

EMERSON LUIS YOSHIO HARA

Protocolo Analítico para a Determinação de Éteres Difenílicos Polibromados (PBDE) em Sedimentos de Rios por GC-MS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Química da Universidade Federal do Paraná como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Marco Tadeu Grassi

Curitiba

2014

AGRADECIMENTOS

A Deus e meus pais que são meus alicerces.

Ao professor Marco Tadeu Grassi pela orientação científica e confiança no meu trabalho.

A UFPR, CAPES e INCTAA.

Aos professores Marcio Bergamini e Bruno Gonçalves pelas contribuições no meu exame de qualificação.

A Cesar Alexandro da Silva e Rogério da Silva Souza pelo companheirismo e valiosas contribuições para o desenvolvimento do meu trabalho.

Aos amigos do Grupo de Química Ambiental pelos ótimos momentos que compartilhamos: Ana, Andrey, Beatriz, Cristiano, Kelly, Mônica, Rafael e Simone.

Ao pessoal do LabQAM.

De forma especial, às minhas irmãs, Priscila e Pâmela. E também a Fourllan, Alex, Nenê e Nono.

Sumário

LISTA DE FIGURAS.....	III
LISTA DE TABELAS.....	VI
RESUMO	VII
ABSTRACT	VIII
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	16
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	16
3.1 MATERIAIS E REAGENTES.....	16
3.2 PREPARO DE SOLUÇÕES.....	18
3.3 OTIMIZAÇÃO CROMATOGRÁFICA.....	19
3.4 OTIMIZAÇÃO DAS ETAPAS DE EXTRAÇÃO E CLEAN-UP.....	23
3.4.1 ETAPA DE CLEAN-UP	23
3.4.2 EXTRAÇÃO DOS ANALITOS.....	25
3.4.3 TESTE DE ADIÇÃO E RECUPERAÇÃO DOS PBDE	26
3.4.4 PREPARO DO MATERIAL DE REFERÊNCIA	27
3.5 COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS.....	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1 OTIMIZAÇÃO CROMATOGRÁFICA.....	34
4.2 RESULTADOS DA ETAPA DE CLEAN-UP	47
4.3 OTIMIZAÇÃO DA ETAPA DE EXTRAÇÃO.....	50
4.3.1 ESCOLHA DO SOLVENTE EXTRATOR.....	50
4.3.2 PARÂMETROS DE EXTRAÇÃO	52
4.4 PARÂMETROS DE MÉRITO	57
5. APLICAÇÃO DO MÉTODO A AMOSTRAS REAIS.....	61
6. CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	67
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Estrutura básica de uma molécula de PBDE formada por dois radicais bifenila ligados a um grupo éter ($1 \leq m, n \leq 5$).....5
- Figura 2: Estrutura básica de uma molécula de PCB cuja produção e utilização, apesar de elevadas, estão em declínio por conta de um acordo mundial estabelecido na Convenção de Estocolmo.....5
- Figura 3: Fórmula estrutural dos 14 congêneres de PBDE presentes no padrão BDE-COC.....7
- Figura 4: Mecanismo de ação dos PBDE quando aplicados sobre a superfície de um objeto qualquer durante a combustão e a supressão de gases que levam a tal reação, na figura a direita. Na figura a esquerda um objeto sem o retardante de chama (PESTANA et al., 2008).....9
- Figura 5: Programa de aquecimento proposto pelo método 1614A U.S. EPA (Software Xcalibur).....20
- Figura 6: Programa de aquecimento não-linear (Software Xcalibur).....21
- Figura 7: Esquema da etapa de *clean-up* formado por uma pipeta graduada empacotada com sílica e alumina sob fluxo de gás nitrogênio.....24
- Figura 8: Índice de chuva acumulada no período de 25/11/2013 a 03/12/2013 (Fonte: SIMEPAR).....28
- Figura 9: Principais mananciais da Bacia Hidrográfica do Iguaçu, na Região Metropolitana de Curitiba onde foi feita a amostragem de sedimento nos rios Barigui, Iguaçu, Timbú e Reservatórios Iraí e Passaúna. Os pontos em vermelho indicam os locais aproximados.....29
- Figura 10: Ponto de coleta no rio Iguaçu. Ao lado esquerdo, lançamento de esgoto clandestino.....30
- Figura 11: (A) Margem do rio Barigui; (B) Ponto de coleta rio Barigui; (C) Reservatório Passaúna. Ambos localizados no município de Araucária.....31
- Figura 12: (A) Reservatório do Iraí. (B) Ponto de coleta rio Timbu no município de Quatro Barras.....32
- Figura 13: Testemunhador de PVC desmontado (A) e pronto para o uso (B)33
- Figura 14: Sedimentos coletados nos rios e reservatórios de abastecimento de água pertencentes à Bacia Hidrográfica do Alto Iguaçu. Da esquerda para

