INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia Associada à Universidade de São Paulo

**Avaliação de HPAs nas águas subterrâneas e superficiais da área de instalação
do Reator Multipropósito Brasileiro – RMB**

KAROLINE DE PAULA PEREIRA

**Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do Grau de
Mestre em Ciências na Área
de Tecnologia Nuclear - Materiais**

**Orientadora:
Profa. Dra. Marycel Elena Barboza Cotrim**

**São Paulo
2019**

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia Associada à Universidade de São Paulo

**Avaliação de HPAs nas águas subterrâneas e superficiais da área de
instalação do Reator Multipropósito Brasileiro – RMB**

Versão Corrigida

Versão Original disponível no IPEN

KAROLINE DE PAULA PEREIRA

**Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do Grau de
Mestre em Ciências na Área
de Tecnologia Nuclear - Materiais**

Orientadora:

Profa. Dra. Marycel E. Barboza Cotrim

**São Paulo
2019**

Fonte de Financiamento: CNPq (Processo 134153/2016-2) - bolsa

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho,
para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte

Como citar:

PEREIRA, K. P. ***Avaliação de HPAs nas águas subterrâneas e superficiais da área de instalação do Reator Multipropósito brasileiro – RMB***. 2019. 178 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN/SP, São Paulo. Disponível em: <www.teses.usp.br>
(data de consulta no formato: dd/mm/aaaa)

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de geração automática da Biblioteca IPEN/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Pereira, Karoline de Paula
Avaliação de HPAs nas águas subterrâneas e superficiais da
área de instalação do Reator Multipropósito brasileiro – RMB /
Karoline de Paula Pereira; orientadora Marycel Elena Barboza
Cotrim. -- São Paulo, 2019.
178 p.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em
Tecnologia Nuclear (Materiais) -- Instituto de Pesquisas
Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2019.

1. HPA. 2. avaliação ambiental. 3. validação. 4. RMB. I.
Cotrim, Marycel Elena Barboza, orient. II. Título.

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos pais, Maria de Fátima e Osvaldo (in memoriam), com todo meu amor e gratidão.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela oportunidade, saúde, sabedoria, serenidade e força para vencer todas as dificuldades. Sem Ele, eu nada seria.

Ao meu pai Osvaldo Bernardo Pereira in memoriam, por todo seu amor, por ter me criado para ser uma mulher forte, íntegra e honesta, por ter acreditado em mim e investido na minha educação, tenho a certeza que ele estaria orgulhoso.

À minha mãe Maria de Fátima Pereira, o meu maior exemplo. Sou eternamente grata por todo o seu amor, carinho, atenção, por toda educação que me deu, por ter me ensinado sempre ser uma pessoa melhor.

À minha irmã Kátia Abdul Nour e meu sobrinho Patrick Pereira, pela amizade, companheirismo e incentivo.

À minha orientadora, Dra. Marycel E. B. Cotrim pelas preciosas contribuições e apoio no desenvolvimento desta dissertação, principalmente pela confiança depositada em mim.

À Dra. Elaine Arantes Jardim Martins, pelos ensinamentos e apoio, desde a Iniciação Científica até o presente momento. Gratidão, pela sua amizade, paciência, carinho, por ser sempre solícita todos os momentos em que precisei.

Ao meu professor e amigo, Dr. Carlos Fernando de Brito pelo imenso apoio desde a graduação, cumplicidade e pelos valiosos ensinamentos tanto acadêmicos quanto valores pessoais.

Ao Dr. Hélio Akira Furusawa, pelo auxílio e valiosas sugestões quanto à validação do método.

Aos amigos Sr. Namir de Souza Viera e Sr. Elenísio Santana Fonseca do centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear, CDTN-MG, um especial agradecimento pelo grande auxílio prestado durante o período de coleta e pelos momentos de descontração. À Dra. Sueli da Silva Peres, Carlos Henrique Romeiro, Karina Seabra do Instituto de Radioproteção e Dosimetria (IRD-RJ), ao Renato França, ao Msc. Leslie Molnary e ao motorista Antônio de Souza do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN/CNEN-SP), pelo auxílio durante as campanhas de coleta.

Aos meus preciosos amigos que Deus me presenteou Bárbara Paixão, Paulo Ferreira, Rayssa Silva e Nathália Cibeles, por todo apoio, por cada palavra de ânimo e pela amizade verdadeira.

Às companheiras de laboratório Larissa Limeira, Gisele Adame e Juliana Carvalho, por todo auxílio prestado e trabalho em conjunto. À Joyce Marques, Maíse Gimenez e Daniel Lebre, por todo suporte no laboratório durante o mestrado e pela troca de conhecimento.

Aos amigos do CQMA, Elias Santana, Marta Maekawa, Neusa, Giovana Gimiliani, Mainara Faustino, Daphne Said, Luciana Santana, Kelme Damasceno, Joana Maziero, Adriana Kuchinski, Sâmia Maracaipe e Tatiane Seixas, pela amizade e por todo suporte prestado quando precisei.

Ao CNPq (Processo 134153/2016-2) pela bolsa concedida durante o período de mestrado.

*Nunca tenha certeza de nada, porque a
sabedoria começa com a dúvida+*

Sigmund Freud

RESUMO

PEREIRA, K.P. **Avaliação de HPAs nas águas subterrâneas e superficiais da área de instalação do Reator Multipropósito brasileiro Ë RMB**. 2018. 178 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN-CNEN/SP. São Paulo.

As atividades a serem realizadas na área do empreendimento RMB (Reator Multipropósito Brasileiro), cujas instalações e infraestrutura agregadas serão localizadas no estado de São Paulo, no município de Iperó, podem envolver a liberação de efluentes para o meio ambiente, seja de forma controlada ou não, do mesmo modo que qualquer outra instalação. Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) estudados neste trabalho apresentam comportamento ubíquo, são considerados compostos químicos com alta toxicidade, persistência no meio ambiente, potencial bioacumulativo e forte tendência de se biomagnificar. O objetivo desse trabalho foi determinar 14 dos 16 HPAs majoritários, classificados pela USEPA, nas amostras de águas superficiais e subterrâneas da área de instalação do RMB e seu entorno. Foram avaliados quatro períodos distintos utilizando uma metodologia já desenvolvida e validada por Brito (2009). Foi verificado o cenário atual em relação às concentrações dos HPAs nas águas da região que será construído o empreendimento, RMB, fornecendo uma visão geral do grau de contaminação ou não dos corpos hídricos, o que contribuirá com um banco de dados para pesquisas futuras. Paralelamente, foi validado e aplicado um método analítico já existente para avaliação de HPAs nos sólidos suspensos da coluna d'água das amostras coletadas. A avaliação preliminar da área estudada demonstrou que o local do projeto RMB é preservado, mas alguns corpos d'água ao redor da área, como o rio Sorocaba, apresentam concentrações significativas de HPAs, provavelmente em razão das atividades antropogênicas no entorno, indicando que a área precisa de uma maior atenção. Utilizando a técnica analítica de HPLC com detecção UV/vis, foram quantificados compostos como Acenaftileno Fluoreno e Fenantreno acima do valor legislado nas amostras de água. Foram observadas baixas concentrações de praticamente todos os compostos estudados no material em suspensão e alguns compostos como Fluoreno, Acenafteno, Acenaftileno e Benzo[b]fluoranteno, em concentrações mais altas, é necessário um programa de monitoramento constante, para que a partir dos dados obtidos, possa-se tomar decisões concisas de controle.

Palavras-chave: HPA; avaliação ambiental; validação; RMB.

ABSTRACT

PEREIRA, K.P. **Evaluation of PAHs in the groundwater and surface waters of the Brazilian's Multipurpose Reactor installation area**. 2018. 178 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN-CNEN/SP. São Paulo.

The activities to be carried out in the area of the RMB (Brazilian Multipurpose Reactor) project, whose aggregate facilities and infrastructure will be located in the state of São Paulo, in the municipality of Iperó, may release effluents into the environment, either in a controlled or not in the same way as any other installation. The polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) studied in this work are ubiquitous and considered chemical compounds with high toxicity, persistence in the environment, bio accumulative potential and strong tendency to bio magnify. The objective of this study was to determine 14 of the 16 major PAHs, classified by the USEPA, in the surface and groundwater samples of the RMB installation area and its surroundings. Four distinct periods were evaluated using a methodology already developed and validated. The current scenario was verified regarding the PAHs concentrations in the waters of the region that will be built the RMB, providing an overview of the degree of contamination of the water bodies, which will contribute to a database for future research. At the same time, an analytical method was validated and applied to evaluate PAHs in the suspended solids of the water column of the collected samples. The preliminary evaluation of the studied area demonstrated that the site of the RMB project is preserved, but some water bodies around the area, such as the Sorocaba River, present significant concentrations of PAHs, probably due to the anthropogenic activities in the surroundings, indicating that the area needs more attention. Using the analytical HPLC technique with UV/vis detection, compounds such as acenaphthylene, fluorene and phenanthrene were quantified above the legislated value in the water samples. Although low concentrations of practically all compounds studied in the suspended material have been observed and some compounds such as fluorene, acenaphthene, acenaphthylene, and benzo[b]fluoranthene at high concentrations, a constant monitoring program is required to that from the data obtained, one can make concise decisions of command and control.

Key words: PAH; environmental evaluation; validation; RMB.

LISTA DE ABREVIATURAS

ACN: Acetonitrila
ADA: Área Diretamente Afetada
AIA: Avaliação de Impacto Ambiental
AID: Área de Influência Direta
AI: Área de Influência Indireta
ANA: Agência Nacional de Águas
ANOVA: Analysis of variance – Análise de Variância
ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATSDR: Agency for Toxic Substances and Disease Registry
CDTN: Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear
CEA: Centro Experimental Aramar
CERCLA: Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act
CETESB: Companhia de Tecnologia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo
CG: Cromatografia gasosa
CLAE: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CNEN: Comissão Nacional de Energia Nuclear
CONAMA: Conselho Nacional do Meio Ambiente
CQMA: Centro de Química e Meio Ambiente (IPEN)
CTMSP: Centro Tecnológico da Marinha em São Paulo
CV: Coeficiente de Variação
D.D.: Decisão de Diretoria
DCM: Diclorometano
DMSO: Dimetilsulfóxido
DNA: Deoxyribonucleic Acid – Ácido Desoxirribonucléico
DP: Desvio Padrão
DPD: Diretoria de Pesquisa e Desenvolvimento
DPR: Desvio Padrão Relativo
EM: Espectrometria de massas
EPA: Environmental Protection Agency - Agência de proteção ambiental
ETA: Estação de Tratamento de Água
ETE: Estação de Tratamento de Esgoto
FLONA: Floresta Nacional
HPA: Hidrocarboneto Policíclico Aromático

HPLC: High Performance Liquid Chromatography – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

IARC: International Agency for Research on Cancer – Agência Internacional para Pesquisas em Câncer

IBAMA: Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ICH: International Conference on Harmonization

ICMBio: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

INMETRO: Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

IPEN: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

IRD: Instituto de Radioproteção e Dosimetria

ISO: International Organization for Standardization – Organização Internacional para Padronização

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

Koc: Coeficiente de partição entre as partículas suspensas e a água

Kow: Coeficiente de partição octanol/água

LAQA: Laboratório de Análises Química e Ambiental

LD: Limite de Detecção

LQ: Limite de Quantificação

LQP: limites de quantificação praticáveis

MPS: Material particulado em suspensão

MRC: Material de Referência Certificado

MS: Ministério da Saúde

NBR: Normas Brasileiras (ABNT)

NCBI: National Center for Biotechnology Information – Centro Nacional de Informação Biotecnológica dos Estados Unidos

NHPA: Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos Nitrogenados

PACTI: Plano de Ação em Ciência Tecnologia e Inovação

PCA: análise de componentes principais

PFD: Detector de Fluorescência

PMRA: Programa de Monitoração Radiológica Ambiental UTM: Universal Transversa de Mercator

POP: Poluente Orgânico Persistente

PTFE: Politetrafluoretileno

QR: Quociente de risco

RMB: Reator Multipropósito Brasileiro

RPM: Rotações Por Minuto

SABESP: Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo

SD: Solução Diluída

SE: Solução Estoque

SI: Sistema internacional

SPE: Solid Phase Extraction – Extração em fase sólida

SPME: microextração em fase sólida

ST: Solução de Trabalho

THF: Tetrahidrofurano

UGRHI: Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos

USEPA: United States Environmental Protection Agency

VMP: Valor Máximo Permitido

WHO: World Health Organization – Organização Mundial da Saúde

ZPE: Zona de Planejamento de Emergência

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Concentrações de HPAs encontradas em diversas matrizes ambientais.....	27
Tabela 2 - Propriedades físico-químicas dos HPAs. Número de anéis aromáticos; Peso molecular; Solubilidade; Pressão de vapor; Constante de Henry; Coeficiente de partição (octanol/água).	29
Tabela 3 - Classificação de HPAs em relação à sua toxicidade segundo a IARC e USEPA.	32
Tabela 4 - Concentração de HPAs em água salobra.....	35
Tabela 5 - Valores referência para água superficial de acordo com CONAMA 357.....	38
Tabela 6. Valores orientadores para água subterrânea segundo o CONAMA 396	39
Tabela 7 - Critérios de aceitação para recuperação segundo o INMETRO (2017)	56
Tabela 8 - Concentrações finais das soluções padrão (em $\mu\text{g mL}^{-1}$), dos 14 HPAs estudados, utilizadas na elaboração das curvas de calibração e nos ensaios de validação da metodologia	88
Tabela 9 - Identificação e descrição dos pontos de coleta	90
Tabela 10 - Resultados para o teste de seletividade (teste F, $n = 7$ e $F_{\text{tabelado } 6,6, 95\%} = 4,28$) e teste t (<i>Student</i> $t_{12, 95\%} = 2,179$) dos 14 HPAs estudados na matriz de material em suspensão	110
Tabela 11 - Resultados obtidos no ensaio com matriz de material em suspensão para o teste t-Student de inclinação e paralelismo e do intercepto. Onde $t_{\text{tabelado}} = 2,179$, considerando 7 graus de liberdade e 95% de confiança.	112
Tabela 12 - Coeficientes de determinação (r^2) e faixa de trabalho das retas obtidos para os 14 HPAs estudados	116
Tabela 13 - Valores obtidos no Teste t-Student para a verificação do desvio da linearidade de cada ponto da curva para os HPAs estudados, com $t_{\text{tabelado}} = 2,365$ para 7 graus de liberdade com 95% de confiança	117
Tabela 14 - Resultado do teste F de regressão e de ajuste, porcentagem de variação explicada e porcentagem máxima variação explicável (ANOVA) para os compostos estudados na matriz de material em suspensão	125
Tabela 15 - Limite de quantificação (LQ) e de Detecção (LD) do método para cada HPA estudado na matriz de material em suspensão	129
Tabela 16 - Valores de z (<i>Score</i>) obtidos para os HPAs estudados no ensaio com matriz de material em suspensão na coluna d'água das amostras coletadas no entorno do RMB.....	130
Tabela 17 - Valores dos limites de repetibilidade (r), limites de reprodutibilidade (R) e Coeficientes de Variação (CV) obtidos para os HPAs estudados no ensaio com matriz de material em suspensão na coluna d'água das amostras coletadas no entorno do RMB em baixas concentrações.....	11
Tabela 18 - Valores dos limites de repetibilidade (r), limites de reprodutibilidade (R) e Coeficientes de Variação (CV) obtidos para os HPAs estudados no ensaio com matriz de material em suspensão na coluna d'água das amostras coletadas no entorno do RMB em concentrações no ponto médio da faixa de trabalho.....	132

Tabela 19 - Valores dos limites de repetibilidade (r), limites de reprodutibilidade (R) e Coeficientes de Variação (CV) obtidos para os HPAs estudados no ensaio com matriz de material em suspensão na coluna d'água das amostras coletadas no entorno do RMB em altas concentrações.	132
Tabela 20 - Resumo dos resultados dos ensaios de recuperação para os HPAs estudados aplicando o método estabelecido, na faixa de concentração baixa..	134
Tabela 21 - Resumo dos resultados dos ensaios de recuperação para os HPAs estudados aplicando o método estabelecido, na faixa de concentração média.	134
Tabela 22 - Resumo dos resultados dos ensaios de recuperação para os HPAs estudados aplicando o método estabelecido, na faixa de concentração alta. ...	135
Tabela 23 - Resultados dos cálculos de incerteza expandida dos compostos estudados em matriz de material em suspensão, considerando-se a faixa de concentração média da curva de calibração.	136
Tabela 24 - Resumo dos resultados dos ensaios de recuperação para os HPAs estudados aplicando o método original para a matriz de água.....	142
Tabela 25 - Resumo dos resultados dos testes de repetitividade, reprodutibilidade e coeficientes de variação (CV %) para os compostos estudados em três níveis de concentração no ensaio para os compostos estudados nos ensaios de revalidação da matriz de águas do entorno do RMB.....	143
Tabela 26 - Resultados das análises das amostras águas e material em suspensão coletadas em outubro de 2016 na área de instalação do RMB e seu entorno...	145
Tabela 27 - Resultados das análises das amostras águas e material em suspensão coletadas em junho de 2017 na área de instalação do RMB e seu entorno	148
Tabela 28 - Resultados das análises das amostras águas e material em suspensão coletadas em outubro de 2017 na área de instalação do RMB e seu entorno...	150
Tabela 29 - Resultados das análises das amostras águas e material em suspensão coletadas em dezembro de 2017 na área de instalação do RMB e seu entorno.	153

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Reações químicas que ocorrem com os HPAs.....	24
Figura 2 - Nomenclatura, estrutura química e classificações toxicológicas dos 14 HPAs estudados neste trabalho, classificados como prioritários pela USEPA.	25
Figura 3 - Esquema resumido da ativação enzimática do Benzo[a]pireno em diol epóxidos, na formação de adutos de DNA.....	34
Figura 4 - Desenho esquemático da extração em cartuchos SPE.....	44
Figura 5 - Diagrama de Causa e Efeito da metodologia aplicada para avaliação dos HPAs em matriz de material em suspensão na coluna d'água.....	58
Figura 6 - Município de Iperó e municípios vizinhos	72
Figura 7 - Terrenos do sítio do RMB em ARAMAR - Iperó.	75
Figura 8 - Áreas de influência da construção do RMB.....	77
Figura 9 - Localização da UGRHI 10 no Estado de São Paulo e suas bacias vizinhas.	78
Figura 10 - Arranjo geral com as estruturas de tratamento de água e esgoto.....	80
Figura 11 - Banho de Ultrassom.	83
Figura 12 - Cuba de extração a vácuo e cartuchos SPE C ₁₈	84
Figura 13 - Cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC) utilizado neste trabalho.....	85
Figura 14 - Sistema de filtração a vácuo utilizando membranas filtrantes PTFE 0,45µm de porosidade.	86
Figura 15 - Preparo de soluções padrões.....	87
Figura 16 - (A) Localização dos pontos de amostragem na área de estudo e (B) localização do ponto SABESP/Sarapuí.....	91
Figura 17 - Fotos da área e do entorno do ponto PC2 (001RMB).....	92
Figura 18 - Fotos da área e do entorno do ponto P6 (002RMB).	93
Figura 19 - Fotos da área e do entorno do ponto P8 (003RMB).....	94
Figura 20 - Fotos da área e do entorno do ponto P7 (004RMB).	95
Figura 21 - Fotos da área e do entorno do ponto IBAMA (006RMB).	96
Figura 22 - Fotos da área e do entorno do ponto PC3-120m (007RMB).....	97
Figura 23 - Fotos da área e do entorno do ponto PC3-130m (008RMB).....	98
Figura 24 - Fluxograma das etapas de determinação de HPAs em amostra de material em suspensão.	101
Figura 25 - Cromatograma da solução mista dos HPAs estudados nas concentrações referentes ao penúltimo ponto da faixa de trabalho estudada.	108
Figura 26 - Representação gráfica da seletividade para os ensaios sem matriz e com matriz de material em suspensão da coluna d'água para os compostos Acenaftileno, Fluoreno, Acenafteno, Fenantreno, Antraceno e Fluoranteno.	113
Figura 27 - Representação gráfica da seletividade para os ensaios sem matriz e com matriz de material em suspensão da coluna d'água para os compostos Pireno, Criseno, Benzo[b]fluoranteno e Benzo[k]fluoranteno.	114

Figura 28 - Representação gráfica da seletividade para os ensaios sem matriz e com matriz de material em suspensão da coluna d'água para os compostos Benzo[k]fluoranteno, Benzo[a]pireno, Dibenzo[a,h]antraceno, Indeno[1,2,3-c,d]Pireno e Benzo[g,h,i]perileno.	115
Figura 29 - Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Acenaftileno, Fluoreno, Acenafteno e Fenantreno.....	119
Figura 30 - Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Antraceno, Fluoranteno, Pireno e Criseno.	120
Figura 31 - Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Benzo[b]fluoranteno, Benzo[k]fluoranteno, Benzo[a]pireno e Dibenzo[a,h]antraceno.....	121
Figura 32 - Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Indeno[1,2,3-c,d]Pireno e Benzo[g,h,i]perileno.....	122
Figura 33 - Representação gráfica da linearidade para os compostos Acenaftileno, Fluoreno, Acenafteno, Fenantreno, Antraceno, Fluoranteno, Pireno e Criseno.	123
Figura 34 - Representação gráfica da linearidade para os compostos Benzo[b]fluoranteno, Benzo[k]fluoranteno, Benzo[a]pireno, Dibenzo[a,h]antraceno, Indeno[1,2,3-c,d]Pireno e Benzo[g,h,i]perileno.....	124
Figura 35 - Gráficos da faixa de intervalo de confiança no ensaio com matriz para os compostos Acenaftileno, Fluoreno, Acenafteno, Fenantreno, Antraceno, Fluoranteno, Pireno e Criseno.	127
Figura 36 - Gráficos da faixa de intervalo de confiança no ensaio com matriz para os compostos Benzo[b]fluoranteno, Benzo[k]fluoranteno, Benzo[a]pireno, Dibenzo[a,h]antraceno, Indeno[1,2,3-c,d]Pireno e Benzo[g,h,i]perileno.	128
Figura 37 - Representação gráfica das incertezas de medição associadas à determinação dos compostos Acenaftileno, Fluoreno e Acenafteno na matriz de material em suspensão, considerando o ponto médio das faixas de trabalho.	137
Figura 38 - Representação gráfica das incertezas de medição associadas à determinação dos compostos Fenantreno, Antraceno e Fluoranteno na matriz de material em suspensão, considerando o ponto médio das faixas de trabalho.	138
Figura 39 - Representação gráfica das incertezas de medição associadas à determinação dos compostos Pireno, Criseno e Benzo[b]fluoranteno na matriz de material em suspensão, considerando o ponto médio das faixas de trabalho.	139
Figura 40 - Representação gráfica das incertezas de medição associadas à determinação dos compostos Benzo[k]fluoranteno, Benzo[a]pireno e Dibenzo[a,h]antraceno na matriz de material em suspensão, considerando o ponto médio das faixas de trabalho.....	140
Figura 41 -Representação gráfica das incertezas de medição associadas à determinação dos compostos Indeno[1,2,3-c,d]Pireno e Benzo[g,h,i]perileno na matriz de material em suspensão, considerando o ponto médio das faixas de trabalho ...	141
Figura 42 - Representação gráfica de todos os resultados de HPAs referentes às 4 campanhas de coleta (outubro/16, junho, outubro e dezembro/17) para amostras de água e material em suspensão dos pontos PC2 e P6 da área do RMB e seu entorno.	155
Figura 43 - Representação gráfica de todos os resultados de HPAs referentes às 4 campanhas de coleta (outubro/16, junho, outubro e dezembro/17) para amostras	

de água e material em suspensão dos pontos P7 e P8 da área do RMB e seu entorno	156
Figura 44 - Representação gráfica de todos os resultados de HPAs referentes às 4 campanhas de coleta (outubro/16, junho, outubro e dezembro/17) para amostras de água e material em suspensão dos pontos P9 e LAGO da área do RMB e seu entorno	157
Figura 45 - Representação gráfica de todos os resultados de HPAs referentes às 4 campanhas de coleta (outubro/16, junho, outubro e dezembro/17) para amostras de água e material em suspensão dos pontos PC3-120m e PC3-130m da área do RMB e seu entorno	158
Figura 46 - Representação gráfica de todos os resultados de HPAs referentes às 4 campanhas de coleta (outubro/16, junho, outubro e dezembro/17) para amostras de água e material em suspensão dos pontos IBAMA e SABESP da área do RMB e seu entorno	159
Figura 47 - Representação gráfica da somatória de HPAs para os pontos PC2, P6 e P7, para as 4 campanhas de coleta (outubro/16, junho, outubro e dezembro/17)...	160
Figura 48 - Representação gráfica da somatória de HPAs para os pontos P8, P9 e LAGO, para as 4 campanhas de coleta (outubro/16, junho, outubro e dezembro/17)...	161
Figura 49 - Representação gráfica da somatória de HPAs para os pontos PC3120m, PC3-130m e córrego IBAMA, para as 4 campanhas de coleta (outubro/16, junho, outubro e dezembro/17).....	162
Figura 50 - Representação gráfica da somatória de HPAs para o ponto SABESP, para as 4 campanhas de coleta (outubro/16, junho, outubro e dezembro/17).....	163
Figura 50 - Resultados da Análise de Cluster para a somatória dos HPAs em água, em material em suspensão material em suspensão na coluna d'água e total, para cada ponto de amostragem, considerando as 4 coletas (outubro/16, junho, outubro e dezembro/17).....	164

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVOS	21
2.1	Objetivos específicos	21
3	REVISÃO DA LITERATURA.....	22
3.1	Embasamento teórico	22
3.1.1	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos.....	22
3.1.2	Legislações vigentes aplicáveis para águas superficiais e águas subterrâneas	38
3.2	Técnica analítica	39
3.2.1	Cromatografia Líquida de alta eficiência (CLAE ou HPLC).....	40
3.2.2	Extração em Fase Sólida por SPE (Solid Phase Extraction)	41
3.2.3	Validação da metodologia analítica para matriz de material suspenso da coluna d'água	44
3.3	Revisão bibliográfica	64
4	ÁREA DE ESTUDO.....	71
4.1	Caracterização geral da área de estudo.....	71
4.1.1	Floresta Nacional de Ipanema	73
4.2	Reator Multipropósito Brasileiro – RMB.....	74
4.3	Áreas influenciadas pelo Reator Multipropósito Brasileiro	76
4.4	Aspectos gerais da bacia hidrográfica do rio Sorocaba e Médio Tietê	77
4.5	Captação de água para o RMB	79
4.5.1	Água superficial.....	81
4.5.2	Águas subterrâneas	81
5	Materiais E Métodos	83
5.1	Equipamentos	83
5.2	Reagentes e soluções.....	87
5.3	Coleta de amostras	88
5.3.1	Descrição dos pontos de coleta	91
5.4	Preparo das amostras de água e material em suspensão	98
5.4.1	Método de extração em fase sólida (SPE) para determinação de HPAs em água ..	99
5.4.2	Método para extração de HPAs em amostras de material em suspensão retido na membrana de filtração	99
5.5	Análise por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)	101
5.6	Validação da metodologia analítica para o material em suspensão	102
5.6.1	Seletividade.....	104
5.6.2	Linearidade e faixa de trabalho.....	104
5.6.3	Limite de detecção (LD)	105

5.6.4	Limite de quantificação (LQ)	105
5.6.5	Exatidão.....	105
5.6.6	Precisão.....	106
5.6.7	Recuperação	106
5.6.8	Estimativa das incertezas de medição.....	106
5.6.9	Revalidação da metodologia analítica para matriz de águas	107
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	108
6.1	Resultados dos testes para validação da metodologia em matriz de material em suspensão	108
6.1.1	Resultados para seletividade	108
6.1.2	Resultados para linearidade	116
6.1.3	Resultados para limites de quantificação (LQ) e detecção (LD).....	129
6.1.4	Resultados para exatidão	129
6.1.5	Resultados para precisão	130
6.1.6	Resultados para recuperação	133
6.1.7	Resultados para estimativa da incerteza de medição	135
6.1.8	Resultados revalidação da metodologia analítica para matriz de águas	141
6.2	Resultados das análises de amostras de águas e material em suspensão	144
6.2.1	Resultados para a coleta realizada em outubro de 2016	144
6.2.2	Resultados para a coleta realizada em junho de 2017	147
6.2.3	Resultados para a coleta realizada em outubro de 2017	149
6.2.4	Resultados para a coleta realizada em dezembro de 2017	152
7	CONCLUSÕES	166
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	167

1 INTRODUÇÃO

A água é um recurso natural imprescindível para a vida dos seres vivos, e desde os primórdios, seu ciclo tem sido eficiente na sustentação da biodiversidade, no bom funcionamento dos ecossistemas terrestres e na sociedade como um todo (TUNDISI *et al.*, 2014).

As águas superficiais, subterrâneas e atmosféricas formam compartimentos bem conhecidos e integrados do ciclo hidrológico. Esses compartimentos possuem algumas distinções em razão de suas propriedades físico-químicas e seus estados, sólido, líquido e vapor (TUNDISI *et al.*, 2014).

Antes do surgimento do ser humano, a água no Planeta Terra era empregada unicamente para o funcionamento dos ecossistemas. O surgimento do ser humano e posteriormente o desenvolvimento da agricultura, especialmente a agricultura irrigada, colaboraram para a apropriação e diversificação dos usos múltiplos das águas superficiais e subterrâneas. Esse novo modo de vida gerou grandes conflitos em razão da disparidade entre disponibilidade e demanda (TUNDISI *et al.*, 2014).

Neste contexto, ao longo dos anos, as atividades humanas foram se desenvolvendo em vários segmentos, juntamente com o crescimento populacional. Esse crescimento trouxe consigo sérios problemas ambientais causados pela ação humana, afetando as águas superficiais e subterrâneas com dejetos poluidores. Em razão disso, verificou-se a necessidade de criar meios de controle para evitar problemas com poluição nos recursos hídricos, tais como, leis que estabelecem as condições e padrões de lançamento de substâncias poluidoras nos corpos d'água e fiscalizações mais efetivas (TIBURTIUS *et al.*, 2004).

Vale ressaltar que poluição é conceituada como qualquer forma de matéria ou energia que possa afetar negativamente os seres humanos e o meio ambiente. Ao associar poluição à matéria e energia, é possível compará-las a grandezas físicas e químicas, capazes de serem medidas e por meio de estudo

serem criados valores de referência, conhecidos atualmente como padrões específicos, que controlam a qualidade das águas (SANCHEZ, 2008).

Com base neste cenário, a construção de uma obra de grande porte, como o Reator Multipropósito Brasileiro (RMB), poderá de alguma maneira influenciar no ambiente do entorno pela ação humana durante e após a construção. Como exemplo, a utilização de máquinas e veículos com motores de exaustão que por meio de combustão incompleta podem emitir substâncias químicas nocivas, como os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos, HPAs, objeto de estudo neste trabalho.

Dentre o grupo dos compostos químicos que mais contribuem para o empobrecimento dos diversos compartimentos dos ecossistemas aquáticos, encontram-se os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos que constituem a matéria orgânica de origem vegetal, animal e subprodutos derivados do petróleo. Esse fato se dá em razão da sua alta persistência e baixa mobilidade, funcionamento pelos quais os HPAs são conduzidos facilmente para o corpo hídrico e por sua estabilidade química ter relação à sua baixa velocidade de degradação (HARISON, 1996; MARTINS, 2001; VANLOON & DUFFY, 2005).

Em pesquisas recentes, os HPAs, hormônios sintéticos, alguns metais e oligoelementos têm sido indicados como tóxicos, possivelmente carcinogênicos e potencialmente causadores de interferência endócrina em animais e seres humanos (OTOMO *et al.*, 2011; BRITO, 2014).

A agência de proteção ambiental (EPA) classificou 16 HPAs como poluentes prioritários e esses compostos foram inseridos também na lista de poluentes orgânicos persistentes (POPs) pela comunidade Europeia em um tratado global assinado na convenção de Estocolmo para a regulamentação dos compostos considerados POPs, em 2001 (BLASCO *et al.*, 2007). Portanto, conhecer as características desses compostos, que são potenciais poluidores, e seu comportamento químico é fundamental para o controle ativo da qualidade da água da região do empreendimento.

Para a área Nuclear, o empreendimento RMB é apontado como um empreendimento estruturante e de arraste tecnológico, e de suma importância para tornar possíveis objetivos estratégicos do país relativo ao programa nuclear brasileiro em auxílio às necessidades da sociedade (MRS, 2013).

O principal objetivo do empreendimento RMB é beneficiar o país com um reator nuclear de pesquisa para contribuir com o fim da forte dependência de radioisótopos de outros países. Possibilitando assim que o Brasil produza a maior parte dos radioisótopos que necessita para aplicação na área da saúde, agricultura, indústria e meio ambiente (MRS, 2013).

As atividades que serão realizadas na área do empreendimento RMB envolvem a liberação de efluentes para o meio ambiente, seja de forma controlada ou não, do mesmo modo que qualquer outra instalação. Com o aumento da ação humana durante a obra, principalmente o maior fluxo de veículos na região, com certeza, haverá uma maior ocorrência de HPAs, mesmo que em concentrações baixas. Por esse motivo, para que essas substâncias, não poluam os corpos d'água e não alcancem as águas subterrâneas, é imprescindível que se tenha um bom monitoramento (SILVA, 2012).

A metodologia sugerida pela literatura para a determinação dos HPAs consiste em submeter amostras de água à extração em fase sólida utilizando cartuchos SPE, seguida de eluição com mistura THF/Acetona (1:1), concentração em fluxo de N₂ e análise cromatográfica (BRITO *et al.*, 2009; BRITO, 2009).

Neste trabalho foi utilizada a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (*High Performance Liquid Chromatography, HPLC*) acoplado ao detector espectrofotométrico UV/vis. A técnica de HPLC foi escolhida principalmente por ser uma das mais indicadas para analisar compostos termolábeis, propriedade dos HPAs, além de rapidez, baixo custo, uma excelente sensibilidade e seletividade, sendo capaz de obter boa separação dos compostos estudados e boa reprodutibilidade (SUN *et al.*, 1998; YING *et al.*, 2007).

O diagnóstico ambiental e pesquisas são de suma importância para a determinação do nível de contaminação, por estes efluentes que poderão ser gerados na região onde será construído o Reator Multipropósito Brasileiro (RMB). Este estudo verificará o cenário atual em relação às concentrações dos HPAs nas

águas da região em que será construído o empreendimento, fornecendo uma visão geral do grau de contaminação ou não dos corpos hídricos, água superficial e subterrânea, para que possa servir de parâmetro em pesquisas futuras com o mesmo propósito.

2 OBJETIVOS

O principal objetivo deste estudo foi determinar 14 HPAs (Acenaftileno, Fluoreno, Acenafteno, Fenantreno, Antraceno, Fluoranteno, Pireno, Criseno, Benzo[b]fluoranteno, Benzo[k]fluoranteno, Benzo[a]pireno, Dibenzo[a,h]antraceno, Indeno[1,2,3-c,d-Pireno] e Benzo[g,h,i]perileno), que possam estar presentes nas águas subterrâneas e superficiais da área de instalação do Reator Multipropósito Brasileiro – RMB, com o intuito de avaliar o nível de concentração dos compostos estudados antes do início das obras de construção e auxiliar o Programa de Monitoramento Químico Ambiental, PMA-Q.

