

Rosito Quintão

**ESTUDO COMPARATIVO DA DISTRIBUIÇÃO DE
HIDROCARBONETOS EM AMOSTRAS DE SEDIMENTOS DE
RIO POR CROMATOGRAFIA A GÁS COM DETECTOR POR
IONIZAÇÃO EM CHAMA**

Dissertação submetida ao Programa de
Pós-graduação em química da
Universidade Federal de Santa
Catarina para a obtenção do Grau de
Mestre em Química Analítica
Orientador: Prof. Dr. Luiz Augusto dos
Santos Madureira.

Florianópolis
2015

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária
da UFSC.

Quintão, Rosito

ESTUDO COMPARATIVO DA DISTRIBUIÇÃO DE
HIDROCARBONETOS EM AMOSTRAS DE SEDIMENTOS DE
RIO POR CROMATOGRAFIA A GÁS COM DETECTOR POR
IONIZAÇÃO EM CHAMA / Rosito Quintão ;
orientador, Luiz Augustos dos Santos Madureira ;
coorientador, Morgana Frena. - Florianópolis, SC, 2015.
91 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas.
Programa de Pós-Graduação em Química.

Inclui referências

1. Química. 2. Hidrocarbonetos totais de petróleo. 3.
sedimentos. 4. cromatografia gasosa. I. Madureira, Luiz
Augustos dos Santos. II. Frena, Morgana. III. Universidade
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em
Química. IV. Título.

Rosito Quintão

**ESTUDO COMPARATIVO DA DISTRIBUIÇÃO DE
HIDROCARBONETOS EM AMOSTRAS DE SEDIMENTOS DE
RIO POR CROMATOGRAFIA A GÁS COM DETECTOR POR
IONIZAÇÃO EM CHAMA**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de “Mestre em Química Analítica”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 20 de Novembro de 2015.

Prof. Dr. Vanderlei Gageiro Machado
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Luiz A. S. Madureira
Orientador
UFSC

Prof.^a Dr.^a Vera. L.A.F. Bascuñan
UFSC

Prof. Dr. Luciano Vitali
UFSC

Prof. Dr. Martinho Rau
FURB

EDUCATION IS THE MOST POWERFUL WEAPON WHICH YOU
CAN USE TO CHANGE THE WORLD

Nelson Mandela

Este trabalho é dedicado aos meus
queridos pais.

AGRADECIMENTOS

Seja louvado Deus que deu a Sua misericórdia e graça ao autor para que eu pudesse terminar essa dissertação com título: **Estudo Comparativo da Distribuição de Hidrocarbonetos em Amostras de Sedimentos de Rio Por Cromatografia a Gás Com Detector Por Ionização em Chama.**

A todos aqueles, que de forma direta ou indireta, contribuíram com os seus conceitos para a relação e execução este trabalho, que faz parte de uma etapa importante na minha formação.

E alguns agradecimentos especiais:

Aos meus pais, Felicidade Sarmento e Jose Domingos Quintão, que me criaram e com toda a generosidade me orientaram, com confiança e amor incondicionais, exemplos de coragem e perseverança, que são presentes de Deus na minha vida.

Ao orientador Professor Doutor Luiz Augusto dos Santos Madureira, grande profissional e exemplo de dedicação, paciência e convivência enriquecedora de mostrar caminho, fornecendo as bases essenciais para a concretização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Vanderlei Gageiro Machado como coordenador da pós-graduação Química-UFSC, que com a sua generosidade lidera esse programa.

Aos Professores do Departamento de Química pelos seus ensinamentos e grande dedicação, transmissão de novos conhecimentos científicos e experiência, e em especial ao Prof. Doutor Almir Spinelli, Prof. Doutor Valfredo Tadeu de Fávère, e ao Prof. Doutor Valdir Soldi. Gostaria de manifestar também os meus agradecimentos à Doutora Morgana Frena, que pela generosidade e paciência indispensáveis para me ajudar desde a minha entrada na vida acadêmica do mestrado até o desenvolvimento do trabalho experimental e correção dos resultados. Devo uma palavra de agradecimento aos membros do Laboratório 216/Lares: Marina, Jessica, Matheus, Vânia, Michelle, Maíra, Pedro e Guilherme, onde tenho recebido sempre sinais de amizade.

A todos os funcionários do Departamento de Química, em especial aos amigos Jadir e Graça.

Ao Governo Republica Democrática de Timor Leste (RDTL), através do Ministério da Educação como entidade máxima responsável pela área de educação no país, que concedeu a Bolsa de estudo.

Gostaria de agradecer também ao governo do Brasil através da Universidade Federal de Santa Catarina, que ofereceu espaço e facilidade acadêmica para que eu cursasse o mestrado.

Gostaria de agradecer aos professores que coordenam e fornecem curso de português para estrangeiros, em especial Profa. Doutora Suzani Cassiani, Profa. Doutora Silvia Coneglian e Prof. Doutor Irlan Von Linsingen.

Aos meus amigos Timorenses: Victor Brito, Paulo dos Santos, Luis Alves, Anselmo Xavier, Venâncio Sarmiento, Diogo Sávio, Longinhos da Silva, João dos Santos, Apolinário Noel Faria Guterres, Mario Menezes, Alarico Alves, Domingos Guterres, Azita Valente Camões, Imaculada Ribeiro e Augusta Gomes, na amizade e fraternidade que existiu e o apoio dado ao autor.

Aos meus irmãos: Madalena Dinis, Abílio Pires, Domingos Quintão, Cancio Sarmiento, Igilda dos Reis, Labiluk, que com carinho me apoiaram em orações durante meu estudo.

Por último, para a minha estimada esposa SONIA PEDRUNELA XIMENES e o meu filho estimado MAMAN, por todo o acompanhamento, confiança e amizade que tem demonstrado, mesmo nas situações difíceis devido à distância.

RESUMO

Neste trabalho foi feito um estudo sobre a presença de hidrocarbonetos de petróleo em amostras de sedimentos nos rios Barigui e Iguçu, localizados próximo a uma refinaria de petróleo, situados no estado do Paraná, Brasil. As amostras de sedimentos foram analisadas por meio da técnica de cromatografia gasosa com detector por ionização em chama (do inglês *gas chromatography flame ionization detector*). Este estudo foi desenvolvido para avaliar a presença de hidrocarbonetos que indicam a origem do material orgânico (biogênico e antropogênico) encontrado no sedimento. Os hidrocarbonetos totais de petróleo foram extraídos com solvente *n*-hexano e usando sistema de ultrassom. Diversos parâmetros relatados na literatura foram empregados para auxiliar na identificação da origem dos hidrocarbonetos: mistura complexa não resolvida (UCM do inglês *unresolved complex mixture*); hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH); índice preferencial de carbono (IPC), e razão pristano / fitano. A faixa linear para a curva analítica com padrões externos foi de 1 a 30 mg L⁻¹, com valores de R² > 0,991. As concentrações dos hidrocarbonetos alifáticos nos sedimentos variaram de 1,14 a 529,70 µg g⁻¹. Do total de dez amostras de sedimento analisadas, cinco denominadas de pontos S17, S21, S22, S23 e S27 apresentaram predomínio de hidrocarbonetos de petróleo. Foi possível observar a elevação da linha base nos cromatogramas dessas amostras. Com exceção do ponto S17, os demais locais apresentaram valores de IPC < 1, indicativo de contaminação de petróleo ou material degradado. Nos pontos S21, S23 e S27, em General Lúcio e perto da refinaria, a razão pristano/fitano indicou a presença de contaminação por petróleo. Entretanto, não foi possível avaliar a contribuição petrogênica nos sedimentos baseando-se nas relações pristano/C₁₇ e fitano/C₁₈. Os valores de TPH foram muito inferiores ao valor considerado pela Lista Holandesa como sendo de interferência para solos contaminados: 5.000 mg kg⁻¹. O uso dos hidrocarbonetos e a aplicação dos índices foram importantes para a avaliação da contaminação de hidrocarbonetos na região.

Palavra chave: Contaminação ambiental. Sedimentos. Hidrocarbonetos totais de petróleo. Cromatografia gasosa com detector por ionização em chama.

ABSTRACT

In this study the presence of petroleum hydrocarbons in sediment samples from Barigui river, near an oil refinery, and Iguaçu, in the localities of General Lucio and Araucaria, Parana state, Brazil, has been investigated. Organic extracts were analyzed by gas chromatography with flame ionization detector (GC/FID). The aim was to assess hydrocarbons which indicate the source of the organic material (biogenic and anthropogenic) found in the sediments. The total petroleum hydrocarbons were extracted with n-hexane in an ultrasound system and analyzed by GC/FID. Various parameters reported in the literature were employed to help to identify the source of hydrocarbons: unresolved complex mixture (UCM); total petroleum hydrocarbons (TPH); carbon preferential index (CPI) and ratio pristane / phytane. The linear range for all hydrocarbons extended from 1 to 30 mg L⁻¹ with R² > 0.991. The concentrations of aliphatic hydrocarbons ranged from 1.14 µg g⁻¹ to 529.70 µg g⁻¹. Five samples collected in the rivers Barigui and Iguaçu, named S17, S21, S22, S23 and S27 showed predominance of petroleum hydrocarbons. For these samples, chromatograms showed an increase in the baseline. With the exception of S17 point, the other sites showed IPC values <1, indicative of oil contamination or degraded material. On location S21, S23 and S23, General Lucio and near an oil refinery, the ratio pristane / phytane revealed petroleum contamination. However, it was not possible to assess petrogenic contribution in the sediments based on the ratios pristane / C₁₇ and phytane / C₁₈. The TPH values were much lower than the amount considered by the Dutch list as the interference to contaminated soil: 5.000 mg kg⁻¹. The use of hydrocarbons and application of the parameters were important for the evaluation of contamination in the region.

Keyword: Environmental contamination. Sediments. Total petroleum hydrocarbons. Gas chromatography with flame ionization detector

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação da estrutura do tridecano	28
Figura 2 - Cromatograma parcial com uma distribuição característica de fonte biogênica (Killops e Killops, 2005).	29
Figura 3 - Processo de oxidação e redução do fitol para formar o pristano e o fitano (Steinhauer e Boehm, 1992).	30
Figura 4 - Cromatograma com destaque para a mistura complexa não resolvida (UCM) (Martins, 2005)	32
Figura 5 - Diagrama de um cromatógrafo a gás. Setas sólidas denotam caminhos de fluxo de gás e setas pontilhadas indicam caminhos de fluxo de sinais eletrônicos (Rood, 2007).	34
Figura 6 - Rio Iguazu	41
Figura 7 - Mapa dos pontos de coleta dos sedimentos nas margens alagadas do rio Iguazu localizado no estado do Paraná-Brasil (Imagem de satélite. Departamento de Geografia dos Estados Unidos da América, 2015)	47
Figura 8 - Amostrador do tipo van Veen, utilizado para a coleta das amostras.....	48
Figura 9 - Secagem das amostras no liofilizador.....	49
Figura 10 - Fluxograma com as etapas de trabalho para a extração e determinação quantitativa dos hidrocarbonetos nas amostras de sedimentos.....	52
Figura 11 - Cromatograma de amostra de sedimento localizada na cidade Araucária (S23), mostrando típica distribuição dos alcanos (os valores acompanhados do C indicam o número de átomos de carbono). d = deuterado ou padrão interno (PI)	55
Figura 12 - Concentrações individuais dos hidrocarbonetos alifáticos na estação do rio perto da refinaria (S27)	59
Figura 13 - Concentrações de <i>n</i> -alcanos individuais nos sedimentos do rio Iguazu perto da refinaria ponto S17.....	60
Figura 14 - Distribuição dos <i>n</i> -alcanos individuais, pristano e fitano em amostras de sedimentos de General Lucio: a) ponto S21; b) ponto S22 onde não foi identificado pristano e fitano; e c) ponto S23.....	61
Figura 15 - Curva analítica do padrão externo (C ₉ -C ₃₇) na faixa de concentração de 1 e 30 µg g ⁻¹	66
Figura 16 - Cromatograma da fração de hidrocarbonetos alifáticos, mistura complexa não resolvida (UCM), em amostra de sedimento do rio próximo à refinaria, ponto S27	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros de validação de métodos analíticos do INMETRO e ANVISA.....	37
Tabela 2 - Coeficiente de correlação linear.....	38
Tabela 3 - Localização das amostras de sedimentos.....	46
Tabela 4 - Reagentes e solventes utilizados neste estudo.....	48
Tabela 5 - Equipamentos utilizados.....	49
Tabela 6 - Equação matemática da curva analítica do padrão externo (padrão C ₉ -C ₃₇) para quantificar <i>n</i> -alcanos individuais.....	54
Tabela 7 - Concentrações individuais dos hidrocarbonetos <i>n</i> -alcanos em amostras sedimentos oriundas dos rios Barigui e Iguaçu, estado do Paraná. Localizações: distrito de General Lucio ponto S21, S22, e S23; Cidade Araucária S4; Rio Barigui S27, S18, S17, S7, S4 e S2; < LOQ = abaixo do limite de quantificação.....	57
Tabela 8 - Alif _{tot} : Alifático total; C _{max} : <i>n</i> -alcanos de concentração máxima; IPC: índice preferencial carbono; RTA: Razão entre a abundância relativa de substância de origem terrestre e de origem aquática; UCM: mistura complexa não resolvida; TPH: hidrocarbonetos totais de petróleo; LMW/HMW: relação de baixa massa molar para alta massa molar; Pris: pristano, Fit: fitano, nc = não calculado.....	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CE - Carbono Equivalente
CETESB - Companhia Estadual de Tecnologia de Saneamento Básico
CLS – Cromatografia Líquido-Sólido, do inglês “Liquid-Solid Chromatography”
ECD - Detector de Captura de Elétrons, do inglês “Electron Capture Detector”
GC/FID - Cromatografia a Gás com Detector por Ionização em Chama, do inglês “Gas Chromatography with Flame Ionization Detector”
GMT - Greenwich Mean Time, do português Meridiano de Greenwich
HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Resolução, do inglês “High-Performance Liquid Chromatography”
HPA – Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, do inglês “Polycyclic Aromatic Hydrocarbon”
HRP - Hidrocarbonetos Resolvidos de Petróleo
IC - Cromatografia de Troca Iônica, do inglês “Ion-Exchange Chromatography”
ICH - International Conference on Harmonization
INMETRO - Instituto Nacional de metrologia, qualidade e tecnologia
IPC - Índice Preferencial de Carbono
ISO - International Organization for Standardization
LARES - Laboratório de Resíduos Sólidos
LOD - Limite de Detecção, do inglês “Limit of Detection”
LOQ - Limite de Quantificação, do inglês “Limit of Quantification”
MINEROPAR - Minerais do Paraná
PI - Padrão Interno
Prist/Fit - pristano / fitano
REPAR - Refinaria do Paraná
RSD – Desvio padrão relativo, do inglês “Relative standard deviation”
STI - Valor de Referência (S), Alerta (T) e de Intervenção (I)
TAR/RTA - Razão Terrestre / Aquático, do inglês “Terrestrial Aquatic Ratio”
TLC - Cromatografia em Camada Fina, do inglês “Thin Layer Chromatography”
TPH - Hidrocarbonetos Totais do Petróleo, do inglês “Total Petroleum Hydrocarbon”
UCM - Mistura Complexa não Resolvida, do inglês “Unresolved Complex Mixture”
USEPA - United States Environmental Protection Agency

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
2.1	Hidrocarbonetos no ambiente	25
2.2	Efeitos do Petróleo no Meio Ambiente e Saúde Humana	25
2.3	Hidrocarbonetos Totais de Petróleo (TPH)	26
2.3.1	<i>n</i> -Alcanos	27
2.3.2	Alcanos Isoprenóides	30
2.3.3	Mistura complexa não resolvida (UCM).....	31
2.4	Método de extração de hidrocarbonetos em sedimentos	32
2.5	Revisões dos métodos de medida de TPH.....	33
2.6	Parâmetro analíticos de validação	36
2.7	Localização dos pontos de amostragem no Rio Iguazu, Paraná	40
2.8	Refinaria no Paraná.....	41
3	Objetivos	43
4	Parte Experimental	45
4.1	Local e período de pesquisa	45
4.2	Amostra	45
4.3	Localização das amostras	45
4.4	Técnica de coleta das amostras	47
4.5	Solventes e Reagentes	48
4.6	Equipamentos	49
4.7	Preparo das amostras	49
4.8	Ativação de cobre.....	50
4.9	Extração de TPH dos Sedimentos	50
4.10	Identificação dos Hidrocarbonetos totais de petróleo.....	50
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
5.1	Avaliação de alguns parâmetros analíticos do método GC/FID para determinação dos hidrocarbonetos	53
5.2	Análise individual de hidrocarbonetos nas amostras de sedimentos.....	55
5.3	Avaliações da distribuição dos hidrocarbóentos por algo paramtero.....	62
5.4	Pristano e fitano.....	65
5.5	Mistura complexa não resolvida (UCM).....	66
6	CONCLUSÃO	69
7	PRESPECTIVAS	71
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

APÊNDICE A – Cromatograma da fração de hidrocarbonetos alifáticos, na estação Rio Barigui ponto S2.....	81
APÊNDICE B - Cromatograma da fração de hidrocarbonetos alifáticos, na estação Rio Barigui ponto S4	82
APÊNDICE C - Cromatograma da fração de hidrocarbonetos alifáticos, na estação Rio Barigui ponto S7	83
APÊNDICE D - Cromatograma da fração de hidrocarbonetos alifáticos, mistura complexa não resolvida (UCM), no sedimento do rio perto da refinaria ponto S17	84
APÊNDICE E - Cromatograma da fração de hidrocarbonetos alifáticos, no sedimento do rio perto da refinaria ponto S18.....	85
APÊNDICE F - Cromatograma da fração de hidrocarbonetos alifáticos, mistura complexa não resolvida (UCM), no sedimento do rio perto da refinaria ponto S27	86
APÊNDICE G - Cromatograma da fração de hidrocarbonetos alifáticos, mistura complexa não resolvida (UCM) no sedimento localizado no General Lucio ponto S21	87
APÊNDICE H - Cromatograma da fração de hidrocarbonetos alifáticos, mistura complexa não resolvida (UCM), no sedimento localizado no General Lucio ponto S22.....	88
APÊNDICE I - Cromatograma da fração de hidrocarbonetos alifáticos, mistura complexa não resolvida (UCM), no sedimento localizado no General Lucio ponto S23	89
APÊNDICE J - Cromatograma da fração de hidrocarbonetos alifáticos, na cidade Araucária ponto S44	90
APÊNDICE K - Curva analítica do hidrocarboneto C ₁₇	91

1 INTRODUÇÃO

A natureza fornece vários elementos básicos, tais como carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio, necessários à vida humana. Estes elementos são provenientes de diferentes fontes, tais como material orgânico, que está amplamente disponível em sedimentos aquáticos, e são derivados da atividade de animais aquáticos. A matéria orgânica é composta, sobretudo, de restos vegetais, tais como folhas, galhos raízes e cascas. Outra fonte de formação são os animais e microrganismos, que integram o solo. Toda essa combinação é de grande importância para a natureza do solo, levando fertilidade para as plantas, pois quando decomposto pela ação dos microrganismos vai formar o húmus, um material de cor escura em função principalmente da lignina (Mangrich *et al.*,2004).

