano de 2000, a Shell, a CETESB (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental) e o Ministério Público realizaram trabalhos para uma reavaliação da área contaminada, no qual foram abertos nove poços nas chácaras do Recanto dos Pássaros. Estas análises mostraram que em dois destes poços existiam concentrações de dieldrin acima dos valores estabelecidos pelo padrão de potabilidade de água,

fazendo com que a Shell fornecesse água aos 200 habitantes das chácaras e, ainda, que comprasse toda sua produção agrícola (Campos, 2001).

De conhecimento da contaminação do solo e águas subterrâneas, a partir de 2001 a preocupação foi voltada para a contaminação das chácaras localizadas no Recanto dos Pássaros e, por consequência, seus moradores.

Em 05 de Março de 2001, o Ministério Público de Paulínia, o Centro de Apoio ao Meio Ambiente do Ministério Público de São Paulo, Shell e Prefeitura de Paulínia definiram as cláusulas que iriam compor o Termo de Ajustamento de Conduta para saúde humana. Durante esta reunião, a Shell e a Vigilância Sanitária fizeram um acordo verbal onde a empresa se comprometeu a fornecer o local para realização dos exames, acordo este não cumprido pela empresa. Independente deste problema, a Vigilância Sanitária cadastrou os moradores das chácaras e foram realizados os exames necessários através do laboratório CEATOX de Botucatu, supervisionado pelo Toxicologista da UNESP, Dr. Igor Vassilief.

Em Agosto de 2001 foram apresentados os resultados dos exames realizados pelo laboratório CEATOX, o qual registrou a presença de inseticidas organoclorados aldrin; dieldrin; endrin; heptacloro; endosulfan; entre outros, em moradores do Recanto dos Pássaros. Estes resultados indicaram que ainda haveria uma fonte contaminadora presente neste Bairro, a qual continuava contaminando e intoxicando a população moradora (Vassilieff, 2001).

Em Agosto de 2002, o Laboratório de Cromatografia (CROMA) do Instituto de Química da USP de São Carlos, realizou análise em amostras de tecido adiposo de 120 moradores do Recanto dos Pássaros, identificando, mais uma vez, a presença de pesticidas organoclorados nos moradores (Folha de São Paulo, 2002).

Em Fevereiro de 2003, após a Shell ter adquirido a maioria das chácaras do Bairro Recanto dos Pássaros, os últimos moradores foram retirados, e o Bairro foi interditado por um decreto municipal (Folha de São Paulo, 2003).

A demora nas ações da empresa Shell em relação à contaminação no solo e águas subterrâneas ameaçou, ainda mais, o meio ambiente desta região. Dentre os problemas ambientais acarretados com esta contaminação, sem dúvida a possível contaminação do Rio Atibaia poderia ser a mais desastrosa, uma vez que este Rio fornece água para inúmeros municípios. Esta preocupação foi apresentada pelo jornal Folha de São Paulo em junho de 2004 (Folha de São Paulo, 2004), o qual informou o atraso nas obras de implantação de uma barreira hidráulica para conter a contaminação do Rio Atibaia pela Shell. Nesta mesma matéria, é apresentado o cenário preparado pela empresa especializada em diagnóstico ambiental, a CSD Geoclok, a qual, após estudo realizado em 2000, afirma que sem nenhuma intervenção a contaminação por organoclorados poderia chegar ao Rio Atibaia na pior das hipóteses no ano de 2006.

A construção da barreira hidráulica para impedir a ampliação da contaminação foi iniciada em julho de 2004 e, segundo a empresa Shell, as obras de descontaminação serão concluídas em 2014 (Folha de São Paulo, 2004).

Não foram encontrados registros de estudos recentes para verificar se realmente o Rio Atibaia sofre ou sofreu influência dos pesticidas organoclorados oriundos da contaminação da Shell, principalmente através da análise de sedimento, que poderia ser um excelente indicador.

3. Métodos para Análise de Organoclorados em Sedimento

A cromatografia gasosa pode ser considerada como um dos melhores métodos para a análise de organoclorados em diferentes tipos de matrizes como solo, sedimento entre outros, sendo recomendada pela própria agência de proteção ambiental dos Estados Unidos (EPA – *Environmental Protection Agency*) através do manual que orienta a análise de resíduos sólidos - método 8081A do manual SW-846 (EPA, 1996).

A cromatografia gasosa com a utilização de detector por ECD (*Electron Capture Detector*) ou MS (*Mass Spectrometer*) aparece como uma técnica bem definida para análise de organoclorados. Entre estes dois detectores, o MS apresenta a vantagem de também identificar o analito de

interesse além de quantificá-lo, enquanto que para o ECD, apesar de ser muito sensível para análise de compostos organoclorados, não é capaz de garantir a identificação do analito.

Uma vez que o valor do tempo de retenção em apenas uma coluna não é recomendado para identificação de um composto, para a utilização do ECD também seria necessário avaliar o tempo de retenção em duas colunas diferentes para garantir a identificação do mesmo (o que acarreta um aumento no tempo de análise).

Apesar da cromatografia gasosa ser uma técnica bem fundamentada para análise de organoclorados (seja com detector por ECD ou MS), grandes discussões ainda existem em relação as etapas de extração e *clean up* da amostra para selecionar e pré concentrar as espécies alvo. O EPA, através do método 8081A, recomenda a utilização de algumas técnicas de extração, mas não restringe a possibilidade de utilizar qualquer técnica, desde que esta seja apropriada. Dentre as diferentes técnicas de extração para organoclorados podemos destacar:

- ✓ extração por Soxhlet;
- ✓ extração por ultra-som (SE)
- ✓ extração por forno microondas (MAE)
- ✓ extração por água em estado subcrítico;
- ✓ microextração em fase sólida (SPME).

Dentre os métodos apresentados anteriormente, é necessário avaliar diferentes características para selecionar o método mais adequado para

análise de organoclorados em matrizes complexas como solo ou sedimento. No caso da utilização destas análises para realização de um diagnóstico, a avaliação da melhor técnica de extração para ser otimizada pode ser realizada utilizando-se dos próprios conceitos necessários para a realização de um diagnóstico, ou seja, dentro de conceitos de Gestão da Qualidade e Ambiental, com base em normas internacionalmente reconhecidas (como a ISO14001 e ISO17025).

3.1. Gestão ambiental como requisito para escolha da técnica de extração

A norma ISO 14001, que estabelece diretrizes para a implantação de um sistema de gestão ambiental, utiliza boa parte dos requisitos da norma ISO 9001 (de gestão da qualidade) só que aplicado ao gerenciamento ambiental. No entanto, estes requisitos de nada adiantam se não aplicados àquelas atividades da empresa que interagem diretamente com o meio ambiente e necessitam ser controladas. Desta maneira a norma ISO 14001 exige, através do requisito 4.3.1., que inicialmente todos os aspectos ambientais (definido como produto de uma atividade que pode interagir com o meio ambiente) sejam levantados, para que os demais requisitos da norma sejam aplicados no controle destes.

Utilizando este conceito de aspecto ambiental para a atividade de análise química através de cromatografia gasosa, o principal aspecto que

deve ser destacado é o consumo de solvente utilizado durante a etapa de extração. Desta maneira este é um importante fator para escolher uma técnica de extração, o que também levará a trabalhar uma metodologia dentro do conceito de *green methods* (Lesnik, 2003), que se preocupa em gerar uma metodologia com um menor impacto ao meio ambiente.

3.2. Gestão da qualidade como requisito para escolha da técnica de extração

Atualmente, o sistema de qualidade para laboratórios, segundo requisitos da norma NBR ISO/IEC 17025, é um dos mais utilizados para garantir a confiabilidade de um laboratório analítico, sendo no Brasil exigido pelo Ministério da Saúde (através da ANVISA), Ministério da Agricultura e Agência Nacional de Águas (ANA). A falta deste sistema em um laboratório analítico impossibilita a realização de ensaios para estes órgãos. Além da exigência legal, atualmente este sistema é um diferencial para laboratórios quanto à qualidade de seus dados analíticos (Olivares, 2006).

Os requisitos desta norma abrangem todos os níveis de um laboratório, desde a parte administrativa como compras, recursos humanos, até a parte técnica do mesmo. Desta maneira seria impossível, e até desnecessário, tentar aplicar todos os seus requisitos em uma

atividade analítica. No entanto, alguns destes podem ser excelentes ferramentas para a etapa analítica do diagnóstico, como os itens:

- ✓ 5.3.1. - Acomodação e Condições Ambientais
- ✓ 5.4.5. - Validação
- ✓ 5.4.6. - Incerteza
- ✓ 5.6.2.1. - Calibração
- ✓ 4.12.2. – Registros

Dentre estes itens, a validação pode ser muito bem aplicada para se avaliar, quanto à qualidade dos resultados, as diferentes técnicas de extração apresentadas anteriormente. O conceito de validação é muito amplo; no entanto, os valores de limite de detecção e recuperação podem ser utilizados como parâmetros comparativos na escolha da técnica de extração mais eficiente a ser otimizada para análise de organoclorados.

3.3. Comparação entre diferentes técnicas de extração de organoclorados em solo

Devido à escassez de referências quanto à análise de organoclorados em sedimento, foi realizada uma comparação entre diferentes técnicas de extração de organoclorados em solo, devido ao solo também ser considerado uma matriz complexa. Desta maneira, a Tabela 1 compara as diferentes técnicas de extração aplicadas para análise de organoclorados em solo.

Tabela 1: Comparativo entre diferentes técnicas de extração de organoclorados em solo para posterior análise cromatográfica

Referência Bibliográfica	Técnica de Extração	Clean-Up	Detector Utilizado	Requisito ISO 14001	Requisito NBR ISO/IEC 17025	
				4.3.1. Aspectos Ambientais	5.4.5. Validação	
				Consumo de Solvente	Limite de Detecção	Recuperação
Castro, 2001	Ultra-som (SE)	Não utilizado	ECD	Baixo	menor que 100ng/g	90,4% a 108,5%
Richter, 2003	Água em estado sub-crítico	Concentração em Diclorometano	MS	Baixo	6,0 a 137,1 ng/g	65,8% a 103,4%
Doong; Liao, 2001	Microextração em fase sólida (SPME)	Não utilizado	ECD	Muito baixo	0,06 – 0,65 ng/g	68% à 127%
Fatoki, 2003	Extração por forno microondas (MAE)	Utilização de sílica gel ativada	ECD	Baixo	-	77% à 105%
Covaci, 2001	Soxhlet	Utilização de sílica ácida / cartucho de alumina desativada	ECD	Alto	0,1 – 0,25 ng/g	70 à 85%

A Tabela 1 deve ser avaliada com muita cautela, uma vez que além dos diferentes métodos de extração utilizados por estes diferentes autores, estes utilizaram diferentes tipos de equipamento, colunas, reagentes, e as próprias condições cromatográficas. No entanto, os resultados apresentados na tabela podem ser utilizados como orientação, acreditando que estes autores buscaram aperfeiçoar cada método de extração para obter os melhores resultados analíticos.

Desta maneira, observamos que dentre as técnicas de extração apresentadas, a extração por soxhlet, a qual é a técnica mais utilizada por diferentes autores para extração e posterior análise de organoclorados em diferentes tipos de matrizes, apresenta bons resultados analíticos com um dos melhores limites de detecção e recuperação. No entanto, é uma técnica demorada, podendo levar até 24h de extração, consumindo uma grande quantidade de solvente.

A extração por microondas, segundo Fatoki (Fatoki, 2003) é uma boa técnica apenas para preparo de amostra; desta maneira o autor não apresenta muitas informações sobre resultados desta técnica, apresentando apenas os resultados de recuperação para a mesma.

A utilização de água em estado sub-crítico como técnica de extração apresentou um limite de detecção mais alto que as outras técnicas, o que também pode ser justificado pelo detector utilizado, uma vez que o ECD (utilizado nas outras técnicas de extração) é muito mais sensível para os organoclorados que o MS. Desta maneira esta se apresentou como uma

boa técnica, com a desvantagem da necessidade em ter um equipamento específico para geração da água em estado sub-crítico.

O ultra-som, apesar de ser uma técnica rápida, não apresentou um bom limite de detecção, que poderia ser melhorado se aplicada uma técnica de *clean-up* (não foi utilizada na referência apresentada para esta técnica na Tabela 1). No entanto, para aplicação desta técnica também existe a necessidade de um equipamento específico para sua aplicação.

A SPME, além de apresentar os melhores resultados quanto ao limite de detecção, apresentou bons resultados quanto a recuperação e um consumo muito baixo de solvente (praticamente nulo). Esta técnica ainda apresenta a vantagem de não ser necessária a utilização de *clean-up*, agilizando, ainda mais, a realização da análise. Apesar de ser uma técnica recente, tem apresentado bons resultados para análise de diferentes compostos em diferentes matrizes. Desta maneira, se apresenta como a mais eficiente, dentre os conceitos adotados, para análise de organoclorados.

Uma vez que estes compostos são voláteis, a extração por SPME tem a vantagem de ser realizada em Headspace (HS/SPME), para posterior análise cromatográfica. No entanto, como mencionado anteriormente, esta é uma técnica recente, sendo necessárias otimizações para que a análise de organoclorados em sedimento atenda baixos limites de detecção, imprescindíveis para aplicação desta técnica em um diagnóstico ambiental.

4. Objetivos

Este projeto apresenta três principais objetivos, complementares, intimamente ligados:

1. Desenvolver uma sistemática “ISO” para diagnóstico ambiental de áreas contaminadas com o propósito de servir de referência para realização de um diagnóstico dentro de conceitos bem fundamentados sobre Gestão de Qualidade e Gestão Ambiental, visando retratar a realidade da área de estudo, apresentando qualidade dos resultados e com os devidos controles ambientais.
2. Desenvolver e otimizar uma metodologia analítica para análise de organoclorados em sedimento através de HS-SPME-GC/MS.
3. Aplicar o modelo de diagnóstico ambiental de áreas contaminadas e a metodologia analítica para análise de organoclorados, visando à análise da possível contaminação por organoclorados no Rio Atibaia em Paulínia.

Capítulo II

Desenvolvimento de uma sistemática “ISO” para Diagnóstico Ambiental de Áreas Contaminadas

1. Introdução

1.1 Sistemas de Gestão

Os Sistemas de Gestão são ferramentas cada vez mais utilizadas com o objetivo de padronizar atividades para atender metas específicas. Dentre estes Sistemas, sem dúvida a ISO 9001, que estabelece um Sistema de Gestão da Qualidade, é a mais conhecida. Esta norma apresenta diretrizes com o objetivo de controlar todas as atividades de uma empresa que possam afetar na qualidade do produto final. Desta maneira, uma empresa que adote esta norma demonstra sua preocupação em garantir a qualidade de seus produtos, sendo um diferencial importante para conquista de mercado.

A adoção de um Sistema de Gestão da Qualidade, segundo os requisitos da ISO 9001 pelas empresas, acabou se tornando necessário para sua sobrevivência no mercado nacional, ou até mesmo internacional, devido à pressão dos clientes, pois estes cada vez mais se sentem confortáveis em preferir empresas que trabalhem dentro de requisitos de Sistemas de Gestão internacionalmente reconhecidos.

Da mesma maneira que a ISO 9001, foram nascendo outros Sistemas de Gestão com metas específicas, como por exemplo:

- ✓ ISO 14001 - apresenta o objetivo de controlar todos os aspectos e impactos ambientais de uma empresa, fazendo com que ela trabalhe dentro de um conceito ambientalmente correto;
- ✓ ISO/IEC 17025 - apresenta uma estrutura muito próxima a ISO 9001; no entanto, é direcionada especialmente para laboratórios de ensaio e calibração com requisitos específicos para atividades de laboratório;
- ✓ BPL (Boas Práticas de Laboratório) - Sistema de Gestão que apesar de apresentar o mesmo objetivo que a ISO/IEC 17025, seus requisitos são distintos. Diferente dos outros Sistemas desenvolvidos pela entidade ISO (*International Organization for Standardization*) que foca a instituição como um todo, a BPL foi desenvolvida pela OECD (*Organisation for Economic Co-operation and Development*) e visa o controle de um estudo específico principalmente no caso de registro de produtos.

A entidade ISO é, sem dúvida, a entidade mais atuante quanto ao desenvolvimento de normas internacionais que visam principalmente a diminuição de barreiras técnicas para o comércio internacional (criadas em virtude de divergências entre normas de diferentes países), através da adoção de normas internacionalmente reconhecidas.

Entre as normas desenvolvidas, sem dúvida as normas referentes aos Sistemas de Gestão ISO 9001; ISO 14001 e ISO/IEC 17025 são as mais conhecidas, sendo internacionalmente adotadas, demonstrando que

a padronização de uma atividade através de uma Sistemática “ISO” é cada vez mais necessária para demonstrar qualidade e confiabilidade desta atividade.

1.2 Diagnóstico Ambiental

Para garantir que um diagnóstico ambiental de áreas contaminadas retrate a realidade da área de estudo, com qualidade dos resultados e com os devidos controles ambientais, é necessário sistematizar a realização do diagnóstico adotando vários conceitos de Qualidade e Meio Ambiente (que podem ser obtidos através da utilização de ferramentas de Gestão Ambiental e da Qualidade reconhecidas, como as normas ISO14001; ISO17025 e BPL) em diferentes etapas.

Considerando o processo de realização de um diagnóstico ambiental desde o seu planejamento até a interpretação dos resultados, podemos destacar as principais etapas que devem ser desenvolvidas objetivando retratar adequadamente área de estudo:

1. Estudo Inicial;
2. Desenvolvimento do Plano de Amostragem;
3. Desenvolvimento da Metodologia Analítica;
4. Amostragem e Transporte das Amostras;
5. Análise e Tratamento dos Dados.

Com base nestas etapas, a seguir será apresentado e discutido o desenvolvimento de cada uma destas no presente trabalho, indicando uma sugestão dos conceitos mínimos de Gestão de Qualidade e Gestão Ambiental que podem ser adotados em diferentes etapas do diagnóstico para, desta maneira, estruturar um modelo de diagnóstico ambiental de áreas contaminadas.

2. Parte Experimental/ Resultados e Discussões: Etapas do Modelo para Diagnóstico Ambiental de Áreas Contaminadas

2.1 Estudo Inicial

O estudo inicial corresponde a um levantamento que fornecerá suporte para o desenvolvimento das demais etapas, o qual se sub-divide em quatro itens:

2.1.1. Identificação da região de interesse

Esta região é o local onde possivelmente exista uma contaminação. Assim, geralmente estará próxima a alguma atividade com potencial poluidor ou que sofreu contaminação oriunda de um “acidente ambiental”.

2.1.2. Avaliação preliminar

A avaliação preliminar consiste em um diagnóstico inicial da área com suspeita de contaminação, o qual é realizado através de um minucioso levantamento de informações existentes sobre o local e do reconhecimento do mesmo através de visitas técnicas.

Em alguns casos, as áreas a serem avaliadas já possuem uma série de informações que podem ser úteis para a realização da avaliação preliminar. Um exemplo dos tipos de informações que podem ser obtidas é apresentado na Tabela 2 (CETESB, 2001).

A sistemática para levantamento de informações depende dos tipos de informações existentes. Dentre estas informações, é importante destacar pelo menos aquelas referentes ao histórico de atividades da região e o meio físico (CETESB, 2001).

Um estudo histórico permite analisar diferentes atividades desenvolvidas na região, em diferentes épocas, uma vez que a contaminação da área pode estar relacionada com atividades passadas, além das atuais. O estudo sobre o meio físico também é de grande importância, pois fornecerá informações referentes às potenciais vias de transporte dos contaminantes, assim devem ser coletados dados geológicos, hidrogeológicos, hidrológicos, geomorfológicos e meteorológicos.

Tabela 2: Fontes e tipos de informações específicas sobre cada área levantada durante a etapa da avaliação preliminar.

Fontes de informação	Tipos de informações	Documentos a consultar
Proprietário ou responsável pela área	História operacional e ambiental da área	Registros de produção, armazenamento e disposição de substâncias e resíduos na área, fluxogramas e plantas industriais
Órgão de controle ambiental	Histórico ambiental e operacional da área, dados sobre o meio físico	Processos, relatórios e cadastros
Ministério público	Informações sobre a situação legal da área	Processos
Prefeitura	Utilização atual / futura da área e vizinhança	Plano diretor, plantas da área
Empresas de planejamento do uso e ocupação do solo	Informações sobre os bens a proteger localizados próximos à área, histórico operacional da área	Mapas, fotografias aéreas e relatórios
Empresas prestadoras de serviços especializados, como perfuradoras de poços, aerofotogrametria, firmas de engenharia civil, empresa de abastecimento de água	Descrição geológica e hidrogeológica da área, história do uso do solo e utilização da área, drenagens, bens a proteger, histórico das operações na área, disposição de substâncias, <i>layout</i> da área, informações geotécnicas	Relatórios contendo mapas perfis descritivos de poços e sondagens, fotografias aéreas multitemporais, plantas das edificações, mapas com utilidades
Meios de comunicação	Ocorrências de fatos marcantes relacionados à área	Jornais, revistas e livros
Corpo de bombeiros	Mapas históricos e plantas de segurança contra incêndio, medidas de segurança tomadas na área	Relatórios, mapas e croquis
Entrevistas com moradores, funcionários, técnicos da agência ambiental e prefeitura, etc	Histórico geral da área, processos, operação, disposição de substâncias	Registros das entrevistas executadas
Institutos (geológico, agrônomo, química, pedológico, meteorológico, etc), universidades	Comportamento dos contaminantes, geologia, hidrogeologia, meteorologia da área etc	Textos de revistas especializada, teses, dissertações, livros

Após um primeiro levantamento de informações, torna-se possível estabelecer um modelo inicial da situação da área de estudo. Este modelo pode ser confrontado com as informações obtidas em uma visita técnica. Durante esta visita, podem ser realizadas entrevistas para obtenção de diferentes tipos de informações conforme indicado abaixo (CETESB, 2001):

- ✓ Locais de disposição ou infiltração de resíduos;
- ✓ Acidentes ocorridos;
- ✓ Paralisação do funcionamento;
- ✓ Índice de doenças dos funcionários;
- ✓ Manuseio de substâncias;
- ✓ Reclamações da população;
- ✓ Problemas com a qualidade do ar água e solo;
- ✓ Reformas realizadas nas áreas.