a direita: sedimentos do Reservatório Passaúna, Reservatório Iraí, Rio Timbu, Rio Iguaçu e Rio Barigui.....	33
Figura 15: Sedimentos coletados na Bacia Hidrográfica do Alto Iguaçu já secos e macerados.....	34
Figura 16: Cromatograma obtido após injeção sob programa de aquecimento da coluna cromatográfica proposto pelo método 1614A (U.S. EPA). Sinal do primeiro analito (BDE 17) cuja eluição ocorreu 29 min após a injeção.....	36
Figura 17: Cromatogramas obtidos pela seleção individual dos íons m/z dos compostos de interesse e que evidenciam a satisfatória separação dos sinais cromatográficos (Método 1614A).....	37
Figura 18: Cromatograma obtido após injeção sob programa alternativo de aquecimento nas condições em etapas.....	38
Figura 19: Cromatogramas obtidos pela seleção individual dos íons m/z dos compostos de interesse no programa de aquecimento alternativo ao proposto pela U.S. EPA.....	39
Figura 20: Gráfico de pareto referente ao planejamento 23 evidenciando a influência da temperatura do injetor e do tempo de splitless.....	42
Figura 21A: Superfícies de resposta mostrando a influência da temperatura do injetor e do tempo de splitless.....	42
Figura 21B: Superfícies de resposta mostrando a influência da temperatura do injetor e do tempo de splitless.....	43
Figura 21C: Superfícies de resposta mostrando a influência da temperatura do injetor e do tempo de splitless	43
Figura 22: Gráfico de pareto referente ao planejamento 24 evidenciando a influência significativa do pulso de pressão na melhora da detectabilidade...	45
Figura 23A: Relação entre a intensidade da pressão aplicada e duração do tempo de aplicação da mesma.....	45
Figura 23B: Os efeitos das interações entre a intensidade da pressão aplicada e ao aumento da temperatura do injetor são significativos quanto a maiores forem seus respectivos valores.....	46
Figura 24: Eluição de alcanos com mistura de hexano/diclorometano (3:1) em coluna miniaturizada de sílica e alumina.....	48
Figura 25: Eluição de alcanos com mistura de hexano/diclorometano (3:1) em coluna constituída por 4 g de sílica e 1 g de alumina.....	49

Figura 26: Percentuais de recuperação obtidos a partir da eluição na microcoluna, em comparação a injeção do padrão puro de PBDE.....	50
Figura 27: Percentuais de recuperação após extração realizada em 5 etapas de 5 minutos e intervalo de 1 minuto usando como solventes acetona, hexano e diclorometano.....	51
Figura 28: Percentuais de recuperação após extração feita em 3 etapas de 5 minutos e intervalo de 1 minuto usando como solventes acetona, hexano e diclorometano.....	52
Figura 29: Percentuais de recuperação dos congêneres de PBDE obtido a partir da extração em Na ₂ SO ₄ e em sedimento utilizando como solvente extrator a acetona em 3 etapas de sonicação na potência máxima de 500....	53
Figura 30: Gráfico de pareto obtido a partir da realização de testes segundo um planejamento fatorial 2 ³ visando otimizar o processo de extração.....	54
Figura 31: Superfície de resposta obtida a partir da realização de testes segundo um planejamento fatorial 2 ³	54
Figura 32: Superfície de resposta obtida a partir da realização de testes segundo um planejamento fatorial 2 ³ visando otimizar o processo de extração.....	55
Figura 33: Superfície de resposta obtida a partir da realização de testes segundo um planejamento fatorial 2 ³ visando otimizar o processo de extração.....	56
Figura 34: Percentual de recuperação para congêneres de PBDE obtidos a partir do planejamento fatorial 2 ³ visando otimizar a etapa de extração.....	57
Figura 35: Síntese do método otimizado neste trabalho.....	61
Figura 36: Cromatograma e espectro de massas do BDE-71 presente em amostra coletada no rio Barigui.....	63
Figura 37: Cromatograma e espectro de massas do BDE-85 presente em amostra coletada no rio Timbu.....	64
Figura 38: Cromatograma e espectro de massas do BDE-99 presente em amostra coletada no rio Iguaçu.....	64
Figura 39: Gráfico de recuperação a partir da extração de amostras de sedimento fortificado com padrões de PBDE.....	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Propriedades físico-químicas dos 14 congêneres de PBDE presentes no padrão BDE-COC.....	8
Tabela 2: Eventos históricos envolvendo os PBDE.....	15
Tabela 3: Padrão interno de PBDE (MBDE-MXFR) adquirido da Wellington.....	17
Tabela 4: Padrão de PBDE de sub-rogado (MBDE-MXFS) adquirido da Wellington.....	17
Tabela 5: Padrão de alcanos que foram monitorados na etapa de <i>clean-up</i>	18
Tabela 6: (A) Planejamento fatorial de experimento 2^3 (B) Planejamento fatorial de experimento 2^4 avaliando os efeitos da Temperatura do injetor, Duração do pulso de pressão e Intensidade do pulso de pressão Temperatura da linha de transferência sobre a detectabilidade dos PBDE.....	22
Tabela 7: Condições empregadas no empacotamento da microcoluna utilizada na etapa de <i>clean-up</i>	24
Tabela 8: Otimização das condições de extração a partir do planejamento fatorial 2^3	26
Tabela 9: Identificação dos pontos de coleta de amostras de sedimento em rios da bacia Hidrográfica do Alto Iguaçu, na Região Metropolitana de Curitiba.....	28
Tabela 10. Variáveis avaliadas no planejamento fatorial 2^3 para determinação experimental de PBDE em GC-MS e resposta obtida após injeções através do cálculo da média geométrica das áreas dos analitos	41
Tabela 11: Planejamento fatorial 2^4 para otimização experimental da determinação de PBDE em GC-MS.....	44
Tabela 12: Parâmetros operacionais para determinação dos PBDE utilizando GC-MS.....	46
Tabela 13: Tempo de retenção e íons de quantificação referentes aos congêneres de PBDE obtidos após corrida cromatográfica	47
Tabela 14: Faixa linear de concentração da curva analítica, coeficiente de correlação, limites de detecção e quantificação para os PBDE	59
Tabela 15: Percentuais de recuperação e coeficiente de variação (n=3) obtido para os PBDE em sedimento de referência preparado em laboratório	60
Tabela 16: Determinação de alguns congêneres de PBDE em sedimentos coletados nos rios da região de Curitiba.....	62

