

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

# Estudo da composição elementar de conchas do gênero Crassostrea: implicações ambientais e paleoambientais

# WELLINGTON DE MOURA FARIAS

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

Orientador: Prof. Dr. Paulo Sergio Cardoso da Silva

São Paulo 2020

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

# Estudo da composição elementar de conchas do gênero *Crassostrea*: implicações ambientais e paleoambientais

Versão Corrigida Versão Original disponível no IPEN

# WELLINGTON DE MOURA FARIAS

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Aplicações **Orientador: Prof. Dr. Paulo Sergio Cardoso da Silva** 

São Paulo 2020 Fonte de Financiamento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

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

Como citar:

DE MOURA FARIAS, W. *Estudo da composição elementar de conchas do gênero Crassostrea: implicações ambientais e paleoambientais*. 2020. 95 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN/SP, São Paulo. Disponível em: (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)

de Moura Farias, Wellington Estudo da composição elementar de conchas do gênero Crassostrea:implicações ambientais e paleoambientais / Wellington de Moura Farias; orientador Paulo Sergio Cardoso da Silva. -- São Paulo, 2020. 95 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Nuclear (Aplicações) -- Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2020. 1. Concha. 2. Crassostrea. 3. Análise multielementar. I. Sergio Cardoso da Silva, Paulo, orient. II. Título.

# AGRADECIMENTOS

Ao Professor Paulo Sergio Cardoso, que aceitou orientar a minha dissertação de mestrado, demonstrando uma paciência e atenção fora do comum em momentos que outros desistiriam. Aos seus conselhos, sugestões, dicas, agradeço aquele que mais que um professor, orientador, pesquisador, psicologo foi amigo e principal responsável pela elaboração e resultados alcançados nesse projeto de pesquisa.

Ao Professor Dr. Luiz Ricardo Lopes de Museu de Zoologia da USP (MZUSP), pelo Fornecimento e identificação das amostras. Ao professor Dr Marcos Scapin pela ajuda nas análises FRX. Ao Jefferson Koyaishi, Sussa, Rosiane Rocha, Jéssica Ambrogi, Rodolfo Gonçalves, Tiago Bersanin, Willian Barbosa, Beatriz Momi, Jean, Douglas Geovane, Francis, pessoas incríveis que conheci nessa jornada.

Agradeço essas pessoas em especial que me ajudaram a superar um problema de saúde, cito novamente professor Paulo Sergio Cardoso da Silva, a médica Maria Rita Cury Davila Lins e Nadir Vieira Coimbra. A Ivone Farias, José Farias, Eriton Farias e Dalila da Silva, minha familia, por acreditarem em mim.

Ao CNPq pelo auxílio fornecido na forma de uma bolsa de estudos.

A todos da USP, do IPEN e CERPq, agradeço pois sem isso esse trabalho não seria possivel.

### RESUMO

FARIAS, Wellington de F. *Estudo da composição elementar de conchas do gênero Crassostrea: implicações ambientais e paleoambientais*. 2020. 95 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN/SP, São Paulo.

Este trabalho é uma aplicação de análises multielementares no estudo de conchas do gênero Crassostrea, para verificar a possibilidade de se usar elementos traço como marcadores paleoambientais. As amostras de C. mangle e C. brasiliana coletadas abrangeram as regiões sul, sudeste e nordeste do Brasil. Diferenças entre as procedências, composição elementar e mineralógica os foram parâmetros utilizados para correlacionar os resultados obtidos de composição elementar, mineralogia, água de umidade, matéria orgânica e perda ao fogo. Os resultados foram analisados por métodos estatísticos quimiométricos. A análise mineralógica mostrou que todas as amostras analisadas apresentaram composição predominante de calcita. Os resultados das análises térmicas para determinação de matéria orgânica indicaram uma média de 3,3% e os resultados de perda ao fogo uma média de 42%, em fração de massa de carbonato, estando de acordo com a estequiometria do carbonato de cálcio. Foi calculado o fator de enriquecimento (FE) utilizando como referência a água do mar e o La como normalizador. O uso do FE permitiu explicar aproximadamente 78% da variância observada e sua aplicação à análise de agrupamento permitiu a formação de dois grupos compostos majoritariamente por amostras de cada uma das espécies analisadas. Uma vez que a espécie C. mangle é característica de regiões estuarinas e a C. brasiliana de ambientes que variam de estuarino a marinho, pode-se considerar que os grupos formados foram separados em função das características químicas de seu ambiente de crescimento, a aplicação do conceito de FE às concentrações elementares de amostras de conchas de ostras pode ser um promissor indicador de variação ambiental.

Palavra chave: Concha, Crassostrea, análise multielementar.

#### ABSTRACT

FARIAS, Wellington de F. Study of elemental composition of oyster of crassostrea genre: environmental and paleo-environmental aplications. 2020.
95 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN-CNEN/SP, São Paulo.

This work is an application of multi-elementary analyzes in the study of Crassostrea genus shell, to verify the possibility of using trace elements as paleoenvironmental proxy. The samples of C. Mangle and C. Brasiliana collected covered the South, Southeast and Northeast regions of Brazil. Differences between origins, elementary and mineralogical composition were parameters used to correlate the results obtained from elemental composition, crystalline structure, moisture, organic matter and loss on ignition. The results were analyzed using chemometric statistical methods. The mineralogical analysis showed that all the samples presented a predominant calcite composition. The results of thermal analysis to determine organic matter indicated an average of 3.3% and the results of loss on ignition, an average of 42%, in mass fraction of carbonate, being in accordance with the calcium carbonate stoichiometry. The enrichment factor (EF) was calculated using sea water as reference and La as normalizer. The use of EF allowed to explain approximately 78% of the observed variance and its application to the cluster analysis allowed the formation of two groups composed mainly of samples belonging to each of the analyzed species. Since the *C. mangle* species is characteristic of estuarine regions, while C. brasiliana grows in environments that range from estuarine to marine, it can be considered that the groups were formed according to the chemical characteristics of their growth environment. Application of the EF concept to oyster shell elementary concentrations can be a promising proxy of environmental variation.

Keywords: Shell, Crassostrea, multielemenal analysis.

# SUMÁRIO

# Páginas

1	INTRODUÇÃO	8
2	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivos específicos	15
3	METODOLOGIA	16
3.1	Amostragem	16
3.1.1	Classificação taxonômica das espécies coletadas	17
3.2	Limpeza das amostras	18
3.3	Análise por ativação neutrônica instrumental	20
3.3.1	Determinação da concentração elementar	22
3.4	Difração de Raios-X	24
3.4.1	Determinação da composição mineralógica	26
3.5	Fluorescência de raios-X	27
3.5.1	Determinação da composição química por FRX	29
3.6	Espectrômetria de absorção atômica por forno de grafite (GF AAS)	29
3.6.1	Determinação de Pb nas amostras	30
3.7	Análise térmica	31
3.8	Análise estatística dos dados	31
3.8.1	Normalização	33
3.9	Limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ)	34
4	RESULTADOS	37
4.1	Validação da metodologia	37
4.1.1	INAA	37
4.1.2	GF AAS	39
4.1.3	FRX	43
4.2	Análise térmica	44
4.3	Difração de raios-X	45
4.4	Resultados de INAA, FRX e GF AAS	46
5	DISCUSSÃO	56
5.1	Análises estatísticas dos dados brutos	66
5.2	Análises estatísticas dos dados normalizados pelo cálcio	71
5.3	Análises estatísticas dos dados normalizados pelo FE	77
6	CONCLUSÕES	84

7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	.87
8	ANEXOS	.95

# 1 INTRODUÇÃO

Mudanças climáticas antropogênicas estão afetando rapidamente o ambiente do planeta, o acúmulo de gases que aceleram o efeito estufa estão modificando o clima em uma velocidade alarmante. Após analisar cinquenta anos de dados sobre a salinidade no oceano, (Durack et al., 2009) verificaram,a partir dos resultados, um aumento significativo na salinidade de suas águas, causado pelo aumento da temperatura do planeta. Este aumento pode causar mudanças na estratificação do oceano, modificando a densidade e afetando a circulação de suas águas, os danos causados por essas mudanças na biota do planeta podem ser imensuráveis. Entender as mudanças ambientais que ocorreram no passado pode nos ajudar a resolver problemas atuais.

Ambientes costeiros possuem uma natureza dinâmica e essa natureza influencia os habitats ecológicos e o clima ao longo dessas regiões. Muitas áreas costeiras são altamente povoadas e sensíveis ao estresse causado pela atividade humana. Entretanto, alguns organismos que habitam esses ambientes podem acomodar a variabilidade das mudanças ambientais podendo assim reconstruir as mudanças do passado em padrões climáticos e ecológicos associados com as definições da costa (Surge et al., 2001).

A esclerocronologia é o estudo das variações físico-químicas na formação de estruturas rígidas de organismos no contexto de sua formação e pode permitir uma reconstrução ambiental baseada no estudo da composição química de tais estruturas. Essa metodologia é usada a partir do conceito de que animais com carapaças carbonáticas constroem seu exoesqueleto a partir de íons presentes em seu ambiente (Mouchi et al., 2013). A composição elementar de conchas de moluscos é determinada por vários fatores, entre eles: a disponibilidade dos elementos na água do mar, salinidade, temperatura, mineralogia da concha e também está relacionada à biologia animal (Pitts et al., 1994, Klein et al., 1996 Takesue et al., 2008).

A incorporação de elementos traço em conchas de moluscos é geralmente inversamente proporcional à salinidade (Wright, 1995), provavelmente devido à maior competição entre os íons dissolvidos e o cálcio. Por outro lado, a

incorporação destes elementos, bem como o fracionamento de isótopos estáveis no retículo cristalino do carbonato de cálcio biogênico, pode variar também como resposta à alterações nas características ambientais, preservando, desta forma, registros de tais condições (Peacock e Seltzer, 2008).

Os elementos menores e traço devem ser incorporados à estrutura da concha em substituição ao cálcio no retículo cristalino, como fases minerais independentes, em associação à compostos orgânicos ou ainda por processos de adsorção da rede cristalina (Peacock e Seltzer, 2008; Schöne et al., 2013; Emsbo et al., 2015). A formação da estrutura carbonática das conchas envolve a deposição do carbonato de cálcio na forma de calcita ou aragonita e em certos moluscos, ambos, como uma mistura polimórfica (Gosling, 2003). Os íos de carbonato são absorvidos a partir dos íons bicarbonato na água que se difundem em canais iônicos no manto interno e em menor grau, do metabolismo (Schöne et al., 2013), apenas 10% do CO<sub>2</sub> da respiração é incorporado na concha (Gillikin et al., 2008).

Outros cátions além do cálcio podem ser incorporados nesta estrutura cristalina e, de acordo com Cravo et al. (2007), se forem consideradas apenas as regras estereoquímicas para cristais, sem se levar em consideração qualquer mecanismo biológico, a incorporação destes íons em tais estruturas pode ser facilmente predita. Segundo aquele autor, magnésio e estrôncio são os constituintes mais conservativos na água do mar e estão prontamente disponíveis nas formas de íons Mg<sup>2+</sup> e Sr<sup>2+</sup> para substituir o íon Ca<sup>2+</sup>. O magnésio, com um raio iônico menor que o cálcio, é incorporado preferencialmente na estrutura da calcita e, em geral, as conchas formadas predominantemente por aragonita possuem baixas concentrações daquele elemento. O mesmo ocorre para outros cátions bivalentes, tais como Fe<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup> e Zn<sup>2+</sup> e trivalentes como o Fe<sup>3+</sup> que também possuem raios iônicos menores que o do cálcio (Cravo et al., 2002). Desta forma, a composição mineralógica das conchas também é um fator determinante na extensão com a qual determinado elemento pode ser incorporado.

O conhecimento destes fatores tem levado a um interesse considerável em se utilizar conchas de moluscos como indicadores de qualidade, composição da água do mar e estudos ambientais e paleoambientais, sendo que alguns trabalhos têm sido realizados na tentativa de estabelecer uma correlação entre a concentração de elementos menores e traço com estas aplicações (Surge et al., 2003; Lartaud et al., 2010; Schöne et al., 2011), principalmente estudos de paleoecologia relacionados à temperatura, salinidade e mudanças geoquímicas (Palacios et al., 2002,; Anadón et al., 2015).

Muitos estudos que reconstroem ambientes passados olham para o composição isotopica do esqueleto carbonático de organismos aquáticos (Vincent, 2013). Trabalhos realizados associaram valores isotópicos de <sup>13</sup>C em conchas de moluscos à taxa metabólica e carbono inorgânico dissolvido na água (Donner e Nord, 1986; Klein et al., 1996b). O isótopo de <sup>18</sup>O apresentou ser influenciado pela temperatura e salinidade da água (Schwarcz et al., 1998; Dettman et al., 1999). Jones (1996) foi pioneiro na utilização dos registros esclerocronológoicos nas conchas de moluscos combinando condições morfológicas (crescimento) com isótopos de carbono e oxigênio para reconstruir mudanças ambientais.

Elementos traço tais como P, Ba, S, Cu, Ni e Zn têm sido utilizados para reconstrução climática e de produtividade primária visto que estão envolvidos nos ciclos biogênicos como macro e micronutrientes е consequentemente tendem a se correlacionar com a bioprodutividade (Fischer e Wefer, 1999) e conchas possuem grande capacidade de acumular elementos traços de baixa concentração encontrados na água (Rodriguez et al., 2016). Concentrações de Fe<sup>2+</sup> e Mn<sup>2+</sup> estão geralmente ligadas às condições redox do meio. Sob condições redutoras estes íons são mais solúveis e, portanto, estão mais disponíveis para substituir o Ca no retículo cristalino das conchas (Veizer, 1983).

Alguns estudos sugerem que existe uma boa correlação entre a razão Mg/Ca na concha e a temperatura da água do mar (Freitas et al., 2005; Tynan et al 2016). Chivas et al. (1993), em estudos com conchas de artrópodes, concluíram que a quantidade de Mg presente é dependente da temperatura da água e da razão Mg/Ca enquanto que a quantidade de Sr depende apenas da razão Sr/Ca. Stecher et al. (1996) observaram comportamentos distintos de correlação positiva e negativa entre a temperatura e a razão Sr/Ca em diferentes espécies de moluscos e que a incorporação de Ba apresenta variação sazonal durante o crescimento da concha. O Sr tem sido também utilizado como indicador de mudanças do nível do mar. Rosenthal et al. (1997) indicam que a razão Sr/Ca

em conchas de foraminíferos é dependente da concentração deste elemento na água e é controlada pela variação do nível do mar, salinidade, temperatura e pressão.

A maioria das pesquisas, no entanto, concentra sua atenção na incorporação, à concha, de elementos dos metais alcalinos terrosos Mg, Sr e Ba devido a sua similaridade química com o Ca, principal cátion presente na estrutura dos carbonatos biogênicos, bem como no estudo de suas razões elementares com o cálcio. Um possível problema na utilização destas razões isotópicas, que vários estudos têm demostrado, é que a concentração destes elementos nas conchas, embora sejam dependentes de fatores externos tais como a temperatura e a salinidade, também apresentam uma forte influência do controle biológico exercido pelo metabolismo animal (Gillikin et al., 2005; Carré et al., 2006; Freitas et al., 2006). Em um estudo recente Poulains et al (2015) testaram a influência do controle biológico nas razões de Mg/Ca e Sr/Ca em conchas de Ruditapes philippinarum, e verificaram que estas apresentaram mudanças mesmo em condições de temperatura e razões elementais constantes. Os autores sugerem, a partir desse resultado, que a incorporação desses elementos possuem um forte controle biológico. De acordo com os autores o Mg<sup>2+</sup> não é transferido da água do mar diretamente para o local da calcificação e pode ficar algum tempo no tecido da ostra, eles sugerem que a quantidade de magnésio na concha carbonática pode ser altamente regulado pelo organismo. Mudanças no pH também apresentaram controle durante a incorporação de Mg em cabonatos (Dove et al., 2014; Poulains et al., 2015). Em outro estudo, Carré et al. (2006) mostraram que duas espécies de bivalves (Mesodesma donacium e Chione subrugosa) apresentaram pouca influência de parâmetros ambientais nos resultados das concentrações dos elementos Sr, Ba, Mg e Mn em conchas de aragonita.

Portanto uma possível abordagem do problema pode estar relacionada a determinação de elementos traço que podem ser incorporado à matriz carbonática das conchas em razão de sua concentração no meio aquático e de outros fatores externos, tais como temperatura, salinidade, carbono inorgânico dissolvido e composição mineralógica sendo, menos dependentes de controle biológico por parte do animal.

Elementos terras raras (TR) em sistemas sedimentários são úteis para a determinação da natureza de processos biogeoquímicos, porque alguns desses elementos possuem um comportamento coerente e previsível, possuem uma grande sensibilidade a mudanças de pH, condições redox e reações de adsorção e desorção e podem ser usados como marcadores em condições de mudanças ambientais na água e em sedimentos no sistema aquático (Borrego et al., 2005). Em associação com informações de outros elementos maiores e traços apresentam boa resposta como potênciais indicadores por seus métodos simples de deposição em ambientes (Eltom et al., 2017). De acordo com Eltom et al. (2017) elementos TR são insolúveis e sua distribuição se mantém largamente inalterada no ambiente, o que faz de sua distribuição, redistribuição e abundância relativa bons indicadores de processos paleoambientais, e talvez possam ser utilizados para indicar também processos ambientais recentes. Os TR exibem comportamento geoquímico similar, por exemplo, em um ambiente anóxido o Ce ocorre como Ce<sup>3+</sup> como outros elementos terras raras, sobre condições óxidas o Ce<sup>3+</sup> solúvel é oxidado para Ce<sup>4+</sup> insóluvel (Lin et al., 2019). Esse comportamento pode resultar em um fracionamento dos elementos terras raras, anomalias do Ce em fases minerais formadas por precipitação e recristalização em rochas carbonáticas e é um indicador efetivo de variações redox (Birgel et al., 2011). O Eu é outro exemplo conhecido, o Eu<sup>3+</sup> pode ser reduzido para Eu<sup>2+</sup> em condições redutoras, anomalias de Eu em águas do mar não refletem o estado redox do ambiente aquático, mais geralmente pode ser utilizado como indicador de entradas hidrotérmicas (Zhang et al., 2015).

Os elementos Cd e Zn, formam uma solução superficial sólida na calcita, com ambos os elementos substítuindo o Ca até a solução chegar a um equilíbrio entre CdCO<sub>3</sub> ou ZnCO<sub>3</sub> com a água (Papadopoulos et al., 1988; Rowell., 1989). O Th é muito insolúvel na água do mar e sua atividade é geralmente de baixa magnitude (Henderson et al., 1999), por isso, este elemento geralmente não se encontra presente no carbonato biogênico (Edwards et al., 1984). Os elementos (Se, Cu, Co, Mo, Mg e Zn) contribuem para a saúde de seres humanos e animais (Vandermeersch et al., 2015; Squadrone et al., 2016), enquanto os elementos (Pb, Cd, Hg, As, Sn, V e Al) não possuem efeitos biológicos. A concentração de Pb em ostras apresenta maiores resultados nas conchas do que no tecido mole

(Squadrone et al., 2016) e a análise da concentração do Pb na concha pode ser utilizado para verificar poluição ambiental (Nehring et al., 2012).

Em um estudo comparativo entre conchas recentes (coletadas vivas em 2010) e conchas de sambaquis (sítios arqueológicos) com idades de aproximadamente 4000 anos, ambas da região de Cananéia, foram determinados os elementos traço e menores (Gomes et al., 2013). Segundo os autores os testes estatísticos utilizados demonstraram que a composição elementar das conchas estudadas difere entre as amostras antigas e recentes sendo esta diferença devido aos elementos Fe, Sc, Zn e elementos terras raras leves (La, Ce e Sm). Os elementos terras raras leves e Zn apresentaram-se em maior quantidade nas conchas recentes, o que pode indicar um aumento da disponibilidade desses elementos na água do mar nos dias atuais, para a absorção pelos animais formadores de conchas e esta maior disponibilização provavelmente está relacionada às alterações físico-químicas das águas marinhas. Entre as possíveis explicações para os dados observados pode-se considerar a hipótese de aumento da concentração dos íons destes elementos na água, aumento da concentração do carbonato em função do aumento da concentração de CO<sub>2</sub> atmosférico ou ainda aumento da concentração de outros ânions que podem formar com estes cátions, minerais acessórios que coprecipitam com o carbonato de cálcio como, por exemplo, o fosfato.

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a composição elementar e mineralógica de conchas do gênero *Crassostrea*, recolhidas das regiões costeiras do Brasil a fim de verificar sua aplicação como indicador ambiental. Para tanto, serão empregadas nas amostras técnicas de análise por ativação neutrônica, espectrometria de absorção atômica, espectrometria de difração de raios-X e espectroscopia de fluorescência de raios-X para a determinação da composição elementar, química e mineralógica das conchas.

Foram selecionadas conchas de ostras do gênero *Crassostrea*, essas conchas foram selecionadas porque esse gênero é largamente distribuído na costa brasileira. Moluscos do gênero *Crassostrea* são compostos por um corpo mole protegido por uma concha calcária dura, sua concha age como um esqueleto para anexação dos músculos e o protege contra predadores, internamente ele é revestido por um tecido chamado manto que envolve seus órgãos. A concha é um tipo de bio-cerâmica formada principalmente por

carbonato de cálcio na forma do mineral calcita, e em menor proporção por contaminantes menores, traço e substâncias orgânicas. As ostras possuem um crescimento rápido e se alimentam continuamente de matéria orgânica particulada e fitoplâncton (Gosling, 2003; Ruiz e Elorza, 2009). No Brasil essas ostras são popularmente conhecidas como "ostras do mangue" (Amaral e Simone, 2014) e foi proposta como um relevante biomonitor de contaminação ambiental em sistemas tropicais (Nascimento et al., 1998; Wallner et al., 2000; Monserrat et al., 2002; Rebelo et al., 2003).

Estruturalmente estas conchas são compostas por duas valvas assimétricas unidas por ligamentos e músculos, sendo uma das valvas plana e pequena e a outra côncava e grande (Surge et al., 2001), costuma tolerar uma grande variação de salinidade em seu meio e foi constatado que essas variações podem afetar o seu desenvolvimento porque é uma espécie osmo-confórmera, ou seja, a sua salinidade interna é igual a externa (Gamain et al., 2015).

Se verificada a aplicação das conchas como indicador ambiental, os dados coletados durante a realização desse trabalho poderão ser utilizados em trabalhos paleoambientais futuros, o que torna a existência dos sambaquis uma ferramenta bastante útil para estes estudos. Sambaquis são montes resultantes do empilhamento intencional de restos de alimentos de antigos grupos humanos incluindo conchas, espinhas de peixes, artefatos manufaturados e ossos de animais e humanos que são encontrados principalmente em regiões costeiras. O Brasil apresenta a ocorrência de sambaquis em toda a extensão de sua costa, do sul até o nordeste, sendo estes mais comuns na região sul (Lima et al., 2003).

## 2 OBJETIVOS

Neste estudo pretende-se analisar a concentração elementar e a mineralogia de 55 amostras e conchas de ostras do gênero *Crassostrea, das espécies C. Mangle e C. Brasiliana* representativas do litoral brasileiro variando da região sul à região nordeste com o objetivo de correlacionar a variação de sua composição química com suas procedências, testando a viabilidade destas serem utilizadas como marcadoras de mudanças ambientais.

# 2.1 Objetivos específicos

- Determinar a composição mineralógica das conchas provenientes de diferentes localidades brasileiras;
- Determinar as concentrações dos elementos As, Ba, Br, Ce, Cl, Cs, Eu, Fe, Hf, K, Lu, Mg, Mn, Na, Nd, Ni, Pb, Rb, Sb, Sc, Se, Sm, Ta, Tb, Th, Ti, U, V, Yb, Zn e Zr nas amostras de conchas;
- Realizar análises térmicas para determinar concentração de carbonato e matéria orgânica;
- Aplicar ferramentas estatísticas aos resultados a fim de conhecer possíveis correlações entre as diferentes localidades de coleta e a composição elementar das amostras.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Amostragem

As conchas de ostras do gênero *Crassostrea* foram obtidas junto ao Museu de Zoologia da USP (MZUSP), cujo acervo foi disponibilizado pelo Professor Dr. Luiz Ricardo Lopes de Simone. Procurou-se obter amostras que cubram uma extensão variando do Rio Grande do Sul ao Rio Grande no Norte para que se tenham representantes das regiões sul, sudeste e nordeste e das diferentes condições físico-químicas da água do mar do litoral brasileiro. As amostras foram enviadas ao laboratório do Instituto de Pesquisas Energéticos e Nucleares (IPEN).