Confrontando as informações obtidas durante uma possível visita técnica com as demais informações, é possível obter-se um modelo aprimorado das características da área as quais são relevantes para a elaboração do diagnóstico.

2.1.3. Interpretação das informações iniciais

Após obter todas as informações possíveis e relevantes, é possível elaborar um modelo para área de estudo com informações que serão

utilizadas como base das investigações a serem realizadas. Estas informações apresentarão, no mínimo, uma relação dos possíveis contaminantes e uma delimitação da área de estudo.

2.1.4. Aplicação dos métodos de *screening*

Métodos de *screening* são ensaios que podem ser realizados em campo, os quais apresentam como função principal identificar uma faixa de concentração de contaminantes no solo e a presença de *hot-spots* (pontos de maior concentração) orientando, assim, a execução do plano de amostragem e o desenvolvimento da metodologia analítica. Estes ensaios podem ser realizados através de métodos químicos (Imunoensaios, Cromatografia Gasosa, Sistemas de Sensores Químicos, entre outros), e métodos geofísicos (Geo-Radar, Eletromagnético Indutivo, Eletroresistividade, entre outros). Os métodos de *screening* muitas vezes não analisam diretamente o contaminante de estudo, podendo analisar outros compostos ou características do meio que possam ser indicadores da presença e concentração do contaminante alvo.

A escolha de um método de *screening* deve estar relacionada com o tipo de contaminante e a faixa de concentração a qual se deseja analisar. Sua aplicação está fortemente associada à redução de custos na elaboração do diagnóstico. Segundo Crumbling (2002), a geração de dados em “tempo real” (que geralmente envolve a utilização de ensaios

de campo) economiza de 30 a 50% do custo do projeto. Crumbling *et al.* (2001), ainda exemplifica: “Uma área que foi analisada em 230 diferentes pontos, através de um ensaio para análise de organoclorados de baixo custo (imunoensaio), juntamente com a análise de outros 40 pontos através de um ensaio definitivo de alto custo poderiam, juntos, fornecer informações suficientes para o diagnóstico de uma área contaminada. O grande volume de ensaios de baixo custo gerencia a incerteza da amostragem, garantindo que nenhum local com contaminação significativa escaparia da detecção. As análises de alto custo utilizando um método definitivo em amostras selecionadas (que também foram testadas por imunoensaios) garantem que as incertezas do imunoensaio são gerenciadas. Os dados gerados pelo imunoensaio, e os gerados pelo método definitivo, sozinhos não seriam suficientes, mas, juntos, conseguem um resultado de menor custo e alta confiabilidade”.

A aplicação de métodos de *screening* pode ser utilizada para gerar informações como a presença de *hot spots* ou a concentração média de contaminantes, que serão úteis na elaboração do plano de estudo ou da metodologia analítica. A adoção desta prática ainda permite reduzir os custos do diagnóstico, garantindo a qualidade dos dados analíticos, não devendo, entretanto, ser utilizado indiscriminadamente apenas para redução de custos.

2.2. Plano de Amostragem

2.2.1. Utilização dos métodos de *screening*

Depois de verificado a aplicabilidade em se utilizar algum método de *screening* ao diagnóstico, é necessário aplicá-lo a área de estudo. Para isto, algumas etapas devem ser seguidas, juntamente com alguns conceitos de qualidade e meio ambiente. Estas etapas são discriminadas a seguir:

1º Etapa - Elaboração de plano de amostragem para *screening*

A elaboração do plano de amostragem deve utilizar as informações levantadas no estudo inicial, o que constituiu um modelo inicial da área de estudo. Ainda podem ser utilizadas diferentes técnicas estatísticas, de maneira a realizar uma amostragem mais representativa possível da área de estudo.

2º Etapa - Coleta de amostra para *screening*

O procedimento de coleta de amostras para *screening* deve ser o mesmo utilizado para a análise definitiva das amostras em laboratório. Um melhor detalhamento destas técnicas será discutido no item 2.4. (Amostragem / Transporte).

3º Etapa - Desenvolvimento / adaptação de metodologia e análise para *screening*

Geralmente as metodologias de *screening* utilizadas são aquelas já desenvolvidas e fundamentadas. No entanto, caso seja necessário desenvolver ou adaptar alguma metodologia de *screening*, é imprescindível utilizar alguns conceitos de qualidade e meio ambiente. Estes conceitos serão discutidos nos 2.3. (Metodologia Analítica).

4º Etapa - Interpretação dos resultados de *screening*

Como resultado, esperam-se obter informações que possam ser úteis para o desenvolvimento do plano de amostragem (como a presença de *hot-spots*), e para o desenvolvimento da metodologia analítica (como a faixa de concentração dos contaminantes). Estas informações devem ser inseridas no modelo elaborado no estudo inicial, que será utilizado na elaboração das etapas seguintes.

2.2.2. Elaboração do plano de amostragem

O plano de amostragem é uma importante fase do diagnóstico, pois busca garantir sua representatividade perante a área de estudo. Desta maneira, deve-se definir no mínimo:

- ✓ Os parâmetros a serem analisados;
- ✓ Distribuição dos pontos de amostragem;

- ✓ Quantidade dos pontos de amostragem;
- ✓ Profundidade da amostragem;
- ✓ Quantidade necessária de amostra;
- ✓ Amostras simples e compostas;
- ✓ Técnicas de amostragem;
- ✓ Descontaminação dos equipamentos de amostragem;
- ✓ Armazenamento da amostra;
- ✓ Infra-estrutura (equipamentos, transporte, técnicos);
- ✓ Cronograma de amostragem;

Para definição dos itens acima apresentados, devem ser utilizadas informações do modelo já elaborado no estudo inicial e em metodologias nacionais ou internacionais fundamentadas.

Para o estabelecimento do plano de amostragem, alguns conceitos de gestão ambiental podem ser adotados, conforme apresentado na Tabela 3.

2.3. Metodologia Analítica

A qualidade dos dados gerados em um diagnóstico também está diretamente ligada à metodologia analítica utilizada. Desta maneira esta deve ser adequada ao analito e a matriz de interesse, bem como validada através de metodologias fundamentadas.

Tabela 3: Conceitos de gestão ambiental que podem ser aplicados para o estabelecimento do plano de amostragem.

Norma	Item	Descrição *	Exemplo
ISO 14001	4.3.1	Aspectos Ambientais – Devem ser identificados todos os aspectos ambientais das atividades em questão e, em seguida, determinados aqueles que tenham impacto significativo ao meio.	A utilização de produtos químicos para descontaminação de ferramentas durante a amostragem pode gerar resíduos (considerado o aspecto ambiental da atividade de descontaminar ferramentas). Dependendo do tipo de resíduo gerado, este pode causar um impacto significativo ao ambiente (caso não seja disposto adequadamente). Os aspectos que podem gerar impacto significativo devem ser levantados.
	4.3.2	Requisitos Legais – Devem ser levantados todos os requisitos legais aplicáveis aos aspectos ambientais identificados.	Determinados resíduos de produtos químicos podem apresentar requisitos legais específicos para sua disposição final.
	4.4.6	Controle Operacional – Devem ser identificadas as atividades associadas aos aspectos ambientais significativos, para que sejam executadas através de procedimentos adequados e utilizando-se de critérios operacionais.	A atividade de descontaminar ferramentas deve ser realizada através de um procedimento específico que assegure a correta disposição do resíduo, utilização da quantidade adequada e considerando os requisitos legais (caso necessário).

* Esta é apenas uma descrição resumida, uma descrição completa do requisito pode ser obtida na norma original.

2.3.1. Desenvolvimento da Metodologia Analítica

A análise de vários analitos em alguns tipos de matrizes está muito bem fundamentada em metodologias oficiais. No entanto, muitas vezes é necessária a adequação e desenvolvimento de metodologias para atingir os limites de detecção exigidos para o diagnóstico. Para análise em matrizes complexas, como o solo, por exemplo, apesar de existirem métodos oficiais, na maioria das vezes a adequação também é necessária.

Quando se utiliza uma metodologia para análise de diferentes poluentes no solo, a resposta deste método pode não ser a mesma para diferentes tipos de solos, devido as suas diferentes características. Desta maneira, muitas vezes é necessário adaptar ou desenvolver novas metodologias para isto. Segundo Crumblin e Lesnik (2001) a OSWER – *EPA'S Office of Solid Waste and Emergency Response*, que inclui os programas responsáveis para descontaminação de solos, trabalha sob este mesmo paradigma, e orienta que os métodos para análise de solos descritos no manual SW-846 da EPA, são apenas para orientação, não necessitando ser implementado exatamente como descritos. O método analítico precisa ser desenvolvido ou adaptado (a partir de métodos existentes) para fornecer as “respostas certas”. No entanto, esta nova metodologia deve ser testada e validada através de procedimentos específicos para fornecer dados analíticos corretos, confiáveis, ou melhor, com qualidade.

A geração de dados com qualidade em química analítica é uma preocupação cada vez maior, o que impulsionou o aparecimento de normas internacionais de sistemas de qualidade em laboratórios como a ISO 17025 e a GLP (Good Laboratory Practice). Estas normas buscam implementar regras que abrangem desde o controle de dados e documentos até requisitos técnicos. Atualmente, são consideradas como ferramentas imprescindíveis para garantia da qualidade dos dados analíticos, sendo exigida por diferentes órgãos, como o Ministério da Agricultura (Brasil), Ministério da Saúde (Brasil), INMETRO (Brasil), IBAMA (Brasil), ANA (Brasil), EPA (EUA), FDA (EUA) entre outros, como uma forma dos laboratórios atestarem sua qualidade. Desta maneira, torna-se imprescindível adotar os conceitos presentes nestas normas para o desenvolvimento da metodologia analítica e para todas as etapas do diagnóstico que serão realizadas dentro do laboratório.

Neste caso, a situação ideal seria o desenvolvimento da metodologia por um laboratório já certificado por um Sistema de Qualidade, ou que atenda requisitos específicos de qualidade (quando exigido por alguma agência reguladora). No entanto, independente do sistema de qualidade adotado ou não pelo laboratório, e os requisitos específicos de cada agência reguladora, na Tabela 4 são apresentados os mínimos conceitos que podem ser adotados para buscar a garantia da qualidade dos resultados analíticos durante o desenvolvimento da metodologia.

Tabela 4: Conceitos de gestão da qualidade que podem ser aplicados para o desenvolvimento da metodologia analítica.

Norma	Item	Descrição *	Exemplo
ISO 17025	5.3	<p><u>Acomodações e condições ambientais –</u></p> <p>O laboratório deve apresentar condições ambientais adequadas de maneira que não afete a qualidade dos resultados. Quando apresentar condições onde a falta de controle possa afetar um resultado, esta deve ser monitorada, controlada e registrada.</p>	A temperatura de uma sala onde se realizam ensaios por HPLC pode afetar no resultado, uma vez que altas temperaturas podem gerar bolhas de ar na fase móvel. Desta maneira esta característica deve ser monitorada, controlada e registrada.
	5.4.5	<p><u>Validação –</u></p> <p>O laboratório deve validar, através de procedimentos adequados, todos os métodos não normalizados, criados ou desenvolvidos pelo laboratório, ou métodos normalizados utilizados com ampliações ou modificações.</p>	A validação é uma ferramenta utilizada para demonstrar a capacidade analítica do método. A sistemática de validação pode ser obtida em literatura específica como por exemplo no livro de Lanças (2004). Após a validação é de grande importância verificar se os resultados atendem as necessidades do diagnóstico, como por exemplo a faixa do limite de detecção obtido.

Tabela 4 (continuação): Conceitos de gestão da qualidade que podem ser aplicados para o desenvolvimento da metodologia analítica.

Norma	Item	Descrição *	Exemplo
ISO 17025	5.4.6	<u>Incerteza –</u> O laboratório deve aplicar procedimentos para cálculo da incerteza de medição. Quando não for possível a realização de um cálculo rigoroso, é necessário pelo menos identificar os componentes da incerteza e fazer uma estimativa razoável.	Todo resultado analítico apresenta uma faixa de incerteza de medição. A sistemática do cálculo de incerteza pode ser obtida em literatura específica como, por exemplo, o Guia EURACHEM / CITAC (SBM, 2000). Após o cálculo da incerteza, é importante determinar se esta atende as necessidades do diagnóstico.
	5.6.2.2	<u>Calibração –</u> A calibração dos equipamentos de ensaio deve ser realizada dentro de um programa de calibração e devem ser rastreáveis ao Sistema internacional de unidades.	Todo equipamento de ensaio que possa afetar um resultado deve ser calibrado por laboratórios especializados (no Brasil, por exemplo por um laboratório da RBC-INMETRO). Deve ser verificado se o resultado da calibração atende as necessidades do diagnóstico.
	4.12.2	<u>Registros técnicos –</u> O laboratório deve preservar por um período definido seus registros técnicos. Os registros alterados devem ser corrigidos sempre permitindo que esteja visível o registro original sendo esta correção rubricada pela pessoa que efetuou a alteração.	Os registros de laboratório, como anotações durante a análise (pesagem, volume, etc) e demais registros como os de condições ambientais, registros de análise (cromatogramas por exemplo) devem ser arquivados para que possam ser prontamente recuperados no caso de dúvidas sobre o resultado final da análise.

Tabela 4 (continuação): Conceitos de gestão da qualidade que podem ser aplicados para o desenvolvimento da metodologia analítica.

Norma	Item	Descrição *	Exemplo
BPL	8.3.3	<u>Controle de dados brutos –</u> Os dados brutos (ou registros técnicos) devem ser prontamente registrados e preservados por um período definido.	Este item é muito parecido com o item 4.12.2 da ISO 17025, o que demonstra a importância deste requisito.

* Esta é apenas uma descrição resumida, uma descrição completa do requisito pode ser obtida na norma original.

Conceitos de gestão ambiental também podem ser adotados para o desenvolvimento da metodologia analítica, de maneira a atender o conceito de *Green Methods* muito utilizado principalmente para metodologias utilizadas para análises ambientais. Estes conceitos são apresentados na Tabela 5.

A aplicação dos conceitos de normas internacionais de sistemas de qualidade em laboratórios (ISO 17025 e a GLP), e de sistemas de gestão ambiental (ISO 14001), no desenvolvimento da metodologia, irá garantir a elaboração de um método que possa garantir a qualidade dos dados gerados, e apresente o menor impacto ambiental possível.

Tabela 5: Conceitos de gestão ambiental que podem ser aplicados para o desenvolvimento da metodologia analítica

Norma	Item	Descrição *	Exemplo
ISO 14001	4.3.1	<u>Aspectos Ambientais –</u> Devem ser identificados todos os aspectos ambientais das atividades em questão e, em seguida, determinar aqueles que tenham impacto significativo ao meio.	A etapa de extração para análise de diferentes substâncias geralmente utiliza grande quantidade de solventes que podem gerar resíduos (considerado o aspecto ambiental da atividade de extração). Dependendo do tipo de resíduo gerado, este pode causar um impacto significativo ao ambiente (caso não seja disposto adequadamente). Estes aspectos, os quais podem gerar impactos significativos, devem ser levantados. Neste caso, este levantamento pode ser útil para identificar um processo de extração que gere menos resíduo.
	4.3.2	<u>Requisitos Legais –</u> Devem ser levantados todos os requisitos legais aplicáveis aos aspectos ambientais identificados.	Determinados resíduos de produtos químicos (utilizados durante a extração) podem apresentar requisitos legais específicos para sua disposição final.

Tabela 5 (continuação): Conceitos de gestão ambiental que podem ser aplicados para o desenvolvimento da metodologia analítica

Norma	Item	Descrição *	Exemplo
ISO 14001	4.4.6	<u>Controle Operacional</u> – Devem ser identificadas as atividades associadas aos aspectos ambientais significativos, para que sejam executadas através de procedimentos adequados e utilizando-se de critérios operacionais.	A atividade de extração deve ser realizada através de um procedimento específico que assegure a correta disposição do resíduo, utilização da quantidade adequada e considerando os requisitos legais (caso necessário).

* Esta é apenas uma descrição resumida, uma descrição completa do requisito pode ser obtida na norma original.

2.4. Amostragem / Transporte

2.4.1. Amostragem

Nesta etapa é recomendada a utilização de equipamentos e metodologias de amostragem já adotadas por agências reguladoras reconhecidas nacional ou internacionalmente, como CETESB (Brasil), EPA (EUA) entre outras.

Todo o procedimento para coleta das amostras já deve estar descrito no plano de amostragem. Desta maneira, nesta etapa deve apenas ser executado o procedimento já planejado anteriormente.

2.4.2. Transporte e Armazenamento

Depois de coletadas, as amostras devem ser acondicionadas e transportadas em condições que não alterem suas características. No laboratório devem ser tomadas as mesmas precauções para o armazenamento, levando em consideração o tempo máximo de armazenamento recomendado para cada amostra antes de ser analisada.

2.5. *Análise e Tratamento de Dados*

2.5.1. Análise

Para análise das amostras será utilizada a metodologia já desenvolvida anteriormente, dentro dos conceitos de sistema qualidade (ISO 17025 e GLP) e sistema de gestão ambiental (ISO 14001). Os mesmos conceitos utilizados para desenvolvimento da metodologia devem ser utilizados durante a análise.

2.5.2. Interpretação dos Resultados

De posse dos resultados analíticos, é necessária a interpretação destes para verificar se a região de estudo apresenta ou não uma contaminação oriunda de uma atividade antrópica.

A interpretação deve ser feita visando à finalidade a que o diagnóstico se destina. Isto é, se é um diagnóstico realizado para uma agência ou órgão oficial ele deve seguir as normas descritas em contrato (ou termo de referência). Se o diagnóstico foi realizado a partir de um estudo mais amplo, como um trabalho acadêmico, ele pode ser interpretado de forma mais livre e até mais elaborada.

São várias as formas de interpretação dos resultados: comparação das concentrações obtidas com a legislação pertinente nacional ou internacional; comparação com outras áreas similares; utilizando análises estatísticas como análises de Cluster, Componentes Principais, etc.; dependendo da forma como foi realizado o diagnóstico pode ser realizada uma avaliação de risco ecológico; utilizando SIGs (Sistemas de Informações Geográficas); entre outros.

Uma das formas mais tradicionais de interpretação dos resultados é através da comparação dos resultados com a legislação nacional pertinente ao assunto. Por exemplo, para classificação da qualidade das águas superficiais, a partir dos seus usos, é utilizada a Resolução CONAMA nº 357 (CONAMA, 2005). Os dados obtidos no diagnóstico de um rio, por exemplo, podem ser colocados em tabelas, junto aos valores determinados pela legislação, e então comparados. Dessa forma, determinam-se quais os parâmetros estariam dentro do permitido para lei e quais estariam fora.

Uma situação comumente encontrada é a falta de valores para alguns parâmetros na legislação nacional. Até pouco tempo o Brasil não tinha uma legislação que regulamentava os parâmetros que deveriam ser avaliados, tão pouco os valores de contaminação, como por exemplo, para sedimentos dragados em portos. Para a interpretação dos resultados era praxe a utilização de parâmetros e valores encontrados em legislações de outros países como Canadá (*Canadian Council of Ministers of the Environment*), Estados Unidos (EPA – *Environmental Protection Agency*), entre outros. Mesmo incorrendo em erros (ambientes diferentes, histórico diferente de contaminação, valores mais ou menos restritivos), é comum a utilização de legislações mais completas para auxiliar na interpretação dos resultados.

Outra forma de interpretação é através da comparação com outras áreas similares e que já tenham valores que podem ser utilizados como referência. Essa comparação pode ser de duas formas distintas: simples comparação dos valores ou utilização de uma área sabidamente não contaminada que poderia fornecer valores básicos ou de *background* para aquele tipo de ambiente.

A simples comparação utilizaria os valores dos parâmetros para comparações e conclusões sobre contaminação/poluição, processos e atividades que interferem naquele meio.

A utilização de uma área como valor de referência para outras (ou como valor de *background*) tem a finalidade de auxiliar na determinação

de quanto o ambiente está contaminado. Esse tipo de informação é de extrema importância para quase todos os tipos de diagnóstico.

Outra forma de interpretação é a utilização de análises estatísticas. Essa forma é, freqüentemente, encontrada em trabalhos onde se quer outras informações que a simples comparação de valores não pode dar.

Algumas das análises são:

- ✓ Cluster: segundo Hair (1998), a análise de Cluster é um conjunto de técnicas estatísticas cujo objetivo é agrupar objetos segundo suas características, formando grupos ou conglomerados homogêneos. Os objetos em cada grupo tendem a ser semelhantes entre si, porém diferentes dos demais objetos dos outros grupos. Os grupos obtidos devem apresentar tanto uma homogeneidade interna (dentro de cada grupo), como uma grande heterogeneidade externa (entre grupos). Portanto, se a aglomeração for bem sucedida, quando representados em um gráfico, os objetos dentro dos grupos estarão muito próximos, e os grupos distintos estarão afastados. Esse tipo de análise é importante para determinar se as amostras podem ser agrupadas e a diferença entre os grupos.
- ✓ Componentes Principais: é utilizado quando se deseja explorar as similaridades entre indivíduos ou entre variáveis definindo-os em grupos, considerando simultaneamente, no primeiro caso, todas as variáveis observadas em cada indivíduo e, no segundo, todos os indivíduos nos quais foram feitas as mesmas medidas. Segundo

esse método, procura-se por agrupamentos homogêneos de itens representados por pontos num espaço n-dimensional em um número conveniente de grupos relacionando-os através de coeficientes de similaridade ou de distância (Landim, 2000).