Poluição é definida pela Lei n. 6.938/81, art. 3º, III, in verbis, como “a degradação da qualidade ambiental resultante de atividade que direta ou indiretamente: prejudiquem a saúde, a segurança e o bem-estar da população, criem condições adversas às atividades sociais e econômicas; afetem desfavoravelmente a biota, afetem as condições estéticas ou sanitárias do meio ambiente, lancem matérias ou energia em desacordo com os padrões ambiental estabelecido” (Santos, 2002). Pode-se complementar essa definição como toda ação ou omissão do homem que, pela descarga de material ou energia atuando sobre as águas, o solo, o ar, causa um desequilíbrio nocivo, seja ele de curto ou longo prazo sobre o meio ambiente. Algumas poluições podem ocorrer naturalmente, como é o caso do enxofre liberado pelos vulcões, que prejudica o crescimento das plantas, bem como do mercúrio que está presente naturalmente em baixas concentrações nos oceanos e poderia ser bioconcentrado nos peixes, o que alarmaria a saúde pública. Com isso, certas substâncias tóxicas não são apenas liberadas pelo homem, mas também podem ocorrer de forma natural (Miguel *et al.*,2012).

Um dos poluentes mais estudados são os hidrocarbonetos de petróleo. As principais formas de introdução do petróleo no ambiente aquático ou marinho ocorrem por meio de acidentes. Vários são os vazamentos de petróleo que ocorreram pelo mundo, tais como o do Golfo do México, na América do Norte, em 2010 (Luiza, 2012), além de outros acidentes que ocorreram de forma semelhante como as 200 mil toneladas de óleo despejadas na costa da França pelo acidente do navio petroleiro *Amoco Cadiz* (1978); as 40 mil toneladas lançadas pelo *Exxon Valdez* no litoral do Alasca (1989); e o incêndio do *Haven I*, na costa da Itália, com 140 mil toneladas de óleo a bordo (1991). Também

em 1991, a Guerra do Golfo contaminou o Kuwait com 820 mil toneladas de óleo e, dois anos depois, o petroleiro *Braer* derramou 80 mil toneladas de óleo nas águas costeiras das ilhas Shetland (Escócia). No Brasil, em março de 1975, um acidente rompeu o casco do navio-tanque iraquiano *Tarik Ibn Ziyad* no canal central de navegação da baía de Guanabara. Várias praias foram atingidas nas cidades do Rio de Janeiro e de Niterói, tanto no interior da baía quanto na costa oceânica (Mirian *et al.*, 2002). Em julho de 2000, aconteceu um vazamento de 4 milhões de litros óleo cru na refinaria Presidente Getúlio Vargas, sendo afetados os rios Barigui e Iguaçú (Puerari, 2011).

Outra forma de introdução de petróleo no ambiente aquático ou marinho ocorre por meio de carga e descarga e principalmente pela limpeza de tanques de estocagem.

Os hidrocarbonetos são considerados um grupo de biomarcadores que podem ser utilizados para avaliar a origem da matéria orgânica incorporada nos sedimentos e solos (Marsaoli, 2004). As pesquisas sobre hidrocarbonetos, que incluem estudos sobre as fontes e os padrões de distribuição de hidrocarbonetos em sedimentos, especialmente hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos em águas de rios, estuarinas e marinhas, incluem centenas de trabalhos publicados e diversos livros que buscam revisar e atualizar as últimas técnicas e grupos de hidrocarbonetos estudados (Reddy *et al.*, 1999).

Uma maneira simples e menos laboriosa de se avaliar a presença de derivados de petróleo é por meio da determinação dos Hidrocarbonetos Totais de Petróleo (TPH, do inglês *Total Petroleum Hydrocarbon*). O TPH é um parâmetro usado para se estimar o nível de contaminação por derivados de petróleo no ambiente. Os valores de TPH incluem, além das quantidades totais dos hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos, que são separados por cromatografia a gás, uma mistura de substâncias que não é cromatograficamente separada e, por isso, denominada de mistura complexa não resolvida (UCM, do inglês *Unresolved Complex Mixture*).

Os TPH correspondem ao somatório das frações dos hidrocarbonetos resolvidos de petróleo (HRP) e a UCM. Por UCM entende-se o conjunto de substâncias que não pode ser resolvido por cromatografia à gás, sendo considerada a fração mais biodegradada ou intemperizada dos hidrocarbonetos presentes no meio ambiente, enquanto que HRP refere-se à fração de hidrocarbonetos recentes, não degradada (Celino *et al.*, 2008).

Diferentes métodos podem ser aplicados para analisar os TPH, porém nenhum método é capaz de abranger toda a composição de hidrocarbonetos contidos no petróleo. Os métodos disponíveis diferenciam-se quanto à forma da extração dos hidrocarbonetos, à forma de filtração e ao método instrumental de detecção. Uma vez que o parâmetro TPH expressa concentrações dos hidrocarbonetos, o seu valor é restrito ao método de análise. Por exemplo, de acordo com a ISO 9377-2 o TPH abrange as cadeias hidrocarbônicas de C_{10} a C_{40} , (Munari e Cadoppi, 2006) enquanto que para a USEPA 8270, abrange as cadeias hidrocarbônicas de C_6 a C_{36} (Pelagatti *et al.*, 2006) Caso o parâmetro TPH de uma mesma amostra seja analisado por meio de dois métodos distintos, os resultados podem diferir sem que necessariamente existam erros nas análises. Para a interpretação dos resultados, é importante conhecer as possibilidades e os limites do método aplicado. Os métodos comumente usados para determinação do TPH são: GC/FID, espectroscopia de infravermelho, gravimetria e imunoensaio (Battelle, 2007). Os hidrocarbonetos alifáticos (HA) e os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) compõem os TPH. Entretanto, essas substâncias também podem ser oriundos da biossíntese de plantas e animais assim como resíduos de queimas de florestas, plantações e combustíveis fósseis. Portanto, é necessário saber diferenciar os hidrocarbonetos petrogênicos dos derivados de outras fontes para interpretar corretamente o significado do valor do TPH.

No presente trabalho, o TPH de amostras de sedimentos de rio provenientes de locais com potencial de contaminação com derivados de petróleo foi determinado por meio da extração com hexano seguido da análise por GC/FID. Por ser uma fração do petróleo, o diesel foi usado como padrão de referência pois contém hidrocarbonetos alifáticos e , aparecendo uma linha elevação da base (UCM). Posteriormente foram utilizadas amostras provenientes de ambientes contaminados com derivados de petróleo. Foram preparadas curvas de analíticas com soluções de diesel em hexano e também do padrão TPH para se determinar os limites de detecção e quantificação.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 HIDROCARBONETOS NO AMBIENTE

Os hidrocarbonetos são substâncias orgânicas que contêm em suas estruturas carbono e hidrogênio. Baseado nessa estrutura, eles podem ser divididos em dois grandes grupos: os hidrocarbonetos alifáticos e os aromáticos. Em sistemas aquáticos costuma-se separar os hidrocarbonetos lineares de acordo com a extensão da cadeia hidrocarbônica em cadeias médias ($< n-C_{20}$) e cadeias longas ($> n-C_{20}$). Esta separação está relacionada à origem dessas substâncias que pode ser marinha ou terrestre, e de água doce respectivamente (Marsaoli, 2004).

Os hidrocarbonetos são encontrados em toda a natureza, podem espalhar-se a partir de suas fontes através do ambiente, na cadeia alimentar, nas massas de água ou na superfície das partículas. No caso dos hidrocarbonetos considerados poluentes, isso representa um problema sério no traçado de poluição no ambiente, pois estão sempre acompanhados por hidrocarbonetos naturais, cuja distribuição se assemelha a dos poluentes (Blumer *et al.*, 1970). Um dos grupos mais comuns de poluentes orgânicos persistentes é representado pelos TPH. São amplamente estudados por apresentarem características tóxicas para muitos organismos, inclusive para a saúde humana (Moreira *et al.*, 2011).

2.2 Efeitos do Petróleo no Meio Ambiente e Saúde Humana

Embora aumente as receitas orçamentais dos países, o petróleo tem um impacto negativo sobre o meio ambiente. Nas explorações e produções marinhas os derramamentos não são a única fonte de riscos e contaminação. Um poço perfurado já representa uma fase de impacto agudo sobre a fauna e flora. São descartados fluidos de perfuração, cascalhos saturados de diferentes substâncias e inclusive substâncias tóxicas, incluindo metais tóxicos como mercúrio, cádmio, zinco e cobre (Mariuzzo, 2005).

Os principais efeitos de derramamentos de óleo em água sobre a saúde humana são: dor de cabeça, irritação na garganta, coceira nos olhos, cansaço, tontura, náusea, possíveis impactos no sistema reprodutivo, efeitos adversos no sistema respiratório, entre outros. Esses riscos podem afetar também as pessoas que trabalham em atividades de limpeza das praias e para turistas. Outro tipo de impacto, considerado

indireto, pode ocorrer através de alimentos marinhos tais como camarões, caranguejos e ostras (Ribeiro, 2012). Lemiere e colaboradores (2005) realizaram um estudo para determinar o risco potencial genotóxico para os consumidores de alimentos marinhos contaminados com HPA provenientes de derramamentos de petróleo. O resultado desta pesquisa foi que aqueles ratos que consomem os alimentos marinhos são contaminados por petróleo.

O vazamento de óleo que aconteceu em 2010, no golfo de México, foi um dos maiores em todos os tempos na América do Norte, com enormes danos à vida marinha e às áreas ao redor do local do acidente. Estimativas indicam que o acidente causou a morte de aproximadamente seis mil tartarugas (de cinco espécies, todas ameaçadas de extinção), 26 mil mamíferos marinhos e 82 mil aves marinhas (Luiza, 2012).

2.3. Hidrocarbonetos Totais de Petróleo (TPH)

O termo hidrocarbonetos totais de petróleo é usado frequentemente para descrever a concentração de hidrocarbonetos totais em amostras ambientais. Outra definição para os hidrocarbonetos totais de petróleo é dada pelo Departamento de Qualidade Ambiental de Oklahoma, EUA, como a faixa de carbono variando entre C_6 e C_{35} , representando a variada e complexa mistura de substâncias. São definidas ainda três faixas de TPH: faixas de gasolina ($C_6 - C_{12}$), faixa de diesel ($C_{12} - C_{22}$) e faixa de óleo lubrificante ($C_{22} - C_{35}$); todas passíveis de determinação de metas de remediação baseadas em risco (Kolesnikovas *et al.*, 2009). Os TPH são facilmente determinados a partir da pesagem da fração dos hidrocarbonetos obtida do extrato orgânico total, em um dos muitos procedimentos disponíveis (Forcada *et al.*, 2008). De outra maneira, os TPH podem ser estimados por meio da integração das áreas dos componentes resolvidos e não resolvidos, conforme descrito na equação 1 (Reddy *et al.*, 1999).

$$TPH = \frac{Area\ Total - \acute{A}rea\ PI}{\acute{A}rea\ PI} \quad (1)$$

Onde PI é área do padrão interno. Área total significa a área total da UCM e hidrocarbonetos resolvidos analisados por cromatografia à gás.

Existe uma série de indicadores que são propostos para o reconhecimento de hidrocarbonetos de petróleo em sedimentos, nas quais são incluídas as concentrações elevadas de hidrocarbonetos ($>100 \text{ mg kg}^{-1}$), *n*-alcanos C_{21} - C_{35} que não apresentaram predominância de ímpares em relação aos pares, mistura complexa não resolvida (UCM) no cromatograma da fração dos hidrocarbonetos, os estereoisômeros termicamente estáveis tais como o pristano e o fitano, e as substâncias denominadas de biomarcadores tais como os esteranos e os hopanos (Volkman *et al.*, 1992).

Baseado no trabalho de Strener e colaboradores (2000), o primeiro método direto emprega uma única análise para todos os carbonos equivalente (CE) entre C_6 a C_{28} . O *n*-pentano é utilizado para extrair a amostra. Em seguida, é analisada por GC/FID para obter diretamente o TPH. Esta análise preliminar pode ser usada para "impressão digital" de contaminantes dos hidrocarbonetos presentes na natureza. Esse método é atualmente mais usado para a determinação de TPH, porque além do alto grau de sensibilidade e seletividade, pode ser usado para a análise individual dos hidrocarbonetos de forma qualitativa e quantitativa.

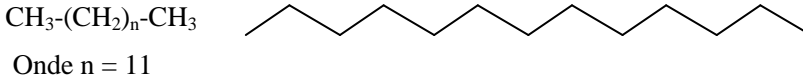
A lei de proteção do solo, editada pelo Governo Holandês, estabelece três valores distintos (STI) de qualidade para os compartimentos ambientais citados. São o valor de referência (S), que indica um nível de qualidade do solo e da água subterrânea que permite considerá-los limpos; o valor de intervenção (I) que indica um nível de qualidade do solo acima do qual existem riscos para a saúde humana e para o ambiente; e o valor de alerta (T), que indica a ocorrência de uma certa alteração que diminuiu a qualidade do solo (CETESB, 1999).

Os valores de referência (S), intervenção (I) e alerta (T) de matéria orgânica (TPH) para solo, considerando-se um teor de argila e de matéria orgânica de 0 %, são 1000 mg kg^{-1} (I), 10 mg kg^{-1} (S) e 505 mg kg^{-1} (T). Enquanto os valores de referência para o solo considerando-se um teor de argila de 25,0 % e de matéria orgânica 10% são 5000 mg kg^{-1} (I), 50 mg kg^{-1} (S) e 2525 mg kg^{-1} (T) (CETESB, 1999).

2.3.1 *n*-Alcanos

Os *n*-alcanos denominados biogênicos podem ser sintetizados por organismos terrestres como plantas superiores e bactérias (Figura 1).

Figura 1. Representação da estrutura dos hidrocarbonetos alifáticos ($C_{13}H_{28}$)



Os hidrocarbonetos biogênicos são os produzidos por plantas e animais e incluem as ceras, encontrados em folhas de plantas, bactérias e algas ou podem ser gerados por processos biológicos ou nos estágios iniciais de diagênese em sedimentos marinhos (Wang, 2003). Uma grande fração de petróleo consiste de hidrocarbonetos alifáticos, que pode ser utilizada para determinar a presença de óleo no ambiente aquático (Diaz, 1994). Além disso, existem hidrocarbonetos alifáticos não biogênicos nos sedimentos, que em sua maioria vêm dos restos do óleo que contêm os componentes de *n*-alcanos, alcanos ramificados e cíclicos (derivados do hopano e do esterano) e geralmente apresentam também a UCM (Doskey, 2001).

Tanto organismos terrestres quanto marinhos podem sintetizar *n*-alcanos, predominantemente com cadeias hidrocarbônicas ímpares. No fitoplâncton marinho os alcanos lineares com átomos de carbono 15, 17, 19 e 21 são os mais abundantes (Clark, 1966, Blumer *et al.*, 1971). Em material orgânico terrestre tais como ceras vegetais (grama, folhas e fruto), os *n*-alcanos lineares com cadeias hidrocarbônicas 27, 29, 31 e 33 são os mais abundantes (Medeiros *et al.*, 2005). Algumas espécies de bactéria e de zooplâncton podem produzir *n*-alcanos de cadeias longas, sem predomínio de carbono ímpar sobre o par (Volkman *et al.*, 1980).