2.1 Objetivos específicos

1. Determinação das concentrações dos HPAs em água superficial e água subterrânea na região estudada;
2. Validação e aplicação da metodologia analítica já existente para avaliação de HPAs em amostras de material em suspensão da coluna d'água;
3. Avaliação das águas superficiais e subterrâneas da área de instalação do empreendimento RMB, a fim de estabelecer o grau de contaminação dos corpos hídricos no que se refere aos HPAs, que são substâncias tóxicas e de interesse ambiental.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Embasamento teórico

3.1.1 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

No ano de 1775, um cirurgião do hospital St. Bartholomew, em Londres, chamado Sir Percival Pott, constatou pela primeira vez que hidrocarbonetos policíclicos aromáticos possuíam potencial carcinogênico, ao examinar que constantemente limpadores de chaminés desenvolviam câncer escrotal. Pott, ciente dos efeitos nocivos à saúde relacionou o câncer de escroto à fuligem das chaminés (POTT, 1775).

Os médicos Von Volkmann (alemão) e Joseph Bell (escocês), confirmaram quase 100 anos depois a constatação inicial de Sir Percival Pott, relatando muitos casos de cânceres nos trabalhadores da indústria de parafina e do alcatrão da hulha da Alemanha e da Escócia. Em 1907, na Inglaterra, foi inserida a seguinte descrição na lei de reparação de acidentes de trabalho: “Câncer escrotal que ocorre por meio de varreduras de chaminés e câncer epiteliomatoso ou ulceração da pele que ocorre pela utilização e manuseio de compostos de piche e alcatrão da hulha”. A lei de reparação de acidentes de trabalho (*Workmen's compensation act*) tratava de indenização vinculada a um seguro obrigatório que todas as vítimas de acidentes de trabalho, com sequela, que por ventura gerasse a incapacidade de suas funções, tinham direito (VOLKMANN, 1974; BELL, 1976; HENRY, 1947; ANDRIETTA, 2009).

Em 1915, dois pesquisadores japoneses, Yamagiwa e Ichikawa, obtiveram sucesso ao reproduzir o resultado do câncer humano em animais de laboratório, demonstrando que a aplicação repetitiva do alcatrão da hulha na pele da orelha de coelhos lhes causava câncer. Após a primeira reprodução experimental do câncer por Yamagiwa e Ichikawa (1915), o interesse científico mudou o foco para a identificação da natureza dos compostos químicos responsáveis pela doença. Entre as décadas de 1920 e 1930, Sir Ernest Kennaway

e seus colegas de trabalho no Royal Cancer Hospital, em Londres, demonstraram que compostos obtidos do alcatrão da hulha por aquecimento de petróleo, acetileno e isopreno até 700-900° C em atmosfera contendo hidrogênio, tal como o Dibenzo[a,h]antraceno e Benzo[a]pireno eram os causadores de tumores malignos em animais (YAMAGIWA E ICHIKAWA, 1915; YAMAGIWA e ICHIKAWA, 1918).

Estudos realizados entre 1942 e 1952, com extratos de material em suspensão ambiental coletado de fuligem doméstica e extratos de material em suspensão do fenômeno fotoquímico “*smog*” de Los Angeles, apresentaram atividade cancerígena também em animais (LOPES E ANDRADE, 1996).

Na década de 70, foram apontados e reconhecidos o potencial carcinogênico de mais de 30 compostos de HPAs e mais de 100 de seus derivados, tornando-os atualmente uma das maiores classes conhecidas de substâncias químicas prejudicial à saúde. No mesmo ano foi introduzido um método efetivo e de muita sensibilidade para determinar a mutagenicidade de substâncias químicas, empregando bactérias do gênero *Salmonella*. Com intuito de homenagear os autores Ames e colaboradores, ficou conhecido como “ensaio de mutagenicidade Ames-Salmonella” (AMES et. al., 1975)

Neste contexto, é possível verificar que ao longo do tempo, tem se comprovado os efeitos nocivos dos HPAs na saúde humana. Por essa razão, tornou-se de fundamental importância os estudos relacionados na avaliação dos HPAs em diversas matrizes ambientais e biológicas.

Estrutura dos HPAs

Os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos são compostos formados a partir de dois ou mais anéis aromáticos condensados e não se degradam com facilidade, motivo pelo qual podem ser classificados como poluentes orgânicos persistentes com características ubíquas, diferentes estruturas moleculares e níveis de toxicidade (PEREIRA NETTO *et al.*, 2000; ABDEL-SHAFY *et al.*, 2015).

De modo geral, como pode ser observado na Figura 1, as reações químicas que envolvem essas substâncias (HPAs) podem ser classificadas como de substituição (quando um átomo de hidrogênio é trocado por outro elemento ou grupo), ou reação de adição (quando uma dupla ligação é rompida), seguido ou

não de uma reação de eliminação (quando a dupla ligação é regenerada) (LOPES & ANDRADE, 1996).

Figura 1 - Reações químicas que ocorrem com os HPAs

Fonte: Modificado de Lopes & Andrade, 1996.

O processo de adição seguido de eliminação, tem como resultado uma reação de substituição em sua estrutura. Nesse tipo de reação química, moléculas como O_2 , NO_x , HNO_3 , O_3 , H_2SO_4 , SO_2 , e radicais livres, podem se integrar na estrutura dos HPAs transformando-os em seus derivados, nitro e oxi-HPAs. Logo após alteração química, seus derivados NHPAs e OXI-HPAs são transformados em agentes mutagênicos diretos, sendo estes os fundamentais âmbitos de pesquisa de suas atividades biológicas. Vale ressaltar, que os HPAs e seus derivados são encontrados como integrantes de misturas complexas, distribuídos em diversos compartimentos ambientais (LOPES & ANDRADE, 1996).

Apenas 16 dos mais de 100 diferentes HPAs conhecidos, foram classificados pela USEPA como prioritários para monitoramento e destes apenas sete são classificados pela IARC (*International Agency for Research on Cancer*) como carcinogênicos para animais e seres humanos. Na Figura 2 são apresentadas

as estruturas químicas de 14 dos 16 HPAs classificados pela USEPA, os quais foram estudados nesta dissertação de mestrado.

Figura 2 – Nomenclatura, estrutura química e classificações toxicológicas dos 14 HPAs estudados neste trabalho, classificados como prioritários pela USEPA.

Fonte: Adaptado de SILVA, J., 2018.

Fontes dos HPAS

Os poluentes orgânicos estão distribuídos nos diferentes compartimentos ambientais, ou seja, no ar, solo, sedimento e água. Esses compostos possuem afinidade com a matéria orgânica, e tendem a se adsorver nas partículas em suspensão, sedimentos e tecido biológico conforme suas propriedades e condições ambientais, com variados níveis de concentração, de acordo com a sua produção (IARC, 2010).

Os HPAs podem ser produzidos a partir de fontes naturais ou antropogênicas. As fontes naturais mais conhecidas são erupções vulcânicas, incêndios florestais e diagênese do solo (principalmente perileno). Já as fontes antropogênicas são provenientes de combustão incompleta de combustíveis fósseis, incineração de resíduos e operações industriais, como forno de coque e principalmente processos ligados à produção de aço e alumínio.

Em geral, as fontes antropogênicas de HPAs podem ser classificadas como petrogênicas ou pirogênicas, utilizando razões diagnósticas dos HPAs, conhecidas como índices composicionais, com base nas características da composição e distribuição dos compostos de acordo com a fonte de emissão (SOCLO *et al.*, 2000; ZHANG *et al.*, 2004).

Alguns HPAs podem ser obtidos também por processos biológicos, tais como, no tecido de plantas ou introduzidos nas paredes de cupinzeiros como fungicidas naturais. Todavia, esses processos são realizados de modo limitado no meio ambiente (WILCKE *et al.*, 2003 e KRAUSS *et al.*, 2005).

As emissões veiculares podem colaborar com até 35% da introdução de HPAs no meio ambiente em países industrializados. Esses compostos podem ser produzidos também a partir da preparação de alimentos, como as carnes, que são cozidas em altas temperaturas por defumação, assadas ou grelhadas e somente um pequeno número de HPAs é produzido com interesse industrial, dentre eles o Fenantreno, utilizado como intermediário na fabricação de tintas fluorescentes e o Pireno na produção de pigmentos. A lixiviação de produtos de petróleo e carvão, asfalto e creosoto (composto químico utilizado como conservante de madeira),

podem liberar HPAs de elevadas massas moleculares para o ambiente (WHO, 1998; YUNKER *et al.*, 2002).

Os HPAs que possuem 2 a 3 anéis aromáticos em sua estrutura, compostos com baixa massa molecular, geralmente são oriundos de fontes petrogênicas, formados por processos em temperaturas baixas e por meio da maturação da matéria orgânica. No entanto quando são provenientes de fontes pirogênicas, processo onde ocorre a combustão em altas temperaturas e um curto período de tempo, há uma predominância de compostos de 4 a 6 anéis aromáticos (HPAs de alta massa molecular) e menor grau de alquilação (YUNKER *et al.*, 2002).

Apesar de os HPAs serem derivados, sobretudo de processos antropogênicos e, hipoteticamente, existir uma predominância desses compostos em áreas urbanas, podem ser encontrados também em áreas rurais em razão do transporte desses compostos pelas águas superficiais e sob via atmosférica relacionado ao material em suspensão fino, o que possibilita a distribuição desses compostos por uma extensa área, muitas vezes bem distante do local em que foi gerado. As emissões atmosféricas desses poluentes podem ser depositadas por via seca, sob a forma de vapor, partícula, por via úmida, precipitação de maneira dissolvida ou em forma particulada, em ambientes terrestres e aquáticos (GARBAN *et al.*, 2002; ROSE e RIPPEY, 2000; YUNKER *et al.*, 2002, WANG *et al.*, 2001).

Estudos produzidos por Netto e colaboradores (1999) constataram HPAs em diversos compartimentos ambientais, principalmente em plantas e alimentos, como pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1 - Concentrações de HPAs encontradas em diversas matrizes ambientais.

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

Fonte: Adaptado de PEREIRA NETTO, 1999.

Características físico-químicas dos HPAs

O estudo das propriedades químicas e físicas dos poluentes orgânicos é necessário para se obter conhecimento do comportamento desses compostos a fim de verificar a possibilidade de ocorrência e acúmulo desses contaminantes orgânicos em matrizes ambientais. Esse conhecimento contribui significativamente para a compreensão das diferentes concentrações encontradas e diversos compartimentos do ecossistema (ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006).

Os HPAs apresentam altas temperaturas de fusão (80 a 262 °C) e ebulição (218 a 496 °C), baixa pressão de vapor e solubilidade em água (Tabela 2). Sua massa molecular está inversamente relacionada com a solubilidade, que diminui com o aumento de anéis. São compostos quimicamente estáveis, mas suscetíveis à oxidação e foto-degradação e em temperatura ambiente, aproximadamente 25°C, são encontrados na forma sólida (PEREIRA NETTO *et al.*, 2000; MEIRE *et al.*, 2007; VEIGA, 2003; CARUSO *et al.*, 2008). A massa molecular também está inversamente relacionada à pressão de vapor, mas é diretamente proporcional à lipofilicidade e à afinidade pela matéria orgânica, sendo maior também a associação ao sedimento ou material em suspensão e adsorção dos HPAs no plâncton (BARROSO, 2010).

Os HPAs de elevada massa molecular (mais de três anéis benzênicos) são mais tóxicos que os de baixa massa molecular (NGUYEN *et al.*, 2014). Estes HPAs possuem baixo grau de alquilação e os originários de combustão (pirólise) são mais resistentes à ação microbiana, pois são mais facilmente associáveis ao material em suspensão, que funciona como uma proteção à biodegradação bacteriana natural. Sedimentos superficiais podem favorecer mais facilmente a degradação bacteriana de alguns HPAs, principalmente os de baixa massa molecular, dependendo da granulometria, do tipo, da quantidade de carbono orgânico presente, dentre outros fatores (BARROSO, 2010).

Os HPAs de maior massa molecular são mais facilmente encontrados adsorvidos ao material suspenso na coluna d'água ou no sedimento, enquanto HPAs de menor massa molecular são mais biodisponíveis na forma dissolvida. Os compostos mais leves, de até três anéis aromáticos, são mais voláteis e mais

facilmente encontrados na atmosfera em comparação aos de maior massa (PIRES, 2012).

Na Tabela 2 são apresentadas as propriedades físico-químicas dos principais HPAs estudados neste trabalho.

Tabela 2 - Propriedades físico-químicas dos HPAs. Número de anéis aromáticos; Peso molecular; Solubilidade; Pressão de vapor; Constante de Henry; Coeficiente de partição (octanol/água).

HPAs	Número de anéis	PM (g mol ⁻¹)	S (mg L ⁻¹)	PV (Pa)	H (Pa m ³ mol ⁻¹)	Log Kow
Acenaftileno	3	150	16,1	0,9	8,4	4,00
Acenafteno	3	154	3,8	0,3	12,17	3,92
Fluoreno	3	166	1,9	0,09	7,87	4,18
Fenantreno	3	178	1,1	0,02	3,24	4,57
Antraceno	3	178	0,045	0,001	3,96	4,54
Fluoranteno	4	202	0,26	0,00123	1,037	5,22
Pireno	4	202	0,132	0,0006	0,92	5,18
Criseno	4	228	nd	5,70x10 ⁻⁷	0,065	5,86
Benzo[b]fluoranteno	5	252	0,0015	nd	nd	5,80
Benzo[k]fluoranteno	5	252	0,0008	5,20x10 ⁻⁸	0,016	6,00
Benzo[a]pireno	5	252	0,0038	7,00x10 ⁻⁷	0,046	6,04
Dibenzo[a,h]antraceno	5	278	0,0006	3,70x10 ⁻¹⁰	nd	6,75
Indeno[1,2,3-c,d]Pireno	6	278	nd	nd	0,003	nd
Benzo[g,h,i]perileno	6	268	0,00026	nd	0,075	6,50

Fonte: MEIRE *et al.*, 2007.

À medida que a solubilidade dos HPAs diminui em água, aumenta em solventes orgânicos. Esse fator compreende a partição de equilíbrio dos compostos orgânicos não polares (HPAs) entre duas fases termodinamicamente em equilíbrio. Na sua forma mais simples, trata-se da distribuição diferenciada dos HPAs entre o octanol e a água (Kow), que indica o grau de hidrofobicidade dos HPAs, calculada pela razão entre as concentrações dos mesmos nessas duas fases. Inclui também na forma mais completa e complexa, a partição entre a água e o material suspenso nos ambientes aquáticos. Neste caso, o coeficiente de partição se baseia no teor de carbono orgânico, ou seja, o coeficiente de partição entre as partículas suspensas e a água (Koc) (PEREIRA NETTO *et al.*, 2000; ZAGATTO & BERTOLETTI, 2006).

Dessa forma, os HPAs ao apresentarem coeficientes de partição superiores a 100 Kow demonstram grande afinidade lipofílica e para Koc indicam forte tendência de se associar ao carbono orgânico do sedimento por processos de adsorção. Ambos os valores de coeficientes de partição aumentam com o número de anéis aromáticos na molécula e, preferencialmente são encontrados no ecossistema aquático adsorvidos ao material suspenso preexistente na coluna d'água, que tendem a se precipitar, passando a fazer parte dos sedimentos (PEREIRA NETTO *et al.*, 2000).

Toxicidade dos HPAs

Os HPAs são considerados compostos químicos perigosos em razão de sua toxicidade, possuem estrutura química molecular complexa e de difícil ruptura molecular, por isso tornam-se compostos persistentes no meio ambiente. Apresentam potencial bioacumulativo e tendência de biomagnificar, ou seja, aumentar a sua concentração no decorrer da cadeia alimentar (VERHAERT *et al.*, 2017).

Vale ressaltar que os HPAs podem ocasionar consequências adversas ao ecossistema aquático significando um risco ecológico considerável, por meio de sua capacidade de bioacumulação. É importante considerar que os maiores riscos associados à saúde humana, em grande parte, estão ligados à exposição a compostos químicos que possuem alto índice toxicológico e persistência no meio ambiente, isto é, de difícil degradação (CHEN *et al.*, 2005; CORDEIRO, 2006; MANAHAN, 2007). Fazem parte de uma classe de poluentes orgânicos persistentes (POPs), compostos orgânicos potencialmente tóxicos, carcinogênicos e mutagênicos conforme já citado. De acordo com a *International Agency for Research on Cancer* (IARC), pelo menos 12 HPAs são potencialmente cancerígenos ao homem. Segundo a IARC (2010), as substâncias são classificadas em cinco grupos, conforme sua toxicidade.

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

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

Geralmente, a CERCLA-*Priorit List* é retificada a cada dois anos, quando as pontuações e inserção de novas substâncias são revisadas. Desde a elaboração dessa lista de 1997 a USEPA passou a priorizar 16 HPAs em suas pesquisas. Em 2005 a substância estabelecida para o primeiro lugar na lista foi o arsênio, seguido pelo chumbo e mercúrio. Os compostos Benzo[a]pireno e Benzo[b]fluoranteno ficaram, respectivamente, em nono e décimo lugar (ATSDR, 2008).

Na Tabela 3 pode ser observada a classificação dos HPAs estudados neste trabalho de mestrado, de acordo com a IARC e USEPA, quanto à carcinogenicidade.

Tabela 3 - Classificação de HPAs em relação à sua toxicidade segundo a IARC e USEPA.

HPA	* Classificação IARC	** Classificação USEPA
Acenaftileno	Não classificado	P
Acenafteno	Não classificado	P
Fluoreno	3	P
Fenantreno	3	P
Antraceno	3	P
Fluoranteno	3	P
Pireno	3	P
Criseno	3	P
Benzo[b]fluoranteno	2B	P
Benzo[k]fluoranteno	2B	P
Benzo[a]pireno	2 ^a	P
Dibenzo[a,h]antraceno	2 ^a	P
Indeno[1,2,3-c,d]Pireno	2B	P
Benzo[g,h,i]perileno	3	P

Classificação da * IARC: 2A = provavelmente cancerígeno para humanos; 2B = possivelmente cancerígeno para humanos; 3 = não classificado como cancerígeno para humanos.

Classificação pela USEPA: P = prioritário

Fonte: IARC, 2010; USEPA - Guideline Cancer Risk, 1986

Toxicinética dos HPAs

A toxicocinética é o estudo da cinética de absorção, distribuição, metabolização e excreção de xenobióticos e sua resposta tóxica em humanos e animais. Por meio da toxicocinética é possível descrever o comportamento de um xenobiótico no organismo e compreender suas propriedades biológicas e químicas (BEVAN, 1991).

Nas últimas décadas, houve uma progressão significativa no que se diz respeito à compreensão da ação biológica dos HPAs, sendo eles, capazes de atingir a circulação sistêmica por meio de três principais rotas: 1) absorção pelos pulmões pelo transporte através da camada de muco que reveste os brônquios; 2) absorção através do trato gastrointestinal por meio da absorção de compostos lipossolúveis; 3) absorção pela pele (principalmente por difusão passiva) através

do estrato córneo (BUSBEE *et al.*, 1990; YANG *et al.*, 1986; GERDE *et al.*, 1997; EWING *et al.*, 2006).

A metabolização dos HPAs no corpo ocorre na presença do citocromo P- 450 e enzimas relacionadas a diversos metabólitos, como por exemplo, os fenóis, epóxido, di-hidrodióis, quinonas e suas diferentes combinações. O citocromo P- 450 é principalmente encontrado no fígado, todavia está presente também nos pulmões, na mucosa intestinal e em diversos outros tecidos. Neste contexto, acredita-se que a carcinogenicidade dos HPAs seja em razão da formação de adutos de DNA, mediante ligação covalente (ATSDR, 1995).

Teoricamente há um objetivo biológico para este tipo de formação que é fazer com que certo metabólito seja mais hidrofílico do que o seu precursor, com a finalidade de auxiliar a excreção por meio dos fluidos biológicos. A ação de monooxigenase mediante xenobióticos no corpo é observada em inúmeros organismos, tendo sido constatada em mamíferos, insetos, peixes, fungos, plantas e bactérias. No ano de 1980 já se tinha o conhecimento que diversas substâncias químicas naturais e sintéticas, com diferentes estruturas, tinham a capacidade de elevar os níveis de enzimas microssomais no momento em que administradas em animais de laboratório. É possível afirmar que HPAs, alguns hormônios esteróides, zoxazolamina, alguns herbicidas e pesticidas, conservantes de alimentos, corantes e elementos normais da dieta são referências de indutores de monooxigenases (CONNEY 1982).

Atualmente, o mecanismo de ativação mais aceito na literatura para a ativação biológica dos HPAs cancerígenos é o processo de oxidação enzimática seguida de hidrólise formando diol-epóxidos (Figura 3). A enzima citocromo P-450 é responsável por dirigir a ativação dessas substâncias, em particular sob duas principais isoformas: P4501A1 e P4501A2. No que se refere ao Benzo[a]pireno, o citocromo P-450 é o responsável por metabolizá-lo em Benzo[a]pireno-7,8-óxido, que por epóxido hidrolase é transformado em Benzo[a]pireno-7,8-diol, esses dióis sofrem uma nova ação do citocromo P-450 e se transformam em Benzo[a]pireno-7,8-diol-9,10-epóxido. Contudo, o Benzo[a]pireno-7,8-diol-9,10-epóxido é indicado como o metabólito final de potencial carcinogênico e mutagênico, em razão da sua

elevada capacidade de se ligar de forma covalente ao grupo 2-amino da guanina na fita dupla de DNA (MEIRE *et al.*, 2007).

Figura 3 - Esquema resumido da ativação enzimática do Benzo[a]pireno em diol epóxidos, na formação de adutos de DNA.

Fonte: MEIRE *et al.*, 2007 apud AKCHA *et al.*, 2000.

Além disso, os metabólitos dos HPAs e os seus agregados são majoritariamente excretados pelas fezes e, em menor grau, pela urina. Os agregados excretados na bile podem ser hidrolisados por enzimas na flora intestinal e serem reabsorvidos (ZHAO *et al.*, 1990).

HPAs em água e seus processos de degradação

O comportamento e o destino dos HPAs, quando inseridos no meio aquático, dependem de suas características físico-químicas. Os principais processos que abrangem os HPAs em água são: dissolução, volatilização, adsorção no material em suspensão seguido de sedimentação, degradação abiótica e biótica, degradação fotoquímica, bioacumulação e a absorção por

organismos aquáticos (JEANNEAU *et al.*, 2007; BRUM *et al.*, 2007; OLIVELLA, 2006).

O depósito atmosférico é classificado como um importante meio de inserção dos HPAs nas águas superficiais. Calcula-se que 10 a 80% das entradas de HPAs nos oceanos do mundo todo, sejam provenientes de fontes atmosféricas, embora estes compostos sejam pouco encontrados na matriz água (MANOLI & SAMARA 1999).

Anyakora e colaboradores (2005) realizaram estudos em água e sedimento marinho e constataram que os HPAs de alta massa molecular, tais como, o Benzo[g,h,i]perileno, Dibenzo[a,h]antraceno e Indeno[1,2,3-cd]Pireno, não foram detectados na água, em razão da sua baixa solubilidade. É importante evidenciar que quanto maior a massa molecular do composto químico, menor será sua solubilidade. Na Tabela 4 são apresentados os resultados obtidos no estudo de Anyakora e colaboradores (2005).

Tabela 4 - Concentração de HPAs em água salobra.

Compostos	Água ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
Acenaftaleno	0,34
Acenafteno	0,40
Fluoreno	0,33
Fenantreno	1,46
Antraceno	0,35
Fluoranteno	0,54
Pireno	0,67
Criseno	1,32
Benzo[b]fluoranteno	2,38
Benzo[k]fluoranteno	1,82
Benzo[a]pireno	1,72

Fonte: Modificado de ANYAKORA *et al.*, 2005.

Os principais processos que colaboram para a degradação desses compostos em água são a fotólise, a oxidação química e a biodegradação por microrganismos aquáticos. A velocidade e a extensão do processo de fotodegradação variam muito entre os HPAs e não há uma tendência definida na velocidade da fotólise que possa ser associada à estrutura química dos HPAs. Tendo como exemplo a velocidade da fotodegradação do naftaleno, contendo 2 anéis aromáticos em sua estrutura, é muito mais lenta comparada ao Antraceno, o

qual possui 3 anéis aromáticos. Embora, com base no tempo de meia-vida dos HPAs, a fotólise na água pode ser um processo importante, capaz de determinar o destino do Acenafteno, acenaftileno, Antraceno, Pireno e Benzo[a]pireno quanto aos outros HPAs. Segundo estudos realizados por Nagata e Kondo (1977) foi possível constatar que os compostos Antraceno e Fenantreno foram vulneráveis à fotodegradação, ao contrário do Benzo[a]pireno, Criseno, Fluoreno e Pireno que se mostraram resistentes (NEFF, 1979; ANDERSON *et al.*, 1986; BEHYMER & HITES, 1988; ANDERSON *et al.*, 1986; ZEPP & SCHLOTZHAUER, 1983).

Em geral, a oxidação sob ação dos radicais de oxigênio e peróxido são os dois mais importantes processos oxidativos de poluentes ambientais na água. As reações mais comuns que ocorrem na foto-oxidação de HPAs resultam na produção de peróxidos, quinonas e dionas e os principais fotoprodutos do Antraceno, Fenantreno e benzo[a]Antraceno são a antraquinona, 9,10 - Fenantrenoquinona e 7,12 - benzo[a]antraquinona, respectivamente (NAS 1972; DAVID & BOULE, 1993). Todavia, os HPAs na água também podem ser oxidados quimicamente por meio de cloração e ozonização. Harrison e colaboradores (1976a; 1976b) constataram uma grande eficiência da degradação de HPAs por meio da cloração tanto para condições em laboratório quanto no tratamento de águas residuais, nesse processo de oxidação química o Pireno foi o HPA que mais rapidamente foi degradado, o composto Benzo[a]pireno foi altamente degradado. Indeno[1,2,3-c,d]Pireno e o benzo[g,h,i]Pireno foram intermediários comparado à degradação relativa, porém o Benzo[k]fluoranteno e o Fluoranteno foram os compostos mais degradados dentre todos testados (HARRISON *et al.*, 1976a, 1976b).

A biodegradação dos compostos Acenaftileno e Acenafteno sob ação de microrganismos em amostras de águas subterrâneas armazenadas ocorreu em cerca de 3 dias. No momento em que essas reações ocorrem em condições aeróbicas, significa que não houve indícios de degradação anaeróbica dos HPAs no aquífero a partir da qual as amostras foram obtidas. O conhecimento sobre a biodegradação de HPAs em razão de fungos são limitadas se comparada às informações disponíveis sobre a degradação por bactérias. Contudo, foi constatado que o fungo *Cunninghamella elegans* é capaz de metabolizar Antraceno,

Benzo[a]pireno e Fluoreno (CEMIGLIA & GIBSON 1979; CEMIGLIA & HEITKAMP 1989; POTHULURI *et al.*, 1993).

Diversos trabalhos realizados no Brasil e no mundo relataram a presença destes poluentes nas águas superficiais e demonstraram a grande preocupação com a qualidade destes corpos d'água (XU & LEE, 2008; BRUM *et al.*, 2007; DÓREA *et al.*, 2007; CHEN *et al.*, 2007; LOCATELLI, 2006; CAO *et al.*, 2005).

HPAs no material em suspensão

Uma das principais causas atribuídas ao empobrecimento da qualidade da água, se dá em razão da presença de material em suspensão na coluna d'água, que pode variar em partículas de escala nanométrica e coloides à sedimentos com a granulometria de areia. As partículas suspensas podem causar inúmeros efeitos adversos aos recursos hídricos, desde fatores estéticos e elevação nos custos para o tratamento de água, até mesmo um declínio no ramo pesqueiro e grave degradação ecológica (ALABASTER & LLOYD, 1982; BILOTTA & BRAZIER, 2008).

Como já citado anteriormente, devido à baixa solubilidade aquosa e natureza hidrofóbica, os HPAs tendem a se associar com a matéria orgânica no ambiente aquático, em geral o sedimento de fundo e o material em suspensão. Os sedimentos nos rios podem funcionar como um compartimento de armazenamento transitório para os HPAs, esses compostos perante condições hidrodinâmicas não específicas ou na presença de bioturbação, podem ser ressuspensos ou redissolvidos e retornar a sua biodisponibilidade (KATAYAMA *et al.*, 2010).

Os organismos que vivem em ambientes aquáticos podem absorver os HPAs através de sua superfície corporal e brânquias ou pela ingestão de material em suspensão ou sedimentos, e consequentemente, podem transferir essa contaminação por meio da cadeia alimentar (DE BOER & HAGEL, 1994; BELPAIRE & GOEMANS, 2007; MAES *et al.*, 2007).

3.1.2 Legislações vigentes aplicáveis para águas superficiais e águas subterrâneas

As agências ambientais que controlam a qualidade das águas no Brasil e no mundo quanto aos níveis de contaminantes, classificaram como prioritários os seguintes HPAs: Pireno, benzo[a]Antraceno, Dibenzo[a,h]antraceno, Benzo[a]pireno, indeno[1,2,3-cd]Pireno, Benzo[b]fluoranteno e Benzo[k]fluoranteno (WHO, 1998; USEPA, 1990). A legislação brasileira lista estes sete HPAs que devem ser monitorados em águas superficiais de classe 1 e 2. Neste contexto, os estudos nacionais e internacionais comprovam a preocupação acerca destes poluentes em águas superficiais como, J. Li *et al.*, (2017), J. Zhang *et al.* (2017), R. Sarria-Villa *et al.*, (2016) e Santos *et al.*, (2018). Na Tabela 5 são apresentados os valores das concentrações máximas permitidas em águas superficiais, conforme a Resolução CONAMA 357 (BRASIL, 2005).

Tabela 5 - Valores referência para água superficial de acordo com CONAMA 357.

Parâmetros	VMP (valores máximos permitidos) $\mu\text{g L}^{-1}$
Benzo[a]pireno	0,05
Benzo[b]fluoranteno	0,05
Benzo[k]fluoranteno	0,05
Dibenzo[a,h]antraceno	0,05
Indeno[1,2,3-cd]Pireno	0,05

Fonte: BRASIL, 2005

São muitas as legislações estabelecidas com o objetivo de proteger os recursos hídricos. Para as águas subterrâneas, temos a Constituição Federal de 1988 (BRASIL, 1988), que define como sendo bem dos Estados as águas subterrâneas, excetuadas as decorrentes de obras da União, a lei Federal 9.433 (BRASIL, 1997), que define a Lei das Águas e estabelece a Política Nacional de Recursos Hídricos entre outras, até chegar à legislação federal vigente para água subterrânea, CONAMA 396 (BRASIL, 2008), que define classificação e diretriz ambientais para o enquadramento das águas subterrâneas e fornece outras providências.

A CETESB nº 045/2014/E/C/I (2014) dispõe sobre a aprovação dos Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo - 2014, em substituição aos Valores Orientadores de 2005 e dá outras providências.

A mais utilizada para as águas subterrâneas é a Resolução CONAMA 396 que dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento, prevenção e controle da poluição. Na Tabela 6 pode ser observada uma lista de parâmetros com maior probabilidade de ocorrência em águas subterrâneas, seus respectivos Valores Máximos Permitidos (VMP), de acordo com os usos considerados como preponderantes, e os limites de quantificação praticáveis (LQP), considerados como aceitáveis para aplicação desta Resolução.

Tabela 6 - Valores orientadores para água subterrânea segundo o CONAMA 396.

Parâmetros	Nº CAS	Usos Preponderantes da água (VMP*)				
		Consumo Humano	Desse- dentação de animais	Irrigação	Recreação	LQP Limites de quantificação praticáveis
µg L ⁻¹						
Benzo [a] Antraceno	6-55-3	0,05	---	---	---	0,15
Benzo[k]fluoranteno	07-08-9	0,05	---	---	---	0,15
Benzo[a]pireno	0-32-8	0,05	---	---	0,01	0,15
Criseno	18-01-9	0,05	---	---	---	0,15
Dibenzo[a,h]antraceno	3-70-3	0,05	---	---	---	0,15
Indeno[1,2,3-cd]Pireno	93-39-005	0,05	---	---	---	0,15
VMP* valores máximos permitidos		Fonte: BRASIL, 2008				

VMP* valores máximos permitidos

Fonte: BRASIL, 2008

3.2 Técnica Analítica

A cromatografia tem se revelado uma técnica de grande relevância para a análise de compostos com as mais diversas estruturas e propriedades físicas. Cromatografia pode ser considerada como um método físico-químico de separação, em que os componentes da amostra a serem separados são particionados entre duas fases: a fase estacionária, fixa e de grande área superficial; e a fase móvel, um fluído insolúvel que passa através da fase estacionária (BRITO, 2009).

3.2.1 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE ou HPLC)

Em meio aos inúmeros métodos cromatográficos, a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE ou HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) se desenvolveu e ampliou-se drasticamente desde a década de 70, embora a técnica já exista há aproximadamente 95 anos. Dentre as inúmeras aplicações, é utilizada para determinar compostos orgânicos em amostras de origem ambiental. É possível efetuar separações e análises quantitativas de um grande número de compostos em poucos minutos, com alta resolução, sensibilidade e eficiência (COLLINS & BRAGA, 1997; LEBRE, 2000; BRITO, 2009).

A determinação de compostos por HPLC consiste, basicamente, em diluir a mistura, contendo os compostos a serem analisados, em um solvente apropriado e introduzi-los na coluna cromatográfica por meio de válvulas injetoras. Esta mistura é distribuída no material de preenchimento da coluna (fase estacionária) por um fluxo contínuo da fase móvel (também chamada de eluente), que é bombeada por meio de bombas peristálticas (COLLINS, 1997).

A separação dos compostos é realizada por pequenas partículas adsorventes de grande área superficial, que confere a alta resolução, isto é, a fase estacionária contida na coluna. Os compostos presentes na amostra ficam retidos na fase estacionária, e conforme a escolha adequada do eluente e da coluna, bem como um adequado gradiente, terão diferentes velocidades de migração por esta (COLLINS, 1997).

O mecanismo de separação baseia-se na diferença de solubilidade entre os componentes da amostra na fase móvel e na fase estacionária. O detector é colocado na saída da coluna, proporcionando um registro contínuo da composição do eluente, denominado cromatograma, que relaciona o tempo de retenção e o sinal do detector, registrando um pico que indica a presença, ou não de um composto (COLLINS, 1997).

A quantificação dos cromatogramas é feita de acordo com a intensidade do pico registrado e sua área, sendo possível calcular a concentração do composto na amostra, levando em consideração o volume injetado e a curva de calibração. A curva de calibração pode ser obtida por meio de análise de soluções-padrão mistas

dos compostos analisados em concentrações diluídas em solução semelhante ao eluente (fase móvel) e, na faixa de concentração em que se pretende detectar os compostos (COLLINS, 1997; LEBRE, 2000).

Diferentes tipos de detectores podem ser acoplados ao sistema de HPLC para a identificação dos analitos, entre eles estão: detectores fotométricos, detectores de índice de refração, e detectores eletroquímicos (CIOLA, 2006). Neste estudo utilizou-se um detector espectrofotométrico UV/vis.

3.2.2 Extração em fase sólida por SPE (Solid Phase Extraction)

A maior parte das análises cromatográficas que envolvem amostras ambientais com alto nível de complexidade, necessitam de etapas pré-análise, antes da determinação do analito de interesse em um equipamento apropriado, como exemplo a extração, o *Clean-up* (eliminação de impurezas), o ajuste de pH, a concentração do analito de interesse e o ajuste da faixa de concentração e volume (LANÇAS, 2004b; BRITO, 2009).

A etapa de eliminação de impurezas, conhecida como *Clean-up*, é essencial para a eliminação de substâncias provenientes da matriz que possam interferir no método analítico. Vale ressaltar que a impureza ou interferente podem resultar em falso positivo. A etapa de eliminação de impurezas em análises cromatográficas impede a ação de contaminantes da matriz que possam co-eluir com o analito, o que pode assegurar a durabilidade das colunas e evitar limpezas frequentes no sistema de injeção (LANÇAS, 2004b).