Foi obtida a quantidade de 117 amostras de conchas do MZUSP, coletadas em vários períodos e regiões diferentes do litoral Brasileiro. Amostras também foram obtidas com a ajuda da população local dos estados do Paraná, Santa Catarina, Bahia, Pernambuco e Ceará, na Tabela 1 é apresentado à quantidade de amostras coletadas de acordo com a localidade. As amostras inicialmente foram lavadas com água deionizada, secas em uma estufa e em seguida foram catalogadas e armazenadas em ziplocks de Polietileno. Foram separadas inicialmente 55 amostras de conchas para a realização das análises sendo que, dessa quantidade, 15 são da região sul, 13 são da região sudeste e 27 são da região nordeste.

A Tabela 2 apresenta uma relação das amostras selecionadas e as identificações que lhes foram atribuídas de acordo com o seu estado de origem.

Origem	Total de amostras
MZUSP	117
SC	12
PR	3
BA	12
PE	20
CE	23
Total	187

Tabela 1 - Dados de coleta das <u>amostras de conchas de acordo co</u>m a localidade.

Fonte: autor da dissertação.

Foram selecionadas amostras de acordo com a disponibilidade e que abrangessem o máximo de regiões possíveis, o estado de conservação também foi considerado para a seleção, pois algumas amostras apresentavam contaminação interna de difícil identificação e remoção.

Tabela 2 - Relação das amostras selecionadas para realização das análises, suas respectivas identificações e espécies.

Amostra	Estado	Região		Espécie	Amostra	Estado	Região		Espécie
SCM-1	SC	Sul	C.	mangle	BAB-3	BA	Nordeste	C.	brasiliana
SCM-2	SC	Sul	C.	mangle	BAB-4	BA	Nordeste	C.	brasiliana
RSM-1	RS	Sul	C.	mangle	BAB-5	BA	Nordeste	C.	brasiliana
RSM-2	RS	Sul	C.	mangle	SEM-1	SE	Nordeste	C.	mangle
RSB-3	RS	Sul	C.	brasiliana	SEM-2	SE	Nordeste	C.	mangle
RSB-4	RS	Sul	C.	brasiliana	SEM-3	SE	Nordeste	C.	mangle
RSB-5	RS	Sul	C.	brasiliana	ALM-1	AL	Nordeste	C.	mangle
RSB-6	RS	Sul	C.	brasiliana	ALB-2	AL	Nordeste	C.	brasiliana
PRM-1	PR	Sul	C.	mangle	ALB-3	AL	Nordeste	C.	brasiliana
PRM-2	PR	Sul	C.	mangle	PEB-1	PE	Nordeste	C.	brasiliana
PRM-3	PR	Sul	C.	mangle	PEM-2	PE	Nordeste	C.	mangle
PRM-4	PR	Sul	C.	mangle	PEM-3	PE	Nordeste	C.	mangle
SPM-1	SP	Sudeste	C.	mangle	PEM-4	PE	Nordeste	C.	mangle
SPM-2	SP	Sudeste	C.	mangle	PEM-5	PE	Nordeste	C.	mangle
SPM-3	SP	Sudeste	C.	mangle	PBB-1	PB	Nordeste	C.	brasiliana
SPM-4	SP	Sudeste	C.	mangle	PBB-2	PB	Nordeste	C.	brasiliana
SPM-5	SP	Sudeste	C.	mangle	PBB-3	PB	Nordeste	C.	brasiliana
SPM-6	SP	Sudeste	C.	mangle	RNM-1	RN	Nordeste	C.	mangle
SPM-7	SP	Sudeste	C.	mangle	RNB-2	RN	Nordeste	C.	brasiliana
RJM-2	RJ	Sudeste	C.	mangle	RNB-3	RN	Nordeste	C.	brasiliana
RJM-3	RJ	Sudeste	C.	mangle	RNB-4	RN	Nordeste	C.	brasiliana
RJM-4	RJ	Sudeste	C.	mangle	CEB-1	CE	Nordeste	C.	brasiliana
ESM-1	ES	Sudeste	C.	mangle	CEB-2	CE	Nordeste	C.	brasiliana
ESM-2	ES	Sudeste	C.	mangle	CEB-3	CE	Nordeste	С.	brasiliana
BAM-1	BA	Nordeste	C.	mangle	CEB-4	CE	Nordeste	C.	brasiliana
BAB-2	BA	Nordeste	C.	brasiliana					

Fonte: autor da dissertação.

# 3.1.1 Classificação taxonômica das espécies coletadas

A identificação das espécies de ostras obtidas foi feita no Museu de Zoologia da USP, sob-responsabilidade do Prof. Dr. Luiz Ricardo Lopes de Simone e Vanessa Simão do Amaral.

#### 3.2 Limpeza das amostras

A Figura 1 apresenta uma concha de ostra do gênero *Crassostrea* proveniente da região Nordeste do estado da Bahia. Em toda a sua área superficial interna e externa é possível visualizar a presença de contaminantes.

Figura 1 - Contaminação superficial em uma concha de ostra do gênero Crassostrea.



Fonte: autor da dissertação.

Na Figura 2 estão representadas as etapas de limpeza e moagem das amostras. A retirada dos contaminantes superficiais foi feita com uma microretífica dremel 4000, utilizando discos de cortes reforçados com fibra de vidro, ponta montada de carbureto de silício e lixas. A região apresentada na Figura 3.2C é chamada ligamento, e apresenta características relacionadas ao desenvolvimento inicial do organismo, por isso essa região foi selecionada e cortada para a realização dos procedimentos analíticos.

Após a remoção da parte delimitada e retirada dos contaminantes superfíciais foi feita a lavagem da amostra em ácido clorídrico 4% (HCI), nesse processo o carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>) da concha reage em contato com ácido clorídrico, produzindo água, dióxido de carbono e cloreto de cálcio, como apresentado na Equação 1:

$$CaCO_3 + 2HCI \longrightarrow H_2O + CO_2 + CaCl_2$$
(1)

A amostra foi mergulhada na solução ácida por um minuto para a retirada da camada superficial passível de possíveis contaminantes (Figura 2D). Após o tratamento com ácido foi feita a lavagem do resíduo até pH 6,5 com água do Milli Q<sup>®</sup>, para então ser realizado o procedimento de secagem em estufa a 100 °C.

Figura 2 - *Crassostrea mangle*. (a) superfície externa; (b) superfície interna; (c) parte selecionada para análise; (d) limpeza com ácido clorídrico; (e) amostra após o tratamento de limpeza; (f) moagem; (g) peneiramento; (h) armazenamento em saquinhos de polietileno.



Fonte: autor da dissertação.

A moagem das amostras foi feita de forma manual em um almofariz de porcelana (Figura 2F), o almofariz e o pistilo foram limpos com detergente e água deionizada, em seguida foi feita a descontaminação com álcool etílico P.A, após a descontaminação foi feito um segundo enxágue com água ultrapura do Milli Q<sup>®</sup> e uma secagem em estufa a 100 °C por 1 hora.

Após a moagem, as amostras foram peneiradas em uma peneira de alumínio com malha de nylon (Figura 2G), para obtenção de um material fino e homogêneo com uma granulometria de 100 mesh e em seguida as amostras foram armazenadas em saquinhos de polietileno (Figura 2H).

### 3.3 Análise por ativação neutrônica instrumental

Análise por ativação neutrônica intrumental (INAA) é uma técnica não destrutiva altamente sensível, utilizada para determinação qualitativa e quantitativa da composição de uma amostra. É particularmente útil para determinação da composição elementar de amostras complexas (minerais, amostras ambientais, biológicas, objetos arqueológicos), porque apresenta uma alternativa simples para técnicas mais difíceis ou destrutivas. A técnica consiste na formação de um nuclídeo radioativo através da irradiação de uma amostra utilizando nêutrons térmicos, formando radionuclídeos artificiais, seguido da medida da radioatividade induzida (Figura 3) (Choppin et al., 2002).



Figura 3 - Diagrama ilustrando o processo de captura de nêutrons por um núcleo alvo seguido de emissão de raios gama.

Fonte: modificado de NMI, (2020).

Nuclídeos radioativos podem ser formados quando amostras são bombardeados com nêutrons térmicos, rápidos, partículas energéticas carregadas (alfa, dêuterons, prótons) ou fótons de alta energia. Foi utilizada a técnica de ativação com nêutrons térmicos devido à facilidade de obtenção de um fluxo adequado a esta metodologia em reatores de pesquisa como o que se encontra instalado no IPEN e a alta seção de choque exibida pela maioria dos nuclídeos estáveis. A dependência do tempo em um decaimento radioativo é expressa em termos da meia-vida, que é o tempo necessário para que a metade dos átomos radioativos de uma amostra sofra decaimento (Choppin et al., 2002). A meia vida pode variar de milhões de anos a frações de segundos e precisa ser considerada para cada elemento analisado, na Tabela 3 são apresentados os elementos determinados, os radioisótopos formados, suas meias-vidas e energia dos raios gama utilizada na determinação de suas concentrações.

Elemento	Radioisótopo	E (keV)	meia-vida	
As	<sup>76</sup> As	559	26,32 h	
Ва	<sup>131</sup> Ba	496	11,8 d	
Br	<sup>82</sup> Br	554 e 776	35,3 h	
Ca	<sup>47</sup> Sc	158	3,35 d	
Ce	<sup>141</sup> Ce	145	32,5 d	
Со	<sup>60</sup> Co	1173 e 1332	5,72 a	
Cs	<sup>134</sup> Cs	795,85	2,06 a	
Eu	<sup>152</sup> Eu	121 e 344	13,33 a	
Fe	<sup>59</sup> Fe	1099 - 1291,6	44,5 d	
Hf	<sup>181</sup> Hf	482,18	742,39 d	
K	<sup>42</sup> K	1524,58	12,36 h	
La	<sup>140</sup> La	328 – 1596,21	40,27 h	
Lu	<sup>177</sup> Lu	208,36	6,71 d	
Mg	<sup>27</sup> Mg	844 e 1014	9,45 min	
Mn	<sup>56</sup> Mn	847 e 1811	2,58 h	
Na	<sup>24</sup> Na	1368,68	14,96 h	
Nd	<sup>174</sup> Nd	91,1 - 531,01	10,98 d	
Rb	<sup>86</sup> Rb	1076	18,66 d	
Sb	<sup>122</sup> Sb	564 - 692	2,7 d	
Sc	<sup>46</sup> Sc	889	83,81 d	
Se	<sup>75</sup> Se	264	119,77 d	
Sm	<sup>153</sup> Sm	103,18	46,27 h	
Та	<sup>182</sup> Ta	1221 - 1231	114,5 d	
Tb	<sup>160</sup> Tb	879,38	72,3 d	
Th	<sup>233</sup> Pa	312,01	27 d	
Ti	<sup>51</sup> Ti	320	5,76 min	
U	<sup>239</sup> Np	228,18 - 277,6	2,36 d	
V	<sup>52</sup> V	1434	3,74 min	
Yb	<sup>169</sup> Yb	177,21 - 197,98	32,02 d	
Zn	<sup>65</sup> Zn	1115,6	243,9 d	
Zr	<sup>95</sup> Zr	724,2 e 756,7	64.02 d	

Tabela 3 - Elementos analisados por ativação neutrônica, radioisótopo formado na ativação, energia (keV) dos raios gamas utilizados na espectrometria gama e suas respectivas meias-vidas.

min = minuto, d = dia,  $\overline{a}$  = ano.

Fonte: SUSSA, 2011.

O decaimento radioativo envolve a transição de um estado de energia do nuclídeo original para o estado de energia do nuclídeo produzido. Essa energia do decaimento aparece na forma de radiação eletromagnética e energia cinética nos produtos, é característica de cada elemento e proporcional a concentração do elemento na amostra (Gregory et al., 2002).

Na INAA, a amostra é irradiada juntamente com um padrão, cuja composição é a mais similar possível, e nas mesmas condições. Após a irradiação, a atividade da amostra, e do material de referência, é medida no mesmo detector e mesma geometria, o que permite que as massas desconhecidas dos elementos de interesse sejam diretamente calculadas a partir das taxas de contagens da amostra e do padrão, conhecendo-se as massas de ambos (Glascock, 2010).

Foram utilizados como padrão os materiais de referência geológicos Syenite, Table Mountain (STM-2), Estuarine Sediment Nist 1646<sup>a</sup> e padrões sintéticos preparados a partir de soluções-padrão, pipetadas em papel de filtro para a determinação das concentrações elementares. Para a validação da metodologia e controle de qualidade também foi utilizado o material de referência vegetal Mixed Polish Herbs (INCT-MPH-2) porque ele possui valores de concentrações elementares certificados em nível de grandeza iguais as amostras analisadas.

# 3.3.1 Determinação da concentração elementar

A concentração dos elementos As, Ba, Br, Ca, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, K, La, Lu, Mg, Mn, Na, Nd, Rb, Sb, Sc, Sm, Ta, Tb, Th, Ti, U, V, Yb, Zn e Zr foi determinada pela análise por ativação neutrônica instrumental (INAA) em cinquenta e cinco amostras de conchas das regiões sul ao nordeste do país.

Foram realizadas duas séries de irradiações de acordo com o tempo de decaimento de cada radionuclídeo de interesse, formado na amostra, chamadas de irradiação longa e irradiação curta. A irradiação longa foi empregada para determinação das concentrações dos radionuclídeos de meia-vida longa e intermediária (As, Ba, Br, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, K, La, Lu, Nd, Rb, Sb, Sc, Se, Sm, Ta, Tb, Th, U, Yb, Zn e Zr) e a irradiação curta foi utilizada para determinar as concentrações de radionuclídeos de meia-vida curta (Mg, Mn e Na) os dois métodos se diferenciam pelo tempo em que a amostra é irradiada no reator nuclear sendo a irradiação curta irradiada por alguns minutos e a longa por horas.

Para essa irradiação foram pesados cerca de 170 mg de cada amostra pulverizada e dos materiais de referência certificados (CRM). As amostras foram empacotadas em embalagens de polietileno, seladas e enviadas para a irradiação. As amostras foram irradiadas no Reator de Pesquisa IEA-R1 no IPEN, sob um fluxo de nêutrons de aproximadamente 10<sup>12</sup> cm<sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> por 8h, juntamente com os CRM Syenite, Table Mountain (STM-2), Estuarine Sediment Nist 1646a e soluções padrão pipetadas em papel de filtro.

Nessa irradiação foram realizadas duas séries de contagem da atividade radioativa. A primeira foi feita após sete dias de decaimento, para determinação dos elementos As, Br, K, La, Na, Nd, Sb, Sm, Tb, U e Yb. A segunda, foi feita após 15 dias de decaimento para determinação dos elementos Ba, Ca, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, Lu, Rb, Sb, Sc, Se, Ta, Tb, Th, Zn e Zr.

O tempo de contagem, após 7 dias de decaimento para as amostras, foi de 180 minutos, e para os materiais de referência, de 60 minutos. Após 15 dias de decaimento, para as amostras o tempo de contagem foi de 600 minutos e para os materiais de referência e padrões pipetados foi de 60 minutos. A irradiação curta foi empregada para determinar os radionuclídeos de meia-vidas da ordem de alguns minutos a poucas horas e, neste trabalho, foi utilizada para determinação das concentrações dos elementos K, Cl, Mn, Mg, Ti e V. Para sua realização, as amostras, os CRM e os padrões sintéticos pipetados, foram acondicionados em tubos de polietileno completamente vedados e irradiados por 20 segundos sob fluxo da ordem de 10<sup>12</sup> n cm<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. As amostras foram contadas durante 3 minutos na primeira série de contagem para determinação de Mg, Ti e V e 60 minutos numa segunda série, para determinação de Mn, K, Na e Cl.

As contagens das atividades gama induzidas nas amostras, nos CRM e nos padrões sintéticos foram feitas utilizando um detector de Ge-Hiperpuro, EG&G Ortec (Figura 4) com resolução de 0,88 keV e 2,09 keV para os picos de 122 keV e 1332 keV do <sup>57</sup>Co e <sup>60</sup>Co, respectivamente e equipamentos eletrônicos associados. A análise dos espectros foi feita utilizando-se o programa VISPECT2 e os cálculos foram feitos em planilha de Microsoft Excel® de acordo com a Equação 2:

$$C_{ai} = \frac{\left(A_{ai}m_p C_{pi}\right) e^{\lambda(t_a - t_p)}}{A_{pi}m_a} \tag{2}$$

sendo:

 $C_{ai}$  = concentração do elemento i na amostra (mg kg<sup>-1</sup>);  $C_{pi}$  = concentração do elemento i no padrão (mg kg<sup>-1</sup>);  $A_{ai}$  = atividade do elemento i na amostra (cps);  $A_{pi}$  = atividade do elemento i no padrão (cps);  $m_a$  e  $m_p$  = massas da amostra e do padrão, respectivamente (g);  $\lambda$  = constante de decaimento do radioisótopo (t<sup>-1</sup>);

ta - tp = diferença de tempo (min.) entre as contagens da amostra e padrão.



Figura 4 - Detector de Ge-Hiperpuro EG&G Ortec e eletrônica associada.

Fonte: SUSSA, (2011).

# 3.4 Difração de Raios-X

A difração de raios-X (DRX) é um método efetivo para a determinação da composição de fases de materiais cristalinos ou amorfos. O espalhamento de raios-X por átomos de cristais produz um padrão de difração que guarda informação sobre a estrutura de um cristal (Rahman, 2013).

As técnicas de análise de difração medem diretamente a distância entre planos paralelos do reticulo cristalino, utilizando comprimentos de raios-X com valores próximos das distâncias entre os planos cristalográficos. Na Figura 5 as linhas horizontais *d* representam um conjunto de planos cristalográficos paralelos, de índices de Miller (h k I). A imagem apresenta um feixe incidente monocromático de raios-X, de comprimento de onda  $\lambda$ . Quando ele se choca com um conjunto de planos entrará em fase se o valor da distância adicional percorrida pelo raio incidente 2, que é igual a SQ + QT, for igual ao comprimento de onda incidido.

A Equação 3 é conhecida como lei de Bragg e dá a relação entre as posições angulares dos feixes difratados, em termos do comprimento de onda  $\lambda$  do feixe de raios-X incidente e da distância interplanar d<sub>hkl</sub> dos planos cristalográficos (Lawrence, 2000).

$$n\lambda = 2 d_{hkl} \sin \theta \tag{3}$$

sendo:

 $\lambda$  = Comprimento de onda

n = Número inteiro de ondas

d = Distância interplanar

 $\theta$  = Angulo de incidência

Nesta técnica, é utilizada a amostra pulverizada, para que exista uma orientação aleatória de muitos cristais, assegurando assim que algumas das partículas estão orientadas em relação ao feixe de raios X, de modo a satisfazer as condições de difração da lei de Bragg. As técnicas modernas de determinação de estruturas cristalinas por difração de raios X utilizam um difratômetro, que possui um contador de radiação para detectar o ângulo e a intensidade do feixe difratado (Lawrence, 2000).

Figura 5 - Esquema da difração na condição de Bragg.



#### Fonte: LAWRENCE, (2000).

À medida que o contador se move num goniômetro circular, um registrador representa automaticamente a intensidade do feixe difratado, numa gama de valores 2q. Deste modo, podem registra-se, simultaneamente, os ângulos dos feixes difratados e as respectivas intensidades.

# 3.4.1 Determinação da composição mineralógica

Para a realização do procedimento, foram selecionadas aleatóriamente duas amostras pulverizadas de cada uma das três regiões. Foi utilizado um difratômetro Bruker D8 Advance de 3kW de potência e equipado com tubo de radiação Cu-k<sub>\(\alpha\)</sub> (\u03c0 = 1,54056 \u03c0) e detector de cintilação (Figura 6). As amostras foram inseridas no difratômetro e analisadas variando de um \u03c0 Angulo 20 até 80 \u03c0. Os difr\u00e0togramas resultantes foram comparados com o software de banco de dados EVA para a identificaç\u00e0\u00e0 das estruturas cristalinas das amostras.



Figura 6 - Imagem do difratômetro Bruker D8 Advance utilizado para a realização das analises

Fonte: autor da dissertação.

#### 3.5 Fluorescência de raios-X

Os raios X formam parte do espectro eletromagnético, com comprimentos de ondas que variam de 10 nm a 0,01 nm (0,124-124 keV) tendo sua origem em dois processos físicos distintos: ou pela desaceleração de um feixe de elétrons de alta energia, em tubos de raios-X, ou pela transição de elétrons entre as camadas mais internas do átomo. Esses raios-X formam um espectro discreto de distribuição energética que está relacionado ao número atômico do elemento, esse processo forma a base da técnica analítica de fluorescência de raios-X (FRX), pois se pudermos identificar e medir os raios-X característicos, podemos identificar o elemento químico que o origina e determinar a sua concentração.

Essa técnica consiste em provocar transições eletrônicas para que ocorra a emissão de raios-X característicos, separá-los, ou por seu comprimento de onda ou por sua energia e medi-los. Um sistema de florescência de raios-X é constituído de uma fonte para a excitação das amostras, um detector que identifica e separa os raios-X característicos, uma placa multicanal que registra o

espectro obtido e a eletrônica necessária para a alimentação do sistema e amplificação dos sinais provenientes do detector (Parreira, 2006)

A equação que relaciona a intensidade de raios-X característicos com sua concentração em uma determinada amostra é dada pela Equação (4):

$$I_i = C_i S_i A \tag{4}$$

sendo:

li = Intensidade do elemento i

Ci = Concentração do elemento i na amostra

Si = Sensibilidade do sistema de medidas para o elemento i

A = Fator de absorção da matriz, tanto para o feixe de excitação, quanto para o raio-X característico.

A FRX impõe algorítimos matemáticos para corrigir os efeitos de elementos coexistentes (absorção e aprimoramento de raios-X e sobreposição de picos) a partir da medida da intensidade de cada linha de emisão do elemento e a tabulação de valores dos parâmetros fundamentais, como a distribuição do espectro primário (fonte), os coeficientes de absorção de massa e do efeito fotoelétrico, o rendimento da flurescência, entre outros.

Os cálculos envolvem dois passos: a calibração e a previsão. Durante o passo da calibração a equação do método de parâmetros fundamentias (PF) é utilizada para predizer as intensidades características das linhas de emissão do padrão de calibração. Os cálculos são realizados especificamente para o instrumento no qual as medidas são obtidas, considerando que a equação (PF) integra aspectos da geometria, fonte e condições instrumentais. A calibração leva em consideração as intensidades calculadas teoricamente e as intensidades medidas, e é corrigida para cada linha característica. Essa correção é adquirida a partir do coeficiente angular, intensidade líquida experimental contra a intensidade relativa calculada, que corresponde ao fator proporcional usado na correção. Durante o passo da previsão, é necessário estimar a composição aproximada da amostra, primeiro. Tipicamente, a intensidade relativa das linhas de emissão detectadas correspondente a cada elemento na matrix é considerada, assumindo

que a emissão total pertence a composição de 100% (ou outro valor total, se os constituintes menores forem ignorados) (Criss e Birks., 1968; Lachance et al., 1994; Nagata e Bueno., 2001). A partir dessa equação, a intensidade que deve ser observada para a composição assumida é calculada. Esta é então comparada com os valores medidos, a composição assumida é ajustada e uma nova leva de intensidades esperadas é calculada. Esse processo de iteração é repetido automaticamente até que a composição assumida providencie uma intensidade de raios-X que correspondam ao valor medido, dentro de um nível de significância de 0,05. A composição que atenda essa relação se torna o resultado da análise (Nagata e Bueno., 2001; Scapin et al., 2008; 2015).

### 3.5.1 Determinação da composição química por FRX

Aproximadamente 1 grama de cada amostra foi prensada em disco de  $25.00 \pm 0,01$  mm de diâmetro e  $5.0 \pm 0,2$  mm de espessura utilizando uma prensa aplicando uma pressão de 20 MPa \*  $2s^{-1}$  em uma base de ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> PA), previamente comprimido a 100 MPa \*  $2s^{-1}$ .

Para a realização do experimento foi utilizando um espectrômetro WDXRF RIGAKU Co., modelo RIX 3000 com um tubo de raios X com um anôdo de Rh, uma janela de Be de 75 µm, voltagem de aceleração de 60kV, um detector de cintilação NaI(TI) e um contador proporcional de fluxo. Foi aplicado o método FP para a correção dos efeitos de absorção e excitação existentes.

# 3.6 Espectrômetria de absorção atômica por forno de grafite (GF AAS)

A técnica utilizado foi a espectrômetria de absorção atômica por forno de grafite (GF AAS), a técnica requer apenas alguns microlitros de amostra, é ideal para determinação de mais de 60 elementos e pode providenciar limites de detecção 1000 vezes menor do que as técnicas de chama convencionais e foi utilizada para determinar a concentração de Pb nas amostras de conchas.

O GF AAS consiste na atomização da amostra por um corrente elétrica alta dentro de um tubo de grafite. O vapor atômico gerado após o aquecimento do forno absorve a luz de uma lâmpada com comprimento de onda do espectro do elemento de interesse e a radiação trasmitida passa por um monocromador para dispersão da luz, segue para um detector que mede a sua intensidade e amplifica o sinal que é transformado em um sinal eletrônico analítico (Figura 7) (Elmer, 1996). A quantidade de energia absorvida naquele comprimento de onda específico é diretamente proporcional à concentração do elemento na amostra (Shriver et al, 2006).