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo otimizar um protocolo analítico para determinação de éteres difenílicos polibromados (PBDE) em sedimentos de rios. As etapas consistiram em desenvolver o método cromatográfico assim como as de extração e *clean-up*, de modo a reduzir significativamente as quantidades de solvente e adsorvente em cada etapa. Cada uma destas foi avaliada separadamente, por meio de testes de recuperação. Para a extração foi utilizada uma sonda ultrassônica de 500 W de potência; optou-se pelo emprego de 4,0 mL de acetona como fase extratora em três etapas de sonicação, com duração de três minutos cada uma. Para a *clean-up* utilizou-se uma pipeta graduada de 20 cm de comprimento e 0,6 cm de diâmetro interno. Como fases adsorventes foram empregadas 1,0 g de sílica e 1,0 g de alumina, seguindo-se a eluição com 5,0 mL de hexano e 5,0 mL de hexano/diclorometano (3:1, v/v). Os resultados obtidos para a maioria dos compostos, expressos em termos percentuais, em todas as etapas estudadas, ficaram dentro da faixa de 70% a 111%, valores considerados satisfatórios. O método foi avaliado e validado com base em diferentes critérios analíticos utilizando-se ensaios de recuperação em sulfato de sódio (sistema modelo) e material de referência preparado no laboratório, com excelentes resultados. O método otimizado foi aplicado a amostras de sedimentos de ambientes aquáticos urbanos e mananciais de abastecimento localizados na bacia Hidrográfica do Alto Iguaçu, na Região Metropolitana de Curitiba. Os resultados obtidos a partir da análise das amostras de sedimentos demonstraram que os rios localizados em regiões sob forte influência urbana e industrial apresentaram PBDE. Foram determinados nos compartimentos sedimentares dos rios Timbu, Barigui e Iguaçu os congêneres BDE-71, BDE-85 e BDE-99 em concentrações inferiores aos limites de detecção e quantificação.

ABSTRACT

This study aimed to optimize an alternative analytical protocol for the determination of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in riverine sediments. The protocol consisted in developing the chromatographic method, as well as the extraction and clean-up stages, in order to significantly reduce the amount of solvent and adsorbent, as well as the time involved in sample preparation. For the cleanup it was used a 20 cm graduated pipette and 0.6 cm inner diameter. 1.0 g of silica and 1,0 g of alumina were used as adsorbent phase, followed by elution with 5.0 mL of hexane and 5.0 mL of hexane/dichloromethane (3:1, v/v). The results, expressed in percentage recovered, ranged from 70% to 111%. The method was evaluated and satisfactorily validated according to different analytical criteria such as recovery in sodium sulfat, a model system, and home-made reference material. Finally method was applied to sediment samples from urban riverine aquatic environments and water supplies located at Alto Iguaçu Hydrographic River Basin, in the Metropolitan Region of Curitiba. The results obtained from environmental samples demonstrated that rivers located in areas under urban and industrial influences presented PBDE intakes. BDE-71, BDE-85 and BDE-99 congeners were determined in sediment from Timbu, Barigui and Iguaçu rivers with concentrations lower than limits of detection and quantification.

1. INTRODUÇÃO

A intensa atividade industrial observada após a Segunda Grande Guerra e o desenvolvimento de novas tecnologias têm contribuído para o surgimento de inúmeros produtos que rapidamente passaram a ser considerados essenciais por uma parcela expressiva da sociedade. Desde então, especialmente nos dias atuais, com o aumento da geração de emprego e renda tem sido observado um consumismo exacerbado em vários países. Aliado a isso, o planejamento sanitário inadequado da maioria das cidades, as deficiências no tratamento dos resíduos domésticos e industriais e o descarte inapropriado nos corpos aquáticos têm ocasionado alterações no ambiente que podem afetar a vida em todos os ecossistemas terrestres, inclusive a sobrevivência da espécie humana Dukakis (1996 e Mori (2008).

Nesse contexto, apesar de os mares, rios e córregos serem fundamentais a todas as formas de vida no planeta, eles têm atuado como receptores dos mais variados tipos de efluentes, despejos e derrames sejam de origem natural ou antrópica. Por sua vez, são justamente as atividades antrópicas as mais preocupantes e que estão relacionadas às ameaças de poluição da água, do uso insustentável e do risco de escassez.