A extração líquido-líquido (LLE) foi por muito tempo a técnica analítica mais utilizada na preparação de amostras complexas para análise. Todavia, tornou-se inviável em razão de alguns fatores preponderantes, tais como, a utilização de grandes volumes de solventes orgânicos no processo de extração, do alto custo envolvido, da difícil automação, da baixa reprodutibilidade e repetitividade e de muitas etapas para extrair o analito de interesse (LANÇAS, 2004b).

Em meados do ano de 1970, com o intuito de minimizar os problemas gerados pela técnica de extração líquido-líquido (LLE), foi desenvolvida a técnica de extração em fase sólida (do inglês *Solid Phase Extraction*, SPE). Esta técnica se baseia no mecanismo de separação líquido-sólido, o mesmo utilizado em

cromatografia em fase líquida de baixa pressão. Experimentalmente, utiliza-se uma coluna pequena aberta, geralmente denominada cartucho de extração, contendo a fase estacionária. A solução contendo o analito de interesse é percolada pelo cartucho utilizando vácuo. O analito fica retido no cartucho e na sequência é eluído com um volume pequeno de solvente, de forma a obter uma concentração adequada para análise (LANÇAS, 2004b).

As fases sólidas aplicadas em SPE são similares as utilizadas em cromatografia líquida em coluna, bem como os mecanismos de separação. A escolha da fase estacionária apropriada depende da natureza do analito de interesse e da matriz na qual ele se encontra. Os principais mecanismos atualmente utilizados em SPE são: adsorção; partição (fase normal e reversa); troca iônica; e exclusão por tamanho. Esses mecanismos estão ligados a processos físico-químicos que agem durante a separação, tais como: forças iônicas, ligações de hidrogênio e as interações do tipo dipolos.

Os mecanismos básicos de operação em SPE contemplam:

- **Concentração do(s) analito(s):** Um grande volume de amostra é percolado através do cartucho, com a finalidade de reter apenas o analito, permitindo a passagem do solvente e dos interferentes. Em seguida, o analito de interesse é eluído com uma quantidade pequena de solvente, resultando em um extrato com o analito de interesse bem mais concentrado que na amostra inicial. Pode-se citar como exemplo a aplicação deste procedimento em amostras ambientais, onde o analito encontra-se bastante diluído;
- **Isolamento do(s) analito(s):** O principal objetivo é isolar o analito de interesse dos interferentes da matriz. A amostra inicial pode já ser concentrada o bastante para a análise por uma técnica adequada, todavia os integrantes da matriz poderão afetar no processo de análise. Tendo como exemplo, análises com matriz muito complexa, onde se pretende isolar apenas uma substância dentre os inúmeros compostos químicos presentes. É importante destacar que os procedimentos de concentração e isolamento podem ser realizados em um mesmo procedimento de extração em SPE;
- **Isolamento da Matriz:** Nesta etapa o analito de interesse é coletado em um recipiente para a análise, livre dos interferentes que são retidos no cartucho. Este procedimento é empregado apenas para *clean-up* e não para concentração de amostras;

- **Armazenamento da amostra:** Procedimento utilizado para análise de amostras coletadas em locais a longas distâncias do laboratório. Nesta situação os cartuchos são levados até a área de estudo e emprega-se o procedimento de concentração do analito detalhada anteriormente, retendo os analitos no cartucho. Depois dessa etapa, o cartucho é armazenado sob refrigeração e transportado ao laboratório. Este procedimento tem como vantagem evitar o transporte de grandes volumes, possibilidade de análise de compostos muito voláteis e preservação do(s) analito(s) de interesse os quais poderiam se degradar durante o transporte ou por tempo longo até chegar ao laboratório (LANÇAS, 2004b).

Etapas da extração por SPE:

1. **Condicionamento do Cartucho:** Esta etapa tem como finalidade a ativação do material adsorvente do cartucho com solventes adequados ao material a ser ativado para cada composto a ser avaliado. Durante o procedimento é importante não deixar que o material contido no cartucho seque, visto que a secagem do cartucho pode formar caminhos preferenciais que comprometem a separação;
2. **Percolação:** Nesta etapa o extrato ou amostra de interesse é percolado através do cartucho em fluxo definido, normalmente inferior a 2 mL min^{-1} , para que os resultados obtidos sejam satisfatórios. O procedimento normalmente é realizado à vácuo, porém para pequenos volumes de amostras o processo pode ser realizado somente por gravidade;
3. **Clean-up:** Esta etapa visa eliminar os interferentes que possam concorrer com o analito de interesse na fase estacionária. O solvente ideal para essa etapa é aquele capaz de retirar os interferentes sem remover também o analito de interesse;
4. **Dessorção:** Nesta etapa a escolha do eluente é fundamental, uma vez que ele deve extrair um ou mais analitos de interesse, mas não permitir a eluição de interferentes que por estarem muito retidos na fase estacionária não foi eliminado na etapa de clean-up. O solvente de eluição deverá ter maior força de eluição que o solvente usado para clean-up (BRITO, 2009).

É possível observar na Figura 4 as principais etapas abrangidas na SPE para isolar um ou mais compostos presentes em uma amostra complexa.

Figura 4 - Desenho esquemático da extração em cartuchos SPE.

Fonte: (Brito,2009).

3.2.3 Validação da metodologia analítica para matriz de material suspenso da coluna d'água

Em análises químicas sempre que os resultados são fundamentados em dados quantitativos, é imprescindível realizar o processo de validação do método utilizado, para transmitir segurança e confiabilidade, e desde modo assegurar a qualidade dos resultados (RIBANI *et al.*, 2004).

No Brasil, para averiguar a competência de laboratórios de ensaios, existem duas agências, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e o INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial). Ambos os órgãos oferecem guias para o procedimento de validação de métodos analíticos, na devida ordem, a Resolução ANVISA RE nº 899, de 29/05/2003, a RDC Nº 166, de 24/07/2017 e o documento INMETRO DOQ-CGRE-008 (INMETRO, 2018).

Além do INMETRO e a ANVISA, órgãos como IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), ISO (*International Organization for Standardization*), e ICH (*International Conference on Harmonization*) fornecem também diretrizes e recomendações para a execução do procedimento de validação, bem como requisitos fundamentais para o processo de demonstração de competência técnica (RIBANI *et al.*, 2004; BUENO, 2007; OTOMO, 2015).

A confiabilidade de resultados obtidos por meio de um método específico é de grande importância na química analítica. Para se estabelecer confiança é primordial que o resultado de uma medição seja rastreável à uma referência, bem

como, uma unidade do Sistema Internacional (SI), um material de referência ou, quando aplicável, um método empírico ou definido (EURACHEM, 2002).

Portanto, é de fundamental importância que a qualidade das medições químicas seja demonstrada por meios rastreáveis e comparáveis. Isso permite que, ao término de uma análise química, os resultados sejam capazes de atender às exigências das regulamentações nacionais e/ou internacionais em que a premissa seja valores de análises confiáveis. Sendo assim, um processo de validação documentado e bem definido concede às agências reguladoras evidências concretas de que os sistemas e métodos são apropriados para o uso pretendido.

O processo de validação de um método consiste em efetuar uma série de testes analíticos e estudos estatísticos e comparar os resultados com critérios pré-estabelecidos (LEBRE, 2000). O procedimento de validação da metodologia analítica para determinação de HPAs no material em suspensão foi dirigido conforme o documento do INMETRO DOQ-CGCRE-008 e foram considerados os seguintes parâmetros de desempenho: seletividade, linearidade, limites de detecção e quantificação, exatidão, precisão e recuperação, além da estimativa das incertezas de medição.

Neste trabalho foi utilizada uma planilha de cálculos estatísticos intitulada “Validação de Ensaios Químicos”, desenvolvida por Furusawa (2007), revisada em 2018, baseada no documento do INMETRO "Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos" (2007; 2017). Para a elaboração da planilha foram utilizadas mais cinco referências a fim de estabelecer os cálculos necessários (BUSSAB, 1988; BARROS NETO *et al.*, 1996; VANDER HEYDEN *et al.*, 2001; ZEAITER *et al.*, 2004; MOORE & McCABE, 2006).

3.2.3.1. Seletividade

A seletividade de um método analítico corresponde à capacidade do método em quantificar o analito na presença de outras substâncias, matrizes ou de outro material onde haja a possibilidade de interferência na determinação. A interferência de uma matriz pode resultar em aumento ou redução do sinal e a magnitude do efeito também pode depender da concentração (LEITE, 2002).

A seletividade assegura que o pico resposta seja unicamente do analito de interesse. O termo seletividade tem sido utilizado como sinônimo de especificidade, gerando dúvidas, desse modo essa situação pode ser evitada empregando apenas o termo seletividade, como recomendado pela IUPAC (RIBANI *et al.*, 2004).

Um método instrumental de separação que produz uma resposta para um único analito pode ser chamado de específico, enquanto o termo seletivo refere-se a um método que gera uma resposta para diferentes compostos (BRITO, 2009; RIBANI *et al.*, 2004).

Experimentos para avaliação da seletividade, normalmente, envolvem ensaios com padrões ou materiais de referência, amostras com e sem o analito, além da avaliação da capacidade de identificação do analito de interesse na presença de interferentes (LEITE, 2002; BRITO, 2009; INMETRO, 2018).

A seletividade pode ser inicialmente avaliada por meio da verificação do cromatograma, e confirmada por testes estatísticos. Para avaliação da interferência da matriz na precisão do método utiliza-se o teste F (*Snedecor*) de homogeneidade das variâncias nas medidas. Utilizam-se dois conjuntos de dados, com adição padrão nas soluções com e sem matriz, em um número estatisticamente significativo de replicatas ($n=7$). Aplica-se o “teste F” para verificar a hipótese de que as variâncias das duas populações serem iguais. Inicialmente estabelece-se o nível de significância (α), normalmente $\alpha = 5\%$, que representa 95% de confiança e depois, calcula-se a variância de cada grupo.

A variância é calculada pelo quadrado do desvio padrão para cada nível considerando o número de replicatas (n_1 e n_2) adotado. O F associado a (n_1-1) graus de liberdade no numerador e (n_2-1) graus de liberdade no denominador.

O valor de $F_{\text{calculado}}$ é obtido por meio da equação 1 e realiza-se a comparação com um valor de referência (F_{Tabelado}), com 95% de confiança e $(n-1)$ graus de liberdade.

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2} \quad (\text{equação 1})$$

Onde:

S_1^2 = maior variância;

S_2^2 = menor variância.

Neste teste, utiliza-se o seguinte critério de avaliação:

- se $F_{\text{calculado}} \geq F_{\text{tabelado}} \rightarrow$ as variâncias não são iguais ao nível de significância estabelecido, portanto a matriz tem efeito sobre a precisão do método.
- se $F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabelado}} \rightarrow$ as variâncias são iguais, portanto a matriz não tem efeito sobre a precisão do método.

Para avaliação da seletividade, é também recomendado o teste t (*Student*) de significância das diferenças das médias, aplicado nos dois grupos de soluções (com e sem matriz) de acordo com a equação 2. Nesse teste, se a matriz afeta as medidas do ensaio, o valor de $t_{\text{calculado}}$ será maior que o valor de t_{tabelado} .

$$t_{\text{calculado}} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}} \quad (\text{equação 2})$$

Onde:

$\bar{x}_1$ e $\bar{x}_2$ = diferença da média das replicatas de cada nível de concentração com e sem matriz;

S_1^2 e S_2^2 = variância das replicatas nas soluções com e sem matriz;

n_1 e n_2 = tamanho do conjunto de soluções utilizados, com e sem matriz.

O valor de $t_{\text{calculado}}$ é então comparado com o valor de t_{tabelado} , em nível de significância estabelecido e com $(n_1 + n_2 - 2)$ graus de liberdade.

- se $t_{\text{calculado}} \geq t_{\text{tabelado}} \rightarrow$ as médias não são iguais no nível de significância estabelecido, e
- se $t_{\text{calculado}} < t_{\text{tabelado}} \rightarrow$ as médias são iguais no nível de significância estabelecido e assim não há efeito matriz.

A seletividade pode também ser avaliada pelo teste t de Inclinação e Paralelismo e pelo teste do Intercepto, utilizando-se as equações 3 e 4 respectivamente (FURUSAWA, 2007; INMETRO, 2018).

Para o teste de paralelismo e inclinação, aplica-se a equação 3, e se o resultado $t_{\text{calc}} < t_{\text{tabelado}}$, as inclinações são estatisticamente iguais.

$$t = \frac{b_1 - b_2}{s_{xy} \sqrt{\frac{1}{\sum (X_{1i} - \bar{X})^2} + \frac{1}{\sum (X_{2i} - \bar{X})^2}}} \quad (\text{equação 3})$$

Onde:

b_1 = coeficiente angular da equação da reta em ensaio com matriz;

b_2 = coeficiente angular da equação da reta em ensaio sem matriz.

Para avaliação da igualdade dos interceptos das retas com matriz e sem matriz, aplica-se a equação 4. O resultado obtido pela equação também deve ser $t_{\text{calc}} < t_{\text{tabelado}}$ para que as curvas tenham interceptos estatisticamente iguais com matriz e sem matriz.

$$t = \frac{a_1 - a_2}{s_{xy} \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{\bar{x}_1^2}{\sum (X_{1i} - \bar{X}_1)^2} + \frac{1}{n_2} + \frac{\bar{x}_2^2}{\sum (X_{2i} - \bar{X}_2)^2}}} \quad (\text{equação 4})$$

Onde:

a_1 = coeficiente linear da equação da reta em ensaio com matriz;

a_2 = coeficiente linear da equação da reta em ensaio sem matriz;

$\bar{X}_1$ = média das respostas dos analitos nos ensaios com matriz;

$\bar{X}_2$ = média das respostas dos analitos nos ensaios sem matriz;

n_1 = tamanho do conjunto de amostras com matriz;

n_2 = tamanho do conjunto de amostras sem matriz.

Para ambas as equações (3 e 4), considera-se os valores de S_{xy} médio resultantes da aplicação da equação 5:

$$\bar{S}_{xy} = \sqrt{\frac{(n_1-2)S_{y1x1}^2 + (n_2-2)S_{y2x2}^2}{n_1+n_2-4}} \quad (\text{equação 5})$$

Onde:

s^2 = variância do conjunto de soluções das amostras com matriz e sem matriz;

n_1 e n_2 = quantidade de amostras com matriz e sem matriz, respectivamente.

3.1.4.2 Linearidade

A linearidade refere-se à capacidade de um método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração do analito em estudo, dentro de uma determinada faixa de concentração. Empiricamente, a linearidade é determinada mediante gráficos que apresentam a correlação linear entre o sinal medido e a concentração da substância. Gráficos estes que são denominados “curva de analítica” ou mais precisamente “curva de calibração” de acordo com o VIM (2012), onde o eixo horizontal (x) representa a concentração do analito, e o eixo vertical (y), o sinal do detector para cada concentração. Compreendendo-se a relação entre a resposta medida e a concentração da substância de interesse é possível realizar a quantificação de um analito em uma determinada amostra. Normalmente, o número mínimo utilizado em uma curva de calibração é de 5 pontos de concentração que devem ser selecionados de forma a abranger uma faixa de 50% até 150% do valor que se espera encontrar na amostra avaliada (RIBANI *et al.*, 2004; BRITO, 2009; INMETRO, 2018).

O modelo matemático de regressão linear, obtida pelo método dos mínimos quadrados, normalmente aplicado para o cálculo da concentração dos analitos é descrito pela equação da reta (equação 6).

$$y = a + bx \quad (\text{equação 6})$$

Onde:

y = resposta medida ou sinal analítico (altura ou área do pico), variável dependente;

x = concentração do analito;

a = coeficiente linear, expressa a intersecção da curva ao eixo;

b = coeficiente angular, expressa a inclinação da curva.

O ajuste linear por meio do método dos mínimos quadrados garante que seja utilizada a função que melhor se ajusta a um determinado conjunto de dados, por minimizar a soma dos quadrados das diferenças entre os valores obtidos experimentalmente e os valores tabelados (INMETRO, 2010). Por meio da análise de resíduos é possível avaliar valores discrepantes utilizando o teste t (Student), de acordo com a equação 7, que calcula as variâncias e os desvios padrão de cada nível de concentração. Gráficos de resíduos e probabilidade normalizada também são utilizados. Os resíduos são obtidos pela diferença entre os dados originais e a curva proposta.

$$t_{\text{calculado}} = \frac{\text{Resíduo}}{\frac{S_r}{\sqrt{n}}} \quad (\text{equação 7})$$

Onde:

resíduo = $|X_{\text{medido}} - X_{\text{calculado}}|$

S_r = desvio padrão dos resíduos

N = número de pontos da curva

Para cada ponto da curva ou somente para os pontos duvidosos, o valor de $t_{\text{calculado}}$ sendo menor ou igual ao valor de $t_{\text{unilateral}}$ com $(n - 1)$ graus de liberdade, considera-se que o ponto faz parte da curva, no intervalo de confiança desejado, e a faixa até ele é linear (INMETRO, 2018).

Além da representação gráfica do sinal analítico em função da concentração do analito, gráfico de dispersão de resíduos e sua respectiva avaliação estatística, a linearidade pode ser avaliada pelo desvio padrão relativo (DPR), avaliação da associação linear entre as variáveis através dos coeficientes de correlação (r) e determinação (r^2) e pela análise de variância (ANOVA).

A avaliação do coeficiente de determinação (r^2) é uma boa estimativa da qualidade da curva, quanto mais perto do valor 1, indica menor dispersão dos valores da curva em relação aos valores esperados do comportamento linear. A ANVISA recomenda que os coeficientes de correlação estejam acima de 0,99, já o

INMETRO recomenda valores de r acima de 0,90 (RIBANI *et al.*, 2004; OTOMO, 2010; INMETRO, 2018; ANVISA, 2017).

O coeficiente de correlação (r), com valores entre -1 e 1, mede o grau da correlação entre duas variáveis, onde $r = -1$ significa uma correlação negativa perfeita entre as duas variáveis, isto é, quando uma aumenta, a outra diminui. Se o valor de $r = 0$, as duas variáveis não dependem linearmente uma da outra, podendo existir uma dependência não-linear. Quando o valor de $r = 1$, existe uma correlação perfeita positiva entre as duas variáveis.

O coeficiente de determinação (r^2) é o quadrado do coeficiente de correlação, que pode variar entre 0 e 1, onde 1 indica uma correlação perfeita (100%) e zero indica nenhuma correlação entre as variáveis.

Com a análise de variância (Analysis Of Variance, ANOVA) é possível avaliar a escolha da regressão pelo modelo linear e a verificação do ajuste em razão dos valores experimentais da curva. Pela análise de variância também é possível avaliar a porcentagem de variação explicada em relação à porcentagem máxima de variação explicável, ou seja, o quanto de variação pode ser explicada dentro da porcentagem explicável pelo ajuste aplicado. Com base no teste F, verifica-se se a regressão é significativa, avaliando a adequação do modelo adotado aos dados obtidos e o teste F de ajuste que verifica o quanto esse modelo se ajusta ao conjunto de dados obtidos (BARROS NETO *et al.*, 1996; FURUSAWA, 2007; OTOMO, 2015; INMETRO, 2018).

3.1.4.3 Limite de detecção e quantificação

O limite de detecção (LD) pode ser compreendido como a menor concentração de um analito que pode ser distinguido do branco com um certo limite de confiabilidade. Esse dado proporciona base para a confiabilidade em relação aos resultados falso positivo ou falso negativo. Para fins práticos, o limite de detecção com 95% ou 99% de confiança atende à maior parte das aplicações.

Existem diferentes metodologias para calcular o limite de detecção uma vez que esse parâmetro também varia de acordo com o tipo da amostra. O INMETRO sugere diferentes métodos para o cálculo e, de um modo geral, é recomendável um mínimo de sete replicatas da menor concentração da curva. No

presente trabalho, o LD foi calculado pelo desvio padrão das replicatas (n=7) da menor concentração dos analitos no branco e nas matrizes adicionadas conforme equação 8 (FURUSAWA, 2007; INMETRO, 2018).

$$LD = t_{(n-1, n-\alpha)} \cdot (s) \quad (\text{equação 8})$$

Onde:

$t_{(n-1, n-\alpha)}$ = valor *t Student* considerando 95% de confiança e 6 (n-1) graus de liberdade;

s = desvio padrão das replicatas.

O limite de quantificação (LQ) expressa a menor quantidade do analito que é possível quantificar com um nível aceitável de exatidão e precisão empregando um determinado experimento. É recomendável que seja a concentração mais baixa da curva para análise em nível traço (RIBANI *et al.*, 2004; INMETRO, 2018).

O LQ pode ser determinado experimentalmente utilizando a abordagem de estimativa pelo desvio padrão do branco da amostra com adição da menor concentração estudada (INMETRO, 2018). Para determinar o LQ neste trabalho, foi utilizada a média das 7 replicatas de menor concentração do analito somada a 5, 6 ou 10 vezes o desvio-padrão amostral dos brancos, conforme equação 9.

$$LQ = \bar{x} + 5s \quad (\text{equação 9})$$

Onde:

$\bar{x}$ = média das replicatas da menor concentração da curva de calibração;

s = desvio padrão das replicatas da menor concentração da curva de calibração.

3.1.4.4 Precisão

A precisão de um método analítico avalia a dispersão dos resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões sob condições determinadas (INMETRO, 2018). De

acordo com Horwitz (1980), os valores de precisão diminuem quando a concentração do analito aumenta. O parâmetro de precisão normalmente é avaliado em termos de desvio padrão (DP) e desvio padrão relativo (DPR), conhecido como coeficiente de variação (CV), e expresso pela equação 10.

$$CV(\%) = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100 \quad (\text{equação 10})$$

Onde:

$\bar{x}$ = média aritmética das medições;

s = desvio padrão das medições.

Existem várias maneiras de interpretar e avaliar o parâmetro precisão. Segundo Horwitz e Albert (2006) e também Ribani e colaboradores (2004), nos processos de validação de métodos analíticos de traços ou impurezas, a taxa aceitável de CV é de até 20%. O valor aceitável do coeficiente de variação depende do nível de concentração analisada e da complexidade da matriz. Em geral não se aceita coeficiente de variação superior a 30% (PIMENTEL GOMES, 2009). Segundo o INMETRO (2017), o desvio padrão relativo aceitável para 1 ppb é de 30%, para 10 ppb é de 21%, para 100 ppb é de 15% e para 1 ppm é de 11%.

A precisão pode ser determinada em termos de repetitividade, reprodutibilidade e precisão intermediária. Apesar das condições da análise serem distintas, os três termos investigam a dispersão dos resultados em amostras medidas de forma sequencial (LEITE, 2008).

Repetitividade: expressa a concordância entre os resultados de medições sucessivas de uma mesma amostra perante as mesmas condições de medição: mesmo procedimento, mesmo analista, mesmo local, mesmo instrumento perante as mesmas condições e repetições sob curto espaço de tempo.

O limite de repetitividade, r , calculado de acordo com a equação 11, deve ser maior que a diferença entre os valores das replicatas (OTOMO, 2015; ADAME, 2016; INMETRO, 2018).

$$r = t_{(n-1, 1-\alpha)} \sqrt{2} \cdot s_r \quad (\text{equação 11})$$

Onde:

$t(n-1, 1-\alpha)$ = valor da estatística *t* de *Student* para $n-1$ graus de liberdade no intervalo de confiança estabelecido

S_r = desvio padrão para as n replicatas executadas.

Precisão intermediária: expressa a precisão sobre a mesma amostra quando um método é aplicado várias vezes pelo mesmo laboratório, todavia variando condições como analistas equipamento e tempos diferentes.

Reprodutibilidade: expressa a concordância entre os resultados interlaboratoriais de uma mesma amostra sobre condições variadas, além do local, analista, equipamento, etc.

O limite de reprodutibilidade, R , calculado pela equação 12, assim como para o limite de repetitividade, a diferença entre valores das replicatas não deve ser maior que o limite de reprodutibilidade (OTOMO, 2015; ADAME, 2016; INMETRO, 2018).

$$R = 2,8 \cdot \sqrt{S_R^2} \quad (\text{equação 12})$$

Onde:

S_R^2 = variância de reprodutibilidade associada aos *resultados* de diferentes dias.

3.1.4.5 Exatidão

A exatidão demonstra o grau de concordância entre o resultado encontrado e o valor aceito como verdadeiro. A exatidão é relativa à veracidade das medidas e pode ser verificada por diversos processos, tais como, a utilização de materiais de referência certificados (MRC), comparação entre métodos, adição padrão, e o processo mais utilizado que é o ensaio de recuperação. A exatidão pode ser verificada por meio dos cálculos: de erro relativo e normalizado, teste de hipótese e índice z (z Score) de acordo com a equação 13 (RIBANI *et al.*, 2004).

$$Z = \frac{(x_{lab} - x_v)}{s} \quad (\text{equação 13})$$

Onde:

X_{lab} = valor obtido experimentalmente;

X_v = valor aceito como verdadeiro (valor do MRC);

S = desvio padrão do ensaio.

Neste teste, de acordo com a ABNT NBR ISO/IEC 17043 (ABNT, 2017), o critério de avaliação é:

- se $|z| < 2$ a exatidão do método é satisfatória;
- $2 < |z| < 3$ a exatidão do método é questionável; e
- $|z| > 3$ a exatidão do método é insatisfatória.

3.1.4.6 Recuperação

A recuperação é um dos parâmetros mais importantes do processo de validação. Empiricamente o estudo de recuperação é realizado por meio de uma fortificação (Spike), normalmente realizado em três níveis de concentração, isto é, próximo ao limite de detecção, próximo à concentração máxima da faixa linear de trabalho e em uma concentração intermediária ao intervalo estimado. A limitação deste procedimento é a de que o analito adicionado não está necessariamente na mesma forma que na amostra. A presença de analitos adicionados em uma forma mais facilmente detectável pode ocasionar avaliações excessivamente otimistas da recuperação. Para o cálculo da recuperação do analito, realizado de acordo com a equação 14, a maioria dos autores indica a faixa 50% a 120% (THOMPSON *et al.*, 2002; LANÇAS, 2004a; RIBANI *et al.*, 2004).

$$R(\%) = \left(\frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) \times 100 \quad (\text{equação 14})$$

Onde:

C1 é a concentração determinada na amostra com adição de padrão;

C2 é a concentração determinada na amostra;

C3 é a concentração do padrão adicionado.

O INMETRO orienta que os laboratórios estabeleçam critérios de aceitação para recuperação, de preferência seguindo as orientações normativas da legislação aplicável às áreas de atividades. Normalmente, os critérios estão ligados ao nível de concentração. Na revisão 7 do DOQ-CGCRE-008, são citados como exemplos os critérios sugeridos pela AOAC, apresentados na Tabela 7 (AOAC, 2016; INMETRO, 2018).

Tabela 7 - Critérios de aceitação para recuperação segundo o INMETRO (2017).

Analito %	Fração Mássica C	Unidade	Recuperação média %
0,01	10^{-4}	100 ppm (mg kg ⁻¹ ; µg mL ⁻¹)	90 a 107
0,001	10^{-5}	10 ppm (mg kg ⁻¹ ; µg mL ⁻¹)	80 a 110
0,0001	10^{-6}	1 ppm (mg kg ⁻¹ ; µg mL ⁻¹)	80 a 110
0,00001	10^{-7}	100 ppb (µg kg ⁻¹ ; µg L ⁻¹)	80 a 110
0,000001	10^{-8}	10 ppb (µg kg ⁻¹ ; µg L ⁻¹)	60 a 115
0,0000001	10^{-9}	1 ppb (µg kg ⁻¹ ; µg L ⁻¹)	40 a 120

Fonte: Adaptado de INMETRO, 2018.

3.1.4.7 Estimativa da incerteza de medição

O cálculo de incerteza tem papel fundamental ao reportar resultados, sendo de responsabilidade do analista conhecer todas as fontes de incertezas associadas. Na química analítica, a estimativa de incertezas é uma ferramenta fundamental para fornecer precisão aos resultados obtidos a partir de um método específico.

A incerteza de medição é definida pelo Guia Eurachem (2002) como: “Um parâmetro associado ao resultado de uma medição, que caracteriza a dispersão que poderiam ser razoavelmente atribuídas ao mensurado”.

As incertezas podem estar associadas a diferentes fontes, como: a pureza dos materiais de referência, o efeito/ interferência da matriz na amostra, as condições ambientais, os equipamentos laboratoriais, os métodos utilizados, entre tantos outros. Para cada grandeza de entrada, que é um componente de incerteza,

podem estar associadas outras incertezas referentes diversos fatores e todos devem ser combinados a fim de se obter a contribuição de cada fonte (Guia Eurachem, 2002; Eurachem, 2000).

Os componentes da estimativa da incerteza da medição podem ser classificados como incertezas do Tipo A, em que são calculados com base na análise estatística dos resultados obtidos após medições sucessivas, sendo desse modo os desvios padrão experimentais. E incertezas do Tipo B, onde os valores são baseados em outras informações, como por exemplo, certificados de fabricantes, materiais de referência, dados de manuais entre outros.

A Incerteza Padronizada é determinada pela lei de propagação de incerteza, a partir do conjunto da incerteza individual de cada fonte expressa em desvio padrão, denominada incerteza padronizada.

A Incerteza Combinada é resultante da combinação de cada uma das incertezas associada a cada grandeza de entrada.

A Incerteza Expandida é uma expressão do intervalo mais provável com alto teor de confiabilidade associado a uma medição e é obtida multiplicando-se a incerteza combinada por um Fator de Abrangência – k , que é baseado no nível de confiança desejado, por exemplo, 2 se o nível de confiança for de 95% (Guia Eurachem, 2002).

Diagrama de Causa e Efeito (Espinha de Peixe ou Ishikawa) e Incertezas Associadas

Com o intuito de estimar as fontes de incertezas associadas, é possível por meio do diagrama de causa e efeito fazer uma avaliação das grandezas de entrada com o propósito de incluir todas as fontes nos cálculos, agrupando e facilitando visualização de forma sistêmica das principais fontes de incerteza. As fontes de incertezas associadas à metodologia no estudo proposto são apresentadas pela Figura 5.

Figura 5 – Diagrama de Causa e Efeito da metodologia aplicada para avaliação dos HPAs em matriz em suspensão na coluna d'água.

Fonte: Autor da dissertação

Para as fontes de incertezas associadas à metodologia aplicada neste trabalho foram identificadas as grandezas de entrada associadas à curva de calibração, à recuperação, ao volume final da solução e ao volume inicial da amostra filtrada.

Incerteza associada ao volume

Cada etapa da metodologia proposta que envolva um volume, está vinculada a incertezas referentes a balões volumétricos, provetas ou pipetas. A essa incerteza estão associadas as incertezas das informações do fabricante, coeficiente de dilatação térmica do vidro, repetições e variação de temperatura. As incertezas dos volumes são calculadas de acordo com a equação 15 e por meio desta equação calcula-se as incertezas associadas aos volumes inicial e final, bem como à preparação e diluição de todas as soluções padrão utilizadas, pois o padrão original certificado é uma solução mista de 16 HPAs de concentrações variadas.

$$u_{\text{volume}} = \sqrt{(u_{\text{repe}})^2 + (u_{\text{fabricante}})^2 + (u_{\Delta t})^2 + (u_{\text{coeficiente de dilatação}})^2} \quad (\text{equação 15})$$

Incerteza associada à curva de calibração

Para estimativa da incerteza associada à curva de calibração é necessário avaliar as diferentes fontes de entrada que contribuem como: incertezas associadas ao preparo da solução padrão, às diluições das soluções de trabalho e às áreas do sinal analítico do equipamento. O cálculo final utilizado foi o método de *Kragten*, baseado no método proposto pelo ISO GUM considerando uma resolução de forma numérica das derivadas parciais (MARTINS, 2010; INMETRO, 2012a; MACHADO *et al.*, 2013).

Incertezas associadas à solução padrão

As fontes envolvidas na preparação da solução padrão do material de referência utilizado são os volumes de diluição de todas as suas soluções e são calculadas de acordo com a equação 15. No caso da solução padrão utilizada nesta dissertação de mestrado, o certificado já fornece a incerteza para cada um dos 16

compostos da mistura. As incertezas relacionadas à diluição para o preparo das soluções de trabalho são uma combinação das incertezas do volume pipetado e do volume dos balões volumétricos, previamente calculados por meio da equação 15. O cálculo final para as soluções, considerando cada uma das diluições, pode ser realizado de acordo com a equação 16.

$$\mu C_{sol.trab.} = C_{sol.trab.} \sqrt{\left(\frac{\mu(V_{sol.estoque})}{V_{sol.estoque}}\right)^2 + \left(\frac{\mu(V_{10})}{V_{10}}\right)^2 + \left(\frac{\mu(C_{sol.estoque})}{C_{sol.estoque}}\right)^2} \quad (\text{equação 16})$$

Onde:

$C_{sol.trab.}$ = concentração da solução de trabalho;

$\mu(V_{sol.estoque})$ = incerteza do volume pipetado da solução estoque individual para preparação da solução mista de trabalho;

$V_{sol.estoque}$ = volume pipetado da solução estoque individual para preparar a solução mista de trabalho;

$\mu(V_{10})$ = incerteza do volume final da solução de trabalho;

V_{10} = volume final da solução mista de trabalho;

$\mu(C_{sol.estoque})$ = incerteza da solução estoque de cada composto;

$C_{sol.estoque}$ = concentração da solução estoque de cada composto.

Incerteza associada à área resposta do equipamento

Para o cálculo das incertezas associadas às áreas (resultados) dos cromatogramas obtidas pelo HPLC/Uv-vis podem ser consideradas as incertezas associadas à repetitividade e à resolução do equipamento, com um grau de confiança de 95% e distribuição retangular.

As incertezas associadas à repetitividade podem ser calculadas por meio da equação 17.

$$\mu_{repe} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (\text{equação 17})$$

Onde:

S = desvio padrão das medições;

n = número de análises realizadas.

A resolução do equipamento pode ser calculada de acordo com a equação 18 e a incerteza do equipamento de acordo com a equação 19, o cálculo da incerteza desta grandeza considera-se uma distribuição retangular, portanto divide-se por raiz de 3, conforme equação 19 (MARTINS et al., 2014; ADAME, 2016; SILVA, 2018).

$$R_s = \frac{2 (Tr_2 - Tr_1)}{W_{b1} + W_{b2}} \cong \frac{\Delta Tr_1}{W_{b2}} \quad (\text{equação 18})$$

Onde:

Tr1 e Tr2 = Tempos de retenção de dois picos adjacentes;

Wb2 e Wb1 = Largura da base de cada pico.

$$\mu_{Rs} = \frac{R_s}{\sqrt{3}} \quad (\text{equação 19})$$

Onde:

Rs = resolução do equipamento a meia altura base do pico cromatográfico.

De acordo com o proposto por Hibbert *et al.*, (2001), para o cálculo de propagação de incertezas associadas ao HPLC, é possível considerar uma incerteza de 0,5% em relação às áreas obtidas.

A incerteza combinada da resposta do equipamento é calculada pela equação 20.

$$u_{C_{\text{área}}} = \sqrt{(u_{\text{repe}})^2 + (u_{\text{equipamento}})^2} \quad (\text{equação 20})$$

Onde:

urepe = incerteza associada à repetibilidade das medições;

uequipamento = incerteza associada à resolução do equipamento.