Figura 7 - Seção transversal de um tubo de grafite típico utilizado para atomização eletrotérmica.

Fonte: SUSSA, (2011).

#### 3.6.1 Determinação de Pb nas amostras

Para determinar a concentração de Pb nas amostras por GF AAS, foram pesados 300 mg de amostras pulverizadas de conchas. Após a pesagem, foram adicionados 2 ml de HNO<sub>3</sub> concentrado para a dissolução das mesmas. Em seguida as amostras foram filtradas em papel filtro com um funil de vidro, acondicionadas em tubos de teflon. O volume do tubo foi completado até 25 ml com água ultrapura do Milli Q<sup>®</sup>.

Foi utilizado o material de referência Mixed Polish Herbs (INCT-MPH-2) para a validação do método. As amostras digeridas, juntamente com os materiais de referência foram analisadas no equipamento de GF AAS modelo AAnalyst 800 da Perkin Elmer (Figura 8) no Laboratório de Absorção Atômica do LAN/IPEN-SP para determinação de Pb.



Figura 8 - Equipamento de GF AAS modelo AAnalyst 800 da Perkin Elmer

Fonte: SUSSA, (2011).

# 3.7 Análise térmica

Análise térmica é um método comumente utilizado que permite determinar água de umidade, matéria orgânica e carbonato, e consiste em aquecer uma amostra até uma temperatura pré-determinada e calcular a diferença de massa resultante. Um grama de cada amostra foi pesado utilizando uma balança analítica e acondicionado em um cadinho de porcelana. Antes da pesagem o recipiente foi limpo com detergente e esponja, descontaminado com álcool etílico P.A, enxaguado em água deionizada e seco em uma estufa a 100 °C.

Para a determinação do teor de matéria orgânica e carbonato foi necessário a secagem da amostra em uma estufa a 100 °C por 48 horas a secagem da amostra. Para determinar o teor de matéria orgânica as amostras secas foram calcinadas em uma mufla a 450 °C por 4 horas. Para determinar o teor de carbonato as amostras foram calcinadas a 1000 °C por 2 horas (Heiri et al., 2001).

# 3.8 Análise estatística dos dados

O método quimiométrico envolve estatística multivariada, modelagem matemática e computação. É uma ferramenta útil em avaliar a qualidade e padrões de identidade na concentração de elementos (Arumagam et al., 2012; Pytlakowska et al., 2012).

O coeficiente de correlação de Pearson é uma medida de relação entre duas variáveis, usado para medir a força de associação entre elas (Devore et al., 2012). Duas variáveis de amostras diferentes são correlacionadas e é verificado se existem padrões entre essas variáveis. Funciona como uma ferramenta útil durante o tratamento de dados experimentais em análises químicas.

Altas correlações entre variáveis aparecem automaticamente quando temos matrizes com quantidades de análises maiores do que a quantidade de amostras, uma vez que neste caso temos muito mais medidas do que objetos. O coeficiente de correlação varia entre -1 e +1, uma alta correlação positiva ou negativa indica que duas variáveis são colineares e contêm informações redundantes. Por outro lado, uma baixa correlação (próxima de zero) indica que as variáveis contêm informações distintas e complementares (Márcia, 2015).

Um coeficiente de correlação negativo entre as variáveis significa que, quando os valores da primeira crescem, os valores da segunda decrescem. Para a realização do cálculo do coeficiente de correlação de Pearson foi utilizado o programa STATISTICA 7.

Análise de agrupamento (AAH), ou clustering, é o nome dado para o grupo de técnicas computacionais cujo propósito consiste em separar objetos em grupos, baseando-se nas características que estes objetos possuem. A idéia básica consiste em colocar em um mesmo grupo objetos que sejam similares de acordo com algum critério pré-determinado (Otto, 1998).

O critério baseia-se normalmente em uma função de dissimilaridade, função esta que recebe dois objetos e retorna a distância entre eles. Os elementos de um determinado conjunto devem ser mutuamente similares e, preferencialmente, muito diferentes dos elementos de outros conjuntos.

O AAH é uma ferramenta útil para a análise de dados em muitas situações diferentes. É útil para reduzir a dimensionalidade de dados de grande porte, permitindo que milhares de informações possam ser representados por poucos grupos de comportamento semelhante ou, também, para a detecção de amostras com comportamento diferenciado (anômalo) em um conjunto de dados. Pode servir também para extrair características escondidas dos dados e desenvolver as hipóteses a respeito de sua natureza.

O AAH apresenta vantagens porque pode ser representado graficamente em um esquema bidimensional. Os resultados são apresentados na

forma de uma árvore hierárquica, também conhecida como "dendrograma", que nada mais é do que um gráfico que representa a estrutura hierárquica dos dados, em que os comprimentos dos ramos da árvore representam o grau de similaridade entre os objetos.

Foi utilizado para o tratamento dos dados o método de Ward, ele utiliza a soma quadrática das distâncias para agrupar as amostras e foi escolhido por possuir boa aplicabilidade em análises ambientais. O método utiliza o centro de cada grupo para representá-lo como um todo. Nesse método, a cada repetição, calcula-se uma nova posição para o grupo como um todo e a distância entre grupos é dada como uma combinação linear dos quadrados das distâncias. A vantagem é que as propriedades de cada grupo são representadas por um único objeto, o centro de cada um.

A análise de Componentes Principais PCA é um método utilizado para projetar dados multivariados em um espaço de dimensão menor, reduzindo a dimensionalidade do espaço original do conjunto dos dados, sem que as relações entre as amostras sejam afetadas. As informações relevantes serão separadas e ampliadas, tornando as informações mais evidentes permitindo uma inspeção visual.

Utilizando essa metodologia é possível descobrir, visualizar e interpretar as diferenças existentes entre as variáveis e examinar as relações que podem existir entre as amostras. Essa análise também permite detectar amostras que apresentem comportamento anômalo, pois, com a projeção dos dados, elas tendem a se tornar evidentes. Uma propriedade muito importante das componentes principais é que elas não são correlacionadas, ou seja, a informação contida em uma delas não está presente em outra (Márcia, 2015).

#### 3.8.1 Normalização

Normalização consiste em estabelecer uma relação matemática entre a concentração de um dado elemento e a concentração de um elemento conservativo, que representa certa fração mineral da amostra (Loring e Rantala, 1992, Silva et al., 2004). Elementos de origem natural que são estruturalmente combinados com uma ou mais fases minerais associadas aos metais podem ser considerados conservativos. A decisão quanto ao elemento conservativo mais apropriado deve ser feita após cuidadoso exame das condições prevalecentes. A

técnica de normalização selecionada foi o cálculo do fator de enriquecimento e foi utilizada a concentração dos elementos na água do mar (Baturin, 1988) como padrão de comparação e o La como elemento conservativo. O fator de enriquecimento foi calculado de acordo com a Equação (5):

$$FE = \left(\frac{E_{am}}{La_{am}}\right) / \left(\frac{E_{mar}}{La_{mar}}\right)$$
(5)

sendo:

 $E_{am}$  = concentração do elemento na amostra (mg kg<sup>-1</sup> ou %);  $La_{am}$  = concentração do lantânio na amostra (mg kg<sup>-1</sup> ou %);  $E_{mar}$  = concentração do elemento na água do mar (mg kg<sup>-1</sup> ou %);  $La_{mar}$  = concentração do lantânio na água do mar (mg kg<sup>-1</sup> ou %).

# 3.9 Limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ)

Quando são realizadas medidas em amostras com baixos níveis do analito, como por exemplo, análise de traços, é importante saber qual o menor valor de concentração do analito que pode ser detectado pelo método. Para a validação de um método analítico, é normalmente suficiente fornecer uma indicação do nível em que a detecção do analito pode ser distinguida do sinal do branco/ruído.

O limite de detecção também é considerado como a menor concentração do analito que um procedimento analítico específico pode detectar com segurança. Sendo também definido como a concentração mínima na qual uma substância pode ser medida e declarada, a um determinado grau de confiança, de que a concentração do analito é maior que zero.

O limite inferior de detecção (LID) e o limite de quantificação (LQ) para INAA, GF AAS, sob as condições em que foram realizadas as análises, foram calculados utilizando o material de referência Mixed Polish Herbs (INCT-MPH-2), a Equação 6 (INMETRO, 2010) e a Equação 7 (INMETRO, 2010).

$$LID = \frac{3V\sigma}{TC} \tag{6}$$

sendo:

σ = desvio padrão da contagem da radiação de fundo;

 $V = valor certificado (mg kg^{-1})$ 

T = tempo de contagem (s);

C = contagem do fotopico do elemento de interesse.

$$LQ = 3 LID \tag{7}$$

Foram analisadas 9 amostras do material de referência para determinação do LID e LQ. Na Tabela 4 são apresentadas as médias dos valores de limite de detecção e limite de quantificação, calculados para os elementos presentes nos materiais de referência, INCT-MPH-2.

Para as análises de FRX foi calculado o LQ dos materiais certificados de acordo com a Equação 8 (Rosseau, 2001), e os valores do LQ obtidos para os elementos no material de referência NIST 1400 Bone Ash são apresentados na Tabela 5.

Tabela 4 - Valores de limite de detecção (LID) e limite de quantificação (LQ), em mg kg<sup>-1</sup>, para as técnicas de INAA, obtidos para os elementos no material de referência INCT-MPH-2.

Elemento	LD	LQ	Elemento	LD	LQ
As	0,04	0,12	Na	0,02	0,07
Ва	2	7	Nd	0,4	1,1
Br	0,05	0,14	Rb	0,2	0,6
Ce	0,06	0,17	Sb	0,003	0,009
Со	0,006	0,019	Sc	0,0005	0,0015
Cr	0,07	0,21	Se	0,04	0,13
Cs	0,009	0,027	Sm	0,002	0,005
Eu	0,002	0,007	Та	0,007	0,022
Fe	0,0004	0,0011	Tb	0,005	0,015
Hf	0,002	0,007	Th	0,006	0,018
La	0,01	0,04	Yb	0,01	0,04
Lu	0,002	0,005	Zn	0,1	0,4
Mg	26	77	Zr	3	9
Mn	0,1	0,4	U	0,02	0,05

Fonte: autor da dissertação.

$$LoQ = 2 * \sqrt{\frac{\sum_{m=1}^{n} (C_m - \bar{C})^2}{n - 1}}$$
(8)

sendo:

C<sub>m</sub> = valor medido;

 $\overline{C}$  = valor médio;

n = número de replicatas.
	Elemento	LoQ
	Ca	1.12
	Р	0.67
(%)	Mg	0.04
	Na	0.02
	Si	0.02
	AI	11
	К	3
µg g⁻¹	Fe	8
-	Zn	3
	Sr	2

Tabela 5 - Valores de limite de quantificação (LQ), para a técnica de FRX, obtido para os elementos no material de referência NIST 1400.

## **4 RESULTADOS**

## 4.1 Validação da metodologia

## 4.1.1 INAA

Os materiais de referências MR NIST 1646a (Estuarine Sediment), USGS STM-2 (Syenite Table Mountain), INCT-MPH-2 (Mixed Polish Herbs) e os padrões pipetados foram irradiados com as amostras para a validação da metodologia na análise de INAA. Foi utilizado o critério de *E<sub>n</sub>-score* (INMETRO, 2010) para avaliar a exatidão alcaçada na determinação elementar da técnica de INAA (equação 9):

$$En_{score} = \frac{Xlab - Xref}{\sqrt{u_{(Xlab)}^2 + u_{(Xref)}^2}}$$
(9)

sendo:

 $X_{lab}$  = resultado obtido (mg kg<sup>-1</sup>);

 $X_{ref}$  = valor de referência descrito no certificado (mg kg<sup>-1</sup>);

 $u_{(Xlab)}$  = incerteza combinada do resultado obtido;

 $u_{(Xref)}$  = incerteza combinada do valor de referência.

Considera-se que um resultado é satisfatório quando os valores de  $E_n$  estão entre -1 e 1 (INMETRO, 2010). Esta condição garante que um resultado individual da amostra controle (material de referência) está dentro do intervalo de confiança de 95% do valor verdadeiro ou aceito. As concentrações obtidas nos MR e nos padrões sintéticos são apresentadas na Tabela 6, Tabela 7, Tabela 8 e Tabela 9 foram calculados o valor de  $E_n$  para os elementos com valores de referência certificados.

Na Figura 9 é apresentado o gráfico comparando os valores de En-Score. É possível visualizar que a 75% dos valores calculados para o MR STM-2, 95% para MPH e 66% para NIST 1646a, apresentaram valores de En-Score entre -1 e 1, o que torna a precisão satisfatória. Os elementos Se e Zn apresentaram resultados abaixo do sugerido para o MR NIST 1646a (Tabela 4.1) e os elementos Eu, Hf, Lu e Zn para o MR USGS STM-2 (Tabela 4.2), estes elementos foram tratados com maior atenção nas suas interpretações.

Para a avaliação dos valores de DPR foi utilizado o conceito formulado no conselho diretivo 96/23/EC pela comunidade européia, que formulou um nível de veracidade e precisão apropriado para métodos analíticos, usados para monitorar resíduos de substâncias em produtos animais, para concentrações que variam de 1 µg kg<sup>-1</sup> a 1mg kg<sup>-1</sup>. As recomendações para veracidade e precisão de métodos analíticos são descritos na Tabela 10 e Tabela 11, respectivamente (Prichard e Barwick, 2008). Comparando os valores apresentados com os resultados obtidos para os MR é possível verificar resultados insatisfatórios para o elementos Se no MR Nist 1646a, Ba e Rb no MR STM-2 e Sb e Se no padrão pipetado. A maioria dos resultados segue as recomendações o que torna a veracidade e precisão do método satisfatórios.

Elemente		NIST 1646a									
Elemento	V.Cert.	±σ	V.Calc.	±σ	DPR(%)	ER(%)	E <sub>n</sub> -score				
As	6,23	±0,21	5,8	±0,5	24	6	1				
Ba*	210	/	206	±15	17	2	-				
Ce*	<b>Ce</b> * 34		31,9	±0,7	10	6	-				
Co*	5	/	4,63	±0,07	18	7	-				
Cr	40,9	±1,9	38,3	±0,5	18	6	1				
Fe(%)	2,008	±0,039	1,997	±0,023	4	0,5	0,2				
La*	17	/	18,2	±0,6	5	-7	-				
Na	0,741	±0,0017	0,73	±0,04	4	1	0				
Nd*	15	/	15,6	±1,7	30	-4	-				
Rb*	38	/	27,5	±1,7	23	28	-				
Sb*	0,3	/	0,48	±0,12	52	-60	-				
Sc*	5	/	4,37	±0,02	8	13	-				
Se	0,193	±0,028	0,59	±0,23	24	-206	-2				
Th*	5,8	/	5,00	±0,27	4	14	-				
U*	2	/	1,85	±0,23	3	8	-				
Zn	48,9	±1,6	44	<b>±</b> 2	19	10	2				

Tabela 6 - Resultados obtidos para o MR NIST 1646a utilizado para a verificação e validação da análise de INAA, mostrando o valor certificado, o valor calculado, o desvio padrão (DP), o erro relativo (ER) e o resultado do *En-score*.

\*não possui valor certificado.

/não possui incerteza.

	USGS STM-2									
Elemento	V.Cert.	±σ	V.Calc.	±σ	DPR(%)	ER(%)	E <sub>n</sub> -score			
Ва	639	±61	649	±31	30	-2	-0,1			
Ce	256	±23	247	±1	12	3	0,4			
Cs	1,52	±0,06	1,50	±0,08	±0,08 15		0,2			
Eu	3,45	±0,25	3,87	±0,04	10	-12	-2			
Fe (%)	3,77	±0,09	3,81	±0,03	8	-1	-0,5			
Hf	27	±0,8	30,1	±0,1	9	-11	-3,8			
La	154	±11	153,3	±0,6	±0,6 6		0,1			
Lu	0,6	±0,04	0,66	±0,01	±0,01 8		-2			
Na	6,61	±0,38	6,68	±0,05	±0,05 4		-0,2			
Nd	81	±4,8	87	±9	7	-8	-1			
Rb	114	±11	112	±3	31	2	0,2			
Sm	12	±0,9	11,19	±0,04	18	7	1			
Та	16	±1,1	15,6	±0,1	17	2	0,3			
Tb*	1,38	/	1,30	±0,04	20	6	-			
Th	27	±5	28,5	±0,2	5	-6	-0,3			
U *	7,6	/	8,1	±0,5	20	-6	-			
Yb	4,2	±0,8	4,01	±0,06	11	4	0,2			
Zn	1280	±62	1387	±26	16	-8	-2			

Tabela 7 - Resultados obtidos para o MR STM-2 utilizado para a verificação e validação da análise de INAA, apresentando o valor certificado, o valor calculado, o desvio padrão (DP), o erro relativo (ER) e o resultado do *En-score*.

\*não possui valor certificado. /não possui incerteza. Fonte: autor da dissertação.

# 4.1.2 GF AAS

Antes de determinar a concentração do Pb, nas amostras, foi preparada uma solução de Pb a partir de soluções estoques diluídas em HNO<sub>3</sub> 0,2% (v/v) (Merck), usado também como diluente, para construção da curva de calibração do equipamento, que é apresentada na Figura 10.

Elomonto	INC1-MPH-2									
Elemento	V.Cert.	±σ	V.Calc.	±σ	DPR(%)	ER(%)	E <sub>n</sub> -score			
As	0,191	±0,023	0,283	±0,002	18	-48	0,6			
Ва	32,5	±2,5	39	±4	17	-21	0,8			
Br	7,71	±0,61	13,08	±0,05	29	-70	0,5			
Ce	1,12	±0,1	0,941	±0,005	21	16	1			
Со	0,21	±0,025	0,2676	±0,0006	4	-27	0,7			
Cr	1,69	±0,13	2,24	±0,01	21	-33	0,7			
Cs	0,076	±0,13	0,0871	±0,0007	13	-15	-0,6			
Eu	0,016	±0,002	0,0263	±0,0001	28	-64	0,5			
Fe(%)*	0,046	/	0,0553	±0,0001	6	-	-			
Hf	0,236	±0,02	0,2135	±0,0004	16	10	1			
La	0,571	±0,046	0,548	±0,003	20	4	1			
Lu	0,009	±0,002	0,0076	±0,0001	25	15	0,9			
Mg	0,292	±0,018	0,30	±0,02	0,02	-1	0,9			
Mn	191	±12	201	<u>+2</u>	±2 10		-0,8			
Na*	350	/	363	±4	7	-	-			
Nd	0,457	±0,091	0,50	±0,03	15	-9	0,7			
Pb	2,16	±0,23	1,53	/	2	29	-			
Rb	10,7	±0,7	12,2	±0,2	6	-14	0,8			
Sb	0,066	±0,009	0,0617	±0,0007	14	7	0,9			
Sc	0,123	±0,009	0,1299	±0,0001	4	-6	0,9			
Sm	0,094	±0,008	0,0808	±0,0003	16	14	1,1			
Та	0,019	±0,002	0,0166	±0,0003	40	13	1			
Tb	0,014	±0,001	0,0134	±0,0002	37	4	1			
Th	0,154	±0,001	0,152	±0,001	21	2	1			
U*	0,049	/	0,0942	±0,0002	20	-92	-			
Yb	0,053	±0,007	0,0473	±0,0001	19	11	1			
Zn	33,5	±2,1	33	<u>+2</u>	6	1	0,9			

Tabela 8 - Resultados obtidos para o MR INCT-MPH-2 utilizado para a verificação e validação da análise de INAA, apresentando o valor certificado, o valor calculado, o desvio padrão (DP), o erro relativo (ER) e o resultado do *En-score*.

\*não possui valor certificado.

/não possui incerteza.

Flomonto	Padrão Pipetado								
ciemento	V.Cert.	V.Calc.	±σ	DPR(%)	ER(%)				
As	50	46	±3	18	9				
Ва	400	379	±17	15	5				
Ca	0,2	0,24	±0,01	96	-18				
Ce	20	20,6	±0,4	10	-3				
Со	2,52	2,51	±0,03	12	1				
Cr	20	20,9	±0,5	19	-4				
Cs	2,5	2,6	±0,1	15	-4				
Eu	0,98	0,94	±0,03	12	4				
Fe	0,1	0,102	±0,001	15	-2				
Hf	4,89	4,48	±0,06	11	8				
La	25	24,8	24,8 ±0,1		1				
Lu	1	0,91	±0,03	8	9				
Na	0,1	0,145	±0,001	31	-45				
Nd	100	92 ±8		4	8				
Rb	50	58 ±2		16	-16				
Sb	20	23	±13	69	-16				
Sc	1,0	1,060	±0,003	11	-9				
Se	50	10	±3	42	80				
Sm	5	5,89	±0,02	13	-18				
Та	20	20,3	±0,6	16	-1				
Tb	10	11,0	±0,4	18	-10				
Th	4,853	4,4	±0,3	8	9				
U	20	19	±1	18	5				
Yb	10	10	±0,8	9	-2				
Zn	100	108	±5	22	-8				
Zr	2000	2042	±59	18	-2				

Tabela 9 - Resultados obtidos para os padrões pipetados, utilizado para a verificação e validação da análise de INAA, apresentando o valor pipetado, o valor calculado, o desvio padrão (DP), o erro relativo (ER).



Figura 9 - Valores de En-Score para os MR NIST 1646a, STM-2 e MPH-2.

Fonte: autor da dissertação.

Tabela 10 - Mínimo de	veracidade em	métodos o	quantitativos.
-----------------------	---------------	-----------	----------------

Valor verdadeiro (µg kg⁻¹)	Variação aceitável (%)
≤1	-50 a 20
1 a 10	-30 a 10
≥10	-20 a 10

Tabela 11 - Relação entre precisão e nível de concentração.

Conteúdo (µg kg <sup>-1</sup> )	DPR (%)
1	45,3
10	32
100	13
1000	16



Figura 10 - Curva de calibração obtida para o Pb na análise GF AAS.

A linearidade da curva de calibração foi avaliada tanto de forma visual, no momento das medidas, como também pelo coeficiente de correlação linear (r). Obteve-se um valor de coeficiente de correlação linear r > 0,99. Dessa forma, a reta foi considerada um modelo matemático adequado para esse estudo, em que o sinal do equipamento é diretamente proporcional a concentração dos analitos quantificados.

Para a validação da metodologia empregada na GFAAS foi empregado o MR certificado INCT-MPH-2 (Mixed Polish Herbs). O resultado é apresentado na Tabela 8 com o valor certificado, o valor calculado, o DPR e o ER.

4.1.3 FRX

O material de referência NIST 1400 (*Bone Ash*) foi utilizado para a validação da metodologia na análise de FRX de acordo com os testes estatístico sugeridos pelo INMETRO, a informação foi obitida a partir de 3 replicadas e 7 medidas de cada replicata, chegando ao valor de 21 medidas. A precisão da metodologia foi validada a partir do teste de *En-score*, de acordo com a Equação 9, os resultados obtidos para MR NIST 1400 são apresentados na Tabela 12, apresentando os valores certificados e calculados para os respectivos elementos, o desvio padrão (DP), o erro relativo (ER) e o resultado de En-Score.

Elomonto		NIST 1400			
Liemento	V.cert $\pm \sigma$	V.deter $\pm \sigma$	DP (%)	ER (%)	En-score
Ca (%)	38.18±0.13	38.4±0.6	1.6	-0.6	-0,4
P (%)	17.91±0.19	17.8±0.3	1.7	0.6	0,3
<sup>*</sup> Na (%)	0.6	0.64±0.05	7.8	-	-
<sup>*</sup> Si (%)	0.13	0.125±0.004	3.2	-	-
<sup>∗</sup> AI (µg g⁻¹)	530	761±57	7.5	-	-
K (µg g⁻¹)	186±8	195±15	7.7	-4.8	-0,5
Fe (µg g⁻¹)	660±27	659±39	5.9	0.2	0,02
Zn (µg g <sup>-1</sup> )	181±3	165±12	7.3	8.8	1
Sr (µg g⁻¹)	249±7	248±19	7.7	0.4	0,05

Tabela 12 - Resultados obtidos para o MR NIST 1400 Bone Ash utilizado para a verificação e validação da análise de FRX, apresentando o valor certificado, o valor calculado, o desvio padrão (DP), o erro relativo (ER) e o resultado do *En-score*.

\*valor não certificado.

-valor não calculado.

Fonte: autor da dissertação.

A precisão avaliada pelo desvio padrão (DP) foi de 1,6 até 7,8% e a extidão foi pelo erro relativo que variou de 0,2 a 8,8%. O En-Score apresentou valores entre 1 e -1 para todos os elementos, o que torna a precisão satisfatória (INMETRO).

#### 4.2 Análise térmica

Os valores do teor matéria orgânica e carbonato, em porcentagem de massa, são apresentados na Tabela 13.

