



CARLA PEREIRA DE MORAIS

**Métodos fotônicos inovadores para avaliação da contaminação de ecossistemas  
aquáticos através da análise de sedimentos**

São Carlos / Toulon

2021

CARLA PEREIRA DE MORAIS

**Métodos fotônicos inovadores para avaliação da contaminação de ecossistemas  
aquáticos através da análise de sedimentos**

Trabalho apresentado para obtenção do título (dupla titulação), no âmbito do Convênio Acadêmico Internacional para Coorientação de Tese de Doutorado celebrado pelo Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, Brasil e a Université de Toulon, França.

Área de Concentração: Química Analítica e Inorgânica

Orientador no Brasil: Dra. Débora Marcondes Bastos Pereira Milori

Orientador na França: Dr. Stéphane Mounier

São Carlos / Toulon

2021

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

**Assinatura:**

**Data:**

*Ficha Catalográfica elaborada pela Seção de Referência e Atendimento ao Usuário do SBI/IQSC*

Morais, Carla Pereira de

Métodos fotônicos inovadores para avaliação da contaminação de ecossistemas aquáticos através da análise de sedimentos / Carla Pereira de Moraes. — São Carlos, 2021.

162 f.

Tese (Doutorado em Química Analítica e Inorgânica) — Instituto de Química de São Carlos / Universidade de São Paulo, 2021.

Orientadora: Profa. Dra. Débora Marcondes Bastos Pereira Milori

Coorientadora: Profa. Dra. Stéphane Mounier

1. Espectroscopia óptica. 2. Sedimento fluvial. 3. Matéria orgânica. 4. Eutrofização. 5. Contaminação. I. Título.



*À minha mãe e ao meu pai (in memoriam).*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Divino Pai Eterno...

...por ter chegado até aqui e ter conhecido pessoas tão maravilhosa, que fazem a vida ser mais leve e os dias mais felizes. Obrigada pelos anjos que o Senhor colocou em minha vida.

Agradeço a minha mãe...

...por todas as orações, conversas, amor e carinho. Ser mãe não é uma tarefa fácil, mas a senhora sempre tenta ser a melhor e nunca mede esforços por mim. Te amo!

Agradeço ao meu pai (*in memoriam*)...

...pelo amor incondicional. Sempre que fecho meus olhos me lembro de você sorrindo. Te amo!

Agradeço ao Rodrigo (PC)...

...por sempre estar ao meu lado me incentivando e ajudando em tudo. Você é meu grande orgulho como pessoa. Te amo!

Agradeço a minha família, em especial a minha irmã Sarah, sobrinha Maria Clara e padrasto Claudinei...

... por me ensinarem todos os dias o verdadeiro significado da palavra família. Amo vocês!

Agradeço as minhas amigas da faculdade para a vida, a Jéssica, Lívia e Mariana...

...por me ajudarem em todos os momentos, pelas conversas, conselhos e amizade. Obrigada por mesmo estando longe cuidarem tão bem de mim. Amo vocês!

Agradeço ao meus orientadores...

...por todo ensinamento. Eu sou realmente feliz e agradecida por ter vocês dois como orientadores, duas pessoas incríveis. Débora, muito obrigada por ser esta pessoa tão generosa e uma excelente profissional, você é inspiração. Stéphanne, muito obrigada por não medir esforços para me ajudar, você é exemplo de ser humano, principalmente por tratar todo mundo igual, ser mais como você é minha meta de vida.

Agradeço a todos os membro do grupo de Óptica e Fotônica da Embrapa Instrumentação e a todos os funcionários da Embrapa Instrumentação. Em especial, agradeço...

...a Amanda e Anielle pela amizade e ajuda durante todo esse tempo. Só desejo que nossa amizade seja eterna. Amo vocês!

...ao Lucas por toda colaboração nos trabalhos, discussões e amizade. Obrigada por estar sempre disponível para me ajudar.

...ao Diego, Gustavo, Kleydson, Ladislau, Milene e Vinícius por toda colaboração nos trabalhos, conversas, ensinamentos e amizade.