Um diagnóstico mais amplo poderia englobar uma forma mais completa de análise dos resultados como, por exemplo, a “Avaliação de Risco Ecológico” descrita pela EPA (EPA, 1998). A Avaliação de Risco Ecológico é utilizada para avaliar a probabilidade com que efeitos ecológicos adversos podem ocorrer, ou estar ocorrendo, como resultado da exposição de uma ou mais fontes (ou agentes) de pressão. Apesar de mais demorada e custosa, essa forma de obtenção e interpretação dos resultados é muito mais completa, gerando propostas de remediação e planos de gerenciamento dos riscos no objeto de estudo.

O SIG (Sistemas de Informação Geográfica) pode ser definido como sendo um conjunto de procedimentos computacionais que, operando sobre bases de dados geocodificados executa análise, reformulações e sínteses sobre os dados ambientais disponíveis (Silva; Souza, 1987). Este sistema tem sido amplamente utilizado na constituição de bancos de dados e na geração de informações através do cruzamento de layers, as quais são camadas de informações que quando sobrepostas podem apresentar importantes dados sobre a região analisada.

3. Conclusões

Atualmente a realização de diagnóstico em áreas possivelmente contaminadas é uma prática cada vez mais comum, seja para o atendimento de uma exigência do órgão de controle ambiental; para o gerenciamento ambiental em grandes empresas; para o desenvolvimento de pesquisa dentro das universidades; entre outras.

Quando se trata do atendimento de uma exigência do órgão de controle ambiental, geralmente este aplica algumas regras para a realização do diagnóstico. No entanto, nem todos os diagnósticos são realizados para o atendimento destes órgãos, e muito destes, de diferentes regiões, não apresentam qualquer requisito.

A proposta apresentada descreve todas as etapas relacionadas em uma seqüência lógica, com todos os requisitos mínimos possíveis de serem adotados para a realização de diagnósticos que possam garantir a qualidade dos resultados, e os devidos controles ambientais, sendo baseada em normas internacionalmente reconhecidas. Desta maneira, com aplicação deste modelo é possível elaborar um diagnóstico que seja um retrato fiel da área em relação aos possíveis contaminantes que esta possa apresentar, com embasamento técnico suficiente para garantir a qualidade dos dados analíticos gerados, e com controle de seus aspectos e

impactos ambientais suficientes para que o diagnóstico não seja também uma nova fonte de contaminação.

Finalmente, é possível apresentar, na forma de fluxograma, uma proposta de modelo baseado nos conceitos "ISO" (que objetiva padronizar uma atividade dentro de conceitos fundamentados) para diagnóstico ambiental de áreas contaminadas (Figura 2).

Figura 2. Modelo para diagnóstico ambiental de áreas contaminadas

Figura 2. (continuação) Modelo para diagnóstico ambiental de áreas contaminadas

Capítulo III

Desenvolvimento da Metodologia Analítica

1. Introdução

1.1. Cromatografia

A cromatografia iniciou-se com um botânico russo, Michael Tswett. Em março de 1903, Tswett trabalhou com a separação de pigmentos de plantas relatando um método de separação onde a extração de tais pigmentos consistia na passagem de um solvente através de um tubo contendo o extrato das plantas de interesse. O extrato localizava-se no topo da mesma e, em seu interior, havia um material pulverizado (carbonato de cálcio). O resultado obtido foi a separação dos pigmentos em várias bandas. Ele denominou, assim, este método como sendo cromatografia, palavra essa derivada do grego ("kroma"+"graphia", o registro da cor) (Smith, 1988).

Em um cromatógrafo, a amostra é introduzida na coluna através do sistema de injeção, o qual pode ser formado por diferentes tipos de injetores e válvulas. Tais válvulas e/ou injetores podem apresentar *loops* internos ou externos para a contenção de quantidade específica de amostra. Devido a presença destes *loops* as válvulas são extremamente flexíveis para a utilização em sistemas cromatográficos, aplicando-se assim a qualquer técnica desejada (Valco, 2000).

A amostra é encaminhada para a coluna através do fluxo de fase móvel, o qual pode ser um líquido (no caso de cromatografia líquida) ou um gás (no caso de cromatografia gasosa). A coluna, principal componente na separação cromatográfica, é acoplada ao injetor, podendo possuir diferentes diâmetros e comprimentos. Estes dois são fatores determinantes na qualidade, eficiência e velocidade da análise cromatográfica.

Atualmente, para cada sistema (modo cromatográfico) aplicam-se diferentes tipos de coluna; por exemplo, para cromatografia líquida (HPLC); usualmente, utilizam-se colunas de 25 cm, empacotadas com partículas de 5 microns e com diâmetro interno de 4.6 mm. Já em cromatografia gasosa podem ser utilizadas colunas empacotadas, de 2 a 3 m de comprimento, com diâmetro interno de 2 a 4 mm, ou colunas capilares (*open tubular*) de até 50 m (ou mais) com diâmetro interno de 0,25 mm ou diâmetros inferiores a esta medida (Lanças, 1993).

É importante ressaltar que atualmente as colunas empacotadas para cromatografia gasosa são pouco utilizadas, preferindo-se as capilares.

É necessário que, após ocorrer a separação dos analitos em questão, haja a detecção dos mesmos em nível quantitativo e qualitativo (este último nem sempre é aplicado no caso da cromatografia).

Para cada modo cromatográfico utiliza-se um sistema diferente de detecção. Quanto a seletividade, os sistemas de detecção podem ser universais, ou seja, capazes de identificar uma enorme gama de

componentes, sem a necessidade de que os analitos possuam determinadas características únicas e restritivas para sua identificação. Entre estes detectores citamos o de ionização de chama (FID - Flame Ionization Detector), universal para compostos orgânicos, e o de condutividade térmica (TCD - Thermal Conductivity Detector). Existem detectores mais seletivos, os quais podem, mas não necessariamente, aumentar o limite de detecção devido a este estar relacionado especificamente a uma propriedade físico-química. É o caso do detector de captura de elétrons (ECD - Electron Capture Detector), dos detectores de ultravioleta (UV-vis) e infravermelho (IR - Infra Red) (Patonay, 1992).

Existem, ainda, detectores específicos, os quais detectam substâncias que possuam determinado elemento ou grupo funcional em suas estruturas. Como exemplo, citamos o detector NPD, o qual é responsável por detectar analitos que possuam nitrogênio ou fósforo em sua estrutura.

Entre os vários tipos de detectores, o detector de massas tem se destacado, uma vez que este pode fornecer informações sobre a estrutura química do composto (quando operado no modo SCAN) que está sendo eluído da coluna cromatográfica. Alternativamente, pode auxiliar a garantir a identificação do analito estudado não apenas pelo tempo de retenção, mas também pelo monitoramento de íons específicos (quando operado no modo SIM), característicos do analito em estudo.

O funcionamento do detector de massas consiste em ionizar a amostra (através dos processos de Impacto Eletrônico ou Ionização Química) após separação desta na coluna cromatográfica. O processo de Impacto Eletrônico (EI) é usualmente mais utilizado, consistindo em colidir elétrons gerados por um filamento de tungstênio, sob vácuo, na amostra e promovendo, assim, sua fragmentação. Os fragmentos gerados podem ser avaliados por diferentes analisadores de massas, sendo o analisador do tipo quadrupolo o mais conhecido. Este analisador consiste em quatro barras alinhadas em paralelo, às quais aplica-se uma corrente contínua que afeta o percurso dos íons viajando pelo trajeto centralizado entre as 4 barras. Para as voltagens dadas, somente os íons de uma relação massa-carga determinada podem passar através do filtro do quadrupolo, enquanto os outros são eliminados através do sistema de vácuo. Ao variar os sinais elétricos de um quadrupolo, pode-se variar a faixa da relação massa-carga transmitida. Isto possibilita a análise dos diferentes fragmentos da amostra.

Uma vez no detector, o mesmo identifica o analito respondendo através de um sinal elétrico, podendo ser analisado através de corrente ou tensão. Este sinal é registrado através de registradores XY, integradores ou computadores. Os registradores XY são equipamentos analógicos, ao passo que os integradores e computadores são digitais.

Atualmente, poucos são os laboratórios que utilizam integradores e registradores para sistema de aquisição de dados. Estes foram

substituídos por computadores, os quais desempenham um papel mais eficiente, rápido e compatível com os sistemas atuais, pois também auxiliam na confecção de relatórios e tratamentos de dados. Obviamente há a necessidade da utilização de um software capaz de gerenciar a aquisição e tratamento de dados provenientes do detector. Além disso, o computador, nos sistemas cromatográficos atuais, é exigência básica para o gerenciamento das condições gerais do aparelho (fluxo de fase móvel, temperatura do injetor, forno, etc.) (Berridge, 1985).

Uma vez que geralmente os analitos de interesse estão presentes em diferentes tipos de matrizes como solo, sedimentos, alimentos entre outros, estes não podem ser injetados diretamente no cromatógrafo, necessitando assim um processo de extração para eliminar interferentes e pré-concentrar os analitos de interesse.

Existem inúmeros processos de extração, os quais apresentam vantagens e desvantagens em relação ao tipo de matriz estudada. Dentre todos estes processos, a SPME tem merecido destaque, por ser uma técnica de extração recente a qual tem apresentado excelentes resultados.

1.2. SPME – Solid Phase Micro Extraction

O primeiro conceito de SPME foi publicado em 1989 por Belardi e Pawliszyn, seguido de um grande desenvolvimento desta técnica na

década de 90 (Beltran, 2000). A primeira micro seringa para uso comercial em SPME foi comercializada em 1993 pela Supelco, juntamente com fibras de diferentes revestimentos para extração, sendo inicialmente de polidimetilsiloxano (PDMS) e poliacrilato (PA). Com o passar dos anos, as fibras vêm se multiplicando para diferentes revestimentos como: Carbowax-divenilbenzeno; PDMS-divenilbenzeno; Carboxen-PDMS, entre outros.

A SPME consiste, basicamente, em dois estágios de separação: absorção (retenção do analito na fase estacionária), e desorção. Para o desenvolvimento de procedimentos para análise de pesticidas utilizando esta técnica, é necessário a otimização de diferentes tipos de variáveis no estágio de absorção como por exemplo: tipo de fibra; tempo de extração; força iônica; pH; temperatura; efeito da matriz; volume de amostra; agitação; e no estágio de desorção como: temperatura; tempo de desorção e solvente para desorção (Beltran, 2000).

Em recente revisão referente à análise de pesticidas através da SPME (Beltran, 2000), observa-se uma grande aplicação desta técnica para extração de diferentes tipos de pesticidas em vários tipos de matrizes. No entanto, para análise de solos existe uma limitada bibliografia, com apenas 7 referências de aplicações, sendo que para análise de organoclorados em solo é apresentada apenas uma única referência, de 1996, e nenhuma para análise de sedimento. Após o ano de 2000, ainda poucas referências foram encontradas para estas matrizes.

Uma vez que um dos objetivos deste projeto de doutorado é o desenvolvimento de uma metodologia para análise de pesticidas organoclorados, utilizando a SPME/GC, a seguir serão apresentados e discutidos dois estudos (itens 1.2.1. e 1.2.2.) encontrados na literatura os quais discutem a análise de organoclorados em solo por SPME-GC, e outra mais recente para análise de organoclorados em água, também por SPME-GC (para visualizar os resultados obtidos em uma matriz menos complexa).

1.2.1. Determinação de pesticidas organoclorados e seus metabólitos em amostras de solo utilizando headspace-SPME (Doong; Liao, 2001)

Neste trabalho, seis fibras com diferentes fases estacionárias foram utilizadas para extração de 18 pesticidas organoclorados em solo. Todas as amostras deste trabalho, após os analitos serem extraídos pela fibra, foram analisadas em cromatógrafo a gás com detector de captura de elétrons.

Inicialmente, foram fixadas algumas variáveis sem se preocupar com as devidas otimizações, apenas para verificar a eficiência de extração para organoclorados de cada fibra. A Figura 3 apresenta uma comparação quanto a eficiência de extração para as 06 fibras utilizadas.

Figura 3. Comparação da eficiência de extração de pesticidas organoclorados para 06 fibras de SPME. Foi utilizado um tempo de extração de 60 minutos a temperatura ambiente com agitação da amostra (Doong; Liao, 2001).

Aumentando-se a espessura de camada do revestimento da fibra, é observado um aumento na eficiência de extração. Desta maneira, pode-se observar que o revestimento PDMS-100 (com espessura de camada de 100 μm) permitiu uma boa extração para organoclorados, com exceção para os isômeros BHC. Já a fibra PDMS-DVB (65 μm) permitiu boa extração para os compostos BHC, no entanto observa-se uma baixa eficiência à extração para p,p' - DDT e heptachlor. Devido a característica dos compostos organoclorados, estes apresentam uma melhor extração em fibras não polares, conforme demonstrado pela Figura 3. O

revestimento PDMS-100 foi escolhido como melhor revestimento para extração de organoclorados, uma vez que, apesar do PDMS-DVB também apresentar boa eficiência de extração, esta fibra apresenta alta eficiência para extração de compostos voláteis. Desta maneira muitos picos adicionais poderiam aparecer no cromatograma quando aplicado a extração de amostras de solo.

Após a seleção da fibra, para obter as melhores condições para extração dos organoclorados, algumas variáveis foram otimizadas conforme apresentado abaixo:

- ✓ Temperatura de extração – A temperatura da amostra apresenta dupla influência. Quanto maior a temperatura, menor o coeficiente de difusão do analito em água e, portanto, menor o tempo de extração. No entanto, elevadas temperaturas podem diminuir o coeficiente de distribuição entre a fase estacionária e o analito. Para a maioria dos organoclorados estudados observou-se um aumento na eficiência de extração com o aumento da temperatura. No entanto, a extração de organoclorados com alta pressão de vapor diminuiu em elevadas temperaturas. Desta maneira, após comparação da eficiência à extração dos 18 compostos organoclorados estudados, a temperatura de 70°C foi selecionada como temperatura ideal.

- ✓ Tempo de extração – Uma vez que a extração de analitos com SPME é baseada no equilíbrio do processo de distribuição, o tempo de equilíbrio deve ser alcançado para a extração da máxima quantidade de analitos pela fibra. Diferentes respostas foram obtidas para os organoclorados, dependendo da volatilidade, constante de distribuição e estrutura. Após avaliação da eficiência de extração dos organoclorados em diferentes tempos de extração, o tempo de 60 minutos foi escolhido como a melhor condição.

- ✓ Efeito da água e solvente orgânico – O grau de partição de compostos orgânicos semi-voláteis, entre o solo e o headspace, é geralmente baixo, e a adição de água pode aumentar a liberação de compostos orgânicos voláteis do solo. Após estudo com diferentes quantidades de água, observou-se que a adição de 5 ml de água para uma quantidade de 0,5g de solo apresentou a melhor eficiência na extração. A adição de pequenas quantidades de solvente orgânico também pode melhorar a eficiência a extração, no entanto após a adição de diferentes solventes em diferentes quantidades não foi observada melhoria quanto à eficiência a extração para compostos organoclorados.

Após otimização dos parâmetros apresentados anteriormente, o método foi testado em amostras de solo fortificadas em concentrações de 0,2 à 4 ng/g. A linearidade variou entre 0,972 e 0,999 para diferentes compostos, e os limites de detecção entre 0,09 e 0,65 ng/g.

Para validar o procedimento otimizado, este foi comparado com o processo Soxhlet de extração em amostras de solo com quantidades padrão de organoclorados. Não foram observadas diferenças significativas entre SPME e a extração por Soxhlet, com exceção para o p,p'-DDE e dieldrin. Para todos estes ensaios, foi obtida uma recuperação entre 68% e 127%.

Os resultados neste trabalho indicaram que a aplicação de HS-SPME é uma alternativa para análise de compostos organoclorados em solo.

1.2.2. Determinação de pesticidas organoclorados em água utilizando forno microondas, microextração em fase sólida em headspace e cromatografia gasosa (Li; Li; Jen, 2003)

Neste trabalho é estudada a aplicação da SPME acoplada a forno de microondas, seguido da análise por cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons, para análise de 16 pesticidas organoclorados.

Inicialmente, foram escolhidas 06 fibras comerciais as quais foram testadas em condições pré-estabelecidas, apenas para verificar a eficiência da extração de diferentes fibras de maneira a selecionar uma

destas para, em seguida, otimizar diferentes variáveis no processo de extração proposto. Um esquema deste processo de extração com o acoplamento do forno microondas com a fibra de SPME é apresentado na Figura 4.

As condições iniciais utilizadas neste processo foram:

- ✓ Rotação da agitação magnética: 300rpm
- ✓ Volume do frasco: 50ml
- ✓ Volume de amostra: 20ml
- ✓ Adição de NaCl: 2g
- ✓ Potência do forno microondas: 80% (285w)
- ✓ Tempo de extração: 10 minutos
- ✓ Desorção dos analitos no cromatógrafo: 3 minutos à 310°C em modo split 10:1

Após um estudo inicial dentro das condições estabelecidas, foi possível comparar a eficiência à extração das diferentes fibras utilizadas conforme apresentado na Figura 5.

A fibra que apresentou melhor adsorção para os organoclorados foi a DVB-CARB-PDMS. O carbono adsorvente (Carboxen) e o polímero poroso (Divenilbenzeno) na mistura DVB-CAR-PDMS, oferecem uma forte força de atração para estes compostos bipolares. Devido a melhor eficiência desta fibra, esta foi escolhida para a otimização do processo de extração proposto.

Figura 4. Acoplamento de forno microondas para extração por SPME em headspace de compostos organoclorados em água (Li; Li; Jen, 2003).

Figura 5. Eficiência de extração de diferentes camadas de fibras para amostragem de organoclorados. A eficiência de extração relativa representada graficamente é uma média das áreas dos picos obtidos para cada organoclorado (amostras com 20 mL de água contendo 0,01 μg de cada organoclorado) (Li; Li; Jen, 2003)

Após a seleção da fibra, para obter as melhores condições para extração dos organoclorados, algumas variáveis foram otimizadas conforme apresentado abaixo:

- ✓ Efeito do volume de headspace: Neste estudo, volumes de 32 e 11 mL de headspace foram avaliados. Os resultados indicaram que quando o volume de headspace decresce de 32 para 11 mL, a área do pico cromatográfico aumenta de 135 a 392% para os organoclorados, exceto para trifluralina, heptachlor e aldrin, que foram menor de 100%. Devido ao volume de 11 mL ser o menor volume possível para o esquema proposto, este valor escolhido como a melhor condição.
- ✓ Irradiação do microondas: Após vários testes, observou-se que os organoclorados podem ser perdidos devido a sua volatilidade, caso seja aplicada uma longa irradiação por microondas. Desta maneira a melhor condição obtida foi com a potência de 80% (285 W) para um tempo de 10 minutos.

Após as devidas otimizações, foram realizadas determinações quantitativas de organoclorados em soluções padrão. A curva de calibração foi obtida com soluções de concentração entre 0,05 e 2,5 µg/L,

obtendo boa linearidade com um coeficiente de correlação melhor que 0,9978. Os limites de detecção variaram entre 0,002 à 0,070 µg/L.

O método proposto também foi comparado com um processo de extração convencional líquido-líquido (LLE) através da análise de amostras com concentrações padrão, não obtendo grandes diferenças entre o resultado obtido para os dois processos.

Os resultados neste trabalho indicaram que a aplicação de headspace-SPME é uma alternativa para análise de compostos organoclorados em água.

1.3. Pesticidas Organoclorados

Segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO, 2006), os pesticidas organoclorados são potentes estimulantes do sistema nervoso central, com absorção através de qualquer rota de entrada, com tempo de meia vida relativamente longo e grande toxicidade, o que os transforma em produtos de grande preocupação para o homem e o meio ambiente. Os principais sintomas da intoxicação por estes produtos se manifestam como tremores, náusea, vômito, hipertensão, arritmia, fadiga, dores de cabeça e convulsões, podendo levar a morte.

Devido às características dos pesticidas organoclorados, estes podem ser classificados como substâncias persistentes. Estas substâncias

se tornaram de interesse internacional, sendo na convenção de Estocolmo (2001) que foram tomadas as primeiras medidas, em nível mundial, do uso e produção destas substâncias. Inicialmente, doze substâncias foram selecionadas (aldrin, endrin, dieldrin, clordano, DDT, toxafeno, mirex, heptacloro, hexaclorobenzeno, PCB, dioxinas e furanos). Estas substâncias compõem uma subclasse conhecida como POP (Poluentes Orgânicos Persistentes), as quais, juntamente com outras substâncias que satisfazem os critérios de persistência e toxicidade, compõe o grupo das STP (Substâncias Tóxicas Persistentes).

No Brasil, o uso de pesticidas aumentou da mesma forma que na maioria dos países agrícolas. O controle de pragas, anteriormente feito por inimigos naturais, foi substituído por compostos sintéticos, aumentando a produtividade agrícola a partir de 1950. O uso de pesticidas sintéticos levou ao aumento da resistência das pragas por estes compostos. Para manter a alta produtividade agrícola, a cada ano era necessária a utilização de uma maior quantidade de pesticidas sintéticos (Almeida, 2004).

O uso descontrolado, associado à desinformação sobre os riscos da utilização destes compostos trouxe consequências imprevisíveis. A população rural foi a mais afetada por estes venenos, e nas décadas de 1960-1970, centenas de pessoas morreram devido a intoxicação por pesticidas. Neste período, os pesticidas clorados foram utilizados para uma variedade de fins, como o controle de insetos na agricultura, insetos

transmissores de doenças (como a malária e dengue), entre outros (Almeida, 2004).

No Brasil, a primeira portaria que definiu o uso destes compostos foi a Portaria nº 10/SNVS de 08/03/1985. Nela é atribuída à DINAL (Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos) a elaboração da relação de substâncias com ação tóxica sobre animais ou plantas, cujo registro pode ser autorizado no Brasil, em atividades agropecuárias e em produtos domissanitários (Almeida, 2004).