Amostra _	Matéria orgânica	Perda ao fogo 1000 °C	_ Amostra _	Matéria orgânica	Perda ao fogo 1000 °C
	430 C	1000 C		4 <b>30 C</b>	429/
R3-1	0%	42%	DA-1	2% 40/	43%
RS-2	1%	43%	BA-2	1%	43%
RS-4	1%	42%	BA-3	1%	43%
RS-6	4%	42%	BA-4	1%	43%
SC-1	2%	44%	BA-5	3%	42%
SC-2	6%	41%	SE-1	3%	43%
SC-3	1%	44%	SE-2	6%	41%
SC-4	4%	41%	AL-2	2%	43%
PR-1	1%	43%	AL-3	3%	42%
PR-2	4%	42%	PE-1	3%	42%
PR-3	1%	43%	PE-2	3%	42%
PR-4	5%	42%	PE-3	7%	40%
SP-1	4%	41%	PE-4	3%	42%
SP-2	0%	43%	PE-5	4%	42%
SP-3	3%	42%	PB-1	7%	41%
SP-4	4%	42%	PB-2	1%	41%
SP-5	0%	44%	PB-3	3%	42%
SP-6	4%	42%	RN-1	2%	43%
SP-7	6%	40%	RN-2	2%	42%
RJ-1	2%	43%	RN-3	3%	42%
RJ-2	6%	40%	RN-4	1%	43%
RJ-3	5%	41%	CE-1	4%	41%
RJ-4	4%	42%	CE-2	4%	42%
ES-1	4%	41%	CE-3	3%	42%
ES-2	5%	42%	CE-4	5%	41%

Tabela 13 - Resultados das análises térmicas para matéria orgânica e perda ao fogo, em %, das amostras de conchas.

# 4.3 Difração de raios-X

Os resultados dos difratogramas de amostras de cada uma das três regiões estudadas no trabalho, seguidos dos difratogramas das referências dos minerais calcita, calcita com 6% de Mg e aragonita são apresentados na Figura 11.



Figura 11 - Difratograma das amostras representativas das regiões sul, sudeste e nordeste obtidos a partir da análise por Difração de raios-X.

## 4.4 Resultados de INAA, FRX e GF AAS

Os resultados das concentrações das análises de conchas por INAA, FRX e GF AAS são apresentados na Tabela 14. Primeiro são apresentados os resultados da análise de FRX para os elementos AI, Ca, CI, K, Ni, P, S, Si e Sr em porcentagem de massa com o Ca sendo apresentado primeiro seguido dos elementos em ordem alfabética, devido a importância do elemento para o trabalho.

Em seguida são apresentados os resultados da análise INAA para os elementos As, Ba, Br, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, La, Lu, Mg, Mn, Na, Nd, Rb, Sb, Sc, Se, Sm, Ta, Tb, Th, U, Yb, Zn e Zr em ppm, apenas o Fe é apresentado em %. O resultado de Pb realizado pela análise GF AAS está incluído na ordem alfabética nos resultados.

As concentrações calculadas por FRX para os elementos AI, K e Ni ficaram abaixo do limite de detecção, na maioria das amostras. Em decorrência disso foram excluídos das análises estatísticas. Foram selecionados para a realização das análises estatísticas os elementos Br, Ca, Cl, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, La, Mg, Mn, Na, P, Pb, S, Sc, Si, Sr e Zn, porque apresentaram bons resultados na validação dos MR e foram determinados em pelo menos 70% das 55 amostras analisadas.

Tabela 14 - Resultados da análise por FRX (Ca-Sr) em %, resultado da análise INAA (Fe-Ta) com o Fe em % e os outros elementos em mg kg-1 e os resultados da análise GF AAS para o elemento Pb em mg kg-1. Os espaços em branco representam valores não determinados ou abaixo do limite de detecção.

,										(continua)
	Ca (%)	±σ	AI (%)	±σ	CI (%)	±σ	K (%)	±σ	Ni (%)	±σ
RS-1	38.2	±0.4	< 0.005		0.027	±0.003	<0.005		<0.005	
RS-2	38	±0,4	<0,005		0,065	±0,007	<0,005		<0,005	
RS-3	39,5	±0,4	<0,005		0,38	±0,04	0,012	±0,001	<0,005	
RS-4	38,8	±0,4	<0,005		0,22	$\pm 0,02$	0,016	$\pm 0,002$	<0,005	
RS-5	38,8	±0,4	<0,005		0,12	±0,01	0,005	±0,001	<0,005	
RS-6	39,1	±0,4	<0,005	. 0. 004	0,21	$\pm 0.02$	0,009	$\pm 0,001$	<0,005	
50-1	37,1	$\pm 0,4$	0,014	±0,001	0,67	±0,07	0,013	$\pm 0,001$	<0,005	
30-2 60 2	37,4	$\pm 0,4$	<0,005		0,17	±0,02	0,007	$\pm 0,001$		10.001
SC-3	27 5	$\pm 0.4$		+0.001	0,29	$\pm 0.03$		±0,001		±0,001
DR_1	36.0	±0,4	0,009	$\pm 0,001$	0,12	±0,01		+0 002		
PR-2	37 3	$\pm 0, \pm$	~0.005	10,002	0.046	+0.005	~0.005	10,002		
PR-3	39.3	$\pm 0, \pm$	<0.005		0.034	$\pm 0,000$	<0.005		<0.005	
PR-4	38.7	+0.4	<0.005		0.09	$\pm 0,000$	<0.005		<0.005	
PR-5	38.3	+0.4	< 0.005		0.44	+0.04	0.014	+0.001	< 0.005	
SP-1	39.1	±0.4	< 0.005		0.11	±0.01	0.006	±0.001	< 0.005	
SP-2	38,8	±0,4	<0,005		0,12	±0,01	0,005	±0,001	<0,005	
SP-3	38,7	±0,4	<0,005		0,085	±0,009	<0,005	,	<0,005	
SP-4	38,7	±0,4	<0,005		0,14	±0,01	0,007	±0,001	<0,005	
SP-5	38,8	±0,4	0,007	±0,001	0,07	±0,01	0,007	±0,001	<0,005	
SP-6	39,5	±0,4	0,005	±0,001	0,06	±0,01	<0,005		<0,005	
SP-7	39,5	±0,4	<0,005		0,17	±0,02	<0,005		<0,005	
RJ-1	39,3	±0,4	<0,005		0,17	±0,02	<0,005		<0,005	
RJ-2	38,7	±0,4	0,017	±0,002	0,17	±0,02	0,007	±0,001	<0,005	
RJ-3	39	±0,4	<0,005		0,28	±0,03	<0,005		0,005	±0,001
RJ-4	39,2	±0,4	0,007	±0,001	0,015	±0,002	0,016	±0,002	<0,005	
ES-1	38,6	±0,4	0,025	$\pm 0,003$	0,031	$\pm 0,003$	<0,005	.0.004	<0,005	
E3-2	35,7	$\pm 0,4$	0,035	$\pm 0,004$	0,049	$\pm 0,005$	0,009	±0,001	<0,005	
	30,1 20 0	$\pm 0.4$		±0,001	0,042	±0,004		+0.001	<0,005	
BA-2	38.0	±0,4			0,14	±0,01	0,000	±0,001		
BΔ-4	38.1	$\pm 0, \pm$	0.005	+0 001	0,2	$\pm 0,02$ $\pm 0.01$		10,001	0.005	+0.001
BA-5	38.3	$\pm 0, \pm$	< 0.005	10,001	0.25	$\pm 0,01$	0,006	+0 001	< 0.005	10,001
SE-1	38.2	+0.4	< 0.005		0.45	+0.05	0.016	+0.002	<0.005	
SE-2	37.5	±0.4	0.006	±0.001	0.63	±0.06	0.028	±0.003	< 0.005	
SE-3	36,4	±0,4	0,01	±0,001	1	±0,1	0,048	±0,005	0,006	±0,001
AL-1	38	±0,4	0,013	±0,001	0,005	±0,005	<0,005		0,005	±0,001
AL-2	36,9	±0,4	<0,005		0,014	±0,001	<0,005		<0,005	
AL-3	37	±0,4	<0,005		0,009	±0,001	<0,005		<0,005	
PE-1	38,5	±0,4	0,016	±0,002	0,16	±0,02	<0,005		<0,005	
PE-2	38,3	±0,4	<0,005		0,15	±0,02	0,009	±0,001	<0,005	
PE-3	37,8	±0,4	0,005		0,03	±0,03	0,01	±0,001	<0,005	
PE-4	37,6	±0,4	<0,005	0.004	0,41	$\pm 0,04$	0,012	±0,001	<0,005	0.004
PE-3	37,8	±0,4	0,005	±0,001	0,12	±0,01	<0,005		0,005	±0,001
	31	$\pm 0,4$	0,013	±0,001	0,018	$\pm 0,002$	<0,005		0,005	±0,001
PD-2 DB-3	39,3 30,1	±0,4	<0,005		0,4	±0,4	<0,005			+0.001
RN-1	383	$\pm 0,4$			0,000	$\pm 0,001$	0.021	+0 002	0,000	$\pm 0,001$
RN-2	.38	$\pm 0, \mp$	<0.005		0.013	$\pm 0,04$	0,021	$\pm 0,002$	0,005	$\pm 0,001$
RN-3	38.8	$\pm 0.4$	<0.005		0.01	$\pm 0.001$	< 0.005	-0,001	<0.005	_0,001
RN-4	39	±0.4	< 0.005		0,047	±0,005	< 0.005		<0,005	
CE-1	37,2	±0,4	<0,005		0,013	±0,001	<0,005		0,005	±0,001
CE-2	39,1	±0,4	0,006	±0,001	0,021	±0,002	<0,005		<0,005	
CE-3	36,2	±0,4	<0,005		0,023	±0,002	<0,005		0,005	
CE-4	38,8	±0,4	0,009	±0,001	0,1	±0,01	0,007	±0,001	0,005	±0,001

Tabela 14 - Resultados da análise por FRX (Ca-Sr) em %, resultado da análise INAA (Fe-Ta) com o Fe em % e os outros elementos em mg kg<sup>-1</sup> e os resultados da análise GF AAS para o elemento Pb em mg kg<sup>-1</sup>. Os espaços em branco representam valores não determinados ou abaixo do limite de detecção. (continuação)

	P(%)	±σ	S(%)	±σ	Si(%)	±σ	Sr(%)	±σ	Fe(%)	±σ
RS-1	0.012	+0.001	0.19	+0.02	0.02	+0.002	0.035	+0 004	0.0014	+0.0002
RS-2	0.016	$\pm 0.001$	0.21	$\pm 0.02$	0.01	$\pm 0.002$	0.032	$\pm 0.004$	0.0068	$\pm 0.0002$
RS-3	0.042	+0.004	0 14	+0.01	0.015	+0.002	0.04	+0.004	0,0000	_0,000_
RG-1	0.05	+0.005	0,14	$\pm 0,01$	0,010	+0.001	0,04	$\pm 0,004$		
	0,00	±0,003	0,13	±0,01	0,009	$\pm 0,001$	0,039	$\pm 0,004$	0 0001	.0.0002
	0,043	±0,004	0,1	±0,01	0,012	$\pm 0,001$	0,044	$\pm 0,004$	0,0004	$\pm 0,0002$
	0,04	±0,004	0,13	±0,01	0,013	$\pm 0,001$	0,039	$\pm 0,004$	0,0000	$\pm 0,0001$
30-1	0,003	±0,000	0,19	±0,02	0,032	$\pm 0,003$	0,034	$\pm 0,003$	0,0020	±0,0004
36-2	0,053	±0,005	0,12	$\pm 0,01$	0,026	$\pm 0,003$	0,030	$\pm 0,004$		
56-3	0,021	±0,002	0,17	±0,02	0,018	±0,002	0,037	±0,004		
SC-4	0,015	±0,002	0,12	±0,01	0,025	$\pm 0,003$	0,037	±0,004	0,0019	±0,0003
PR-1	0,04	±0,004	0,12	±0,01	0,046	±0,005	0,037	±0,004	0,0097	±0,0002
PR-2	0,015	±0,002	0,11	±0,01	0,016	±0,002	0,034	±0,003	0,0011	±0,0001
PR-3	0,022	±0,002	0,14	±0,01	0,05	±0,005	0,039	±0,004	0,001	±0,0002
PR-4	0,014	±0,001	0,12	±0,01	0,011	±0,001	0,04	±0,004	0,0012	±0,0001
PR-5	0,047	±0,005	0,17	±0,02	0,017	±0,002	0,04	±0,004	0,0038	±0,0002
SP-1	0,036	±0,004	0,08	±0,01	0,007	±0,001	0,042	±0,004		
SP-2	0,038	±0,004	0,1	±0,01	0,012	±0,001	0,043	±0,004	0,0016	±0,0005
SP-3	0,037	±0,004	0,09	±0,01	0,007	±0,001	0,042	±0,004		
SP-4	0,042	±0,004	0,11	±0,01	0,005		0,046	±0,005		
SP-5	0,036	±0,004	0,08	±0,01	0,005		0,044	±0,004		
SP-6	0,036	±0,004	0,07	±0,01	0,005		0,046	±0,005		
SP-7	0.025	±0,003	0.11	±0,01	0,009	±0,001	0.04	±0,004	0.0006	±0,0002
RJ-1	0,031	±0,003	0,14	±0,01	800,0	±0,001	0.032	±0,003	0,0095	±0,0004
RJ-2	0.023	±0.002	0.22	±0.02	0.033	±0.003	0.045	±0.005		
RJ-3	0.038	±0.004	0.17	±0.02	0.022	±0.002	0.032	$\pm 0.003$	0.0068	±0.0002
RJ-4	0.027	+0.003	0.17	+0.02	0.017	+0.002	0.041	+0.004	0.0015	+0.0002
ES-1	0,026	+0.003	0.24	+0.02	0.04	+0.005	0.04	+0.004	0,0044	+0.0006
FS-2	0,008	+0.001	04	+0.04	0,11	+0.010	0,039	+0.004	0 0042	+0.0002
RΔ-1	0,000	$\pm 0,001$	0 1 1	$\pm 0,01$	0.016	$\pm 0,010$	0,000	$\pm 0,001$	0,0007	$\pm 0,0002$
BA-2	0.038	+0.004	0,09	$\pm 0,01$	0.018	$\pm 0,002$	0.041	$\pm 0,001$	0,0001	$\pm 0,0002$
BA-3	0,000	$\pm 0,004$	0,00	$\pm 0,01$	0,010	+0.002	0,041	$\pm 0,004$	0,002	$\pm 0,0001$
BA-J	0,007	$\pm 0,004$	0,03	$\pm 0,01$	0,022	+0.002	0,000	$\pm 0,004$	0,0020	$\pm 0,0002$
BA-5	0,000	$\pm 0,004$	0,07	$\pm 0.01$	0,020	$\pm 0,000$	0,000	$\pm 0,004$	0,0015	10,0001
SE-1	0,041	+0.005	0,11	$\pm 0.01$	0,000	+0.007	0,040	$\pm 0,004$		
SE-2	0,000	+0.005	0,1	$\pm 0.01$	0,017	+0.002	0,04	$\pm 0,004$	0 002	+0 0005
SE-2	0,000	±0,000	0,13	±0,01	0,02	±0,002	0,030	$\pm 0,004$	0,002	$\pm 0,0003$
	0,092	±0,009	0,2	±0,02	0,01	$\pm 0,002$	0,04	$\pm 0,004$	0,003	$\pm 0,0002$
	0,03	$\pm 0,003$	0,13	±0,01	0,011	±0,001	0,043	±0,004	0,004	$\pm 0,0002$
	0,031	$\pm 0,003$	0,10	±0,02	0,015	±0,002	0,049	±0,005	0,0010	$\pm 0,0002$
AL-J	0,031	$\pm 0,003$	0,17	±0,02	0,022	$\pm 0,002$	0,045	$\pm 0,000$	0,0014	$\pm 0,0002$
	0,027	$\pm 0,003$	0,10	±0,02	0,02	±0,002	0,043	$\pm 0,004$	0,0024	±0,0002
	0,037	$\pm 0,004$	0,09	$\pm 0,01$	0,005	. 0 000	0,030	$\pm 0,004$	0.0005	. 0 0002
	0,044	$\pm 0,004$	0,09	$\pm 0,01$	0,015	$\pm 0,002$	0,043	$\pm 0,004$	0,0095	±0,0002
	0,043	$\pm 0,004$	0,14	±0,01	0,006	±0,001	0,030	$\pm 0,004$		
PE-3	0,036	$\pm 0,004$	0,08	±0,01	0,005	. 0. 000	0,036	$\pm 0,004$	0.0040	
PB-1	0,035	$\pm 0,004$	0,21	±0,02	0,029	$\pm 0,003$	0,043	±0,004	0,0019	±0,0002
PB-2	0,039	$\pm 0,004$	0,15	±0,02	0,024	±0,002	0,046	±0,005	0,0016	±0,0002
PB-3	0,037	$\pm 0,004$	0,16	$\pm 0.02$	0,025	$\pm 0,003$	0,047	$\pm 0,005$	0,0041	±0,0002
KN-1	0,053	$\pm 0,005$	0,17	$\pm 0.02$	0,018	$\pm 0.002$	0,043	$\pm 0,004$	0,0042	±0,0002
KN-2	0,036	±0,004	0,23	±0,02	0,043	±0,004	0,053	±0,005	0,0016	±0,0003
KN-3	0,03	±0,003	0,1	±0,01	0,018	±0,002	0,046	±0,005	0,0072	±0,0003
KN-4	0,026	$\pm 0,003$	0,21	±0,02	0,005	±0,001	0,038	±0,005	0,002	±0,0002
CE-1	0,031	±0,003	0,15	±0,20	0,013	±0,001	0,039	±0,004	0,0025	±0,0001
CE-2	0,034	±0,003	0,16	±0,02	0,014	±0,010	0,042	±0,004	0,0011	±0,0001
CE-3	0,028	±0,003	0,13	±0,01	0,008	±0,001	0,035	±0,004	0,0008	±0,0001
CE-4	0,034	±0,003	0,13	±0,01	0,015	±0,002	0,044	±0,004	0,0008	±0,0002

Tabela 14 - Resultados da análise por FRX (Ca-Sr) em %, resultado da análise INAA (Fe-Ta) com o Fe em % e os outros elementos em mg kg<sup>-1</sup> e os resultados da análise GF AAS para o elemento Pb em mg kg<sup>-1</sup>. Os espaços em branco representam valores não determinados ou abaixo do limite de detecção.

-										(continuação)
	As	±σ	Ba	±σ	Br	±σ	Ce	±σ	Со	±σ
RS-1			3,2	±0,7	1,1	±0,06	0.77	±0,06	0.073	±0.003
RS-2			5,7	±0,7	3,4	±0,04	0,75	±0,03	0,073	±0,003
RS-3			1	±0,3	10,2	±0,04	0,05	±0,00	0,006	±0,001
RS-4									0,047	±0,004
RS-5					3,7	±0,04			0,035	±0,004
RS-6			14	±3	7,6	±0,06	0,06	±0,01	0,016	±0,001
SC-1					22,1	±0,2			0,123	±0,008
SC-2					8,9	±0,2			0,04	±0,01
SC-3	0,3	±0,09			9,4	±0,2	0,14	±0,06	0,26	±0,02
SC-4			1,4	±0,6	4,3	±0,07	0,29	±0,02	0,3	±0,02
PR-1	0,2	±0,04	4,3	±0,7	10	<u>+2</u>	0,33	±0,03	0,11	±0,004
PR-2					4,5	±0,08			0,045	±0,003
PR-3			3,1	±0,6	2,4	±0,06	0,14	±0,02	0,056	±0,002
PR-4					4,7	±0,07	0,35	±0,02	0,051	±0,003
PR-5					12,8	±0,1	0,08	±0,01	0,058	±0,005
SP-1					7,6	±0,09	0,44	±0,08	0,1	±0,01
SP-2			3	±2	7	±0,09	0,54	±0,08	0,728	±0,082
SP-3			9	±1	11	±1	0,68	±0,07	0,034	±0,004
SP-4			1,5	±0,2	12	±1	0,58	±0,03	0,26	±0,02
SP-5					3,6	±0,1	0,58	±0,07	0,073	±0,006
SP-6			5	±1	2,2	±0,1			0,061	±0,006
SP-7			2,7	±0,7	2,6	±0,06			0,047	±0,004
RJ-1					8,3	±0,1			0,21	±0,009
RJ-2					11,7	±0,2			0,11	±0,01
RJ-3			3	±0,6	17,6	±0,2			0,193	±0,004
RJ-4					2,4	±0,06			0,036	±0,002
ES-1					5,7	±0,1	0,22	±0,05	0,115	±0,008
ES-2	0,1	±0,02	3,3	±0,7	5,4	±0,04			0,063	±0,003
BA-1					2,2	±0,1			0,208	±0,006
BA-2					6,6	±0,1			0,038	±0,003
BA-3					8,4	±0,1			0,057	±0,003
BA-4					5,2	±0,1	0,07	±0,02	0,035	±0,003
BA-5					13,6	±0,1			0,046	±0,002
SE-1					19	±0,2			0,061	±0,008
SE-2					35	±0,3			0,06	±0,01
SE-3			1,9	±0,6	70	±0,3			0,076	±0,005
AL-1			1,6	±0,5	4,7	±0,05			0,062	±0,003
AL-2			2,5	±0,8	5	±0,08	0,12	±0,04	0,074	±0,004
AL-3					3,7	±0,07			0,079	±0,003
PE-1					6,4	±0,07			0,036	±0,004
PE-2				-	6,5	±0,08			0,05	±0,006
PE-3			18	±2	14,7	±0,2	0,64	±0,06	0,11	±0,002
PE-4			5,3	±0,8	15,5	±0,1			0,055	±0,006
PE-5			4	±1	4,9	±0,1			0,048	±0,004
PB-1			0,5	±0,7	5	±0,08	0,17	±0,04	0,187	±0,004
PB-2							0,07	±0,02	0,082	±0,002
PB-3			2,3	±0,5	8,9	±0,1	0,1	±0,02	0,11	±0,003
RN-1			4,4	±0,7	17,6	±0,1	0,33	±0,02	0,087	±0,003
RN-2			3,9	±0,7	5	±0,04	0,05	±0,02	0,056	±0,002
RN-3			4,4	±0,8	10,2	±0,1	0,25	±0,03	0,105	±0,004
KN-4			00	~	8,6	±0,07	0.40	0.04	0,105	±0,004
CE-1			26	±2	2,4	±0,04	0,16	±0,01	0,014	±0,001
CE-2			0.0		5,1	±0,1	0.00	.0.04	0,071	±0,007
CE-3			3,2	±0,2	2,5	±0,05	0,02	±0,01	0,007	±0,001
CE-4					4,7	±0,1			0,038	±0,003

Tabela 14 - Resultados da análise por FRX (Ca-Sr) em %, resultado da análise INAA (Fe-Ta) com o Fe em % e os outros elementos em mg kg<sup>-1</sup> e os resultados da análise GF AAS para o elemento Pb em mg kg<sup>-1</sup>. Os espaços em branco representam valores não determinados ou abaixo do limite de detecção.