Uma vez lançados indevidamente nos corpos aquáticos, os poluentes podem permanecer suspensos na coluna d'água ou decantar em direção ao compartimento sedimentar. De acordo com Miall (1977), os sedimentos são formados por camadas de partículas minerais e orgânicas, finamente granuladas que são carregadas pelas intempéries até a parte inferior dos corpos aquáticos. Este compartimento é considerado um ambiente ativo que atua como depósito de vários tipos de compostos e reflete todos os processos que ali ocorreram. Dessa forma, a análise do sedimento fornece um registro histórico dos contaminantes presentes nessa matriz Miall (1977).

Segundo Mulder e colaboradores (2001), os sedimentos são de grande relevância, uma vez que não somente armazenam ou acumulam nutrientes e outros compostos, mas, acabam liberando-os para a coluna d'água ou servindo como fonte de alimento para espécies bentônicas que habitam esse compartimento (Mulder; Alexander(2001)

Para Karickhoff (1981), a qualidade dos sedimentos é um componente importante no monitoramento das águas, pois, os contaminantes acabam estabelecendo uma situação de equilíbrio dinâmico entre a adsorção nos micro poros do sedimento e a dissolução na água ali presente, denominada água intersticial. Assim, são necessários testes toxicológicos para determinar os níveis de contaminação dos sedimentos Karickhoff (1981).

Nas últimas seis décadas, dentre os compostos comumente encontrados nas análises de sedimentos destacam-se os halogenados que ainda são utilizados, principalmente, como defensivos agrícolas. Como exemplos, podem ser citados o fungicida hexaclorobenzeno (BHC) e o inseticida aldrin. Devido às características tóxicas, persistentes, hidrofóbicas e bioacumulativas, desses e de outros compostos, ao serem carregadas aos corpos aquáticos tendem a aportar no compartimento sedimentar que é a fonte de alimento das inúmeras espécies de animais desse habitat. Desde então, os relatos de problemas ambientais e riscos a saúde humana tem aumentado gradativamente (EQANI, MALIK e MOHAMMAD, 2011; WASSWA *et al.*, 2011).

Atualmente, ainda há muita dificuldade em se avaliar os efeitos nocivos dos milhares de contaminantes naturais e sintéticos sobre os seres vivos. Esses contaminantes podem estar presentes em concentrações na ordem de pg L^{-1} a ng L^{-1} . Além disso, a determinação desses compostos em matrizes biológicas e ambientais é um desafio, pois necessitam de técnicas sensíveis de análise e, na maioria das vezes, de um tratamento prévio e dispendioso das amostras. (OHE, WATANABE e WAKABAYASHI, 2004).

Assim, a toxicologia ambiental, ou ecotoxicologia, dedica-se principalmente aos efeitos decorrentes da exposição a tais contaminantes durante um longo período, seja pela ingestão de ar, água ou alimento contaminado. De tal maneira, mesmo estando presentes em concentrações nível traço, o caráter predominantemente lipofílico e a baixa reatividade dessas substâncias ao ambiente contribuem para que bioacumulação ocorra de forma gradual. Isso se deve a afinidade de tais compostos ao tecido adiposo de espécies animais que são a base da cadeia trófica (VAGULA, VARTAK, TALLMADGE, 2012). Paralelamente, os processos de

biomagnificação resultam de uma sequência de etapas de bioacumulação que ocorre ao longo da cadeia alimentar, de modo que a concentração de uma dada substância aumenta significativamente entre diferentes espécies de organismos da cadeia trófica (LEITE, PERALTA-ZAMORA, GRASSI, 2011).

Vários trabalhos têm chamado a atenção para a questão toxicológica em seres vivos. Por exemplo, Schwarzenbach e colaboradores (2006) afirmam que as substâncias orgânicas halogenadas podem estar relacionadas a problemas do sistema endócrino de humanos e de outros animais e, assim, acabam afetando a saúde, o crescimento e a reprodução dessas espécies. Schwarzenbach et al. (2006). De forma mais conclusiva, foi constatado que humanos expostos diretamente a essas substâncias têm apresentado efeitos como a redução da quantidade de esperma, endometriose e o aumento da incidência de vários tipos de câncer, por exemplo, de mama, testículo e próstata (GHISELLI e JARDIM, 2007; MAIA e DEZOTTI, 2007; SALIHOVIC *et al.*, 2013; TOMS *et al.*, 2012).

Nessa perspectiva, ao longo das últimas três décadas, uma classe de compostos também tem chamado a atenção de pesquisadores diante da produção e utilização em larga escala e dos inúmeros trabalhos relatando a ubiquidade em amostras de água, solo, sedimento e ar atmosférico, inclusive em áreas remotas. São os éteres difenílicos polibromados ou PBDE pertencentes à classe dos retardantes de chama bromados (DECARLO, 1979; JANSSON, ASPLUND e OLSSON, 1987; MATSUNO *et al.*, 2007; STAPLETON, 2006).

Os PBDE são substâncias químicas sintéticas, cuja finalidade é associá-las através de ligações covalentes a matriz polimérica de diversos produtos, por exemplo, computadores, equipamentos eletrônicos, carpetes, forrações, estofados, automóveis, e aviões a fim de reduzir e/ou evitar a propagação do fogo em um eventual incêndio. Estima-se que 600 mil toneladas de retardantes de chama sejam produzidas mundialmente a cada ano. Deste total, as espécies contempladas nos grupos de congêneres: penta-BDE, octa-BDE e deca-BDE, respondem por 420 mil toneladas a cada ano, ao passo que o congênere com maior grau de substituição por átomos de bromo, deca-BDE, corresponde a 75% do total.