A portaria n 329/MA de 02/07/1985, proíbe em todo território nacional, a comercialização, uso e a distribuição dos produtos agrotóxicos organoclorados destinados à agropecuária (dentre outros: aldrin, HCH, DDT, endrin, heptacloro, lindano e endossulfan), mas permite o uso de aldrin em iscas formicidas e cupinicidas para florestamento e reflorestamento, em campanhas de saúde pública de combate a vetores de agentes etiológicos de moléstia e o uso emergencial na agricultura (Almeida, 2004).

Em 1988, a Portaria nº 153 de 07/07/1988 alterou a Portaria 329 e autorizou a comercialização, o uso e a distribuição destes compostos, em caráter emergencial na agricultura, além do uso e da distribuição quando destinados exclusivamente à preservação de madeiras, em conformidade com as normas a serem estabelecidas pelo IBDF - Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal (Almeida, 2004).

A portaria do MS (nº 11/SVS-MS de 08/01/1998) exclui algumas substâncias da relação de substâncias com ação tóxica sobre animais ou plantas, cujo registro pode ser autorizado no Brasil, em atividades agropecuárias e produtos domissanitários, sendo estas: aldrin, HCH, DDT, endrin, heptacloro, lindano, lembrando que o uso como preservante de madeira ainda é permitido para todas as substâncias que se enquadram nesta função (Almeida, 2004).

1.4. Sedimento como indicador ambiental

Embora os pesticidas sejam essenciais na agricultura moderna, cada vez mais aumenta a preocupação referente à possível contaminação destes produtos no meio ambiente. Assim, muitas pesquisas têm sido desenvolvidas para avaliar a contaminação por pesticidas em águas pluviais, superficiais e em sedimentos (LAABS; et al., 2002).

Embora os sedimentos não constituam uma medida direta do grau de poluição aquática, eles oferecem um suporte insubstituível para reconstruir um histórico dos poluentes antrópicos baseados em uma descrição espacial e temporal do perfil da contaminação em amostras do sedimento. Conseqüentemente, a investigação da distribuição de compostos orgânicos, como pesticidas, nos sedimentos pode fornecer um registro valioso da contaminação nos ambientes do rio ou de um estuário (Doong; Peng; Liao, 2002).

2. Parte Experimental/ Resultados e Discussões: Desenvolvimento e Otimização da Análise de Organoclorados por HS-SPME-GC-MS em Sedimento

Neste trabalho a SPME foi escolhida como técnica de extração para ser otimizada e aplicada na análise de organoclorados através da cromatografia gasosa. Quanto ao detector a ser utilizado, foi escolhido o Espectrômetro de Massas (MS), devido ao fato deste ser mais ágil, pois em apenas uma “corrida” analítica é possível identificar e quantificar os compostos estudados, enquanto que através do detector por ECD, seria necessária uma segunda “corrida” analítica (para comparar o tempo de retenção em uma segunda coluna) para assegurar a identificação do composto. A seguir é apresentado o desenvolvimento e otimização das condições cromatográficas e do processo de extração.

2.1. Desenvolvimento e otimização das condições cromatográficas

Para as condições cromatográficas (utilizando o equipamento GC/MS Shimadzu QP 5000), buscando uma maior sensibilidade para identificação de 15 pesticidas organoclorados (apresentados na Tabela 6), foi utilizada uma mistura de solução padrão com os pesticidas de interesse (a uma concentração de 0,1ppm), a qual foi injetada no cromatógrafo alterando

as seguintes variáveis: Detector Volts; Sampling Rate; Forma de aquisição dos íons (Tabela 7). Após este estudo, a melhor relação sinal/ruído para os compostos analisados foi obtida nas seguintes condições:

- ✓ Detector Volts: 1,85 kV
- ✓ Sampling Rate: 0,2
- ✓ Forma de aquisição de íons: Modo SIM programando a aquisição de três íons, recomendados pelo método 8270D da EPA (EPA - Method 8270d, 1998) em uma janela de tempo referente ao tempo de eluição de cada composto.

Os íons monitorados, tempos de retenção e as faixas de monitoramento para cada composto são apresentados na Tabela 8. As faixas de monitoramento de cada íon já foram estabelecidas utilizando a fibra de SPME, uma vez que o tempo de dessorção altera os tempos de retenção dos compostos.

Quanto aos demais parâmetros de análise, os melhores resultados foram obtidos nas seguintes condições:

- ✓ Coluna – CROMA 5 (30m x 0,15mm x 0,25µm)
- ✓ Fase Estacionária – 5% fenildimetilpolisiloxano
- ✓ Temperatura do Injetor – 270°C
- ✓ Temperatura da Interface – 280°C
- ✓ Temperatura da Coluna – 100°C (5min.); 15°C/min. até 214°C (4min); 0,7°C/min. até 229°C e 6°C/min. até 264°C
- ✓ Gás de Arraste – Hélio (1,1 mL/min.)

- ✓ Velocida Linear – 38,6 mL/min.
- ✓ Tipo de Injeção – Splitless (5 minutos) – utilizada durante a análise em SPME
- ✓ Solvent Cut Time – 9,0 min.; Start Acq. Time – 9,1 min.
- ✓ Volume Injetado – 1,0 µL de para otimizar as condições iniciais, sendo utilizada a injeção pela fibra de SPME para otimizar as condições finais da análise cromatográfica

Tabela 6: Características dos 15 organoclorados estudados:

Nome	CAS	PM	Fórmula Molecular	Fórmula Estrutural	Espectro de Massas
Alfa BHC	319-84-6	288	C ₆ H ₆ Cl ₆
Beta BHC	319-85-7	288	C ₆ H ₆ Cl ₆
Gama BHC	58-89-9	288	C ₆ H ₆ Cl ₆

Tabela 6 (continuação): Características dos 15 organoclorados estudados:

Nome	CAS	PM	Fórmula Molecular	Fórmula Estrutural	Espectro de Massas
Delta BHC	319-86-8	288	C ₆ H ₆ Cl ₆
Heptaclor	76-44-8	370	C ₁₀ H ₅ Cl ₇
Aldrin	309-00-2	362	C ₁₂ H ₈ Cl ₆

Tabela 6 (continuação): Características dos 15 organoclorados estudados:

Nome	CAS	PM	Fórmula Molecular	Fórmula Estrutural	Espectro de Massas
Heptaclor Hepóxido	1024-57-3	386	C ₁₀ H ₅ Cl ₇ O
Alfa Endosulfan	959-98-8	404	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S
Dieldrin	60-57-1	378	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O

Tabela 6 (continuação): Características dos 15 organoclorados estudados:

Nome	CAS	PM	Fórmula Molecular	Fórmula Estrutural	Espectro de Massas
DDE	72-55-9	316	C ₁₄ H ₈ Cl ₄
Endrin	72-20-8	378	C ₁₂ H ₈ Cl ₆ O
Beta Endosulfan	33213-65-9	404	C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S

Tabela 6 (continuação): Características dos 15 organoclorados estudados:

Nome	CAS	PM	Fórmula Molecular	Fórmula Estrutural	Espectro de Massas
DDD	72-54-8	318	$C_{14}H_{10}Cl_4$
DDT	50-29-3	352	$C_{14}H_9Cl_5$
Endrin Cetona	53494-70-5	378	$C_{12}H_8Cl_6O$

Tabela 7: Otimização dos parâmetros do GC/MS QP 5000 para análise de organoclorados

Detector Volts (kv)	Sampling Rate	Modo	Aquisição de Ions	Sinal / Ruído			
				Aldrin	Endo1	Endo2	Endrin
1,5	0,2	SCAN	-	3,72	2,86	31,47	4,04
1,5	0,1	SIM	8 ions *	8,10	10,31	54,54	13,61
1,8	0,1	SIM	8 ions *	13,81	12,71	53,74	20,95
1,8	0,08	SIM	8ions *	11,82	10,09	44,19	14,86
1,8	0,08	SIM	Janela de Tempo (1-2 ions) **	118,78	54,06	50,23	61,28
1,8	0,08	SIM	Janela de Tempo (3 ions) **	130,33	22,90	34,11	54,08
1,8	0,1	SIM	Janela de Tempo (3 ions) **	110,46	26,77	39,21	42,06
1,85	0,1	SIM	Janela de Tempo (3 ions) **	138,65	22,09	41,66	49,81
1,85	0,2	SIM	Janela de Tempo (3 ions) **	157,47	43,77	103,85	100,79
1,95	0,2	SIM	Janela de Tempo (3 ions) **	182,25	36,24	87,85	74,83

* Monitorados 8 ions capazes de caracterizar os 15 compostos durante toda a corrida cromatográfica.

** Monitorados, inicialmente, de 1 a 2 ions, em seguida 3 ions (recomendados pelo método 8270D da EPA) para cada composto, em janelas de tempo referente ao tempo de eluição dos compostos.

Tabela 8: Tempo de retenção e faixa de monitoramento dos íons selecionados para cada pesticida organoclorado analisado

Analito	Tempo de Retenção	Íons Monitorados *	Faixa de monitoramento
α BHC	16.150	183;181;109	Até 19,40 min.
β BHC	17.008	183;181;109	Até 19,40 min.
Gama BHC	17.325	183;181;109	Até 19,40 min.
Δ BHC	18.143	183;181;109	Até 19,40 min.
Heptaclor	20.733	100;272;274	19,40 à 21,70 min.
Aldrin	22.817	66;263;220	21,70 à 23,90 min.
Heptaclor Epóxi	25.508	353;355;351	23,90 à 26,90 min.
α Endosulfan	28.467	195;339;341	26,90 à 29,30 min.
DDE	30.334	246;248;176	29,30 à 31,90 min.
Dieldrin	30.878	79;263;279	29,30 à 31,90 min.
Endrin	32.986	263;82;81	31,90 à 33,40 min.
β Endosulfan	33.889	337;339;341	33,40 à 34,10 min.
DDD	34.594	235;237;165	34,10 à 37,50 min.
DDT	39.051	235;237;165	37,50 à 40,80 min.
Endrin Cetona	42.943	317;67;319	40,80 à 43,85 min.

* Íons indicados pela método 8270D da EPA.

Após todas as otimizações necessárias, foi possível obter as melhores condições para análise quanto ao sinal, tempo de ensaio, e separação dos compostos. A seguir são apresentados os cromatogramas obtidos nestas condições, para os modos SIM e SCAN (Figuras 6/7).

Figura 6. Cromatograma do íon total (TIC) típico, ilustrando a separação de uma mistura na concentração de 0,1ppm (injeção com seringa) contendo 15 organoclorados nas condições otimizadas (modo SCAN)

Figura 7. Cromatograma do íon total (TIC) típico, da separação de uma mistura na concentração de 0,1ppm (injeção com seringa) contendo 15 organoclorados nas condições otimizadas (modo SIM)

2.2. Otimização do processo de extração

Após otimizar as condições cromatográficas, buscando uma maior sensibilidade para identificação dos 15 pesticidas organoclorados e separação adequada destes, iniciou-se a otimização do processo de extração, utilizando a técnica de SPME (Solid Phase Micro Extraction) em Headspace (HS/SPME), para posterior análise em GC/MS.

Nesta fase foi necessário utilizar uma matriz isenta de organoclorados para ser fortificada e a seguir analisada. Desta maneira, foi preparado um sedimento padrão, coletado na nascente do Rio Atibaia (região que apresenta menor influência antrópica de fontes de poluição). A amostra foi colocada em estufa durante 8h à 300°C, para garantir que seja extraído qualquer composto volátil ou semi-volátil, como é o caso dos organoclorados, capaz de influenciar nos resultados. Finalmente o sedimento homogeneizado e isento de compostos voláteis foi armazenado para os posteriores ensaios de otimização.

As condições iniciais para extração utilizando SPME foram:

- ✓ Fibra: PDMS 30µm
- ✓ Temperatura do Injetor: 270°C
- ✓ Tempo de Dessorção: 5 minutos (Splitless)
- ✓ Tempo de Extração: 60 minutos
- ✓ Temperatura de Extração: 65°C
- ✓ Quantidade de Amostra: 2 g
- ✓ Concentração de organoclorados na amostra: 0,1ppm
- ✓ Volume de Headspace: 13,5mL
- ✓ Volume de Água: 15mL
- ✓ Agitação: Utilizando barra de agitação magnética

2.2.1. Otimização do liner para análise em SPME

Durante os primeiros testes de extração por SPME em matriz fortificada, foi observado um alargamento de banda e a falta de sensibilidade para identificação de alguns compostos.

O alargamento de banda pode ocorrer em SPME principalmente devido ao tempo de dessorção dos analitos da fibra em relação ao volume morto do liner. Buscando solução para este problema, foi confeccionado e silanizado um liner com diâmetro interno de 0,8mm, obtendo assim uma redução do volume morto superior a 4 vezes. O resultado deste teste mostrou uma sensível melhora no perfil do pico cromatográfico, conforme apresentado na Figura 8.

Figura 8. Sobreposição dos picos cromatográficos de uma análise de Alfa, Beta, Gama e Delta BHC (respectivamente), da mesma amostra fortificada nas mesmas condições cromatográficas, alterando o diâmetro interno do liner. Picos cromatográficos indicados pela cor verde: liner com diâmetro interno de 3,4mm (adquirido comercialmente); Picos cromatográficos indicados pela cor azul: liner de diâmetro interno 0,8mm (produzido no CROMA para este trabalho).

Com base nestes resultados, foi utilizado o liner com diâmetro interno de 0,8mm nas posteriores otimizações.

2.2.2. Otimização da dessorção dos analitos

A associação adequada do tempo e temperatura de dessorção da fibra no injetor, tempo de splitless, e a programação de temperatura da coluna é de vital importância para análise em SPME, uma vez que esta associação pode encaminhar os analitos através de uma condição adequada ao detector para obtenção de um melhor sinal.

A temperatura do injetor utilizada foi de 270°C, uma vez que temperaturas maiores poderiam diminuir a vida útil da fibra e do septo do cromatógrafo. O tempo de dessorção adotado foi de 5 minutos, uma vez que neste tempo não foi observado efeito *carry-over*. Nestas condições, foi alterada a programação de temperatura da coluna de maneira a se iniciar a corrida cromatográfica a uma temperatura mais baixa que nos primeiros testes (reduzida de 150°C para 100°C), durante uma isoterma maior (alterada de 1 minuto para 5 minutos), de maneira a condensar os analitos na cabeça da coluna durante o tempo de dessorção desta da fibra (que também coincide ao tempo de splitless). Nesta configuração (5 minutos de dessorção a 270°C; 5 minutos de splitless; 5 minutos de isoterma a 100°C), foi possível observar um sensível aumento de sinal (Figura 9).

Figura 9. Comparação das áreas dos picos cromatográficos dos 15 compostos organoclorados (na ordem de eluição conforme Tabela 8), de duas amostras fortificadas analisadas nas mesmas condições cromatográficas, alterando programação de temperatura da coluna. – Cor verde: A corrida cromatográfica se inicia a 150°C durante 1 minuto; Cor azul: A corrida cromatográfica se inicia a 100°C durante 5 minutos.

Com base nestes resultados, foram utilizadas as seguintes condições nas posteriores otimizações: 5 minutos de dessorção a 270°C; 5 minutos de splitless; 5 minutos de isoterma a 100°C.

2.2.3. Otimização da fibra para análise em SPME

Segundo Doong e Liao (2001), a extração de compostos organoclorados apresenta melhor extração em fibras não polares, devido a polaridade dos analitos, com maior eficiência para fibras com filme de maior espessura. Desta maneira, foram testadas 03 fibras com filme de

PDMS (Polidimetilsiloxano) de diferentes espessuras, para verificar a fibra com melhor eficiência de extração. A Figura 10 apresenta uma comparação entre os resultados obtidos, indicando que a fibra de PDMS com 100 μm apresenta uma melhor eficiência quando comparada as demais fibras testadas.

Figura 10. Comparação das áreas dos picos cromatográficos dos 15 compostos organoclorados (na ordem de eluição conforme Tabela 8), de duas amostras fortificadas analisadas nas mesmas condições cromatográficas, utilizando 03 diferentes fibras de SPME. – Verde: PDMS 7 μm ; Azul: PDMS 30 μm ; Amarelo: PDMS 100 μm .

Com base nestes resultados, foi selecionada a fibra de PDMS com 100µm de espessura.

2.2.4. Otimização da temperatura de extração

De acordo com Alpendurada (2000), a temperatura de extração tem dois efeitos opostos na extração com SPME. Aumentando-se a temperatura, aumenta-se o coeficiente de difusão dos analitos e, em contrapartida, como o processo de extração é um processo exotérmico, o aumento da temperatura representa uma redução no coeficiente de distribuição dos analitos. Na Figura 11 pode-se observar que o comportamento dos 15 pesticidas analisados não são exatamente coincidentes, uma vez que estes compostos apresentam diferentes pressões de vapor, o que influencia no coeficiente de distribuição entre a fibra e os analitos. De maneira a escolher uma temperatura média que fornecesse maiores valores de área para a maioria dos analitos, na Figura 11 também foi traçada uma curva média, a qual indicou que a temperatura de 70°C apresenta os melhores resultados para o processo de extração.

Figura 11. Resultados da variação da temperatura de extração para os 15 analitos estudados.

2.2.5. Otimização do tempo de extração

Uma vez que a extração dos analitos em SPME é baseada no equilíbrio entre o processo de distribuição, o tempo de equilíbrio foi estudado com o objetivo de obter a maior quantidade extraída do analito pela fibra. Foram encontradas diferentes respostas para os diferentes analitos, uma vez que o tempo de equilíbrio na extração também está relacionado com a volatilidade e estrutura de cada um dos 15 compostos estudados. A Figura 12 apresenta os resultados deste estudo, indicando que a partir de uma curva média, o tempo de 60 minutos fornece os melhores resultados para os compostos estudados.

Figura 12. Resultados da variação do tempo de extração para os 15 analitos estudados.

2.2.6. Otimização da massa de amostra x volume de solvente

No processo de extração proposto, uma massa de amostra que contem os analitos a serem extraídos é pesada em um frasco de vidro, onde é adicionada uma determinada quantidade de água, servindo como veículo capaz de promover a agitação da amostra. Uma vez que elevados volumes de água poderiam promover uma diluição da amostra, e pequenas quantidades poderiam não fornecer uma homogeneização adequada, foi realizado um estudo para verificar a melhor relação entre massa de amostra e volume de solvente utilizado.

Figura 13. Resultados da variação da massa de amostra (para o mesmo volume de 15mL de água) para os 15 analitos estudados.

A Figura 13 apresenta os resultados deste estudo, o qual indicou que a partir da média dos resultados, até a utilização de 3g de amostra, é observado um incremento de área, não sendo muito significativo a partir da adição de 4g de amostra. Desta maneira foi selecionada a relação de 3g de amostra para 15mL de água como melhor condição.

Durante a realização deste estudo, também foi questionado se o volume de Headspace, em relação a massa de amostra, poderia alterar a quantidade extraída. Desta maneira, utilizando a proporção de 3g de amostra por 15mL de água (1:5), foi alterado o volume de Headspace para obter o menor volume possível limitado pelas dimensões do frasco.

A Figura 14 apresenta os resultados, indicando que a redução do volume de Headspace de 12,4mL (onde foi utilizado a proporção de 3g de amostra para 15mL de água – 1:5) para 10mL (onde foi utilizado a proporção de 3,4g de amostra para 17mL de água – 1:5) não alterou a eficiência da extração.

Figura 14. Resultados da variação do volume de Headspace para a mesma proporção de massa de amostra x volume de solvente (para os 15 analitos estudados).

2.2.7. Otimização da força iônica

É bem conhecido que o processo de sorção dos compostos é afetado pela força iônica da solução, ajustada pela adição de sal. Desta maneira, a adição de sal na amostra foi testada para verificar a melhor condição para extração dos analitos de interesse. Neste processo, destaca-se a vantagem de se realizar a extração em Headspace, pois o sal em contato com a fibra poderia diminuir sua vida útil.

Os resultados deste estudo são apresentados na Figura 15. Nota-se que apesar da curva média apresentar a adição de 1 grama de sal como melhor resultado, com a adição de 2 gramas, apesar de diminuir consideravelmente a área para os compostos Aldrin e DDE, é possível obter um incremento de área para Alfa Beta e Gama BHC. Uma vez que estes compostos apresentam menores áreas e, consequentemente, maiores Limites de Detecção (LOD) do que Aldrin e DDE, optou-se por utilizar a condição de 2 gramas de sal, visto que Aldrin e DDE já irão atingir LODs satisfatórios.

Figura 15. Resultados da variação da quantidade de sal adicionada (NaCl), para os 15 analitos estudados.

Após todas as otimizações realizadas, na Figura 16 é apresentado um cromatograma típico com o melhor resultado obtido para uma amostra fortificada em 10ppb (ng/g).

Figura 16. Cromatograma da separação de amostra fortificada na concentração de 10ppb (10ng/g) para os 15 organoclorados (na ordem de eluição conforme Tabela 8) nas condições de extração otimizadas

2.3. Validação

Segundo Lanças (2004), validar uma metodologia é dar a mesma validade, credibilidade e confiança. Desta maneira, depois de desenvolvida e otimizada uma metodologia para análise de organoclorados em sedimento através de HS-SPME-GC/MS, é necessário realizar sua validação dentro de conceitos bem definidos, de maneira a fornecer credibilidade e confiança à metodologia desenvolvida. Para isto, foram estudados os Limites de Detecção e Quantificação (LOQ/LOD), Precisão, Exatidão e Linearidade do método.