tecçao	•									(continuação)
	Cr	±σ	Cs	±σ	Eu	±σ	Hf	±σ	La	±σ
RS-1	0.31	±0.03	0.013	±0.009	0.013	±0.001			0.19	±0.01
RS-2	3,3	±0,1			0,014	±0,001			0,225	±0,006
RS-3	0,088	±0,005			0,0019	±0,0002			0,042	±0,003
RS-4			0,027	±0,008	0,0055	±0,0003				
RS-5	0,2	±0,05	0,025	±0,006	0,0085	±0,0009			0,054	±0,001
RS-6	1,15	±0,03			0,0026	±0,0003	0,005	±0,001	0,059	±0,003
SC-1	0,86	±0,09	0,05	±0,01						
SC-2									~	
SC-3					0,0071	±0,0042			0,14	±0,01
SC-4	0,32	$\pm 0,03$	0,02	$\pm 0,004$	0,0159	±0,0009	0,023	±0,009	0,159	±0,009
PR-1	0,92	$\pm 0,05$	0,024	$\pm 0,004$	0,014	±0,001	0,017	$\pm 0,003$	0,17	±0,02
PR-2	0,57	$\pm 0,03$	0,03	$\pm 0,006$	0,004	±0,001	0,012	$\pm 0,003$	0,11	±0,05
PR-3	0,39	$\pm 0,03$	0,029	$\pm 0,006$	0,008	±0,001	0,018	$\pm 0,003$	0,16	±0,01
PR-4	0,18	±0,02	0,02	±0,005	0,01	$\pm 0,001$	0,009	±0,002	0,2	±0,01
PR-5	0,2	$\pm 0.04$	0.00	.0.01	0,006	±0,001			0,07	±0,01
5P-1	0,6	±0,09	0,02	$\pm 0,01$					0,29	±0,02
37-2 60 2	0,34	±0,00	0,046	±0,013					0,21	$\pm 0,01$
37-3 60 /	0,07	$\pm 0.04$	0.006	.0.002	0.007	10.001	0 000	.0.001	0,31	$\pm 0.02$
97-4 90.5	0,17	±0,02	0,000	$\pm 0,002$	0,007	±0,001	0,000	±0,001	0,30	$\pm 0.02$
SP-5 SD_6	0,21	±0,00	0,033	±0,000					0,3	±0,02
SP-0	0,42	±0,00 ±0.03	0.021	+0 003	0.007	+0.001			0,1	±0,01
R.I-1	0,77	$\pm 0.05$	0,021	10,005	0,007	$\pm 0,001$			0,021	10,000
R.I-2	0,01	+0.08	0.07	+0.02	0,007	10,002			0.05	+0.02
R.J-3	4.6	$\pm 0,00$ $\pm 0.1$	0,011	$\pm 0,02$	0.006	+0 001	0 029	+0.003	0,00	$\pm 0,02$ $\pm 0.01$
RJ-4	1 39	+0.05	0.029	+0.005	0,002	+0.001	0,020	_0,000	0,2 .	_0,01
ES-1	0.35	±0.07	0.02	±0.01	0.004	±0.002			0.029	±0.006
ES-2	0.34	$\pm 0.03$	0.034	$\pm 0.005$	0.008	$\pm 0.001$	0.022	±0.003	0.046	±0.005
BA-1	0,26	±0,03	0,027	±0,007	0,018	±0,004	- , -	- ,	- ,	-,
BA-2	0,27	±0,04	0,011	±0,001	0,008	±0,001			0,07	±0,01
BA-3	0,91	±0,02	0,033	±0,008	0,006	±0,001			0,059	±0,005
BA-4	0,12	±0,03	0,018	±0,006	0,012	±0,001	0,003	±0,001		
BA-5	0,1	±0,02	0,011	±0,005	0,006	±0,002			0,1	±0,02
SE-1			0,02	±0,01	0,01	±0,003				
SE-2	2,7	±0,1	0,019	±0,009	0,008	±0,002			0,04	±0,01
SE-3	2,28	±0,07	0,026	±0,004	0,002	±0,001	0,008	±0,002	0,16	±0,03
AL-1	2,18	±0,06	0,036	±0,006	0,007	±0,001	0,014	±0,002	0,13	±0,01
AL-2	0,18	±0,03	0.04	0 005	0,009	±0,001			0,07	±0,02
AL-3	0,24	$\pm 0,03$	0,04	$\pm 0,005$	0,007	±0,001	0.004	0.004		
PE-1	0,29	±0,04	0,032	$\pm 0,008$	0,006	±0,001	0,004	±0,001	0.4	.0.04
PE-2	1 0 1	. 0. 00	0,019	$\pm 0,002$	0,009	$\pm 0,001$			0,1	$\pm 0,01$
	1,24	±0,00	0,035	$\pm 0,007$	0,015	$\pm 0,001$			0,152	±0,007
	0,3	$\pm 0,00$	0,013	$\pm 0,003$	0,007	$\pm 0,002$			0,129	$\pm 0,000$
PR-1	0,15	±0,01 ±0.03	0,023	±0,007	0,000	$\pm 0,001$	0.084	+0 004	0,110	±0,003 ±0,006
PB-2	0,20	+0.02	0,032	$\pm 0,000$	0,007	$\pm 0,001$	0,004	+0.004	0,001	$\pm 0,000$ $\pm 0.002$
PB-3	49	+0.1	0,027	$\pm 0,007$	0,000	10,001	0,00	$\pm 0,000$	0,000	$\pm 0,002$ $\pm 0.02$
RN-1	0.21	$\pm 0, 1$	0.017	$\pm 0.004$	0.005	+0.001	0.023	$\pm 0.004$	0.29	+0.02
RN-2	1.37	$\pm 0.05$	0.027	$\pm 0.004$	0,005	$\pm 0.001$	0.027	$\pm 0.004$	0.04	±0.01
RN-3	2.9	±0.1	0.04	$\pm 0.006$	0.012	$\pm 0.001$	0,021	_0,00 1	0.05	±0.02
RN-4	1.73	$\pm 0.07$	0.02	$\pm 0.004$	0.004	±0.001			0.038	±0.005
CE-1	0,85	±0,04	-,	-,	0,001	±0,000	0,01	±0,001	0,044	±0,002
CE-2	-,	-,	0,021	±0,008	0,011	±0,001	-,	.,	0,016	±0,003
CE-3	0,22	±0,01	-	,	0,0014	±0,0002			0,04	±0,01
CE-4	0,32	±0,05	0,016	±0,005	0,009	±0,001			0,054	±0,005

Tabela 14 - Resultados da análise por FRX (Ca-Sr) em %, resultado da análise INAA (Fe-Ta) com o Fe em % e os outros elementos em mg kg<sup>-1</sup> e os resultados da análise GF AAS para o elemento Pb em mg kg<sup>-1</sup>. Os espaços em branco representam valores não determinados ou abaixo do limite de detecção.

										(cor	ntinuação)
	Lu	±σ	Ma	±σ	Mn	±σ	Na	±σ	Nd	±σ	
RS-1	0.0011	±0.0003	1497	±251	226	±6	2074	±27			
RS-2	0,0016	±0,0004	6644	±401	478	±7	2130	±31	1,1	±0,1	
RS-3			1409	±289	91	±9	5414	±63			
RS-4			2356	±652	162	±11	5259	±59			
RS-5			1257	±179	185	±15	5437	±53	1,9	±0,3	
RS-6					130	±11	5613	±63			
SC-1			638	±123	106	±9	11707	±129	1,3	±0,3	
SC-2			157	±17	161	±8	6877	±76	_		
SC-3	0,005	±0,001	8682	±404	610	±10	1710	<u>+22</u>	0	±0,2	
SC-4	0,0109	±0,0008	1931	±459	511	±10	1403	±21	0,5	±0,1	
PR-1	0,002	±0,0004	8882	±497	584	±10	3491	±41	0,3	±0,1	
PR-2			1386	±213	905	±19	19749	±204			
PR-3			1959	±213	116	±4	2452	±30			
PR-4	0,0038	±0,0003	2675	±290	1633	±25	3389	±39			
PR-5			1220	±151	155	±5	2472	±29	0,6	±0,1	
SP-1			784	±237	197	±7	2730	±31	1,2	±0,2	
SP-2					244	±6	2754	±33	0,9	±0,2	
SP-3			1403	±471	198	±12	2638	±34	0,8	±0,1	
SP-4			1968	±260	274	±8	3359	±42	1,1	±0,1	
SP-5			1619	±190	217	±6	2667	±33	1,3	±0,3	
SP-6			1293	±244	170	±4	3306	±42	0,8	±0,3	
SP-7			1556	±148	105	±6	2581	±31			
RJ-1			1698	±169	20	<u>+2</u>	4274	±47			
RJ-2			3725	±229	138	±6	3379	±39			
RJ-3			3514	±224	613	±22	4746	±59	0,4	±0,1	
RJ-4					71	±5	3197	±41			
ES-1			2301	±238	108	±5	3345	±38			
ES-2	0,002	±0,0005	13142	±577	239	±7	2273	±29	0,6	±0,1	
BA-1	0,0018	±0,0004	2562	±306	96	±4	3067	±36	0,4	±0,2	
BA-2			1270	±319	377	±14	4041	±49	0,4	±0,1	
BA-3			2225	±749	370	±17	3676	±46	0,6	±0,1	
BA-4			2338	±246	359	±10	4325	±48	0,5	±0,1	
BA-5			2362	±594	654	±13	4299	±52	0,7	±0,2	
SE-1			3581	±300	357	±9	8907	±96			
SE-2			4111	±356	259	±9	9417	±101			
SE-3			3501	±388	320	±8	13134	±145	4,2	±0,5	
AL-1	0,0009	±0,0003	3153	±344	55	±3	2929	±35	0,6	±0,1	
AL-2	0,0016	±0,0005	2323	±427	110	±6	2844	±34			
AL-3			2079	±295	27	±4	3090	±38			
PE-1			2493	±275	112	±13	4020	±48	0,6	±0,1	
PE-2			2793	±278	722	±24	4530	±53			
PE-3			2172	±488	579	±13	4478	±52			
PE-4			2523	±365	475	±14	4556	±56	0,4	±0,2	
PE-5			1482	±408	477	±14	3415	±39	0,8	±0,1	
PB-1			2360	±293	45	±5	3302	±38	0,2	±0,1	
PB-2	0,0034	±0,0006	3387	±360	36	±3	3094	±39	1,1	±0,1	
PB-3			2766	±299	56	±3	3042	±36	0,4	±0,1	
RN-1			4107	±325	380	±8	3492	±41	0,6	±0,1	
RN-2			3234	±318	26	±4	3311	±39	0,8	±0,1	
RN-3			2446	±553	304	±10	2927	±34	0,7	±0,1	
RN-4			1621	±280	135	±5	2460	±30	0,5	±0,1	
CE-1			3586	±315	222	±11	3327	±41			
CE-2			2251	±199	206	±8	2766	±33	• • •		
CE-3			3254	±345	264	±9	3258	±37	0,46	±0,03	
CE-4			4049	±382	225	±10	4444	±50			

Tabela 14 - Resultados da análise por FRX (Ca-Sr) em %, resultado da análise INAA (Fe-Ta) com o Fe em % e os outros elementos em mg kg<sup>-1</sup> e os resultados da análise GF AAS para o elemento Pb em mg kg<sup>-1</sup>. Os espaços em branco representam valores não determinados ou abaixo do limite de detecção.

-										(continuação
	Pb	±σ	Rb	±σ	Sb	±σ	Sc	±σ	Se	±σ
RS-1	0.41	±0.03					0.0081	±0.0003	0.03	±0.013
RS-2	1,47	±0,002					0,0175	±0,0003	0,04	±0,014
RS-3	1,1	±0,1					0,00078	±0,00004	0,08	±0,006
RS-4	1,05	±0,008					0,0016	±0,0001		
RS-5	1,3	±0,2					0,0021	±0,0002		
RS-6	0,68	±0,003					0,0034	±0,0004	0,13	±0,009
SC-1	0,39	±0,001					0,0033	±0,0006		
SC-2	0,36	$\pm 0,04$	~ ~	~ ~				0.004		
SC-3	2,02	±0,07	0,3	±0,3	0 00 <del>57</del>		0,036	±0,001	0.04	
SC-4	1,59	$\pm 0,04$	~ ~	~ 4	0,0257	$\pm 0,003$	0,0255	±0,0004	0,04	±0,002
PR-1	0,54	$\pm 0,007$	0,3	±0,1	0,02	±0,01	0,0304	±0,0005	0,1	±0,022
PR-2	0,48	±0,04	0,3	$\pm 0,1$			0,0028	$\pm 0,0003$	0,07	±0,013
PR-3	2	$\pm 0.3$	0,2	±0,1	0.004	. 0. 000	0,0056	$\pm 0,0002$	0,07	±0,012
PR-4	0,50	±0,00	۲,۷	±0,2	0,024	±0,008	0,0303	$\pm 0,0004$	0,04	±0,011
6D 4	0,04	±0,005					0,0130	$\pm 0,0000$	0.46	.0 111
SP-1	1,57	±0,00					0 0025	±0 0008	0,10	±0,111
SP-2	0,00	±0,003	05	±0 2			0,0023	$\pm 0,0008$	0 14	±0.081
SP-4	0,07	$\pm 0.02$ $\pm 0.04$	0,5	±0,2			0,0000	$\pm 0,0000$	0,14	$\pm 0,001$ $\pm 0.031$
SP_5	0,07	+0,04			0.02	+0 003	0,0025	10,0002	0,17	10,001
SP-6	0,53	$\pm 0,03$ $\pm 0.04$	11	+0.5	0,02	$\pm 0,003$	0 0014	+0 0005		
SP-7	0,04	±0,04	1,1	±0,0	0,02	±0,000	0,0014	$\pm 0,0000$		
R.J-1	0.52	+0.05					0,0027	$\pm 0,0001$		
RJ-2	0.73	$\pm 0,00$	17	+0 4			0,0025	$\pm 0,0007$	0.04	+0.039
RJ-3	1.8	+0.1	0.1	+0.1			0.0163	+0.0003	0.1	+0.018
RJ-4	0.72	±0.02	•, ·	_0,.			0.0023	$\pm 0.0003$	0.04	±0.010
ES-1	0.85	±0.04			0.04	±0.02	0.0094	±0.0008	0.07	±0.059
ES-2	1.8	±0,1	0.3	±0,1	- , -	- 1 -	0,0096	±0,0003	0.1	±0,025
BA-1	0,14	±0,003					0,0039	±0,0004		
BA-2	1,1	±0,05					0,0056	±0,0005		
BA-3	1,4	±0,2					0,0071	±0,0004		
BA-4	0,85	±0,08					0,0046	±0,0001	0,04	±0,016
BA-5	0,95	±0,008					0,0023	±0,0003		
SE-1	0,43	±0,02			0,05	±0,02	0,0013	±0,0005	0,18	±0,064
SE-2	0,24	±0,02			0,03	±0,02	0,0004	±0,0004	0,09	±0,073
SE-3	0,13	±0,008					0,003	±0,0003	0,15	±0,027
AL-1			0,5	±0,1			0,0039	±0,0002	0,1	±0,016
AL-2	0,43	±0,02					0,0027	±0,0003		
AL-3	0,26	$\pm 0.03$	07				0,0051	$\pm 0,0003$		
PE-1	0,5	$\pm 0,1$	0,7	±0,2			0,0057	±0,0002		
PE-2	0,49	±0,04					0.0100	. 0. 000F	0.40	.0.042
	0,02	±0,03	06	.0.2			0,0100	$\pm 0,0005$	0,10	$\pm 0,042$
	0,70	±0,00	0,0	±0,2			0,0010	$\pm 0,0004$	0,15	±0,041
PE-J	1,1	±0,2					0,0033	$\pm 0,0009$	0.05	+0.016
PB-2	2 21	±0,03					0,01	$\pm 0,0004$	0,03	$\pm 0.010$
PR-3	0.03	+0.04			0.03	+0.01	0,000	$\pm 0,0002$	0,11	10,020
RN-1	0,35	$\pm 0,01$			0,00	10,01	0,0033	$\pm 0,0003$ $\pm 0.0002$	0 1 1	+0 021
RN-2	2 61	$\pm 0.001$					0.0043	+0,0002	0.13	+0.025
RN-3	0.64	$\pm 0.06$	0.2	+0 1			0.0111	$\pm 0.0002$	0.12	+0.026
RN-4	0.46	$\pm 0.008$	0.4	$\pm 0.1$			0.0011	$\pm 0.0003$	0.1	±0.025
CE-1	1.1	±0.02	5.5	$\pm 0.4$			0.0055	±0,0002	0.09	±0.008
CE-2	1,03	±0.04	-,-	_2, .			0,0042	±0,0004	0.1	±0,036
CE-3	0,96	±0.04	0.3	±0,1			0,0019	±0,0001	0,06	±0,003
CE-4	1,17	±0,02	, -	,			0,0037	±0,0004	,	,

(continuação) Sm ±σ Та ±σ Tb ±σ Th ±σ U ±σ **RS-1** ±0.002 0.008 ±0.003 0.2 ±0.03 0.019 ±0,002 RS-2 0,041 0,46 ±0,03 RS-3 0,006 ±0,002 0,03 ±0,01 RS-4 **RS-5** 0,01 ±0,004 **RS-6** ±0,004 SC-1 0,0095 ±0,0042 0.019 SC-2 0,0005 ±0,0003 SC-3 0,82 ±0,12 ±0,002 SC-4 0,038 ±0,002 0,008 0,047 ±0,004 PR-1 0,029 ±0,002 0,002 ±0,001 0,019 ±0,003 0,18 ±0,04 PR-2 0,021 ±0,003 PR-3 0,005 ±0,001 0,011 ±0,002 0,009 ±0,002 0,051 PR-4 ±0,003 0,009 ±0,002 0,16 ±0,05 **PR-5** 0.01 ±0,002 0.009 ±0,002 SP-1 0,017 ±0,001 SP-2 0,024 0,025 ±0,008 ±0,001 SP-3 0,018 ±0,002 SP-4 0,023 ±0,001 0,006 ±0,002 SP-5 0,024 ±0,003 SP-6 0,008 ±0,002 SP-7 0,007 ±0,002 0.009 ±0.002 RJ-1 RJ-2 RJ-3 ±0,003 0,019 0,012 ±0,002 RJ-4 0,006 ±0,001 0,01 ±0,002 ES-1 0,01 ±0,002 0,013 ±0,006 0,0079 ±0,0043 0,018 ±0,005 ES-2 0,0071 ±0,0008 0,01 ±0,002 0,08 ±0,01 BA-1 0,0008 ±0,0004 BA-2 0,0089 ±0,0009 BA-3 0,0079 ±0,0006 BA-4 0,0016 ±0,0005 0,019 ±0,003 BA-5 SE-1 0,017 ±0,007 0.005 ±0,004 SE-2 0,03 ±0,01 SE-3 AL-1 0,017 ±0,002 AL-2 0,0045 ±0,0014 0.008 ±0,002 AL-3 PE-1 0,0083 ±0,0017 0,009 ±0,003 PE-2 0,0074 ±0,0020 PE-3 0,024 ±0,006 PE-4 0,068 ±0,010 PE-5 0,0186 ±0,0018 PB-1 0,0072 ±0,0021 0.037 ±0,003 PB-2 0,0029 ±0,0008 0.05 ±0.004 **PB-3** 0,019 ±0,002 RN-1 0,0196 ±0,0020 0,03 ±0,002 RN-2 0,0035 ±0,0012 0,01 ±0,003 RN-3 0,0126 ±0,0019 RN-4 CE-1 0,014 ±0,003 CE-2 0,025 ±0,004 ±0,02 0,11 CE-3 0,0028 ±0,0003 0,09 ±0,02 CE-4

Tabela 14 - Resultados da análise por FRX (Ca-Sr) em %, resultado da análise INAA (Fe-Ta) com o Fe em % e os outros elementos em mg kg<sup>-1</sup> e os resultados da análise GF AAS para o elemento Pb em mg kg<sup>-1</sup>. Os espaços em branco representam valores não determinados ou abaixo do limite de detecção.

Tabela 14 - Resultados da análise por FRX (Ca-Sr) em %, resultado da análise INAA (Fe-Ta) com o Fe em % e os outros elementos em mg kg-1 e os resultados da análise GF AAS para o elemento Pb em mg kg<sup>-1</sup>. Os espaços em branco representam valores não determinados ou abaixo do limite de detecção.

±σ

Zn

±σ

Zr

±σ

Yb

	10	ΞO	20	ΞO	2	ΞO
RS-1	0.006	±0.002			13	<u>+2</u>
RS-2	0,01	±0,003	1,1	±0,2	9	±1
RS-3	0.063	±0.019	0.6	±0.0	1.7	±0.2
RS-4	-,	-,	22	$+0^{\prime}1$	,	- ,
DQ_5	0.011	TU 003	1 8	±0,1		
	0,011	±0,003	0,70	$\pm 0, 1$		
R3-0			0,73	±0,03		
SC-1			0,3	±0,2		
SC-2			3,7	±0,5		
SC-3	0.05	±0.01				
SC-4	0.05	+0.006	25	+0.2	12	+3
DR-1	0,00	10,000	2,0	±0,2	12	-0
			2,1	10,2	4	.0.6
			2,5	±0,2	I	±0,0
PR-3			3,5	±0,2		
PR-4	0,027	±0,004	1	±0,1	4,4	±0,7
PR-5			2,7	±0,1		
SP-1			21	±1		
SP-2	0 021	+0 009	139	+0.9		
	0,021	±0,000	12.0	$\pm 0,3$	1	10
3F-3			13,9	±0,7	4	±2
5P-4			14,4	±0,6	2,5	±0,7
SP-5			9,8	±0,5		
SP-6			3,9	±0,4		
SP-7			5.3	±0,2		
RJ-1			25	$+0^{'}3$	7	+3
RJ-2			1 4	$\pm 0,0$	14	+4
	0 000	.0.002	54	10,7	17	<u>-</u>
RJ-J	0,009	±0,003	5,4	±0,3		
RJ-4			2	±0,2		
ES-1			1,8	±0,3		
ES-2			0,9	±0,1		
BA-1	0.11	$\pm 0.03$	2	±0.2	17	<u>+2</u>
BA-2	- 1	- ,	23	$+0^{1}$		
BA-3			22	<u>_0,1</u>		
			2,2	10,1	24	.00
DA-4			2,4	±0,1	3,4	±0,9
BA-5			2,4	±0,1	2,2	±0,7
SE-1						
SE-2	0,03	±0,01			9	±3
SE-3			13,6	±0,4	1,4	±0,7
AL-1			2.1	+0.2	2	+1
ΔΙ -2			37	+0.2	6	+1
			1 2	±0,2 ±0,1	10	 1
			1,2	±0,1	10	ΞI
PE-1			2,2	±0,1		
PE-2			3,1	±0,1		
PE-3			14,7	±0,5		
PE-4			5,4	±0,2		
PE-5			2	+0.1		
PR-1			46	+0.2		
	0.01	.0.002	2,0	10,2		
	0,01	±0,002	2,2	±0,1	<u>م</u> -	
rd-3	0,02	±0,003	3,ð	±U,Z	3,5	±0,9
RN-1	0,05	±0,01	3,8	±0,2	9	±1
RN-2			2,3	±0,1		
RN-3			0,9	±0.2		
RN-4			1.2	$\pm 0.2$	9	<u>+2</u>
CF-1			1.8	+0.1	-	
			20	±0,1 ±0.1		
			2,9 1 07			
0E-3			1,07	±0,04	o -	
CE-4			1,5	±0,1	2,5	±0,6

(conclusão)

# 5 DISCUSSÃO

Para análise dos resultados obtidos na difração de raios-X, apresentados na Figura 4.3, os difratogramas das amostras foram comparados aos difratogramas de referência e foi é possível verificar a inexistência de aragonita nas amostras de conchas carbonáticas. O difratogama da amostra do Espírito Santo (ES-2) apresentou uma leve inclinação à direita em relação ao difratograma de referência da calcita e coincidiu com a referência de calcita com 6% de Mg, que também apresentrou concentração alta desse elemento na INAA, ajudando a validar esse resultado, apresentando um comportamento amorfo em relação as outras amostras.

De acordo com Rahaman et al. (2013), a análise por XRD é uma ferramenta promissora para levantar informações sobre conchas de ostras, pois pode revelar informações sobre a formação e desenvolvimento dessa estrutura. A calcita apresenta benefícios para o organismo em relação a aragonita. Por exemplo, a calcita biogênica é secretada de forma econômica ocupando um volume maior por mol do que a aragonita, conchas formadas a partir da calcita também apresentaram uma taxa de crescimento três vezes maior em condições termodinâmicas iguais às formadas por aragonita (Lee et al, 2008).

Foi identificado também que a composição química da água marinha favorece a deposição da aragonita em relação à calcita, de acordo com esse conceito a formação da calcita acontece em um ambiente desfavorável e está relacionada à biologia animal (Rahaman et al, 2013). Essas estruturas minerais também se diferenciam na capacidade de absorção de certos elementos, um experimento realizado por Du et al. (2010) mostrou que ambas as fases minerais possuem uma capacidade de absorção similar para o elemento Zn, e diferente para os elementos Pb e Cd. Em relação ao íon Pb<sup>2+</sup>, a calcita apresentou uma capacidade de absorção maior do que a aragonita e o oposto foi observado para o elemento Cd<sup>2+</sup>.

Mesmo desfavorável quimicamente, todas as amostras analisadas apresentaram composição predominante de calcita, corroborando o observado de que essa estrutura apresenta vantagens para o organimo. Mais pesquisas nessa área, analisando a estrutura cristalina de conchas, pode ajudar a entender o mecanismo de absorção e formação dessas desse material, e também pode ajudar a indentificar se existe homogeneidade na estrutura cristalina das conchas do litoral brasileiro.

Os resultados das análises térmicas de matéria orgânica apresentaram uma variação de 0,1 a 8,6% em fração de massa, com uma média de 3,3%. Durante a formação da fase mineral, é formada uma matriz orgânica composta de b-quitina, proteínas parecidas com a seda, e glicoproteína ácida, rica em ácido aspártico (Kalisman et al, 2001), essa variação observada nos resultados pode ser derivado da presença de resíduos orgânicos provenientes dessa matriz residual ou de contaminação.

Os resultados de perda ao fogo seguiram a estequiometria do principal componente, o carbonato de cálcio, apresentando uma variação de 41% a 44%, com uma média de 42%, em fração de massa de carbonato. Para testar a eficiência dessas análises, foi feita a soma das concentrações de cálcio, matéria orgânica e carbonato, efetuando uma correção com o oxigênio proveniente do óxido de cálcio resídual após a análise de perda ao fogo. na Tabela 15 podem ser observados esses resultados e verifica-se que ficaram próximos de 100%, para mais de 95% das amostras. Esses resultados apresentaram valores satisfatórios e podem ajudar a validar a eficiência das metodologias aplicadas.