Segundo um levantamento realizado pelo Fórum Científico e Ambiental de Produtos a Base de Bromo (BSEF), são os compostos mais utilizados na atualidade como retardantes de chama por representarem a maneira mais econômica e eficiente de prevenir acidentes incendiários. (ALAE e WENNING, 2002; BSEF, 2012; RAHMAN *et al.*, 2001).

Durante um princípio de incêndio, os objetos recobertos por retardantes de chama apresentam a decomposição de tais compostos antes da matriz polimérica que forma estes objetos evitando, assim, a formação de gases inflamáveis. De tal maneira, o mecanismo de atuação dos PBDE consiste na supressão dos radicais livres ($\text{OH}\cdot$ e $\text{H}\cdot$) que são produzidos durante a reação de combustão, e são responsáveis pela propagação da chama.

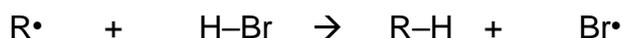
Os PBDE ($\text{R} - \text{Br}$) têm a capacidade de retardar a propagação do fogo, pois, quando são sujeitos a elevadas temperaturas se decompõem, liberando átomos de bromo na forma de radicais ($\text{Br}\cdot$):



Por sua vez, os bromos radicalares reagem com o polímero (Pol-H) ao qual o retardante está em contato, eles retiram os átomos de hidrogênio presentes e formam o brometo de hidrogênio (HBr), que é uma espécie energeticamente mais estável:



O brometo de hidrogênio liberado é responsável por retardar o processo de decomposição do polímero, pois, fornece continuamente os bromos radicalares que retiram do meio os radicais $\text{H}\cdot$ e $\text{OH}\cdot$. Trata-se, portanto, de uma reação em cadeia e inibe o processo de combustão:



Como é mostrado na Figura 1, a estrutura básica desses compostos consiste em um par de radicais fenílicos ligado a um grupo funcional éter. As moléculas de PBDE são estruturalmente similares às bifenilas policloradas (PCB), conforme mostra a Figura 2, que apesar de terem sido banidos de muitos países, ainda estão presentes e são utilizadas como isolante térmico em transformadores e geradores elétricos. Atualmente, são objeto de estudo

devido suas características persistentes e tóxicas. Conseqüentemente, as propriedades físico-químicas e forma de determinação das PCB são semelhantes as do PBDE. (CARLSSON, HERZKE e KALLENBORN, 2013; LAVANDIER *et al.*, 2013; SCHUHMACHER *et al.*, 2013).

Atualmente, estão disponíveis no mercado 209 congêneres de PBDE que estão agrupados em misturas comerciais: Mono-BDE: 3 congêneres; Di-BDE: 12 congêneres; Tri-BDE: 24 congêneres; Tetra-BDE: 42 congêneres; Penta-BDE: 46; Hexa-BDE: 42 congêneres; Hepta-BDE: 24 congêneres; Octa-BDE: 12 congêneres; Nono-BDE: 3 congêneres; Deca-BDE: 1 congêneres.

A eficiência de cada congêneres ao inibir a propagação do fogo e suas propriedades físico-químicas estão associadas diretamente ao grau de substituição por átomos de bromo nos anéis fenílicos.

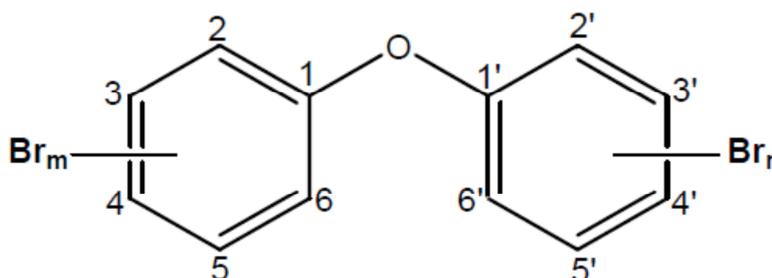


Figura 1: Estrutura básica de uma molécula de PBDE formada por dois radicais fenílicos ligados a um grupo éter ($1 \leq m, n \leq 5$).

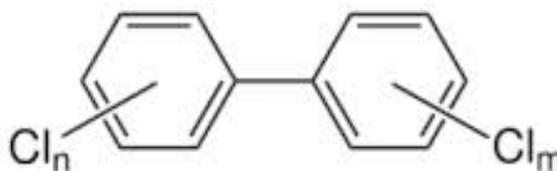
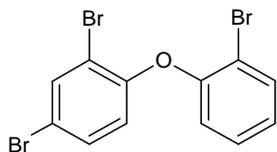


Figura 2: Estrutura básica de uma molécula de PCB cuja produção e utilização, apesar de elevadas, estão em declínio por conta de um acordo mundial estabelecido na Convenção de Estocolmo ($1 \leq m, n \leq 5$).