2.3.1. Limite de Detecção (LOD) e Quantificação (LOQ)

O Limite de Detecção (LOD) corresponde à menor quantidade de um analito que pode ser detectada, porém, não quantificada como um valor exato. Já o Limite de Quantificação (LOQ), corresponde à menor quantidade de um analito que pode ser quantificada com exatidão e com fidelidade determinada. Na prática estes limites são calculados de acordo com a concentração de analito capaz de gerar um sinal três vezes maior que a amplitude do ruído (no caso do Limite de Detecção), e 10 vezes maior que a amplitude do ruído (no caso do Limite de Quantificação) (Lanças, 2004).

Para determinação destes valores, foram analisadas diferentes amostras fortificadas em diferentes concentrações, aplicando os resultados ao software “Validate”, desenvolvido por Vitor Hugo Polisél Paccès, disponível no livro “Validação de Métodos Cromatográficos de Análise” (Lanças, 2004). Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 9.

Com o objetivo de verificar se os Limites de Quantificação atendem as necessidades para realização de um diagnóstico, ou seja, se estes são iguais ou inferiores aos limites de tolerância destes compostos no solo ou sedimento, onde a partir destes limites pode ser configurada uma contaminação ou uma suspeita de contaminação, foi comparado os LOQs obtidos com limites de tolerância de organoclorados em solo e sedimento

de diferentes legislações (Estaduais, Federais e Internacionais), conforme apresentado na Tabela 10. Os resultados obtidos demonstraram que os LOQs são aceitáveis para realização de um diagnóstico ambiental, considerando solo ou sedimento contaminados.

Tabela 9: Limites de Detecção (LOD) e Quantificação (LOQ) determinados para os 15 pesticidas organoclorados estudados

Analitos	LOQ (ng/g – ppb)	LOD (ng/g - ppb)
α BHC	0.20	0.07
β BHC	0.87	0.29
Gama BHC	0.49	0.16
Δ BHC	0.88	0.29
Heptaclor	0.03	0.01
Aldrin	0.12	0.04
Heptaclor Epóxi	0.03	0.01
α Endosulfan	0.10	0.03
DDE	0.007	0.002
Dieldrin	0.11	0.04
Endrin	1.00	0.35
β Endosulfan	0.69	0.23
DDD	0.04	0.01
DDT	0.16	0.05
Endrin Cetona	1.00	0.59

Tabela 10: LOQ em comparação a diferentes limites de tolerância de organoclorados em solo e sedimento

Analitos	LOQ (ng/g - ppb)	Valores de Prevenção (solo) (CETESB, 2005) ¹	Valores de Intervenção para Solo de Área Agrícola (CETESB, 2005) ₂	Avaliação de Material Dragado (CONAMA, 2004) ³		Lista Holandesa – Valores de alerta (solo) (CETESB 6530) ⁴		Canadian Sediment Quality ⁵ (CCME,2002)	
				Nível 1	Nível 2	Alerta (T)	Intervenção (I)	ISQG	PEL
α BHC	0.20	-	-	-	-	Soma: 1ppm	Soma: 2ppm	-	-
β BHC	0.87	11ppb	30ppb	-	-			-	-
Gama BHC	0.49	1ppb	20ppb	0.94ppb	1.38ppb			0.94ppb	1.38ppb
Δ BHC	0.88	-	-	-	-			-	-
Heptaclor	0.03	-	-	-	-	-	-	-	-
Heptaclor Epóxi	0.03	-	-	-	-	-	-	0.60ppb	2.74ppb
α Endosulfan	0.10	-	-	-	-	-	-	-	-
Aldrin	0.12	1.5ppb	3ppb	-	-	Soma: 2ppm	Soma: 4ppm	-	-
Dieldrin	0.11	43ppb	200ppb	2.85ppb	6.67ppb			2.85ppb	6.67ppb
Endrin	1.00	1ppb	400ppb	2.67ppb	62.4ppb			2.67ppb	62.40ppb
β Endosulfan	0.69	-	-	-	-	-	-	-	-
DDE	0.007	21ppb	300ppb	1.42ppb	6.75ppb	Soma: 2ppm	Soma: 4ppm	1.42ppb	6.75ppb
DDD	0.04	13ppb	800ppb	3.54ppb	8.51ppb			3.54ppb	8.51ppb
DDT	0.16	10ppb	550ppb	1.19ppb	4.77ppb			1.19ppb	4.77ppb
Endrin Cetona	1.00	-	-	-	-	-	-	-	-

1. Valor de Prevenção (VP) – é a concentração de determinada substância, acima da qual podem ocorrer alterações prejudiciais à qualidade do solo e da água subterrânea. Este valor indica a qualidade de um solo capaz de sustentar as suas funções primárias, protegendo-se os receptores ecológicos e a qualidade das águas subterrâneas. Foi determinado para o solo com base em ensaios com receptores ecológicos. Deve ser utilizado para disciplinar a introdução de substâncias no solo e, quando ultrapassado, a continuidade da atividade será submetida a nova avaliação, devendo os responsáveis legais pela introdução das cargas poluentes proceder o monitoramento dos impactos decorrentes.

2. Valor de Intervenção (VI) – é a concentração de determinada substância no solo ou na água subterrânea acima da qual existem riscos potenciais, diretos ou indiretos, à saúde humana, considerado um cenário de exposição genérico. Para o solo, foi calculado utilizando-se procedimento de avaliação de risco à saúde humana para cenários de exposição Agrícola-Área de Proteção Máxima – APM_{ax}, Residencial e Industrial. Para a água subterrânea, considerou-se como valores de intervenção as concentrações que causam risco à saúde humana listadas na Portaria 518, de 26 de março de 2004, do Ministério da Saúde - MS, complementada com os padrões de potabilidade do Guia da Organização Mundial de Saúde - OMS de 2004, ou calculados segundo adaptação da metodologia da OMS utilizada na derivação destes padrões. Em caso de alteração dos padrões da Portaria 518 do MS, os valores de intervenção para águas subterrâneas serão conseqüentemente alterados. A área será classificada como Área Contaminada sob Investigação quando houver constatação da presença de contaminantes no solo ou na água subterrânea em concentrações acima dos Valores de Intervenção, indicando a necessidade de ações para resguardar os receptores de risco.

3. Nível 1: limiar abaixo do qual prevê-se baixa probabilidade de efeitos adversos à biota; Nível 2: limiar acima do qual prevê-se um provável efeito adverso à biota

4. Valor de alerta (T): Indica que já ocorreu uma certa alteração que diminuiu, ainda que pouco, as propriedades funcionais do solo, sendo necessária uma investigação detalhada na área para quantificação dessa alteração; Valor de intervenção (I): indica um nível de qualidade do solo acima do qual existem riscos para a saúde humana e para o ambiente. A ultrapassagem desse valor (média) em um volume de solo de 25 m³ ou em 100 m³ de água subterrânea, indica a necessidade de implementação na área avaliada de ações voltadas para a sua remediação.

5. SQG: Sediment Quality Guideline, concentrações numéricas que são definidas com a intenção de proteger todas as formas de vida aquática e todos os aspectos de seu ciclo de vida aquática durante um período indefinido de exposição associada com sedimentos. ISQG: Interim Sediment Quality Guideline, são derivados do SQG e determinados quando os dados para confecção dos SGQs são disponíveis mas limitados. PEL: Probably Effect Level, concentração a partir da qual provavelmente proporcionará efeito as formas de vida aquática ou aos aspectos de seu ciclo de vida aquática durante um período indefinido de exposição associada com sedimentos.

2.3.2. Precisão

A precisão é a expressão da concordância entre vários resultados analíticos obtidos para uma mesma amostra. Ela pode ser determinada em condições de repetibilidade ou reprodutibilidade. Condições de repetibilidade são aqueles em que resultados independentes são obtidos usando: a) o mesmo método; b) para a mesma amostra; c) no mesmo laboratório; d) pelo mesmo operador; e) usando o mesmo equipamento; f) em um curto intervalo de tempo. Já as condições de reprodutibilidade são aqueles em que resultados independentes são obtidos usando: a) o mesmo método; b) para a mesma amostra; c) em diferentes laboratórios; d) por diferentes operadores; e) usando diferentes equipamentos (Lanças, 2004).

A precisão ainda pode ser determinada no mesmo dia (*intra-day* ou *within-day*) ou em diferentes dias (*inter-days* ou *between-days*). Sua medida é realizada por meio do desvio padrão (Figura 17) ou coeficiente de variação (Figura 18), através da injeção de amostras com concentrações conhecidas em pelo menos cinco replicatas (Lanças, 2004).

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Figura 17. Fórmula para cálculo de desvio padrão

$$CV = \frac{S}{x} \times 100$$

Figura 18. Fórmula para cálculo do coeficiente de variação

Para determinação da precisão, foi utilizado o cálculo através do coeficiente de variação nos resultados de cinco amostras fortificadas na concentração de 5ppb (ng/g), analisadas nas mesmas condições e no mesmo dia. Os resultados deste estudo são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11: Resultados da precisão para os 15 pesticidas organoclorados estudados

Analitos	Precisão Encontrada	Requisitos EPA (EPA, 2006)	Requisitos ANVISA (ANVISA, 2003)	Requisitos MAPA (MAPA, 2003)
α BHC	13,5	< 15%	<15% (ou < 20% no LOQ)	< 35%
β BHC	8,3			
Gama BHC	10,6			
Δ BHC	2,8			
Heptaclor	3,4			
Aldrin	3,0			
Heptaclor Epóxi	6,8			
α Endosulfan	13,2			
DDE	4,9			
Dieldrin	6,8			
Endrin	8,8			
β Endosulfan	14,7			
DDD	2,1			
DDT	10,3			
Endrin Cetona	3,6			

2.3.3. Exatidão

A exatidão expressa a concordância entre o valor aceito como verdadeiro ou aceito como referência. Geralmente é determinada por intermédio do uso de uma amostra certificada, cuja concentração do analito é conhecida. No entanto, quando não disponível, outra alternativa é a adição (ou fortificação) de uma quantidade conhecida de um padrão certificado do analito de interesse à matriz, para que o método seja validado. De posse dos valores reais de concentração (V_r) e dos valores determinados pelo método aplicado (V_d) é possível calcular a exatidão conforme apresentado na Figura 19 (Lanças, 2004).

Para determinação da exatidão, foi utilizado o cálculo através da fórmula da Figura 19, a partir dos resultados de cinco amostras fortificadas na concentração de 5ppb (ng/g), analisadas nas mesmas condições e no mesmo dia. Os resultados deste estudo são apresentados na Tabela 12.

$$Exatidão = \left[1 - \left(\frac{V_r - V_d}{V_r} \right) \right] \times 100$$

Figura 19. Fórmula para cálculo da exatidão

Tabela 12: Resultados da exatidão para os 15 pesticidas organoclorados estudados

Analitos	Exatidão Encontrada	Requisitos EPA (EPA, 2006)	Requisitos ANVISA (ANVISA, 2003)	Requisitos MAPA (MAPA, 2003)
α BHC	90,2	< 20%	< 20%	- 50% a + 20%
β BHC	81,6			
Gama BHC	93,0			
Δ BHC	87,3			
Heptaclor	95,3			
Aldrin	115,1			
Heptaclor Epóxi	114,5			
α Endosulfan	118,1			
DDE	119,6			
Dieldrin	109,0			
Endrin	97,3			
β Endosulfan	119,7			
DDD	95,1			
DDT	105,4			
Endrin Cetona	102,4			

2.3.4. Linearidade

A linearidade é a resposta obtida em função da concentração do analito, a qual deve ser estudada em um intervalo de concentração apropriado. Na prática, a linearidade é determinada por intermédio de gráficos de calibração, também denominado curva de calibração, que corresponde a um gráfico onde o eixo X relaciona-se as concentrações

preparadas do padrão analítico da substância de interesse, e o eixo Y ao sinal analítico obtido para cada concentração do padrão (Lanças, 2004).

Segundo Lanças (2004) o número mínimo de pontos para obtenção da equação da função (usualmente uma reta seguindo a forma $y=ax+b$) varia entre 5 e 6, sendo que o coeficiente de determinação (r^2) apresenta valores satisfatórios a partir de 0,98.

Inicialmente, para determinação da linearidade, foram utilizadas as concentrações de 1; 3; 5; 7 e 10ppb (ng/g). Os resultados foram traçados diretamente no programa Excel™, o qual automaticamente traça a curva, expressa a equação da função e o coeficiente de determinação. Os resultados dos coeficientes de determinação encontrados são apresentados na Tabela 13.

2.4. Cálculo de incerteza

Segundo a norma ISO/IEC 17025 (ABNT, 2001), devido à importância em se calcular a incerteza dos resultados, o laboratório deve apresentar um procedimento específico para este cálculo. Quando não for possível a realização de um cálculo rigoroso, é necessário pelo menos identificar os componentes da incerteza e fazer uma estimativa razoável.

Tabela 13: Resultados da linearidade expressos pelo coeficiente de determinação (r^2) para os 15 pesticidas organoclorados estudados

Analitos	r^2 Encontrado	Requisitos ANVISA (ANVISA, 2003)	Recomendação Lanças (Lanças, 2004)
α BHC	0,9977	> 0,98	> 0,98
β BHC	0,9905		
Gama BHC	0,9807		
Δ BHC	0,9865		
Heptaclor	0,9881		
Aldrin	0,9935		
Heptaclor Epóxi	0,9986		
α Endosulfan	0,9996		
DDE	0,9935		
Dieldrin	0,9982		
Endrin	0,9985		
β Endosulfan	0,9965		
DDD	0,9998		
DDT	0,9807		
Endrin Cetona	0,9939		

Segundo o guia Eurachem/Citac (SBM, 2000), a incerteza de medição pode ser definida como: "Um parâmetro associado ao resultado de uma medição, que caracteriza a dispersão de valores que poderiam ser razoavelmente atribuídas ao mensurando". O cálculo de incerteza é um procedimento complexo, existindo diferentes maneiras para efetuar-lo, que depende principalmente das inúmeras fontes que podem afetar este cálculo.

Uma vez que a metodologia desenvolvida neste trabalho calcula os resultados diretamente por uma curva de calibração, através de indicação do guia Eurachem/Citac, foi utilizado o cálculo pela calibração linear dos mínimos quadrados. Com base nesta referência foi desenvolvido o diagrama causa-efeito (Figura 20), indicando as fontes de incerteza para metodologia proposta neste trabalho.

Segundo o guia Eurachem / Citac, estas fontes compreendem:

1. Variações aleatórias em y: afeta tanto as respostas de referência quanto as respostas medidas.
2. Efeitos aleatórios: Resultando em erro nos valores de referência para x.
3. Valores de x e y: Podem estar sujeitos a um deslocamento constante desconhecido, surgidos, por exemplo, quando da obtenção dos valores de x por diluição serial de uma solução concentrada.
4. Assunção da linearidade: Linearidade assumida pode não ser válida.
5. Outras fontes: É considerada toda e qualquer característica capaz de influenciar nos resultados.

Ainda segundo o guia Eurachem / Citac, as fontes de números 2, 3, 4 discriminadas na Figura 20 são pouco significativas, e a fonte 5 já pode ser abrangida através do cálculo pela calibração linear dos mínimos quadrados da fonte mais significativa (fonte 1). Assim no cálculo de incerteza foi considerada apenas a fonte 1.

Figura 20. Diagrama de causa – efeito para cálculo da incerteza da metodologia proposta neste trabalho

Para o cálculo da fonte 1, foram utilizadas as equações discriminadas conforme Figuras 21; 22 e 23.

$$Incerteza = \frac{s}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_0 - \bar{C})^2}{S_{xx}}}$$

Figura 21. Equação para cálculo de incerteza das variações aleatórias em y segundo guia Eurachem / Citac

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n [A_j - (B_0 + B_1 \cdot c_j)]^2}{n - 2}}$$

Figura 22. Equação para cálculo do desvio padrão residual (S) segundo guia Eurachem / Citac

$$S_{xx} = \sum_{j=1}^n (c_j - \bar{c})^2$$

Figura 23. Equação para cálculo do desvio padrão residual (Sxx) segundo guia Eurachem / Citac

De acordo com as Figuras 21; 22; 23, temos que:

- ✓ **B₁** – Coeficiente angular;
- ✓ **p** – Número de medições para determinar a concentração dos analitos;
- ✓ **n** – Número de medições para calibração;
- ✓ **C₀** – Resultado de concentração da amostra analisada;
- ✓ **C** – Valor médio dos diferentes padrões de calibração;
- ✓ **A_j** – A enésima medição de área do enésimo padrão de calibração (onde $A_j = C_j \cdot B_1 + B_0$);
- ✓ **C_j** – Concentração do enésimo padrão de calibração;
- ✓ **B₀** – Ponto de intercepção do eixo das ordenadas.

Os resultados do cálculo de incerteza foram realizados considerando a curva de calibração e o resultado para uma solução com concentração de 5ppb (ng/g). Os resultados de incerteza calculados são apresentados na tabela 14.

Tabela 14: Resultados do cálculo de incerteza para uma solução de 5ppb

Analitos	Incerteza
α BHC	$\pm 0,43$
β BHC	$\pm 0,71$
Gama BHC	$\pm 0,85$
Δ BHC	$\pm 0,77$
Heptaclor	$\pm 0,79$
Aldrin	$\pm 0,72$
Heptaclor Epóxi	$\pm 0,33$
α Endosulfan	$\pm 0,18$
DDE	$\pm 0,71$
Dieldrin	$\pm 0,30$
Endrin	$\pm 0,28$
β Endosulfan	$\pm 0,43$
DDD	$\pm 0,13$
DDT	$\pm 0,84$
Endrin Cetona	$\pm 0,73$

2.5. Aplicação de conceitos de gestão da qualidade e gestão ambiental ao desenvolvimento da metodologia analítica

Conforme planejado no modelo para diagnóstico ambiental de áreas contaminadas, a metodologia analítica deve ser desenvolvida dentro de conceitos de gestão da qualidade e meio ambiente, podendo ser obtidos em normas internacionalmente reconhecidas (como a ISO/IEC 17025, BPL e ISO 14001). Desta maneira, as tabelas 15 e 16 apresentam como estes conceitos foram aplicados durante o desenvolvimento desta metodologia.

Tabela 15: Conceitos de gestão da qualidade aplicados durante o desenvolvimento da metodologia analítica.

Norma	Item	Descrição	Aplicação
ISO 17025	5.3	<u>Acomodações e condições ambientais –</u> O laboratório deve apresentar condições ambientais adequadas de maneira que não afete a qualidade dos resultados. Quando apresentar condições onde a falta de controle possa afetar um resultado, esta deve ser monitorada, controlada e registrada.	A metodologia analítica desenvolvida não recebe influencia nos resultados devido à ação de agentes externos (relacionados às condições ambientais) como temperatura ou umidade. As acomodações do laboratório foram totalmente satisfatórias para o desenvolvimento e aplicação desta metodologia.
	5.4.5	<u>Validação –</u> O laboratório deve validar, através de procedimentos adequados, todos os métodos não normalizados, criados ou desenvolvidos pelo laboratório, ou métodos normalizados utilizados com ampliações ou modificações.	A metodologia foi validada seguindo referências reconhecidas. Os resultados atingidos foram comparados a requisitos nacionais e internacionais demonstrando que estes foram totalmente satisfatórios.
	5.4.6	<u>Incerteza –</u> O laboratório deve aplicar procedimentos para cálculo da incerteza de medição. Quando não for possível a realização de um cálculo rigoroso, é necessário pelo menos identificar os componentes da incerteza e fazer uma estimativa razoável.	Utilizando o Guia EURACHEM/CITAC (SBM, 2000), foi calculada a incerteza atribuída ao resultado analítico.

Tabela 15 (continuação): Conceitos de gestão da qualidade aplicados durante o desenvolvimento da metodologia analítica.

Norma	Item	Descrição	Aplicação
ISO 17025	5.6.2.2	<u>Calibração –</u> A calibração dos equipamentos de ensaio deve ser realizada dentro de um programa de calibração e devem ser rastreáveis ao Sistema internacional de unidades.	Dentre os equipamentos que possam afetar os resultados do ensaio são indicados: 1) GC/MS; 2) Micropipeta 100uL 3) Balança Analítica. Apesar do laboratório não apresentar um programa de calibração documentado, estes três equipamentos apresentavam certificados de calibração e estavam em perfeitas condições para uso.
	4.12.2	<u>Registros técnicos –</u> O laboratório deve preservar por um período definido seus registros técnicos. Os registros alterados devem ser corrigidos sempre permitindo que esteja visível o registro original sendo esta correção rubricada pela pessoa que efetuou a alteração.	Todos os resultados obtidos foram registrados diretamente na tese de doutorado. Registros brutos como cromatogramas planilhas de cálculo entre outros foram salvos juntamente com o arquivo da tese na rede interna de computadores do CROMA, a qual possui sistema de controle de usuário, segurança e backup dos dados.
GLP	8.3.3	<u>Controle de dados brutos –</u> Os dados brutos (ou registros técnicos) devem ser prontamente registrados e preservados por um período definido.	Vide requisito 4.12.2 da ISO/IEC 17025.

Tabela 16: Conceitos de gestão ambiental aplicados durante o desenvolvimento da metodologia analítica

Norma	Item	Descrição	Aplicação
ISO 14001	4.3.1	<p><u>Aspectos Ambientais –</u></p> <p>Devem ser identificados todos os aspectos ambientais das atividades em questão, e em seguida determinar aqueles que tenham impacto significativo ao meio.</p>	<p>Para uma análise cromatográfica a etapa de extração sem dúvida pode ser considerada como a que apresenta o aspecto ambiental mais significativo, que esta relacionada à geração de resíduos de solvente. Apesar da SPME ser uma técnica de extração que se enquadra dentro do conceito de <i>Green Methods</i>, durante o desenvolvimento desta metodologia é gerado uma quantidade de resíduo devido a preparação de amostras fortificadas com pesticidas para extração. Assim este resíduo foi caracterizado como um aspecto ambiental significativo.</p>

Tabela 16 (continuação): Conceitos de gestão ambiental aplicados durante o desenvolvimento da metodologia analítica

Norma	Item	Descrição	Aplicação
ISO 14001	4.3.2	<u>Requisitos Legais</u> – Devem ser levantados todos os requisitos legais aplicáveis aos aspectos ambientais identificados.	O único aspecto ambiental significativo levantado foi o resíduo de amostras fortificadas com organoclorados. Como requisito legal deste resíduo foi levantada a resolução CONAMA 357 (CONAMA, 2005) e o Manual de Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo (CETESB, 2005), que estabelecem limites de tolerâncias para estes produtos no solo e na água.
	4.4.6	<u>Controle Operacional</u> – Devem ser identificadas as atividades associadas aos aspectos ambientais significativos, para que sejam executadas através de procedimentos adequados e utilizando-se de critérios operacionais.	O resíduo gerado durante a atividade de extração foi encaminhado para o Laboratório de Resíduos Químicos da USP de São Carlos que apresenta uma estrutura adequada para destinação final deste produto. Este já é um procedimento obrigatório no IQSC da USP de São Carlos.