Amostra	%	Amostra	%	Amostra	%	Amostra	%
RSM-1	104	SPM-3	100	BAB-3	98	PBB-1	100
RSM-2	98	SPM-4	100	BAB-4	98	PBB-2	98
RSB-4	98	SPM-5	99	BAB-5	99	PBB-3	101
RSB-6	100	SPM-6	102	SEM-1	100	RNM-1	100
SCM-1	99	SPM-7	102	SEM-2	101	RNB-2	98
SCM-2	99	RJM-2	100	ALB-2	98	RNB-3	99
PRM-1	97	RJM-3	102	ALB-3	98	RNB-4	99
PRM-2	99	RJM-4	101	PEB-1	99	CEB-1	99
PRM-3	99	ESM-1	100	PEM-2	100	CEB-2	100
PRM-4	101	ESM-2	98	PEM-3	100	CEB-3	97
SPM-1	100	BAM-1	99	PEM-4	99	CEB-4	100
SPM-2	98	BAB-2	99	PEM-5	99		

Tabela 15 - Resultado em fração de massa (%) da soma dos resultados das concentrações de cálcio, matéria orgânica e perda ao fogo, corrigidos com o oxigênio.

Na Tabela 16 é apresentada uma análise descritiva com os resultados de todos os elementos analisados, considerando todas as amostras; são apresentandos o número de amostras (N), a média aritmética simples, a mediana, o mínimo, o máximo, o desvio padrão relativo (DP), o erro relativo (ER), a obliquidade e a curtose.

Tabela 16 - Análise descritiva dos resultados obtidos para cada elemento apresentando o número de amostras (N), a Média, a mediana, o menor valor, o maior valor, o desvio padrão (DP), o erro relativo (ER), a obliguidade e a curtose.

Elemento	Ν	Média	Mínimo	Máximo	DPR	EP	Obliquidade	Curtose
As	3	0,2	0,1	0,3	58	0,06	1	
Ва	27	5	1	26	112	1	3	8
Br	48	8	1	35	82	1	2	8
Ca (%)	51	38	36	40	2	0,1	-1	0,2
Ce	26	0,30	0,02	0,77	79	0,05	1	-1
CI (%)	50	0,14	0,01	0,63	103	0,02	2	2
Со	50	0,082	0,006	0,299	79	0,01	2	3
Cr	44	0,72	0,07	3,30	114	0,1	2	2
Cs	41	0,024	0,006	0,046	40	0,001	0,2	-0,1
Eu	44	0,0076	0,0009	0,0180	52	0,001	1	0,2
Fe (%)	37	0,0029	0,0004	0,0097	83	0,0004	2	2
Hf	19	0,026	0,003	0,092	110	0,007	2	2
La	44	0,120	0,005	0,383	78	0,01	1	0,3
Lu	11	0,003	0,001	0,011	93	0,001	2	5
Mg	47	2785	784	8882	59	241	2	6
Mn	50	28	3	91	74	3	1	1
Na	50	3830	1403	13134	52	282	3	10
Nd	31	0,79	0,05	4,22	93	0,1	4	16
P (%)	50	0,033	0,008	0,053	33	0,002	-0,3	-0,1
Pb	49	0,9	0,1	2,6	62	0,1	1	1
Rb	17	0,8	0,1	5,5	153	0,3	3	13
S (%)	50	0,14	0,07	0,24	33	0,006	1	-1
Sb	9	0,03	0,02	0,05	36	0,003	1	1
Sc	47	0,0068	0,0004	0,0304	106	0,001	2	4
Se	33	0,10	0,03	0,18	46	0,008	0,3	-1
Si (%)	50	0,017	0,005	0,050	63	0,002	1	2
Sm	29	0,016	0,001	0,051	77	0,002	1	1
Sr (%)	51	0,04	0,03	0,05	10	0,001	0,3	0,3
Та	8	0,017	0,005	0,055	100	0,006	2	4
Tb	9	0,017	0,002	0,068	126	0,007	2	5
Th	20	0,017	0,003	0,050	66	0,003	2	3
U	11	0,20	0,01	0,82	120	0,07	2	4
Yb	14	0,033	0,006	0,109	86	0,01	1	3
Zn	46	4	1	15	103	0,6	2	3
Zr	21	7	1	17	73	1	1	-1

Entre os elementos determinados, os valores de DPR ficaram abaixo de 10% para os elementos Ca e Sr, entre 10 e 50% para os elementos Cs, P, S, Sb, Se, entre 50 e 100% para os elementos As, Br, Ce, Co, Eu, Fe, La, Lu, Mg, Mn, Na, Nd, Pb, Si, Sm, Ta, Th, Yb, Zr e acima de 100% para os elementos Ba, Cl, Cr, Hf, Rb, Sc, Tb, U, Zn. Essa variação ajuda a determinar a homonegeidade e dispersão dos resultados, podendo-se ser observado boa homegeneidade para os elementos Ca e Sr, ambos pertencentes à mesma família química e apresentam comportamento similar com o Sr substituindo átomos de Ca na estrutura cristalina da concha. Não metais e semi-metais das famílias 15 e 16 e o Cs apresentaram valores de DPR entre 10 e 50%, o S e o P são observados químicamente em ambientes marinhos na formação de fosfatos e sulfetos. Os elementos terras raras Ce, Eu, La, Lu, Nd e Sm apresentaram valores de DPR entre 50 e 100%. Esses valores de dispersão nos resultados para os elementos Eu e La, que foram determinados em mais de 80% de resultados válidos, indicando que estes podem ser utilizados para o objetivo do trabalho. Não é aparente nenhum tipo de relação entre os elementos que apresentaram valores de DPR maiores que 100%. Elementos com poucos resultados válidos apresentaram variação acima de 110%.

Os resultados de obliquidade fornecem detalhes sobre a distribuição da curva de resultados e apresentaram valores negativos apenas para os elementos Ca e P, o resultado para o Ca (-1) indica que a curva de distribuição desse elemento apresenta uma leve tendência para a esquerda, devido a uma quantidade maior de resultados com valores abaixo da média. Os resultados de obliquidade para os elementos CI, S, Si, Sr, Fe, Br, Co, Cr, Cs, Eu, La, Mg, Mn, Na, Pb, Sc, Zn apresentaram valores positivos, uma assimetria na curva, que indica uma distribuição maior de resultados acima da média. Valores mas próximos de zero, encontrados para os elementos Cs, Sr e Se, indicam uma boa homogeneidade nos resultados. O maior valor foi observdo para o elemento Nd (4), o que indica uma assimetria na curva de resultados, com desvio para a direita com resultados em maior quantidade acima da média e maior heterogeneidade.

Os resultados apresentados de curtose indicam como o pico e as caudas de uma curva de distribuição diferem de uma distribuição normal, os elementos Ca, Ce, S, Se e Zr apresentaram resultados negativos. Esses resultados indicam uma maior distribuição dos resultados pela curva. Os

elementos As, Ba, Br, Ca, Cl, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, La, Lu, Mg, Mn, Na, Nd, P, Pb, Rb, Sb, Sc, Si, Sm, Sr, Ta, Tb, Th, U, Yb, Zn, apresentaram valores de curtose positivo, variando de 0,1 do Ce, o que indica pouca assimetria até 16 do Nd, indicando que a curva de distribuição desse elemento possui uma concentração de resultados mais dispersos em relação média.

Na Figura 12 são apresentadas as médias dos resultados obtidos em função do estado em que foi realizada a coleta, para os elementos As, Ba, Br, Ca, Ce, Cl, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, La, Lu, Mg, Mn, Na, Nd, P, Pb, Rb, S, Sb, Se, Sc, Si, Sm, Sr, Ta, Tb, Th U, Yb, Zn e Zr separados por suas respectivas ordens de grandezas. Os resultados para o elemento Ca apresentaram uma variação de 35,7 a 39,5% de fração de massa na composição das conchas, com uma média de 38,2%. Embora constituída basicamente de carbonato de cálcio, a concentração média desse elemento em amostras de bilvalves é da ordem de 37,9% (Onuma et al., 1979), em concordância com os valores encontrados nesse estudo.

De acordo com o gráfico pode ser observado que o Ca apresentou médias homogêneas em todos os estados.

Figura 12 - Médias das concentrações dos elementos As, Ba, Br, Ca, Ce, Cl, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, La, Lu, Mg, Mn, Na, Nd, P, Pb, Rb, S, Sb, Se, Sc, Si, Sm, Sr, Ta, Tb, Th U, Yb, Zn e Zr organizados por estado de coleta.



Figura 12 - Médias das concentrações dos elementos As, Ba, Br, Ca, Ce, Cl, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, La, Lu, Mg, Mn, Na, Nd, P, Pb, Rb, S, Sb, Se, Sc, Si, Sm, Sr, Ta, Tb, Th U, Yb, Zn e Zr organizados por estado de coleta.



Fonte: autor da dissertação.

O elemento Mn apresentou uma variação de 3 a 91 mg kg<sup>-1</sup>, com uma média de 28 mg kg<sup>-1</sup>, os maiores resultados podem ser observados nos estados de SC e PR com uma queda na região sudeste que mantém-se estável a até a região nordeste, apresentando um pico com valor alto apenas no estado da PB.

O elemento Ba apresentou uma variação de 1 a 21 mg kg<sup>-1</sup>, com uma média de 5 mg kg<sup>-1</sup>. Este elemento não foi determinado na amostras do estado da BA, mas é possível observar um pico de aumento nos estados de PE e CE. Lartaud e tal. (2005) determinaram uma concentração de bário variando de 1 a 3 mg kg<sup>-1</sup> em amostras de conchas de ostras da região Antartica. Nas mesmas amostras, estes autores determinaram concentrações de Co variando de 0,5 a 2 mg kg<sup>-1</sup>, sendo este valor superior ao encontrados nas amostras desse trabalho.

O elemento Br apresentou uma variação de 1 a 35 mg kg<sup>-1</sup>, com uma média de 8 mg kg<sup>-1</sup>. Na figura é possível visualizar um pico nas amostras do estado de SE.

O Zn apresentou uma variação de 1 a 15 mg kg<sup>-1</sup>, com uma média de 4 mg kg<sup>-1</sup>, sendo que os resultados são relativamente constantes apresentando picos nos estados de SP e SE.

O elemento Zr apresentou uma variação de 1 a 17 mg kg<sup>-1</sup>, com uma média de 7 mg kg<sup>-1</sup>, não foram determinados os resultados nos estados do ES e PE, e pode ser observado um pico no estado do RJ.

As conchas apresentaram concentrações de Cr que variaram de 0,07 a 3,3 mg kg<sup>-1</sup>, com uma média de 0,72 mg kg<sup>-1</sup>, podem ser observados picos nos estados do SE e RN.

A concentração de Fe variou de 0,0004 a 0,0097%, com média de 0,0029% e a concentração de Co variou de 0,006 a 0,299 mg kg<sup>-1</sup>, com média de 0,082 mg kg<sup>-1</sup>. Para ambos os elementos, verifica-se que não houve pontos de picos em relação às regiões estudadas. Pavlov et al. (2017) determinaram concentrações de 0,03% e 0,2 mk kg<sup>-1</sup> para Fe e Co, respectivamente, em amostras de *Crassostrea gigas* do Pacífico. Piwoni-Piórewicz et al. (2017) determinou concentrações médias de 0,02%, com variação de 0,001 a 0,102% para Fe e média de 0,182 mg kg<sup>-1</sup>, com variação de 0,064 a 1,085 mg kg<sup>-1</sup> para Co em amostras de conchas de ostras da espécie *Mytilus trossulus*, do mar Baltico. Para os dois elementos considerados, as concentrações reportadas são maiores que as determinadas neste estudo. Além da diferença entre as espécies,

certamente a diferença de ambiente também deve contribuir para a diferença nos valores observados.

As concentrações de CI apresentaram uma variação de 0,005 a 1% com uma média de 0,16%. Os respectivos DP e ER do CI, apresentaram respectivamente, os valores 0,2 e 0,02.

O elemento P apresentou variação de 0,008 a 0,09% com uma média de 0,035%. A maior concentração desse elemento foi observada no estado de SE e a menor no estado do ES. Martins et al (2017) concluiram que resíduos de conchas de ostras podem absorver P em uma boa proporção, sugerindo até em utiliza-las para a remoção de P de efluentes contaminados.

Os resultados de Pb apresentaram variação de 0,039 a 2,61 mg kg<sup>-1</sup> com uma média de 0,886 mg kg<sup>-1</sup>. Pearce e Mann (2006) analisaram conchas de *Ensis Siliqua* uma espécie de bivalve que apresentou valores que variaram de 3,06 a 32,2 mg kg<sup>-1</sup>. Neste estudo, as amostra que apresentaram concentrações maiores vieram de locais contaminados com Pb, uma mina de metal e rejeitos de esgoto, as amostras análisadas nesse tratalho apresentaram aboixo abaixo dos reportados. O Pb difere de elementos como o Zn e o Cd que se mantém relativamente solúvel em águas do mar como Zn<sup>2+</sup> e Cd<sup>2+</sup>, enquanto o Pb dissolvido forma carbonatos e sulfatos insolúveis em ambientes marinhos e não são transportados por grandes distâncias, exceto como material particulado (Pearce e Mann, 2006) o que torna o elemento um bom marcador de poluição.

O elemento Sr é geralmente encontrado em maiores concentrações em conchas de aragonita do que em conchas de calcita e a variação de concentrações encontradas em ambos os tipos de cabonato de cálcio são similares: de 950 a 3500 mg kg<sup>-1</sup> (Cravo et al, 2002). Os resultados de Sr apresentaram variação de 0,032 a 0,05% com uma média de 0,04%. É sugerido que variações na concentração de Sr em bivalves possam refletir fatores como salinidade, temperatura e o controle metabólico (Lorens e Bender,1980), no entanto, Wanamaker e Gillikin (2018) não encontraram correlações entre a razão Sr/Ca e os parâmetros citados em um estudo com temperatura controlada.

Em geral, conchas de aragonita possuem concentrações baixas de magnésio que podem variar de 100 a 450 mg kg<sup>-1</sup>, conchas de calcita exibem concentrações maiores de Mg, mas raramente excedendo 3000 mg kg<sup>-1</sup>, alguns excessos já foram encontrados em algumas espécies, como o reportado em

conchas de *Patella vulgata* com uma concentração média de 3621 mg kg<sup>-1</sup>, a média reportada em conchas de *Patella aspera* foi de 4651 mg kg<sup>-1</sup> (n=75) o que representa um enriquecimento considerável em relação as conchas de *P. vulgata* (Cravo et al 2002). A média do elemento Mg para as amostras analisadas foi de 2840 mg kg<sup>-1</sup>, resultado que condiz com os valores informados como referência. Klein et al. (1996) sugeriu que o teor de Mg nas conchas de bivalves apresenta uma correlação positiva com a temperatura. Nas presentes amostras pode-se notar uma ligeira tendência de aumento na concentração desse elementos a medida que as amostras variam da região sul, de água mais frias, para a região nordeste, de água mais quentes (Figura 13). A razão Mg/Ca foi proposta como um indicador de temperatura da água do mar (Lazareth et al., 2003), entretanto outros estudo indicam que a incorporação desse elemento depende, de fato, de vários fatores, tais como taxa de crescimento da concha, estrutura cristalina e matéria orgânica (Tanaka et al., 2019). Lazareth et al. (2003) também indicam que a razão Mg/Ca aumenta com o seu aumento na água do mar.



Figura 13 - Variação da concentração de Mg nas amostras analisadas em função do local de coleta.

Fonte: autor da dissertação.

Entre os elementos terras raras, apenas o La e Eu foram determinado em um número de amostras maior que 70% do total. Para estes elementos as concentrações médias foram de 0,12 e 0,0076 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Amostras de conchas de *Crassostrea gigas* apresentaram concentrações médias de 0,6 mg kg<sup>-1</sup> para o La e de 0,009 mg kg<sup>-1</sup> para o Eu (Pavlov et al., 2015). A concentração de La em conchas de *Corbicula flumínea*, de quatro diferentes regiões teve média inferior a 0,1 mg kg<sup>-1</sup>, segundo Zhao e Liu (2018). Estes autores também demostraram que o teor de La, na concha, aumenta a medida que aumenta a concentração de lantânio em solução. Esse fato pode ser explicado pela similaridade dos raios iônicos dos íons Ca<sup>2+</sup> e La<sup>3+</sup> (114 e 117,2 pm, respectivamente).

# 5.1 Análises estatísticas dos dados brutos

Os resultados encontrados que foram determinados em mais de 70% das amostras, indicados na Tabela 5.2, foram utilizados para análises estatísticas multivariadas.

Na Tabela 17 são mostrados os coeficientes de correlação de Pearson para os dados brutos, sem qualquer normalização. Entre os elementos com comportamento químico semelhante ao Ca, apenas o Mg apresentou correlação significativa com ele, sendo negativa, indicando a competição entre os íons desses elementos. Além do Mg correlações significativas negativas com o cálcio também são observadas para com os elementos Na, Si e S. O chumbo e estrôncio, não apresentaram correlação nem com o Ca, nem entre Si. O Sr é geralmente referido como o elemento análogo ao cálcio de maior interesse no estudo de conchas de moluscos e a razão Sr/Ca, usada como um indicador da temperatura da água marinha (Marali et al., 2017; Geeza et al., 2018). Similarmente a razão Mn/Ca é utilizada como indicadora de processos redox, em função da disponibilidade do íon Mn<sup>2+</sup> (Zhao et al., 2017). No entanto, nunhuma correlação foi encontrada também entre o Ca e Mn. O P apresentou correlações significaivas positivas com Na, Br e Cl podendo indica uma correlação entre salinidade e produtividade primária (Van der Molen e Perissinotto, 2011). Nesta análise, poucas correlações foram observadas entre os elementos metálicos entre si ou com o cálcio.

Para verificar quais elementos mais contribuem com a variabilidade observada nos dados brutos, foi aplicado o teste de Análise de Fatores, empregando rotação Viramax normalizada e fator de carregamento maior do que 0,7. Os Fatores encontrados são mostrados na Tabela 18 e as porcentagens de contribuição de cada fator são mostrados na Tabela 19. Foram extraídos 5 fatores, que contribuem para 62,45% da variância explicada, sendo o primeiro fator composto pelos elementos Mg, Si e S. Elementos que apresentam boa correlação com o Ca. O Fator 3 é composto pelos elementos P, Br e Cl, elementos possivelmente relacionados à salinidade e produção primária. O Fator 3 pelo manganês, possivelmente, indicador redox do ambiente e os Fatores 4 e 5 são composto pelos metais La, Zn e Fe.

Na Figura 14 é mostrado o gráfico para carregamentos dos Fatores 1 e 2, evidenciando as correlações negativas entre o Ca e os elementos que compõem esses fatores.

	Ca	Br	Со	Cr	Cs	Eu	La	Sc	Zn	Mg	Mn	Na	Pb	Si	Р	S	CI	Fe	Sr
Са	1,00																		
Br	-0,09	1,00																	
Со	0,04	0,05	1,00																
Cr	0,06	0,29	0,01	1,00															
Cs	-0,15	-0,04	0,21	-0,04	1,00														
Eu	-0,02	-0,03	0,40	0,01	-0,02	1,00													
La	0,08	0,12	0,31	-0,01	-0,24	0,28	1,00												
Sc	-0,18	-0,03	0,22	0,16	-0,10	0,40	0,27	1,00											
Zn	0,06	0,19	0,37	-0,01	-0,11	0,11	0,67	-0,05	1,00										
Mg	-0,48	0,06	0,01	0,17	0,04	0,17	-0,05	0,47	-0,19	1,00									
Mn	-0,15	0,09	0,00	0,01	-0,28	0,21	0,29	0,56	0,01	0,18	1,00								
Na	-0,27	0,38	-0,16	0,11	0,07	-0,25	-0,07	-0,27	0,01	-0,15	0,21	1,00							
Pb	0,12	-0,24	0,02	0,11	-0,10	-0,07	-0,11	0,23	-0,05	0,31	-0,03	-0,32	1,00						
Si	-0,38	-0,01	-0,02	-0,01	0,26	0,11	-0,24	0,20	-0,25	0,62	-0,13	-0,07	0,34	1,00					
Ρ	-0,09	0,66	-0,06	0,15	-0,05	-0,29	0,09	-0,29	0,34	-0,23	-0,16	0,44	-0,30	-0,25	1,00				
S	-0,40	-0,02	-0,03	0,14	0,23	-0,20	-0,28	0,08	-0,29	0,56	-0,23	-0,08	0,20	0,68	-0,19	1,00			
CI	-0,16	0,82	-0,03	0,11	-0,05	-0,25	0,04	-0,09	0,13	0,02	0,04	0,51	-0,21	-0,10	0,75	0,05	1,00		
Fe	0,09	0,17	0,06	0,19	0,13	0,05	-0,13	0,23	-0,18	0,14	0,00	-0,16	-0,13	0,15	-0,09	0,23	0,01	1,00	
Sr	0,20	-0,15	-0,01	-0,10	0,22	-0,09	-0,11	-0,21	0,19	-0,11	-0,30	-0,28	0,13	0,02	0,10	-0,01	-0,23	-0,04	1,00

Tabela 17 - Coeficientes de correlação de Pearson obtidos para os dados brutos.

Elemento	Fator 1	Fator 2	Fator 3	Fator 4	Fator 5
Ca	-0,643	0,255	-0,291	0,022	0,356
Br	0,030	-0,737	0,100	0,136	0,357
Со	0,068	0,106	-0,044	0,691	0,164
Cr	0,074	-0,261	0,033	-0,007	0,596
Cs	0,286	0,058	-0,342	0,038	0,072
Eu	0,020	0,352	0,407	0,387	0,155
La	-0,184	-0,071	0,243	0,752	-0,122
Sc	0,315	0,257	0,610	0,309	0,296
Zn	-0,187	-0,223	-0,154	0,805	-0,185
Mg	0,821	0,058	0,263	0,049	0,126
Mn	-0,056	-0,001	0,821	0,107	-0,053
Na	-0,047	-0,685	0,212	-0,228	-0,264
Pb	0,361	0,321	-0,183	0,015	0,032
Si	0,851	0,134	-0,075	-0,091	0,053
Р	-0,173	-0,849	-0,222	0,122	-0,025
S	0,809	-0,005	-0,182	-0,205	0,146
CI	0,049	-0,880	0,060	0,021	0,066
Fe	0,086	0,054	0,059	-0,086	0,776
Sr	-0,026	0,187	-0,663	0,172	-0,026

Tabela 18 - Fatores de carregamento que explicam a variância dos dados brutos.

Tabela 19 - Porcentage	n de variância	explicada	por fator.
-			

Fator	Var. explicada (%)	Var. acumulada (%)
F1	18,22	18,22
F2	14,69	32,91
F3	13,24	46,15
F4	8,91	55,07
F5	7,38	62,45



Figura 14 - Gráfico dos fatores de carregamento 1 e 2 para os dados brutos.

Na Figura 15 é mostrado o resultado obtido para a análise de agrupamento para os dados brutos. Verifica-se que a um corte em 60% de similaridade obtêm-se 5 grupos com baixa similaridade entre si. Neste caso não pode ser percebida uma boa similaridade entre as amostras em função da região de coleta, nem em função da espécie.

Fonte: autor da dissertação.





# 5.2 Análises estatísticas dos dados normalizados pelo cálcio

Em geral, o comportamento dos elementos, nas conchas de ostras, são avaliados como a razão elemento/Ca (Takesue et al., 2008; Mouchi et al., 2017; Cariou et al., 2017; Zhao et al., 2019). Os coeficientes de correlação obtidos para estas razões são mostrados na Tabela 20. Observa-se que os resultados foram bastante similares aos obtidos para os dados brutos após serem normalizados em função da concentração de Ca.

Na Figura 16, Figura 17 e Figura 18 são mostradas graficamente as correlações obtidas entre as concentrações normalizadas pelo Ca com esse elemento. Nestas figuras também são mostrados os valores de p para significância da correlação. De modo a obter valores com ordens de grandezas semelhantes os valores das razões entre Br, Cr, Zn e Pb com o Ca foram multiplicadas por 100, do Co, La, S e Cl, por 1000 e do Cs, Eu, Sc, Si, P, Fe e Sr, por 10000. Os valores das razões entre os elementos Mg, Mn e Na com o Ca foram mantidos.

A variabilidade das concentrações normalizadas pelo Ca foi determinada pelo teste de Análise de Fatores, empregando rotação Viramax normalizada e fator de carregamento maior do que 0,7. Os Fatores encontrados
são mostrados na Tabela 21 e as porcentagens de contribuição de cada fator são mostrados na Tabela 22.

A variância explicada pelos cinco fatores extraídos é responsável por 63,11% da variabilidade dos dados, sendo o P e Cl, no Fator 1 e Mn, Si e S, no Fator 2, os que mais contribuem para as diferenças observadas.