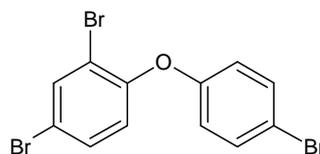
Na Figura 3 são apresentadas as fórmulas estruturais dos 14 congêneres de PBDE mais comumente produzidos e empregados nos diversos tipos de produtos comerciais e que conseqüentemente acabam sendo encontrados no ambiente. Na Tabela 1 estão relacionadas algumas de suas propriedades físico-químicas Kim *et al.* (2013 e Rahman *et al.* (2001).

De uma forma geral, tais compostos possuem baixa pressão de vapor e caráter hidrofóbico. Os valores de K_{ow} referem-se ao coeficiente de partição octanol/água, que é uma medida de concentração adimensional, cuja magnitude expressa a distribuição de um determinado composto entre volumes iguais de dois solventes parcialmente miscíveis octanol e água (U.S. EPA, 2008).

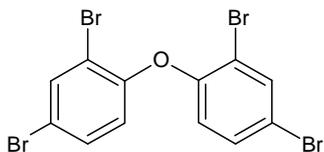
Dessa forma, os valores atribuídos a cada congêneres indicam um menor ou maior caráter hidrofóbico. Para congêneres cujos valores de K_{ow} variam entre 1 e 4, observa-se uma maior concentração em soluções aquosas e uma eliminação mais fácil de tecidos adiposos. No entanto, para valores superiores a 5, verifica-se uma maior probabilidade de os PBDE serem encontrados associados a matéria orgânica de solos e sedimentos dos corpos aquáticos e até mesmo em tecidos adiposos de organismos da cadeia trófica.



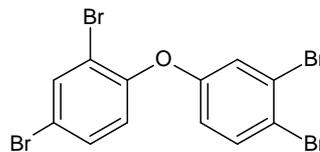
2,2',4-Tribromodifenil éter (BDE 17)



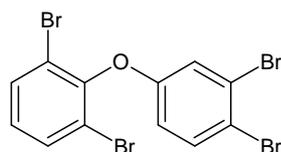
2,4,4'-Tribromodifenil éter (BDE 28)



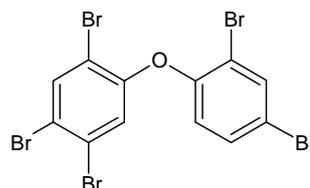
2,2',4,4'-Tetrabromodifenil éter (BDE 47)



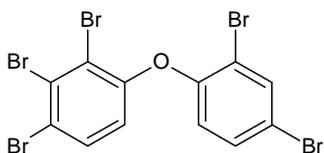
2,3,4,4'-Tetrabromodifenil éter (BDE 66)



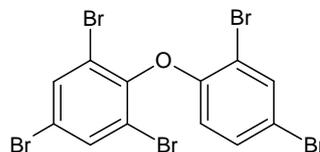
2,3',4',6-Tetrabromodifenil éter (BDE 71)



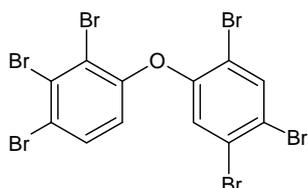
2,2',4,4',5-Pentabromodifenil éter (BDE 85)



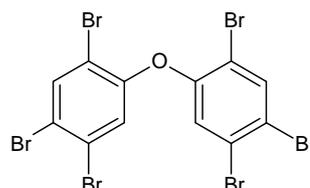
2,2',3,4,4'-Pentabromodifenil éter (BDE 99)



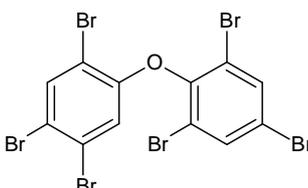
2,2',4,4',6-Pentabromodifenil éter (BDE 100)



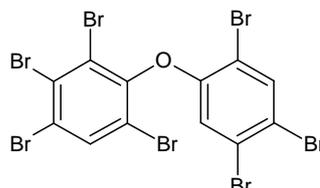
2,2',3,4,4',5'-Hexabromodifenil éter (BDE 138)



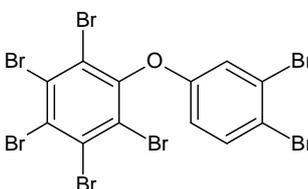
2,2',4,4',5,5'-Hexabromodifenil éter (BDE 153)



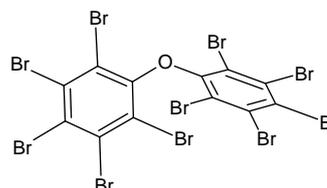
2,2',4,4',5,6'-Hexabromodifenil éter (BDE 154)



2,2',3,4,4',5',6-Heptabromodifenil éter
(BDE 183)



2,3,3',4,4',5,6-Heptabromodifenil éter
(BDE 190)



2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-Decabromodifenil éter
(BDE 209)

Figura 3: Fórmula estrutural dos congêneres de PBDE presentes no padrão BDE-COC (Nota: o nome entre parênteses corresponde ao nome comercial)

Tabela 1: Propriedades físico-químicas dos 14 congêneres de PBDE presentes no padrão BDE-COC Tittlemier et al. (2002 e USEPA (2008))