3. Conclusões

O objetivo principal desta etapa foi o desenvolvimento de uma metodologia analítica bem fundamentada quanto a conceitos de qualidade (usualmente utilizados em normas internacionalmente reconhecidas como a BPL e a ISO/IEC 170525) e de gestão ambiental (segundo ISO 14001), de maneira a garantir a qualidade dos dados gerados e apresentando o menor impacto ambiental possível.

Depois da otimização da metodologia, que envolveu desde a confecção de um novo liner até a otimização de diferentes parâmetros analíticos, foi possível atingir baixos Limites de Quantificação que se mostraram satisfatórios para análise de sedimentos, uma vez que na maioria dos casos estes limites são bem inferiores aos limites de tolerância dos organoclorados em solo e sedimento, quando comparado a diferentes legislações nacionais e internacionais. Os demais parâmetros da validação também se mostraram muito satisfatórios, uma vez que se enquadram dentro de requisitos nacionais e internacionais consultados.

Quanto aos conceitos de gestão ambiental, a maior preocupação para uma metodologia analítica é a possível geração de resíduos, como por exemplo, solventes. Uma vez que foi utilizada a técnica de extração por SPME, este problema foi praticamente eliminado, uma vez que o desenvolvimento a partir desta técnica não utilizou qualquer quantidade

de solvente, diferente de outras técnicas de extração, como por exemplo, a extração por Soxhlet e a extração líquido-líquido, as quais geram grandes volumes.

Com base nos resultados apresentados é possível afirmar que o objetivo proposto foi plenamente atingido.

Capítulo IV

Aplicação do Modelo para Diagnóstico Ambiental de Áreas Contaminadas - Estudo de Caso: O Rio Atibaia (SP)

1. Apresentação do Capítulo

Após planejar um modelo para realização de um diagnóstico ambiental de áreas contaminadas, baseado em conceitos de Gestão de Qualidade e Gestão Ambiental, visando retratar adequadamente a realidade da área de estudo, este modelo foi aplicado para verificar a possível contaminação por Organoclorados no Rio Atibaia principalmente na região de Paulínia. Desta maneira, a seguir serão apresentadas todas as etapas desenvolvidas para realização do diagnóstico ambiental proposto na mesma ordem conforme apresentado na Figura 2.

Em conceitos acadêmicos, os itens: 2. Estudo Inicial e 3. Plano de Amostragem compreendem a Introdução; os itens: 4. Desenvolvimento da Metodologia Analítica e 5. Amostragem e Transporte compreendem a Parte Experimental; o item 6. Análise das Amostras e Tratamento dos Dados compreende aos Resultados e Discussão; e finalmente o item 7. Conclusão.

2. Estudo Inicial

Conforme descrito no Capítulo II, o estudo inicial de um diagnóstico apresenta basicamente 04 etapas: 1) Identificação da região de interesse; 2) Avaliação preliminar; 3) Interpretação das informações iniciais; 4) Aplicação de métodos de *screening*. Cada etapa será abordada nos subitens a seguir.

2.1. Identificação da região de interesse

Conforme já descrito nos objetivos, a região de interesse compreende toda a extensão do Rio Atibaia. Uma vez que a proposta deste trabalho é a análise da possível contaminação por organoclorados no Rio Atibaia, a região de Paulínia, principalmente próxima a área da empresa Shell (onde existe um caso de contaminação por pesticidas organoclorados), será focada com mais detalhes.

2.2. Avaliação Preliminar

2.1.1. O Rio Atibaia

Dentro das 22 Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídricos (UGRHI) do estado de São Paulo, divididas segundo a Lei Estadual N.º 7.663 de dezembro de 1991, o rio Atibaia se encontra na UGRHI 05 que compreende as bacias do rio Capivari, Piracicaba e Jundiaí.

Segundo relatório da situação dos recursos hídricos da UGRHI 5 (Comitê das Bacias Hidrográficas dos Rios Piracicaba, Capivari e Jundiaí, 2000), esta área é caracterizada como uma região industrial, com sérios problemas ambientais decorrentes da poluição dos rios, principalmente pela falta de tratamento de esgotos e elevado índice de indústrias poluidoras.

O Rio Atibaia, pertencente a esta unidade de gerenciamento e juntamente com o rio Jaguari, formam o rio Piracicaba. Estes Rios recebem efluentes domésticos provenientes de 40 municípios, dos quais apenas 13 recebem algum tipo de tratamento. Adicionalmente recebem ainda das indústrias dos ramos de papel e celulose, alimentício, têxtil, couros, metalúrgico, químico e petroquímico uma descarga com cerca de 42 t_{DBO5}/dia, além da contribuição de 72 Kg_{DBO5}/dia oriunda do tratamento de efluentes das indústrias do ramo sucro-alcooleiro (Comitê das Bacias Hidrográficas dos Rios Piracicaba, Capivari e Jundiaí, 2000).

Em consequência dessas descargas, o Rio Atibaia (que recebe efluentes de 10 municípios) apresenta-se continuamente em desconformidade com seu enquadramento na classe 2, definido segundo CONAMA 20 (1986), para os parâmetros Coli-Fecal e Fósforo-Total, além dos metais Cádmio, Chumbo, Cobre, Níquel e Zinco, apresentando ao longo de seu curso um IQA (Índice de Qualidade de Água) que indica uma água de qualidade boa e aceitável, com tendência a piorar e, na sua foz, em Americana, a qualidade é ruim com tendência indefinida (Comitê das Bacias Hidrográficas dos Rios Piracicaba, Capivari e Jundiaí, 2000).

O Rio Atibaia ainda sofre a influência do cultivo de 52 ha de tomates, 6.327 ha de cana de açúcar e 1.309 ha de laranja, o qual estima-se a quantidade de agrotóxicos utilizados para estas culturas de respectivamente: 5.143 kg, 50.616 kg e 47.517 kg (Comitê das Bacias Hidrográficas dos Rios Piracicaba, Capivari e Jundiaí, 2000).

A CETESB realiza um monitoramento da qualidade das águas interiores do estado de São Paulo em função das UGRHIs, apresentando para cada Unidade de Gerenciamento os resultados dos parâmetros monitorados (físicos, químicos e biológicos), bem como uma análise sucinta dos corpos de água correspondente. A Figura 24 representa a UGRHI 05, indicando os diferentes pontos de monitoramento realizados pela CETESB (CETESB, 2005).

Figura 24. UGRHI 05 – Piracicaba, Capivari e Jundiá

Apesar do Rio Atibaia se apresentar dentro da UGRHI 05, ele se encontra mais precisamente dentro da Bacia do Piracicaba. Os pontos de monitoramento realizados pela CETESB para esta Bacia estão identificados na Figura 24, e um detalhamento mais minucioso desta bacia é apresentado na Tabela 17 (CETESB, 2005).

Tabela 17: Caracterização da Bacia do Piracicaba (CETESB, 2005)

Área de drenagem -	14.314 km².
Constituintes principais -	Rios Capivari e Capivari-Mirim (180 km); Rio Jundiaí, que nasce na Serra de Pedra Vermelha, no município de Mairiporã e deságua na margem direita do Rio Tietê, no Reservatório da Usina de Porto Góes, no município de Salto; Rios Jundiaí-Mirim e Piraí; Rios Atibaia, Corumbataí, Jaguari e Piracicaba (115 km), que tem sua foz no Reservatório de Barra Bonita.
Reservatórios -	De Salto Grande ou Americana (Rio Atibaia), Atibainha, Cachoeira e Jaguari.
Usos do solo -	O território abrangido por essa UGRHI caracteriza-se pela presença de acentuado desenvolvimento industrial e alta densidade populacional, englobando, inclusive, a Região Metropolitana de Campinas. Na produção rural, destacam-se culturas temporárias com predominância de cana-de-açúcar; pastagens; silvicultura e fruticultura, parte das quais vinculadas à agroindústria presente nesta bacia hidrográfica.
Usos da água -	Abastecimentos público e industrial; afastamento de efluentes industriais e domésticos; irrigação de plantações, geração de energia e recreação.
Principais atividades industriais -	Agroindústria e indústrias químicas, têxteis, metalúrgicas e de eletroeletrônica.

Dentro desta rede de monitoramento, o Rio Atibaia é amostrado em nove diferentes pontos, indicados na Figura 24. Uma localização detalhada destes pontos de amostragem é apresentada na Tabela 18, e os mais recentes resultados publicados pela CETESB (CETESB, 2005) para o monitoramento destes pontos são apresentados nas tabelas 19, 20 e 21.

Tabela 18: Localização dos pontos de amostragem do plano de monitoramento da CETESB para o Rio Atibaia (CETESB, 2005)

Ponto de amostragem	Latitude	Longitude	Localização
ATIB02010	23°06'12"	46°32'42"	Junto à captação do município de Atibaia
ATIB02030	22°58'09"	46°50'52"	Na captação de Itatiba (Rua Fioravante Piovani)
ATIB02035	22°56'16"	46°56'01"	Na captação de Valinhos
ATIB02065	22°54'18"	46°58'26"	Na captação de Campinas, na divisa entre os municípios de Campinas e Valinhos
ATIB02300	22°45'25"	47°06'39"	Na captação da Rhodia, em Paulínia
ATIB02605	22°45'47"	47°09'18"	Ponte da Rodovia SP - 332 que liga Campinas a Cosmópolis
ATIB02605 (Sedimento)	22°45'09"	47°09'17"	À jusante do Lançamento da Societal S/A (antiga Shell).
ATIB02800	22°45'41"	47°10'24"	Na captação de Sumaré, perto do Mini-Pantanal de Paulínia.
ATIB02900	22°41'54"	47°17'27"	Ponte de Salto Grande, a jusante do Reservatório da CPFL

Tabela 19: Resultados de análise das águas do Rio Atibaia, para o ano de 2005, expresso em diferentes índices (CETESB, 2005)

Localização	Mês Índice	Jan.	Mar.	Maio	Jul.	Set.	Nov.	Média
ATIB02010	IQA	41	58	56	61	56	52	54
	IAP	18		51	30		30	32
	IVA	5,4	2,9	5,2	3,4	4,2	4,4	4,3
	IET	61	34	64	48	60	58	53
ATIB02065	IQA	35	51	55	63	58	53	52
	IAP	8		48	30		44	32
	IVA	4,2	1,7	2,2	3,4	4,4	3,2	3,2
	IET	63	36	51	50	55	58	52
ATIB02605	IQA	32	43	47	57	49	46	46
	IAP	9	31	43	28	46	42	33
	IVA	7,4	3,2	6,2	6,4	5,2	5,2	5,6
	IET	70	58	73	65	64	66	66

IQA - ■ Ótima ■ Boa ■ Regular ■ Ruim ■ Péssima
 IAP - ■ Ótima ■ Boa ■ Regular ■ Ruim ■ Péssima
 IVA - ■ Ótima ■ Boa ■ Regular ■ Ruim ■ Péssima
 IET - ■ Ultraoligotrófico ■ Oligotrófico ■ Mesotrófico ■ Eutrófico
■ Supereutrófico ■ Hipereutrófico

Tabela 20: Média dos resultados de análise das águas do Rio Atibaia para o ano de 2005 – Parâmetros Sanitários (CETESB, 2005)

Localização	Parâmetros (valores médios para 2005)										
	Condutividade	Turbidez	COD	PFTHM	Nitrato	N. Amoniacal	OD	DBO	FT	Col. Term.	Clorof.
ATIB02010	54	35	5,10	305	0,42	0,33	4,9	2	0,353	2,2E+3	1,11
ATIB02030	66	31			2,15		6,4	2		7,0E+3	
ATIB02035	68	60					7,6	2		4,6E+3	
ATIB02065	93	77	5,43	281		0,52	7,3	3	0,267	1,0E+3	0,94
ATIB02300	100	129					6,5	3		2,1E+3	
ATIB02605	253	317			1,52	1,02	5,7	6	0,717	9,3E+3	
ATIB02800	269	146			1,72	1,68	4,7	6	0,417	3,8E+4	
ATIB02900	206	35					4,3	3		9,5E+1	

Tabela 21: Porcentagem de resultados não conformes com os padrões de qualidade de água estabelecidos pela resolução CONAMA 357/2005 para o ano de 2005 (CETESB, 2005)

Localização	Parâmetros (% de valores não conformes para 2005)								
	Nitrogênio Amoniacal	Fósforo Total	Mn	Ni	Zn	Toxicidade	Hg	Clorofila	Nº de Células (Cianobact.)
ATIB02010	0	67	33	0	0	0	0	0	
ATIB02030									
ATIB02035									
ATIB02065	0	83	67	0	0	0	0	0	0
ATIB02300									
ATIB02605	0	83	50	17	0	0	0		
ATIB02800	17	67							
ATIB02900									

Os diferentes índices, apresentados na Tabela 19, adotados pela CETESB, buscam representar uma média de diversas variáveis em um único número, combinando unidades de medidas diferentes em uma única unidade. O significado de cada índice é apresentado abaixo:

- ✓ IQA (Índice de Qualidade das Águas) - Calculado a partir de 9 diferentes parâmetros: temperatura da amostra, pH, oxigênio dissolvido, demanda bioquímica de oxigênio (5 dias, 20°C), coliformes termotolerantes, nitrogênio total, fósforo total, resíduo total e turbidez.
- ✓ IAP (Índice de Qualidade de Águas Brutas para Fins de Abastecimento Público) - Calculado a partir dos parâmetros

utilizados para o cálculo de IQA, de parâmetros que indicam a presença de substâncias tóxicas (teste de mutagenicidade, potencial de formação de trihalometanos, cádmio, chumbo, cromo total, mercúrio e níquel) e de grupo de parâmetros que afetam a qualidade organoléptica (fenóis, ferro, manganês, alumínio, cobre e zinco).

- ✓ IVA (Índice de Qualidade de Água para Proteção de Vida Aquática) - leva em consideração a presença e concentração de contaminantes químicos tóxicos, seu efeito sobre os organismos aquáticos (toxicidade) e dois dos parâmetros considerados essenciais para a biota (pH e oxigênio dissolvido).
- ✓ IET (Índice de Estado Trófico) - Tem por finalidade classificar corpos d'água em diferentes graus de trofia, ou seja, avalia a qualidade da água quanto ao enriquecimento por nutrientes e seu efeito relacionado ao crescimento excessivo das algas. Pode ser classificado em: Oligotrófico (Corpos de água limpos, de baixa produtividade, em que não ocorrem interferências indesejáveis sobre os usos da água), Mesotrófico (Corpos de água com produtividade intermediária, com possíveis implicações sobre a qualidade da água, mas em níveis aceitáveis, na maioria dos casos), Eutrófico (Corpos de água com alta produtividade em relação às condições naturais, de baixa transparência, em geral afetados por atividades antrópicas, em que ocorrem alterações indesejáveis na

qualidade da água e interferências nos seus múltiplos usos) e Hipereutrófico (Corpos de água afetados significativamente pelas elevadas concentrações de matéria orgânica e nutrientes, com comprometimento acentuado nos seus usos, podendo inclusive estarem associados a episódios florações de algas e de mortandade de peixes e causar conseqüências indesejáveis sobre as atividades pecuárias nas regiões ribeirinhas).

Com base nos resultados apresentados anteriormente, a CETESB (2005) classificou as águas do Rio Atibaia como apresentando qualidade ruim, devido aos valores do IQA. Também foi realizado o teste Ames onde foi evidenciada atividade mutagênica para duas amostras coletadas no ponto ATIB02800, com potência de 200 à 600 revertentes, consideradas baixa a moderada.

Quanto à qualidade dos sedimentos monitorada através do ponto ATIB02605, a CETESB (2005) indica que apesar da toxicidade para o organismo bentônico (*Hyalella azteca*) não ter apresentado efeito tóxico, este resultado pode estar relacionado com a época de amostragem, em início de período de chuvas, e não a uma melhora de qualidade em relação aos outros anos (2002, 2003 e 2004) onde foi observado efeito tóxico. Especificamente para o ano de 2004 também foi observado efeito mutagênico, indicando a presença de compostos orgânicos mutagênicos.

Dentre os resultados obtidos com o sedimento do Rio Atibaia, destaca-se os metais Cromo (indicado como índice péssimo) e Cobre,

Mercúrio, Níquel e Zinco (indicados como índice regular). Quanto a análise de compostos orgânicos, foi observada a presença de HPAs (benzo(a)pireno, criseno, fenantreno, fluoranteno e pireno) em concentrações abaixo de valores que poderiam acarretar algum efeito tóxico, enquanto que alguns outros compostos (DDE, DDT, endrin, heptacloro epóxido, lindano, acenafteno e dibenzo(a,h)antraceno) tiveram seus limites de detecção acima de critérios que possam acarretar algum efeito (CETESB, 2005).

2.1.2. A contaminação da Shell Brasil S/A

No Item 02 do Capítulo 01 - "Contaminação por Organoclorados em Paulínia", foi apresentado o histórico da contaminação por pesticidas organoclorados da empresa Shell Brasil S/A, onde através da Figura 1 é possível visualizar a área da empresa e sua proximidade com o Rio Atibaia. Como já levantado no Capítulo 01, dentre os problemas ambientais acarretados com esta contaminação, sem dúvida a possível contaminação do Rio Atibaia poderia ser a mais desastrosa, uma vez que este Rio fornece água para inúmeros municípios. Esta preocupação foi apresentada pelo jornal Folha de São Paulo em junho de 2004 (Folha de São Paulo, 2004), o qual informou o atraso nas obras de implantação de uma barreira hidráulica para reter a contaminação da Shell para o Rio Atibaia. Nesta mesma matéria, é apresentado o cenário preparado pela

empresa especializada em diagnóstico ambiental, a CSD Geoclok, que após estudo realizado em 2000, afirma que sem nenhuma intervenção a contaminação por organoclorados poderia chegar ao Rio Atibaia na pior das hipóteses no ano de 2006.

A construção da barreira hidráulica para impedir a ampliação da contaminação foi iniciada em julho de 2004, e, segundo a empresa Shell, as obras de descontaminação serão concluídas em 2014 (Folha de São Paulo, 2004).

Não foram encontrados registros de estudos recentes para verificar se realmente o Rio Atibaia sofre, ou sofreu, influência dos pesticidas organoclorados oriundos da contaminação da Shell.

Os pesticidas organoclorados que foram produtos da contaminação na área da empresa Shell Brasil S/A em Paulínia são principalmente da classe dos drins, os quais foram fabricados em grande escala pela empresa entre os anos 1975 e 1990, sendo que em 1986 a comercialização foi proibida no Brasil, sendo produzido apenas para exportação. Dentre estes pesticidas, o aldrin, dieldrin, endrin e endrin cetona foram identificados na avaliação da contaminação de solo da empresa Shell durante a auditoria ambiental de venda para a Cyanamid (Campos, 2001).

2.3. Interpretação das informações iniciais

Avaliando a extensão de todo Rio Atibaia, podemos notar diferentes influências antrópicas que podem afetar a qualidade de suas águas. Dentre estas podemos destacar o possível despejo do esgoto doméstico e industrial de diferentes municípios e, principalmente, a possível influência do caso de contaminação da empresa Shell Brasil S/A, devido a grande toxicidade dos poluentes desta contaminação e a grande proximidade com o Rio Atibaia.

Os resultados da CETESB (2005) mostram que a qualidade do Rio Atibaia é classificada como ruim, e as análises de sedimento a jusante da empresa Shell Brasil S/A mostra um histórico de características tóxicas e mutagênicas. No entanto, não foi possível identificar a colaboração dos pesticidas organoclorados quanto a estas características, uma vez que a própria CETESB assume que seus limites de detecção para estes compostos são altos.

Uma vez que ao longo do Rio Atibaia não existem outras empresas fabricantes de pesticidas organoclorados que tenham sofrido problemas de contaminação, a presença destes produtos só podem ser atribuídas a contaminação da empresa Shell Brasil S/A, ou a utilização clandestina destes produtos nas lavouras.

As características do sedimento do Rio Atibaia a jusante da empresa Shell Brasil S/A (com indicação de efeito tóxico e mutagênico), a

proximidade da área contaminada pela Shell por pesticidas organoclorados (que apresentam características tóxicas e mutagênicas) e os altos limites de detecção para análise destes compostos em sedimento aplicados pela CETESB, mostram a importância na realização de um diagnóstico da presença de pesticidas organoclorados em sedimento do Rio Atibaia principalmente na região próxima a empresa Shell Brasil S/A.

2.4. Aplicação de métodos de screening

Uma vez que a metodologia para análise de organoclorados foi desenvolvida com o objetivo de ser uma metodologia rápida, eficiente e com baixo consumo de solvente, conclui-se não ser necessário o desenvolvimento ou aplicação de um método de *screening*.

3. Plano de Amostragem

O plano de amostragem é uma importante fase do diagnóstico, o qual deve ser elaborado antes da coleta, buscando garantir uma amostragem adequada que seja representativa perante a área de estudo. Desta maneira, deve-se definir: 1-Os parâmetros a serem analisados; 2-Número, localização e profundidade dos pontos de amostragem; 3-

Quantidade necessária de amostra; 4-Amostras simples ou compostas; 5-Técnicas de amostragem; 6-Descontaminação dos equipamentos de amostragem; 7-Armazenamento da amostra; 8-Infra-estrutura (equipamentos, transporte, técnicos); 9-Cronograma de amostragem.