Esses resultados são muito semelhantes ao observado para a análise dos dados brutos, indicando que a simples normalização das concentrações dos elementos pela concentração do cálcio não afeta significativamente a variabilidade dos dados.

5.511	Ca	Br	Со	Cr	Cs	Eu	La	Sc	Zn	Mg	Mn	Na	Pb	Si	Р	S	CI	Fe	Sr
Са	1,00																		
Br	0,05	1,00																	
Со	-0,12	0,18	1,00																
Cr	0,25	0,40	0,21	1,00															
Cs	-0,38	-0,36	-0,17	0,08	1,00														
Eu	-0,29	0,01	0,36	0,01	0,24	1,00													
La	0,12	0,51	0,46	0,04	-0,49	0,16	1,00												
Sc	-0,25	0,05	0,36	0,15	0,14	0,69	0,29	1,00											
Zn	-0,01	0,50	0,45	0,04	-0,16	0,28	0,59	0,01	1,00										
Mg	-0,68	0,04	-0,05	0,01	0,24	0,23	-0,03	0,33	-0,15	1,00									
Mn	-0,06	0,12	-0,11	-0,02	-0,13	0,23	0,36	0,54	-0,01	-0,03	1,00								
Na	-0,16	-0,08	-0,25	-0,02	0,11	-0,26	-0,02	-0,22	0,00	-0,17	0,34	1,00							
Pb	-0,05	-0,35	0,00	0,17	0,12	-0,04	-0,25	-0,11	-0,20	0,20	-0,36	-0,25	1,00						
Si	-0,59	-0,28	-0,03	-0,03	0,46	0,12	-0,23	0,20	-0,22	0,83	-0,25	-0,17	0,51	1,00					
Ρ	0,23	0,63	-0,04	0,05	-0,33	-0,07	0,26	-0,21	0,43	-0,23	-0,25	-0,16	-0,24	-0,46	1,00				
S	-0,53	-0,12	0,04	0,02	0,24	-0,22	-0,27	-0,03	-0,22	0,70	-0,33	-0,19	0,36	0,81	-0,40	1,00			
CI	0,10	0,70	-0,03	-0,02	-0,58	-0,19	0,45	-0,08	0,09	-0,04	0,17	-0,05	-0,19	-0,31	0,53	-0,18	1,00		
Fe	0,07	0,31	0,16	0,22	-0,01	-0,03	0,06	0,31	0,03	0,09	-0,01	-0,13	-0,23	0,14	0,09	0,19	0,09	1,00	
Sr	-0,04	-0,10	-0,05	-0,21	0,18	0,04	-0,17	-0,17	0,15	0,05	-0,38	-0,27	0,19	0,11	0,25	0,16	-0,29	-0,08	1,00

Tabela 20 - Coeficientes de correlação de Pearson obtidos para os dados normalizados pela concentração de cálcio. Cada elemento representa a razão elemento/Ca, exceto para o próprio cálcio.

Fonte: autor da dissertação.

Figura 16 - Regreção linear obtida entre a razão elemento/Ca e a concentração de cálcio (Co, Cr, Cs, Eu, La, Sc, Pb, Si, P, S, Fe e Sr) nas amostras de conchas, mostrando o coeficiente de correlação e a significância.



Fonte: autor da dissertação.

Figura 17 - Regreção linear obtida entre a razão elemento/Ca e a concentração de cálcio (Zn, Mn e Cl) nas amostras de conchas, mostrando o coeficiente de correlação e a significância.



Concentração elementar em função da concentração de cálcio

Fonte: autor da dissertação.



Figura 18 - Regreção linear obtida entre a razão elemento/Ca e a concentração de cálcio (Br, Mg e Na) nas amostras de conchas, mostrando o coeficiente de correlação e a significância.

Fonte: autor da dissertação.

Tabela 21 - Fatores de carregamento que explicam a variância dos dados brutos.

	Fator 1	Fator 2	Fator 3	Fator 4	Fator 5
Ca	-0,229	-0,690	0,144	0,039	0,064
Br	0,668	0,018	-0,112	0,130	0,391
Co	-0,075	-0,004	0,145	0,674	0,200
Cr	0,238	0,040	-0,055	0,038	0,536
Cs	-0,169	0,180	0,508	0,010	0,287
Eu	-0,298	0,072	-0,238	0,544	0,139
La	0,164	-0,153	-0,256	0,713	-0,184
Sc	-0,252	0,410	-0,506	0,473	0,193
Se	0,658	0,008	0,255	0,325	-0,281
Zn	0,447	-0,179	0,156	0,691	-0,257
Mg	0,027	0,893	-0,147	0,092	0,160
Mn	0,045	0,078	-0,829	0,175	-0,011
Na	0,614	-0,033	-0,275	-0,351	-0,009
Pb	-0,279	0,426	0,082	0,033	-0,244
Si	-0,189	0,833	0,178	-0,052	0,101
Ρ	0,873	-0,166	0,160	0,005	-0,011
S	-0,068	0,784	0,238	-0,203	0,195
CI	0,827	0,044	-0,153	-0,087	0,131
Fe	-0,084	0,103	0,022	0,009	0,806
Sr	0,052	0,090	0,719	0,106	-0,213

Fonte: autor da dissertação.

	Variância explicada	Variância acumulada
<b>F</b> 1	19,18	19,18
F2	14,18	33,36
F3	12,70	46,07
F4	10,07	56,14
F5	6,97	63,11

Tabela 22 - Porcentaem de variância explicada por fator.

Fonte: autor da dissertação.

O dendrograma obtido pela análise de agrupamento para os dados normalizados pelo Ca é mostrado na Figura 19. Assim como verificado para os dados brutos, um corte em 60% de similaridade resulta em 5 grupos com baixa similaridade entre si. Neste caso não pode ser percebida uma boa similaridade entre as amostras em função da região de coleta, nem em função da espécie.





Fonte: autor da dissertação.

### 5.3 Análises estatísticas dos dados normalizados pelo FE

O Fator de acumulação é geralmente empregado para avaliação da contribuição antropogênica do ambiente (Feng et al., 2011). Ele leva em consideração a concentração de um elemento com relação a um elemento de referência. Este elemento de referência deve ser particularmente estável, caracterizado pela baixa mobilidade longitudinal no ambiente e não sofrer influência de contribuição antrópica (Barbieri, 2016, Bern et al., 2019). O FE foi calculado de acordo com a Equação 5, utilizando o La como elemento de referência.

O FE foi empregado neste trabalho com o objetivo de minimizar as variações decorrentes de controle biológico do animal e enfatizar o comportamento químico dos elementos no ambiente.

A matriz de correlação para as concentrações dos elementos determinados normalizadas pelo FE são apresentadas na Tabela 23.

Para discussão desses resultados utilizou-se o seguinte critério para a avaliação das correlações, adotada por Chan (2003): nunhuma (0), pobre (0,1 a 0,2), fraca (0,3 a 0,5), moderada (0,6 e 0,7), forte (0,8 e 0,9) e perfeita (1,0), valendo o mesmo para os recíprocos.

Verifica-se por essa normalização que podem ser observadas correlações positivas significativas entre o Ca e todos os elementos considerados, sendo essas correlações fracas com Br, Cr e Mn, com destaque para a correlação perfeita com o Sr (1,00) e correlação forte com os demais elementos. Correlações fortes também são observadas para os outros elementos entre si.

O Br não apresentou correlação significativa com Sc, Pb e Si; apresentou correlação moderada com Na, P e Cl e fraca com os demais elementos. O Mn não apresentou correlação com os elementos Co, Cr, Cs, Zn, Pb, Si e Cl e apresentou correlação fraca com os demais elementos. Embora fraca, o maior valor de correlação apresentado pelo Mn foi com o Eu, outro elemento também influenciado pelas condições redox do ambiente.

	Са	Br	Со	Cr	Cs	Eu	Sc	Zn	Mg	Mn	Na	Pb	Si	Р	S	CI	Fe	Sr
Ca	1,00																	
Br	<mark>0,50</mark>	1,00																
Со	0,92	<mark>0,33</mark>	1,00															
Cr	<mark>0,55</mark>	<mark>0,58</mark>	<mark>0,50</mark>	1,00														
Cs	0,97	<mark>0,45</mark>	0,94	<mark>0,52</mark>	1,00													
Eu	0,95	<mark>0,40</mark>	0,91	<mark>0,62</mark>	0,95	1,00												
Sc	0,93	0,08	0,93	<mark>0,47</mark>	0,94	0,89	1,00											
Zn	0,89	<mark>0,34</mark>	0,87	<mark>0,52</mark>	0,86	0,91	0,83	1,00										
Mg	0,92	<mark>0,37</mark>	0,87	<mark>0,49</mark>	0,93	0,88	0,92	<mark>0,78</mark>	1,00									
Mn	<mark>0,38</mark>	<mark>0,32</mark>	0,25	0,21	0,31	<mark>0,44</mark>	<mark>0,31</mark>	0,27	<mark>0,35</mark>	1,00								
Na	0,94	0,71	0,84	<mark>0,56</mark>	0,91	0,87	0,84	0,83	0,86	<mark>0,42</mark>	1,00							
Pb	0,97	0,24	0,91	<mark>0,48</mark>	0,96	0,91	0,95	0,91	0,94	0,27	0,90	1,00						
Si	0,89	0,30	0,86	<mark>0,45</mark>	0,91	0,84	0,90	0,74	0,96	0,27	0,83	0,90	1,00					
Ρ	0,99	<mark>0,64</mark>	0,91	<mark>0,55</mark>	0,96	0,94	0,92	0,88	0,90	<mark>0,34</mark>	0,95	0,97	0,86	1,00				
S	0,97	<mark>0,44</mark>	0,92	<mark>0,52</mark>	0,96	0,92	0,91	0,83	0,95	<mark>0,34</mark>	0,89	0,94	0,95	0,94	1,00			
CI	0,92	0,77	0,85	<mark>0,50</mark>	0,91	0,84	0,89	0,82	0,88	0,24	0,91	0,95	0,82	0,95	0,86	1,00		
Fe	0,98	<mark>0,49</mark>	0,91	<mark>0,54</mark>	0,95	0,93	0,90	0,87	0,89	<mark>0,39</mark>	0,91	0,92	0,88	0,95	0,96	0,86	1,00	
Sr	1,00	<mark>0,48</mark>	0,93	<mark>0,54</mark>	0,98	0,95	0,94	0,89	0,93	<mark>0,35</mark>	0,93	0,98	0,90	0,99	0,97	0,93	0,97	1,00

Tabela 23 - Coeficientes de correlação de Pearson obtidos para os dados normalizados pelo Fator de Enriquecimento.

corr. fraca

#### corr. moderada corr. forte

corr. perfeita Fonte: autor da dissertação.

Embora o coeficiente de correlação do Mn com o Cr não tenha sido negativo, o baixo valor deve estar relacionado ao fato da forma mais solúvel do primeiro ocorrer em meio redutor enquanto que a do segundo ocorrem em meio mais oxidante com pH alcalino. Além disso, e excetuando-se o Eu, com quem o Cr apresentou correlação moderada, as correlações dele com todos os outros elementos foram fracas.

A forte correlação entre o Ca e P (0,99) pode estar relacionada a formação de micro fases cristalinas de carbonato hidroxiapatita  $Ca_5(PO_4CO_3)_3(OH)$  (De Paula e Silveira, 2009). Fosfatos e sulfatos também compõem a base para a formação e crescimento da matriz da estrutura cristalina das conchas, podendo explicar, dessa forma, a forte correlação observada entre cálcio e enxofre (0,97) (Wheeler, 1992) e P e S (0,94).

O ferro é um elemento limitante da produção primária de ambientes costeiros, com grande afinidade pelo fosfato nesse ambiente (Testa et al., 2002), o que pode justificar o comportamento da correlação observada com os elementos P, S e o próprio Ca.

Pode-se observar também que o Si, embora seja um elemento limitante do comportamento bioquímico das ostras (Enright et al., 1986), apresentou fortes correlações com a maioria dos elementos determinados, e não apresentou correlação com Br e Mn. No caso desse último, provavelmente devido ao fato do controle das concentrações de Si no ambiente de crescimento das ostrar ser fortemente influenciado pela comunidade fitoplantônica adjacente (Spalt et al., 2020).

Por sua vez, os elementos Mg, Sr e Pb, que possuem comportamento químico semelhante ao cálcio, apresentam correlações muito semelhantes e ele.

Os gráficos da correlações, entre o Ca e os elementos normalizados pelo FE, obtidos por regressão linear são mostrados na Figura 20, Figura 21 e Figura 22.

Figura 20 - Regreção linear obtida entre o Fe dos elementos Cs, Zn, Mg, Na, Si, S, Cl e Sr em função do FE do Ca mostrando o coeficiente de correlação e a significância.



Fonte: autor da dissertação.





Fonte: autor da dissertação.



Figura 22 - Regreção linear obtida entre o Fe dos elementos Mg e Fe em função do FE do Ca mostrando o coeficiente de correlação e a significância.

Fonte: autor da dissertação.

Na Tabela 24 são apresentados os fatores de carregamento para os elementos normalizados pelo FE e na Tabela 25 os valores de variância explicada para cada fator. Pode se observar que apenas o Br e Mn não contribuem significativamente para a variação dos dados, com o fator 1 contribuindo para 78,45% da variabilidade. Esse valor é bastante superior ao obtido nas análises dos dados brutos e das concentrações dos elementos normalizadas pela concentração de Ca, nas quais os fatores 1 e 2, juntos, contribuíram com pouco mais de 30% para a variância explicada.

Na Figura 23 está representado o dendrograma obtido para os dados das concentrações dos elementos normalizados pelo FE. Pode-se observar que ocorreu a formação de grupos mais bem caracterizados dado que a um corte em 20% de distância obtem-se 4 grupos principais.

	Fator 1	Fator 2
Ca	0,954	0,275
Br	-0,048	0,921
Со	0,928	0,187
Cr	0,384	0,655
Cs	0,950	0,210
Eu	0,902	0,267
Sc	0,957	0,094
Zn	0,869	0,184
Mg	0,922	0,222
Mn	0,215	0,555
Na	0,853	0,423
Pb	0,976	0,112
Si	0,905	0,181
Ρ	0,943	0,279
S	0,936	0,263
CI	0,911	0,207
Fe	0,915	0,322
Sr	0,963	0,249

Tabela 24 - Coeficientes de correlação de Pearson obtidos para os dados normalizados pelo Fator de Enriquecimento.

Fonte: autor da dissertação.

Tabela 25 - Coeficientes de correlação de Pearson obtidos para os dados normalizados pelo Fator de Enriquecimento.

	Variancia explicada %	Variância acumulada %
F1	78,49	78,49
F2	7,87	86,36

Fonte: autor da dissertação.

O primeiro grupo formado exclusivamente pela amostra PB-2, da espécie *C. mangle*. O segundo, formado pelas amostras SE-2, RN-2, PB-1, SE-1, CE-2 e SP-7 compostos por amostras das duas espécies analisadas: *C. mangle* e *C. brasiliana*. No terceiro grupo observa-se a presença predominante de amostras da espécie *C. brasiliana* enquanto que no quarto grupo, encontran-se praticamente todas as amostras da espécie *C. mangle*, com exceção das amostras BA-2 e BA-5.



Figura 23 - Dendrograma obtido para os dados normalizados pela concentração de cálcio.

Pode-se considerar que neste caso houve uma boa separação em função da composição química das ostras que varia de acordo com o ambiente de crescimento sendo a *C. mangle* de ambiente de mangue enquanto que a *C. brasiliana* pode cresce em ambientes que variam de estuarino a marinho, de maior salinidade (Amaral e Simone, 2014).

Fonte: autor da dissertação.

#### 6 CONCLUSÕES

Foram determinados os elementos As, Ba, Br, Ca, Ce, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, Hf, La, Lu, Mg, Mn, Na, Nd, Rb, Sb, Sc, Sm, Ta, Tb, Th, Ti, U, V, Yb, Zn e Zr por análise por ativação neutrônica, P, Si, Al, K, S e Sr por fluorescência de Raios-X e Pb por absorção atômica, em amostras de conchas de ostras do gênero *Crassostrea* (*C. mangle e C. brasiliana*), em amostras coletadas nas regiões sul, sudeste e nordeste do Brasil, com objetivo de estabelecer a sua procedência em função de sua composição elementar e, a partir desses resultados, verificar a possibilidade de fazer-se inferências sobre as condições do ambiente de crescimento dessas ostras.

Após análises dos resultados obtidos foram selecionados, para a realização das análises estatísticas, os elementos Br, Ca, Cl, Co, Cr, Cs, Eu, Fe, La, Mg, Mn, Na, P, Pb, S, Sc, Si, Sr e Zn, por apresentarem bons resultados na validação dos MR e terem sido determinados em pelo menos 70% das 55 amostras analisadas.

A análise mineralógica, realizada por difração d e Raios-X, mostrou que todas as amostras analisadas apresentaram composição predominante de calcita.

Os resultados das análises térmicas para determinação de matéria orgânica indicaram uma variação de 0,1 a 8,6% em fração de massa, com uma média de 3,3% e os resultados de perda ao fogo seguiram a estequiometria do carbonato de cálcio apresentando uma variação de 41% a 44%, com uma média de 42%, em fração de massa de carbonato, estando de acordo com valores reportados em literatura.

Entre os resultados obtidos, para as concentrações médias, os elementos Ca e Sr apresentaram variação (DPR) abaixo de 10%. Os elementos Cs, P, S, Sb e Se, entre 10 e 50%, os elementos As, Br, Ce, Co, Eu, Fe, La, Lu, Mg, Mn, Na, Nd, Pb, Si, Sm, Ta, Th, Yb, Zr entre 50 e 100% e variações acima de 100% foram observadas para os elementos Ba, Cl, Cr, Hf, Rb, Sc, Tb, U, Zn.

Excetuando-se a concentração média do Mg, que apresentam uma tendência de aumento nas conchas, da região sul para a região nordeste, as

concentrações elementares não apresentam tendências de variação em função da região de coleta.

Os resultados obtidos na análise estatística dos dados brutos indicaram que os principais responsáveis pelas variações observadas são o Mg, Si e S, os quais apresentam variação negativa com o cálcio. Além desses, correlações negativas também foram observadas para os elementos característicos, indicadores de salinidade: Na, Cl, Br e P. No entanto, todas as correlações observadas podem ser consideradas fracas e desta forma não foi possível observar uma caracterização nem em função do ambiente de coleta nem da espécie analisadas.

A quase totalidade dos autores que estudam a composição elementar de ostras com fins de inferência ambiental o fazem por meio de razões elementares com o Ca. Desta forma, os dados das concentrações obtidas foram normalizadas pela concentração do cálcio e aplicadas nas análises estatísticas propostas. Os resultados obtidos não variaram significativamente em relação à análise aplicada aos dados brutos.

Uma possível explicação para a falta de correlação observada nestas análises, pode estar relacionada ao controle biológico para absorção dos elementos pelos organismos. Foi aplicada, então, a normalização utilizando o Fator de Enriquecimento, com o objetivo de minimizar as variações elementares em função da atividade metabólica das ostras.

Os resultados das análises estatísticas empregando os FE indicaram fortes correlações entre o Ca e todos os elementos considerados, exceto Br, Cr e Mn. Os FE do cálcio e estrôncio apresentaram correlação perfeita (1,00), sendo possível observar o mesmo comportamento desse elemento em relação aos demais quando comparado com o Ca.

Fortes correlações foram observadas também para os elementos Fe, S e Si, normalmente considerados indicadores de produtividade primária, em relação aos demais elementos. Bem como os elementos Mg, Sr e Pb, que possuem comportamento químico semelhante ao cálcio, apresentam correlações muito semelhantes e ele.

O uso do FE permitiu explicar aproximadamente 78% da variância observada e sua aplicação à análise de agrupamento permitiu a formação de dois grupos compostos majoritariamente por amostras de cada uma das espécies analisadas, englobando 37, das 44 amostras consideradas na análise. Um terceiro grupo formado por seis amostras não mostrou separação adequada entre espécie ou local de coleta. E uma amostra não apresentou similaridade às demais ficando isolada em um quarto grupo.

Uma vez que a espécie *C. mangle* é característica de regiões estuarinas enquanto que a *C. brasiliana* cresce em ambientes que variam de estuarino a marinho pode-se considerar que os grupos formados foram separados em função das características químicas de seu ambiente de crescimento.

Desta forma, a aplicação do conceito de FE às concentrações elementares de amostras de conchas de ostras pode ser um promissor indicador de variação ambiental. O refinamento dos dados, ampliando o número de amostras analisadas, com obtenção de um maior número de elementos e uma melhor caracterização dos locais de coleta pode contribuir para aplicação das estruturas carbonáticas das conchas como indicadores ambientais e paleoambientais.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, V.S.; SIMONE, L.R. **Revision of genus Crassostrea (Bivalvia: Ostreidae) of Brazil**. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, vol 94, Issue 04, 2014.

ANADÓN, P.; OMS, O.; RIERA, V.; JULIÀ, R. **The geochemistry of biogenic** carbonates as a paleoenvironmental tool for the Lower Pleistocene Barranco Leon sequence (BL-5D, Baza Basin, Spain). Quaternary International, Vol. 389, p. 70-83, 2015.

ANTAO, M.S.; HASSAN, I.I. **Temperature dependence of the structural parameters in the transformation of aragonite to calcite, as determined from in situ synchrotron powder X-Ray- Diffraction data**. *The canadian Mineralogist* 48, 1225-1236, 2010.

ARUMUGAM, R.; KANNAN, R.R.R.; JAYAAKSHIMI, J.; MANIVANNAN, K.; DEVI, G,K,; ANANTHARAMAN, P. **Determination of element contents in herbal drugs: Chemometric approach**. *Food Chemistry* 135: 2372–2377. 2012.

BARBA, A. *Materias Primas para la Fabricación de Soportes de Baldosas Cerámicas*. Castellón, España: *AICE*, 1997.

BARBIERI, M.**The Importance of Enrichment Factor (EF) and Geoaccumulation Index (Igeo) to Evaluate the Soil Contamination**. Journal of Geology & Geophysics, 5(1). doi:10.4172/2381-8719.1000237, 2016.

BERN, C. R.; WALTON-DAY, K.; NAFTZ, D. Improved enrichment factor calculations through principal component analysis: Examples from soils near breccia pipe uranium mines, Arizona, USA. Environmental Pollution. doi:10.1016/j.envpol.2019.01.122. 2019

BIRGEL, D.; FENG, D.; ROBERTS, H.H.; PECKMANN, J. Changing redox conditions at cold seeps as revealed by authigenic carbonates from Alaminos Canyon, northen Gulf of Mexico. Chemical Geology, Vol. 285, p. 82-96, 2011.

BORREGO, J.; GONZÁLES, N.L.; CARRO, B.; SORIA, O.L. Geochemistry of rareearth elements in Holocene sediments of an acidic estuary: Environmental markers (Tinto River Estuary, South-Western Spain). Journal of Geochemical Exploration, v. 86, p. 119-129, 2005.

CARIOU, E.; GUIVEL, C.; LA, C.; LENTA, L.; & ELLIOT, M. Lead accumulation in oyster shells, a potential tool for environmental monitoring. Marine Pollution Bulletin, vol. 125(1-2), p. 19–29 2017.

CARRÉ, M.; BENTALEB, I.; BRUGUIER, O.; ORDINNOLA, E.; BARRET, N.T.; FONTUGNE, M. Calcification rate influence on trace element concentrations in aragonitic bivalve shells: Evidences and mechanisms. Geochimica et Cosmochimica act, Vol. 70, p. 4906-4920, 2006.

CHAN Y.H. **Biostatistics 104: correlational analysis**. Singap Med J., V.44(12) P. 614–619, 2003.

CHESTER, R. Trace elements in the oceans. Marine Geochemistry, 346–421, 1990 CRAVO, A.; FOSTER, P.; ALMEIDA, C.; COMPANY, R.; COSSON, R.P.; BEBIANNO, M.J. Metals in the shell of *Bathymodiolus azoricus* from a hydrothermal vent site on the Mid-Atlantic Ridge. Environment International, Vol. 33, p. 609-615, 2007.

CRAVO, A.; FOSTER, P.; BEBIANNO, M.J. **Minor and trace elements in the shell of** *Patella aspera* (Roding 1798). Environmental internacional, v. 28, p. 295-302, 2002.

DE PAULA, S. M., SILVEIRA, M. Studies on molluscan shells: Contributions from microscopic and analytical methods. Micron, vol. 40(7), p. 669–690. 2009 DEVORE, J.L. Probability and Statistics for Engineering and the Sciences. *Duxbury Press*, Belmont, CA. (4th ed.), 1995.

DONNER, J.; NORD, A.G. Carbon and Oxygen stable isotope values in shells of *Mytilus edulis* and *Modiolus Modiolus* from Holocene raised beaches at the outer coast of the Varanger Peninsula, north Norway. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, Vol. 56, p. 35-50, 1986.