Existem vários índices baseados na distribuição dos hidrocarbonetos que podem ser utilizados para explicar a origem dessas substâncias no meio ambiente (Volkman *et al.*, 1992). Por isso, é muito importante o uso de alguns desses índices em pesquisas sobre áreas possivelmente contaminadas por hidrocarbonetos de origem petrogênica. Alguns índices são usados: o Índice Preferencial de Carbono (IPC) foi calculado para algumas faixas conforme o número de átomos de carbono. A determinação do IPC é uma medida comparativa da contribuição de *n*-alcanos derivados de síntese biogênica relacionada a vegetais superiores ($IPC > 1$) e hidrocarbonetos antropogênicos ($IPC < 1$), indicativo de poluição ambiental por petróleo (Celino *et al.*, 2008). O IPC foi introduzido há mais quarenta anos por Bray e Evans (1961). Este índice é calculado pela (equação 2). Um exemplo de uma

distribuição característica de um ambiente não contaminado pode ser observado na Figura 2.

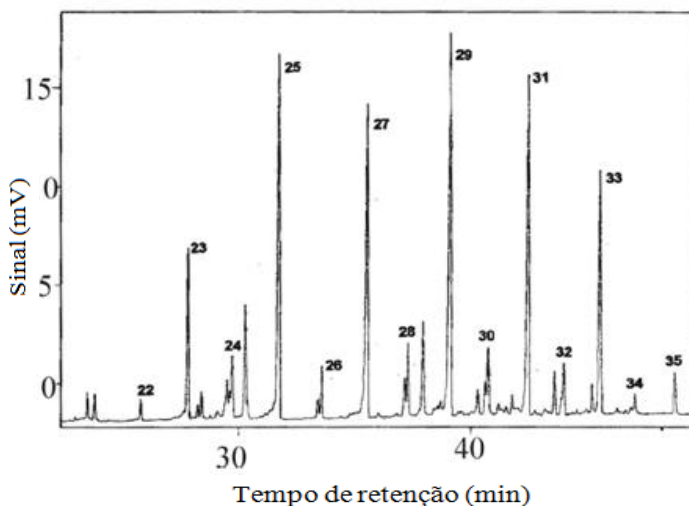
$$IPC = \frac{1}{2} \left(\frac{C_{25}+C_{27}+C_{29}+C_{31}+C_{33}}{C_{24}+C_{26}+C_{28}+C_{30}+C_{32}} + \frac{C_{25}+C_{27}+C_{29}+C_{31}+C_{33}}{C_{26}+C_{28}+C_{30}+C_{32}+C_{34}} \right) \quad (2)$$

Onde carbonos ímpares como $C_{25} - C_{33}$ indicam a concentração dos *n*-alcanos de origem de plantas superiores, enquanto as concentrações dos carbonos pares como $C_{24} - C_{34}$ são indicativos de matéria orgânica de origem petrogênica.

Por outro lado, de acordo com Bouloubassi (1990), quando o valor de CPI varia entre 4 e 7 reflete a presença predominante de *n*-alcanos origem de continental. Outro índice muito utilizado é o chamado razão abundância entre material composto terrestre e aquático (RTA) que é calculado a partir da razão entre a concentração de hidrocarbonetos lineares característicos de fontes terrestres e a concentração dos hidrocarbonetos lineares característicos de fontes aquáticas (Bourbonniere *et al.*, 1996) (equação 3).

$$RTA = \left(\frac{C_{27}+C_{29}+C_{31}}{C_{15}+C_{17}+C_{19}} \right) \quad (3)$$

Figura 2. Cromatograma parcial com uma distribuição característica de hidrocarbonetos de fonte biogênica (Adaptado de Killops e Killops, 2005).



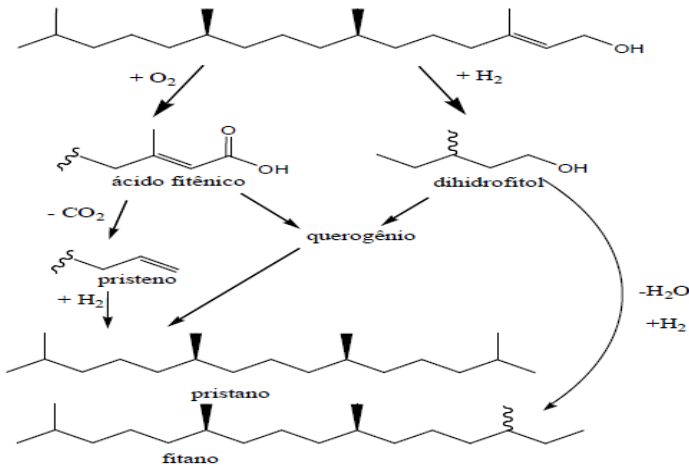
O parâmetro RTA é importante para determinar a origem dos *n*-alcanos. Assim, quando $RTA < 1$, indica a predominância de fontes aquáticas sobre as fontes terrestres, e quando $RTA > 1$ há predomínio de material orgânico de origem terrestre (Celino *et al.* 2008)

2.3.2 Alcanos Isoprenóides

Dentre os alcanos ramificados encontrados no petróleo, os mais importantes são os isoprenoides. A clorofila é principal fonte de dois dos mais abundantes isoprenoides: pristano e fitano (Kissin, 1993). O pristano (2,6,10,14-tetrametilpentadecano) e o fitano (2,6,10,14-tetrametilhexadecano) são produtos de alteração geológica do fitol e outros produtos naturais isoprenoides. Portanto, não são constituintes primários da biota terrestre (Medeiros *et al.*, 2005).

O pristano e o fitano são compostos produzidos através de processos de oxi-redução que ocorrem no ambiente de deposição da matéria orgânica. Esses hidrocarbonetos são produzidos a partir da degradação de fitol ($C_{20}H_{40}O$) que é um álcool abundante na natureza e constituinte da clorofila (Figura 3). Além da degradação do fitol, de acordo com Volkman e colaboradores. (1992), os organismos marinhos como fitoplâncton, zooplâncton e bactéria, contêm estas substâncias e privilegiam a formação de pristano.

Figura 3. Processo de oxidação e redução do fitol para formar o pristano e o fitano (Adaptado de Steinhauer e Boehm, 1992).



Existem dois processos possíveis para a conversão de fitol em pristano. O primeiro inclui a hidrogenação da ligação dupla, a oxidação do álcool a ácido e a descarboxilação de hidrocarboneto saturado. A outra envolve uma conversão favorecida energeticamente e condicionalmente que poderia ser conseguido por meio de hidrogenação (Jeng, 1983).

A relação pristano/fitano pode ser utilizada para determinar a origem dos hidrocarbonetos no meio marinho. Valores para essa razão, quando maior do que 1, em geral entre 3 e 5, indica que o predomínio é de fonte biogênica (Steinhauer & Boehm, 1992). Entretanto, o valor abaixo ou próximo de 1 indica, juntamente com outros parâmetros tais como a distribuição de *n*-alcanos e o IPC, possível contaminação de petróleo (Cripps, 1989).

2.3.3 Mistura complexa não resolvida (UCM)

A UCM é uma mistura de várias substâncias orgânicas que não podem ser separadas cromatograficamente (Figura 4). Em geral, a UCM presente na fração dos hidrocarbonetos alifáticos de extratos dos sedimentos representa contaminação de petróleo. Por isso, muitas vezes é usado, em conjunto com a presença de certos alcanos, na avaliação de ambientes expostos à contaminação (Killops & Killops, 2005).

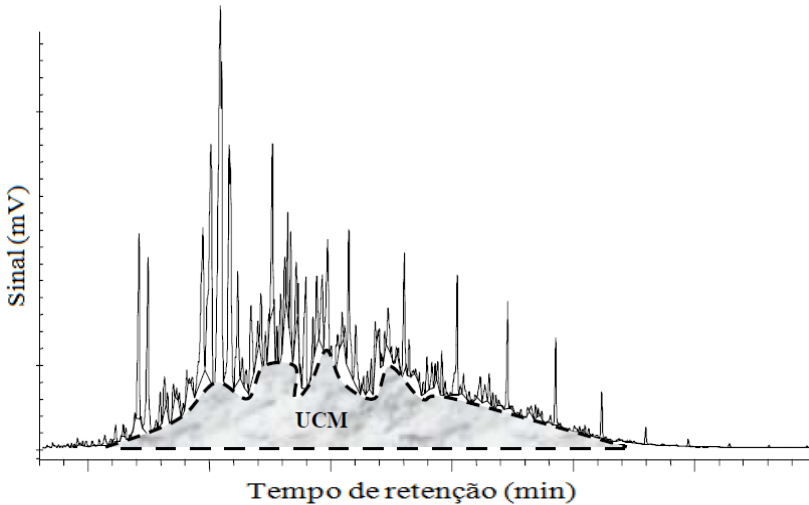
Embora a UCM de hidrocarbonetos de petróleo seja comumente encontrada durante a análise cromatográfica, pouca atenção tem sido dada à sua toxicologia. Estudos recentes mostraram que componentes de UCM em sedimentos podem ser acumulados em organismos bentônicos, causando efeitos sub-letais para os organismos. Além de seu próprio potencial de bioacumulação e toxicidade, a UCM também pode alterar a biodisponibilidade e toxicidade de outros contaminantes em sedimentos (You *et al.*, 2012).

Em geral, a determinação quantitativa da UCM é feita a partir da integração de toda área que se encontra abaixo dos picos correspondentes aos hidrocarbonetos resolvidos (como os *n*-alcanos, o pristano e o fitano) e não-resolvidos (equação 4). O fator resposta usado é um valor obtido para uma amostra de petróleo (óleo diesel, por exemplo) ou de uma mistura de padrões de TPH (Reddy e Quinn, 1999).

$$UCM = \frac{\text{Área Total} - \text{Área total picos resolvidos}}{\text{Área do PI}} \quad (4)$$

Onde, Área total significa a área total da UCM e PI é a área do padrão interno.

Figura 4. Cromatograma com destaque para a mistura complexa não resolvida (UCM) (adaptado de Martins, 2005)



2.4. Método de extração de hidrocarbonetos em sedimentos

Extração líquido-líquido é um processo de separação de uma substância ou conjunto de substâncias da mesma classe com base na diferença de solubilidade entre dois líquidos imiscíveis, normalmente água e solventes orgânicos.

A extração dos analitos em amostras sólidas continua sendo um passo crítico na análise de contaminantes. Deve-se avaliar o método de extração sempre considerando em conta os seguintes aspectos: seletividade para os componentes de interesse, recuperação do analito, volume do solvente orgânico necessário, toxicidade do solvente e compatibilidade com o método de análise, tempo de extração e número de passos de limpeza requeridos após a extração. Cada técnica tem seu próprio mérito e a escolha da extração depende, ainda, de outros fatores como o custo, a simplicidade de operação e a disponibilidade de um método padrão ou validado (Rezende *et al.*, 2009).

Entre os vários métodos de extração, a extração dos hidrocarbonetos por ultrassom baseia-se no método 3550B-USEPA e a extração com Soxhlet está baseada no método 3540C-USEPA. A extração com Soxhlet requer um grande volume de solvente (> 50 mL) e pode demorar até 24 horas. Com ultrassom, o volume total é menor que 50 mL, com tempo de duração de 30 minutos (Emidio & Dorea, 2010). De acordo com Rezende e colaboradores. (2009) para extração de compostos orgânicos semi-voláteis e não voláteis de matrizes sólidas, o procedimento é tedioso, pois além do longo tempo e grande volume de solvente pode ainda causar a degradação de substâncias termicamente lábeis. A extração por ultrassom, em um curto espaço de tempo, oferece boa recuperação dos analitos, por meio de um equipamento simples e de fácil operação. A otimização de parâmetros para a extração por ultrassom envolve o tipo ou composição do solvente, tempo de extração, carga da amostra e teor de água, que são necessários para a obtenção de uma maior eficiência e reprodutibilidade de extração.

2.5 Revisões dos métodos de medida de TPH

São vários os métodos comumente utilizados para determinar hidrocarbonetos totais de petróleo. O método analítico disponível frequentemente usado para determinar TPH inclui a cromatografia gasosa (CG) com detector de ionização em chama, infravermelho (IR), imunoensaio e gravimétrica (Battelle, 2007).

2.5.1 Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização em Chama

O método que utiliza cromatografia gasosa é, atualmente, o mais usado para a determinação de TPH, porque além do alto grau de sensibilidade e seletividade, ele pode ser usado para a identificação individual dos hidrocarbonetos (Vorhees *et al.*, 1999).

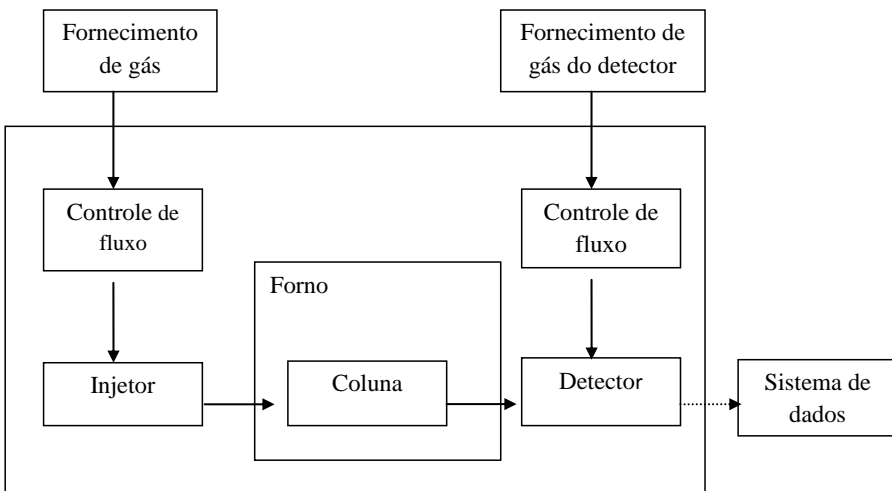
Baseado em Battelle, (2007) os métodos gravimétricos, infravermelho, e imunoensaio não foram utilizando para determinar os compostos individuais dos hidrocarbonetos totais de petróleo, portanto tem aplicabilidade de risco limitada.

O sistema de GC é composto por seis componentes principais: os controladores de fornecimento de gás e de fluxo, injetor, detector, forno, coluna, e um sistema de aquisição de dados. O injetor, detector e forno são partes integrantes do cromatógrafo a gás; as colunas, gases e

sistema de dados são itens separados e muitas vezes são fornecidos por um fabricante diferente (Figura 5) (Rood, 2007).

O detector FID é o mais empregado em aplicações de GC. A maioria dos compostos orgânicos produz íons e elétrons quando pirolisados à temperatura de uma chama ar/hidrogênio. A detecção envolve o monitoramento da corrente produzida pela coleta desses portadores de carga (Skoog *et al.*, 2006)

Figura 5. Diagrama de blocos de um cromatógrafo a gás. Setas sólidas denotam caminhos de fluxo de gás e setas pontilhadas indicam caminhos de fluxo de sinais eletrônicos (adaptado de Rood, 2007).



Uma vez que o FID responde ao número de átomos de carbono que entram no detector por unidade de tempo, ele é um dispositivo *sensível à massa* em vez da concentração. Em consequência, esse detector apresenta a vantagem de que a alteração da vazão da fase móvel exerce um pequeno efeito sobre a sua resposta (Skoog *et al.*, 2006)

O detector é insensível para gases não combustíveis como CO, CO₂, SO₂ e NO_x. Essas propriedades tornam o FID útil para a análise de amostras orgânicas, incluindo aquelas contaminadas com água e com óxidos de nitrogênio e enxofre. Uma desvantagem desse detector é que ele destrói a amostra durante a etapa de combustão (Skoog *et al.*, 2006)

2.5.2 Gravimetria

O método gravimétrico é o método que se baseia na pesagem de amostra após a extração do analito e evaporação do solvente (Trindade *et al.* 2007). Alguns métodos gravimétricos incluem uma etapa de limpeza da amostra para remover a fração de hidrocarbonetos biogênicos, aqueles que não são considerados provenientes de petróleo. Uma das vantagens do método gravimétrico é o baixo custo e a sua desvantagem é que não dá nenhuma informação sobre o tipo de hidrocarboneto que está presente e também não são apropriados para a medida dos hidrocarbonetos de baixo peso molecular que volatilizam em temperaturas abaixo de 70-85°C (Okparanma e Mouazen, 2013).

2.5.3 Infravermelho (IR)

Baseado no estudo *TPH Criteria Working Group*, o método de infravermelho para a determinação de TPH é definido como tudo que é extraído por um solvente, que não seja removido na coluna de *cleanup* e que possa ser detectado por IR (Infrared) (Nascimento *et al.*, 2008; Wada, 2011) A vantagem deste método é sua rapidez e baixo custo. A exatidão e precisão deste método são frequentemente baixas, especialmente para amostras não homogêneas de solo.

Antes de utilizar a cromatografia gasosa para determinar TPH, a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) e a Organização Internacional de Padronização (ISO) reconheceram o método infravermelho como um método oficial para determinar TPH. Mas na sequência, houve a proibição da utilização de Freon (solventes tóxicos) como um solvente de extração (Okparanma e Mouazen, 2013).

No entanto, a sua utilização como método de medição de TPH não é mais suportada por organização internacional de padronização (ISO), por isso, recomenda substituir pela Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização em Chama (GC/FID), atualizado desde 2004 (Okparanma e Mouazen, 2013).