Para definição dos itens acima apresentados, devem ser utilizadas informações do modelo já elaborado no estudo inicial (item 02) e em metodologias nacionais ou internacionais fundamentadas.

Quanto aos parâmetros a serem analisados, estes já estão bem fundamentados, uma vez que a metodologia analítica foi desenvolvida em função deles. Já o número, a localização e a profundidade das amostras, são parâmetros importantes de serem definidos, pois a correta atribuição deles está relacionada com a representatividade da amostragem.

Segundo Leite (2005), o termo amostrar é um termo abrangente que contempla a preparação, o equipamento, os pontos e a representatividade dos pontos. Considerando-se, ainda, que não exista uma amostra homogeneia, torna-se impossível que uma amostra signifique o universo amostral, ou seja, é praticamente impossível obtermos uma amostra significativa, assim o máximo que podemos imaginar de uma amostra é tê-la como representativa do universo.

Esta representatividade pode ser obtida considerando as características do meio a ser amostrado. Segundo Suguio (1973) as amostragens seriadas lineares, definidas como amostras pontuais que

integram um conjunto de amostras, são indicadas em rios, pois fornecem as mudanças das características do sedimento ao longo de seu percurso.

Já a CETESB (2001), afirma que para promover uma amostragem representativa podem ser escolhidos diferentes esquemas de amostragem. Entre estes, usualmente se utiliza o esquema com distribuição direcionada, onde a amostragem é direcionada de acordo com o conhecimento já existente a respeito das fontes e vias de disseminação da contaminação.

Uma vez que será amostrado sedimento ao longo do Rio Atibaia, para o qual existe um volume considerável de informações, optou-se em realizar uma amostragem seriada linear, com esquema de distribuição direcionada, de maneira a obter a melhor representatividade da área. Desta maneira, a amostragem foi direcionada para ser realizada próximo a antiga empresa Shell S.A., onde existe um caso público de uma significativa contaminação por pesticidas organoclorados.

Quanto à quantidade de amostra a ser coletada, segundo a CETESB (2001), esta quantidade deve ser suficiente para ser considerado representativo do local onde foi amostrado, sem impedir uma homogeneização satisfatória das subamostras que a compõe e possuir material suficiente para execução das análises necessárias e replicatas, se necessário.

A quantidade de amostra estipulada para coleta foi de aproximadamente 1 Kg, considerada satisfatória pela CETESB (2001) e Suguio (1973).

O plano de amostragem também pode considerar a obtenção de amostras simples (obtida em um único ponto), ou amostras compostas (obtida pela mistura de amostras de diferentes pontos). Segundo Suguio, (1973) não existem regras fixas em relação aos méritos destes dois tipos de amostragem. Assim, neste trabalho optou-se a utilização de amostras simples.

Inúmeras são as técnicas de amostragem de sedimento de fundo de rios e lagos. Apesar do número de equipamentos de amostragem de sedimentos aumentarem a cada ano, é possível indicar os três métodos mais comuns de serem utilizados:

1. **Investigação de sedimentos por mergulhadores** – Em mares, lagos ou rios com boa transparência, os mergulhadores podem estudar, medir, fotografar e coletar amostras de sedimentos de fundo (Suguio, 1973).
2. **Coleta de amostras com pegadores (*grab sampler*)** - Para investigação da camada mais recente (superficial) de sedimentos dos fundos de lagos, mares ou rios, é suficiente amostrar alguns centímetros superficiais com pegadores. Estes pegadores de amostras podem se apresentar na forma de dois pratos metálicos parecidos com pás de uma escavadora os quais, depois de

pressionados no sedimento pelo seu próprio peso, se fecham fazendo a coleta de amostra. Um outro formato é o tipo caixa, que penetra no sedimento, sendo fechada por um mecanismo quando o instrumento é suspenso (Suguio, 1973).

3. **Coleta de testemunhos** – Os testemunhos consistem de um tubo de aço provido de uma válvula na extremidade superior com acessórios para estabilização. Eles penetram alguns metros dentro do sedimento, podendo fornecer informações sobre este em diferentes profundidades (Suguio, 1973).

Entre os métodos apresentados, optou-se pela utilização de um amostrador tipo testemunho para coleta de amostras em profundidade de até 20 cm, considerando que apenas uma camada estritamente superficial não seria representativa, uma vez que a possível contaminação por organoclorados no Rio Atibaia possa ser proveniente de um antigo caso de contaminação de solo da empresa Shell S.A..

Durante o processo de amostragem, é muito importante considerar a descontaminação dos equipamentos empregados, para que não ocorra arraste dos contaminantes de um ponto a outro amostrado. Segundo a CETESB (2001), esta descontaminação deve ser realizada pela remoção física, neutralização/remoção química dos contaminantes ou ainda desinfecção/esterilização dos equipamentos, sendo realizado, na prática, uma combinação de duas ou mais dessas ações.

Uma vez que amostragem seria realizada em sedimento do Rio Atibaia, a descontaminação poderia ser realizada através da lavagem do amostrador com água e sedimento do próprio ponto de amostragem.

Após a amostragem, o armazenamento desta é de vital importância. Segundo a EPA (1989) amostras de solo que contenham pesticidas organoclorados devem ser armazenadas em recipientes limpos a uma temperatura de 4°C por até 7 dias antes do processo de extração. Estas recomendações também foram adotadas neste plano de amostragem.

Após todo planejamento da amostragem, esta foi agendada para ser realizada entre os dias 11 e 12 de Setembro de 2006. A Tabela 22 apresenta, de forma resumida, todo o plano de amostragem desenvolvido para análise do sedimento do Rio Atibaia, quanto à presença de pesticidas organoclorados.

Tabela 22: Plano de amostragem para análise sedimento do Rio Atibaia quanto à presença de pesticidas organoclorados

Parâmetros	1. Parâmetros a serem analisados:	α BHC; β BHC; Gama BHC; Δ BHC; Heptaclor; Aldrin; Heptaclor Epóxi; α Endosulfan; DDE; Dieldrin; Endrin; β Endosulfan; DDD; DDT; Endrin Cetona
	2. Número, localização e profundidade dos pontos de amostragem:	13 pontos de amostragem ao longo do Rio Atibaia, indicados na Figura 25 e Tabela 23, a uma profundidade de 0 - 20 cm (quando paralela à antiga área da empresa Shell, as amostras foram coletadas na margem ao lado da empresa, com algumas exceções indicadas na Tabela 23).
	3. Quantidade necessária de amostra:	Foi estipulada uma quantidade de 1 kg de amostra para cada ponto a ser amostrado.
	4. Amostras simples ou compostas:	Optou-se pela utilização de amostras simples, obtida de um único ponto, ao invés compostas, obtida pela mistura de amostras de diferentes pontos.
	5. Técnicas de amostragem:	A amostragem foi realizada através de um amostrador tipo testemunho.
	6. Descontaminação dos equipamentos de amostragem:	Os equipamentos de amostragem, que corresponde basicamente ao amostrador tipo testemunho, foi descontaminado realizando lavagem com sedimento e água do próprio ponto de amostragem. Os recipientes utilizados para armazenagem das amostras foram limpos utilizando recomendações da CETESB (2001) que corresponde à utilização de detergente alcalino, água deionizada, acetona grau-pesticida e hexano grau pesticida respectivamente.
	7. Armazenamento da amostra:	As amostras foram armazenadas em recipientes descontaminados e refrigeradas a 4°C, conforme recomendação da EPA (1989).
	8. Infra-estrutura (equipamentos, transporte, técnicos):	Toda infra-estrutura para amostragem foi realizada com o suporte do laboratório de cromatografia do Instituto de Química da USP de São Carlos. A embarcação foi fornecida pela colaboração do pescador Ramiro da Silva.
	9. Cronograma de amostragem:	A amostragem foi realizada entre os dias 11 e 12 de Setembro de 2006.

Figura 25. Localização dos pontos de amostragem próximos à antiga área da empresa Shell

Tabela 23: Descrição dos pontos de amostragem

Ponto de Amostragem	Descrição
01	Ponte sobre o Rio Atibaia na cidade de Paulínia, próximo à empresa Syngenta.
02	Final do contorno do Rio Atibaia na empresa Shell (região de curva).
03	Córrego com água da Kraton (funcionando atualmente na antiga área da Shell) que desemboca no Atibaia.
04	Confluência do Rio Atibaia com o Rio Jaguari formando o Rio Piracicaba.
05	Próximo a ferrovia que corta o Rio Atibaia.
06	Abaixo da ferrovia que corta o Rio Atibaia.
07	Próximo ao oleoduto da Petrobrás que corta o Rio Atibaia.
08	Margem oposta à antiga área da empresa Shell (região de curva).
09	Montante da barreira hidráulica instalada pela empresa Shell.
10	Próxima à barreira hidráulica instalada pela empresa Shell.
11	Jusante da barreira hidráulica instalada pela empresa Shell.
12	Margem oposta à antiga área da empresa Shell (próximo à estação de captação água e emissão de efluentes).
13	Próximo à estação de captação água e emissão de efluentes.

Conforme planejado no modelo para diagnóstico ambiental de áreas contaminadas, o plano de amostragem deve ser desenvolvido dentro de conceitos de gestão ambiental os quais podem ser obtidos em através da norma ISO 14001. Desta maneira, a Tabela 24 apresenta como estes conceitos foram aplicados durante o desenvolvimento do plano de amostragem.

Tabela 24: Conceitos de gestão ambiental aplicados para o estabelecimento do plano de amostragem.

Norma	Item	Descrição	Aplicação
ISO 14001	4.3.1	<u>Aspectos Ambientais –</u> Devem ser identificados todos os aspectos ambientais das atividades em questão e, em seguida, determinar aqueles que tenham impacto significativo ao meio.	Durante a amostragem, a descontaminação do amostrador foi realizada utilizando água e sedimento do próprio ponto de amostragem, não gerando resíduos. Assim, o único aspecto ambiental levantado foi o resíduo gerado oriundo da limpeza dos recipientes de armazenagem com solventes orgânicos.
	4.3.2	<u>Requisitos Legais –</u> Devem ser levantados todos os requisitos legais aplicáveis aos aspectos ambientais identificados.	O único aspecto ambiental significativo levantado foi o resíduo de solventes utilizados na limpeza dos recipientes de armazenagem de amostras. Não foram encontrados requisitos legais quanto ao controle destes produtos.
	4.4.6	<u>Controle Operacional –</u> Devem ser identificadas as atividades associadas aos aspectos ambientais significativos, para que sejam executadas através de procedimentos adequados e utilizando-se de critérios operacionais.	O resíduo gerado durante a atividade de limpeza dos recipientes foi encaminhado para o Laboratório de Resíduos Químicos da USP de São Carlos que apresenta uma estrutura adequada para destinação final deste produto. Este já é um procedimento obrigatório no IQSC da USP de São Carlos.

4. Desenvolvimento da Metodologia Analítica

Uma vez que o desenvolvimento e otimização da metodologia analítica para análise de organoclorados em sedimento, através de HS-SPME-GC/MS, foi um dos objetivos deste projeto, foi dedicado um capítulo exclusivo para apresentar este desenvolvimento (Capítulo III).

5. Amostragem e Transporte

Após um detalhado estudo sobre a amostragem (Vide item 3 – Capítulo IV), esta foi realizada de acordo com este planejamento. Desta maneira, a seguir serão apresentados alguns detalhes e informações referentes à aplicação deste plano de amostragem.

Conforme planejado, a amostragem foi realizada utilizando um amostrador tipo testemunho, o qual foi confeccionado na oficina da USP do Instituto de Química de São Carlos. Este amostrador foi produzido em alumínio e teflon, com o objetivo de evitar a contaminação das amostras (Figura 26).

Figura 26. Amostrador tipo testemunho: (01) desmontado; (02) montado.

A amostragem foi realizada entre os dias 11 e 12 de Setembro de 2006. No dia 11 foi realizada a amostragem dos pontos os quais era possível o acesso sem a utilização de embarcação. Estes pontos correspondem aos números de 01 a 04, indicados na Figura 25 e Tabela 24. Fotos individuais destes pontos de amostragem são indicados nas Figuras 27 a 30.

Figura 27. Ponto de amostragem 01 – Ponte sobre o Rio Atibaia na cidade de Paulínia, próximo à empresa Syngenta.

Figura 28. Ponto de amostragem 02 – Final do contorno do Rio Atibaia na empresa Shell (região de curva).

Figura 29. Ponto de amostragem 03 – Córrego com água da Kraton (funcionando atualmente na antiga área da Shell) que desemboca no Atibaia.

Figura 30. Ponto de amostragem 04 – Confluência do Rio Atibaia com o Rio Jaguari formando o Rio Piracicaba.
Obs.: devido às águas claras é possível evidenciar a marca do ponto de amostragem deixado pelo testemunho.

Uma vez que toda a área contaminada, a qual corresponde à área da antiga empresa Shell e o Bairro Recanto dos Pássaros, foi interditada (Figura 31), a coleta de amostras as margens do Rio Atibaia nesta área foi dificultada, podendo ser realizada apenas com auxílio de uma embarcação. Desta maneira, no dia 12 de Setembro de 2006, foi planejada a coleta das amostras utilizando a ajuda de uma pequena embarcação. Fotos individuais destes pontos de amostragem são indicados nas Figuras 32 à 40.

Figura 31. Placa indicando a interdição do Bairro Recanto dos Pássaros.

Figura 32. Ponto de amostragem 05 – Próximo a ferrovia que corta o Rio Atibaia.

Figura 33. Ponto de amostragem 06 – Abaixo da ferrovia que corta o Rio Atibaia.

Figura 34. Ponto de amostragem 07 – Próximo ao oleoduto da Petrobrás que corta o Rio Atibaia.

Figura 35. Ponto de amostragem 08 – Margem oposta à antiga área da empresa Shell (região de curva).

Obs.: Próximo ao ponto de amostragem foi encontrado um peixe morto, conforme indicado na foto.

Figura 36. Ponto de amostragem 09 – Montante da barreira hidráulica instalada pela empresa Shell.

Figura 37. Ponto de amostragem 10 – Próxima à barreira hidráulica instalada pela empresa Shell.

Figura 38. Ponto de amostragem 11 – Jusante da barreira hidráulica instalada pela empresa Shell.

Figura 39. Ponto de amostragem 12 – Margem oposta à antiga área da empresa Shell (próximo à estação de captação água e emissão de efluentes).

Figura 40. Ponto de amostragem 13 – Próximo à estação de captação água e emissão de efluentes.

Durante a amostragem, as amostras foram preservadas em isopor com gelo, as quais em seguida foram transportadas para o Laboratório de Cromatografia da USP e acondicionadas em freezer à temperatura estipulada pelo plano de amostragem até serem analisadas.

6. Análise das Amostras e Tratamento dos Dados

As amostras foram analisadas de acordo com a metodologia desenvolvida no Capítulo III, adotando os mesmos conceitos de gestão da qualidade e meio ambiente abordados neste capítulo.

Os resultados analíticos são apresentados na Tabela 25 onde são comparados com os limites de tolerância para pesticidas organoclorados de diferentes legislações. Nesta tabela são apresentados apenas os resultados os quais estão acima do LOD. Os analitos que não apresentaram sinal acima do LOD não foram adicionados à tabela, com o intuito de facilitar a visualização dos resultados, destacando que, ao todo, foram analisados 13 pontos de amostragem para 15 diferentes analitos, o que compreende um total de 195 resultados.

Todos os cromatogramas referentes a estes resultados são apresentados nas Figuras 41 à 52.

Tabela 25: Resultados comparados a diferentes legislações (quadros em destaque mostram discordância com a legislação)

Ponto de Amostragem	Resultados	Valores de Prevenção (CETESB, 2005) ¹	Valores de Intervenção para Área Agrícola (CETESB, 2005) ²	Avaliação de Material Dragado (CONAMA, 2004) ³		Lista Holandesa – Valores de alerta (CETESB 6530) ⁴		Canadian Sediment Quality ⁵ (CCME,2002)	
				Nível 1	Nível 2	Alerta (T)	Intervenção (I)	ISQG	PEL
01	γ BHC: 2,29 ppb	1ppb	20ppb	0.94ppb	1.38ppb	1ppm ⁶	2ppm ⁶	0.94ppb	1.38ppb
04	γ BHC: < LOQ	1ppb	20ppb	0.94ppb	1.38ppb	-	-	0.94ppb	1.38ppb
05	DDE: 3,88 ppb	21ppb	300ppb	1.42ppb	6.75ppb	2ppm ⁶	4ppm ⁶	1.42ppb	6.75ppb
	Hep. Ep.: < LOQ	-	-	-	-			0.60ppb	2.74ppb
06	DDE: 0,51 ppb	21ppb	300ppb	1.42ppb	6.75ppb	2ppm ⁶	4ppm ⁶	1.42ppb	6.75ppb
07	DDE: 2,67 ppb	21ppb	300ppb	1.42ppb	6.75ppb	2ppm ⁶	4ppm ⁶	1.42ppb	6.75ppb
08	γ BHC: 11,12 ppb	1ppb	20ppb	0.94ppb	1.38ppb	-	-	0.94ppb	1.38ppb
	DDE: < LOQ	21ppb	300ppb	1.42ppb	6.75ppb	2ppm ⁶	4ppm ⁶	1.42ppb	6.75ppb
10	γ BHC: < LOQ	1ppb	20ppb	0.94ppb	1.38ppb	-	-	0.94ppb	1.38ppb
11	γ BHC: 0,90 ppb	1ppb	20ppb	0.94ppb	1.38ppb	-	-	0.94ppb	1.38ppb
12	γ BHC: 2,42 ppb	1ppb	20ppb	0.94ppb	1.38ppb	-	-	0.94ppb	1.38ppb
13	γ BHC: 6,37ppb	1ppb	20ppb	0.94ppb	1.38ppb	-	-	0.94ppb	1.38ppb

1. Valor de Prevenção (VP) – é a concentração de determinada substância, acima da qual podem ocorrer alterações prejudiciais à qualidade do solo e da água subterrânea. Este valor indica a qualidade de um solo capaz de sustentar as suas funções primárias, protegendo-se os receptores ecológicos e a qualidade das águas subterrâneas. Foi determinado para o solo com base em ensaios com receptores ecológicos. Deve ser utilizado para disciplinar a introdução de substâncias no solo e, quando ultrapassado, a continuidade da atividade será submetida a nova avaliação, devendo os responsáveis legais pela introdução das cargas poluentes proceder o monitoramento dos impactos decorrentes.

2. Valor de Intervenção (VI) – é a concentração de determinada substância no solo ou na água subterrânea acima da qual existem riscos potenciais, diretos ou indiretos, à saúde humana, considerado um cenário de exposição genérico. Para o solo, foi calculado utilizando-se procedimento de avaliação de risco à saúde humana para cenários de exposição Agrícola-Área de Proteção Máxima – APM_{Max}, Residencial e Industrial. Para a água subterrânea, considerou-se como valores de intervenção as concentrações que causam risco à saúde humana listadas na Portaria 518, de 26 de março de 2004, do Ministério da Saúde - MS, complementada com os padrões de potabilidade do Guia da Organização Mundial de Saúde - OMS de 2004, ou calculados segundo adaptação da metodologia da OMS utilizada na derivação destes padrões. Em caso de alteração dos padrões da Portaria 518 do MS, os valores de intervenção para águas subterrâneas serão conseqüentemente alterados. A área será classificada como Área Contaminada sob Investigação quando houver constatação da presença de contaminantes no solo ou na água subterrânea em concentrações acima dos Valores de Intervenção, indicando a necessidade de ações para resguardar os receptores de risco.

3. Nível 1: limiar abaixo do qual prevê-se baixa probabilidade de efeitos adversos à biota; Nível 2: limiar acima do qual prevê-se um provável efeito adverso à biota

4. Valor de alerta (T): Indica que já ocorreu uma certa alteração que diminuiu, ainda que pouco, as propriedades funcionais do solo, sendo necessária uma investigação detalhada na área para quantificação dessa alteração; Valor de intervenção (I): indica um nível de qualidade do solo acima do qual existem riscos para a saúde humana e para o ambiente. A ultrapassagem desse valor (média) em um volume de solo de 25 m³ ou em 100 m³ de água subterrânea, indica a necessidade de implementação na área avaliada de ações voltadas para a sua remediação.

5. SQG: Sediment Quality Guideline, concentrações numéricas que são definidas com a intenção de proteger todas as formas de vida aquática e todos os aspectos de seu ciclo de vida aquática durante um período indefinido de exposição associada com sedimentos. ISQG: Interim Sediment Quality Guideline, são derivados do SQG e determinados quando os dados para confecção dos SGQs são disponíveis mas limitados. PEL: Probably Effect Level, concentração a partir da qual provavelmente proporcionará efeito as formas de vida aquática ou aos aspectos de seu ciclo de vida aquática durante um período indefinido de exposição associada com sedimentos.

6. Somatória de DDT; DDD e DDE; e somatória de Alfa, Beta, Gama e Delta BHC.

Figura 41. Cromatograma dos íons selecionados (SIM) indicando a presença de BHC no ponto de amostragem 01 (γ BHC: 2,29 ppb).

Figura 42. Cromatograma íons selecionados (SIM) indicando a presença de BHC no ponto de amostragem 04 (γ BHC: < LOQ).

Figura 43. Cromatograma íons selecionados (SIM) indicando a presença de DDE no ponto de amostragem 05 (DDE: 3,88 ppb).

Figura 44. Cromatograma íons selecionados (SIM) indicando a presença de Heptachlor Epoxido no ponto de amostragem 05 (Heptachlor Epoxido: < LOQ).