Incerteza associada à recuperação

A incerteza associada à recuperação pode ser calculada de acordo com a equação 21. Porém, o cálculo das incertezas associadas à cada uma das soluções do ensaio de recuperação (adicionada e encontrada) é obtido pela equação 22.

$$\mu(R) = R \sqrt{\left(\frac{\mu(C_{real})}{C_{real}}\right)^2 + \left(\frac{\mu(C_{encontrada})}{C_{encontrada}}\right)^2} \quad (\text{equação 21})$$

Onde:

R = valor de recuperação;

$\mu(C_{real})$ = incerteza da solução padrão adicionada;

C_{real} = concentração real adicionada;

$\mu(C_{encontrada})$ = incerteza da concentração obtida;

$C_{encontrada}$ = concentração obtida;

$$\mu(C_{obtida}) = \frac{S_{rec}}{\sqrt{n}} \quad (\text{equação 22})$$

Onde:

S_{rec} = desvio padrão das concentrações das soluções do ensaio de recuperação;

n = número de replicatas do ensaio de recuperação.

Incerteza combinada e expandida

Para o cálculo da incerteza combinada é necessário que sejam consideradas as incertezas associadas a cada uma das grandezas de entrada. O cálculo pode ser realizado conforme a equação 23.

$$u(C) = C \sqrt{\left(\frac{u(C_{urva})}{C_{urva}}\right)^2 + \left(\frac{u(V_f)}{V_f}\right)^2 + \left(\frac{u(V_i)}{V_i}\right)^2 + \left(\frac{u(R)}{R}\right)^2} \quad (\text{equação 23})$$

Onde:

C = concentração do analito na amostra;

$U(C_{\text{curva}})$ = incerteza associada à curva de calibração;

$u(V_f)$ = incerteza associada volume final;

$u(V_i)$ = incerteza associada volume inicial de amostra;

$u(R)$ = incerteza associada à recuperação;

Para obter a incerteza expandida do método, o cálculo é ser realizado conforme a equação 24.

$$U_E = k \cdot u(C) \quad (\text{equação 24})$$

Onde:

$u(C)$ = incerteza combinada;

K = fator de abrangência.

3.3 Revisão Bibliográfica

A cada dia, as atividades humanas têm emitido substâncias químicas que, dependendo dos seus níveis de concentrações, podem ser nocivas quando lançadas na natureza. Neste contexto, um dos compartimentos dos ecossistemas que mais são impactados é o ambiente aquático, em razão de normalmente ser o destino final dessas substâncias tóxicas geradas. A poluição em rios e mares advém de diversas fontes, tanto pontual como difusa, o que dificulta o diagnóstico. Assim, os estudos que promovem o diagnóstico ambiental de possíveis contaminantes, têm crescido e provocado a necessidade de se obter dados mais confiáveis sobre os níveis de poluição nos ecossistemas aquáticos, contribuindo na detecção das possíveis origens e fontes dos poluentes e na avaliação mais concisa das ações preventivas ou corretivas a serem tomadas dependendo do cenário encontrado (AKAISHI, 2003).

Fernandes *et al.*, (1997), estudaram a distribuição de HPAs em material em suspensão e dissolvidos no rio Sena (França) e seu estuário utilizando a técnica de GC-FID. A concentração total de HPAs obtida variou de 2 a 687 ng L⁻¹. As concentrações foram associadas com a carga da matéria orgânica suspensa e as distribuições podem ser justificadas pela mistura estuarina. Na fase dissolvida a concentração de HPAs obtida variou de 4 a 36 ng L⁻¹ de modo geral, uma ordem de magnitude menor que na fase particulada. Concluiu-se que o material em suspensão do rio Sena apresentou concentrações elevadas de HPAs em comparação com outros rios do mundo.

García-Falcón *et al.*, (2004) estudaram a eficiência entre SPE (extração em fase sólida) recheada com C₁₈ e microextração em fase sólida (SPME) de fibras de dimetilsilaxano para a extração de 9 HPAs de alta massa molecular em águas potáveis. Ao comparar os dois procedimentos, pelos resultados foi possível concluir que ambos os métodos podem ser utilizados na determinação de HPAs em água potável. Todavia por SPE foi observado um melhor desempenho quanto à recuperação (96% comparada a 90% do SPME), precisão e quantificação para a determinação dos HPAs em água potável nos níveis estabelecidos pela legislação.

Azevedo *et al.*, (2004) estudaram a qualidade da água do Rio Paraíba do Sul determinando as concentrações de 6 dos HPAs considerados prioritários

pela EPA (Acenaftileno; Fenantreno; Fluoranteno; Pireno; Criseno e Benzo(a)Pireno). Duas cidades do Rio de Janeiro foram selecionadas (Resende e Campos dos Goytacazes) por apresentarem atividades industriais e agrícolas. Alíquotas de 200 mL de amostra foram extraídas em fase sólida utilizando cartucho polimérico OASIS e analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM). A recuperação obtida variou entre 56 e 78% com um desvio padrão relativo menor que 18%, com exceção do Acenaftileno cuja recuperação foi de $23 \pm 2,7\%$. Em Resende, próximo à Rodovia Presidente Dutra, foi observada uma concentração de $0,255 \mu\text{g L}^{-1}$ para o composto Benzo[a]pireno. Nenhum dos HPAs estudados foi detectado nas amostras de água da cidade de Campos dos Goytazes.

Chen *et al.*, (2007), utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de fluorescência (HPLC-PFD), investigaram a distribuição espacial e temporal de 15 HPAs (prioritários pela EPA) no rio Qiantang, um importante recurso de água potável no Delta do rio Yangzi (China). As amostras de água foram extraídas utilizando cartuchos SPE C₁₈ da Supelco (*Sigma. Aldrich Corp.*), condicionados com 5 mL de Diclorometano, seguidos de 5 mL de Metanol e 5 mL de água ultrapura. Aproximadamente 150 mL de metanol foram adicionados à amostra de água (1L) e a solução foi percolada pelo cartucho. Os HPAs retidos no SPE foram eluídos com 5 mL de Diclorometano, foi utilizado 0,2 g de Sulfato de Sódio anidro (Na₂SO₄) para eliminar qualquer vestígio de água, adicionou-se 30 μL de Dimetilsulfóxido (DMSO) ao eluato antes da secagem com fluxo suave de N₂, em seguida foi adicionado 970 μL de Acetonitrila (ACN) e então analisadas no HPLC-PFD. As concentrações de HPAs totais na água variaram de 70,3 a 1844,4 ng L^{-1} com valor médio de 283,3 ng L^{-1} , predominando os HPAs de dois e três anéis aromáticos. As razões de Antraceno/(Antraceno+Fenantreno) e Fluoranteno(Fluoranteno+Pireno) foram calculadas para avaliar as possíveis fontes de HPAs, e essas proporções demonstraram que a principal fonte desses compostos no rio Qitang é de origem petrogênica. A concentração de HPAs nas zonas da cidade foi muito mais alta do que nas áreas rurais, sendo possível então concluir que a urbanização e a industrialização estão causando efeitos nocivos ao recurso de água potável.

Lima (2008) desenvolveu e validou uma metodologia analítica para determinar 16 HPAs (indicados pela EPA) em amostras de água superficial de dois rios do estado de Minas Gerais (Piracicaba e Doce). As amostras foram pré-concentradas utilizando cartucho C_{18} de 200 mg de fase sólida, os compostos estudados foram extraídos com diclorometano (DCM) e após submetidos a secagem sob fluxo de nitrogênio (N_2), foram ressuspensos com 500 μ L de acetonitrila (ACN) e analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Foi utilizada uma coluna C_{18} – *LiChrospher*® PAH (250 mm x 3 mm, 5 μ m) e detecção por UV-Vis com arranjos de diodos (DAD) (Shimadzu SPD-M 20 A). Com essa metodologia obteve-se limite de detecção da ordem de 120 $pg\ L^{-1}$ para o Acenaftileno e 1,31 $ng\ L^{-1}$ para o Benzo[a]pireno. A curva de calibração apresentou boa linearidade para concentrações entre 5 e 400 $\mu g\ L^{-1}$, o que representa a uma faixa de concentração na amostra de 3 a 250 $ng\ L^{-1}$. Os resultados obtidos mostraram que o grau de contaminação por HPAs das águas dos rios estudados é bastante significativo, pois alguns compostos como, Benzo[a]pireno e Criseno, estão em concentrações acima dos valores máximos permissíveis estabelecidos pelo CONAMA para águas de Classe 1. Foi observado também que as maiores concentrações dos HPAs estudados coincidiram com os períodos chuvosos e sugerido que as emissões desses poluentes sejam provenientes de fontes petrogênicas.

Patrolecco *et al.*, (2010) investigaram a ocorrência de 6 dos HPAs considerados prioritários pela EPA (Fluoranteno; Benzo[b]fluoranteno; Benzo[k]fluoranteno; Benzo[a]pireno; Benzo[g,h,i]perileno e Indeno[1,2,3-cd]Pireno) em água e material em suspensão (MPS), no trecho urbano do rio Tibre (Itália). As amostras foram quantificadas utilizando a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em fase reversa acoplada com detector de fluorescência (RP-HPLC). Foi constatado que o material em suspensão era o compartimento mais poluído, com concentrações que variaram de 1663 a 15472 $ng\ g^{-1}$ (Σ 6HPAs) e, em amostras de água de 23,9 a 72,0 $ng\ L^{-1}$. Algumas proporções selecionadas indicaram que os HPAs no rio Tibre se originam principalmente de fontes pirolíticas e de emissões veiculares.

Anjos (2012) determinou HPAs em água subterrânea de postos de revenda de combustível na cidade de Natal – RN, utilizando metodologias analíticas estabelecidas pela USEPA. Os valores de Benzeno, quantificados pelo método 8021b EPA em CG-PID/FID, em amostras de água subterrânea variaram de 12,097 a 27,638 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os resultados para Naftaleno, quantificados pelo método 8270 EPA, variaram de 0,759 e 614,7 $\mu\text{g L}^{-1}$ e a maior concentração encontrada foi para benzeno (27.638,6 $\mu\text{g L}^{-1}$). Os resultados foram comparados com os valores estabelecidos pela Resolução CONAMA n° 420/2009 e cerca de 54% das amostras quantificadas se apresentaram acima dos valores de investigação.

Qin *et al.*, (2014) avaliaram os níveis residuais de 16 HPAs na água e no material em suspensão (MPS) do Lago Chaohu (China). Para a quantificação das amostras utilizaram um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas (GC/MS). Os resultados obtidos mostraram que os níveis residuais médios totais de HPAs ($\Sigma 16$) na água e no MPS foram de $170,7 \pm 70,8 \text{ ng L}^{-1}$ e $210,7 \pm 160,7 \text{ ng L}^{-1}$, respectivamente. Foi observada uma tendência sazonal da concentração de HPAs na água, que foi maior no outono e menor no inverno, porém nenhuma tendência sazonal foi observada para MPS. As principais fontes de HPAs identificadas foram a combustão de carvão e biomassa, e emissões de veículos.

Sarria-Villa *et al.*, (2016) realizaram um estudo avaliando a presença de HPAs nas águas do rio Cauca (Colômbia) e a estimativa dos riscos à saúde humana, durante períodos de chuva forte. As amostragens foram feitas antes, durante e depois de uma estação de chuvas intensas, que foram influenciadas pelo fenômeno global denominado “El niño”, que afetou países tropicais com grandes inundações. As determinações foram realizadas utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência com ultravioleta e detecção por fluorescência (HPLC/Uv-FL). As maiores concentrações obtidas foram de 4476,5 ng L^{-1} , sendo os HPAs mais detectados Fluoreno, Acenaftileno e Antraceno. Observou-se que após a estação das chuvas foram detectadas concentrações significativamente mais altas de HPAs. Os resultados obtidos foram comparados com os de outros rios em todo o mundo, considerando o mesmo compartimento ambiental, e não apresentaram concentrações de preocupação especial. Em alguns pontos de coleta, as concentrações detectadas de HPAs foram maiores do

que as referências de triagem para proteção ecológica. Os resultados obtidos para a estimativa dos riscos para a saúde humana sugeriram alguns prováveis efeitos carcinogênicos devido aos HPAs, principalmente em crianças expostas durante atividades recreativas como a natação e adultos que trabalham em extração de areia.

Lan *et al.*, (2016) determinaram 16 HPAs prioritários no sistema de águas subterrâneas do município de Chongqing (Sudoeste da China). As concentrações totais obtidas de HPAs variaram de 81,5 a 8089 ng L⁻¹ e estes níveis de concentrações foram considerados relativamente baixos quando comparados com outras áreas cársticas. Os elevados níveis de HPAs de alta massa molecular nas águas subterrâneas sugeriram fontes locais relativamente recentes de HPAs, que foram transportados para o aquífero por meio de descarga de águas residuais e vazamento de água superficial. A contaminação foi diagnosticada utilizando o método de análise de componentes principais (PCA) juntamente com o estudo das razões diagnósticas entre HPAs.

Li *et al.*, (2017) avaliaram os 16 HPAs em águas superficiais e subterrâneas do estuário do rio Amarelo (China). Os HPAs foram extraídos por SPE, utilizando cartuchos C₁₈, previamente condicionados com 5 mL de cloreto de metileno, seguido de 5 mL de metanol e 5 mL de água ultrapura. Cada amostra, com volume de 2L, foi percolada pelo cartucho em um fluxo de 10 mL min⁻¹, o extrato foi eluído com 20 mL de cloreto de metileno, e depois pré-concentrado para 2 mL em evaporador rotativo e trocado por solvente para hexano. O eluato de HPAs foi concentrado a um volume final de 1 mL e analisado por cromatografia gasosa (GC/MS). As concentrações de HPAs em águas superficiais e subterrâneas variaram de 11,84 a 393,12 ng L⁻¹ e 8,51 a 402,84 ng L⁻¹, respectivamente, indicando poluição moderada. Os resultados indicaram que as concentrações dos HPAs nas águas superficiais foram relativamente superiores às das águas subterrâneas, devido a uma diluição considerável. Os autores ressaltaram que são urgentemente necessárias as práticas de gestão para o controle das fontes poluidoras e a construção de uma rede de monitoramento e um programa para alertar sobre o aumento do risco aos HPAs.

Zhang *et al.*, (2017) analisaram 16 HPAs na água e no material em suspensão (MPS) do médio curso do rio Huai na China, utilizando a técnica de GC/MS. As concentrações médias obtidas para a somatória de HPAs ($\Sigma 16$) na água e MPS foram de 1204 ng L⁻¹, 3192 ng g⁻¹, respectivamente. As maiores distribuições de HPAs observadas na camada de água superficial e inferior da coluna d'água, possivelmente estão relacionadas com fontes de contaminação industrial local e migração de HPAs. Os principais contribuintes de HPAs no sistema aquático e no material em suspensão foram apontados como a combustão de carvão e refinaria de petróleo. Os altos riscos ecológicos dos HPAs no rio estudado destacaram as necessidades urgentes de ações corretivas.

Bicudo & Bicudo *et al.*, (2017) em seu livro “100 anos da represa Guarapiranga: Lições e desafios” realizaram um estudo da distribuição espacial dos HPAs em amostras de água superficial avaliando a qualidade das águas da represa Guarapiranga (SP). Este estudo foi de suma importância na colaboração de informações valiosas a respeito da qualidade da água de abastecimento público para a região metropolitana de São Paulo. A amostragem foi realizada em duas campanhas, em setembro/2012 e outubro/2014. Na coleta de 2012 foram quantificados os HPAs Acenafileno (entre 0,7 e 1,8), Fluoreno (entre 0,25 e 1,25 µg L⁻¹) e Pireno com valores na faixa de 0,1 µg L⁻¹ em todos os pontos de coleta. Os HPAs quantificados na coleta de 2014 foram Pireno (entre 0,07 e 0,17 µg L⁻¹), Acenafileno (entre aproximadamente 0,06 e 0,12 µg L⁻¹), e do Fluoreno (entre 0,05 e 0,07 µg L⁻¹). A razão diagnóstica Fluoreno/Pireno foi calculada para avaliar a origem da contaminação por HPAs, e esses compostos são provenientes de fontes pirogênicas, sugerindo possíveis focos de queimadas.

Santos *et al.*, (2018) avaliaram a distribuição dos HPAs, fontes, variações sazonais e riscos ecológicos em águas superficiais do rio Japarutuba em Sergipe (Brasil), utilizando a técnica analítica de GC/MS. Os resultados de HPAs obtidos variaram de 0,004 a 0,119 µg L⁻¹. Observou-se que as concentrações dos compostos estudados apresentaram diferenças significativas quando comparadas as estações seca (verão) e chuvosa (inverno). A maior parte dos HPAs originou-se de fontes pirogênicas no inverno, em contrapartida foi observada no verão uma mistura de fontes. Os níveis de concentração de HPAs obtidos foram considerados

inferiores aos encontrados em outros sistemas estuarinos. A avaliação do risco ecológico foi realizada para HPA individual baseado no quociente de risco (QR) utilizado para avaliar o risco de exposição da biota aquática por HPAs. Os resultados indicaram que o rio Japaratuba obteve um grau moderado de risco ecológico para HPAs de alto peso molecular, evidenciando a importância da identificação desses compostos carcinogênicos e mutagênicos em ecossistemas aquáticos.

4 ÁREA DE ESTUDO

4.1 Caracterização geral da área de estudo

A área de estudo selecionada para este trabalho de pesquisa é o empreendimento RMB e seu entorno, cujas instalações e infraestrutura agregadas serão construídas próximo ao Centro Experimental de Aramar do Centro Tecnológico da Marinha no estado de São Paulo (CTMSP), no município de Iperó (Figura 6). Localizado entre as coordenadas 23° 23' 33,5" Sul e 47° 37' 12,4" oeste, está situado na altura do quilômetro 10 da Estrada Municipal Bacaetava – Sorocaba, a uma distância de aproximadamente 125 km da cidade de São Paulo (MRS, 2013).

O município de Iperó possui uma área total de 170,9 km² e uma população de 36.280 habitantes (IBGE, 2018), faz fronteira com os municípios de Boituva, Porto Feliz, Sorocaba, Araçoiaba da Serra, Capela do Alto e Tatuí. As principais rodovias que dão acesso a esta região a oeste do estado são a rodovia Raposo Tavares (SP 270) e a Presidente Castelo Branco (SP 280), no sentido São Paulo – Iperó, e as rodovias BR 374 e SP 079, no sentido Iperó – Campinas (MRS, 2013).

O local do empreendimento é um platô que se encontra cerca de 580 metros acima do nível do mar, em área rural. A ocupação urbana mais próxima consiste no centro urbano de Iperó, localizada a noroeste do RMB, a uma distância de aproximadamente a 7 km, em linha reta, do empreendimento.

A área do empreendimento insere-se na Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos Tietê/Sorocaba (UGRHI – 10), especificamente na Sub-bacia do Médio Sorocaba. O principal curso d'água da região é o rio Sorocaba, sendo seus afluentes o rio ribeirão do Ferro e rio Ipanema, os mais próximos ao empreendimento.

Figura 6 - Município de Iperó e municípios vizinhos.

Fonte: adaptado de SILVA, 2018

No entorno do empreendimento são encontradas ocupações humanas espaçadas, destacando-se o assentamento Ipanema, localizado no interior da Floresta Nacional de Ipanema (FLONA).

O solo da região é composto basicamente por latossolos com caráter ácido, variando entre pH 4,0 e 5,5 (EMBRAPA, 2009; MRS, 2013).

As maiores áreas são ocupadas por áreas rurais de pequeno e médio porte, atividades agropecuárias, chácaras e áreas residenciais. As lavouras temporárias mais cultivadas são a cana de açúcar, milho em grão, mandioca, feijão, laranja, uva e banana. As principais atividades pecuárias praticadas na região são criação de gado para produção de leite e carne, criação suína para abate, aves e ovos (IEA, 2009; PERES & MARTINS, 2011; MRS, 2013).

O clima do município de Iperó é classificado como subtropical, temperado úmido com verão quente e inverno seco. A temperatura média da região é de 19,7 °C e precipitação média anual de 1177 mm (CEPAGRI, 2018).

4.1.1 Floresta Nacional de Ipanema

A Floresta Nacional de Ipanema (FLONA) está inserida em uma Unidade de Conservação de Uso Sustentável dirigida pelo IBAMA (Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis), sendo um patrimônio público desde 1998. Localizada entre os municípios de Iperó, Araçoiaba da Serra e Capela do Alto, com aproximadamente 800 metros de distância a começar do limite da propriedade do empreendimento. Apresenta locais de grande importância histórica (monumentos da primeira siderúrgica brasileira), com grande potencial para ecoturismo, pois é recoberta por um dos principais remanescentes de mata atlântica do interior do estado de São Paulo, conservada e protegida pelo Instituto Chico Mendes (ICMBIO, 2010; MRS, 2013).

Nessa área existem aproximadamente 69 espécies de mamíferos, 343 espécies de aves, 27 espécies de répteis, 36 espécies de anfíbios e 37 espécies de peixes, o que faz a região ter grande importância, pois está localizada em uma zona de tensão ecológica (ICMBIO, 2010).

Embora seja uma área protegida, muitas atividades antrópicas são realizadas como caminhadas e trilhas, além de visitação por interesse sobre fatos históricos, a fauna e a flora nativa (ICMBIO).

4.2 Reator Multipropósito Brasileiro Ë RMB

O projeto de construção e operação do Reator Multipropósito Brasileiro (RMB) teve início no ano de 2007, como escopo do Plano de Ação em Ciência Tecnologia e Inovação (PACTI) do Ministério da Ciência e Tecnologia e Inovação – MCTI (Linha de Ação 18 do PACTI 2007 – 2010). O empreendimento RMB, classificado como uma instalação nuclear, é administrado pela DPD (Diretoria de Pesquisa e Desenvolvimento) da Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) e tem como objetivo beneficiar o país com um reator nuclear de pesquisa com a finalidade de produzir radioisótopos para aplicação na indústria, saúde, agricultura e meio ambiente; irradiar materiais e combustíveis nucleares; e realizar pesquisas científicas e tecnológicas com feixes de nêutrons (MRS, 2013).

O RMB, em conjunto com as instalações do CTMSP em ARAMAR, constituirá o maior polo de tecnologia nuclear do país, com investimento previsto de 500 milhões de dólares. O empreendimento será o maior reator de pesquisa do país, abrangendo uma área com mais de 2 milhões de metros quadrados, com potência nominal de 30MW que fornecerá à classe médica o Tc-99m, certificando assim a sua autonomia e soberania no auxílio da demanda da poluição do Brasil, com probabilidade de exportação. Portanto, o RMB tem importância fundamental na área científica, tecnológica, econômica e social, proporcionando desta forma políticas públicas e objetivos estratégicos para o país (MRS, 2013).

A área do empreendimento é constituída de dois terrenos. O primeiro foi concedido à CNEN pela Marinha, este terreno é uma parte do terreno do Centro Experimental Aramar (CEA), abrangendo 1,214 milhões de metros quadrados. Nesta parte a mata nativa se encontra preservada e não há plantações. O segundo terreno foi cedido à CNEN pelo estado de São Paulo, proferido como área de interesse público para desapropriação. Este segundo terreno contém 840 mil metros quadrados e é constituído de pequenas casas, onde ocorrem atividades de cultivo, em especial cana e milho, e criações pequenas de animais, como por

exemplo, gado, aves e suínos (MRS, 2013). Na Figura 7 é possível observar os terrenos que compõem o sítio do RMB.

Figura 7 - Terrenos do sítio do RMB em ARAMAR - Iperó.

Fonte: MRS, 2013

Segundo a empresa MRS Estudos Ambientais Ltda, que foi a responsável pela elaboração do EIA-RIMA do RMB, o local de construção do empreendimento foi escolhido em virtude de possuir área suficiente para que a Zona de Planejamento de Emergência-ZPE (área externa do reator, onde o plano de emergência deve ser estabelecido na ocorrência de algum acidente) fique no interior dos limites da área escolhida. Também teve influência na escolha do local, o fato de estar afastado de grandes centros populacionais e próximo aos laboratórios de produção de radiofármacos (IPEN-CNEN/SP), minimizando assim as perdas de atividade dos radioisótopos em razão do decaimento radioativo no decorrer do transporte. O fato de estar localizado próximo a importantes rodovias (citadas anteriormente), aeroporto nas imediações para o despacho de material radioativo para vários lugares do Brasil e também para o exterior, próximo a centros

de tecnologia e indústrias avançadas de modo a auxiliar no intercâmbio técnico e o fornecimento de matérias-primas ao reator (MRS, 2013).

O período das obras de preparação do terreno e de infraestrutura básica teve início após o lançamento da pedra fundamental no dia 08 de junho de 2018, no entanto é prevista que a construção e instalação do RMB seja realizada entre 2019 e 2023.

4.3 Áreas influenciadas pelo Reator Multipróposito Brasileiro

A construção do RMB poderá não somente afetar a área de instalação do empreendimento, como também influenciar pelo menos três outras áreas distintas que são a delimitação geográfica onde ocorrem os impactos ambientais (Figura 8). Esses impactos, caso ocorram, podem ser permanentes ou temporários e as áreas são definidas como:

- Área Diretamente Afetada;
- Área de Influência Direta e;
- Área de Influência Indireta.

A área de instalação do empreendimento propriamente é classificada como ADA (Área Diretamente Afetada) e é primeiramente afetada pelos impactos produzidos no decorrer da construção e operação do RMB. A AID (Área de Influência Direta) é a área na qual a incidência dos impactos se sucedem de forma direta sobre os recursos ambientais, alterando a sua qualidade ou reduzindo sua capacidade de conservação e aproveitamento. A AI (Área de Influência Indireta) estende-se, relativamente, aos municípios de Sorocaba, Araçoiaba da Serra, Capela do alto, Tatuí e Porto Feliz e é condizente com a área onde a inserção do projeto impacta de modo indireto nos meios físicos e bióticos (bacia hidrográfica Sorocaba – Médio Tietê) e socioeconômicos (MRS, 2013).

Figura 8 - Áreas de influência da construção do RMB

Fonte: Modificado de (MRS, 2013).

4.4 Aspectos Gerais da Bacia Hidrográfica do Rio Sorocaba e Médio Tietê

A Bacia Hidrográfica do Rio Sorocaba e Médio Tietê, denominada como “Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos - UGRH 10 Tietê/Sorocaba”, está localizada na região centro-sudeste do Estado de São Paulo e abrange 34 municípios que possuem sede em seu território, sendo eles: Alambari, Alumínio, Anhembi, Araçariguama, Araçoiaba da Serra, Bofete, Boituva, Botucatu, Cabreúva, Capela do Alto, Cerquilha, Cesário Lange, Conchas, Ibiúna, Iperó, Itu, Jumirim, Laranjal Paulista, Mairinque, Pereiras, Piedade, Porangaba, Porto Feliz, Quadra, Salto de Pirapora, São Roque, Sarapuí, Sorocaba, Tatuí, Tietê, Torre de Pedra, Vargem Grande Paulista e Votorantim (SIGRH, 2018).

A Bacia hidrográfica do Rio Sorocaba/Médio Tietê faz fronteira com seis outras bacias: Jundiaí/Piracicaba/Capivari (UGRHI 5); Alto Tietê (UGRHI 6); Ribeira de Iguape/Litoral Sul (UGRHI 11); Alto do Paranapanema (UGRHI 14); Médio Paranapanema (UGRHI 17) e Tietê/Jacaré (UGHI 13). É importante destacar que a região do Médio Tietê é muito influenciada pelas bacias UGRHI 6 e UGRHI 5 que estão situadas a montante da Bacia do Sorocaba (IGC, 2014; SIGRH, 2018). Na Figura 9 é apresentada a localização da UGRHI 10 no Estado de São Paulo e as bacias com as quais faz fronteira.

Figura 9 – Localização da UGRHI 10 no Estado de São Paulo e suas bacias vizinhas.

Fonte: ICG, 2014

A UGRHI 6 lança a maior parte do esgoto não tratado que recebe da RMSP (Região Metropolitana de São Paulo) na calha do rio e as bacias da UGRHI 5 conduzem os efluentes do Município de Jundiaí e da Região Metropolitana de Campinas que desaguam no interior da UGRHI 10, conseqüentemente impactando de modo direto a qualidade e quantidade das águas do território do Médio Tietê. A UGRHI 10 juntamente com as UGRHI 5 e 6, são consideradas as bacias mais industrializadas do Estado de São Paulo e concentram aproximadamente metade da população Paulista (SIGRH, 2018).

A área da UGRHI 10 foi subdividida em seis Sub-bacias, três com drenagem para o rio Tietê e três com drenagem para o rio Sorocaba, caracterizadas como:

- **Médio Tietê Inferior** (Sub-Bacia 1): Anhembi, Bofete, Botucatu, Conchas, Pereiras, Porangaba e Torre de Pedra.
- **Médio Tietê Médio** (Sub-Bacia 2): Boituva, Cerquilha, Jumirim, Porto Feliz e Tietê.
- **Baixo Sorocaba** (Sub-Bacia 3): Alambari, Capela do Alto, Cesário Lange, Laranjal Paulista, Piedade, Quadra, Salto de Pirapora, Sarapuí e Tatuí.
- **Médio Sorocaba** (Sub-Bacia 4): Alumínio, Araçoiaba da Serra, Iperó, Mairinque, Sorocaba e Votorantim.
- **Médio Tietê Superior** (Sub-Bacia 5): Araçariguama, Cabreúva, Itu, Salto, São Roque.
- **Alto Sorocaba** (Sub-Bacia 6): Ibiúna e Vargem Grande Paulista.

4.5 Captação de água para o RMB

As captações das águas utilizadas no empreendimento RMB serão de dois sistemas. No primeiro, as águas serão captadas do rio Sorocaba durante o período de operação do RMB, com a finalidade do uso industrial, especificamente, para a torre de resfriamento com o intuito de dissipar o calor produzido no reator. No segundo, as águas serão captadas do Aquífero Tubarão (poço artesiano do subsolo do sítio do RMB), passando por Estação de Tratamento de Água (ETA), para uso humano.

Os efluentes também serão tratados por meio de uma Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) e reutilizados no RMB. Já os efluentes químicos radioativos, serão tratados em estação de tratamento químico e dirigidos para o reservatório de água de reuso (MRS, 2013).

A Figura 10 apresenta a identificação dos pontos de captação, tratamento de água e esgoto no empreendimento RMB.

Figura 10 – Arranjo geral com as estruturas de tratamento de água e esgoto.

Fonte: MRS Estudos Ambientais Ltda, 2013

4.5.1 Água superficial

A Área de Influência Indireta (AII) do empreendimento RMB compreende a Bacia Hidrográfica do Rio Sorocaba e está inserida na UGRHI 10. A Área de Influência Direta (AID) abrange a sub-bacia 4 – Médio Sorocaba incluindo a Flona e sua zona de amortecimento (MRS, 2013).

O rio Sorocaba é apontado como o principal curso d'água da região, seu curso d'água percorre dentro dos limites da AID e seus afluentes estão inseridos na Área Diretamente Afetada (ADA) sendo eles, os rios Ipanema e Ribeirão do Ferro. O Rio Ipanema, tem suas nascentes localizadas na região de Salto de Pirapora, em cotas na ordem de 700 m e deságua no rio Sorocaba com aproximadamente 12,5 km a montante do município de Iperó. O Ribeirão do Ferro percorre dentro dos limites da propriedade do RMB, abrange uma área de aproximadamente 8 km, abastece as famílias que residem na FLONA, as comunidades do Mursa e do Smith que excedem a divisa da Floresta Nacional de Ipanema (MRS, 2013).

4.5.2 Águas subterrâneas

Na área de construção e instalação do RMB, que abrange a bacia hidrográfica do rio Sorocaba, UGRHI 10, ocorrem dois grandes grupos de aquíferos hidraulicamente conectados (águas subterrâneas), isto é, os aquíferos porosos ou sedimentares, que armazenam a água na porosidade primária ou granular, e os aquíferos cristalinos, onde a água fica armazenada nos lineamentos e zonas de fraturas da rocha.

Os principais aquíferos que influenciam a região são o Tubarão, que será utilizado como fonte de captação de água, e o Guarani, constituídos por terrenos Sedimentares e os aquíferos Serra Geral e Pré-Cambriano, formados basicamente por terrenos Fraturados. No Aquífero Pré-Cambriano estão inseridas duas bacias sedimentares de idade terciária, a de Taubaté e a de São Paulo (MRS, 2013).

Aquífero Tubarão

A espessura do aquífero, na sua porção aflorante, pode alcançar cerca de 800 m. Cerca de 853 poços do DAEE encontram-se uniformemente distribuídos na área do aquífero. A capacidade específica, disponível para 765 poços entre os selecionados, oscila entre 0,002 e 4,67 m³/h/m (DAEE *et al.*, 2005; MRS, 2013).

As águas deste aquífero são consideradas adequadas ao abastecimento público e uso geral, sendo fracamente salinas, bicarbonatadas sódicas e secundariamente bicarbonatadas cálcicas ou mistas. O pH varia de 4,8 a 8,9 e o resíduo seco de 21 a 421 mg L⁻¹.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Equipamentos

Todos os equipamentos utilizados neste trabalho de pesquisa são parte integrante do Laboratório de Análises Química e Ambiental (LAQA) do Centro de Química e Meio Ambiente (CQMA) do IPEN/CNEN-SP. No desenvolvimento desse trabalho foram utilizados os equipamentos descritos a seguir.

Ultrassom e Cuba de Extração

Para extração de HPAs presentes em amostras de material em suspensão na coluna d'água foi utilizado um banho de ultrassom, marca LimpSonic, modelo LS-8D-2/X, 220V e frequência de 40 kHz (Figura 11).

Figura 11 – Banho de Ultrassom.

Fonte: Autor da dissertação.

Na extração por SPE foi utilizada uma cuba de extração à vácuo da marca Supelco, modelo VISIPREP™ 24 (Figura 12).

Figura 12 - Cuba de extração a vácuo e cartuchos SPE C₁₈.

Fonte: Autor da dissertação.

Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (HPLC)

Para a determinação dos HPAs contidos nas amostras foi utilizado um Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (HPLC), marca Shimadzu (Figura 13), modelo LC 20AT, acoplado a um detector UV-Vis modelo SPD 20A, marca Shimadzu, controlado pelo programa de aquisição de dados LabSolutions, também da Shimadzu.

Foi utilizada uma coluna de fase reversa modelo Supelcosil, com dimensões de 4,6 mm de diâmetro, 25 cm de comprimento e tamanho de partícula de 5 µm e porosidade de 120 Å, da marca Supelco, preenchida com C₁₈ (Octadecil),

que suportam pressões relativamente altas e possuem alta estabilidade e eficiência para partículas pequenas.

Figura 13 - Cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC) utilizado neste trabalho.

Fonte: Autor da dissertação.

Sistema de filtração

Para filtração das amostras de água subterrânea e superficial foi utilizado um sistema de filtração a vácuo da marca *Sartorius* (Figura 14), com capacidade para 1.000 mL e foram utilizadas membranas filtrantes PTFE (Politetrafluoretileno) 0,45µm da marca Millex™.

Figura 14 - Sistema de filtração a vácuo utilizando membranas filtrantes PTFE 0,45µm de porosidade.

Fonte: Autor da dissertação.

Outros equipamentos

- Compressor/aspirador da marca FANEM, Dia pump (089-CAL) com potência de 550W;
- Centrífuga microprocessada de bancada, com velocidade máxima de 3200 rpm, modelo NT-810, marca Nova Técnica;
- Equipamento de purificação de água por Osmose reversa, marca ELIX 3, modelo Millipore;
- Equipamento de purificação de Água Tipo 1, Marca Gehaka, modelo MASTER P&D;
- Pipetas volumétricas da marca EPPENDORF de 100 a 1000 µL; 10 a 100 µL e 20 a 200 µL;
- Vidrarias básicas de laboratório analítico.