2.5.4 Imunoensaios

Imunoensaios têm sido extremamente úteis para a determinação dos HPA e de seus metabólitos em matrizes biológicas. A facilidade de aplicação destes métodos e a disponibilidade de “kits” para sua realização coloca-os como alternativas viáveis e baratas aos métodos que exigem o uso de equipamentos caros e sofisticados (Netto *et al.*, 1999)

Segundo estudos do *TPH Criteria Working Group* (1998), atualmente, a maioria destes métodos mede somente compostos aromáticos. O imunoensaio é usado como uma técnica de seleção, ou seja, dependendo do composto de interesse, usa-se substâncias biológicas específicas para reagir com o analito. E sua precisão e exatidão são mais baixas do que os métodos padrões de laboratório tais como GC/FID ou medidas de IR (Vorhees *et al.*, 1999).

2.6 Parâmetros Analíticos de Validação

O desenvolvimento de um método analítico depende da qualidade das medidas instrumentais e a confiabilidade estatística dos envolvidos no seu processamento (Lima, 2012). Os parâmetros para validação de métodos têm sido definidos em diferentes grupos de trabalho de organizações nacionais ou internacionais. A representação das indústrias e agências reguladoras dos EUA, Europa e Japão através da ICH (International Conference on Harmonization) definiram parâmetros, requerimentos e, em alguns casos, também metodologias para validação dos métodos analíticos (Ribani *et al.*, 2004).

A IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) também redigiu um documento técnico que define um guia para validação de métodos analíticos que tem sido utilizado pela ISO. Apresenta a validação de métodos como um dos requisitos técnicos importantes na qualidade assegurada dos laboratórios de ensaio, bem como a documentação do trabalho de validação (Ribani *et al.*, 2004).

No Brasil duas grandes agências credenciadoras para verificar a competência de laboratório de ensaio, a ANVISA (Agencia Nacional de vigilância Sanitária) e o INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normatização e Qualidade Industrial) (Ribani *et al.*, 2004; Lima, 2012), com suas similaridades e diferenças podem ser melhor visualizadas na Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetro de validação do INMETRO e ANVISA

INMETRO	ANVISA
Especificidade/Seletividade	Especificidade/Seletividade
Faixa de trabalho e Faixa linear de trabalho	Intervalos da curva de calibração
Linearidade	Linearidade
-	Curva de Calibração
Limite de Detecção (LD)	Limite de Detecção (LD)
Limite de Quantificação (LQ)	Limite de Quantificação (LQ)
Sensibilidade (inclinação da curva)	-
Exatidão e tendência (bias)	Exatidão
Precisão	Precisão
- Repetitividade	-Repetibilidade (precisão intra-corrída)
	-Precisão intermediária (precisão inter-corrída)
- Reprodutibilidade	- Reprodutibilidade (precisão inter-laboratorial)
Robustez	Robustez
Incerteza de medição	-

2.6.1 Linearidade

A linearidade refere-se à capacidade do método de gerar resultados linearmente proporcionais à concentração do analito, enquadrados em faixa analítica especificada (Brito *et al.*, 2003).

A curva analítica é a correlação entre o sinal e a massa ou concentração da espécie a ser quantificada muito raramente é conhecida a priori (Ribani *et al.*, 2004). Na maior parte dos casos, a relação matemática entre o sinal e a concentração ou massa da espécie de interesse deve ser determinada empiricamente, a partir de sinais medidos para massas ou concentrações conhecidas dessa espécie. Essa relação matemática, muitas vezes, pode ser expressa como uma equação de reta chamada de curva analítica (Ribani *et al.*, 2004). A equação da curva de analítico é descrita pela equação 5:

$$y = ax + b \quad (5)$$

De onde: y = sinal analítico medido

x = variável concentração desconhecida
 a = coeficiente angular
 b = coeficiente linear

A ANVISA e o INMETRO recomendam o valor de R acima de 0,90 como já suficiente para a quantificação dos analitos. Os valores dos coeficientes correlação linear são descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Coeficiente de correlação linear para modelos matemáticos de curva analíticos

R ²	Correlação
1	Perfeita
0,91-0,99	Fortíssimo
0,61-0,91	Forte
0,31-0,61	Media
0,01-0,31	Fraca
0	Nula

2.6.2 Desvio padrão relativo (RSD)

O desvio padrão relativa é a outra expressão da precisão através da sua estimativa como na equação 6. Desvio padrão relativo também é conhecido como coeficiente de variação (CV) (Ribani *et al.* 2004).

$$RSD (\%) \text{ ou } CV (\%) = \frac{s}{M} \times 100 \quad (6)$$

Na qual s = desvio-padrão das recuperações e M = média das recuperações.

A precisão pode ser considerada no nível de repetitividade, de precisão intermediária e de reprodutividade A repetitividade expressa a precisão nas mesmas condições de operação (equipamento, analista, reagentes, dia e mesmas condições ambientais) em pequeno espaço de tempo. A precisão intermediária expressa as variações no mesmo laboratório que envolvem diferentes dias, diferentes analistas e diferentes equipamentos, entre outros. A reprodutividade expressa a

precisão entre laboratórios, mediante estudos colaborativos usualmente aplicados para padronização de metodologias (Brito *et al.*, 2003).

2.6.3 Recuperação

Uma das formas de avaliar a exatidão de um método é pela recuperação. A recuperação (ou fator de recuperação), R, é definida como a proporção da quantidade da substância de interesse, presente ou adicionada na porção analítica do material teste, que é extraída e passível de ser quantificada (Ribani *et al.*, 2004). A recuperação pode ser estimada de materiais de referencia certificados (CRM), quando disponíveis ou de uma substância substituta (*surrogate*). Os intervalos aceitáveis de recuperação para análise de resíduos geralmente estão entre 70 e 120 %, com precisão de até ± 20 %. Porém, dependendo da complexidade analítica e da amostra, este valor pode ser de 50 a 120 %, com precisão de até ± 15 % (Brito *et al.*, 2004).

$$Rec = \frac{[Valor\ obtido - Valor\ real]}{Valor\ real} \times 100\% \quad (7)$$

2.6.4 Limite de Detecção

A menor concentração do analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, sob condições experimentais estabelecidas constitui o limite de detecção (Brito *et al.* 2003). O limite de detecção (LD) pode ser expressa como equação 8.

$$LD = 3,3x \frac{s}{S} \quad (8)$$

Onde s é a estimativa do desvio padrão da resposta, que pode ser a estimativa do desvio padrão do branco, da equação da linha de regressão ou do coeficiente linear da equação e S é a inclinação (“slope”) ou coeficiente angular da curva analítica (Ribeiro *et al.*, 2004)

2.6.5 Limite de Quantificação

O limite de quantificação é definido como a menor concentração do analito, que pode ser quantificada na amostra, com exatidão e precisões aceitáveis, sob as condições experimentais adotadas. Pode ser estimado por meio do sinal/ruído, do desvio-padrão e por processos estatísticos (Brito *et al.*, 2003).

O procedimento sinal/ruído pode ser aplicado somente para processos analíticos que exibem linha de base. Efetua-se a determinação da razão sinal/ruído por meio da comparação dos sinais medidos da amostra com baixas concentrações conhecidas do analito com as do branco, estabelecendo-se a concentração mínima na qual o analito pode ser quantificado (Brito *et al.* 2003). O limite de quantificação (LQ) pode ser expresso pela equação 9.

$$LD = \frac{10 \times s}{S} \quad (9)$$

De onde s = desvio-padrão da resposta; S = o coeficiente angular do gráfico de calibração (sensibilidade do método).

2.7. Localização dos pontos de amostragem no Rio Iguaçu, Paraná.

A bacia do rio Iguaçu localiza-se ao sul do Estado do Paraná e compreende 101 municípios, com uma população estimada de 4,5 milhões de habitantes, dos quais 79,4 % correspondem à população urbana, sendo Curitiba, São José dos Pinhais, Colombo, Araucária, Pinhais, Guarapuava, Cascavel e Francisco Beltrão as cidades mais importantes situadas nesta bacia (Baumgartner *et al.*, 2012). No alto Iguaçu, onde se situa a região metropolitana de Curitiba, existe uma grande concentração populacional, com atividades industriais, comerciais e de serviços, enquanto que no médio e baixo Iguaçu predomina a agropecuária, sendo as culturas de soja e trigo as com maior destaque (Baumgartner *et al.*, 2012). O rio Barigui é afluente da margem direita do rio Iguaçu e está enquadrado como classe 2 por toda sua extensão até o lago Barigui, cuja jusante passa a ser classificada como classe 3, até que desagüe no rio Iguaçu (Figura 7), segundo a Portaria SUREHMA nº20/92 (Carvalho *et al.*, 2013).

Figura 6. Rio Iguaçu localizando no estado Paraná-Brasil (Fonte: https://pt.wikipedia.org/wiki/Rio_Igua%C3%A7u)



2.8. Refinaria no Paraná

A Refinaria Presidente Getúlio Vargas ou Refinaria do Paraná (REPAR), pertencente à Petrobras, está localizada no município de Araucária. Tem capacidade instalada para produção de 207563 mil barris/dia (<https://pt.wikipedia.org>).

O Paraná possui cerca de 12 % da capacidade nacional de refino, com duas unidades: a REPAR, em Araucária (97,5 %), que refina petróleo praticamente todo importado de outros estados, e a SIX (Superintendência de Exploração do Xisto), em São Mateus do Sul, que processa todo o xisto piro betuminoso produzido no Estado, também pertencente a Petrobras (MINEROPAR, 2005). O petróleo processado na Refinaria de Araucária-PR é proveniente do terminal de São Francisco do Sul – SC, através de duto de transferência, num percurso de 117 km. Alguns derivados de petróleo processado na refinaria de Araucária retornam também por dutos de transporte até Paranaguá-PR (93,5 km) e Itajaí-SC (200 km) (MINEROPAR, 2005).

3 OBJETIVOS

Objetivo Geral

Avaliar a presença de hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH) em amostras de sedimentos de rio provenientes de duas localidades do estado do Paraná próxima da refinaria e comparar a distribuição dos hidrocarbonetos entre as amostras a fim de verificar possível contaminação por derivados de petróleo.

Objetivos Específicos

- Realizar a extração assistida por ultrassom para extrair os hidrocarbonetos das amostras de sedimentos em n-hexano e quantificar as substâncias de TPH presentes nas amostras por GC/FID;
- Avaliação dos parâmetros analíticos; linearidade, exatidão e recuperação.
- Identificar os TPH presentes em amostras de sedimentos que contenham derivados de petróleo;
- Utilizar os índices baseados na distribuição dos hidrocarbonetos TPH, IPC e na avaliação da hipótese de contaminação do ambiente com substâncias orgânicos derivados de petróleo.

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Local e período de pesquisa

Este trabalho foi realizado entre os meses de setembro de 2013 e novembro de 2014 no Laboratório Resíduos Sólidos (LARES) na Central de Análises e no Laboratório de Química Ambiental e Geoquímica Orgânica do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina (LQAG-UFSC).

4.2 Amostra

A amostra é o objeto de pesquisa a ser estudado com maior profundidade. As amostras deste estudo são sedimentos oriundos do fundo e das margens alagadas nos rios Barigui e Iguaçu, localizados no estado do Paraná.

4.3 Localização das amostras

Para efeito do presente estudo, as áreas de amostragem foram selecionadas com base em estudos prévios de Puerari (2011), realizados na região por equipes de pesquisadores da Universidade Federal do Paraná. As amostras de sedimentos foram coletadas às margens do rio Iguaçu, em diferentes locais próximos ao distrito de General Lucio, cidade de Araucária e nas proximidades da confluência com o rio Barigui. O mapa que mostra os locais de amostragem é apresentado na Figura 7. Os nomes com as coordenadas geográficas são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Localização das amostras de sedimentos

No	Locais	Código*	Latitude	Longitude
1	Distrito General Lucio	S21	25°36'13.62°S	49°35'19.06°O
2	Distrito General Lucio	S22	25°36'5.47°S	49°32'19.06°O
3	Distrito General Lucio	S23	25°35'51.08°S	49°28'55.06°O
4	Rio perto Refinaria	S27	25°33'54.32°S	49°20'41.18°O
5	Rio perto Refinaria	S17	25°35'30.70°S	49°20'53.37°O
6	Rio perto Refinaria	S18	25°36'15.27°S	49°21'7.62°O
7	Cidade Araucária	S44	25°35'57.41°S	49°24'37.51°O
8	Rio Barigui	S02	25°33'26.56°S	49°20'34.19°O
9	Rio Barigui	S04	25°33'54.32°S	49°20'41.18°O
10	Rio Barigui	S07	25°34'22.19°S	49°20'35.49°O

*códigos aleatórios. Somente as amostras desses locais foram discutidas nesse estudo

Figura 7. Mapa dos pontos de coleta dos sedimentos nas margens alagadas do rio Iguaçu localizado no estado do Paraná-Brasil (Imagem de satélite. Departamento de Geografia dos Estados Unidos da America, 2015).



4.4 Coleta das amostras de sedimentos

As amostras foram coletadas no mês de junho de 2009. Para os sedimentos de fundo do rio foi usado um amostrador do tipo van Veen (Figura 8) e para as amostras às margens do rio um trado holandês.

Figura 8. Amostrador do tipo van Veen, utilizado para a coleta das amostras



4.4 Solventes e Reagentes

Os solventes e reagentes químicos utilizados neste trabalho estão listados na Tabela 4.

Tabela 4. Reagentes e solventes utilizados neste estudo

Solventes e reagentes	Fabricante	Pureza
Diclorometano	Mallinckrodt Chemika	HPLC
Metanol	Nuclear	HPLC
Hexano	Baker	Pesticida
Ácido clorídrico	Synth	PA
Cobre	Fluka Chemicals	PA
Nitrogênio	White Martins	Grau (ECD)
Padrão deuterado (C ₁₆) (padrão interno)	Sigma-Aldrich	-
Mistura de padrões externo (C ₉ - C ₄₀) (padrão externo)	Sigma-Aldrich	-
Diesel	Adquirido de posto de serviço	-

4.5 Equipamentos

Este estudo requereu uma variedade de equipamentos e instrumentos relevantes para preparação das amostras até o resultado final da pesquisa, de acordo com os objetivos gerais e específicos. Os equipamentos necessários para o estudo estão listados na Tabela 5.

Tabela 5. Equipamentos e instrumentos utilizados neste trabalho

Equipamento	Fabricante	Modelo
Cromatógrafo a gás	ThermoFinnigan	Trace GC Ultra
Liofilizador	Inglaterra	CT 60 E
Bomba	Heto	E2M2
Mufla	Quimis	Q317B242
Balança analítica	Bel Mark	210 A
Ultra-som	Unique	USC 1450 (25 kHz)
Agitador vortex	PHOENIX	AP 56
Centrífuga	Fanen	206R
Rotaevaporador	Fisaton	802

4.6 Preparo das amostras

As amostras foram retiradas do freezer, descongeladas, transferidas para um balão de fundo redondo e novamente congelados antes da secagem. Em seguida foram liofilizadas (Figura 9) durante 24 horas. Após secos, os sedimentos foram macerados em almofariz de porcelana e pistilo até obter-se um pó fácil de peneirar. Este pó foi estocado em a 450°C por 4 horas vidraria previamente calcinada e armazenado em freezer até o processo de extração.

Figura 9. Liofilização das amostras de sedimentos



4.7 Ativação de cobre

Antes do início da extração, preparou-se o cobre ativado para que as amostras de sedimentos fossem tratadas a fim de remover enxofre elementar, objetivo este bastante importante para eliminar possíveis sinais que possam aparecer no cromatograma (Damas *et al*, 2011). Para tanto, pesou-se em balança analítica 2 g de cobre em um frasco de vidro calcinado e adicionados 5 mL de HCl concentrado. Em seguida, o frasco foi agitado no Vortex e centrifugado, retirando-se o sobrenadante. Foi realizada a lavagem do cobre em três etapas. Na primeira etapa, adicionou-se 5 mL de metanol (CH₃OH), na segunda etapa 5 mL de metanol/diclorometano (1:1); e na terceira etapa, 5 mL de diclorometano (CH₂Cl₂), para eliminar o ácido restante, retirando-se ao final de cada uma delas o sobrenadante.

4.8 Extração de TPH dos sedimentos

Ao cobre (2 g) ativado foi adicionado 10 g de sedimento e 15 mL de solvente (hexano), homogeneizados em agitador de tubo vortex. Em seguida colocados em banho de ultrassom durante 30 minutos e centrifugados durante 5 minutos. Após isso, utilizou-se uma pipeta para retirar o extrato, colocando-o num balão de fundo redondo. Este procedimento foi realizado três vezes. Os extratos foram concentrados em rotaevaporador na temperatura de 50 °C e transferidos para frascos de 1 mL com uma micropipeta. Os balões contendo o extrato foram lavados três vezes com solvente (hexano) e adicionados aos frascos preparados.

Passou-se gás nitrogênio para evaporação do solvente para se obter um volume próximo a 1 mL. Após concentração, os analitos estavam prontos para injeção no GC/FID. A recuperação do analito foi realizando extraíndo 3 gramas de sedimento adicionando-se C₁₆d (padrão interno) e C₃₀d (surrogate). O fluxograma de trabalho segue descrito Figura 10.