Figura 45. Cromatograma íons selecionados (SIM) indicando a presença de DDE no ponto de amostragem 06 (DDE: 0,51 ppb).

Figura 46. Cromatograma íons selecionados (SIM) indicando a presença de DDE no ponto de amostragem 07 (DDE: 2,67 ppb).

Figura 47. Cromatograma íons selecionados (SIM) indicando a presença de BHC no ponto de amostragem 08 (γ BHC: 11,12 ppb).

Figura 48. Cromatograma íons selecionados (SIM) indicando a presença de DDE no ponto de amostragem 08 (DDE: < LOQ).

Figura 49. Cromatograma íons selecionados (SIM) indicando a presença de BHC no ponto de amostragem 10 (γ BHC: < LOQ).

Figura 50. Cromatograma íons selecionados (SIM) indicando a presença de BHC no ponto de amostragem 11 (γ BHC: 0,90 ppb).

Figura 51. Cromatograma íons selecionados (SIM) indicando a presença de BHC no ponto de amostragem 12 (γ BHC: 2,42 ppb).

Figura 52. Cromatograma íons selecionados (SIM) indicando a presença de BHC no ponto de amostragem 13 (γ BHC: 6,37 ppb).

Nos resultados obtidos, não foi calculado a incerteza, uma vez que durante a validação da metodologia a tolerância da exatidão recomendada por diferentes literaturas como sendo menor que 20% (EPA, 2006; ANVISA, 2003), atende a tolerância das incertezas obtidas para os compostos DDE ($\pm 0,71\text{ppb}$ para uma solução à 5ppb, ou seja, $\pm 14,2\%$) e γ BHC ($\pm 0,85\text{ppb}$ para uma solução à 5ppb, ou seja, $\pm 17,0\%$).

Os resultados positivos para os compostos analisados em diferentes pontos de amostragem foram apresentados na Tabela 25. Nesta mesma tabela, estes resultados foram comparados com os limites de tolerância presentes em diferentes legislações. Das legislações utilizadas, a legislação canadense (CCME, 2002) pode ser considerada a mais recomendada, uma vez que estabelece limites de tolerância especificamente para sedimento. Esta, muito provavelmente, tenha sido utilizada para a confecção do CONAMA 344 (CONAMA, 2004) que estabelece limites de tolerância para qualidade do sedimento dragado em águas brasileiras.

Com os resultados obtidos podemos identificar que os pontos de amostragem 1; 8; 12; e 13 apresentaram valores de γ BHC acima dos limites de PEL os quais, segundo a legislação canadense, indicam que estão em concentração a qual, provavelmente, proporcionará efeito nas formas de vida aquática ou aos aspectos de seu ciclo de vida aquática durante um período indefinido de exposição associada com sedimentos.

Os pontos 5 e 7 apresentaram valores de DDE acima do ISQG, os quais, segundo a legislação canadense, indicam que estão acima das concentrações numéricas as quais são definidas com a intenção de proteger todas as formas de vida aquática e todos os aspectos de seu ciclo de vida aquática durante um período indefinido de exposição associada com sedimentos.

Os pontos 4, 10 e 11 indicaram a presença de γ BHC; os pontos 6 e 8 a presença de DDE e o ponto 5 de Heptaclor Epóxido. No entanto, todos estes valores se encontraram abaixo dos limites de ISQG.

Com relação aos pontos de amostragem que apresentaram valores mais altos com maior potencial de toxicidade, ou seja, acima dos limites de PEL, o ponto de amostragem 1 se encontra a jusante da antiga empresa Shell Brasil S.A. enquanto os pontos 8; 12 e 13 se encontram exatamente a frente do terreno da empresa. O ponto 8, o qual apresentou maior concentração de γ BHC, apresentou a peculiaridade de próximo ao local amostrado existir a presença de um peixe morto, conforme indicado na Figura 35.

Estes resultados demonstram que os compostos γ BHC e DDE se encontram em concentrações as quais podem proporcionar efeitos às formas de vida aquática, de acordo com a legislação canadense adotada (CCME, 2002).

O composto DDE é formado pela perda de uma molécula de HCl, por degradação biológica ou ambiental, do DDT. Este composto é ainda mais resistente à degradação e, por este motivo, pode servir como indicador de contaminações antigas por DDT (D'Amato; et al., 2002).

Os isômeros do BHC têm a característica de serem mais solúveis em água e mais voláteis que os demais pesticidas organoclorados. Entre estes isômeros, o γ BHC apresenta a peculiaridade de ser o mais solúvel, o que demonstra sua grande mobilidade. Durante o processo de fabricação do γ BHC, o isômero o qual é efetivo como inseticida, também são formados outros três isômeros, obtendo uma mistura com as seguintes concentrações médias: α BHC = 67-70%; β BHC = 5-6%; γ BHC = 13%; δ BHC = 6% (Concha-Grana; et al., 2006).

Devido às características do DDE é possível afirmar que sua presença indica uma contaminação antiga por DDT. Em relação às características do γ BHC, é possível afirmar que, devido ao fato de não ter sido encontrado outros isômeros de BHC, muito provavelmente a sua presença deve ser oriunda de uma contaminação mais afastada que levou o γ BHC a se separar de seus isômeros.

Conforme planejado foi possível então diagnosticar a contaminação por pesticidas organoclorados no Rio Atibaia, principalmente próximo a uma região com um caso público de contaminação. Uma vez que os resultados mostraram uma contaminação antiga, indicado pelo DDE e com uma fonte contaminante mais afastada, indicado pelo γ BHC, seria

necessário mais estudos com um volume maior de amostras para poder evidenciar a rota destes contaminantes.

7. Conclusões

O objetivo principal desta etapa do trabalho foi, além de testar a metodologia de diagnóstico ambiental (desenvolvida no Capítulo II) e a metodologia analítica (desenvolvida no Capítulo III) em uma situação real, de também gerar informações quanto a possível contaminação por pesticidas organoclorados no Rio Atibaia próxima à região do Bairro Recanto dos Pássaros em Paulínia.

Quanto aos objetivos traçados os seguintes resultados foram atingidos:

1. Testar a metodologia para diagnóstico ambiental – Foi possível sistematizar, de acordo com a metodologia desenvolvida, toda a execução do diagnóstico ambiental. Apesar de ser um diagnóstico pequeno, o qual foi aplicado em uma região específica, para análise de apenas uma matriz e uma classe de compostos, o que gerou um volume menor de controles tanto referente à Gestão Ambiental quanto a Gestão da Qualidade, foi possível testar, na prática, a metodologia desenvolvida. Isto resultou em

um diagnóstico bem planejado, embasado em normas internacionais oferecendo assim confiabilidade e precisão nos resultados.

2. Testar a metodologia analítica para análise de pesticidas organoclorados em sedimento através de HS/SPME-GC/MS – Foi possível evidenciar a eficiência da metodologia desenvolvida para análise de amostras reais, uma vez que foi possível identificar diferentes pesticidas organoclorados em diferentes amostras em baixas concentrações.

3. Diagnóstico da possível contaminação do Rio Atibaia por pesticidas organoclorados próximo ao Bairro Recanto dos Pássaros – Foi possível identificar que pelo menos dois pesticidas organoclorados (γ BHC e DDE) se encontraram em concentrações que, segundo legislação canadense (CCME, 2002), podem proporcionar efeitos as formas de vida aquática. Devido as características do DDE, sua presença indica uma contaminação passada por DDT e devido as características do γ BHC, sua presença e a ausência de seus isômeros, indica uma fonte de contaminação mais afastada.

Capítulo V

Conclusão Geral

Este trabalho foi dividido em diferentes Capítulos, os quais apresentavam objetivos específicos. Os resultados de cada um foi discutido no item conclusão, de cada Capítulo.

No Capítulo II foi desenvolvida uma sistemática organizada e seqüencial utilizando conceitos de sistemas “ISO” com o objetivo de orientar a realização de um diagnóstico ambiental que apresente conceitos bem fundamentados sobre Gestão de Qualidade e Gestão Ambiental, visando retratar a realidade da área de estudo, apresentando qualidade dos resultados e com os devidos controles ambientais.

Já no capítulo III foi desenvolvida, otimizada e validada uma metodologia analítica para análise de organoclorados em sedimento.

O objetivo do Capítulo IV foi de aplicar, na prática, o produto desenvolvido nos dois capítulos anteriores, ou seja, a metodologia para diagnóstico ambiental de áreas contaminadas juntamente com a metodologia analítica para análise de organoclorados em sedimento, com o objetivo de verificar a funcionalidade prática destas metodologias.

Desta maneira, ao avaliar a metodologia para análise de organoclorados em sedimento, esta se mostrou adequada não só pelos resultados de sua validação, mas também através dos resultados aplicados, uma vez que foi possível identificar concentrações muito baixas de pesticidas organoclorados em sedimento do Rio Atibaia.

Quanto a metodologia para diagnóstico ambiental de áreas contaminadas, apesar de ser aplicada em um diagnóstico pequeno, de

uma região específica para apenas um tipo de matriz e uma classe de pesticidas, gerando um menor volume de controles, foi possível obter um diagnóstico bem planejado embasado em normas internacionais oferecendo assim confiabilidade e precisão nos resultados.

Finalmente quanto ao resultado do diagnóstico, foi possível indicar a presença de dois pesticidas organoclorados (γ BHC e DDE) acima dos limites os quais podem proporcionar efeitos às formas de vida aquática, de acordo com a legislação canadense (CCME, 2002). Os resultados também indicaram que se trata de uma antiga contaminação por DDT, devido ao fato do DDE ser um produto estável de degradação do DDT e com uma possível fonte de contaminação afastada para o γ BHC, devido ao fato de ser indicada a presença de γ BHC e a ausência de seus isômeros.

Com base nos resultados apresentados nas conclusões de cada capítulo e resumidos neste último Capítulo, é possível então afirmar que foram atingidos plenamente todos os objetivos estabelecidos para este trabalho.

Referências Bibliográficas

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **NBR ISO/IEC 17025**: Requisitos Gerais para Competência de Laboratórios de Ensaio e Calibração. Rio de Janeiro, 2001. 20 p.

ALMEIDA, F. V. **Bases técnico científicas para o desenvolvimento de critérios de qualidade de sedimentos referentes a compostos orgânicos persistentes**. 2003. 114 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química, Universidade de Campinas, Campinas, 2003.

ALPENDURADA, M. F. Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 889, p. 3-14, 2000.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003 – Guia Para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos**. 2003. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm>. Acesso em: 12 maio 2006.

BELTRAN, J.; LÓPEZ, F.J.; HERNÁNDEZ, F. Solid-Phase microextraction in pesticide residue analysis – Review. **Journal of Chromatography A**, v. 885, p. 389-404, 2000.

BERRIDGE, J.C. **Techniques for the Automated Optmization of HPLC Separations**: catálogo. New York: John Wiley, 1985. 203 p.

CAMPOS, F.C.; SOUZA, A.J. **Contaminação do Site Shell**. Paulínia: Secretaria da Saúde, 2001. 96p.

CASTRO, J.; SÁNCHEZ-BRUNETE, C.; TADEO, J.L. Multiresidue analysis of insecticides in soil by gas chromatography with electron-capture detection and confirmation by gás chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 918, p. 371-380, 2001.

CANADIAN CONCIL OF MINISTERS OF THE ENVIRONMENT (CCME). **Canadian Sediment Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life**. 2002. Disponível em: <http://www.ccme.ca/assets/pdf/sedqg_summary_table.pdf>. Acesso em: 13 abr. 2006.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). **Lista holandesa de valores de qualidade do solo e da água subterrânea – Valores STI**. 1999. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/areas_contaminadas/anexos/download/6530.pdf>. Acesso em: 12 abr. 2006.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). **Manual de gerenciamento de áreas contaminadas**. 2. ed. 2001. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/areas_contaminadas/manual.asp>. Acesso em: 22 mar. 2006.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). **Relatório da Qualidade das águas Interiores do Estado de São Paulo**. 2005. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/relatorios/rios/rel_aguas_int_2005/el_aguas_int_2005.zip> . Acesso em: 26 set. 2006.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). **Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo**. 2005. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/relatorios/tabela_valores_2005.pdf>. Acesso em: 12 abr. 2006.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL (CETESB). **Relação de Áreas Contaminadas no Estado de São Paulo**. 2006. Disponível em <http://www.cetesb.sp.gov.br/Solo/relatorios/areas_cont_munic_mai_06.zip>. Acesso em: 05 out. 2006.

COMITÊ DAS BACIAS HIDROGRÁFICAS DOS RIOS PIRACICABA, CAPIVARI E JUNDIAÍ (PCJ). **Relatório da situação dos recursos hídricos da Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos 5 (UGRHI 5):** Item 4 – Síntese e recomendações. 2000. Disponível em: <<http://www.sigrh.sp.gov.br/sigrh/ftp/relatorios/CRH/CBH-PCJ/pcj4.pdf>>. Acesso em: 22 mar. 2004.

CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE (CONAMA). **Resolução Conama 20 de 30/07/86**. 1986. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res86/res2086.html>>. Acesso em: 22 mar. 2006.

CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE (CONAMA). **Resolução número 357 de 17 de Março de 2005**. 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em: 26 maio 2006.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). **Resolução Nº 344 de 25 de Março de 2004**. 2004. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res04/res34404.xml>>. Acesso em: 12 abr. 2006.

CONCHA-GRANA, E.; TURNÊS-CAROU, M.I.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; PRADA-RODRÍGUEZ, D.; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, E. Evaluation of HCH isomers and metabolites in soils, lechates, river water and sediments of a highly contaminated area. **Chemosphere**, v. 64, p. 588-595, 2006.

COVACI, A.; HURA, C.; SCHEPENS, P. Selected persistent organochlorine pollutants in Romania. **The Science of the Total Environment**, v. 280, p. 143-152, 2001.

CRUMBLING, D.M.; GROENJES, C.; LESNIK, B.; LYNCH, K.; SHOCKLEY, J.; VANN, J.; HOWE, R.; KEITH, L.; MCKENNA, J. Managing uncertainty in environmental decisions. **Environmental Science & Technology**. v. 35, n. 19, p. 405A-409A, 2001.

CRUMBLING, D.M.; LESNIK, B. **The relation between SW-846, PBMS, and innovative analytical technologies**. 2001. Disponível em: <<http://www.clu-in.org/download/char/sw-846.pdf>>. Acesso em: 23 mar. 2006.

CRUMBLING, D. M. **In search of representativeness**: Evolving the environmental data quality model. 2002. Disponível em: <<http://www.clu-in.org/download/char/dataquality/dcrumbling.pdf>>. Acesso em: 22 mar. 2006.

D'AMATO, C.; TORRES, J.P.M.; MALM, O. DDT (Dicloro Difenil Tricloroetano): Toxicidade e Contaminação Ambiental – Uma Revisão. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 995-1002, 2002.

DOONG, R.; LIAO, P. Determination of organochlorine pesticides and their metabolites in soil sample using headspace solid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 918, p. 177-188, 2001.

DOONG, R.; LIAO, P. Determination of organochlorine pesticides and their metabolites in soil sample using headspace solid-phase microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 918, p. 177-188, 2001.

DOONG, R.; PENG, C.; SUN, Y.; LIAO, P. Composition and distribution of organochlorine pesticide residues in surface sediments from the Wu-Shi River estuary, Taiwan. **Marine Pollution Bulletin**, v. 45, p. 246-253, 2002.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). **Soil Sampling Quality Assurance User's Guide – EPA 600/8-89/046**. 1989. Disponível em: <<http://clu-in.org/download/char/soilsamp.pdf>>. Acesso em: 31 out. 2006.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). **Method 8081A - Organochlorine Pesticides by Gas Chromatography. Revision 1.** 1996. Disponível em: <<http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/pdfs/8081a.pdf>>. Acesso em: 09 mar. 2006.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). **Guidelines for Ecological Risk Assessment. U.S. Environmental Protection Agency, Risk Assessment Forum, Washington, DC, EPA/630/R095/002F.** 1998. Disponível em: <http://oaspub.epa.gov/eims/eimscomm.getfile?p_download_id=36512>. Acesso em: 23 mar. 2006.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). **Method 8270d - Semivolatile Organic Compounds By Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS). Revision 4.** 1998. Disponível em: <<http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/pdfs/8270d.pdf>>. Acesso em: 23 mar. 2006.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). **Cleaning Up the Nation's Waste Sites: Markets and Technology Trends (2004 Edition).** 2004. Disponível em <<http://www.clu-in.org/market/>>. Acesso em: 09 mar. 2006.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). **Guidance for Methods Development and Methods Validation for the RCRA Program – Phase 2: Formal Validation.** 2006. Disponível em: <<http://www.epa.gov/SW-846/pdfs/methdev.pdf>>. Acesso em: 12 maio 2006.

EUROPEAN ENVIRONMENT AGENCY. **Europe's Environment: The Third Assessment.** 2002. Disponível em: <http://reports.eea.eu.int/environmental_assessment_report_2003_10/en/kiev_eea_low.pdf>. Acesso em: 09 mar. 2006.

FATOKI, O.S.; AWOFOLO, R.O. Methods for selective determination of persistent organochlorine pesticide residues in water and sediments by capillary gas chromatography and electron capture detection. **Journal of Chromatography A**, v. 983, p. 225-236, 2003.

EXAME feito pela USP aponta presença de pesticidas em 120 moradores. Folha de São Paulo, São Paulo, 02 ag. 2002. Disponível em: <<http://www1.folha.uol.com.br/fsp/cotidian/ff0208200210.htm>>. Acesso em: 30 mar. 2006.

APÓS 14 meses, Shell acerta indenizações. Folha de São Paulo, 20 fev. 2003. Disponível em: <<http://www1.folha.uol.com.br/fsp/cotidian/ff2002200336.htm>>. Acesso em: 30 mar. 2006.

FALTA de barreira pode permitir a infiltração de pesticidas em Paulínia. Folha de São Paulo, 30 jun. 2004. Disponível em: <<http://www1.folha.uol.com.br/fsp/cotidian/ff3006200439.htm>>. Acesso em: 30 mar. 2006.

SHELL vai descontaminar bairro até 2014. Folha de São Paulo, 12 jul. 2004. Disponível em: <<http://www1.folha.uol.com.br/fsp/cotidian/ff1207200413.htm>>. Acesso em: 30 mar. 2006.

HAIR, J.F.; BLACK, B.; BABIN, B.; ANDERSON, R.E.; TATHAM, R.L. **Multivariate Data Analysis**. New Jersey: Prentice Hall, 1998. 237p.

LAABS, V.; AMELUNG, W.; PINTO, A.; WANTZEN, M.; SILVA, C.; ZECH, W. Pesticides in Surface Water, Sediment, and Rainfall of the Northeastern Pantanal Basin, Brazil. **Journal of Environmental Quality**. v. 31, p. 1636-1648, 2002.

LANÇAS, F.M. **Cromatografia em Fase Gasosa**. São Carlos: Editora Acta Eventos, 1993. 240p.

LANÇAS, F.M. **Validação de Métodos Cromatográficos de Análise**. São Carlos: Editora Rima, 2004. 46p.

LANDIM, P.M.B. **Análise estatística de dados geológicos multivariados**. Rio Claro: Lab. Geomatemática, DGA, IGCE, UNESP, 2000. 128p. (Texto Didático, 3). Disponível em: <<http://www.rc.unesp.br/igce/aplicada/textodi.html>>. Acesso em: 22 mar. 2006.

LEITE, F. **Amostragem fora e dentro do laboratório**. Campinas: Editora Átomo, 2005. 98p.

LESNIK, B. **My vision of the organic environmental laboratory in the 21st century**. Washington: USEPA – Office of Solid Waste, 2003. Disponível em: <www.clu-in.org/download/char/barryvision> Acesso em: 09 mar. 2006.

LI, H.; LI, G.; JEN, J. Determination of organochlorine pesticides in water using microwave assisted headspace solid-phase microextraction and gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1012, p. 129-137, 2003.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Instrução Normativa Nº 46, DE 10 DE JUNHO DE 2003 - Regulamento Técnico Mercosul sobre Critérios para Validação de Métodos Analíticos**. 2003. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2255>>. Acesso em: 12 maio 2006.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Portaria Nº 329, DE 02 DE SETEMBRO DE 1985**. 1985. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=7321>>. Acesso em: 08 jun. 2006.

OLIVARES, I.R.B. **Gestão de Qualidade em Laboratórios**. Campinas: Editora Átomo, 2006. 101 p.

PATONAY, G. **HPLC Detection: newer methods**. Portland: VHC, 1992. 236 p.

RICHTER, P.; SEPÚLVEDA, B.; OLIVA, R.; CALDERÓN, K.; SEGUEL, R.. Screening and determination of pesticides in soil using continuous sub critical water extraction and gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 994, p. 169-177, 2003.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE METROLOGIA (SBM). **Primeira Edição Brasileira do Guia EURACHEM/CITAC: determinando a incerteza de medição em química analítica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Metrologia, 2000. 158p.

SILVA, J.X.; SOUZA, M. **Análise ambiental**. Rio de Janeiro: Editora da UFRJ, 1987. 114p.

SMITH, R.M. **Gas and Liquid Chromatography in Analytical Chemistry**. New York: John Willey, 1988. 402 p.

SUGUIO, K. **Introdução à sedimentologia**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1973. 317 p.

VALCO Instruments. Disponível em: <<http://www.valco.com>>. Acesso em: 29 ago. 2006.

VASSILIEFF, I.; GUERREIRO, C.R. **1º Relatório da Avaliação do Impacto na Saúde dos Moradores do Recanto dos Pássaros, Referente a Contaminação Ambiental do Antigo Site da Shell – Química – Município de Paulínia – SP – Br.** Paulínia: Secretaria da Saúde, 2001. 26p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Organochlorine:** manual of pesticide poisoning. 2006. Disponível em:
<<http://www.wpro.who.int/hse/pages/organochlorines.html>>. Acesso em: 29 ago. 2006.