5.2 Reagentes e soluções

Os solventes utilizados para a preparação das amostras e extração dos compostos foram: tetrahidrofurano (THF), acetona e acetonitrila (ACN), todos com alto grau de pureza HPLC ou resíduo. A fase móvel empregada no equipamento foi acetonitrila (ACN) e água tipo 1. Para a descontaminação das vidrarias foi utilizada solução nitro sulfônica e no enxague foi utilizada água tipo 1. No preparo de diluições foi utilizada uma solução de acetonitrila e água tipo 1.

Uma solução mista de padrão analítico dos 14 HPAs estudados com certificado de pureza (>99%) de procedência Aldrich Chemical Co, em diferentes concentrações de acordo com a sensibilidade dos compostos, foi utilizada para a construção das curvas de calibração, adaptação e validação da metodologia. A solução mista estoque (SE) foi preparada por diluição da solução padrão original (ampola de 1 mL) em acetonitrila com volume final de 10 mL. A solução mista de trabalho (ST) foi preparada em acetonitrila e água (1:1), com diluição de 1/10 da solução estoque (SE). A solução mista diluída (SDil) foi preparada também em ACN:H₂O (1:1), com diluição de 1/10 a partir da solução de trabalho (ST). Todas as soluções foram feitas em um balão volumétrico de 10 mL (devidamente calibrados), e mantidas sob refrigeração e ao abrigo de luz. Na Figura 15 é possível visualizar melhor as etapas de preparação das soluções dos padrões utilizados.

Figura 15 - Preparo de soluções padrões

Fonte: Autor da dissertação.

Os ensaios de validação e as curvas de calibração foram elaborados a partir da Solução de Trabalho – ST e da Solução Diluída – Sdil, dependendo da concentração desejada e as concentrações finais utilizadas podem ser observadas na Tabela 8.

Tabela 8 – Concentrações finais das soluções padrão (em $\mu\text{g mL}^{-1}$), dos 14 HPAs estudados, utilizadas na elaboração das curvas de calibração e nos ensaios de validação da metodologia.

HPAs	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9
Acenaftileno	0,0099	0,025	0,049	0,099	0,247	0,494	0,988	1,235	2,471
Fluoreno	0,0020	0,005	0,010	0,020	0,050	0,099	0,199	0,248	0,497
Acenafteno	0,0198	0,049	0,099	0,198	0,495	0,990	1,980	2,475	4,950
Fenantreno	0,0008	0,002	0,004	0,008	0,020	0,040	0,079	0,099	0,198
Antraceno	0,0004	0,001	0,002	0,004	0,010	0,020	0,039	0,049	0,098
Fluoranteno	0,0010	0,003	0,005	0,010	0,025	0,050	0,100	0,125	0,251
Pireno	0,0020	0,005	0,010	0,020	0,050	0,099	0,198	0,248	0,496
Criseno	0,0010	0,002	0,005	0,010	0,025	0,050	0,100	0,125	0,249
Benzo(b)Fluoranteno	0,0004	0,001	0,002	0,004	0,010	0,020	0,039	0,049	0,099
Benzo(k)Fluoranteno	0,0004	0,001	0,002	0,004	0,010	0,021	0,041	0,051	0,103
Benzo(a)Pireno	0,0010	0,002	0,005	0,010	0,025	0,050	0,100	0,125	0,249
Dibenzo(a,h)Antraceno	0,0039	0,010	0,020	0,039	0,098	0,197	0,394	0,492	0,985
Indeno[1,2,3-c,d]Pireno	0,0010	0,002	0,005	0,010	0,025	0,049	0,098	0,123	0,246
Benzo(ghi)perileno	0,0016	0,004	0,008	0,016	0,040	0,079	0,158	0,198	0,396

5.3 Coleta de amostras

O procedimento de coleta e a determinação dos parâmetros de campo foram executados em conjunto com a equipe do IRD e CDTN. Os parâmetros físicos químicos medidos em campo são constituintes do Programa de Monitoração Radiológica Ambiental – Pré-Operacional – Fase: Reator Multipropósito Brasileiro – RMB, coordenado pela Dra. Sueli da Silva Peres do IRD.

A coleta das amostras de água para determinação dos HPAs avaliados nessa dissertação foi realizada conforme recomendação do guia de coletas ANA & CETESB (2011) por um grupo composto de alunos e funcionários do IPEN, CDNT e coordenada pelo Instituto de Radioproteção e Dosimetria (IRD).

As amostras de água superficial foram coletadas, com o auxílio de um recipiente de polímero com capacidade de 11 litros e foram transferidas através de um funil acoplado a uma rede filtrante para frascos de vidro âmbar previamente descontaminados tampados com papel alumínio e vedados com a tampa. As coletas das amostras de água subterrânea foram realizadas utilizando bombas. Foram coletados 4 litros de amostras de cada ponto de coleta, sendo 1 L litro utilizado para análise e os demais para testes e elaboração das curvas de calibração.

As amostras foram devidamente identificadas, com a descrição do ponto e a data, foram preservadas em isopor com gelo para transporte. Ao chegar ao laboratório as amostras coletadas foram filtradas a vácuo, à temperatura ambiente em membranas PTFE de 0,45 µm e foram mantidas sob refrigeração em prazo pré-estabelecido para a realização das análises.

As amostras de água superficial foram coletadas com o auxílio de um recipiente de polipropileno e as amostras de água subterrâneas foram coletadas utilizando bombas. Foram coletados 4 litros de amostras de cada ponto de coleta para análises, testes e elaboração das curvas de calibração.

As coletas foram realizadas em quatro períodos diferentes:

- Outubro de 2016 (1ª coleta), nos dias 3, 4 e 5;
- Junho de 2017 (2ª coleta) – nos dias 19, 20 e 21;
- Outubro de 2017 (3ª coleta) - nos dias 16, 17 e 18;
- Dezembro de 2017 (4ª e última coleta) - nos dias 4, 5 e 6.

Os pontos de amostragem de água subterrânea e superficial selecionados foram os mesmos adotados pela Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN) no Programa de monitoração Radiológica ambiental Pré-operacional do RMB – PMRA (CNEN, 2012).

A seleção dos pontos de amostragem foi definida conforme os seguintes critérios: Características do fluxo de água subterrânea na região de interesse; Características gerais dos corpos de água superficial local; Ocupação e usos dos recursos naturais (solo e águas); Dados do local do RMB extraídos dos censos

demográfico e agropecuário oficiais, segundo estudo do Labgene do Centro Tecnológico da Marinha – São Paulo (CTMSP) e outras informações disponíveis na literatura e Infraestrutura existente no local (MRS, 2013).

Na Tabela 9 são apresentadas as características e descrições dos pontos de coleta, bem como as identificações dos locais de amostragem, a identificação nova (código do ponto no projeto), as antigas estabelecidas no projeto inicial e as coordenadas geográficas (UTM).

Tabela 9 – Identificação e descrição dos pontos de coleta.

Tipo	Código do ponto no projeto	Identificação do local da amostra	Descrição da localização	Coordenadas Geográficas UTM
Água de Superfície	001RMB	PC2	Ribeirão do Ferro, a montante do empreendimento	23°24'17.491"S 47°37'30.187"W
	002RMB	P6	Ribeirão do Ferro, a jusante do empreendimento	23°23'18.71"S 47°37'0.93"W
	003RMB	P8	Rio Sorocaba, a montante do ponto de descarga do ribeirão do ferro, após o ponto de descarga do rio Ipanema no rio Sorocaba	23°21'55.76"S 47°36'54.27"W
	004RMB	P7	Rio Sorocaba, a jusante do ponto de descarga do ribeirão do Ferro	23°21'39.40"S 47°36'1.05"W
	005RMB	LAGO	Fazenda São Benedito (Lago)	23°22'00.03"S 47°37'24.43"W
	006RMB	IBAMA	Nascente Córrego Ibama	23°23'25.00"S 47°37'30.59"W
Água Subterrânea	007RMB	PC3-120m	Ponto de Controle a montante do empreendimento, Fazenda Ipanema – Poço Lago (± 120 m)	23°25'36.55"S 47°35'59.03"W
	008RMB	PC3-130m	Ponto de Controle a montante do empreendimento, Fazenda Ipanema – Poço Viveiros (± 130 m)	23°25'40.78"S 47°35'51.46"W
	009RMB	P9	Fazenda São Benedito – a jusante do empreendimento	23°22'8.56"S 47°37'22.05"W
	010RMB	SABESP	Entrada de água na SABESP/Sarapuí	23°38'35.76"S 47°49'40.47"W

Na Figura 16 é apresentada uma foto de satélite da região com a localização dos pontos de amostragem na área estudada (A) e a localização do ponto SABESP/Sarapuí (B), sendo o ponto de coleta mais afastado do empreendimento, que é um ponto de controle do Programa de Monitoração Radiológica Ambiental Pré-Operacional do RMB-PMRA (CNEN, 2012).

Figura 16 – (A) Localização dos pontos de amostragem na área de estudo e (B) localização do ponto SABESP/Sarapuí.

Fonte: adaptado de SILVA, L. (2018).

5.3.1 Descrição dos pontos de coleta

A seguir são descritas as principais características dos seis pontos de água superficial e dos quatro pontos de água subterrânea estudados.

Água superficial

PC2 (001RMB)

O Ponto PC2 (Figura 17), código do projeto para água superficial 001RMB, fica localizado no Ribeirão do Ferro, a montante do empreendimento. É uma área constituída de vegetação abundante e mata ciliar, com algumas residências próximas ao seu entorno e ruas de terra com frequente tráfego de carros, porém não intensos.

Figura 17 – Fotos da área e do entorno do ponto PC2 (001RMB).

Fonte: a autora.

P6 (002RMB)

O ponto P6, código do projeto para água superficial 002RMB, está situado no Ribeirão do Ferro a jusante do empreendimento. É um ponto com mata

ciliar e possui estrada próxima com tráfego intenso, como pode ser observado na Figura 18.

Figura 18 – Fotos da área e do entorno do ponto P6 (002RMB).

Fonte: a autora.

P8 (003RMB)

O ponto P8, código do projeto para água superficial 003RMB, apresentado na Figura 19, fica localizado no rio Sorocaba, a montante do ponto de descarga do Ribeirão do Ferro. O entorno dessa região é caracterizado por plantações de milho, laranja, cana e mata ciliar. Neste ponto, o Rio Sorocaba possui peixes e exala um odor forte de enxofre. Ainda foram observadas fezes de animais,

como a capivara, e a presença de diferentes tipos de lixo como garrafas PET, outros plásticos e papéis.

Figura 19 – Fotos da área e do entorno do ponto P8 (003RMB)

Fonte: a autora.

P7 (004RMB)

O ponto P7, código do projeto para água superficial 004RMB, está localizado no rio Sorocaba, a jusante do ponto de descarga do rio Ribeirão do Ferro. O seu entorno é caracterizado por uma ampla área de pastagem e residências (Figura 20).

Figura 20 – Fotos da área e do entorno do ponto P7 (004RMB).

Fonte: a autora.

LAGO (005RMB)

O ponto LAGO, código do projeto para água superficial 005RMB, está situado no lago da Fazenda São Benedito e durante as campanhas de coleta, apenas a equipe do IRD teve acesso à área.

IBAMA (006RMB)

O ponto IBAMA, código do projeto para água superficial 006RMB, apresentado na Figura 21, está localizado na Nascente do Córrego Ibama próximo

à área do RMB, seu entorno é caracterizado por estradas de terras, sem residências, cercado por vegetação e pastagem.

Figura 21 – Fotos da área e do entorno do ponto IBAMA (006RMB).

Fonte: Modificado de STELLATO, 2017.

Água subterrânea

As águas dos quatro pontos de água subterrânea amostrados são normalmente usadas para o consumo humano.

PC3-120 (007RMB)

O ponto PC3-120m, código do projeto para água subterrânea 007RMB (Figura 22), fica localizado dentro da fazenda Ipanema, a montante do empreendimento e muito próximo do lago existente na FLONA (Floresta Nacional

Ipanema). Este ponto é caracterizado por um poço com profundidade de aproximadamente 120 metros e a água é captada com o auxílio de bombas

Figura 22 – Fotos da área e do entorno do ponto PC3-120m (007RMB).

Fonte: a autora.

PC3-130m (008RMB)

O ponto PC3-130m, código do projeto para água subterrânea 008RMB, está situado na Fazenda Ipanema, a montante do empreendimento (Figura 23). É caracterizado por um poço com aproximadamente 130 m de profundidade, também conhecido como Viveiro e encontra-se o cultivo de hortaliças no ponto de coleta.

Figura 23 – Fotos da área e do entorno do ponto PC3-130m (008RMB).

Fonte: STELLATO, 2017.

P9 (009RMB)

O ponto P9, código do projeto para água subterrânea 009RMB, fica localizado na Fazenda São Benedito, a jusante do RMB e somente a equipe do IRD teve acesso à área durante as campanhas de coleta.

SABESP (010RMB)

O ponto SABESP, código do projeto para água subterrânea 010RMB, está localizado na cidade de Sarapuí, a montante do RMB. Este ponto de controle é considerado o local de amostragem mais distante do empreendimento e trata-se da entrada de água da SABESP para o abastecimento da cidade.

5.4 Preparo das amostras de água e material em suspensão

Como já citado anteriormente, as amostras coletadas foram filtradas a vácuo, à temperatura ambiente em membranas PTFE de 0,45 μm , para retenção dos sólidos em suspensão na coluna d'água. As membranas filtrantes contendo o material em suspensão retido foram devidamente separadas para análises e validação da metodologia.

Às amostras de água foi adicionado co-solvente (acetona) na proporção de 40% em volume, para diminuir a probabilidade de adsorção dos HPAs nas paredes do frasco de amostragem, o que poderia comprometer sua quantificação. Logo após a adição do co-solvente, as amostras de água foram percoladas em cartuchos SPE C₁₈ para concentração e extração dos compostos de interesse (Brito, 2009).

5.4.1 Método de extração em Fase Sólida (SPE) para determinação de HPAs em água

Na determinação dos compostos estudados neste trabalho em matriz de água, foi utilizado o método desenvolvido e validado por Brito (2009), descrito a seguir.

Inicialmente foi realizado o condicionamento do cartucho SPE-C₁₈ com 10 mL de H₂O pura (tipo 1) e em seguida com 10 mL da solução de água tipo 1/Acetona, 30% em volume, ficando em contato com a fase sólida do cartucho por aproximadamente 1 minuto cada (Brito, 2009).

A amostra previamente filtrada e adicionada de co-solvente foi percolada pelo cartucho em um fluxo de aproximadamente 3 a 4 mL min⁻¹ e o eluído descartado. O *clean-up* do cartucho foi feito com 10 mL de H₂O pura (tipo 1), seguido de 5 minutos de secagem a vácuo e posterior centrifugação do cartucho por 25 minutos a 2.500 rpm para eliminação da água (Brito, 2009).

Após a centrifugação foi realizada a eluição dos analitos com 4 mL (4 x 1 mL) da solução Tetrahidrofurano/Acetona (1:1) em seguida o extrato foi seco em fluxo suave de N₂ (menor que 30 mL min⁻¹) até aproximadamente 0,5 mL e retomado em 2 mL de solução ACN/H₂O (1:1), filtrado em filtro tipo seringa de 0,45 µm e por fim analisado por HPLC na metodologia previamente estabelecida (Brito, 2009).

5.4.2 Método para extração de HPAs em amostras de material em suspensão retido na membrana de filtração

O método para a determinação de HPAs no material em suspensão das amostras de água foi desenvolvido por Rosa (2013) em seu trabalho de iniciação

científica. Este método foi desenvolvido com o intuito de avaliar as possíveis perdas no processo de preparação das amostras, principalmente durante a filtração, em razão dos compostos de interesse possuírem maior afinidade com o material em suspensão que fica retido nas membranas filtrantes (Brito, 2009). O referido método não havia sido validado no momento de seu desenvolvimento, desta forma foi realizado o processo de validação neste trabalho de mestrado.

Inicialmente, colocou-se em um *erlenmeyer* as membranas equivalentes à filtração de 1L de água e foram adicionados 10 mL da mistura de acetona/tetrahidrofurano (1:1). Durante o procedimento, o *erlenmeyer* foi fechado com papel alumínio para evitar perdas e contaminação das amostras, em seguida a amostra foi submetida à extração em banho de ultrassom por 3 horas (Brito, 2009; Rosa, 2013).

O extrato sobrenadante foi transferido para um tubo FALCON de Polipropileno, com capacidade de 50 mL, e centrifugado por 15 minutos a 2500 rpm. Ao sobrenadante foi adicionada H₂O pura (tipo 1) para se obter uma concentração da solução tetrahidrofurano/acetona em torno de 40% em volume da mistura do solvente em água (Brito, 2009).

O extrato diluído foi extraído em cartuchos SPE-C₁₈ utilizando o mesmo procedimento para as amostras de água, apresentado anteriormente no item 5.4.1 do presente capítulo. Um fluxograma do processo de preparação da amostra pode ser observado na Figura 24.

Figura 24 - Fluxograma das etapas de determinação de HPAs em amostra de material em suspensão.

Fonte: a autora.

5.5 Análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

Os compostos estudados foram analisados por HPLC com detecção por Uv/vis, utilizando gradiente otimizado para determinação dos HPAs, com fase móvel A (H₂O) e fase B (Acetonitrila) de acordo com os parâmetros cromatográficos descritos a seguir (BRITO, 2009):

Parâmetros cromatográficos

Gradiente: 0 a 2 minutos - 40% da fase A e 60% da fase B;
 2 a 20 minutos - 15% da fase A e 85% da fase B;
 20 a 28 minutos - 100% da fase B;

Fluxo da fase móvel: 1,5 mL min⁻¹;

Pressão máxima: 280 kgf.cm⁻²

Volume de injeção: 20 µL;

Detector: SPD 20A Uv/Vis da Shimadzu com comprimento de onda de 254 nm.

Descrição da coluna cromatográfica

Coluna LC-C₁₈ recheada com octadecil;

Comprimento: 25 cm;

Diâmetro Interno: 4,6 mm;

Fabricante: PROMOSIL.

5.6 Validação da metodologia analítica para o material em suspensão

A metodologia de extração dos HPAs na matriz de material em suspensão da coluna d'água retido nas membranas filtrantes foi desenvolvida no período de Iniciação Científica de uma das alunas do grupo de pesquisas e foi revisada e adaptada no início deste trabalho de mestrado. Com o intuito de demonstrar que a metodologia desenvolvida é adequada para o uso pretendido, assegurar a qualidade das análises instrumentais e a confiabilidade dos dados gerados, o método foi submetido ao processo de validação. A validação segue as orientações do documento DOQ-CGCRE-008 do INMETRO (2018), e os parâmetros avaliados foram: seletividade, linearidade, faixa linear de trabalho, limites de detecção e quantificação, precisão, exatidão e recuperação.

Uma solução mista dos padrões analíticos dos compostos estudados foi utilizada na preparação das soluções de trabalho, sendo realizadas 8 diluições de diferentes concentrações para a realização dos ensaios de validação em solvente e na matriz do material em suspensão. As faixas de concentração, utilizadas para cada composto estudado, podem ser observadas na Tabela 8 apresentada no item 5.2 desta dissertação de mestrado.

Devido à ausência de uma matriz padrão ou matriz de referência isenta dos analitos de interesse, foi utilizada uma mistura de amostras de águas coletadas nos pontos P6, PC3-130m e PC3-120m, em outubro de 2016, por serem considerados os mais limpos e livres da presença de interferentes nos tempos de

retenção dos compostos estudados e que retratam as condições das amostras como um todo. Este procedimento proporciona um meio mais próximo do que é encontrado nas amostras, o que torna o processo de validação mais apropriado à realidade.

A preparação das amostras para o ensaio de validação do método para matriz de material em suspensão foi realizada conforme o procedimento estabelecido no item 5.4.2 desta dissertação. Foram feitas quatro extrações, sendo utilizadas quatro membranas para cada litro da mistura citada (P6, PC3-130m e PC3-120m, em outubro de 2016) contendo material em suspensão retido de amostras de água filtrada. Os eluatos obtidos no final de cada extração foram homogeneizados em um mesmo frasco, resultando em uma única solução representativa dos quatro pontos utilizada como matriz de validação.

O volume final de aproximadamente 16 mL de extrato obtido como matriz de validação para as membranas foi dividido em 10 alíquotas iguais e concentrado em fluxo suave de nitrogênio (menor que 30 mL min^{-1}) até aproximadamente $0,5 \text{ mL}$ em cada tubo. Em seguida as oito alíquotas foram fortificadas com os respectivos volumes da solução mista padrão para obtenção das oito concentrações definidas das soluções de trabalho (Tabela 8) para cada analito. Duas alíquotas foram escolhidas como o branco da matriz, ou seja, a solução de validação sem fortificação. Todas as alíquotas foram avolumadas para com solução de ACN/H₂O (1:1).

Para o estudo sem matriz, foi preparado um conjunto de soluções com as mesmas oito faixas de concentrações, apenas com a mistura dos solventes ACN/H₂O (1:1). As injeções dos níveis de concentração adicionados em matriz e somente em solvente foram realizadas em setuplicatas, considerado um número de experimentos estatisticamente significativo ($n=7$).

As áreas resultantes da integração dos picos obtidos pelo método cromatográfico foram utilizadas nos cálculos estatísticos da seletividade, linearidade, limites de detecção e quantificação, exatidão e precisão.

5.6.1 Seletividade

Para a determinação da seletividade foram utilizados diferentes testes e suas estatísticas correspondentes. O respectivo parâmetro foi avaliado primeiramente por comparação visual dos cromatogramas obtidos pela análise das oito soluções padrão com e sem matriz, observando-se a separação dos 14 compostos estudados e também o comportamento das curvas analíticas pela sobreposição das retas.

Posteriormente, a partir das áreas das setuplicatas foram aplicados os testes estatísticos de homogeneidade das variâncias teste F (Snedecor), teste t (Student) de significância das diferenças das médias, teste de inclinação e paralelismo e teste do intercepto (também pelo t Student). Por intermédio desses testes estatísticos os valores de F e t foram calculados para cada composto estudado e em cada uma das concentrações. Os valores obtidos de F e t calculados foram comparados com valores de F e t tabelados, com o intuito de averiguar se os valores calculados se encontram acima ou abaixo dos valores tabelados, assim demonstrando se a matriz interfere ou não na precisão do método.

5.6.2 Linearidade e faixa de trabalho

Na avaliação do parâmetro Linearidade foi considerado o coeficiente de determinação (r^2) das curvas de calibração (curva na matriz de validação do material em suspensão na coluna d'água e sem matriz), o teste t para a verificação do desvio da linearidade de cada ponto de concentração e a avaliação dos gráficos de distribuição espacial dos resíduos absolutos em função da concentração e em função da probabilidade normalizada dos resíduos para cada composto avaliado na matriz de material em suspensão na coluna d'água. Os dados utilizados nos cálculos estatísticos para verificação da linearidade foram os mesmos utilizados na avaliação do parâmetro seletividade.

Para realizar os cálculos da concentração dos analitos, foi utilizada a equação da reta (equação 6) apresentada no item 3.1.4 desta dissertação.

A linearidade foi avaliada pelos coeficientes de determinação, r^2 , e por meio dos gráficos de distribuição espacial de resíduos absolutos pela concentração

e pela probabilidade normalizada de cada resíduo, obtidos por meio da equação 7 do item 3.1.4 desta dissertação.

Foram verificados os ajustes ao modelo linear pela análise da variância (*Analysis Of Variance*, ANOVA), onde calculou-se a porcentagem máxima de variação explicável para os dados experimentais e a porcentagem de variação explicada (r^2). A regressão e ajuste ao modelo linear foi verificada pelo teste F.

A Faixa Linear de Trabalho de um método consiste no intervalo entre os níveis de menor e maior concentração do analito. Devem ser utilizadas faixas de trabalho dentro das quais os valores que se esperam ser obtidos nas amostras ensaiadas. Se um resultado possuir concentrações muito baixas, é fundamental que os valores sejam diferentes dos brancos analisados, para expressar os resultados apurados próximos ao limite inferior (BRITO, 2009; INMETRO, 2018). Para avaliação deste parâmetro, foram utilizados os mesmos conjuntos de dados utilizados para Seletividade.

5.6.3 Limite de detecção (LD)

O LD foi calculado pela média das medidas de 7 replicatas da concentração mais baixa do ensaio com matriz, mais o valor da abscissa t(Student) para (n-1) graus de liberdade com 95% de confiança multiplicado pelo desvio padrão obtido para essa concentração, de acordo com a equação 8 do item 3.1.4 desta dissertação.

5.6.4 Limite de quantificação (LQ)

O LQ foi obtido por meio das médias geradas pelas 7 replicatas da menor concentração dos experimentos realizados com matriz, mais cinco vezes o desvio padrão que foi obtido pelas mesmas, conforme equação 9 do item 3.1.4 desta dissertação.

5.6.5 Exatidão

A exatidão foi verificada por meio do teste Z e pelos ensaios de recuperação com utilização de material de referência, aplicando a metodologia estabelecida, de acordo com a equação 13 do item 3.1.4 desta dissertação

5.6.6 Precisão

A precisão foi verificada por meio do coeficiente de variação e pelo cálculo dos limites de repetibilidade (r) e de reprodutibilidade (R), utilizando os resultados de ensaios independentes, realizados pelo mesmo analista, no mesmo equipamento, em dias diferentes, em triplicata e em três níveis de concentração: baixa (primeiro ponto da faixa de trabalho), média (concentração no meio da faixa) e alta (último ponto da faixa de trabalho). Estes cálculos foram realizados por meio das equações 10 a 12 do item 3.1.4 desta dissertação.

5.6.7 Recuperação

Os testes de recuperação foram realizados por de adição de padrão nas amostras antes da extração em fase sólida, seguindo-se o procedimento estabelecido, descrito no item 5.4.2, em triplicata e em três níveis de concentração: baixa (primeiro ponto da faixa de trabalho), média (concentração no meio da faixa) e alta (último ponto da faixa de trabalho). O cálculo de recuperação foi realizado segundo equação 14 do item 3.1.4 desta dissertação.

5.6.8 Estimativa das incertezas de medição

Na identificação das principais fontes de incertezas associadas foi utilizado o diagrama de causa efeito (Espinha de peixe ou Ishikawa) apresentado na Figura 4 do item 3.1.4 desta dissertação.

As fontes de incertezas identificadas foram as associadas à curva de calibração, ao fator de recuperação do analito, ao volume inicial e ao volume final. As fontes envolvidas no cálculo de incerteza para a curva de calibração estão associadas à área de resposta de cada analito, à preparação da solução padrão e as diluições das soluções. A estimativa de incerteza de medição foi calculada de acordo com as equações 15 a 24 do item 3.1.4 desta dissertação, utilizando uma planilha desenvolvida por Martins (2010) baseada nas orientações do Guia Eurachem (2002).

5.6.9 Revalidação da metodologia analítica para matriz de águas

Como a metodologia para a determinação de HPAs em matriz de água já havia sido previamente desenvolvida e validada por Brito (BRITO, 2009; 2014; BRITO *et al.*, 2009), nesta dissertação de mestrado foram revalidados apenas os parâmetros básicos como, linearidade, precisão e exatidão, baseados no documento de validação do INMETRO (INMETRO, 2018).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da validação do método para extração dos HPAs presentes no material em suspensão estão apresentados no item 6.1. Os resultados das análises das amostras estão apresentados no item 6.2.

6.1 Resultados dos testes para validação da metodologia em matriz de material em suspensão

Para a maioria dos ensaios de validação foram utilizadas as soluções de trabalho apresentadas na Tabela 8 do item 5.2 desta dissertação de mestrado.

6.1.1 Resultados para seletividade

A seletividade da metodologia foi inicialmente avaliada pelo cromatograma da solução mista de HPAs no método definido. Na Figura 25 pode-se observar a boa separação dos picos dos HPAs, cujas concentrações estão entre 0,025 e 0,1 $\mu\text{g mL}^{-1}$, dependendo do composto.

Figura 25 - Cromatograma da solução mista dos HPAs estudados nas concentrações referentes ao penúltimo ponto da faixa de trabalho estudada.

O efeito das matrizes sobre o método foi avaliado por testes estatísticos específicos. Pela aplicação do teste F (*Snedecor*) foi analisada a homogeneidade das variâncias nas medidas de adição padrão nas soluções sem matriz (somente na mistura de solvente ACN:H₂O) e na matriz de material em suspensão da coluna d'água, utilizando um número estatisticamente significativo de replicatas ($n=7$) e 95% de confiança. Os resultados de $F_{\text{calculados}}$ obtidos pela equação 1 do item 3.1.4 desta dissertação, para a maioria das concentrações de todos os compostos estudados, foram menores que o valor crítico $F_{(6,6,95\%)}=4,28$ evidenciando que, estatisticamente, a matriz não tem efeito sobre a precisão do método.

O teste de significância das diferenças das médias, ou teste t (*Student*), também foi aplicado nos dois grupos de soluções (com e sem matriz), de acordo com a equação 2 e, assim como no teste F, na matriz considerada na maioria das concentrações avaliadas os valores de $t_{\text{calculado}}$ foram menores que o t_{tabelado} , comprovando que para a quantificação dos analitos pode-se utilizar uma curva de calibração preparada na própria amostra, ou em matriz semelhante, ou simplesmente no solvente uma vez que provavelmente não existirá diferença significativa nos resultados obtidos frente a uma curva preparada somente na solução de solventes. Os resultados obtidos para os testes F_{Snedecor} e t_{Student} na matriz de material em suspensão da coluna d'água estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 – Resultados para o teste de seletividade (teste F, $n = 7$ e $F_{\text{tabelado } 6,6, 95\%} = 4,28$) e teste t (*Student* $t_{12, 95\%} = 2,179$) dos 14 HPAs estudados na matriz de material em suspensão.

ACENAFTILENO								
Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,010	0,025	0,049	0,099	0,247	0,988	1,235	2,471
$F_{\text{calculado}}$ (<i>Snedecor</i>)	0,96	0,44	2,04	0,19	0,87	2,25	5,00	6,57
$t_{\text{calculado}}$ (<i>Student</i>)	0,02	0,02	2,18	1,27	10,25	33,26	12,47	10,13
FLUORENO								
Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,002	0,005	0,010	0,020	0,050	0,199	0,248	0,497
$F_{\text{calculado}}$ (<i>Snedecor</i>)	0,97	2,31	7,52	2,57	6,07	3,02	2,61	1,32
$t_{\text{calculado}}$ (<i>Student</i>)	0,01	0,02	0,55	18,97	11,40	26,61	5,35	8,91
ACENAFTENO								
Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,020	0,049	0,099	0,198	0,495	1,980	2,475	4,950
$F_{\text{calculado}}$ (<i>Snedecor</i>)	0,94	0,74	0,74	4,26	1,07	0,33	3,28	2,01
$t_{\text{calculado}}$ (<i>Student</i>)	0,04	0,03	5,26	0,12	1,47	1,06	25,91	2,56
FENANTRENO								
Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,002	0,004	0,008	0,020	0,040	0,079	0,099	0,198
$F_{\text{calculado}}$ (<i>Snedecor</i>)	0,11	0,08	0,04	0,61	0,03	0,02	0,24	0,08
$t_{\text{calculado}}$ (<i>Student</i>)	1,12	0,16	0,10	0,04	5,80	0,38	0,66	0,15
ANTRACENO								
Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,0004	0,001	0,002	0,004	0,010	0,039	0,049	0,098
$F_{\text{calculado}}$ (<i>Snedecor</i>)	0,97	2,96	0,47	1,53	1,27	4,39	5,37	6,18
$t_{\text{calculado}}$ (<i>Student</i>)	0,01	0,01	12,51	4,80	7,79	16,75	17,86	20,73
FLUORANTENO								
Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,003	0,005	0,010	0,025	0,050	0,100	0,125	0,251
$F_{\text{calculado}}$ (<i>Snedecor</i>)	1,74	0,74	0,81	7,26	1,88	2,33	2,72	0,53
$t_{\text{calculado}}$ (<i>Student</i>)	16,61	17,02	11,26	9,78	11,82	18,15	10,73	10,86
PIRENO								
Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,002	0,005	0,010	0,020	0,050	0,198	0,248	0,496
$F_{\text{calculado}}$ (<i>Snedecor</i>)	0,99	4,11	0,04	0,01	0,0004	2,72	63,76	18,82
$t_{\text{calculado}}$ (<i>Student</i>)	0,01	0,02	0,77	0,83	0,42	29,73	12,56	49,05
CRISENO								
Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,001	0,002	0,005	0,010	0,025	0,100	0,125	0,249
$F_{\text{calculado}}$ (<i>Snedecor</i>)	0,98	8,27	0,53	0,49	27,50	4,70	0,78	2,99
$t_{\text{calculado}}$ (<i>Student</i>)	0,01	0,01	4,96	0,49	2,52	2,06	1,93	6,28
Benzo[b]fluoranteno								
Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,001	0,002	0,004	0,010	0,020	0,039	0,049	0,099
$F_{\text{calculado}}$ (<i>Snedecor</i>)	0,19	4,61	0,49	1,98	1,39	3,17	0,13	15,63
$t_{\text{calculado}}$ (<i>Student</i>)	1,35	3,42	1,39	14,72	3,45	7,52	4,97	8,11
Benzo[k]fluoranteno								
Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,001	0,002	0,004	0,010	0,021	0,041	0,051	0,103
$F_{\text{calculado}}$ (<i>Snedecor</i>)	1,62	1,47	0,46	6,08	0,51	1,22	0,06	0,16
$t_{\text{calculado}}$ (<i>Student</i>)	0,55	4,22	0,04	0,39	10,90	12,97	16,68	7,37
Benzo[a]pireno								
Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,002	0,005	0,010	0,025	0,050	0,100	0,125	0,249
$F_{\text{calculado}}$ (<i>Snedecor</i>)	1,10	0,54	4,45	34,91	5,47	5,98	7,87	2,51
$t_{\text{calculado}}$ (<i>Student</i>)	0,01	1,40	3,32	4,77	23,11	6,41	11,21	16,11
Dibenzo[a,h]antraceno								
Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,010	0,020	0,039	0,098	0,197	0,394	0,492	0,985
$F_{\text{calculado}}$ (<i>Snedecor</i>)	0,73	0,59	2,86	0,49	0,66	0,88	0,26	7,96
$t_{\text{calculado}}$ (<i>Student</i>)	0,01	1,42	0,32	5,40	88,72	29,85	50,42	19,95
INDENO[1,2,3-c,d]PIRENO								
Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,002	0,005	0,010	0,025	0,049	0,098	0,123	0,246
$F_{\text{calculado}}$ (<i>Snedecor</i>)	1,82	5,59	0,02	0,48	0,01	0,73	1,63	0,19
$t_{\text{calculado}}$ (<i>Student</i>)	0,01	1,08	1,94	0,17	0,69	35,60	30,92	1,94
Benzo[g,h,i]perileno								
Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,004	0,008	0,016	0,040	0,079	0,158	0,198	0,396
$F_{\text{calculado}}$ (<i>Snedecor</i>)	0,69	0,98	0,37	0,38	0,01	6,24	0,10	0,36
$t_{\text{calculado}}$ (<i>Student</i>)	0,02	2,86	4,94	0,70	0,98	43,66	31,65	7,63

Avaliando os resultados da Tabela 10 é possível observar que alguns valores se encontram maiores que os de F e t tabelados. Porém, pelo fato de os valores das áreas com matriz e sem matriz serem muito próximos, estatisticamente, qualquer alteração, por menor que seja, vai causar um efeito grande no resultado do teste. Nestes testes, foram utilizados todos os valores das sete replicatas, mas se retirarmos um *outlier* ou simplesmente o substituímos por uma média de todos os outros pontos, por exemplo, os valores de $F_{\text{calculado}}$ referentes às concentrações mais altas na maioria dos compostos são reduzidos, ficando assim dentro da faixa aceitável.