Congêneres	Nº BDE	Número CAS	Massa Molar (g mol ⁻¹)	Pressão de Vapor (Pa)	Ponto de Fusão (°C)	Solubilidade em Água (mol/m ³)	Kow
2,2',4-Tribromodifenil éter	17	147217-75-2	406,90	2,19 10 ⁻³	-	3,80 10 ⁻⁴	5,47
2,4,4'-Tribromodifenil éter	28	41318-75-6	407,10	2,19 10 ⁻³	64 a 64,5	1,72 10 ⁻⁴	5,98
2,2',4,4'-Tetrabromodifenil éter	47	5436-43-1	485,82	1,87 10 ⁻⁴	83,5 a 84,5	3,09 10 ⁻⁵	6,55
2,3',4,4'-Tetrabromodifenil éter	66	189084-61-5	485,82	1,22 10 ⁻⁴	104 a 108	3,71 10 ⁻⁵	6,73
2,3',4',6-Tetrabromodifenil éter	71	189084-62-6	485,82	-	-	-	-
2,2',3,4,4'-Pentabromodifenil éter	85	182346-21-0	564,75	9,87 10 ⁻⁶	119 a 121	1,06 10 ⁻⁵	7,03
2,2',4,4',5-Pentabromodifenil éter	99	60348-60-9	564,75	1,76 10 ⁻⁵	90,5 a 94,5	1,66 10 ⁻⁵	7,13
2,2',4,4',6-Pentabromodifenil éter	100	189084-64-8	564,75	2,87 10 ⁻⁵	100 a 101	7,08 10 ⁻⁵	6,86
2,2',3,4,4',5'-Hexabromodifenil éter	138	182677-30-1	643,62	1,58 10 ⁻⁶	-	4,08 10 ⁻⁶	7,91
2,2',4,4',5,5'-Hexabromodifenil éter	153	68631-49-2	643,62	2,09 10 ⁻⁶	160 a 163	1,35 10 ⁻⁶	7,62
2,2',4,4',5,6'-Hexabromodifenil éter	154	207122-15-4	643,62	3,80 10 ⁻⁶	131 a 132,5	1,35 10 ⁻⁶	7,39
2,2',3,4,4',5',6-Heptabromodifenil éter	183	207122-16-5	722,48	4,68 10 ⁻⁷	171 a 173	1,50 10 ⁻⁶	7,14
2,3,3',4,4',5,6-Heptabromodifenil éter	190	189084-68-2	722,48	5,70 10 ⁻⁷	-	-	8,36
2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-Decabromodifenil éter	209	1163-19-5	959,18	2,95 10 ⁻⁹	-	4,17 10 ⁻⁹	9,97

Nota: Sigla BDE corresponde ao nome comercial dos respectivos congêneres.

Em muitos produtos a aplicação de PBDE se dá por uma simples camada de revestimento onde as interações podem ser facilmente desfeitas. Os retardantes de chama tendem a se desprender da matriz polimérica por meio da ação do tempo, da luz e do calor ou ainda ser removidos por produtos de limpeza ou abrasivos. Desta forma, a separação e lixiviação destes compostos são facilitadas e, como consequência, gradativamente eles aportam no meio ambiente Rahman et al. (2001 e Renner (2000).

Além dos PBDE, outras classes de retardantes de chama também estão disponíveis no mercado, como os compostos feitos à base de fósforo ou de espécies metálicas, porém estes compostos são muito caros e sua utilização se torna praticamente inviável para as indústrias. No entanto, o mecanismo de supressão de chama é o mesmo para todas as classes de Feldman (1991). Ao serem aquecidos, os retardantes de chama se decompõem antes da matriz polimérica, liberam os bromos na forma de radical, suprimem a formação de gases inflamáveis de maior energia ($\cdot\text{OH}$ e $\cdot\text{H}$), que são responsáveis pela propagação do incêndio, conforme o esquema da Figura 4 Pestana et al. (2008).

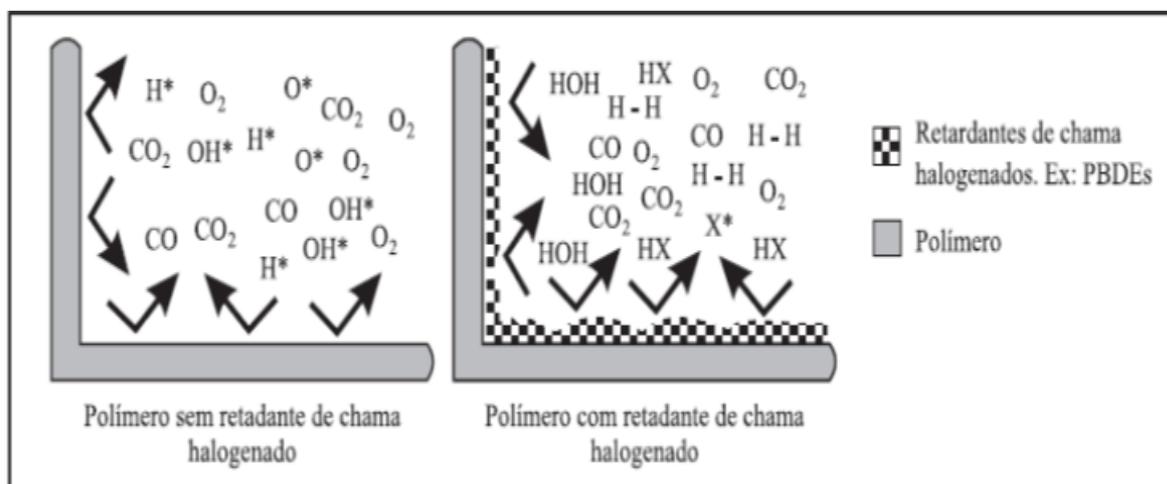


Figura 4: Mecanismo de ação dos PBDE quando aplicados sobre a superfície de um objeto qualquer durante a combustão e a supressão de gases que levam a tal reação, na figura a direita. Na figura a esquerda um objeto sem o retardante de chama (PESTANA et al., 2008)