Agradeço aos amigos que fiz durante este tempo...

...em especial ao Alex, Alfredo (Gutto), Claire, Graziene, João Vitor, Lili, Rodrigo (Gaúcho) e Vitor.

Agradeço à Embrapa Instrumentação...

...pela excelente infraestrutura para o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço ao Instituto de Química de São Carlos...

...pelo suporte financeiro e intelectual. Em especial quero agradecer a Andreia, Danielle e Gislei por sempre estarem dispostas a me ajudar em toda parte burocrática.

Agradeço a Université de Toulon...

...pela infraestrutura e oportunidade única para desenvolver parte deste trabalho. Em especial agradeço a Amonda por ter me recebido tão bem na França e ter me ajudado em tudo que precisei.

Agradeço ao Centro de Recursos Hídricos e Estudos Ambientais (CRHEA) da Universidade de São Paulo, em especial agradeço ao professor Frederico, Mariana Abibi e Miro...

...por me ajudarem a coletar as amostras usadas neste trabalho.

Agradeço a Sociedade internacional de substâncias húmicas (IHSS)...

...pelos prêmios Training Awards 2019 e Support Awards 2020.

Agradeço a Capes...

...pela bolsa concedida (88882.331025/2019-01).

Agradeço ao CNPq e a Fapesp (2013/07276-1)...

...por financiar parte desta pesquisa.

*“Eu sou aquela mulher  
a quem o tempo muito ensinou.  
Ensinou a amar a vida  
e não desistir da luta,  
recomeçar na derrota,  
renunciar a palavras  
e pensamentos negativos.  
Acreditar nos valores humanos  
e ser otimista.”*

**Cora Coralina**

## RESUMO

MORAIS, C. P. **Métodos fotônicos inovadores para avaliação da contaminação de ecossistemas aquático através da análise de sedimentos**. 2021. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil e Université de Toulon, La Garde, França, 2021.

Os contaminantes presentes nas águas podem ser absorvidos por materiais em suspensão e acumulados em sedimentos. O monitoramento de elementos potencialmente tóxicos (PTEs) e do fósforo (P) em sedimentos permite avaliar respectivamente o nível de contaminação e o grau de eutrofização de rios. As técnicas comumente utilizadas para a determinação elementar em sedimentos exigem o preparo das amostras gerando quantidades consideráveis de resíduos químicos e gasto de tempo. A espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por laser (LIBS) é uma alternativa para contornar as desvantagens associadas ao preparo da amostra, entre outros. A baixa sensibilidade da LIBS com pulso único (SP) pode ser aumentada empregando a LIBS com pulso duplo (DP). Considerando a complexidade química dos sedimentos, a matéria orgânica (MO) é um dos parâmetros que deve ser avaliado. A fluorescência no modo matriz excitação-emissão (EEM) combinada com a análise de fatores paralelos (PARAFAC) pode ser empregada para acessar informações sobre a composição e origem da MO extraída. Enquanto a supressão de fluorescência permite compreender a capacidade da MO extraída em complexar ou liberar PTEs. O conteúdo de clorofila a (Chl-a) em sedimentos também reflete a eutrofização dos rios. Sua determinação é feita por meio de técnicas que exigem sua extração com solventes orgânicos. Assim, a avaliação direta da Chl-a nos sedimentos é ideal para avaliar o grau de eutrofização de rios. Algumas técnicas inovadoras baseadas em fluorescência, como a microscopia confocal de varredura a laser (CLSM) e a espectroscopia de fluorescência induzida por laser (LIFS) permitem a análise direta das amostras e se destacam como uma vantagem para os inconvenientes relacionados às extrações químicas. Frente ao exposto, este estudo relata o desenvolvimento de instrumentação e métodos utilizando a LIBS para quantificar P, Cr, Cu e Ni em sedimentos, o emprego da EEM e da supressão de fluorescência para avaliar as propriedades ópticas e a afinidade da MO extraída com o Cu (II), respectivamente, e o desenvolvimento de métodos utilizando CLSM e LIFS para medir Chl-a em sedimentos a fim de avaliar a contaminação de ecossistemas aquático. Os resultados mostraram que as técnicas SP e DP LIBS tem grande potencial para determinação de P em sedimentos, porém para determinação de Cr, Cu e Ni é necessário empregar DP LIBS devido à sua maior sensibilidade. De acordo com a EEM e a supressão de fluorescência, a MO extraída dos sedimentos com NaOH (EOMSed) do Rio Piracicaba é de origem autóctone e alóctone derivada da MO do solo e interage mais com Cu (II) do a EOMSed do Rio Tietê que é predominantemente antropogênica. A CLSM permitiu verificar que a Chl-a tem maior afinidade e é menor oxidada na fração mineral do sedimento. E a LIFS combinada com a primeira derivada dos espectros mostrou ser capaz de semiquantificar a Chl-a em sedimentos. A combinação dos métodos desenvolvidos baseados em técnicas fotônicas mostra ser eficiente para o monitoramento de ecossistemas aquáticos.