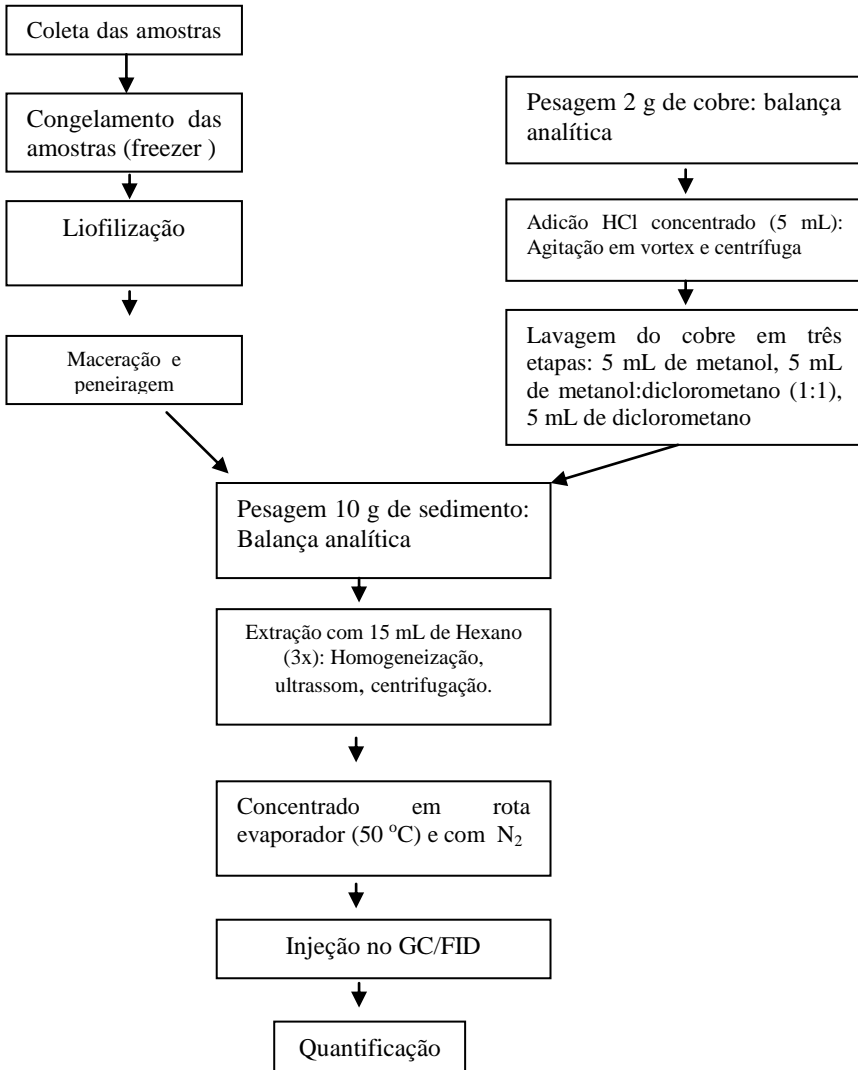
4.10 Identificação dos hidrocarbonetos totais de petróleo

Os extratos de TPH foram determinados por GC/FID de acordo com as seguintes condições cromatográficas: coluna capilar com 30 m de comprimento (Fase estacionária, 5% de fenil, 95% de PDMS), 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura do filme interno.

Nitrogênio ($3,0 \text{ mL min}^{-1}$) foi utilizado como gás de arraste (modo de injeção splitless por 30 s), temperatura do detector de $300 \text{ }^\circ\text{C}$, temperatura do injetor de $280 \text{ }^\circ\text{C}$, temperatura da coluna de $50 \text{ }^\circ\text{C}$ com taxa $6 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ até $300 \text{ }^\circ\text{C}$. O volume injetado foi de $1 \text{ } \mu\text{L}$.

Para a quantificação dos hidrocarbonetos lineares, pristano, fitano, UCM e TPH foram adicionados os padrões internos $n\text{-C}_{16}$ e $n\text{-C}_{30}$ deuterados com a concentração de $10 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ cada. Além disso, o $n\text{-C}_{16}$ deuterado também foi adicionado à mistura dos $n\text{-alcanos}$ ($\text{C}_9\text{-C}_{40}$) e do diesel, que foram usados como padrões externos (curva analítica) com intervalo de concentrações 1,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 e $30,0 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ em hexano.

Figura 10. Fluxograma com as etapas de trabalho para a extração e análise quantitativa dos hidrocarbonetos nas amostras de sedimentos



5. Resultados e discussão

5.1 Avaliação de alguns parâmetros analíticos do método GC/FID para determinação dos hidrocarbonetos

Para identificar hidrocarbonetos lineares saturados, foi realizada uma comparação dos tempos de retenção dos padrões com os das amostras de sedimentos. A quantificação dos hidrocarbonetos alifáticos foi feita utilizando-se curvas analíticas na faixa de concentração 1 a 30 mg L⁻¹, e linearidades com valores de $R^2 > 0,9910$. De acordo com ANVISA e INMETRO o valor R^2 deve ser acima de 0,90 para quantificar os analitos (Ribani *et al.*, 2004). Uma das curvas para os compostos *n*-alcanos individuais é mostrada no apêndice K. O limite de quantificação foi definido com o primeiro ponto da curva analítica. Na Tabela 6, estão listadas as equações usadas para cada hidrocarboneto.

A eficiência de extração dos compostos hidrocarbonetos alifáticos pode ser representada pelas porcentagens de recuperação do padrão *n*-alcano C₁₆d e C₃₀d (padrão interno - surrogate), para o qual o valor obtido foi > 60 % e RSD foi de 14,1%. O intervalo aceitável de recuperação para análise, dependendo da complexidade analítica e da amostra, pode ser de 50 a 120 %, com precisão de até ± 15% (Ribani *et al.*, 2004).

Tabela 6. Equações da reta da curva analíticas de padrões externos (padrão C₉-C₃₇) para quantificar *n*-alcanos individuais.

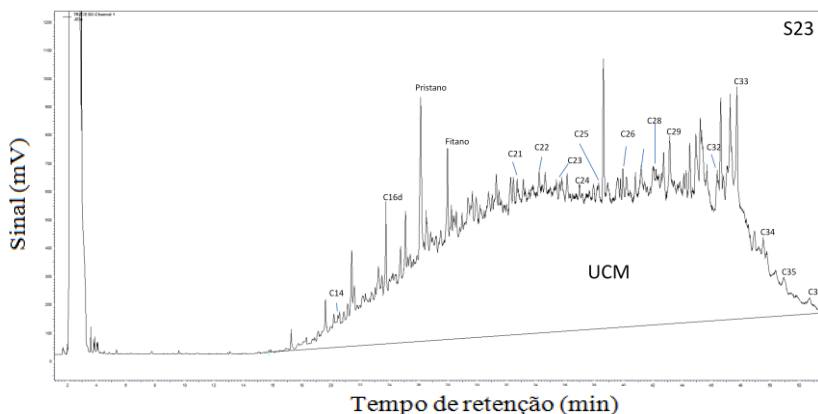
No	Hidrocarbonetos	Equação da reta	R ²	LQ (mg L ⁻¹)
1	C ₉	Y=0,067x -0,0747	0,9932	1,0
2	C ₁₀	Y=0,0669x -0,0643	0,9950	1,0
3	C ₁₁	Y=0,0652x -0,0584	0,9955	1,0
4	C ₁₂	Y=0,0608x -0,0318	0,9971	1,0
5	C ₁₃	Y=0,0603x -0,0357	0,9964	1,0
6	C ₁₄	Y=0,0609x -0,0363	0,9963	1,0
7	C ₁₅	Y=0,0605x -0,0371	0,9961	1,0
8	C ₁₆	Y=0,0606x -0,0405	0,9960	1,0
9	C ₁₇	Y=0,0607x -0,033	0,9976	1,0
10	C ₁₈	Y=0,0583x -0,0359	0,9961	1,0
11	C ₁₉	Y=0,0593x -0,0332	0,9963	1,0
12	C ₂₀	Y=0,0593x -0,032	0,9964	1,0
13	C ₂₁	Y=0,0586x -0,0338	0,9964	1,0
14	C ₂₂	Y=0,058x -0,034	0,9962	1,0
15	C ₂₃	Y=0,0578x -0,0385	0,9958	1,0
16	C ₂₄	Y=0,0577x -0,0439	0,9942	1,0
17	C ₂₅	Y=0,0577x -0,046	0,9924	1,0
18	C ₂₆	Y=0,0593x -0,045	0,9944	1,0
19	C ₂₇	Y=0,0559x -0,0384	0,9943	1,0
20	C ₂₈	Y=0,055x -0,0356	0,9921	1,0
21	C ₂₉	Y=0,052x -0,0219	0,9960	1,0
22	C ₃₀	Y=0,0488x -0,0181	0,9907	1,0
23	C ₃₁	Y=0,045x -0,0366	0,9957	1,0
24	C ₃₂	Y=0,0423x -0,0316	0,9961	1,0
25	C ₃₃	Y=0,0554x -0,0103	0,9969	1,0
26	C ₃₄	Y=0,0374x -0,0316	0,9956	1,0
27	C ₃₅	Y=0,0343x -0,0341	0,9949	1,0
28	C ₃₆	Y=0,0312x -0,0379	0,9946	1,0
29	C ₃₇	Y=0,0291x -0,0455	0,9910	1,0

5.2 Análise individual de hidrocarbonetos nas amostras de sedimentos

Os resultados quantitativos dos hidrocarbonetos *n*-alcanos estão descritos na Tabela 7. As maiores concentrações foram encontradas na amostra S27, localizada em uma região onde possivelmente ocorreu a contaminação durante o vazamento do óleo. Os valores determinados nos outros locais estudados ficaram abaixo de outros resultados encontrados na literatura para amostras de sedimentos (Volkman *et al.*, 1992).

Os cromatogramas dos hidrocarbonetos alifáticos dos sedimentos localizados em General Lucio, cidade de Araucária e no rio Iguçu, próximo à refinaria (REPAR) podem observados nas Figuras 11 e apêndices A-J. Nesses cromatogramas foi possível notar uma distribuição unimodal ou aparecendo linha de elevação da base e e predominâncias dos carbonos pares, característicos de locais que apresentam contaminação por derivados de petróleo.

Figura 11. Cromatograma de amostra de sedimento localizada na cidade Araucária (S23), mostrando típica distribuição dos alcanos (os valores acompanhados do C indicam o número de átomos de carbono). d = deuterado ou padrão interno (PI)



Os *n*-alcanos ocorreram na faixa entre C₉ e C₁₅ (cadeias hidrocarbônicas consideradas curtas e médias) e entre C₂₃ e C₃₃ (cadeias longas), com a concentração individual entre 0,10 µg g⁻¹ e 3,04 µg g⁻¹ de sedimento. A concentração total dos hidrocarbonetos lineares foi de 6,82

$\mu\text{g g}^{-1}$, com predomínio do C_{32} (S2). Para estação S4 (Rio Barigui), os *n*-alcanos individuais variaram entre C_{17} e C_{35} com as concentrações na faixa entre $0,07 \mu\text{g g}^{-1}$ e $0,71 \mu\text{g g}^{-1}$. O total foi de $5,18 \mu\text{g g}^{-1}$, em que predominou o *n*- C_{35} .

A concentração dos hidrocarbonetos alifáticos totais para a estação S7 foi muito menor do que nas outras estações ($1,27 \mu\text{g g}^{-1}$). Neste local foi possível detectar os *n*-alcanos individuais entre C_{23} e C_{33} com as concentrações variando entre $0,09 \mu\text{g g}^{-1}$ e $0,18 \mu\text{g g}^{-1}$ de sedimento.

Baseado na literatura, os sedimentos marinhos ricos em matéria orgânica podem conter até $100 \mu\text{g g}^{-1}$ de hidrocarbonetos alifáticos totais (Volkman *et al.*, 1992). Quando são encontradas concentrações acima deste valor, geralmente indica contaminação por petróleo. De fato, o resultado das análises mostraram que as concentrações dos hidrocarbonetos alifáticos variaram entre $1,14 \mu\text{g g}^{-1}$ a $1114,20 \mu\text{g g}^{-1}$. Na maioria dos sedimentos, os valores encontrados para os hidrocarbonetos alifáticos foram menores do que $100 \mu\text{g g}^{-1}$ (Tabela 7). Somente o sedimento localizado no Rio Iguaçu perto da refinaria, ponto S27, foi encontrada concentração acima de $100 \mu\text{g g}^{-1}$.

Tabela 7. Concentrações individuais dos hidrocarbonetos n-alcenos em amostras sedimentos oriundas dos rios Barigui e Iguçu, estado do Paraná. Localizações: distrito de General Lucio ponto S21, S22, e S23; Cidade Araucária S4; Rio Barigui S27, S18, S17, S7, S4 e S2; < LOQ = abaixo do limite de quantificação.

Amostra	S2 (μgg^{-1})	S4 (μgg^{-1})	S7 (μgg^{-1})	S17 (μgg^{-1})	S18 (μgg^{-1})	S21 (μgg^{-1})	S22 (μgg^{-1})	S23 (μgg^{-1})	S27 (μgg^{-1})	S44 (μgg^{-1})
C ₉	0,30	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
C ₁₀	0,39	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
C ₁₁	0,26	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
C ₁₂	0,14	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
C ₁₃	0,10	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,10	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
C ₁₄	0,10	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,16	1,30	< LOQ	0,26	97,90	< LOQ
C ₁₅	0,11	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,24	< LOQ	< LOQ	< LOQ	21,00	< LOQ
C ₁₆	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,50	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
C ₁₇	< LOQ	0,22	< LOQ	< LOQ	0,85	< LOQ	0,63	< LOQ	< LOQ	< LOQ
C ₁₈	< LOQ	0,40	< LOQ	0,14	0,90	< LOQ	0,55	< LOQ	< LOQ	< LOQ
C ₁₉	< LOQ	0,07	< LOQ	0,28	0,45	< LOQ	0,23	< LOQ	16,10	< LOQ
C ₂₀	< LOQ	0,09	< LOQ	0,28	0,86	< LOQ	< LOQ	< LOQ	27,00	< LOQ
C ₂₁	< LOQ	0,13	< LOQ	0,43	0,52	1,18	0,26	0,30	24,60	< LOQ
C ₂₂	< LOQ	0,13	< LOQ	0,45	0,77	1,28	0,26	0,46	26,60	< LOQ
C ₂₃	0,22	0,21	0,10	1,12	0,64	1,36	0,21	0,21	24,80	0,09
C ₂₄	0,18	0,15	0,11	0,69	1,01	1,56	0,20	0,28	25,60	0,10
C ₂₅	0,28	0,29	0,15	1,34	1,00	< LOQ	0,17	0,31	26,00	0,13
C ₂₆	0,19	0,17	0,14	0,84	1,32	1,66	0,21	0,82	28,90	0,13
C ₂₇	0,42	0,31	0,18	3,38	1,39	< LOQ	0,37	0,62	29,00	0,18
C ₂₈	0,18	0,23	0,13	1,41	1,48	< LOQ	0,60	1,12	33,40	0,16

C ₂₉	0,36	0,37	0,14	5,05	1,33	< LOQ	1,46	1,32	50,60	0,16
C ₃₀	< LOQ	0,16	0,09	1,58	1,23	0,91	0,35	0,57	18,10	0,09
C ₃₁	0,37	0,66	0,14	6,62	1,02	< LOQ	< LOQ	< LOQ	51,50	0,23
C ₃₂	3,04	0,26	< LOQ	2,39	0,97	< LOQ	0,72	0,99	18,80	0,14
C ₃₃	0,19	0,41	0,09	4,28	0,33	< LOQ	< LOQ	2,87	9,80	0,06
C ₃₄	< LOQ	0,21	< LOQ	0,76	0,52	< LOQ	0,17	0,11	< LOQ	< LOQ
C ₃₅	< LOQ	0,71	< LOQ	5,61	0,27	0,43	0,54	0,98	< LOQ	< LOQ
C ₃₆	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,26	0,32	0,39	0,34	0,75	< LOQ	< LOQ
C ₃₇	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,54	< LOQ	< LOQ	0,37	0,60	< LOQ	< LOQ
Total	6,82	5,18	1,27	37,45	18,17	10,07	7,02	12,57	529,7	1,47

Enquanto a concentração dos hidrocarbonetos alifáticos totais em sedimento na estação do rio Barigui perto da refinaria ponto S27 foi $1114,20 \mu\text{g g}^{-1}$, no ponto S17 foi $37,45 \mu\text{g g}^{-1}$ e no ponto S18 foi $18,17 \mu\text{g g}^{-1}$. Uma comparação entre esses resultados e o S27, que fica próximo do local do vazamento, demonstrou a ocorrência de uma grande concentração destas substâncias na região de S27 (Figura 13). As concentrações encontradas neste ponto (S27) são próximas dos reportados em áreas contaminadas (Volkman *et al.*, 1992; Wagener *et al.*, 2008).

Os hidrocarbonetos lineares foram detectados na amostra do ponto S27 na faixa entre $n\text{-C}_{14}$ e $n\text{-C}_{33}$, com predomínio do $n\text{-C}_{14}$ ($97,90 \mu\text{g g}^{-1}$). Além dos hidrocarbonetos lineares, observa-se o predomínio dos pristano e fitano, com concentrações de $407,41 \mu\text{g g}^{-1}$ e $117,11 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente (Figura 12).