DU, Y.; LIAN, F.; ZHU, L. Biosorption of divalent Pb, Cd and Zn on aragonite and calcite mollusk shells. *Environmental Pollution* 159, 1763-1768, 2011.

EINAX, J.W.; ZWANZIGER, H.W.; GEIB, S. **Chemometrics in environmental analysis.** Weinheim: Wiley. 1997.

ELTOM, H.A.; ABDULLATIF, O.M.; MAKKAWI, M.H.; ELTOUM, I.E.A. Rare earth element geochemistry of shallow carbonate outcropping strata in Saudi Arabia: Application for depositional environments prediction, Sedimentary Geology, Vol. 348, p. 51-68, 2017.

EMSBO, P.; MCLAUGHLIN, P.I.; BREIT, G.N.; BRAY, E.A.; KOENIG, A.E. Rare earth elements in sedimentary phosphate deposits: Solution to the global REE crisis?. Gondwana Research, Vol. 27, p. 776-785, 2015.

ENRIGHT, C. T.; NEWKIRK, G. F.; CRAIGIE, J. S.; CASTELL, J. D. **Growth of juvenile Ostrea edulis L. fed Chaetoceros gracilis Schütt of varied chemical composition**. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, vol. 96(1), p.15– 26, 1986.

FENG, H.; JIANG, H.; GAO, W.; WEINSTEIN, M. P.; ZHANG, Q.; ZHANG, W.; TAO, J. **Metal contamination in sediments of the western Bohai Bay and adjacent estuaries, China**. Journal of Environmental Management, 92(4), 1185–1197., 2011.

FREITAS, P.S.; CLARKE, L.J.; KENNEDY, H.; RICHARDSON, C.A.; ABRANTES, F. Environmental and biological controls on elemental (Mg/Ca, Sr/Ca/ and Mn/Ca) ratios in shells of the king scallop *Pecten maximus*. Geochimica et Cosmochimica act, Vol. 70, p. 5119-5133, 2006.

GEEZA, T. J.; GILLIKIN, D. P.; GOODWIN, D. H.; EVANS, S. D.; WATTERS, T.; & WARNER, N. R. Controls on magnesium, manganese, strontium, and barium concentrations recorded in freshwater mussel shells from Ohio. Chemical Geology. 2018. doi:10.1016/j.chemgeo.2018.01.001.

GEMPERLINE, P. J. **Practical Guide to Chemometrics. (2nd ed.)** *CRC Press*, Boca Raton, FL. 2006.

GILLIKIN, D.P.; DEHAIRS, F.; LORRAIN, A.; STEENMANS, D.; BAEYENS, W.; ANDRE, L. Barium uptake into the shells of the common mussel (*Mytilus edulis*) and the potential for estuarine paleo-chemistry reconstruction. Geochimica et Cosmochimica acta, Vol. 70, p. 395-407, 2006.

GILLIKIN, D.P.; LORRAIN, A.; MENG, L.; DEHAIRS, F. A large metabolic carbon contribution to the d<sup>13</sup>C record in marine aragonitic bivalve shells. Geochimica et Cosmochimica act, Vol. 71, p. 2936-2946, 2007.

GILLIKIN, D.P.; RIDDER, F.; ULENS, H.; ELSKENS, M.; KEPPENS, E.; BAEYENS, W.; DEHAIRS, F. Assessing the reproducibility and reliability of estuarine bivalve shells (*Saxidomus giganteus*) for sea surface temperature reconstruction: Implications for paleoclimate studies. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, Vol. 228, p. 70-85, 2005.

Gosling, E.M. **Bivalve molluscs**. ISBN 0-85238-234-0 (alk. paper) 1. Bivalvia. I. Title. QL430.6 .G67 2002 594¢.4–dc2

Heiri, O., Lotter, A.F. & Lemcke, G. Loss on ignition as a method for estimating organic and carbonate content in sediments: reproducibility and comparability of results. Journal of Paleolimnology, 25: 101, 2001.

HENDERSON, G.M.; HEINZE, C.; ANDERSON, R.F.; WINGUTH, A.M.R. Global distribution of the <sup>230</sup>Th flux to ocea n sediments constrained by GCM modelling. Deep-Sea Research I, Vol. 46, p. 1861-1893, 1999.

KALISMAN, Y.L.; FALINI, G.; ADDADI, L.; WEINER, S. Structure of the nacreous Organic Matrix of a Bivalve Mollusk Shell examined in the hydrated state using Cryo-TEM. Journal of Structural Biology, v.135, p. 8-17, 2001.

KALISMAN, Y.L; FALINI, G; ADDADI, L.; WEINER, S. Structure of the Nacreous Organic Matrix of a Bivalve Mollusk Shell Examined in the Hydrated State Using Cryo-TEM Journal of Structural Biology, vol.135, 8–17 2001.

KLEIN, R. T.; LOHMANN, K. C.; & THAYER, C. W. Bivalve skeletons record seasurface temperature and d<sup>18</sup>O via Mg/Ca and <sup>18</sup>O/<sup>16</sup>O ratios. Geology vol. 24, p. 415–418, 1996.

KLEIN, R.T.; LOHMANN, K.C.; THEYER, C.W. **Sr/Ca and** <sup>13</sup>**C/**<sup>12</sup>**C ratios in skeletal** calcite of *Mytilus trossulus*: Covariation with metabolic rate, salinity, and carbon isotopic composition of seawater. Geochimica et Cosmochimica act, Vol. 60, p. 4207-4221, 1996.

LARTAUD, F.; CHAUVAUD, L.; RICHARD, J.; TOULOT, A.; BOLLINGER, C.; TESTUT, L. ;& PAULET, Y.-M. (2010). Experimental growth pattern calibration of Antarctic scallop shells (Adamussium colbecki, Smith 1902) to provide a biogenic archive of high-resolution records of environmental and climatic changes. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, vol. 393(1-2), p.158– 167, 2010.

LARTAUD, F.; CHAVAUD, L.; RICHARD, J.; TOULOT, A.; BOLLINGER, C.; TESTUT, L.; PAULET, Y.M. Experimental growth pattern calibration of Antarctic scallop shells (*Adamussium colbecki*, Smith 1902) to provide a biogenic archive of high-resolution records of environmental and climatic changes. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, Vol. 393, p. 158-167, 2010.

LAZARETH, C. ., PUTTEN, E. V., ANDRÉ, L., & DEHAIRS, F. (2003). Highresolution trace element profiles in shells of the mangrove bivalve Isognomon ephippium: a record of environmental spatio-temporal variations? Estuarine, Coastal and Shelf Science, vol. 57(5-6), p.1103–1114, 2003.

LIMA, T.A.; MACARIO, K.D.; ANJOS, R.M.; GOMES, P.R.S.; COIMBRA, M.M. **The age** of the early shellmound settlements of the southeast Brazilian coast. *Brazilian Journal of Physics* 33, 276–279, 2003.

LIN, Y.; ZHENG, M.; YE, C.; POWER, I.M. Trace and rare earth element geochemistry of Holocene hydromagnesite from Dujiali Lake, central Qinghai– Tibetan Plateau, China. Carbonates Evaporites vol 34, p. 1265-1279, 2019.

LORENS, R. B.; BENDER, M. L.**The impact of solution chemistry on Mytilus edulis** calcite and aragonite. Geochimica et Cosmochimica Acta vol. 44, p. 1265–1278, 1980.

LORING, D.H.; RANTALA, R.T.T. Manual for the geochemical analysis of marine sediments and suspended particulate matter. *Earth Sci.* Rev, 32: 235 – 283 1992.

MARALI, S.; SCHÖNE, B. R.; MERTZ-KRAUS, R.; GRIFFIN, S. M.; WANAMAKER, A. D.; BUTLER, P. G.; JOCHUM, K. P. **Reproducibility of trace element time-series** (Na/Ca, Mg/Ca, Mn/Ca, Sr/Ca, and Ba/Ca) within and between specimens of the bivalve Arctica islandica – A LA-ICP-MS line scan study. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, vol. 484, p. 109–128, 2017.

NMI, Neutron Scattering and Muon Spectroscopy (NMI3). Disponível em:<http://n mi3.eu/neutron-research/techniques-for-/chemical-analysis.html>Acesso em: 30 de abril de 2020.

MONSERRAT, J.M.; BIANCHINI, A.; BAINY, A.C.D. **Kinetic and toxicological characteristics of acetylcholinesterase from the gills of oysters (Crassostrea Rhizophorae) and other aquatic species**. *Marine Environmental Research*, vol.54, pp. 781–785, 2002.

MOUCHI, V.; BRIARD, J.; GAILLOT, S.; ARGANT, T.; FOREST, V.; & EMMANUEL, L. Reconstructing environments of collection sites from archaeological bivalve shells: Case study from oysters (Lyon, France). Journal of Archaeological Science: 2017 Reports. doi:10.1016/j.jasrep.2017.10.025

MOUCHI, V.; RAFÉLIS, M.; LARTAUD, F.; FIALIN, M.; VERRECCHIA, E. Chemical labelling of oyster shells used for time-calibrated high-resolution Mg/Ca ratios: A tool for estimation of past seasonal temperature variations. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 373 (1): 66–74. 2013.

MOUCHI, V.; RAFÉLIS, M.; LARTAUD, F.; FIALIN, M.; VERRECCHIA, E. Chemical labelling of oyster shells used for time-calibrated high-resolution Mg/Ca ratios: A tool for estimation of past seasonal temperature variations. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, Vol. 373, p. 66-74, 2013.

NASCIMENTO, I.A.; LEITE, M.B.N; SANSONE, G.; PEREIRA, S.A.; SMITH, D.H. . Stress protein accumulation as an indicator of impact by the petroleum industry in Todos os Santos Bay, Brazil. Aquat. Ecosyst. Health Managazine, vol. 1, pp. 101–108, 1998.

NEHRING, J.K.; BREY, T.; THORROLD, S.R. **Centennial records of lead contamination in northern Atlantic bivalves (***Artica islandica***).** Marine Pollution Bulletin, Vol. 64, p. 233-240, 2012.

ONUMA, N.; MASUDA, F.; HIRANO, M.; & WADA, K. Crystal struture control on trace element partition in molluscan shell formation. GEOCHEMICAL JOURNAL, vol.13(4), p. 187–189 ,1979. OTTO, M.; KELLNER, R.; MERMET, J.M; WIDMER, H.M. Multivariate methods., *Analytical Chemistry*. Weinheim: Wiley VCH. (1998)

PARREIRA, P.S. **Metodologia de EDXRF e aplicações com um sistema portátil**. Publicação Técnica do Laboratório de Física Nuclear Aplicada (LFNATEC), Vol. 10, Número 01 Junho de 2006 - 1ª Edição Londrina – Paraná LFNATEC

PAVLOV, D.F.; BEZUIDENHOUT, J.; FRONTASYEVA, M.V.; GORYAINOVA, Z.I. Differences in Trace Element Content between Non-Indigenous Farmed and Invasive Bivalve Mollusks of the South African Coast. American Journal of Analytical Chemistry, vol. 6, p. 886-897, 2015.

PITTS, L.C.; WALLACE, G.T. Lead Deposition in the shell of the bivalve, *Mya Arenaria*: an indicator of Dissolved Lead in Seawater. Estuarine, Coastal and Shelf Science, Vol. 39, p. 93-104, 1994.

PIWONI, P. A.; KUKLIŃSKI, P.; STREKOPYTOV, S.; HUMPHREYS W. E.; NAJORKA, J.; IGLIKOWSKA, A. Size effect on the mineralogy and chemistry of Mytilus trossulus shells from the southern Baltic Sea: implications for environmental monitoring. Environmental Monitoring and Assessment, 189(4), 2017.

POULAIN, C.; GILLIKIN, D.P; THÉBAULT, J.; MUNARON, J.M; BOHN, M.; ROBERT, R.; PAULET, Y.M.; LORRAIN, A. An evaluation of Mg/Ca, Sr/Ca, and Ba/Ca ratios as environmental proxies in aragonite bivalve shells. Chemical Geology, v. 396, p. 42-50, 2015.

PROUS, A., Arqueologia Brasileira. Brasília. Editora da UnB, 1992.

PYTLAKOWSKA, K.; KITA, A.; JANOSKA, P.; POLOWNIAK, M.; KOZIK, V. Multielement analysis of mineral and trace elements in medicinal herbs and their infusions. *Food Chemistry*, 135: 494–501. 2012

RAHMAN, M.A.; HALFAR, J.; SHINJO, R. **X-Ray Diffraction Is a Promising Tool to Characterize Coral Skeletons**. *Advances in Materials Physics and Chemistry*, Vol. 3 No. 1A, pp. 120-125, 2013

REBELO, M.F.; AMARAL, M.C.R.; PFEIFFER, W.F. **High Zn and Cd accumulation in the oyster Crassostrea rhizophorae, and its relevance as a sentinel species**. Marine Pollution Bulletin, Vol. 46, p. 1341-1358, 2003.

RHOADS, D.C., AND R.A. LUTZ, **Skeletal growth of aquatic organisms**. *Plenum Publ. Corp*, New York. 750 p. 1980.

RODRIGUEZ-IRURETAGOIENA, A.; REMENTERIA, A.; ZALDIBAR, B.; FEZ-ORTIZ DE VALLEJUELO, S.; GREDILLA, A.; ARANA, G.; DIEGO, A. **Is there a direct**  relationship between stress biomarkers in oysters and the amount of metals in the sediments where they inhabit. Marine Pollution Bulletin, v. 111, p. 95-105, 2016.

ROSENTHAL, Y.; BOYLE, E.A.; SLOWEY, N. **Temperature control on the incorporation of magnesium, strontium, fluorine, and cadmium into benthic foraminiferal shells from Little Bahama Bank: Prospects for thermocline paleoceanography.** Geochimica et Cosmochimica act, Vol. 61, p. 3633-3643, 1997.

RUIZ, R.H.; ELORZA, J. Biometric, microstructural, and high-resolution trace element studies in *Crassostrea gigas* of Cantabria (Bay of Biscay, Spain): Anthropogenic and seasonal influences. Estuarine, Coastal and Shelf Science, Vol. 82, p. 201-213, 2009.

SCAPIN, M.A.; GUILHEN, S.B.; COTRIM, M.E.B.; PIRES, M.A.F. **DETERMINATION OF Ca/P MOLAR RATIO IN HYDROXYAPATITE (HA) BY X-RAY FLUORESCENCE TECHNIQUE,** 2015 International Nuclear Atlantic Conference - INAC 2015 São Paulo, SP, Brazil, October 4-9, 2015.

SCHONE, B.R.; GILLIKIN, D.P. Unraveling environmental histories from skeletal diaries — Advances in sclerochronology. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, Vol. 373, p. 1-5, 2013.

SCHONE, B.R.; RADERMACHER, P.; ZHANG, Z.; JACOB, D.E. Crystal fabrics and element impurities (Sr/Ca, Mg/Ca, and Ba/Ca) in shells of *Arctica islandica*— Implications for paleoclimate reconstructions. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, Vol. 373, p. 50-59, 2013.

SCHONE, B.R.; ZHANG, Z.; RADERMACHER, P.; THÉBAULT, J.; JACOB, D.E.; NUNN, E.V.; MAURER, A.F. Sr/Ca and Mg/Ca ratios of ontogenetically old, longlived bivalve shells (*Arctica islandica*) and their function as paleotemperature proxies. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, Vol. 302, p. 52-64, 2011.

SILVA, P.S.C, Caracterização química e radiológica dos sedimentos do estuário de Santos, São Vicente e Baía de Santos, 2004.

SPALT, N.; MURGULET, D.; ABDULLA, H.; **Spatial variation and availability of nutrients at an oyster reef in relation to submarine groundwater discharge.** Science of The Total Environment, Volume 710, 2020.

SQUADRONE, S.; BRIZIO, P.; STELLA, C.; PREARO, M.; PASTORINO, P.; SERRACCA, L.; ERCOLINI, C.; ABETE, M.C. **Presence of trace metals in aquaculture marine ecosystems of the northwestern Mediterranean sea (Italy)**. Environmental Pollution, v. 215, p. 77-83, 2016.

STECHER, H.A.; KRANTZ, D.E.; LORD, C.J.; LUTHER, G.W.; BOCK, K.W. **Profiles** of strontium and barium in *Mercenariu mercenariu* and *Spisula solidissima* shells. Geochimica et Cosmochimica Acta, Vol. 60, p. 3445-3456, 1996.

SURGE, D.; LOHMANN, K.C.; DETTMAN, D.L. **Controls on isotopic chemistry of the American oyster**, *Crassostrea virginica*: implications for the growth patterns. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, Vol. 172, p. 283-296, 2001.

SURGE, D.M.; LOHMANN, K.C.; GOODFRIEND, G.A. Reconstructing estuarine conditions: oyster shells as recorders of environmental change, Southwest Florida. Estuarine, Coastal and Shelf Science, Vol. 57, p. 737-756, 2003.

SUSSA, F. V. *Estudo da composição inorgânica e avaliação da atividade biológica de Peperomia pellucida no crescimento de Aspergillus flavus.* 2011. p. 159. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear) Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.

SUSSA, F.V.; DAMATTO, S.R.; FÁVARO, D.I.T.; MAZZILLI, B.P.; SILVA, P.S.C. **Radioactive and stable element's concentration in medicinal plants from Brazil**. Journal *of Radioanalitical and Nulear Chemistry*, v. 281, p.65-170, 2009.

TAKESUE, R. K.; BACON, C. R.; & THOMPSON, J. K. Influences of organic matter and calcification rate on trace elements in aragonitic estuarine bivalve shells. Geochimica et Cosmochimica Acta, vol. 72(22), p. 5431–5445 2008.

TAKESUE, R.K.; BACON, C.R.; THOMPSON, J.K. Influences of organic matter and calcification rate on trace elements in aragonitic estuarine bivalve shells. Geochimica et Cosmochimica act, Vol. 72, p. 5431-5445, 2008.

TANAKA,K.; OKANIWA, N.; MIYAJI, T.; SUGIHARA, N. M.; ZHAO, L.; TANABE, K.; SCHÖNE, B.R.; SHIRAI, K. Microscale magnesium distribution in shell of the Mediterranean mussel Mytilus galloprovincialis: An example of multiple factors controlling Mg/Ca in biogenic calcite, Chemical Geology, vol. 511, 2019, P. 521-532, 2019.

TESTA, J.M.; CHARETTE, M.A.; SHOLKOVITZ, E.R.; ALLEN, M.C.; RAGO, A.; HERBOLD, C.W. **Dissolved iron cycling in the subterranean estuary of a coastal bay: Waquoit Bay, Massachusetts**. Biol Bull-Us, vol. 203 (2), p.255–256, 2002.

TYNAN, E.; CLARKE, J.S.; HUMPHREYS, M.P.; RIBAS, M.; ESPOSITO, M.; RÉROLLE, V.M.C.; SCHLOSSER, C.; THORPE, S.E.; TYRRELL, T.; ACHTERBERT, E.P. **Physical and biogeochemical controls on the variability in surface pH and calcium carbonate saturation states in the Atlantic sectors of the Arctic and Southern Oceans**. Deep-Sea Research II, Vol. 127, p. 7-27, 2016.

VAN DER MOLEN, J. S.; & PERISSINOTTO, R. (2011). Microalgal productivity in an estuarine lake during a drought cycle: The St. Lucia Estuary, South Africa. Estuarine, Coastal and Shelf Science, vol. 92(1), p. 1–9, 2011.

VANDERMEERSCH, G.; LOURENÇO, H.M.; MUNOZ, D.A.; CUNHA, S.; DIOGENE, J.; SANCHO, G.C.; SLOTH, J.J.; KWADIJK, C.; BARCELO, D.; ALLEGAERT, W.; BEKAERT, K.; FERNANDES, J.O.; MARQUES, A.; ROBBENS, J. Environmental contaminants of emerging concern in seafood - European database on contaminant levels. Environmental Research, Vol. 143, p. 29-45, 2015.

VEIZER, J. COMPSTON, W.; CLAUER, N.; SCHIDLOWSKI, M. <sup>87</sup>Sr/<sup>86</sup>Sr in Late **Proterozoic carbonates: evidence for a "mantle" event at -900 Ma ago\*.** Geochimica et Cosmochimica Acta, Vol. 47, p. 295-302, 1983.

VILLIERS, S. Excess dissolved Ca in the deep ocean: a hydrothermal hypothesis. Earth and Planetary Science Letters, Vol. 164, p. 627-641, 1998.

Wanamaker, A. D.; & Gillikin, D. P. Strontium, magnesium, and barium incorporation in aragonitic shells of juvenile Arctica islandica: Insights from temperature controlled experiments. Chemical Geology, 2018. doi:10.1016/j.chemgeo.2018.02.012

WHEELER A.P. Phosphoproteins of Oyster (Crassostrea virginica) Shell Organic Matrix. In: Suga S., Watabe N. (eds) Hard Tissue Mineralization and Demineralization. Springer, Tokyo. 1992.

WOLF, K.H.; CHILINGAR, G.V.; BEALES, F.W. **Elemental composition of carbonate skeletons, minerals and sediments**. *Carbonate Rocks*. *Elsevier*, Amsterdam, pp. 23-149. 1967.

WRIGHT, D.A. Trace Metal and Major Ion Interactions in Aquatic Animals. Marine Pollution Bulletin. Vol.31, p. 8-18, 1995.

WRIGHT, D.A., **Trace metal and major ion interactions in aquatic animals**. *Mar. Poll. Bull.* 31, 8–18. 1995.

YAMASHITA, C.I; SAIKI, M.; SERTIÉ, J.A.A. **Elemental analysis of leaves and extracts of Casearia medicinal plants by instrumental neutron activation analysis**. *Journal of Radioanalitical and Nuclear Chemistry*, v. 270(1), p. 181+186, 2006.

ZHANG, K.; ZHU, X.K.; YAN, B. A refined dissolution method for rare earth element studies of bulk carbonate rocks. Chemical Geology, Vol. 412, p. 82-91, 2015.

ZHAO, L.; & LIU, L. Assessing the impact of lanthanum on the bivalve Corbicula fluminea in the Rhine River. Science of The Total Environment, vol. 640-641, p. 830–839, 2018.

ZHAO, L.; MILANO, S.; TANAKA, K.; LIANG, J.; DENG, Y.; YANG, F.; SCHÖNE, B. R. **Trace elemental alterations of bivalve shells following transgenerational exposure to ocean acidification: Implications for geographical traceability and environmental reconstruction**. Science of The Total Environment, 2019. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.135501

ZHAO, L.; WALLISER, E.O.; MERTZ-KRAUS, R.; SCHÖNE, B.R. Unionid shells (Hyriopsis cumingii) record manganese cycling at the sediment-water interface in a shallow eutrophic lake in China (Lake Taihu). Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology 2017.

# 8 ANEXOS

- Lista c <u>om a identificação do MZOSP das conchas utilizadas.</u>										
	MZUSP	ID	Localidade	Estado	Qtde.					
	368	C. Mangle	Paranaguá	PR	1					
	14726	C. Brasiliana	Cabo Frio	RJ	1					
	23015	C. Brasiliana	Arraial do Cabo	RJ	1					
	40650	C. Mangle	Vila Nova	BA	2					
	40844	C. Mangle	Mamanguá	RJ	1					
	40847	C. Mangle	Guaratuba	PR	2					
	40890	C. Mangle	Vamiranga	SP	2					
	41097	C. Mangle	Ilha Comprida	SP	2					
	41115	C. Mangle	Timbuva	RS	1					
	41121	C. Mangle	Timbuva	RS	1					
	41150	C. Mangle	Vila Nova	BA	1					
	41294	C. Mangle	Pastinho	SC	3					
	41297	C. Mangle	Pastinho	SC	1					
	41868	C. Mangle	Boracéia	SP	1					
	41878	C. Mangle	Anogueira		1					
	42961	C. Mangle	Anogueira		2					
	43389	C. Mangle	Barra Velha	SC	1					
	43512	C. Mangle	Guamiranga	PR	1					
	44525	C. Mangle	Ponta Grossa	PR	2					
	44532	C. Mangle	Baguassú		2					
	44534	C. Mangle	Vamiranga	SP	3					
	46066	C. Brasiliana	Guaratuba	PR	2					
	46070	C. Mangle	Itapuã	BA	2					
	46073	C. Mangle	Angra dos Reis	RJ	2					
	46074	C. Mangle	Santa Catarina	SC	1					
	46081	C. Brasiliana	Angra dos Reis	RJ	3					
	73229	C. Brasiliana	Florianópolis	SC	2					
	82085	C. Mangle	Aracaju	SE	3					
	86905	C. Mangle	Pirangi	RN	2					
	88300	C. Mangle	Guarapari	ES	1					
	101217	C. Brasiliana	Vitória	ES	1					
	106450	C. Virginica	Cananeia	SP	1					

ANEXO - Lista com a identificação do MZUSP das conchas utilizadas.

Fonte: Informação pessoal do museu MZUSP.

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