Palavras-chave: Espectroscopia óptica. Sedimento fluvial. Matéria orgânica. Eutrofização. Contaminação.

## RÉSUMÉ

MORAIS, C. P. **Méthodes photoniques innovantes pour l'évaluation de la contamination des écosystèmes aquatiques à travers l'analyse des sédiments**. 2021. Thèse (Doctorat en Chimie Analytique) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brésil et Université de Toulon, La Garde, France, 2021.

Les contaminants présents dans les eaux de rivière peuvent être absorbés par les matières en suspension et s'accumuler dans les sédiments. Le suivi des éléments potentiellement toxiques (PTEs) et du phosphore (P) dans les sédiments permet d'évaluer respectivement le niveau de contamination et le degré d'eutrophisation des rivières. Les techniques couramment utilisées pour la détermination des éléments dans les sédiments nécessitent la préparation d'échantillons générant des quantités considérables de résidus chimiques, de la main-d'œuvre et du temps. La spectrométrie d'émission optique à plasma induit par laser (LIBS) est une alternative pour contourner les inconvénients liés entre autre à la préparation des échantillons. La faible sensibilité de la LIBS à impulsion unique (SP) peut être augmentée en utilisant la LIBS à double impulsion (DP). Compte tenu de la complexité chimique des sédiments, la matière organique (MO) est l'un des paramètres qui doit être évalué. Le mode de mesure par matrice d'excitation-émission de fluorescence (EEM) combiné à une analyse factorielle parallèle (PARAFAC) peut être utilisé pour accéder aux informations sur la composition et l'origine de la MO extraite. Quant au quenching de fluorescence, cette technique permet de mesurer la capacité de la MO extraite à complexer ou à libérer les PTEs. La teneur en chlorophylle-a (Chl-a) dans les sédiments reflète également l'eutrophisation des rivières. Sa détermination se fait par des techniques qui nécessitent son extraction avec des solvants organiques. Ainsi, l'évaluation directe de la Chl-a dans les sédiments est idéale pour évaluer le degré d'eutrophisation des rivières. Certaines techniques innovantes basées sur la fluorescence, telles que la microscopie confocale à balayage laser (CLSM) et la spectroscopie de fluorescence induite par laser (LIFS), permettent l'analyse directe des échantillons et constituent un avantage par rapport aux extractions chimiques. Compte tenu de ce qui précède, cette étude présente le développement d'instruments et de méthodes utilisant la LIBS pour quantifier P, Cr, Cu et Ni dans les sédiments, l'utilisation des EEMs et du quenching de fluorescence pour évaluer les propriétés optiques et l'affinité vis à vis des métaux de la MO extraite des sédiments, respectivement. Les résultats sur le développement de méthodes utilisant le CLSM et la LIFS pour mesurer le Chl-a dans les sédiments afin d'évaluer la contamination des écosystèmes aquatiques sont également présentés. Les résultats ont montré que les techniques SP et DP LIBS ont un grand potentiel pour la détermination du P dans les sédiments, mais pour la détermination du Cr, Cu et Ni, il est nécessaire d'utiliser la DP LIBS en raison de sa plus grande sensibilité. Selon le quenching de fluorescence et de la fluorescence EEMs, la MO extraite des sédiments avec NaOH (EOMSed) de la rivière Piracicaba est d'origine autochtone et allochtone dérivant de la MO du sol et interagit davantage avec le Cu (II) que celle de la rivière Tiête, tandis que l'EOMSed de la rivière Tietê est principalement anthropique. La CLSM a permis de vérifier que le Chl-a a une plus grande affinité et est moins oxydé dans la fraction minérale du sédiment. Le LIFS combiné à la dérivée première des spectres s'est avéré capable de semi-quantifier la Chl-a dans les sédiments. La combinaison des méthodes développées basées sur les techniques photoniques s'avère efficace pour la surveillance des écosystèmes aquatiques.