Conforme já citado, os testes são bem sensíveis e o fato de os valores serem tão próximos faz com que qualquer variação, por menor que seja acarrete em um desvio significativo nos cálculos. Logo, cabe ao analista avaliar quais resultados deve considerar para estabelecer se uma metodologia é válida. Resultados pontuais não devem invalidar a metodologia.

Ao avaliarmos as curvas de calibração com e sem matriz nos ensaios de seletividade, apresentadas ainda neste item nas Figuras 26 a 28, embora alguns desses resultados indiquem falhas, no geral se observa que apenas para as concentrações mais altas há um pequeno desvio que pode ser corrigido por meio do ajuste dos pontos para cada faixa de concentração utilizada.

Para avaliação da inclinação e paralelismo das curvas com e sem matriz, foram utilizadas as equações 3 e 4 do item 3.1.4 desta dissertação e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 - Resultados obtidos no ensaio com matriz de material em suspensão para o teste t-Student de inclinação e paralelismo e do intercepto.
Onde $t_{\text{tabelado}} = 2,179$, considerando 7 graus de liberdade e 95% de confiança.

Composto	Teste de Inclinação/ Paralelismo	Teste do Intercepto	Interpretação
Acenaftileno	2,4	1,1	Inclinações são estatisticamente diferentes e intercepto estatisticamente igual
Fluoreno	13,4	4,5	Inclinações são estatisticamente diferentes e intercepto estatisticamente diferente
Acenafteno	2,5	0,7	Inclinações são estatisticamente iguais e intercepto estatisticamente igual
Fenantreno	0,5	1,1	Inclinações são estatisticamente iguais e intercepto estatisticamente igual
Antraceno	98,7	3,7	Inclinações são estatisticamente iguais e intercepto estatisticamente diferente
Fluoranteno	2,9	6,6	Inclinações são estatisticamente diferentes e intercepto estatisticamente diferente
Pireno	45,0	2,7	Inclinações são estatisticamente diferentes e intercepto estatisticamente diferente
Criseno	8,5	1,8	Inclinações são estatisticamente iguais e intercepto estatisticamente iguais
Benzo[b]fluoranteno	46,6	15,1	Inclinações são estatisticamente diferentes e intercepto estatisticamente diferente
Benzo[k]fluoranteno	0,4	9,9	Inclinações são estatisticamente iguais e intercepto estatisticamente diferente
Benzo[a]pireno	60,21	0,34	Inclinações são estatisticamente iguais e intercepto estatisticamente igual
Dibenzo[a,h]antraceno	19,54	5,75	Inclinações são estatisticamente diferentes e intercepto estatisticamente diferente
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	2,7	13,2	Inclinações são estatisticamente diferentes e intercepto estatisticamente diferente
Benzo[g,h,i]perileno	41,6	10,2	Inclinações são estatisticamente diferentes e intercepto estatisticamente diferente

As semelhanças de inclinação e de sensibilidade das curvas podem ser verificadas nas Figuras 26 a 28 onde são apresentadas as faixas lineares de trabalho para todos os compostos estudados, nos três ensaios (sem matriz e na matriz de material em suspensão).

Figura 26 – Representação gráfica da seletividade para os ensaios sem matriz e com matriz de material em suspensão da coluna d'água para os compostos Acenaftileno, Fluoreno, Acenafteno, Fenantreno, Antraceno e Fluoranteno.

Figura 27 – Representação gráfica da seletividade para os ensaios sem matriz e com matriz de material em suspensão da coluna d'água para os compostos Pireno, Criseno, Benzo[b]fluoranteno e Benzo[k]fluoranteno.

Figura 28 – Representação gráfica da seletividade para os ensaios sem matriz e com matriz de material em suspensão da coluna d'água para os compostos Benzo[k]fluoranteno, Benzo[a]pireno, Dibenzo[a,h]antraceno, Indeno[1,2,3-c,d]Pireno e Benzo[g,h,i]perileno.

Alguns compostos, como por exemplo, Antraceno, Pireno, Benzo[g,h,i]perileno, apresentam diferença na inclinação da reta principalmente nas concentrações altas, porém, esse fato pode ser contornado por meio de validação eficiente, a qual fornece segurança nos resultados por ser possível ter controle de todos os fatores envolvidos.

6.1.2 Resultados para linearidade

O parâmetro linearidade foi avaliado pelas curvas de calibração, de acordo com a equação 6 do item 3.4.1 desta dissertação, onde foram considerados os coeficientes de determinação das retas (r^2), a análise de resíduos pelo teste t (*Student*) e os gráficos dos resíduos.

Na Tabela 12, são apresentados os resultados obtidos para os coeficientes de determinação (r^2) para os ensaios com e sem matriz considerando as sete replicatas, a faixa de trabalho para todos os compostos estudados.

Tabela 12 – Coeficientes de determinação (r^2) e faixa de trabalho das retas obtidos para os 14 HPAs estudados.

Composto	Faixa de trabalho $\mu\text{g mL}^{-1}$		r^2 com matriz	r^2 sem matriz
	Mínima	Máxima		
Acenaftileno	0,011	2,472	0,9999	1,0000
Fluoreno	0,003	0,498	0,9998	1,0000
Acenafteno	0,022	4,949	0,9993	1,0000
Fenantreno	0,001	0,198	0,9998	0,9997
Antraceno	0,001	0,098	1,0000	1,0000
Fluoranteno	0,002	0,251	0,9999	0,9999
Pireno	0,003	0,498	0,9999	1,0000
Criseno	0,002	0,250	1,0000	1,0000
Benzo[b]fluoranteno	0,001	0,099	0,9971	0,9991
Benzo[k]fluoranteno	0,0003	0,103	0,991	0,9972
Benzo[a]pireno	0,002	0,250	1,0000	0,9996
Dibenzo[a,h]antraceno	0,003	0,982	0,9975	1,0000
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	0,003	0,248	0,9993	0,9995
Benzo[ghi]perileno	0,004	0,405	0,9966	0,9949

De acordo com o INMETRO e a ANVISA os coeficientes de determinação (r^2) as indicações como critério de aceitação são as seguintes:

- Recomendação ANVISA – $r = 0,99$, que corresponde a $r^2 = 0,980$;
- Recomendação INMETRO – $r = 0,90$, que corresponde a $r^2 = 0,81$;
- Ajuste ideal – $r > 0,999$, que corresponde a $r^2 = 0,998$ no mínimo.

Avaliando-se os resultados da Tabela 12, observa-se que os coeficientes de determinação (r^2) obtidos para todos os compostos foram maiores que 0,9, o que significa uma boa linearidade, pois os valores obtidos atendem tanto as exigências do INMETRO (2003) como da ANVISA.

Na Tabela 13 são apresentados os valores de $t_{\text{calculado}}$ para análise de resíduos nas diferentes concentrações, obtidos pela equação 7 do item 3.4.1 desta dissertação, para todos os HPAs estudados.

Tabela 13 – Valores obtidos no Teste t-Student para a verificação do desvio da linearidade de cada ponto da curva para os HPAs estudados, com $t_{\text{tabelado}} = 2,365$ para 7 graus de liberdade com 95% de confiança.

Acenaftileno	Concentração $\mu\text{g mL}^{-1}$	0,010	0,025	0,049	0,099	0,247	0,988	1,235	2,471
	t_{tabelado} - resíduos	1,23	0,79	3,96	1,45	5,15	2,74	1,13	0,91
Fluoreno	Concentração $\mu\text{g mL}^{-1}$	0,002	0,005	0,010	0,020	0,050	0,199	0,248	0,497
	t_{tabelado} - resíduos	3,33	0,40	1,06	0,72	2,07	5,66	0,35	2,58
Acenafteno	Concentração $\mu\text{g mL}^{-1}$	0,020	0,049	0,099	0,198	0,495	1,980	2,475	4,950
	t_{tabelado} - resíduos	1,15	0,92	1,74	1,27	0,70	4,53	5,26	0,72
Fenantreno	Concentração $\mu\text{g mL}^{-1}$	0,002	0,004	0,008	0,020	0,040	0,079	0,099	0,198
	t_{tabelado} - resíduos	1,31	1,00	0,36	2,23	6,84	0,82	0,69	0,44
Antraceno	Concentração $\mu\text{g mL}^{-1}$	0,0004	0,001	0,002	0,004	0,010	0,039	0,049	0,098
	t_{tabelado} - resíduos	3,12	0,81	1,66	0,18	6,49	0,50	0,35	0,58
Fluoranteno	Concentração $\mu\text{g mL}^{-1}$	0,003	0,005	0,010	0,025	0,050	0,100	0,125	0,251
	t_{tabelado} - resíduos	2,28	0,85	4,81	2,58	3,52	2,31	1,26	0,95
Pireno	Concentração $\mu\text{g mL}^{-1}$	0,002	0,005	0,010	0,020	0,050	0,198	0,248	0,496
	t_{tabelado} - resíduos	4,06	0,25	0,70	1,60	4,29	4,12	0,38	0,96
Criseno	Concentração $\mu\text{g mL}^{-1}$	0,001	0,002	0,005	0,010	0,025	0,100	0,125	0,249
	t_{tabelado} - resíduos	1,84	4,16	2,27	0,59	2,08	2,70	3,21	2,81
Benzo[b]fluoranteno	Concentração $\mu\text{g mL}^{-1}$	0,001	0,002	0,004	0,010	0,020	0,039	0,049	0,099
	t_{tabelado} - resíduos	0,63	0,24	1,58	2,32	6,79	0,96	0,75	0,31
Benzo[k]fluoranteno	Concentração $\mu\text{g mL}^{-1}$	0,001	0,002	0,004	0,010	0,021	0,041	0,051	0,103
	t_{tabelado} - resíduos	1,91	1,32	1,82	1,41	4,22	1,40	3,97	3,13
Benzo[a]pireno	Concentração $\mu\text{g mL}^{-1}$	0,002	0,005	0,010	0,025	0,050	0,100	0,125	0,249
	t_{tabelado} - resíduos	0,10	0,80	0,76	0,89	6,22	3,59	1,23	0,94
Dibenzo[a,h]antraceno	Concentração $\mu\text{g mL}^{-1}$	0,010	0,020	0,039	0,098	0,197	0,394	0,492	0,985
	t_{tabelado} - resíduos	2,03	2,72	1,08	2,03	2,02	1,59	4,94	2,87
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	Concentração $\mu\text{g mL}^{-1}$	0,002	0,005	0,010	0,025	0,049	0,098	0,123	0,246
	t_{tabelado} - resíduos	1,39	0,38	2,26	1,84	3,54	4,18	3,11	2,40
Benzo[ghi]perileno	Concentração $\mu\text{g mL}^{-1}$	0,004	0,008	0,016	0,040	0,079	0,158	0,198	0,396
	t_{tabelado} - resíduos	0,08	0,04	0,01	1,84	3,12	4,35	3,29	2,57

Avaliando-se os resultados apresentados na Tabela 13, é possível observar que alguns pontos têm a indicação de não pertencentes à curva, porém, comparando-se com os resultados de r^2 , as curvas de calibração apresentadas nas Figuras 26, 27, 28, mais adiante nas Figuras 33 e 34 e a interpretação dos gráficos de resíduos, é possível afirmar com segurança que o método é linear.

Os gráficos de resíduos absoluto e normalizado para cada composto avaliado estão apresentados nas Figuras 29 a 32.

Figura 29 – Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Acenaftileno, Fluoreno, Acenafteno e Fenantreno.

Figura 30 – Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Antraceno, Fluoranteno, Pireno e Criseno.

Figura 31 – Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Benzo[b]fluoranteno, Benzo[k]fluoranteno, Benzo[a]pireno e Dibenzo[a,h]antraceno.

Figura 32 – Gráficos de resíduo absoluto e normalizado para os compostos Indeno[1,2,3-c,d]Pireno e Benzo[g,h,i]perileno.

Pelos gráficos da distribuição dos resíduos absolutos versus concentração observou-se uma maior flutuação entre as replicatas nas concentrações mais altas. Porém, ao analisar os gráficos dos resíduos pela probabilidade normal verificou-se que a maioria dos pontos está distribuída no intervalo de probabilidade de -2 a +2, ou seja, dentro de ± 2 desvios padrão, com 95% de confiança. Observou-se ainda, que a distribuição se aproxima de uma reta, sem grandes tendências que depreciem o comportamento linear.

Nas Figuras 33 e 34 são apresentadas as curvas de calibração, considerando a faixa que compreende o ponto médio da faixa de trabalho estudada de acordo com a Tabela 8 do item 5.2 desta dissertação de mestrado, utilizando cinco pontos em três replicatas ao invés de todas as sete replicatas, como nas Figuras 27 a 29 onde não houve nenhum ajuste, portanto na condição mais crítica.

Figura 33 – Representação gráfica da linearidade para os compostos Acenaftileno, Fluoreno, Acenafteno, Fenantreno, Antraceno, Fluoranteno, Pireno e Criseno.

Figura 34 – Representação gráfica da linearidade para os compostos Benzo[b]fluoranteno, Benzo[k]fluoranteno, Benzo[a]pireno, Dibenzo[a,h]antraceno, Indeno[1,2,3-c,d]Pireno e Benzo[g,h,i]perileno.

De acordo com as curvas de calibração apresentadas nas Figuras 33 e 34 e considerando os valores dos r^2 para a faixa linear que compreende o ponto médio das faixas de trabalho estabelecidas no processo de validação, pode-se afirmar que o método proposto é perfeitamente linear para todos os compostos estudados e que qualquer que sejam os possíveis *outliers*, não afetam a linearidade da metodologia.

Os resultados obtidos pelo teste de análise de variância (ANOVA), recomendado pelo DOQ-CGCRE-008 (2017), são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 – Resultado do teste F de regressão e de ajuste, porcentagem de variação explicada e porcentagem máxima variação explicável (ANOVA) para os compostos estudados na matriz de material em suspensão.

Composto	F _{calculado} Regressão $F_{tab(1,14,95\%)} = 4,60$	F _{calculado} Ajuste $F_{tab(5,8,95\%)} = 3,29$	% de variação explicada	% máxima de variação explicável
Acenaftileno	1830633	18,1	99,9992	99,9999
Fluoreno	387269	30,2	99,9964	99,9998
Acenafteno	588159	1,1	99,9976	99,9987
Fenantreno	40898	139,7	99,9658	99,9997
Antraceno	525187	13,3	99,9973	99,9998
Fluoranteno	149573	89,9	99,9906	99,9999
Pireno	44492	0,1	99,9685	99,9701
Criseno	393663	18,4	99,9964	99,9998
Benzo[b]fluoranteno	14549	51,8	99,9039	99,9976
Benzo[k]fluoranteno	5027	244,1	99,7223	99,9985
Benzo[a]pireno	36518	24,3	99,9617	99,9980
Dibenzo[a,h]antraceno	1163311	0,2	99,9988	99,9989
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	23411	6,2	99,9402	99,9894
Benzo[g,h,i]perileno	2679	28,3	99,4801	99,9766

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 14, pelo teste F de regressão foi possível avaliar que a adequação do modelo adotado aos dados obtidos foi significativa para todos os HPAs estudados, mostrando se o modelo linear se ajusta ao conjunto de dados obtidos, considerando 95% de confiança. Pelo teste F de ajuste foi possível verificar o quanto esse modelo (equação da reta) se ajusta ao conjunto de dados obtidos, sempre considerando 95% de confiança e para praticamente todos os compostos estudados, exceto para Acenafteno, Pireno e Dibenzo[a,h]antraceno a falta de ajuste foi evidenciada. Esses resultados de ajuste podem ser devido ao fato de existir alguns pontos fora da curva, apesar da equação ser adequada.

A porcentagem de variação explicada em relação à porcentagem máxima de variação explicável significa o quanto de variação pôde ser explicada dentro da porcentagem explicável pelo ajuste aplicado ao método avaliado. Observando-se os valores apresentados na Tabela 14, para todos os compostos, a porcentagem de variação explicada foi muito próxima da porcentagem de

variação explicável, portanto, mesmo havendo *outliers* ou dispersão em alguns pontos, além das proximidades entre essas porcentagens, todos permaneceram acima de 90%, demonstrando variações explicadas de maneira satisfatória pelo modelo de regressão adotado e o mesmo se ajusta aos dados (FURUSAWA, 2007; OTOMO, 2015; ADAME, 2016; INMETRO, 2018; SILVA, 2018).

Nas Figuras 35 e 36 são apresentados os gráficos de intervalo de confiança para os 14 HPAs estudados na faixa de trabalho selecionada para o método avaliado.

Figura 35 – Gráficos da faixa de intervalo de confiança no ensaio com matriz para os compostos Acenaftileno, Fluoreno, Acenafteno, Fenantreno, Antraceno, Fluoranteno, Pireno e Criseno.

Figura 36 – Gráficos da faixa de intervalo de confiança no ensaio com matriz para os compostos Benzo[b]fluoranteno, Benzo[k]fluoranteno, Benzo[a]pireno, Dibenzo[a,h]antraceno, Indeno[1,2,3-c,d]Pireno e Benzo[g,h,i]perileno.

Nas Figuras 35 e 36, é possível observar que os intervalos de confiança para todos os compostos na matriz de material em suspensão estão dentro da faixa entre +2 e -2 desvios padrão, que é estatisticamente aceita. Podem ser notados alguns desvios. Como pode ser observado, para a maioria dos compostos o intervalo de confiança é estreito em praticamente toda a faixa de trabalho. Para o Benzo[g,h,i]perileno, os limites são mais afastados do que para os demais compostos em praticamente toda a faixa de trabalho. Isso pode ter ocorrido devido à dificuldade de se trabalhar com esse composto nesta matriz, pois a incerteza é maior em qualquer concentração quando comparado aos demais compostos.

estudados, devendo-se ter um maior critério na avaliação para que não sejam considerados falsos positivos. Para o Benzo[k]fluoranteno observa-se uma pequena perda da confiança no resultado tanto no limite inferior quanto superior da curva de calibração, devendo-se, portanto, estabelecer uma curva mais próxima a esses limites quando for necessária a quantificação nesses intervalos. A elaboração de curva de concentração mais ajustadas a intervalos de concentração menores podem amenizar essa incerteza na confiança dos resultados.

6.1.3 Resultados para limites de quantificação (LQ) e detecção (LD)

Os resultados obtidos para os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) estão apresentados na Tabela 15 e foram calculados de acordo com as equações 8 e 9, respectivamente, apresentadas no item 3.4.1 desta dissertação. Os valores são em relação ao material em suspensão obtido da filtração de 1L de amostra.

Tabela 15 - Limite de quantificação (LQ) e de Detecção (LD) do método para cada HPA estudado na matriz de material em suspensão.

Compostos	LQ µg L⁻¹	LD µg L⁻¹	Compostos	LQ µg L⁻¹	LD µg L⁻¹
Acenaftileno	0,024	0,0016	Criseno	0,002	0,0001
Fluoreno	0,005	0,0004	Benzo[b]fluoranteno	0,001	0,0001
Acenafteno	0,048	0,0011	Benzo[k]fluoranteno	0,001	0,0002
Fenantreno	0,002	0,0002	Benzo[a]pireno	0,003	0,0005
Antraceno	0,001	0,0001	Dibenzo[a,h]antraceno	0,016	0,0028
Fluoranteno	0,003	0,0004	Indeno[1,2,3-c,d]pireno	0,004	0,0006
Pireno	0,002	0,0003	Benzo[g,h,i]perileno	0,004	0,0014

Avaliando os resultados da Tabela 15, é possível observar que os limites alcançados são diferentes para cada composto. Este fato ocorre em função da sensibilidade de cada composto para detecção no equipamento. Os valores obtidos atendem aos valores estipulados pela legislação.

6.1.4 Resultados para exatidão

A exatidão foi avaliada pelo índice *z* (*Score*), conforme a equação 13 do item 3.1.4 desta dissertação de mestrado e os resultados estão apresentados na

Tabela 16, os quais são referentes a 3 níveis de concentração, consideradas baixa, média e alta, para cada um dos compostos estudados. As concentrações selecionadas para as faixas baixa são próximas aos respectivos limites de quantificação, a média correspondente ao ponto médio das curvas de calibração e alta equivale ao último ponto da faixa de trabalho.

Tabela 16 - Valores de z (Score) obtidos para os HPAs estudados no ensaio com matriz de material em suspensão na coluna d'água das amostras coletadas no entorno do RMB.

HPAs	Concentração baixa		Concentração média		Concentração alta	
	Concentração real $\mu\text{g mL}^{-1}$	z Score	Concentração real $\mu\text{g mL}^{-1}$	z Score	Concentração real $\mu\text{g mL}^{-1}$	z Score
Acenaftileno	0,025	0,54	0,099	0,53	2,471	0,47
Fluoreno	0,005	1,62	0,020	0,08	0,497	0,02
Acenafteno	0,049	1,50	0,099	1,32	4,950	0,07
Fenantreno	0,008	0,43	0,079	0,71	0,198	0,24
Antraceno	0,001	1,27	0,004	0,67	0,098	0,12
Fluoranteno	0,005	0,76	0,010	0,61	0,251	0,38
Pireno	0,005	0,15	0,010	0,08	0,496	0,15
Criseno	0,010	0,09	0,025	1,13	0,249	0,36
Benzo[b]fluoranteno	0,002	0,51	0,004	1,46	0,099	0,25
Benzo[k]fluoranteno	0,001	0,38	0,021	2,08	0,103	0,39
Benzo[a]pireno	0,005	1,31	0,010	1,73	0,249	0,96
Dibenzo[a,h]antraceno	0,010	0,53	0,098	0,28	0,985	0,33
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	0,005	1,65	0,049	0,94	0,246	0,79
Benzo[g,h,i]perileno	0,004	0,60	0,016	0,42	0,396	0,10

Conforme apresentado na Tabela 16, para todas as concentrações avaliadas, os resultados do índice z Score foram menores que 2, portanto os resultados são satisfatórios e o método possui exatidão na faixa de concentração estabelecida. A exatidão também foi avaliada pela porcentagem de recuperação e os resultados são apresentados no item 6.1.6 desta dissertação.

6.1.5 Resultados para precisão

A precisão foi avaliada pela estimativa do desvio padrão relativo calculando-se os coeficientes de variação (CV) por meio da equação 10 do item

3.1.4 desta dissertação. Também foram calculados os limites de repetibilidade e de reprodutibilidade, utilizando as equações 11 e 12, respectivamente, descritas no item 3.1.4 desta dissertação.

Nas Tabelas 17 a 19 são apresentados os resultados dos coeficientes de variação e limites de repetibilidade e de reprodutibilidade para três faixas de concentração consideradas baixa, média e alta para todos os HPAs estudados no método avaliado.

Tabela 17 - Valores dos limites de repetibilidade (r), limites de reprodutibilidade (R) e Coeficientes de Variação (CV) obtidos para os HPAs estudados no ensaio com matriz de material em suspensão na coluna d'água das amostras coletadas no entorno do RMB em baixas concentrações.

HPAs	Concentração $\mu\text{g mL}^{-1}$	Limite de repetibilidade	Limite de reprodutibilidade	CV
Acenaftileno	0,010	0,00273	0,00105	0,9
Fluoreno	0,002	0,00069	0,00050	0,1
Acenafteno	0,020	0,00246	0,00196	0,8
Fenantreno	0,002	0,00024	0,00016	1,2
Antraceno	0,0004	0,00011	0,00005	2,5
Fluoranteno	0,003	0,00045	0,00023	0,3
Pireno	0,002	0,00113	0,00099	4,6
Criseno	0,001	0,00016	0,00008	2,0
Benzo[b]fluoranteno	0,001	0,00063	0,00039	1,5
Benzo[k]fluoranteno	0,001	0,00067	0,00025	5,4
Benzo[a]pireno	0,002	0,00082	0,00033	0,6
Dibenzo[a,h]antraceno	0,020	0,00406	0,00095	3,4
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	0,002	0,00064	0,00028	8,7
Benzo[g,h,i]perileno	0,008	0,00180	0,00086	4,9

Tabela 18 - Valores dos limites de repetibilidade (r), limites de reprodutibilidade (R) e Coeficientes de Variação (CV) obtidos para os HPAs estudados no ensaio com matriz de material em suspensão na coluna d'água das amostras coletadas no entorno do RMB em concentrações no ponto médio da faixa de trabalho.

HPAs	Concentração $\mu\text{g mL}^{-1}$	Limite de repetibilidade	Limite de reprodutibilidade	CV
Acenaftileno	0,099	0,00506	0,00360	0,5
Fluoreno	0,020	0,00063	0,00022	6,0
Acenafteno	0,198	0,02205	0,01329	0,4
Fenantreno	0,020	0,00036	0,00018	0,8
Antraceno	0,004	0,00022	0,00011	1,1
Fluoranteno	0,025	0,00037	0,00020	1,1
Pireno	0,020	0,01042	0,00048	0,4
Criseno	0,010	0,00097	0,00010	1,3
Benzo[b]fluoranteno	0,010	0,00085	0,00038	1,8
Benzo[k]fluoranteno	0,010	0,00070	0,00032	3,5
Benzo[a]pireno	0,025	0,00040	0,00039	2,0
Dibenzo[a,h]antraceno	0,098	0,00384	0,00282	1,2
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	0,025	0,00174	0,00150	4,4
Benzo[g,h,i]perileno	0,040	0,00918	0,00916	4,8

Tabela 19 - Valores dos limites de repetibilidade (r), limites de reprodutibilidade (R) e Coeficientes de Variação (CV) obtidos para os HPAs estudados no ensaio com matriz de material em suspensão na coluna d'água das amostras coletadas no entorno do RMB em altas concentrações.

HPAs	Concentração $\mu\text{g mL}^{-1}$	Limite de repetibilidade	Limite de reprodutibilidade	CV
Acenaftileno	2,471	0,00442	0,00231	1,8
Fluoreno	0,497	0,01050	0,00593	0,2
Acenafteno	4,950	0,05637	0,04070	2,7
Fenantreno	0,198	0,00221	0,00038	0,1
Antraceno	0,098	0,00083	0,00024	0,2
Fluoranteno	0,251	0,00135	0,00120	0,5
Pireno	0,496	0,00166	0,00124	0,9
Criseno	0,249	0,00111	0,00028	2,5
Benzo[b]fluoranteno	0,099	0,00126	0,00060	3,4
Benzo[k]fluoranteno	0,103	0,00143	0,00056	6,4
Benzo[a]pireno	0,249	0,00434	0,00235	1,9
Dibenzo[a,h]antraceno	0,985	0,00994	0,00463	0,6
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	0,246	0,00385	0,00213	0,4
Benzo[g,h,i]perileno	0,396	0,02698	0,02102	0,5

De acordo com os resultados apresentados nas Tabelas 17 a 19, foi possível observar que todos os resultados de Coeficiente de Variação estão abaixo de 9%. Conforme já descrito no item 3.1.4, processos de validação de métodos analíticos de traços ou impurezas, a taxa aceitável de CV é de até 20% (RIBANI *et al.*, 2004; HORWITZ e ALBERT; 2006) e em geral não se aceitam valores superiores a 30% (PIMENTEL GOMES, 2009). O INMETRO (2018) orienta que o desvio padrão relativo aceitável para 1 ppb seja de 30%, para 10 ppb de 21%, para 100 ppb de 15% e para 1 ppm de 11%. Portanto avaliando os valores das Tabelas 17 a 19, verifica-se que todas as medidas de CV neste estudo atendem às exigências do parâmetro precisão.

Para os limites de repetibilidade e de reprodutibilidade, as diferenças entre cada uma das replicatas foi menor que os valores destes limites estabelecidos, corroborando com os demais resultados deste parâmetro de precisão (INMETRO, 2018).

6.1.6 Resultados para recuperação

Nas Tabelas 20 a 22 são apresentados os resultados dos ensaios de recuperação, de acordo com a equação 14 descrita no item 3.1.4 desta dissertação.

Tabela 20 – Resumo dos resultados dos ensaios de recuperação para os HPAs estudados aplicando o método estabelecido, na faixa de concentração baixa.

HPAs	Concentração $\mu\text{g L}^{-1}$			Recuperação para nível médio	
	Adicionada	Média recuperada	S	% REC	$\pm$
Acenaftileno	0,025	0,014	1,3E-04	56,2	0,5
Fluoreno	0,050	0,042	3,6E-05	85,2	0,1
Acenafteno	0,049	0,025	2,1E-04	50,4	0,4
Fenantreno	0,020	0,014	1,7E-04	73,4	0,9
Antraceno	0,010	0,008	2,0E-04	80,6	2,0
Fluoranteno	0,025	0,024	6,6E-05	95,0	0,3
Pireno	0,050	0,043	2,0E-03	86,6	4,0
Criseno	0,025	0,021	4,2E-04	84,5	1,7
Benzo(b)fluoranteno	0,010	0,007	1,1E-04	72,4	1,1
Benzo(k)fluoranteno	0,010	0,006	3,4E-04	61,6	3,3
Benzo(a)pireno	0,025	0,015	8,6E-05	59,1	0,3
Dibenzo(a,h)antraceno	0,098	0,053	1,8E-03	53,8	1,8
Benzo(ghi)perileno	0,025	0,013	1,1E-03	52,5	4,6
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	0,040	0,026	1,3E-03	66,9	3,3

Tabela 21 – Resumo dos resultados dos ensaios de recuperação para os HPAs estudados aplicando o método estabelecido, na faixa de concentração média.

HPAs	Concentração $\mu\text{g L}^{-1}$			Recuperação para nível médio	
	Adicionada	Média recuperada	S	% REC	$\pm$
Acenaftileno	0,619	0,382	1,8E-03	61,8	0,3
Fluoreno	0,124	0,088	5,3E-03	70,6	4,3
Acenafteno	1,237	0,915	3,2E-03	73,9	0,3
Fenantreno	0,049	0,045	3,7E-04	91,2	0,8
Antraceno	0,024	0,020	2,2E-04	81,6	0,9
Fluoranteno	0,063	0,061	6,4E-04	97,0	1,0
Pireno	0,124	0,103	4,1E-04	83,1	0,3
Criseno	0,062	0,059	7,7E-04	95,1	1,2
Benzo(b)fluoranteno	0,025	0,022	4,0E-04	89,2	1,6
Benzo(k)fluoranteno	0,026	0,020	7,1E-04	79,7	2,8
Benzo(a)pireno	0,062	0,060	1,2E-03	96,2	2,0
Dibenzo(a,h)antraceno	0,246	0,164	1,9E-03	66,5	0,8
Benzo(ghi)perileno	0,099	0,074	3,3E-03	75,3	3,3
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	0,061	0,044	2,1E-03	71,5	3,4

Tabela 22 – Resumo dos resultados dos ensaios de recuperação para os HPAs estudados aplicando o método estabelecido, na faixa de concentração alta.

HPAs	Concentração $\mu\text{g L}^{-1}$			Recuperação para nível médio	
	Adicionada	Média recuperada	S	% REC	$\pm$
Acenaftileno	1,237	0,903	1,6E-02	73,0	1,3
Fluoreno	0,248	0,205	4,9E-04	82,8	0,2
Acenafteno	2,475	2,062	5,5E-02	83,3	2,2
Fenantreno	0,099	0,091	6,2E-05	91,9	0,1
Antraceno	0,049	0,035	8,1E-05	72,0	0,2
Fluoranteno	0,125	0,116	6,1E-04	93,1	0,5
Pireno	0,248	0,237	2,2E-03	95,6	0,9
Criseno	0,124	0,113	2,8E-03	90,7	2,2
Benzo(b)fluoranteno	0,049	0,045	1,5E-03	91,7	3,1
Benzo(k)fluoranteno	0,051	0,050	3,2E-03	99,0	6,3
Benzo(a)pireno	0,124	0,105	2,0E-03	84,7	1,6
Dibenzo(a,h)antraceno	0,492	0,382	2,1E-03	77,6	0,4
Benzo(ghi)perileno	0,198	0,194	7,1E-04	98,5	0,4
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	0,123	0,092	4,8E-04	75,3	0,4

De acordo com os resultados observados nas Tabelas 20 a 22, as porcentagens de recuperação variaram de 50,4 para a faixa de concentração baixa até 99% para a faixa de concentração alta, demonstrando que os valores estão dentro da faixa recomendada pela literatura, de 50 a 120% (LANÇAS, 2004; RIBANI *et al.*, 2004) e de 40 a 120% (AOAC, 2016; INMETRO, 2018).

6.1.7 Resultados para estimativa da incerteza de medição

As principais fontes de incerteza identificadas foram as associadas à curva de calibração, à recuperação, ao volume inicial e ao volume final do extrato final, de acordo com o diagrama de Ishikawa apresentado na Figura 4 do item 3.1.4 desta dissertação de mestrado. É importante salientar que a cada uma destas fontes de incerteza principais estão relacionadas outras fontes de entrada (MARTINS *et al.*, 2014).

A estimativa de incerteza de medição foi calculada de acordo com as equações 15 a 24 do item 3.1.4 desta dissertação. Os resultados apresentados na Tabela 23 são referentes aos cálculos de incerteza expandida para os HPAs estudados em matriz de material em suspensão na coluna d'água, considerando o

ponto médio das curvas de calibração. Os valores de estimativa da incerteza de medição apresentados na Tabela 23 e nos gráficos das Figuras 37 a 41 são apenas um exemplo, pois a incerteza é calculada para todos os resultados reportados.

Tabela 23 – Resultados dos cálculos de incerteza expandida dos compostos estudados em matriz de material em suspensão, considerando-se a faixa de concentração média da curva de calibração.

Compostos	Concen- tração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Incerteza expandida ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	% de incerteza
Acenaftileno	0,64	$\pm 0,01$	2,32
Fluoreno	0,13	$\pm 0,01$	7,48
Acenafteno	1,26	$\pm 0,02$	1,89
Fenantreno	0,053	$\pm 0,002$	3,58
Antraceno	0,023	$\pm 0,001$	6,04
Fluoranteno	0,066	$\pm 0,002$	3,51
Pireno	0,123	$\pm 0,003$	2,05
Criseno	0,064	$\pm 0,003$	4,46
Benzo[b]fluoranteno	0,027	$\pm 0,002$	6,7
Benzo[k]fluoranteno	0,025	$\pm 0,002$	8,07
Benzo[a]pireno	0,063	$\pm 0,002$	3,81
Dibenzo[a,h]antraceno	0,25	$\pm 0,01$	2,5
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	0,066	$\pm 0,004$	6,3
Benzo[g,h,i]perileno	0,10	$\pm 0,01$	5,61

A faixa da incerteza expandida obtida pelos resultados variou de 1,89% a 8,07%, portanto está dentro do esperado de acordo com a literatura (HORWITZ & ALBERT, 2006; MARTINS, 2014).

Nas Figuras 37 a 41 são apresentadas as contribuições das grandezas de entrada para os HPAs estudados, considerando resultados na faixa de concentração de pontos médios das curvas de calibração.

Figura 37 – Representação gráfica das incertezas de medição associadas à determinação dos compostos Acenaftileno, Fluoreno e Acenafteno na matriz de material em suspensão, considerando o ponto médio das faixas de trabalho.

Figura 38 – Representação gráfica das incertezas de medição associadas à determinação dos compostos Fenantreno, Antraceno e Fluoranteno na matriz de material em suspensão, considerando o ponto médio das faixas de trabalho.

Figura 39 – Representação gráfica das incertezas de medição associadas à determinação dos compostos Pireno, Criseno e Benzo[b]fluoranteno na matriz de material em suspensão, considerando o ponto médio das faixas de trabalho.

Figura 40 – Representação gráfica das incertezas de medição associadas à determinação dos compostos Benzo[k]fluoranteno, Benzo[a]pireno e Dibenzo[a,h]antraceno na matriz de material em suspensão, considerando o ponto médio das faixas de trabalho.