No ponto S18 a faixa dos hidrocarbonetos ocorreu entre $n\text{-C}_{13}$ e $n\text{-C}_{33}$ com variação nas concentrações entre $0,10 \mu\text{g g}^{-1}$ e $1,48 \mu\text{g g}^{-1}$. Observou-se o predomínio do n-alcano C_{28} (Tabela 7) com concentração total de $18,17 \mu\text{g g}^{-1}$. A distribuição dos n-alcenos individuais na amostra S17 ocorreu com predomínio dos homólogos ímpares na faixa $n\text{-C}_{23}$ a $n\text{-C}_{37}$ e a concentração máxima foi encontrada para C_{31} (Figura 13). As concentrações individuais nesta amostra ficaram na faixa entre $0,14 \mu\text{g g}^{-1}$ e $6,62 \mu\text{g g}^{-1}$.

Figura 12. Concentrações individuais dos hidrocarbonetos alifáticos na estação do rio Barigui perto da refinaria (S27)

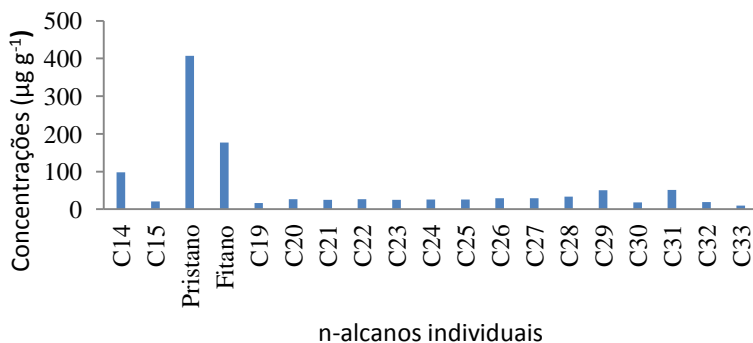
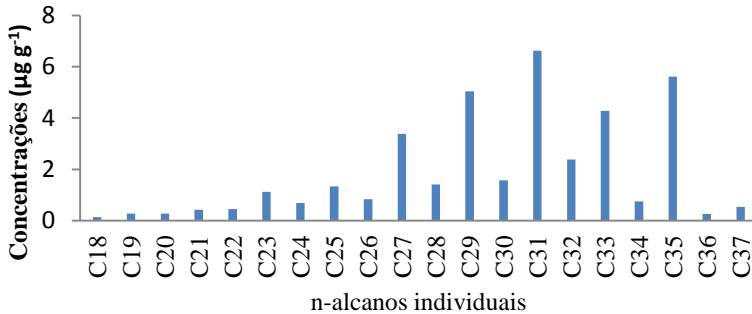
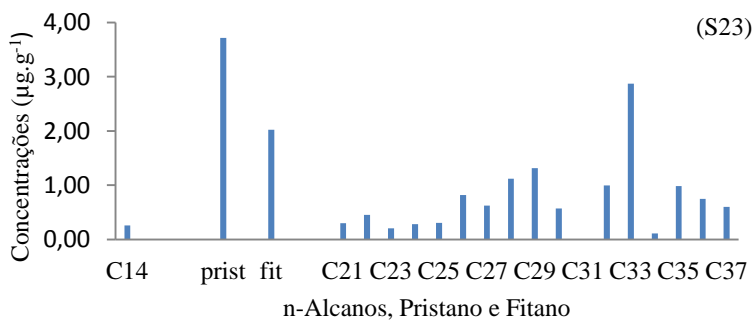
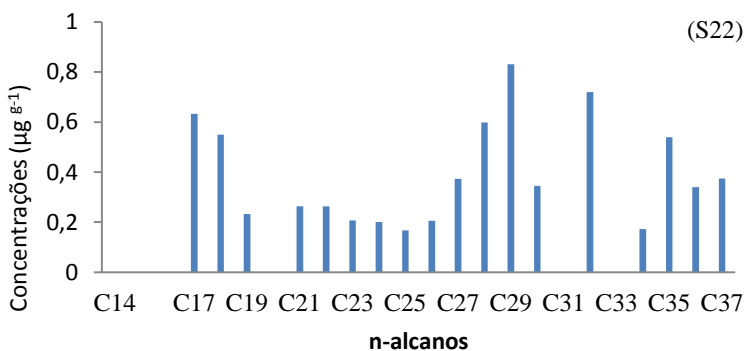
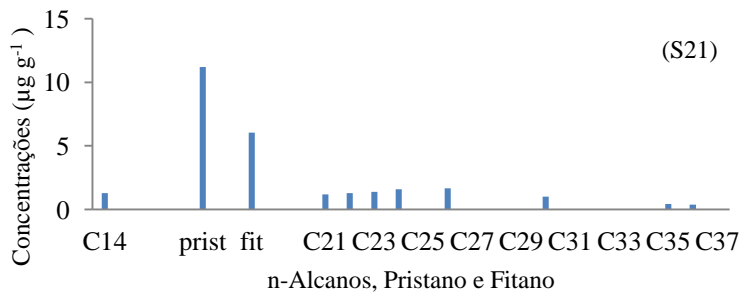


Figura 13. Concentrações de *n*-alcanos individuais nos sedimentos do rio Iguazu perto da refinaria ponto S17



Nos pontos do distrito General Lucio S21, S22 e S23 foram determinados os hidrocarbonetos alifáticos totais em concentrações de $10,07 \mu\text{g g}^{-1}$, $7,64 \mu\text{g g}^{-1}$ e $12,57 \mu\text{g g}^{-1}$ respectivamente. Além disso, nessas amostragens também foi possível identificar a mistura complexa não resolvida (UCM). O pristano e o fitano também foram identificados na amostra S21, com concentrações de $11,20 \mu\text{g g}^{-1}$ e $6,03 \mu\text{g g}^{-1}$, e para S23 com concentrações de $3,71 \mu\text{g g}^{-1}$ e $2,02 \mu\text{g g}^{-1}$. A estação do distrito General Lucio, ponto S22, não foi possível identificar o pristano e fitano (Figura 14).

Figura 14. Distribuição dos *n*-alcanos individuais, pristano e fitano em amostras de sedimentos de General Lucio: a) ponto S21; b) ponto S22 (onde não foi identificado pristano e fitano) e c) ponto S23



Para a amostra localizada na Cidade Araucária (S44) foi observada concentração de hidrocarbonetos alifáticos totais de $1,47 \mu\text{g g}^{-1}$ com faixa entre $n\text{-C}_{23}$ e $n\text{-C}_{33}$ em concentrações $0,06 \mu\text{g g}^{-1}$ a $0,23 \mu\text{g g}^{-1}$ com predomínio do C_{31} (Tabela 7).

A predominância dos hidrocarbonetos alifáticos com cadeias ímpares em sedimentos pode ser resultado da síntese de organismos terrestres e marinhos. Os resultados das análises mostraram que as amostras do Rio Iguaçu perto refinaria ponto S17, foi dominada por cadeias ímpares C_{27} , C_{29} , C_{31} , C_{33} e C_{35} (Figura 13), no sedimento coletado no ponto S4 (Rio Barigui) predominou cadeias longas ímpares C_{31} , C_{33} e C_{35} e o sedimento S7 que também predominou cadeias ímpares C_{25} , C_{27} , C_{29} e C_{31} (apêndice A), que refletem a não contaminação (Killops & Killops, 2005).

Em geral, organismos aquáticos, como algas, sintetizam os alcanos lineares preferencialmente com 15, 17, 19 e 21 átomos de carbono (Clark, 1966; Blumer *et al.*, 1971). Neste caso não foi identificada uma cadeia hidrocarbônica média em amostras localizadas no rio Barigui perto da refinaria, pontos S17 e S7, enquanto na amostra S4 foram identificadas cadeias médias em C_{17} a C_{21} , mas os ímpares não foram predominantes. Um dos motivos para essas substâncias não terem sido identificados em todas as amostras pode ser a degradação mais rápida quando comparada aos demais hidrocarbonetos de cadeias longas (UNEP, 1992). Para as amostras S2, no rio perto da refinaria, ponto S18; General Lucio ponto S21, S22 e S23; cidade de Araucária (S44) não foi observado o predomínio das cadeias lineares ímpares em relação às pares.

5.3 Avaliações da distribuição dos hidrocarbonetos por algo parâmetro

O IPC (índice preferencial de carbono) foi calculado para todas as amostras estudadas (Tabela 8). Os valores encontrados ficaram na faixa entre 0,48 e 3,13. De acordo com a literatura, $\text{IPC} > 1$ indica predominância de hidrocarbonetos com número ímpar de átomos de carbono, enquanto que IPC para n -alcanos próximo ou < 1 pode ser interpretado como contaminação oriunda de derivados de petróleo, material intemperizado ou que ocorreu degradação da matéria orgânica natural e não há predomínio dos ímpares sobre os pares (Gogou *et al.*, 1998).

Os valores de IPC perto da refinaria, ponto S27 e S18, foram 0,96 e 0,94; para Distrito General Lucio, pontos S22 e S23, foram 0,67 e

0,54. O menor valor foi encontrado na estação S2: 0,48. Esses resultados indicam que nestas áreas predominaram os hidrocarbonetos petrogênicos (Celino *et al.*, 2008).

Quando o valor de IPC ocorre na faixa entre 1,0 a 4,0 indica a presença de *n*-alcanos com origem mista, possivelmente biogênica e combustível fóssil (Wagener *et al.*, 2008). Este caso ocorreu para os sedimentos provenientes da amostra de Araucária (S44), rio perto da refinaria (S17) e estações S4 e S7. Os valores estão mostrados na Tabela

Tabela 8. Alif_{tot}*: Alifático total; C_{max}: *n*-alcanos de concentração máxima; IPC: índice preferencial carbono; RTA: Razão entre a abundância relativa de substância de origem terrestre e de origem aquática; UCM: mistura complexa não resolvida; TPH: hidrocarbonetos totais de petróleo; RNAH : hidrocarbonetos aromáticos não resolvidos; LMW/HMW: relação de baixa massa molar para alta massa molar; Pris: pristano, Fit: fitano, nc= não calculado

Amostras	Alif _{tot} * ($\mu\text{g g}^{-1}$)	TPH* ($\mu\text{g g}^{-1}$)	UCM/RNAH	UCM* ($\mu\text{g g}^{-1}$)	C _{max}	IPC	RTA	Pritano ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Fitano ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Pris/fit	LMW/HMW
S ₂	6,82	1,87	nc	<LOQ	C ₃₂	0,48	nc	<LOQ	<LOQ	nc	0,06
S ₄	5,18	1,39	nc	<LOQ	C ₃₅	2,27	nc	<LOQ	<LOQ	nc	0,22
S ₇	1,26	0,30	nc	<LOQ	C ₂₇	1,32	6,98	<LOQ	<LOQ	nc	nc
S ₁₇	37,45	3,87	0,08	3,01	C ₃₁	3,13	nc	<LOQ	<LOQ	nc	0,02
S ₁₈	18,17	5,87	nc	<LOQ	C ₂₈	0,94	2,35	<LOQ	<LOQ	nc	0,31
S ₂₁	27,30	3,66	0,26	3,58	C ₁₇	nc	nc	11,20	6,03	1,86	0,67
S ₂₂	7,02	0,44	0,06	0,41	C ₃₇	0,67	1,24	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,34
S ₂₃	18,30	25,33	1,97	24,78	C ₁₇	0,54	0,86	3,71	2,02	1,84	0,61
S ₂₇	1114,20	1258,10	2,31	1227,50	C ₁₇	0,96	7,17	407,40	177,10	2,30	2,03
S ₄₄	1,14	0,34	nc	<LOQ	C ₃₁	1,24	nc	<LOQ	<LOQ	<LOQ	nc

Alif_{tot}*: foram calculados pelas equações na Tabela 6

UCM* e TPH* foram calculados pela equação da reta na Figura 15

O índice RTA (*terrestrial aquatic ratio*) foi proposto originalmente por Bourboniere e Meyers (1996) para relacionar a proporção dos n-alcenos de origem terrestre (n-C₂₇, n-C₂₉ e n-C₃₁) e aquática (n-C₁₅, n-C₁₇ e n-C₁₉). A razão terrígeno/aquático é a relação entre as concentrações de cadeias longas e cadeias médias de n-alcenos e avalia a importância da contribuição relativa material terrígeno versus contribuição de material aquático (Oliveira e Madureira, 2010). De acordo com literatura, quando RTA < 1 significa maior contribuição de hidrocarbonetos de origem aquática. Na estação do Distrito de General Lúcio ponto S23, o valor de RTA foi de 0,86, que indicou predomínio dos alcenos aquáticos. Entretanto, é preciso cuidado quando se aplica tal razão, pois locais com suspeita de contaminação podem apresentar valores alterados. A predominância de matéria orgânica de origem terrestre por aquática foi observada na estação como, S7, perto refinaria ponto S18 e S27, General Lucio S22 e S23 (Tabela 8).

Outro índice, que é baseado na relação de baixa massa molar para alta massa molar (em inglês; low molecular weight to high molecular weight (LMW/HMW)) de hidrocarbonetos, foi usada para avaliar as fontes antropogênicas e biogênicas. De acordo com a literatura, razão LMW / HMW menor do que 1 normalmente representa n-alcenos produzidos por fontes biogênicas (plantas superiores, animais marinhos, e bactérias sedimentares), as proporções de LMW / HMW próximos de 1 sugerem n-alcenos que são, principalmente, do petróleo e fontes de plâncton, enquanto valores maiores que 2 são indicativos de óleo fresco em sedimentos (Oliveira e Madureira, 2010).

O resultado mostrado (Tabela 8) sobre razões LMW / HMW calculados para as sete amostras foram todos <1, que representou os hidrocarbonetos predominantemente produzidos por plantas superiores. Uma amostra com o valor (LMW / HMW) maior do que 1 foi identificado em amostra de rio perto da refinaria (ponto S27) e duas amostragens (estações S7 e S44) onde não foi possível calcular a razão porque os hidrocarbonetos alifáticos de baixa massa molar (C₁₃ a C₂₀) não foram identificados.

5.4 Pristano e Fitano

Neste trabalho, como não havia solução padrão certificada de pristano e fitano, utilizou-se as curvas analíticas dos n-alcenos C₁₇ e C₁₈, respectivamente. As concentrações dos isoprenóides variaram entre 3,71

$\mu\text{g g}^{-1}$ e $407,40 \mu\text{g g}^{-1}$ para pristano e $2,02 \mu\text{g g}^{-1}$ a $177,10 \mu\text{g g}^{-1}$ para fitano.

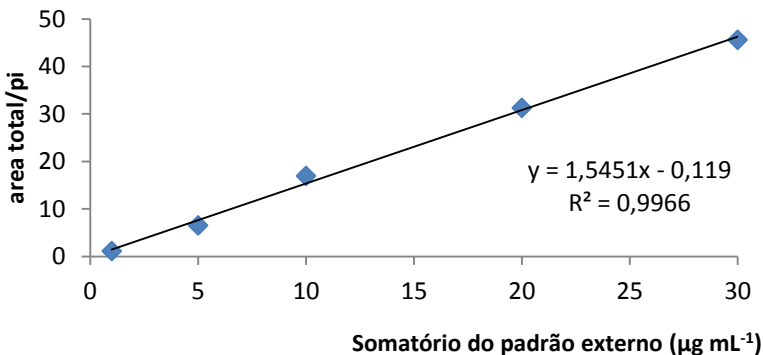
A razão C_{18} /fitano e C_{17} /pristano são índices dos processos de biodegradação de óleos brutos de petróleo derramados no ambiente natural (Jacquot *et al.*, 1996). Os valores baixos estão relacionados a uma fase inicial de biodegradação, devido ao esgotamento preferencial de *n*-alcanos antes isoprenóides (Jacquot *et al.*, 1996). A razão pristano/fitano em sedimentos não contaminados é maior do que 1 e geralmente entre 3 e 5 (Wagener *et al.*, 2008), enquanto os valores próximos 1,0-1,5 ou inferiores a 1 sugerem contaminação de petróleo (Steinhauer e Boehm, 1992; Oliveira e Madureira.,2010). Baseando-se neste critério, os sedimentos perto da refinaria ponto S27, General Lucio ponto S21 e S23 apresentaram contribuição dos hidrocarbonetos de petróleo (Tabela 7).

5.5 Misturas complexa não resolvida (UCM)

A ocorrência de mistura complexa não-resolvida é um indicador consistente da presença de resíduos de petróleo, normalmente já em processo de intemperização. A UCM foi caracterizada pela elevação da linha base dos cromatogramas (Carreira *et al.*, 2009).

Para quantificar a UCM foi utilizada uma curva analítica feita somando-se todas as áreas dos *n*-alcanos dos padrões externos dividindo-se pela área do padrão interno (PI). O resultado da curva foi uma faixa de trabalho entre 1 e $30 \mu\text{g g}^{-1}$, adequada para este estudo (Figura 15).

Figura 15. Curva analítica do somatório do padrão externo (C_9 - C_{37}) na faixa de concentração de 1 e $30 \mu\text{g g}^{-1}$.



Foi possível identificar cinco amostras onde existe UCM. Tais amostras estavam localizadas no rio Barigui, perto refinaria, pontos S27 e S17; General Lucio, pontos S21, S22 e S23, com concentrações faixa entre $0,41 \mu\text{g g}^{-1}$ e $1227,5 \mu\text{g g}^{-1}$ (Tabela 8).