Mots-clés: Spectroscopie optique. Sédiment de rivière. Matière organique. Eutrophisation. Contamination.

## ABSTRACT

MORAIS, C. P. **Innovative photonic methods for assessing the contamination of aquatic ecosystems through sediment analysis**. 2021. Thesis (PhD in Analytical Chemistry) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brazil and University of Toulon, La Garde, France, 2021.

Contaminants present in water can be absorbed by suspended materials and accumulate in sediment. The monitoring of potentially toxic elements (PTEs) and phosphorus (P) in sediments allows evaluating the contamination level and the degree of eutrophication of rivers, respectively. The techniques commonly used for the elemental determination in sediments require samples preparation generating considerable amounts of chemical residues and waste of time. Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) is an alternative to overcome the disadvantages associated with sample preparation. The low sensitivity of single pulse (SP) LIBS can be increased by employing double pulse (DP) LIBS. Considering the chemical complexity of the sediments, the organic matter (OM) is one of the parameters that must be evaluated. Fluorescence excitation-emission matrix (EEM) combined with parallel factor analysis (PARAFAC) can be used to access information about the composition and origin of the extracted OM. Fluorescence quenching allows to understand the ability of extracted OM to complex or release PTEs. The chlorophyll a (Chl-a) content in sediments also reflects the eutrophication of rivers and its determination is made through techniques that require its extraction with organic solvents. Thus, direct assessment of Chl-a in sediments is ideal to assess the degree of eutrophication of rivers. Some innovative fluorescence-based techniques such as confocal laser scanning microscopy (CLSM) and laser-induced fluorescence spectroscopy (LIFS) allow direct analysis of samples and stand out as an advantage for the inconveniences related to chemical extractions. Based on that, this study reports the instrumentation and method development using LIBS to quantify P, Cr, Cu and Ni in sediments, the use of EEMs and fluorescence quenching to assess the optical properties and affinity of the extracted OM with Cu (II), respectively, and the method development using CLSM and LIFS to measure Chl-a in sediments in order to assess the contamination of aquatic ecosystems. The results showed that the SP and DP LIBS techniques have great potential for determining P in sediments, but for the determination of Cr, Cu, and Ni it is necessary to use DP LIBS due to its greater sensitivity. According to EEMs and fluorescence quenching, the OM extracted from sediments with NaOH (EOMSed) from the Piracicaba River is of autochthonous and allochthonous origin, derived from the OM of the soil and interacts more with Cu (II) than the EOMSed from the Rio Tietê, which is predominantly anthropogenic. CLSM showed that Chl-a has greater affinity and is less oxidized in the mineral fraction of the sediment. And LIFS combined with the first derivative of the spectra was shown to be able to semi-quantify Chl-a in sediments. The combination of methods developed based on photonic techniques proved to be efficient for monitoring aquatic ecosystems.

Keywords: Optical spectroscopy. River sediment. Organic matter. Eutrophication. Contamination.