Figura 41 – Representação gráfica das incertezas de medição associadas à determinação dos compostos Indeno[1,2,3-c,d]Pireno e Benzo[g,h,i]perileno na matriz de material em suspensão, considerando o ponto médio das faixas de trabalho.

6.1.8 Resultados revalidação da metodologia analítica para matriz de águas

Conforme citado no item 5.6.9 desta dissertação, para revalidação de alguns parâmetros do método original, selecionou-se a linearidade, a precisão e a exatidão para avaliar se a metodologia ainda está válida para utilização nas amostras da área de estudo proposta neste trabalho de mestrado.

A seguir são apresentados os resultados para os ensaios de validação realizados.

Para avaliação da eficiência na recuperação, a aplicação da metodologia apresentou resultados satisfatórios. Na Tabela 24 são apresentados os resultados de recuperação para a faixa de concentração média em matriz de água e uma comparação com a validação original.

Tabela 24 – Resumo dos resultados dos ensaios de recuperação para os HPAs estudados aplicando o método original para a matriz de água.

HPAs	Recuperação para nível médio		% Médias obtidas por BRITO, 2009
	% REC	±	
Acenaftileno	60,5	3,5	46,3
Fluoreno	70,8	0,7	66,2
Acenafteno	103,8	0,4	-
Fenantreno	117,7	0,5	81,3
Antraceno	110,3	2,4	74,0
Fluoranteno	99,4	0,4	87,8
Pireno	83,1	0,3	85,8
Criseno	99,2	1,3	90,2
Benzo(b)fluoranteno	52,0	2,1	83,4
Benzo(k)fluoranteno	75,0	4,0	75,1
Benzo(a)pireno	106,4	4,5	70,9
Dibenzo(a,h)antraceno	84,3	1,3	71,8
Benzo(ghi)perileno	90,3	0,5	-
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	103,4	3,9	65,2

Na Tabela 24, observa-se que os resultados estão dentro do esperado, entre 50 e 120%, e houve uma melhora nos resultados referentes à recuperação quando comparados aos do método original.

A precisão da metodologia foi avaliada pelos limites de repetibilidade e reprodutibilidade e pelo coeficiente de variação na concentração média. Na Tabela 25 são apresentados os resultados obtidos para precisão e os limites de quantificação (LQs) obtidos para matriz de água nos ensaios de revalidação.

Tabela 25 – Resumo dos resultados dos testes de repetitividade, reprodutibilidade e coeficientes de variação (CV %) para os compostos estudados no nível médio de concentração e os LQs obtidos nos ensaios de revalidação da matriz de águas do entorno do RMB.

HPAs	Concentração (referente a 0,1 µL da ST (µg mL ⁻¹))	Limite de repe r	Limite de repro R	Coef. de Variação (%)	LQ atual (µg L ⁻¹)	LQ por BRITO, 2009 para matriz água* (µg L ⁻¹)
Acenaftileno	0,245	0,005	0,004	1,8	0,040	0,025
Fluoreno	0,049	0,001	0,0004	1,1	0,008	0,013
Acenafteno	0,491	0,022	0,01	4,0	0,008	-
Fenantreno	0,020	0,0004	0,0002	0,7	0,003	0,022
Antraceno	0,010	0,0002	0,0001	1,9	0,002	0,030
Fluoranteno	0,025	0,0004	0,0001	0,6	0,004	0,010
Pireno	0,045	0,001	0,001	1,9	0,004	0,025
Criseno	0,025	0,001	0,0003	1,9	0,004	0,010
Benzo(b)Fluoranteno	0,010	0,001	0,0005	3,2	0,002	0,010
Benzo(k)Fluoranteno	0,010	0,001	0,0004	3,2	0,001	0,013
Benzo(a)Pireno	0,025	0,0004	0,0001	0,6	0,005	0,010
Dibenzo(a,h)Antraceno	0,098	0,003	0,001	0,9	0,027	0,033
Benzo(ghi)perileno	0,039	0,012	0,002	8,0	0,007	-
Indeno[1,2,3-c,d]Pireno	0,024	0,002	0,0004	2,5	0,006	0,028

* adaptado para o volume amostral.

Todos os compostos apresentaram coeficiente de variação abaixo de 20% e estão de acordo com os critérios estabelecidos pela literatura (RIBANI, 2004; INMETRO, 2018). Estes valores comprovam que o método continua preciso para a matriz de águas da região RMB. Os valores de limite de repetibilidade (r) e de reprodutibilidade (R) foram maiores que as diferenças entre cada uma das replicatas em todos os ensaios.

A linearidade, comprovada por meio do coeficiente de determinação (r^2) das curvas de calibração são os mesmos apresentados no item 6.1.2 desta dissertação de mestrado, visto que as curvas utilizadas para quantificação das amostras foram as curvas sem a matriz.

De acordo com os LQs obtidos na revalidação da metodologia para águas, apresentados na Tabela 25, observa-se uma diminuição dos valores para praticamente todos os HPAs estudados em relação ao método originalmente proposto por BRITO (2009), provavelmente devido ao equipamento atual (HPLC) ser mais sensível.

6.2 Resultados das análises de amostras de águas e material em suspensão

A seguir são apresentados os resultados obtidos para as amostras de água superficial, água subterrânea e material em suspensão retido nas membranas filtrantes, para as amostras dos quatro períodos de coleta.

6.2.1 Resultados para a coleta realizada em outubro de 2016

As amostras foram coletadas nos dias 3, 4 e 5 de outubro de 2016, em um período de muita estiagem. Os resultados das concentrações obtidas para cada composto HPA analisado são apresentados na Tabela 26 e representam a média de 3 determinações mais a incerteza expandida.

Tabela 26 - Resultados das análises das amostras de águas e material em suspensão coletadas em outubro de 2016 na área de instalação do RMB e seu entorno.

HPAS	Outubro - 2016									
	PC2		P6		P7		P8		P9	
	LQ	LQ mat.susp.	Água	Mat. suspensão	Água	Mat. suspensão	Água	Mat. suspensão	Água	Mat. suspensão
Acenafileno	0,040	0,024	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Fluoreno	0,003	0,005	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Acenafeno	0,080	0,048	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Fenantreno	0,003	0,002	< LQ	< LQ	0,022±0,001	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Antraceno	0,002	0,001	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Fluoranteno	0,004	0,003	< LQ	0,070±0,001	< LQ	0,039±0,001	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Pireno	0,004	0,002	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,065±0,004	< LQ	< LQ	0,09±0,01
Criseno	0,004	0,002	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Benzo[b]fluoranteno	0,002	0,001	< LQ	0,018±0,001	< LQ	0,023±0,001	< LQ	0,009±0,001	< LQ	0,035±0,002
Benzo[k]fluoranteno	0,001	0,001	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Benzo[a]pireno	0,005	0,003	< LQ	0,083±0,002	< LQ	< LQ	0,020±0,003	< LQ	< LQ	< LQ
Dibenzof[a,h]antraceno	0,027	0,016	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	0,008	0,004	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Benzo[g,h,i]perileno	0,007	0,004	< LQ	0,9±0,1	< LQ	0,11±0,01	0,6±0,1	< LQ	< LQ	< LQ

HPAS	LQ = Limite de Quantificação									
	PC3-120m		PC3-130m		LAGO		IBAMA		SABESP	
	LQ	LQ mat.susp.	Água	Mat. suspensão	Água	Mat. suspensão	Água	Mat. suspensão	Água	Mat. suspensão
Acenafileno	0,040	0,024	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	2,0±0,5	< LQ
Fluoreno	0,003	0,005	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,31±0,05	< LQ
Acenafeno	0,080	0,048	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,77±0,04	< LQ
Fenantreno	0,003	0,002	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Antraceno	0,002	0,001	< LQ	< LQ	0,010±0,01	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Fluoranteno	0,004	0,003	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Pireno	0,004	0,002	< LQ	0,05±0,01	< LQ	< LQ	0,11±0,1	< LQ	< LQ	< LQ
Criseno	0,004	0,002	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Benzo[b]fluoranteno	0,002	0,001	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,053±0,001	< LQ
Benzo[k]fluoranteno	0,001	0,001	< LQ	< LQ	< LQ	0,008±0,001	< LQ	0,013±0,001	< LQ	0,012±0,001
Benzo[a]pireno	0,005	0,003	< LQ	< LQ	< LQ	0,011±0,001	< LQ	< LQ	< LQ	0,013±0,002
Dibenzof[a,h]antraceno	0,027	0,016	< LQ	0,17±0,01	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	0,008	0,004	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,37±0,02	< LQ
Benzo[g,h,i]perileno	0,007	0,004	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,8±0,1	< LQ	< LQ	< LQ

LQ = Limite de Quantificação

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 26, observa-se a presença de Pireno em amostras de água superficial em dois pontos de coleta da região, P7 ($0,065 \pm 0,004 \mu\text{g L}^{-1}$) e LAGO ($0,11 \pm 0,01 \mu\text{g L}^{-1}$) acima do valor máximo permissível segundo a legislação CONAMA 357. O Benzo[a]pireno apresentou no ponto P7 ($0,020 \pm 0,003 \mu\text{g L}^{-1}$) concentração abaixo da mesma legislação (BRASIL, 2005).

Os composto Benzo[g,h,i]perileno, nos pontos, P7 ($0,6 \pm 0,1 \mu\text{g L}^{-1}$), P8 ($0,7 \pm 0,1 \mu\text{g L}^{-1}$) e LAGO ($0,8 \pm 0,1 \mu\text{g L}^{-1}$) apresentaram concentrações significativas comparada à legislação CONAMA 357, que apresenta o limite de $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$ para águas superficiais legislação (BRASIL, 2005).

Os resultados mais elevados para o Benzo[g,h,i]perileno podem ser justificados por estes locais terem forte atividade antropogênica. A observação visual e os dados obtidos em campo, no momento da coleta, ajudam na compreensão do impacto que a ocupação urbana oferece para a qualidade das águas da região, principalmente no ponto P7. A presença de Benzo[g,h,i]perileno em águas pode significar uma contaminação mais recente, visto que este composto tem mais afinidade com a parte sólida devido à baixa solubilidade, conforme visto na Tabela 2 do item 3.1.1 desta dissertação.

No ponto de coleta SABESP, em amostra de água subterrânea, foi encontrada baixa concentração de Fluoreno ($0,31 \pm 0,05 \mu\text{g L}^{-1}$). Também foram observados valores acima da legislação CONAMA 396 para o composto Criseno ($0,053 \pm 0,001 \mu\text{g L}^{-1}$) e concentração acima do valor estabelecido segundo a D.D. n°045, D.D. n°256 e CONAMA 396 para o composto Dibenzo[a,h]antraceno ($0,37 \pm 0,02 \mu\text{g L}^{-1}$). Fato este que causa interesse, uma vez que este é um ponto de captação da SABESP na cidade de Sarapuí (BRASIL, 2008; CETESB, 2014; 2016).

É importante ressaltar que os compostos acenaftileno ($2,0 \pm 0,5 \mu\text{g L}^{-1}$) e Acenafteno ($0,77 \pm 0,04 \mu\text{g L}^{-1}$) apresentaram valores altos de concentração nas amostras de água do ponto SABESP. Embora eles não sejam contemplados pela legislação, os mesmos são indicadores de atividades antropogênicas e devem ser monitorados, pois contribuem para o empobrecimento da qualidade da água na região.

Na amostra de água subterrânea no ponto PC3-130m foi detectada concentração de Antraceno menor que a legislação vigente.

Os resultados da Tabela 26 para os materiais em suspensão das mesmas amostras coletadas em outubro de 2016, foram obtidos pela análise dos extratos das membranas filtrantes e são equivalentes à filtração de 1 L de água para cada amostra. Assim como para amostras de água, os resultados apresentados também são a média de 3 determinações mais a incerteza expandida.

Pode-se observar que, para os materiais em suspensão, o composto que quantificado em maiores concentrações foi o Benzo[g,h,i]perileno nos pontos de coleta PC2 ($0,9 \pm 0,1 \mu\text{g L}^{-1}$), LAGO ($0,19 \pm 0,02 \mu\text{g L}^{-1}$), IBAMA ($0,25 \pm 0,03 \mu\text{g L}^{-1}$) e P6 ($0,11 \pm 0,01 \mu\text{g L}^{-1}$). A afinidade do Benzo[g,h,i]perileno com a matéria orgânica em suspensão pode justificar estas concentrações obtidas.

Também foi observada a presença de Fluoranteno ($0,070 \pm 0,001 \mu\text{g L}^{-1}$), Benzo[a]pireno ($0,083 \pm 0,002 \mu\text{g L}^{-1}$) e Dibenzo[a,h]antraceno ($0,17 \pm 0,01 \mu\text{g L}^{-1}$) no ponto PC2. Os demais valores encontrados estiveram abaixo de $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$.

6.2.2 Resultados para a coleta realizada em Junho de 2017

As amostras foram coletadas nos dias 19, 20 e 21 de Junho de 2017. É importante destacar, que esta campanha de coleta foi realizada em um período com o tempo chuvoso. Os resultados das concentrações obtidas para as amostras de água e material em suspensão na coluna d'água podem ser observados na Tabela 27. Esses resultados são a média de 3 determinações mais a incerteza expandida.

Tabela 27 - Resultados das análises das amostras de águas e material em suspensão coletadas em junho de 2017 na área de instalação do RMB e seu entorno.

HPAs	Junho - 2017									
	PC2		P6		P7		P8		P9	
	LQ	LQ	Água	Mat. suspensão	Água	Mat. suspensão	Água	Mat. suspensão	Água	Mat. suspensão
Acenafileno	0,040	0,024	< LQ	0,37±0,03	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Fluoreno	0,003	0,005	0,04±0,01	< LQ	< LQ	0,12±0,01	< LQ	2,4±0,1	< LQ	< LQ
Acenafeno	0,080	0,043	< LQ	0,41±0,03	< LQ	< LQ	< LQ	2,7±0,2	< LQ	< LQ
Fenantreno	0,003	0,002	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,009±0,004	< LQ
Antraceno	0,002	0,001	< LQ	< LQ	< LQ	0,004±0,001	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Fluoranteno	0,004	0,003	< LQ	< LQ	< LQ	0,13±0,01	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Pireno	0,004	0,002	< LQ	0,08±0,01	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Criseno	0,004	0,002	< LQ	< LQ	< LQ	0,010±0,001	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Benzo[b]fluoranteno	0,002	0,001	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Benzo[k]fluoranteno	0,001	0,001	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Benzo[a]pireno	0,005	0,003	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Dibenzof[a,h]antraceno	0,027	0,016	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	0,008	0,004	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Benzo[g,h,i]perileno	0,007	0,004	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ

HPAs	LAGO									
	PC3-120m		PC3-130m		IBAMA		SABESP			
	LQ	LQ	Água	Mat. suspensão	Água	Mat. suspensão	Água	Mat. suspensão	Água	Mat. suspensão
Acenafileno	0,040	0,024	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Fluoreno	0,003	0,005	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,005±0,001	< LQ	< LQ
Acenafeno	0,080	0,043	< LQ	2,4±0,1	< LQ	2,8±0,1	< LQ	2,5±0,1	< LQ	1,5±0,1
Fenantreno	0,003	0,002	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,020±0,0005	< LQ	< LQ
Antraceno	0,002	0,001	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Fluoranteno	0,004	0,003	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Pireno	0,004	0,002	< LQ	0,10±0,01	< LQ	0,054±0,004	< LQ	0,19±0,01	< LQ	0,069±0,004
Criseno	0,004	0,002	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,003±0,001	< LQ	< LQ
Benzo[b]fluoranteno	0,002	0,001	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Benzo[k]fluoranteno	0,001	0,001	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Benzo[a]pireno	0,005	0,003	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Dibenzof[a,h]antraceno	0,027	0,016	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	0,008	0,004	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Benzo[g,h,i]perileno	0,007	0,004	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ

LQ = Limite de Quantificação

De acordo com os resultados das análises de amostras de água subterrânea e superficial apresentados na Tabela 27, observou-se apenas a presença de Fluoreno no ponto de coleta PC2 ($0,04 \pm 0,01 \mu\text{g L}^{-1}$) e Fenantreno no ponto P9 ($0,009 \pm 0,004 \mu\text{g L}^{-1}$). Nos demais pontos, todos os compostos ficaram abaixo do LQ, mas é importante ressaltar que o período foi atípico na região com muita chuva no mês de junho de 2017 e os HPAs possuem baixa afinidade com a água.

Para o material em suspensão das mesmas amostras de água coletadas em junho de 2017, apresentados na Tabela 27, observou-se uma maior concentração do Acenafteno nos pontos PC2, P7, P8, PC3-120m, PC3-130m, LAGO, IBAMA e SABESP, que variaram de 0,41 a $3,1 \mu\text{g L}^{-1}$; Acenaftileno no PC2 ($0,37 \pm 0,03 \mu\text{g L}^{-1}$); Fluoreno nos pontos P6, P7 e P8 em concentrações entre 0,12 e $2,4 \mu\text{g L}^{-1}$; Fluoranteno no P7 ($0,13 \pm 0,01 \mu\text{g L}^{-1}$); e Pireno nos pontos PC2, P6, PC3-120m, LAGO, IBAMA e SABESP, variando de 0,06 a $0,19 \pm 0,01 \mu\text{g L}^{-1}$. Também foi observada a presença de alguns compostos em menor concentração como: Antraceno e Criseno nos pontos de coleta P7 e Córrego IBAMA.

Os resultados apresentados na Tabela 27 poderiam ser justificados em razão da afinidade físico-química que os HPAs possuem com a matéria orgânica, normalmente contida no material em suspensão, a qual constituirá a parte mais superficial do sedimento de fundo. Como essa coleta foi realizada em período chuvoso, as águas das chuvas lixiviam os solos e plantas, desaguardo nos rios. Nesse período observou-se ligeiro aumento na concentração de compostos no material em suspensão e entende-se que a ressuspensão dos sedimentos pode ter contribuído para esse fato.

6.2.3 Resultados para a coleta realizada em Outubro de 2017

As amostras de águas superficiais e subterrâneas foram coletadas nos dias 16, 17 e 18 de Outubro de 2017. Esta campanha de coleta foi realizada em um período em que os níveis das águas dos rios estavam baixíssimos comparado às coletas anteriores. Os resultados das concentrações obtidas para as amostras de água e material em suspensão são apresentados na Tabela 28 e são a média de 3 determinações mais a incerteza expandida.

Tabela 28 - Resultados das análises das amostras de águas e material em suspensão coletadas em outubro de 2017 na área de instalação do RMB e seu entorno.

HPAs	LQ Águas mat.susp. µg. L ⁻¹	PC2		P6		P7		P8		P9	
		Água	Mat. suspensão	Água	Mat. suspensão	Água	Mat. suspensão	Água	Mat. suspensão	Água	Mat. suspensão
Acenafileno	0,040	< LQ	0,05±0,01	< LQ	0,10±0,01	< LQ	0,088±0,005	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Fluoreno	0,003	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Acenafreno	0,030	< LQ	0,05±0,02	< LQ	0,22±0,01	< LQ	0,25±0,02	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Fenantreno	0,003	< LQ	< LQ	0,008±0,001	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,010±0,001	< LQ
Antraceno	0,002	< LQ	0,0030±0,0002	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,0054±0,0002	< LQ	0,0083±0,0004
Fluoranteno	0,004	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,032±0,002	< LQ	< LQ	0,017±0,002	0,020±0,002
Pireno	0,004	< LQ	< LQ	0,029±0,002	0,026±0,002	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Criseno	0,004	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,007±0,001
Benzo[b]fluoranteno	0,002	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Benzo[k]fluoranteno	0,001	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,049±0,005	0,063±0,005	0,041±0,004
Benzo[a]pireno	0,005	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Dibenzof[a,h]antraceno	0,027	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	0,006	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Benzo[g,h,i]perileno	0,007	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ

HPAs	LQ Águas mat.susp. µg. L ⁻¹	PC3-120m		PC3-130m		LAGO		IBAMA		SABESP	
		Água	Mat. suspensão	Água	Mat. suspensão	Água	Mat. suspensão	Água	Mat. suspensão	Água	Mat. suspensão
Acenafileno	0,040	< LQ	0,106±0,005	< LQ	0,12±0,01	5,8±5	0,15±0,01	< LQ	0,293±0,005	0,86±0,02	< LQ
Fluoreno	0,003	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,50±0,04	< LQ	< LQ	0,012±0,001	< LQ	< LQ
Acenafreno	0,030	< LQ	< LQ	< LQ	0,19±0,02	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	1,4±0,1	0,31±0,02
Fenantreno	0,003	< LQ	< LQ	0,008±0,001	< LQ	0,008±0,001	< LQ	< LQ	0,0072±0,0004	0,016±0,001	< LQ
Antraceno	0,002	< LQ	< LQ	< LQ	0,010±0,001	0,069±0,003	0,0038±0,0002	< LQ	0,0039±0,0002	< LQ	0,0038±0,0002
Fluoranteno	0,004	0,030±0,001	< LQ	< LQ	0,027±0,002	0,22±0,01	< LQ	< LQ	0,021±0,003	0,043±0,003	< LQ
Pireno	0,004	< LQ	< LQ	0,027±0,002	< LQ	0,31±0,02	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,018±0,001
Criseno	0,004	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,061±0,003	0,0076±0,0004	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Benzo[b]fluoranteno	0,002	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,056±0,004	< LQ
Benzo[k]fluoranteno	0,001	< LQ	< LQ	0,032±0,003	0,072±0,005	< LQ	< LQ	< LQ	0,047±0,003	< LQ	< LQ
Benzo[a]pireno	0,005	< LQ	< LQ	< LQ	0,018±0,001	0,32±0,03	0,040±0,002	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Dibenzof[a,h]antraceno	0,027	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	0,73±0,05	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	0,006	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ
Benzo[g,h,i]perileno	0,007	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ

LQ = Limite de Quantificação

Conforme os resultados apresentados na Tabela 28, nas amostras de águas superficiais do ponto LAGO foram observadas concentrações acima do valor estabelecido pelo CONAMA 357 para os compostos Acenaftileno ($5,8 \pm 0,5 \mu\text{g L}^{-1}$), Fluoreno ($0,50 \pm 0,04 \mu\text{g L}^{-1}$), Antraceno ($0,069 \pm 0,003 \mu\text{g L}^{-1}$), Fenantreno ($0,38 \pm 0,01 \mu\text{g L}^{-1}$), Fluoranteno ($0,22 \pm 0,01 \mu\text{g L}^{-1}$), Pireno ($0,31 \pm 0,02 \mu\text{g L}^{-1}$), Criseno ($0,061 \pm 0,003 \mu\text{g L}^{-1}$), Dibenzo[a,h]antraceno ($0,73 \pm 0,05 \mu\text{g L}^{-1}$) e Benzo[a]pireno ($0,32 \pm 0,03 \mu\text{g L}^{-1}$).

Nas amostras de águas subterrâneas foram quantificados em concentrações mais altas o Benzo[k]fluoranteno no ponto P9 ($0,063 \pm 0,005 \mu\text{g L}^{-1}$) e no ponto SABESP ($0,056 \pm 0,004 \mu\text{g L}^{-1}$). No ponto SABESP, também foram quantificados os compostos: Acenaftileno ($0,86 \pm 0,02 \mu\text{g L}^{-1}$), Acenafteno ($1,4 \pm 0,1 \mu\text{g L}^{-1}$) e Benzo[b]fluoranteno ($0,056 \pm 0,004 \mu\text{g L}^{-1}$), sendo este último o único composto legislado de acordo com a D.D. n°045/14 e a D.D. n°256/16.

Ainda, nas amostras de águas subterrâneas foram quantificados os compostos Fenantreno (nos pontos PC3-130m, P9 e SABESP), Fluoranteno (PC3-120m, P9 e SABESP), Benzo[k]fluoranteno (PC3-130m) e Pireno (PC3-130m). Todos em concentrações abaixo de $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$ e, alguns destes não identificados na coleta anterior, o que se pode ser um indicativo de que na coleta de 2016 para 2017, ocorreu uma maior ação de atividades humanas no local.

Para o material em suspensão das mesmas amostras de água coletadas em outubro de 2017, de acordo com os resultados de análise apresentados na Tabela 28, observou-se a presença de Acenaftileno acima do valor permitido nos pontos P6 ($0,10 \pm 0,01 \mu\text{g L}^{-1}$), P7 ($0,088 \pm 0,005 \mu\text{g L}^{-1}$), P9 ($0,15 \pm 0,01 \mu\text{g L}^{-1}$), LAGO ($0,15 \pm 0,01 \mu\text{g L}^{-1}$), PC3-120m ($0,106 \pm 0,005 \mu\text{g L}^{-1}$), PC3-130m ($0,12 \pm 0,01 \mu\text{g L}^{-1}$) e IBAMA ($0,293 \pm 0,005 \mu\text{g L}^{-1}$). Foram detectados também os compostos Acenafteno, Fenantreno, Antraceno, Fluoranteno, Pireno, Criseno, Benzo[k]fluoranteno e Benzo[a]pireno em concentrações abaixo de $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$, muitos dos quais encontrados também nas amostras de material em suspensão da coleta anterior (Junho de 2017) em concentrações baixas.

6.2.4 Resultados para a coleta realizada em Dezembro de 2017

As amostras de águas superficiais e subterrâneas coletadas nos dias 4, 5 e 6 de dezembro de 2017. O nível da água dos rios estava baixo durante o período de coleta e os resultados das concentrações obtidas para cada composto analisado foram compilados e podem ser observado na Tabela 29. Esses resultados são a média de 3 determinações mais a incerteza expandida.

Tabela 29 - Resultados das análises das amostras de águas e material em suspensão coletadas em dezembro de 2017 na área de instalação do RMB e seu entorno.

HPAs	LQ Águas µg. L ⁻¹	Dezembro - 2017				P7				P8				P9			
		PC2		P6		Água		Mat. suspensão		Água		Mat. suspensão		Água		Mat. suspensão	
Acenafileno	0,040	0,024	<LQ	0,32±0,01	0,7±0,1	<LQ	0,29±0,02	6,3±0,1	<LQ	<LQ	0,25±0,03	4,4±0,1	<LQ	<LQ	0,04±0,01	<LQ	<LQ
Fluoreno	0,003	0,005	2,9±0,1	0,27±0,02	<LQ	<LQ	0,09±0,01	0,027±0,005	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,07±0,01	<LQ	<LQ
Acenafeno	0,030	0,043	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Fenantreno	0,003	0,002	0,008±0,001	0,027±0,001	0,014±0,002	0,070±0,002	<LQ	0,052±0,002	0,014±0,001	0,018±0,002	0,013±0,001	0,029±0,001	<LQ	<LQ	0,135±0,005	<LQ	<LQ
Antraceno	0,002	0,001	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,018±0,002	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Fluoranteno	0,004	0,003	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,6±0,1	<LQ	<LQ	0,018±0,001	0,068±0,001	<LQ	<LQ	0,010±0,002	<LQ	<LQ
Pireno	0,004	0,002	0,018±0,002	0,016±0,001	<LQ	<LQ	<LQ	0,067±0,004	0,025±0,002	0,017±0,002	0,017±0,002	<LQ	<LQ	0,015±0,002	0,09±0,01	<LQ	<LQ
Criseno	0,004	0,002	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,21±0,01	<LQ	<LQ
Benzol[b]fluoranteno	0,002	0,001	<LQ	<LQ	<LQ	0,019±0,001	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,54±0,03	<LQ	<LQ	0,046±0,003	<LQ	<LQ
Benzol[k]fluoranteno	0,001	0,001	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,026±0,002	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Benzol[a]pireno	0,005	0,003	<LQ	<LQ	<LQ	0,097±0,004	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Dibenzol[a,h]antraceno	0,027	0,016	0,08±0,01	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	0,008	0,004	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Benzol[g,h,i]perileno	0,007	0,004	<LQ	<LQ	<LQ	0,09±0,01	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ

HPAs	LQ Águas µg. L ⁻¹	PC3-120m				PC3-130m				LAGO				IBAMA				SABESP			
		Água		Mat. suspensão		Água		Mat. suspensão		Água		Mat. suspensão		Água		Mat. suspensão		Água		Mat. suspensão	
Acenafileno	0,040	0,024	0,10±0,01	0,15±0,01	<LQ	0,17±0,01	<LQ	0,46±0,01	0,16±0,03	<LQ	0,46±0,01	<LQ	1,43±0,03	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Fluoreno	0,003	0,005	0,012±0,002	0,009±0,001	<LQ	0,024±0,001	<LQ	0,019±0,003	<LQ	<LQ	0,019±0,003	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,016±0,002	<LQ
Acenafeno	0,030	0,043	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Fenantreno	0,003	0,002	0,044±0,004	0,031±0,001	0,006±0,001	0,097±0,004	0,002±0,0002	0,068±0,004	1,21±0,4	<LQ	0,068±0,004	0,067±0,003	0,054±0,001	<LQ	<LQ	0,034±0,002	<LQ	<LQ	<LQ	0,0033±0,0002	<LQ
Antraceno	0,002	0,001	<LQ	0,0044±0,0002	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,014±0,002	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,104±0,004	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,019±0,002	<LQ
Fluoranteno	0,004	0,003	<LQ	0,015±0,001	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,015±0,002	<LQ	<LQ	0,037±0,003	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,016±0,001	<LQ
Pireno	0,004	0,002	0,044±0,004	0,009±0,001	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Criseno	0,004	0,002	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Benzol[b]fluoranteno	0,002	0,001	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	6,7±4	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Benzol[k]fluoranteno	0,001	0,001	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,031±0,002	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Benzol[a]pireno	0,005	0,003	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Dibenzol[a,h]antraceno	0,027	0,016	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	0,008	0,004	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Benzol[g,h,i]perileno	0,007	0,004	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ

LQ = Limite de Quantificação

De acordo com os resultados da Tabela 29, nas amostras de água superficial observou-se a presença de Acenaftileno nos pontos P6 ($0,7 \pm 0,1 \mu\text{g L}^{-1}$), P8 ($0,25 \pm 0,03 \mu\text{g L}^{-1}$) e LAGO ($0,16 \pm 0,03 \mu\text{g L}^{-1}$). No ponto PC2, foi observado um valor de concentração significativo, quando comparado aos outros HPAs nesta coleta, para os compostos Fluoreno ($2,9 \pm 0,1 \mu\text{g L}^{-1}$) e Dibenzo[a,h]antraceno ($0,08 \pm 0,01 \mu\text{g L}^{-1}$). Também foi observada a presença de Fenantreno, em concentração significativa, no ponto LAGO ($1,21 \pm 0,04 \mu\text{g L}^{-1}$). Todos estes HPAs apresentaram concentração acima do limite estabelecido pelo CONAMA 357 de $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$ (BRASIL, 2005). No ponto LAGO, estes valores poderiam ser justificados pela presença de veículos e tratores ao redor do ponto de coleta e por possíveis queimadas recentes. Vale ressaltar que este ponto está localizado dentro de uma fazenda e deve ser avaliado com mais frequência para que se tenha um diagnóstico mais preciso a respeito do foco de contaminação.

Os resultados obtidos para as amostras de água subterrânea apresentaram concentrações acima do valor máximo permissível de acordo com o CONAMA 396 nos pontos: PC3-130m ($0,30 \pm 0,02 \mu\text{g L}^{-1}$) para o composto Pireno e no ponto PC3-120m ($0,10 \pm 0,01 \mu\text{g L}^{-1}$) para o composto Acenaftileno. Apesar de não ser contemplado na legislação. Também foi possível observar a presença de alguns compostos nas amostras desta coleta de dezembro de 2017, em concentrações menores que o limite permitido, $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$, para os compostos: Fluoreno, Fenantreno, Antraceno, Fluoranteno e Pireno (BRASIL, 2008).

Em relação às amostras de material em suspensão, observou-se a presença de Acenaftileno em concentrações mais altas, na faixa de $0,15$ a $6,9 \mu\text{g L}^{-1}$, nos pontos PC2, P6, P7, P8, PC3-120m, PC3-130m, LAGO e IBAMA. Alguns HPAs foram observados em concentrações abaixo de $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$, em diferentes pontos para os compostos: Fluoreno, Fenantreno, Antraceno, Fluoranteno, Pireno, Criseno, Benzo[b]fluoranteno, Benzo[k]fluoranteno, Benzo[a]pireno e Benzo[g,h,i]perileno.

Para uma melhor visualização dos resultados, nas Figuras 42 a 46 são apresentados todos os resultados dos HPAs encontrados nas 4 coletas tanto para as matrizes de águas quanto para a matriz de material em suspensão material em

suspensão na coluna d'água. Na Figura 47 são apresentados os resultados das somatórias dos HPAs (água e material em suspensão) por ponto de coleta.

Figura 42 – Representação gráfica de todos os resultados de HPAs referentes às 4 campanhas de coleta (outubro/16, junho, outubro e dezembro/17) para amostras de água e material em suspensão dos pontos PC2 e P6 da área do RMB e seu entorno.

Figura 44 – Representação gráfica de todos os resultados de HPAs referentes às 4 campanhas de coleta (outubro/16, junho, outubro e dezembro/17) para amostras de água e material em suspensão dos pontos P9 e LAGO da área do RMB e seu entorno.

Figura 47 – Representação gráfica da somatória de HPAs para os pontos PC2, P6 e P7, para as 4 campanhas de coleta (outubro/16, junho, outubro e dezembro/17).

Figura 48 – Representação gráfica da somatória de HPAs para os pontos P8, P9 e LAGO, para as 4 campanhas de coleta (outubro/16, junho, outubro e dezembro/17).

Figura 49 – Representação gráfica da somatória de HPAs para os pontos PC3120m, PC3-130m e córrego IBAMA, para as 4 campanhas de coleta (outubro/16, junho, outubro e dezembro/17).

Figura 50 – Representação gráfica da somatória de HPAs para o ponto SABESP, para as 4 campanhas de coleta (outubro/16, junho, outubro e dezembro/17).

Observando os resultados apresentados nas Figuras 47 a 50, é possível verificar que o ponto P7 foi o que obteve uma maior somatória dos HPAs presentes nas amostras de material em suspensão na coluna d'água na coleta do mês de dezembro e o ponto P8 também apresentou valores altos, corroborando com os dados da Tabela 29 e, provavelmente devido à contribuição dos resultados de acenafileno. Na coleta de junho de 2017 foram observados valores altos, mas essa coleta foi realizada em um mês atipicamente seco. Os pontos P7 e P8 são locais mais poluídos do que os demais, pois situam-se no rio Sorocaba que recebe descarga de esgotos da cidade.

A somatória dos HPAs nas águas do ponto LAGO em outubro de 2017 foi um resultado inesperado, visto que o local não é de livre acesso, porém, conforme já citado, pode ter havido influência de fatores pontuais como a passagem de veículos ou queimadas na ocasião das coletas. Os gráficos da Figura 43 apresentam um perfil por ponto de coleta, onde pode-se observar melhor os resultados já apresentados nas Tabelas 26 a 29.

Na Figura 51 são apresentados os dendrogramas resultantes da análise de cluster para a somatória dos HPAs em cada matriz e em todos os resultados por pontos de coleta para as 4 campanhas realizadas.

Figura 51 – Resultados da Análise de Cluster para a somatória dos HPAs em água, em material em suspensão material em suspensão na coluna d'água e total, para cada ponto de amostragem, considerando as 4 coletas (outubro/16, junho, outubro e dezembro/17).

De acordo com a Figura 51-C, observa-se que os pontos LAGO e P7 não têm nenhuma correlação com os demais pontos. Conforme verificado nos resultados anteriores nas Tabelas 24 a 27, provavelmente os valores de Acenafileno foram os principais responsáveis por esse resultado. Essa representação pode ter sido obtida devido ao fato do ponto P7 apresentar

características contaminantes, e o ponto LAGO apresentar em seu entorno, movimentação de veículos como caminhões e tratores, fazendo com que esses fatores elevem os níveis de HPAs os quais vão para a atmosfera, depositando-se posteriormente em rios, lagos e solos.