No entanto, a formação UCM eluindo entre C_{16} e C_{22} tem sido atribuída à degradação bacteriana de entradas orgânica natural, tais como detritos de algas (Venkatesan e Kaplan, 1982). Segundo Tam e colaboradores (2005), a presença de uma UCM em faixa de menor massa molar, entre $n-C_{14}$ e $n-C_{26}$, em amostras de sedimentos superficiais, indica contaminação por óleo leve.

Como observado na Figura 16 e Apêndices, a UCM nas amostras dos sedimentos encontrou-se entre $n-C_{14}$ e $n-C_{33}$ e apresenta característica unimodal. Segundo Farrington e Tripp (1977) e Bouloubassi (1990), quando a UCM unimodal aparece nesta faixa de massa molar, está relacionada à presença de resíduos de óleo bruto degradado por microrganismos.

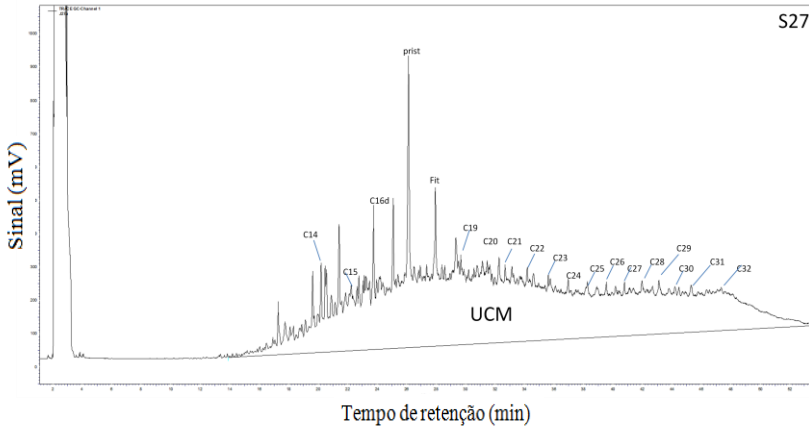
Farrington e colaboradores (1977) consideraram que a UCM também pode originar-se da combustão incompleta, uma vez que se formam produtos ricos em estruturas ramificadas.

Na amostragem do rio Barigui perto refinaria, ponto S27, o valor de UCM foi $1227,5 \mu\text{g g}^{-1}$, que resultou da predominância das substâncias consideradas mais recalcitrantes, sendo indicativa de poluição ambiental crônica (Celino *et al.*, 2008). De acordo com Blumer *et al.* (1970), quanto maior a altura do fundo da mistura complexa não resolvida (UCM), sugere uma maior resistência da fração cíclico aromático mais tóxico (Figura 16). Portanto, de acordo com os resultados para esta razão, as amostras que apresentaram UCM estavam contaminadas.

A razão entre substâncias não resolvidas por resolvidos (UCM/RNAH) normalmente é utilizada como critério de diagnóstico para as entradas de poluentes (Oliveira e Madureira, 2010). Os valores calculados com base na relação UCM/RNAH variou 0,08-2,31 nas amostras de sedimentos das cinco estações. Baseando-se em Readman e colaboradores (2002), a razão UCM/RNAH maior do que 4 é geralmente indicativo de misturas de hidrocarbonetos com uma contribuição significativa do produto de petróleo degradado. Levando-se em consideração esta informação, os resultados observados na Tabela 8 não sugerem não indicar a contaminação com resíduos de petróleo degradados. Com a razão UCM/RNAH menor do que 4 e o valor IPC próximo ou menor do que 1, podemos concluir que nestas áreas ocorreu

contaminação por resíduos de petróleo não degradado ou material com influência biogênica.

Figura 16. Cromatograma da fração de hidrocarbonetos alifáticos, mistura complexa não resolvida (UCM), em amostra de sedimento do rio próximo à refinaria, ponto S27, (diluindo 100 vezes).



Os valores de TPH também foram obtidos a partir da equação da reta que foi usada para calcular a UCM. Os resultados das análises de TPH nas amostras estão descritos na Tabela 8, com concentrações na faixa entre $0,30 \mu\text{g g}^{-1}$ e $1258 \mu\text{g g}^{-1}$. Os valores foram muito inferiores ao valor de interferência (I) $5000 \mu\text{g g}^{-1}$ para solo, conforme a Lista Holandesa.

6. CONCLUSÃO

Baseado nos resultados dos estudos laboratoriais pode-se concluir que o método da extração e quantificação foi aceitável para avaliar os hidrocarbonetos totais de petróleo, independentemente da complexidade da amostra.

As concentrações dos hidrocarbonetos alifáticos variaram de 1,14 a 1114,20 $\mu\text{g g}^{-1}$, o que indicou que ocorreu contaminação por derivados de petróleo para os locais com valores maiores que 100 $\mu\text{g g}^{-1}$. Portanto o local que apresentou maior concentração foi no rio Barigui, perto da refinaria no ponto S27, com a concentração de 1114,20 $\mu\text{g g}^{-1}$, cerca de onze vezes acima do padrão ambiental. Nas amostras, o valor de IPC variou de 0,48 a 3,13, um forte indício de contaminação foi observado para estes locais. Com base nesta razão, as áreas que apresentaram contaminação por petróleo foram S2 (IPC = 0,48), rio Barigui, perto da refinaria nos pontos S27 e S18 (IPC = 0,96 e 0,94) e General Lucio ponto S22 e S23 (IPC = 0,67 e IPC = 0,54). A razão pristano/fitano indicou que as amostras perto da refinaria, ponto S27, Distrito General Lucio, ponto S21 e S23, foram contaminadas por petróleo com seu valor na faixa entre 1,84 e 2,30. Não foi possível avaliar a contribuição petrogênica nos sedimentos baseado nas relações C_{17} /pristano e C_{18} /fitano.

A partir da elevação da linha base, observou-se a contaminação em algumas estações, tais como a S27 no rio Barigui, próximo à refinaria, e também nos locais em General Lucio, pontos S21, S22 e S23.

Baseado nos índices avaliados, as estações que não apresentaram contaminação por petróleo foram a do rio Barigui, nos pontos S4 e S7, cidade de Araucária (S44) e perto da refinaria, ponto S17.

7 PERSPECTIVAS

Com base nos resultados da pesquisa obtidos pelos investigadores, é aconselhável manter o monitoramento em toda região e ampliar a quantidade de compostos orgânicos determinados nos locais. Por exemplo, incluir os biomarcadores de petróleo tais como os hopanos e esteranos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAUMGARTNER, G.; PAVANELLI, C. S.; BAUMGARTNER, D.; BIFI, A.G.; DEBONA, T.; FRANA, V. A. **Peixes do baixo Rio Iguçu**. Maringá: Eduem, 2012. 203p.
- BATTELLE. **Sediment Toxicity of Petroleum Hydrocarbon Fractions**. The business of innovation. Massachusetts Department of Environmental Protection 2007
- BLUMER, M.; GUILARD, R.R.I.; CHASE, T. Hydrocarbon of marine phytoplankton. **Marine Biology**, v. 8, p. 183-189, 1971.
- BLUMER M.; SOUZA ,G.; SASS, J. Hydrocarbon pollution of edible shellfish by an oil spill. **Marine Biology**, v. 5, p. 195-202, 1970.
- BOULOUBASSI, I. Aspects de La biogeochemie des hydrocarbures non aromatiques et aromatiques dans La colonne d'eau et les sediments Du milieu cotier: cãs Du delta Du Rhône. These de doctorat, université paris, France, 1990.344p.
- BOURBONNIERE, R. A.; MEYER, P. A. Sediments geolipid records of historical changes in the water sheds and productivities of Lakes Ontario and Erie. **Limnology and Oceanography**, v. 41, p. 352-359, 1996.
- BRITO, N. M.; OZELITO, P .A.J.; LUCIANA, P; MARIA, L. R. validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. Pesticidas: **Ecotoxicos e meio ambiente**, v.13, p. 129-146, jan/dez. 2003.
- BRAY, E. E.; EVANS, E.D. Distribution of *n*-paraffins as a clue to recognition of source beds. **Geochimica and Cosmochimica. Acta**, v. 22, p. 2–15, 1961.
- CARREIRA, R. S.; RIBEIRO P. V.; SILVA E. M. Carlos. Hidrocarbonetos e esteróis como indicadores de fontes e destino de matéria orgânica em sedimentos da baía de Sepetiba, Rio de Janeiro. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1805-1811, 2009.
- CARVALHO, M. S.; CINTHIA, M. I. C.; BRUNA, V.; MICHAEL, M. Análise nictemeral de rios urbanos: estudo de caso no rio Barigui – Curitiba-PR. **Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos**, 2013.
- CELINO, J.J.; VEIGA, I.G.; TRIGÜIS, J.A.; QUEIROZ, A.F.S. Fonte e distribuição de hidrocarbonetos do petróleo nos sedimentos da baía de todos os santos, Bahia. **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**, v. 12, n. 1, p. 31-38, 2008.

- CETESB. Lista holandesa de valores de qualidade do solo e da água subterrânea-valores STI (6530). **Projeto Cetesb**. p.1-16, 1999.
- CLARK, R. C. J. Saturated hydrocarbons in marine plants and sediment. M.S. thesis. **Department of geology and geophysics**, MIT. Cambridge. Mass 1966.
- CRIPPS, G. C. Problem in the identification of anthropogenic hydrocarbons against natural background levels in Antarctic. **Antarctic Science**, v. 1, p 307-312. 1989.
- DAMAS, C.EY.; NÚÑEZ, C. AC.; CORA, M. MO.; ROSABAL, R. M.; L GONZÁLEZ,B.; R MARBOT,R.; PORTO, R. M. O.; DÍAZ, D. MA.; Hidrocarburos antropogénicos en sedimentos del litoral nordeste de La Habana. **Ciencias Marinas**, v.37, n.1, p. 227–235, 2011.
- DIAZ , C.; Santiago, Q. aliphatic hydrocarbons in fish from the Canary islands. **Marine Pollution Bulletin**,. v.28, p. 44-49,1994.
- DOSKEY, P.V. Spatial variations and chronologies of aliphatic hydrocarbons in lake Michigan sediment. **Environmental Science and Technology**, v.35, p. 247-254, 2001.
- EMÍDIO, E. S.; DÓREA, H. S. Comparação entre as extrações ultra-som e Soxhlet para determinação de alcanos em sedimentos ambientais. **Scientia plena**, v. 6, n. 9, p. 1-7, 2010.
- FARRINGTON, W. J.; TRIPP, W. BUCE. Hydrocarbons in western North Atlantic surface sediments. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 41, p. 1627-1641, 1977.
- FORCADA, A. P. A.; Villalobos, M.; Ruiz, M. G. E. An Improved Gravimetric Method to Determine Total Petroleum Hydrocarbons in Contaminated Soils. **Water, air, and soil pollution**, v.194, n.1, p.151-161, 2009.
- GOGOU, I. A.; APOSTOLIKA, M.; ESTEPHANOU, E. G. Determination of organic molecular markers in marine aerosols and sediment: one-step flash chromatography compound class fractionation and capillary gas chromatographic analysis. **Journal of Chromatography A**, v.799, p. 215–231, 1998.
- JACQUOT, F.; LE DRÉAU, Y.; DOUMENQ, P.; MUNOZ, D.; GUILIANO, M.; IMBERT, G. The origins of hydrocarbons trapped in the lake of Berre sediments. **Chemosphere**, v. 39, n. 9, p. 1407–1419, 1999.

KILLOPS, S. D.; KILLOPS, V. J. **An Introduction to Organic Geochemistry**, 2.ed. Nova Iorque : Longman Scientific Technical, 2005, 265p.

KISSIN, Y. V. Catagenesis of light acyclic isoprenoids in petroleum. **Organic Geochemistry**, v. 20, n. 7, p. 1077-1090, 1993.

KOLESNIKOVAS, C.; EVERTON, O.; URIEL, D. Avaliação de risco toxicológico para hidrocarbonetos totais de petróleo em forma fracionada aplicada à gestão e monitoramento de água subterrânea em um complexo industrial. **Águas Subterrâneas**, v.23, n.1, p.31-44, 2009.

LEMIERE, S., LEQUILLE, C. C., BISPO A., JOURDAIN M. J., LANHERS, D.B., VASSEUR P. DNA damage measured by the single-cell gel electrophoresis (Comet) assay in mammals fed with mussels contaminated. **Mutation Research**, v. 581, p.11-21, 2005.

LIMA, M. B. Distribuição e quantificação de hidrocarbonetos em sedimentos do estuário do rio Sergipe. 2012

LUIZA MARIA. Vazamento no Golfo do México deixa marcas profundas na biodiversidade marinha. **Ecoagência, Notícias ambientais**, 2012.

<http://www.ecoagencia.com.br/?open=noticias&id=VZISXRVV ONIYHZFTT1GdXJFbKVVB1TP>. Acesso em 13/2/2015.

MANGRICH, A. S.; CLAUDIA, M. B. F M.; CRISTIANE, R. B. Transformações químicas da matéria orgânica durante a compostagem de resíduos da indústria madeireira. **Química Nova**, v. 27, no. 3, p. 399-403, 2004

MARIUZZO, P. Petróleo e seus efeitos no meio ambiente. 2005 <http://www.comciencia.br/reportagens/2005/11/05.shtml>.

Acesso em 13/2/2015

MARTINS, C. CASTRO. Marcadores orgânicos geoquímicos em testemunho de sedimento do sistema estuarino de santo e são Vicente SP: um resgisto histórico da introdução de hidrocarbonetos no ambiente marinho. 2005.

MEDEIROS, P. M.; BÍCEGO, M. C.; CASTELAO, R.M.; ROSSO, C. D.; FILLMANN, G.; ZAMBONI, A.J. Natural and anthropogenic hydrocarbon inputs to sediments of Patos Lagoon Estuary, Brazil. **Environmental International**, v. 31, p.77-87, 2005.

- MIGUEL J. RODRIGUES.; MARINA F S CUNHA.; NADINE A C NASCIMENTO. Livros didáticos e poluição ambiental: mais do que uma escolha, uma decisão. **Revista de Educação, Ciência e Matemática**, v. 2, n. 3, 2012.
- MINEROPAR. A indústria mineral paranaense e sua participação no número de estabelecimentos, de empregos e no valor adicionado fiscal da indústria do estado e de suas regiões - 1999 e 2003. Programa de economia mineral, 2005.
- MIRIAN A. C. C.; ALEXANDRE. L. N. B, MARIA, G.; BISPO, S.; DANIELLA C. P. Tratamento para derrames de petróleo. **Biologia Marinha. Ciência Hoje**, v. 30, n. 179, 2002.
- MOREIRA. I. T. A; OLIVEIRA O. M. C.; TRIGUIS, J. A.; SANTOS, A. M. P.; QUEIROZ, A. F. S.; MARTINS, C.M.S.; SILVA, C. S.; JESUS, R. S. Phytoremediation using *Rizophora mangle* L. in mangrove sediments contaminated by persistent total petroleum hydrocarbons (TPH's). **Microchemical Journal**, v. 99, p. 376–382, 2011.
- MUNARI, F.; CADOPPI, A.; Ultra Fast GC Method for the Analysis of Total Hydrocarbons in Water in Compliance with ISO 9377-2 (Mod). **Thermo Fisher Scientific**, v. 19, no. 12, p.11, 2006.
- NASCIMENTO, A. R.; ZIOLLI, L. R.; ARARUN, J. T.; PIRES, C. S.; SILVA, T. B. Avaliação do desempenho analítico do método de determinação de TPH (Total Petroleum Hydrocarbon) por detecção no infravermelho, **Ecletica Química**, v. 33, n. 1, 2008.
- NETTO, A. D. P.; DIAS, A. E. X O.; ARBILA, G.; OLIVEIRA, A. S.; FERREIRA, L. F. V.; BAREK, J. avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (NHPAs): uma revisão metodológica, **Química Nova**, v. 23, n.6, p.9, 2000
- OKPARANMA R. N.; MOUAZEN A. M. Determination of total petroleum hydrocarbon (TPH) and polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) in soils: a review of spectroscopic and non-spectroscopic techniques. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 48, n. 6, p. 458-486, 2012.
- OLIVEIRA C. R, MADUREIRA, L. A. S. Assessment and sources of nonaromatic hydrocarbons in surface sediments of three harbors in Santa Catarina State, Brazil. **Environmental Monitoring Assessment**, v.173, p. 91–105, 2011.