Avaliando-se os resultados das análises de Clusters (dendrogramas) separadamente, Figura 51-A para águas e Figura 51-B para material em suspensão, verifica-se que o resultado do perfil da Figura 51-C para somatória dos HPAs indica que no caso do ponto LAGO, essa separação é referente aos resultados para águas e no caso do ponto P7 é referente aos resultados para material em suspensão retido nas membranas filtrantes.

Embora tenham sido detectados vários compostos em todas as campanhas, as concentrações sempre foram baixas, portanto a área de estudo ainda pode ser considerada preservada. Esta avaliação basal é de grande importância para o acompanhamento do monitoramento durante e após a construção do empreendimento RMB. Desta maneira será possível saber se o empreendimento RMB causará danos ao meio ambiente ou não durante a sua construção e mesmo após sua inauguração.

7 CONCLUSÕES

1. Os resultados para validação do método para material em suspensão demonstram estatisticamente que o método é adequado para a determinação dos compostos estudados, isto é, que a metodologia forneceu confiabilidade estatística aos dados, pois o método apresentou resultados satisfatórios para seletividade, linearidade, exatidão e precisão.
2. Os limites de detecção e quantificação alcançados são coerentes com os limites necessários para a análise em nível de traço, portanto, é adequada para a determinação de 14 HPAs propostos em amostras de material em suspensão. As recuperações obtidas para os 14 HPAs estão dentro da faixa recomendada pela literatura e, portanto, são satisfatórias;
3. Compostos como Acenaftileno Fluoreno e Fenantreno foram quantificados em concentrações bem acima do valor legislado nas amostras de água e embora tenham sido observadas baixas concentrações de praticamente todos os compostos estudados no material em suspensão e alguns compostos como Fluoreno, Acenafteno, Acenaftileno e Benzo[b]fluoranteno, em concentrações mais altas, é necessário um programa de monitoramento constante, para que a partir dos dados obtidos, possa-se tomar decisões concisas de controle.
4. Os resultados obtidos na determinação dos HPAs estudados em amostras de águas superficiais e subterrâneas da área de instalação do empreendimento RMB demonstraram que o local é preservado, mas alguns corpos d'água ao redor da área, como o rio Sorocaba, apresentam concentrações de HPAs acima do valor estabelecido pela legislação, provavelmente devido às atividades antropogênicas no entorno, indicando que a área precisa de uma maior atenção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-SHAFY, H.I.; MANSOUR, M.S.M. A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation. ***Egyptian Journal of Petroleum***, v. 25, p.107-123, 2015.
- ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR ISO/IEC 17043:2011 Versão Corrigida: 2017. Avaliação da conformidade — Requisitos gerais para ensaios de proficiência, 2017.
- ADAME, G. ***Desenvolvimento e validação de método para a extração e quantificação de compostos fenólicos em sedimento. Estudo de caso: Reservatório Guarapiranga, SP.*** Dissertação (Mestrado). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2016.
- AKAISHI, F. M. ***Aplicação de Biomarcadores de Contaminação Ambiental em Estudos de Laboratório e Monitoramento em Campo.*** Curitiba, 2003. 111 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.
- AKCHA, F.; IZUEL, C.; BUDZINSKI, H.; BURGEOT, T. & NARBONNE, J.F. Enzymatic biomarker measurement and study of DNA adduct formation in B[a]P-contaminated mussel, *Mytilus galloprovincialis*. ***Aquatic Toxicology***, 49: p. 269-287, 2000.
- ALABASTER, J.S.; LLOYD, D.S. ***Finely divided solids. Water Quality Criteria for Freshwater Fish.*** Butterworth, London, p. 1-20, 1982.
- AMES, B.N.; MCCANN, J.; YAMASAKI, E. ***Methods for detecting carcinogens and mutagens with the salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test.*** Department of Biochemistry. University of California. Berkeley, CA. *Mutat. Res.* 31: p. 347-64, 1975
- ANDRIETTA, S.A.O. ***Acidente do trabalho. Histórico legislativo e a proteção dos direitos do cidadão.*** Universidade Metodista de Piracicaba, 2009. Dissertação (Pós-Graduação, Curso de Mestrado em Direito). Orientador: Professor Doutor José Luiz Gavião de Almeida.
- ANJOS, RB. ***Avaliação de HPA e BTEX no solo e água subterrânea, em postos de revenda de combustíveis: estudo de caso na cidade de Natal/RN.*** Rio Grande do Norte, 2012. 106f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Engenharia do Petróleo) Centro de Tecnologia-Centro de Ciências Exatas e da Terra, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2012.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 166, 2017.
- ANYAKORA, C.A.; OGBECHE, K.A.; PALMER, P.; COKER, H. Determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in the marine samples of Siokolo fishing settlement. ***Journal of Chromatography***, A 1073 (1-2), p. 323-330, 2005.

AOAC International, Official methods of analysis of AOAC International, in Guidelines for Standard Method Performance Requirements (Appendix F). Gaithersburg: AOAC International, 2016.

ATSDR, 2008. Toxicological Profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Atlanta: Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Disponível em: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp69.html>, acesso em 11 jul 2018

AZEREDO, A., **Determinação de benzo[a]pireno em pescados comercializados em Campinas-SP**. 2001. 76 folhas. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Unicamp, Campinas.

AZEVEDO, JAH; ARAÚJO, RS; SILVA, GMM. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos atmosféricos de fontes automotivas: uma breve revisão. **Holos**, v. 29 n.1, p. 102-114, 2013.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E.; **Planejamento e otimização de experimentos**. Editora da Unicamp, Campinas 1996.

BARROSO, H. S. **Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAS) em organismos marinhos da Baía do Almirantado, Península Antártica**. 2010. 160 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

BEHYMER, T.D.; HITES, R.A. Photolysis of polycyclic aromatic hydrocarbons adsorbed on fly ash. **Environ Sci Tech** n. 22, p.1311-1319, 1988.

BELL, J. Paraffin epithelioma of the scrotum. Scotland, **Edinb.Med**, J22, p. 135-137, 1976.

BELPAIRE, C.; GOEMANS, G. The European Eel *Anguilla anguilla*, a rapporteur of the chemical status for the water framework directive?. **Vie et Milieu É Life and Environment** n. 57, p. 235–252, 2007.

BEVAN, D.R.; ULMAN, M.R. Examination of factors that may influence disposition of benzo[a]pyrene in vivo: vehicles and asbestos, **Cancer Lett.** 57 (2) (1991) 173.

BICUDO, C. E.; BICUDO, D. C. **100 anos da represa Guarapiranga: Lições e desafios**. Editora CRV. Capítulo 10: página 309 a 382. 2017.

BILOTTA, G.S.; BRAZIER, R.E. **Understanding the influence of suspended solids on water quality and aquatic biota**. *Water Research* , v. 42, n.12, p. 2849-2861, 2008.

BLASCO, M.; DOMEÑO, C.; BENTAYEB, K.; NERÍN, C. (2007) Solid-phase extraction clean-up procedure for the analysis of PAHs in lichens, **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, 87:12, 833-846, DOI: 10.1080/03067310701381615

BRASIL LEI 9.433/1997 (LEI ORDINÁRIA) 08/01/1997 // Política Nacional de Recursos Hídricos. - 1997. - D.O. DE 09/01/1997, P. 470.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Urbano e Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). **Resolução n. 357**, D.O.U., de 17 de março de 2005, Brasília.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Urbano e Meio Ambiente. Conselho 181 Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). **Resolução n. 420**, D.O.U., de 28 de dezembro de 2009. Brasília.

BRASIL-CONAMA – Ministério de desenvolvimento urbano e meio ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 396**, de 03 de abril de 2008.

BRITO, C. F. **Avaliação dos efeitos da construção do rodão na qualidade da água e sedimento na represa do Parque Pedroso, Santo André-SP**. Estudo geoquímico de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), metais e elementos traços com vistas ao abastecimento público. Tese (Doutorado) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2014

BRITO, C.F. **Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em sedimentos**. Avaliação da Represa do Parque Pedroso, Santo André, SP. Dissertação de Mestrado -IPEN/ USP, 2009.

BRITO, C.F.; MARTINS, E.A.J., SOUZA, R.R.; OTOMO, J.I.; FURUSAWA, H.A.; FERNANDES, D.; COTRIM, M.E.B.; PIRES, M. A. F. **Estudo de compostos orgânicos persistentes em águas destinadas ao abastecimento público na região de Santo André, SP**. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica. In: A. S. Messias; M. R. N. Costa. (Org.). Gestão Integrada de Ambientes Costeiros e Impactos Ambientais. Série Encontro das Águas. n.05 ISBN 978857084177-3, ed. FASA Gráfica. Recife/PE, 2009.

BRUM, D. M., CASSELLA, R. J., NETTO, A. D. P., Multivariate optimization of a liquid-liquid extraction of EPA-PAHs from natural contaminated Waters prior to determination by liquid chromatography with fluorescent detection. **Talanta**, v.74, N.5, p.1392-1399, 2007.

BUSBEE, D.L.; NORMAN, J.O.; ZIPRIN, R.L. Comparative uptake, vascular transport, and cellular internalization of aflatoxin-B1 and benzo(a)pyrene, **Arch. Toxicol.** 64 (4) (1990) 285.

BUSSAB, W.O. **Análise de variância e de regressão: uma introdução em métodos quantitativos**. 2.ed. São Paulo: Atual, 1988.

CAO, Z.; WANG, Y.; MA, Y.; XU, Z.; SHI, G.; ZHUANG, Y.; ZHU, T., Occurrence and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in reclaimed water and surface water of Tianjin. **China Journal of Hazardous Materials**, V.122, N.1-2, p.51-5, 2005.

CARUSO, M. S. F.; ALABURDA, J. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos - benzo[a]pireno: uma revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.67, p.1-27, 2008.

CEMIGLIA, C.E.; GIBSON, D.T. **Oxidation of benzo[a]pyrene by the filamentous fungus Cunninghamella elegans**. J Biol Chem n. 254, p. 12174-12180, 1979.

CEMIGLIA, C.E.; HEITKAMP, M.A. **Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment**. Varanasi U, ed. Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment. Boca Raton, FL: CRC Press, p. 41-68, 1989.

CEPAGRI-Centro de Pesquisas Meteorológicas e Climáticas Aplicadas a Agricultura - CEPAGRI Meteorologia UNICAMP. Clima dos municípios Paulistas. Cidade Universitária "Zeferino Vaz" Campinas SP, 2018. Disponível em: <http://www.cpa.unicamp.br/outrasinformacoes/clima_muni_243.html>. Acesso em 18 abr. 2018.

CETESB- Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras: água, sedimento, comunidade aquáticas e efluentes líquidos - 2011. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/laboratorios/publicacoes/guia-nacional-coleta-2012.pdf>>. Acesso em: 2 fev.2018

CETESB-Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **D.D. nº 045/2014/E/C/I.** Valores Orientados para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo – 2014. Disponível em: < <https://cetesb.sp.gov.br/solo/valores-orientadores-para-solo-e-agua-subterranea/> >. Acesso em: 15 de dez. de 2018.

CETESB-Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **D.D. nº 256/2016/E.** 183 Valores Orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo - 2016. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/2014/12/DD-256-2016-E-Valores-Orientadores-Dioxinas-e-Furanos-2016-Intranet.pdf>>. Acesso em: 14 de dez. de 2018.

CHEN, L.; RAN, Y.; XING, B.; MAI, B.; HE, J.; WEI, X.; FU, J.; SHENG, G. Contents and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides in vegetable soils of Guangzhau, China. **Chemosphere**, v. 60, p. 879-890, 2005.

CHEN, Y.; ZHU, L.; ZHOU, R., Characterization and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbon in surface water and sediment from Qiantang River, China. **Journal Of Hazardous Materials**, V.141, N.1, o.148-155, 2007.

CIOLA, R. **Fundamentos da cromatografia a líquido de alto desempenho**. São Paulo: Edgard Blücher, 2006.

CNEN-Comissão Nacional de Energia Nuclear. **Diretoria de pesquisa e desenvolvimento Reator Multipropósito Brasileiro Ë IPEN**. Programa de Monitoração Radiológica Ambiental Pré-Operacional do RMB (PMRA).São Paulo, 2012.

COLLINS, C.H; BRAGA, G.L. **Introdução a métodos cromatográficos**. 7. ed. Campinas: Universidade de Campinas, 1997.

CONNEY, A.H. 1982. Introduction of microsomal enzymes by foreign chemicals and carcinogenesis by polycyclic aromatic hydrocarbons: G. H. A. Clowes memorial lecture. **Cancer Research**, 42: 4875-4917.

CORDEIRO, D. S. **Estudos de aspectos do comportamento fotoquímico e eletroquímico de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos**. Dissertação de Mestrado – Instituto de Química da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006

DAEE-Departamento de Águas e Energia Elétrica; IG-Instituto Geológico; IPT-Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo; CPRM-Serviço Geológico do Brasil, 2005. Mapa de águas subterrâneas do Estado de São

Paulo, escala 1:1.000.000; nota explicativa. Coordenação geral Gerônimo Rocha. - São Paulo, 2005.

DAVID, B.; BOULE, P. 1993. Phototransformation of hydrophobic pollutants in aqueous medium. 1. PAHs adsorbed on silica. **Chemosphere**, v. 26, p.1617-1630.

DE BOER, J.; HAGEL, P. 1994. Spatial differences and temporal trends of chlorobiphenyls in yellow eel (*Anguilla anguilla*) from inland waters of the Netherlands. **Science of the Total Environment**, v. 141, p.155-174.

DÓREA, H. S.; BISPO, J. R. S.; ARAGÃO, K. A. S.; CUNHA, B. B.; NAVICKIENE, S.; ALVES, J. P. H.; ROMÃO, L. P. C.; GARCIA, C. A. B. Analysis of BTEX, PAHs and metals in the oilfield produced water in the State of Sergipe, Brazil. **Microchemical Journal**, v.85, n.2, p.234-238, 2007.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Sistema Brasileiro de Classificação do Solo – SBCS, 2009.

EURACHEM/CITAC **Guide Quantifying Uncertainty In Analytical Measurement** (Second Edition), EURACHEM Secretariat, BAM, Berlin, 2000.

FERNANDES, M. B.; SICRE, M.-A.; BOIREAU, A.; TRONCZYNSKI, J. (1997). Polyaromatic hydrocarbon (PAH) distributions in the Seine River and its estuary. **Marine Pollution Bulletin**, 34(11), 857–867. doi:10.1016/s0025-326x(97)00063-5

FURUSAWA, H. A. **Validação de Ensaios Químicos**. IPEN-CNEN/SP, (adaptação eletrônica baseada no documento DOQ-CGCRE-008 do INMETRO). São Paulo, 2007.

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

GARCÍA-FALCÓN, M. S.; PÉREZ-LAMELA, M.; SIMAL-GÁNDARA J. *Comparison of strategies for extraction of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons from drinking waters*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p. 6897-6903, 2004.

GERDE, P.; MUGGENBURG, B.A.; SABOURIN, P.J.; HERKEMA, J.A. Disposition of polycyclic aromatic hydrocarbons in the respiratory tract of the beagle dog. II. The conducting airways, **Toxicol. Appl. Pharmacol.** v.121, p319.(1993).

GUIA EURACHEM. **Determinando a incerteza na medição analítica**. Versão Brasileira, 2ª ed, 2002

HARRISON, R. M. **Pollution, Causes, Effects and Control. The Royal Society of Chemistry**, 3.ed. London, 1996.

HARRISON, R.M.; PERRY, R.; WELLINGS, R.A. Chemical kinetics of chlorination of some polynuclear aromatic hydrocarbons under conditions of water treatment processes. **Environ Sci Technol**, v. 10, p. 1156-1160, 1976a.

HARRISON, R.M.; PERRY, R.; WELLINGS, R.A. Effect of water chlorination upon levels of some polynuclear aromatic hydrocarbons in water. **Environ Sci Technol** v. 10, p. 1151-1156, 1976b.

HARRISON, R.M.; SMITH, D.J.T.; LUHANA, L. Source apportionment of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons collected from an urban location in

Birmingham, UK. *Environmental Science and Technology*, v.30, p.825-832,1996.

HENRY, S.A. Cutaneous cancer attributable to certain chemicals in industry. *Br.Med.Bull*, n. 4, p. 389-401, 1947.

HIBBERT, D.B.; JIANG, J.; MULHOLLAND, M. I.; Propagation of uncertainty in high – performance liquid chromatography with UV – VIS detection. *Anal. Quim. A.*, v. 443 p. 205-214, 2001.

HORWITZ, W.; ALBERT, R. The Horwitz ratio (HorRat): A useful index of method performer with respect to precision. *Journal of AOAC International*. V. 89, n. 4, 2006.

IARC - International Agency of Cancer Research. *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: Some non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures*. V. 92, Lyon, France. 2010.

ICMBio – Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/flonaipanema/floresta-nacional-de-ipanema.html>> Acesso em: 06 abr.2017.

IEA - Instituto De Economia Agrícola. Levantamento Subjetivo 2009, Previsões e Estimativas de Safras do Estado de São Paulo. Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI), Governo do Estado de São Paulo, 2009.

IGC - Índice Geral de Cursos. 2014. Disponível em: <<http://portal.inep.gov.br/indice-geral-de-cursos-igc->>. Acesso em:25 jan.2019

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia – 2012. *Avaliação de dados de medição: Guia para a expressão de incerteza de medição É GUM 2008*. 1ª Edição Brasileira da 1ª Edição do BIPM de 2008. *Evaluation of measurement data É Guide to the expression of uncertainty in measurement*. Duque de Caxias, RJ: INMETRO/ CICMA/ SEPIM, 2012.

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia. *Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos*. Rio de Janeiro. DOQ-CGCRE-008. Revisão 01. Mar. 2003.

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia. *Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos*. Rio de Janeiro. DOQ-CGCRE-008. Revisão 02. jun. 2007.

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia. *Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos*. Rio de Janeiro. DOQ-CGCRE-008. Revisão 07 – Julho 2018.

JEANNEAU, L.; FAURE, P.; JARDÉ, E. Influence of natural organic matter on the solid-phase extraction of organic micropollutants Application to the water-extract from highly contaminated river sediment. *Journal of Chromatografy A*, V.1173, N.1-2, p.1-9, 2007.

KATAYAMA, A.; BHULA, R.; BURNS, G. R.; CARAZO, E.; FELSOT, A.; HAMILTON, D.; HARRIS, C.; KIM, Y. H.; KLETER, G.; KOEDEL, W.; LINDERS, J.; PEIJNENBURG, J. G.; SABLJIC, A.; STEPHENSON, R. G.; RACKE, D. K.; RUBIN, B.; TANAKA, K.; UNSWORTH, J.; WAUCHOPE, R. D. Bioavailability of

xenobiotics in the soil environment. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 203, p. 1-86, 2010. PMID:19957116.
http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4419-1352-4_1.

LAN, J., SUN, Y., XIAO, S., & YUAN, D. (2016). Polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in a highly vulnerable underground river system in Chongqing, Southwest China. **Journal of Geochemical Exploration**, 168, 65–71.
 doi:10.1016/j.gexplo.2016.05.013

LANÇAS, F. M. **Extração em fase sólida (SPE)**. São Carlos: RiMa, 2004b.

LANÇAS, F. M. **Validação de métodos cromatográficos de análise**. São Carlos: RiMa, 2004a.

LEBRE, D. T. **Desenvolvimento de metodologia para a determinação de herbicidas e inseticidas em águas superficiais utilizando extração líquido-sólido e cromatografia líquida de alta eficiência**. 2000. Dissertação de Mestrado – Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares, São Paulo.

LEITE, F. **Validação em Análise Química**. 5. Ed. Campinas, SP. Editora Átomo, 2008.

LEITE, F. **Validação em Análise Química**. Editora Átomo. 4ª Ed. 2002.

LI, J., LI, F., & LIU, Q. (2017). PAHs behavior in surface water and groundwater of the Yellow River estuary: Evidence from isotopes and hydrochemistry. **Chemosphere**, v.178, p.143–153. doi:10.1016/j.chemosphere.2017.03.052

LIMA, AC. **Determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em águas superficiais nos rios Piracicaba e Doce, Ipatinga-MG, utilizando a técnica de EFC-CLAE-DAD**. Ouro Preto, 2008. 83 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental)-Departamento de Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Ouro Preto, 2008.

LOCATELLI, M. A. F., **Investigação sobre a emissão e caracterização dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) na bacia do Rio Atibaia**. 2006. 86 páginas. Dissertação de mestrado. Mestrado em Química Analítica. Instituto de Química. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

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

MACHADO, V.N.; SETTI, J.A.P.; SOVIERZOSKI, M.A. **Metrologia química e suas particularidades no cálculo da incerteza de medição**. 7º Congresso Brasileiro de Metrologia, Ouro Preto/MG, novembro de 2013. Disponível em: <http://www.energiapura.net.br/Trabalhos%20Publicados/2013/incertezas_na_mq_versao_final_apos_revisor_290813.pdf>. Acesso em: 25/04/2016.

MAES, J.; BELPAIRE, C.; GOEMANS, G. Spatial variations and temporal trends between 1994 and 2005 in polychlorinated biphenyls, Organochlorine pesticides and heavy metals in European eel (*Anguilla anguilla* L.) in Flanders, Belgium. **Environ. Pollut.** 153, 223–237, 2007.

MANAHAN, S. E. **Environmental science and technology a sustainable approach to green science and technology**. 2.ed. London: Boca Raton: CRC Press, 2007.

MANOLI, E.; SAMARA, E. Polycyclic aromatic hydrocarbons in natural waters: sources, occurrence and analysis. **Trends Anal. Chem.**, v. 18, n. 6, p. 417-428, 1999.

MARTINS, C. C. **Avaliação da introdução de esteróis fecais e hidrocarbonetos marcadores geoquímicos da baía do Almirantad, Península Antártica**. 2001. Dissertação de Mestrado – Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, São Paulo.

MARTINS, E. A. J. **Estimativa da incerteza em ensaios químicos**. São Paulo, IPENCNEN/ SP (adaptação eletrônica baseada no documento EURACHEM/CITAC Guide. 2nd Edition, 2000). 2010.

MARTINS, E. A. J.; FURUSAWA, H. A.; OTOMO, J. I.; SOUZA, R. R.; OLIVEIRA, C. L.; COTRIM, M. E. B.; PIRES, M. A. F. Avaliação de incerteza de medição na determinação de interferentes endócrinos em água superficial por cromatografia gasosa com detecção por espectrometria de massas. **In: XIII International Conference on Engineering and Technology Education**. Guimarães, Portugal: 2014.

MEIRE, R. O.; AZEVEDO, A.; TORRES, J. P. M. Aspectos ecotoxicológicos de hidrocarbonetos policíclicos Aromáticos. **Oecol Brasil**. v.11, n. 2, p. 188-201. 2007.

MOORE, D.S.; MCCABE, G.P. **Introduction do the practice of statistics**. 5.ed., New York, 2006.

MRS Estudos Ambientais Ltda Relatório de Impacto Ambiental do Reator Multipropósito Brasileiro [Report]. - 2013.

NAGATA S, KONDO G. 1977. **Photo-oxidation of crude oils**. Proceedings of the 1977 Oil Spill Conference (prevention, behavior, cleanup, control):617-620.

NAS. Particulate polycyclic organic matter. Washington, D.C: National Academy of Sciences, Division of Medical Science, **National Research Council**, p. 28-81, 1972.

NEFF, J.M. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment - sources, fates and biological effects. London, **England: Applied Science Publishers**, 1979.

NGUYEN, T. C; LOGANATHAN, P.; NGUYEN, T. V.; VIGNESWARAN, S.; KANDASAMY, J.; SLEE, D.; STEVENSON, G.; NAIDU, R. Polycyclic aromatic hydrocarbons in road-deposited sediments, water sediments, and soils in Sydney, Australia: Comparisons of concentration distribution, sources and potential toxicity. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.104, p. 339-348, 2014.

OLIVELLA, M. A., Polycyclic aromatic hydrocarbons in rainwater and surface waters of Lake Maggiore, a subalpine lake in Northern Italy. **Chemosphere**, V.63, N.1, p.116-131, 2006.

OTOMO, J. I.; MARTINS, E. A. J.; FURUSAWA, H. A.; COTRIM, M. E. B.; PIRES, M. A. F. Monitoramento de hormônios em estações de tratamento de águas no Vale do Paraíba, SP. desenvolvimento e validação de metodologia analítica. **Revista Brasileira de Pesquisa e Desenvolvimento**, v. 13, p. 192-201, 2011.

OTOMO, J.I. **Contribuição antrópica na qualidade das águas da represa do Guarapiranga. Um estudo sobre interferentes endócrinos.** Tese de Doutorado. IPEN/USP, 2015.

PATROLECCO, L.; ADEMOLLO, N.; CAPRI, S.; PAGNOTTA, R.; POLESELLO, S. (2010). Occurrence of priority hazardous PAHs in water, suspended particulate matter, sediment and common eels (*Anguilla anguilla*) in the urban stretch of the River Tiber (Italy). **Chemosphere**, 81(11), 1386–1392. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.09.027

PEREIRA NETTO, A.D. **Determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em amostras ambientais.** Tese de doutorado. Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1999.

PEREIRA NETTO, A.D.; MOREIRA, J.C.; DIAS, A.E.X.O; ARBILLA, G.; BAREK, J. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAS) e seus derivados nitrados (NHPAS): Uma revisão metodológica. **Química Nova**, v. 23, n.6, p. 765-773, 2000

PERES, S.S.; MARTINS, N.S.F. (2011). Informações Preliminares do Local do RMB: Uso e Ocupação do Solo, Uso das Águas, Vias Críticas de Exposição, Grupo Crítico da População. Relatório Técnico do RMB/DPD/CNEN, 05/12/2011.

PIMENTEL GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental.** Editora: FEALQ, 2009. 451P.

PIRES, B. A. **Otimização de um método analítico para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em sedimentos estuarinos.** 2012. 99f. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química e Bioquímica, Universidade do Porto, 2012.

POTHULURI, J.V.; FREEMAN, J.P.; EVANS, F.E. Biotransformation of fluorene by the fungus *Cunninghamella elegans*. **Appl Environ Microbial**, v. 59, ed.6, p. 1977-1980, 1993.

POTT, P.; HAWES, L.; CLARKE, W.; COLLINS, R. **Observations Relative to the Cataract, The Polypus of the Nose, The Cancer of the Scrotum, The Different Kinds of Ruptures, and The Mortification of the Toes and Feet.** London, 1775.

QIN, N.; HE, W.; KONG, X.-Z.; LIU, W.-X.; HE, Q.-S.; YANG, B.; ZHAO, X.-L. (2014). Distribution, partitioning and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in the water–SPM–sediment system of Lake Chaohu, China. **Science of The Total Environment**, 496, 414–423. doi:10.1016/j.scitotenv.2014.07.045

RECURSOS HÍDRICOS (SIGRH) 2018. Disponível em: www.sigrh.sp.gov.br, acesso em 01 de Março de 2019

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

ROSA, L. T. **Determinação de compostos orgânicos (HPAs) em amostras de sedimento da represa do Parque Pedroso, Santo André, SP.** Relatório Final do Programa CNPq/PIBIC. IPEN-CNEN/SP, São Paulo, Abril/2013.

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

SÁNCHEZ, L.E. **Avaliação de Impacto Ambiental: Conceitos e métodos**. São Paulo: Oficina de textos, 2008.

SANTOS, E.; SOUZA, M. R. R.; VILELA JUNIOR, A. R.; SOARES, L. S.; FRENA, M.; ALEXANDRE, M. R. (2018). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in superficial water from a tropical estuarine system: Distribution, seasonal variations, sources and ecological risk assessment. **Marine Pollution Bulletin**, 127, 352–358. doi:10.1016/j.marpolbul.2017.12.014

SARRIA-VILLA, R.; OCAMPO-DUQUE, W.; PÁEZ, M.; SCHUHMACHER, M. (2016). Presence of PAHs in water and sediments of the Colombian Cauca River during heavy rain episodes, and implications for risk assessment. **Science of The Total Environment**, 540, 455–465. doi:10.1016/j.scitotenv.2015.07.020

SILVA, J. C. **Determinação de compostos orgânicos, HPAs, em amostras desedimento e solo da área de instalação do Reator Multipropósito Brasileiro ÊRMB**. 2018. 208 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN-CNEN/SP. São Paulo.

SILVA, L. L. **Avaliação de Avaliação de interferentes endócrinos e marcadores de atividade antrópica nos corpos d'água da área de instalação do Reator Multipropósito Brasileiro ÊRMB**. 2018. 201 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN - CNEN/SP. São Paulo.

SILVA, R.A. **Desenvolvimento de software como ferramenta de confiabilidade para a análise da água subterrânea do IPEN**. Dissertação de Mestrado - IPEN/ USP, 2012.

SOCLO, H.H.; GARRIGUES, P.H.; EWALD, M. Origin of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs) in coastal marine sediments: case studies in Cotonou (Benin) and Aquitaine (France). **Mar. Pollut. Bull.**, v. 40, p. 387–396, 2000.

STELLATO, T.B. **Avaliação da qualidade da água superficial e subterrânea da área de instalação do futuro Reator Multipropósito Brasileiro ÊRMB, como uma ferramenta para a obtenção da licença de instalação**. 2017. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

SUN, F.; LITTLEJOHN, D.; GIBSON, M. D. Ultrasonication extraction and solid phase extraction clean-up for determination of US EPA 16 priority pollutant polycyclic aromatic hydrocarbons in soils by reversed-phase liquid chromatography with ultraviolet absorption detection. **Anal. Chim. A.**, v. 364, p. 1-11, 1998.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report) **Pure Appl. Chem.**, 2002.

TIBURTIUS, E.R.L.; PERALTA-ZAMORA, P. Contaminação de águas por BTXS e processos utilizados na remediação de sítios contaminados. **Química Nova**, v.27, n.03, 2004. P. 441-446.

TUNDISI, J. G. **Recursos hídricos no Brasil: problemas, desafios e estratégias para o futuro**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, p.1-2. 2014.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. **Guidelines for Carcinogen Risk Assessment**, 1986. Disponível em: <http://www.epa.gov/cancerguidelines/index.htm>. Acesso em 10 dez. 2018.

USEPA, United States Environmental Protection Agency. Method 550.1 - **Determination of polycyclic aromatic hydrocarbon in drinking water by liquid-solid extraction and HPLC with coupled ultraviolet and fluorescence detection**, Cincinnati, Ohio, 1990.

VANDER HEYDEN, Y.; NIJHUS, A.; SMEYERS-VERBEKE, J.;VANDEGINSTE, B.G.M.; MASSART, D.L. Guidance for robustness / ruggedness tests in method validation. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 24, p. 723-753, 2001.

VANLOON, G. W.; DUFFY, S. J. **Environmental chemistry a global perspective**. Oxford University Press, 2.ed. Oxford 2005.

VEIGA, I.G. **Avaliação da origem dos hidrocarbonetos em sedimentos superficiais de manguezais da região norte da baía de Todos os Santos / Bahia**. 2003. 224 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Reservatório e de Exploração) - Centro de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Macaé, 2003.

VERHAERT, V.; NEWMARK, N.; D'HOLLANDER, W.; COVACI, A.; VLOK, W.; WEPNER, V.; ADDO-BEDIAKO, A.; JOOSTE, A.; TEUCHIES, J.; BLUST, R.; BERVOETS, L. Persistent organic pollutants in the Olifants River Basin, South Africa: Bioaccumulation and trophic transfer through a subtropical aquatic food web. **Science of the Total Environment.**, 2017.

VIM 2012 - Vocabulário Internacional de Metrologia: Conceitos fundamentais e gerais e termos associados. Duque de Caxias, RJ : INMETRO, 2012

VOLKMANN, R. **Ueber Theer-und Russkrebs**. Berl. Klin. Wochenschrift, p.11-218, 1974.

WANG, Z.; FINGAS, M.; PAGE, D.S. Review. Oil spill identification. **Journal of Chromatography A.**, v. 843, p. 369-411, 2001.

WHO (World Health Organization). 1998. Environmental Health Criteria 202: Polycyclic aromatic hydrocarbons - selected non-heterocyclic. **World Health Organisation**, Geneva.

WILCKE, W.; KRAUSS, M.; LILIENFEIN, J.; AMELUNG, W. Polycyclic aromatic hydrocarbon storage in a typical Cerrado of the Brazilian savanna. **J. Environ. Qual.** v. 33, p. 946-955, 2004

XU, L.; LEE, H. K., Novel approach to microwave-assisted extraction and micro-solid-phase extraction from soil using grafite fibers as sorbent. **Journal of Chromatography A.**, V.1192, N.2, p.203-207, 2008.

YAMAGIWA, K.; ICHIKAWA, K. Experimental study of the pathogenesis of carcinoma. **The Journal of Cancer Research.**, v. 111, n. 01, p. 1-29, 1918.

YAMAGIWA, K.; ICHIKAWA, K. Experimentelle Studie über die Pathogenese der Epithelialgeschwulste. **Mitt. Med. Fak. Kaiserl. Univ. Tokio**, n. 15, p. 295-344, 1915.

YANG, J.J.; ROY, T.A.; MACKERER, C.R. Percutaneous absorption of benzo[a]pyrene in the rat: comparison of in vivo and in vitro results, **Toxicol. Ind. Health**, v.2 (1986) 79.

YING, L.; LING, C.; YINJIAN, T.; QINGHUI, H.; JIANFU, Z. Determination of trace polycyclic aromatic in surface sediments of Huangpu river using high performance liquid chromatography. **Chin. J. Chromatogr.**, v. 25, n. 3, p. 356-361, 2007.

YUNKER, M.B.; MACDONALD, R.W.; VINGARZAN, R.; MITCHELL, R.H.; GOYETTE, D.; SYLVESTRE, S. PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. **Org. Geochem.**, v. 33, p. 489-515, 2002.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática: Princípios e aplicações**. 1.ed. São Carlos: RiMa, 2006.

ZEPP, RG. Schlotzhauer OF. 1979. In: Jones PW, Leber P, eds. Polynuclear aromatic hydrocarbons. Ann Arbor MI: **Ann Arbor Science**, 141.

ZHANG, J.; CAI, L.Z.; YUAN, D.X.; CHEN, M. Distribution and sources of polynuclear aromatic hydrocarbons in mangrove surficial sediments of Deep Bay, China. **Mar. Pollut. Bull.**, v. 49, p. 479–486, 2004.

ZHANG, J.; LIU, G.; WANG, R.; HUANG, H. (2017). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the water-SPM-sediment system from the middle reaches of Huai River, China: Distribution, partitioning, origin tracing and ecological risk assessment. **Environmental Pollution**, 230, 61–71.
doi:10.1016/j.envpol.2017.06.012.

ZHAO, Z.H.; QUAN, W.Y.; TIAN, D.H. Urinary 1-hydroxypyrene as an indicator of human exposure to ambient polycyclic aromatic hydrocarbons in a coal-burning environment, **Sci. Total Environ.** 92 (1990) 145.

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Diretoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Ensino
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 Æ Cidade Universitária CEP: 05508-000
Fone/Fax(0XX11) 3133-8908
SÃO PAULO Æ São Paulo Æ Brasil
<http://www.ipen.br>

**O IPEN é uma Autarquia vinculada à Secretaria de Desenvolvimento, associada
à Universidade de São Paulo e gerida técnica e administrativamente pela
Comissão Nacional de Energia Nuclear, órgão do
Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações.**