- PELAGATTI, S.; FACCHETTI, R.; CADOPPI, A. Ultra Fast GC Method for the Analysis of Total Petroleum Hydrocarbons (TPH) in Water and Soils, in Compliance with Texas TNRCC Method 1005. **Thermo Fisher Scientific**, v. 24, p.35, 2006.
- PUERARI, L. Avaliação ambiental dos rios Barigui e Alto IGUAÇU (Paraná): A contaminação atual e a contaminação relacionada ao acidente da Repar (2000). Dissertação de mestrado, Programa de pós-graduação em Geociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2011. 111p.
- MARSAOLI, M. Kandungan hidrokarbon minyak bumi pada sedimen di perairan Raha Kabupaten Muda, Sulawesi Tenggara, **Makara Sains**, v. 8, n. 3, p. 116-122, 2004.
- READMAN, J. W.; FILLMANN, G.; TOLOSA, I.; BARTOCCI, J; VILLENEUVE, J. P; Catinni, C. Petroleum and PAH contamination of the Black Sea. **Marine Pollution Bulletin**, v. 44, p. 48–62, 2002.
- REDDY, M C.; QUIN, G. J. GC-MS Analysis of total petroleum hydrocabons and polycyclic aromatic hydrocarbons in seawater sample after the North Cape oill spill. **Marine Pollution Buletin**, v. 38. n. 2, p. 126-135, 1999.
- REZENDE, M. O. O.; COTTA, J. A. O.; LANDGRAF. M. D. Avaliação de solventes de extração por ultrassom usando-se cromatografia líquida de alta eficiência para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em solos contaminados. **Quimica Nova**, v. 32, n. 8, p. 2026-2033, 2009.
- RIBANI, M.; JARDIM, I. C. S. F.; CARLA, B. G. B.; Carol, H. C.; LUCIO, F.C.B. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Quimica Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.
- JENG, W. L. Pristane and phytane in marine sediments. **Acta Oceanographica Taiwanica**, n.14, p. 1-8, 1983
- RIBEIRO, H. Impactos da exploração do petróleo na saúde humana. **Revista USP**. São Paulo, n. 95, p. 61-71, 2012
- ROOD, D. **The Troubleshooting and Maintenance Guide for Gas Chromatographers**. 4 ed, USA; Revised and Updated Edition, 2007. 346p.
- SANTOS, A. S. R. Poluição: Considerações ambientais e jurídicas. **Revista Imes**, p. 97-102, 2002.
- SKOOG, A. D.; WEST, M. D.; HOLLER, J. F.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. Tradução da 8ª edição norte-americana, Thomson. 2006. 1026p.

STEINHAEUER, M. S.; BOEHM, P. D. The composition and distribution of saturated and aromatic hydrocarbons in nearshore sediments, river sediments, and coastal peat of Alaska Beaufort Sea: implications for detecting anthropogenic hydrocarbons input. **Marine Environmental Research**, v. 33, p. 223-253. 1992.

STERNER, T.R; ELAINE, A. M.; ERI, K. V. TPH criteria working group demonstration field sampling report: robins air force base, warner-robins, ga. **United States Air Force Research Laboratory**, p. 1-60, 2000.

TAM, N.F.Y.; WONG, T.W.Y.; WONG, Y.S. A case study on fuel oil contamination in a mangrove swamp in Hong Kong. **Marine Pollution Bulletin**, v.51, p. 1092-1100, 2005.

Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group (TPHCWG),1998, volume 1, Analysis of petroleum hydrocarbons in environmental media, Weisman W, eds. Amherst, MA: Amherst Scientific Publishers, Amherst, Massachusetts, United States of America.

UNEP/IOC/IAEA. Determination of petroleum hydrocarbons in sediments. United Nations Environment Programme, Intergovernmental Oceanographic Commission and International Atomic Energy Agency, 1992, 75p.

VENKATESAN, M. I.; KAPLAN, I. R. Distribution and transport of hydrocarbons in surface sediments of the Alaskan outer continental shelf. **Geochimica Cosmochimica Acta**, v. 46, p. 2135–2149, 1982.

VOLKMAN, J. K.; HOLDSWORTH. G. D.; NEILL, G. P.; BAVOR. J. H. J. Identification of natural, anthropogenic and petroleum hydrocarbons in aquatic sediment. **The Science of the Total Environment**, v. 112, p 203-219, 1992.

VOLKMAN, J. K.; JHONS, R.B.; GILLAN, F.T.; PERRY, G. Y. Microbial lipids of an intertidal sediment-I. Fatty acid and hydrocarbons. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 44, p. 1133-1143, 1980.

VORHEES, D.J.; MENZIE, C.; Wade, H. W.; Gustafson, J. B.; Human Health Risk-Based Evaluation of Petroleum Release Sites: Implementing the Working Group Approach, *TPH Criteria Working Group*, V. 5. P. 71, 1999.

WADA, L. M. Estudo do comportamento de solos contaminados com óleo de isolamento de transformadores. Dissertação

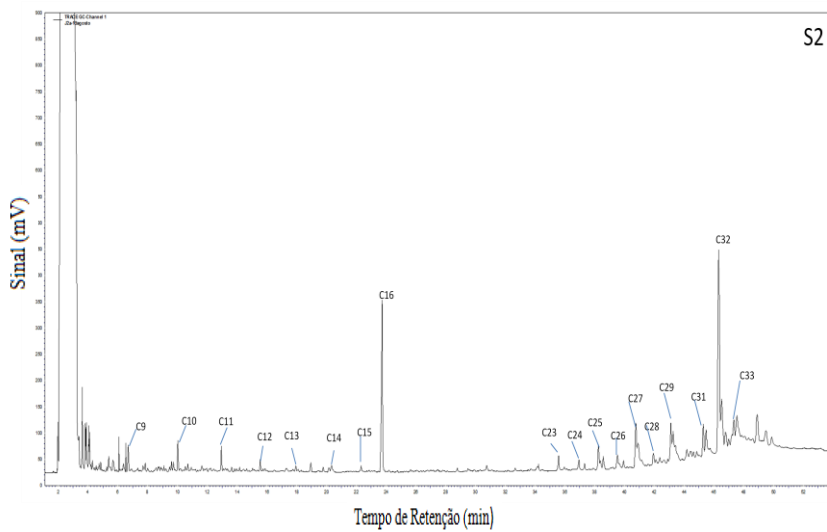
Mestrado, Escola politécnica, Universidade São Paulo , P. 99, 2011.

WAGENER, A. L. R., LUIS H. M. F.; DAGAUT, J.; SALIOT, A. Non-Aromatic Hydrocarbons in Recent Sediments of Sepetiba and Ilha Grande Bays, Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, n. 3, p. 516-527, 2008.

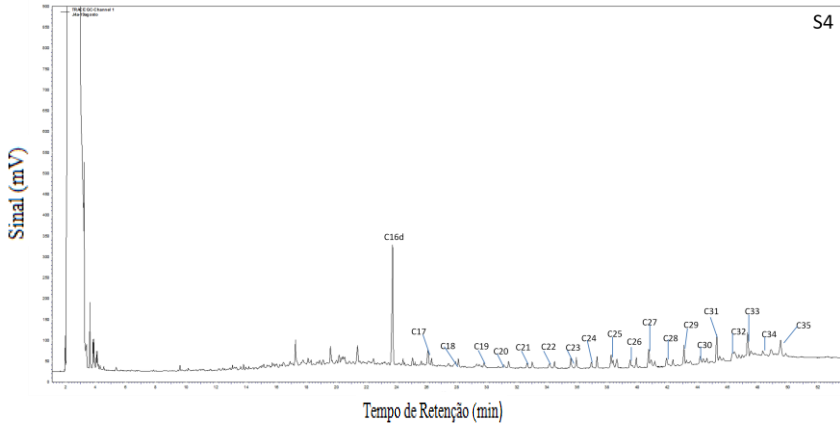
WANG, Z.; FINGAS, M.F. Development of oil hydrocarbon fingerprinting and identification techniques. **Marine Pollution Bulletin**, v. 47, p. 423-452, 2003.

YOU, J.; JUAN, DU.; MEHLER, W. T.; Lydy, M. J. Toxicity of sediment-associated unresolved complex mixture and its impact on bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Journal of Hazardous Materials**, v. 203–204, p. 169-175, 2012.

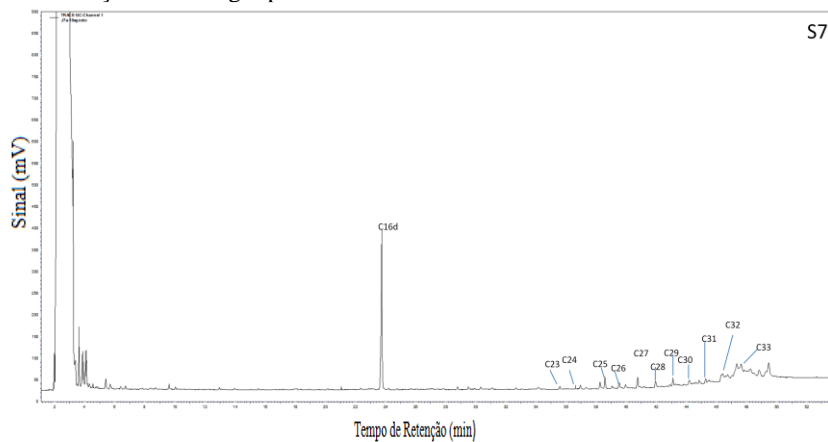
Apêndice A. Cromatograma da fração de hidrocarbonetos alifáticos, na estação Rio Barigui ponto S2.



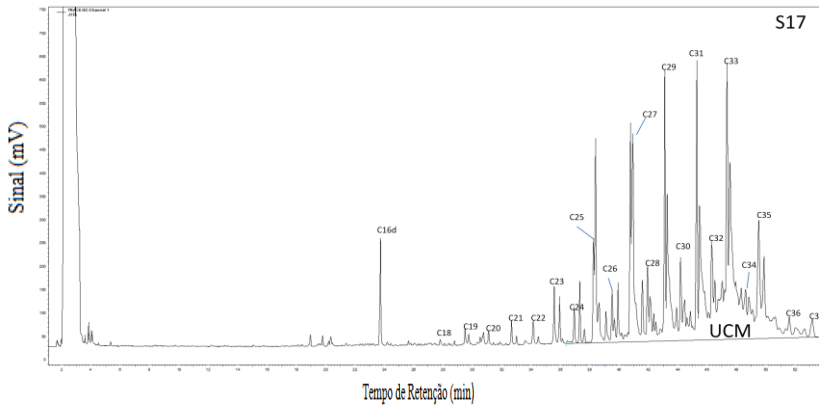
Apêndice B. Cromatograma da fração de hidrocarbonetos alifáticos, na estação Rio Barigui ponto S4.



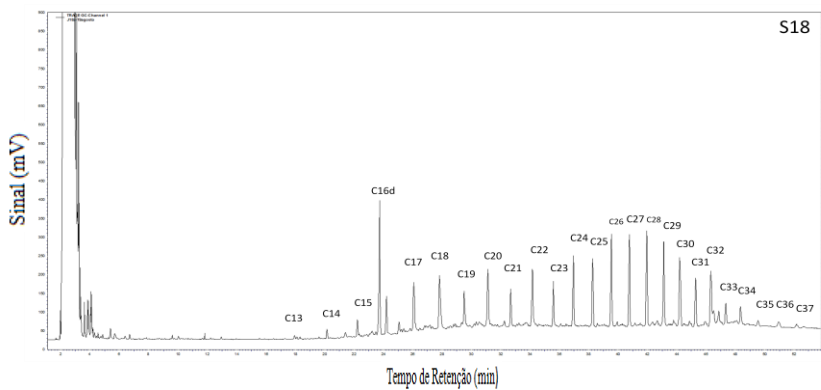
Apêndice C. Cromatograma da fração de hidrocarbonetos alifáticos, na estação Rio Barigui ponto S7.



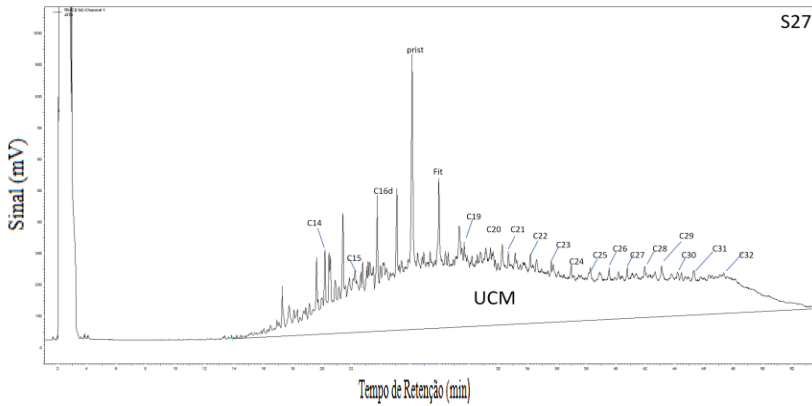
Apêndice D. Cromatograma da fração de hidrocarbonetos alifáticos, mistura complexa não resolvida (UCM), no sedimento do rio perto da refinaria ponto S17.



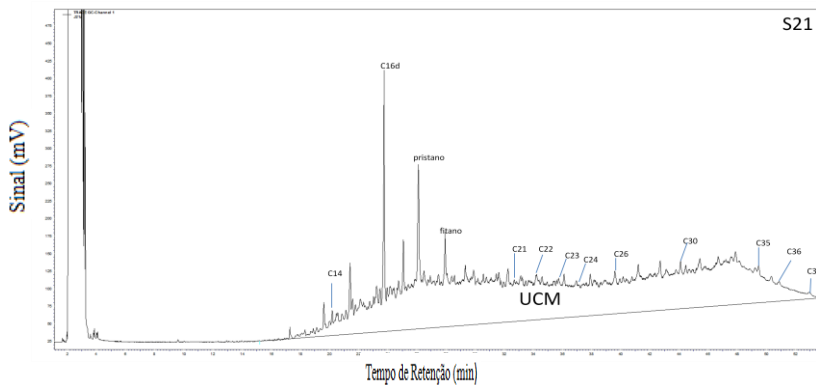
Apêndice E. Cromatograma da fração de hidrocarbonetos alifáticos, no sedimento do rio perto da refinaria ponto S18.



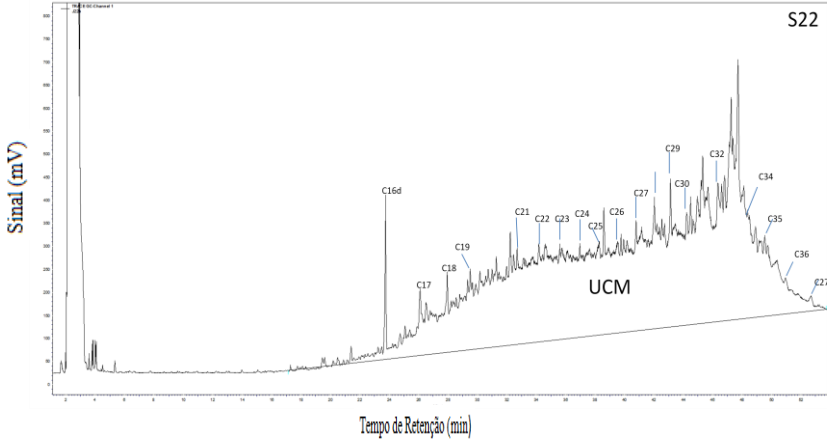
Apêndice F. Cromatograma da fração de hidrocarbonetos alifáticos, mistura complexa não resolvida (UCM), no sedimento do rio perto da refinaria ponto S27.



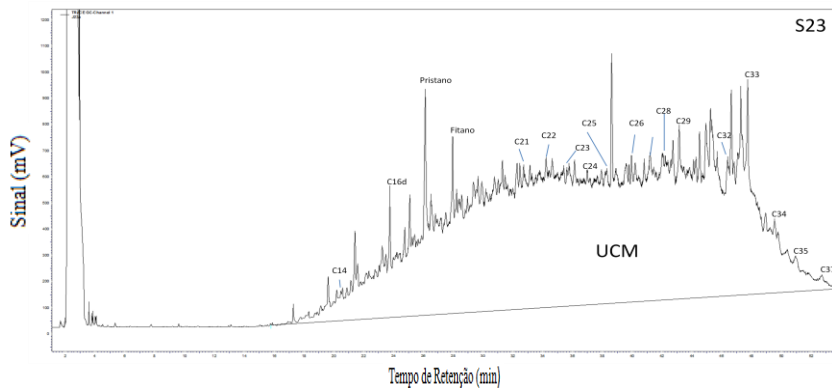
Apêndice G. Cromatograma da fração de hidrocarbonetos alifáticos, mistura complexa não resolvida (UCM) no sedimento localizado no General Lucio ponto S21.



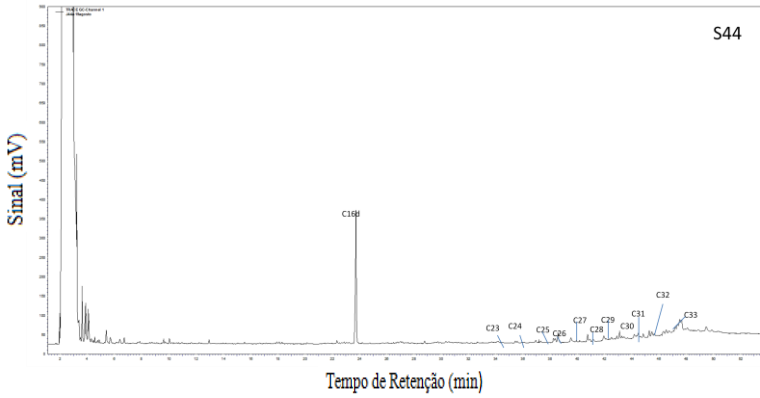
Apêndice H. Cromatograma da fração de hidrocarbonetos alifáticos, mistura complexa não resolvida (UCM), no sedimento localizado no General Lucio ponto S22.



Apêndice I. Cromatograma da fração de hidrocarbonetos alifáticos, mistura complexa não resolvida (UCM), no sedimento localizado no General Lucio ponto S23.



Apêndice J. Cromatograma da fração de hidrocarbonetos alifáticos, na cidade Araucária ponto S44.



Apêndice K. Curva analítica do hidrocarboneto C₁₇