Apesar da importância em se evitar prejuízos humanos e materiais, a liberação e ocorrência no ambiente têm despertado a atenção de pesquisadores em todo o mundo desde fim da década de 1970. Em um dos trabalhos pioneiros sobre a presença dos PBDE no ambiente, DeCarlo (1979) encontrou um dos congêneres, o deca-BDE, em amostras de solos e sedimentos coletadas em áreas vizinhas a uma indústria de PBDE nos Estados Unidos DeCarlo (1979).

Jansson e colaboradores (1987) investigaram a contaminação por PBDE em amostras de tecidos de peixes coletados nos mares Báltico, do Norte, e também no Oceano Ártico, diante dos indícios do caráter ubíquo dos PBDE e considerando que a presença e a distribuição de tais compostos no ambiente podem ocorrer em locais remotos e de baixa densidade populacional. Após a análise em cromatografia em fase gasosa os pesquisadores determinaram a concentração de 27 mg kg^{-1} de gordura dos animais (JANSSON, ASPLUND e OLSSON, 1987).

De acordo com as publicações mais recentes, os PBDE têm sido detectados em diferentes ambientes, o que evidencia sua onipresença. Por exemplo, Cunha e colaboradores (2010) avaliaram a presença de PBDE em poeira doméstica e no interior de automóveis. Estes autores utilizaram extração líquida pressurizada (do inglês, PLE) e cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas para determinar 16 congêneres de PBDE nas amostras.

O protocolo analítico propiciou recuperações entre 90% e 109%, com ótima precisão, possibilitando a determinação dos compostos de interesse e evidenciou a presença predominante do congênere deca-BDE. As concentrações totais variaram entre 193 ng g^{-1} e 22.995 ng g^{-1} e os autores concluíram que a poeira domiciliar representa uma das principais vias de exposição de humanos a essa classe de compostos (CUNHA *et al.*, 2010).

Em outro trabalho, Fatoki e colaboradores (2013), a presença de PBDE também foi confirmada em amostras de águas naturais em um rio na África do Sul, cujas águas são utilizadas para o abastecimento público na Cidade do Cabo. Utilizando cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas no modo tempo de voo, estes autores determinaram concentrações

totais variando de 2,60 a 4,83 ng L⁻¹. Foi observado também que as maiores concentrações ocorreram em amostras coletadas exatamente no ponto de descarga de efluentes de uma estação de tratamento de esgoto, demonstrando a relevante contribuição deste tipo de fonte para com a presença de PBDE em ambientes aquáticos (DASO, FATOKI e ODENDAAL, 2013).

A ubiquidade dos PBDE no ambiente pôde ser demonstrada a partir do trabalho de Moller e colaboradores (2011), que determinaram congêneres de PBDE em amostras de água marinha no lado europeu do Oceano Ártico, uma região pouco habitada e praticamente livre de atividades antrópicas, tendo sido encontradas concentrações entre 0,03 pg L⁻¹ e 0,64 pg L⁻¹. Segundo os autores, há indícios de que a fonte de contaminação seja o transporte de longo alcance de tais compostos tanto pela atmosfera, quanto pelas correntes marítimas Möller et al. (2011).

Em uma pesquisa recente envolvendo o rio Niágara e seus tributários, nos EUA, foram encontradas concentrações entre 0,25 ng g⁻¹ e 188 ng g⁻¹ em amostras de sedimento Richman et al. (2013). A realização deste trabalho permitiu aos autores concluir que a presença dos PBDE está relacionada com a intensa atividade industrial e a elevada densidade demográfica da região.

Em outro trabalho recente, desenvolvido na Patagônia argentina, uma investigação realizada ao longo do rio Negro permitiu a determinação de níveis de contaminação por PBDE (0,8 ng g⁻¹ e 15 ng g⁻¹), principalmente, em regiões próximas a centros urbanos. No entanto, à medida que o rio se afasta desses locais, as concentrações diminuem drasticamente (MIGLIORANZA *et al.*, 2013).

Considerando as propriedades físico-químicas dos PBDE, a produção e uso indiscriminados, bem como a ubiquidade nos compartimentos ambientais, certamente esses compostos estão se acumulando na biota, sendo transferidos para as teias alimentares e podem inclusive contaminar seres humanos (MIZUKAWA *et al.*, 2009; ANTIGNAC *et al.*, 2010). Nesse sentido, a literatura traz evidências de que os PBDE estão cada vez mais presentes em amostras de sangue, cordão umbilical e leite materno Brasseur et al. (2014 e Coakley et al. (2013 e Kim et al. (2013 e Lenters et al. (2013 e

Zheng et al. (2014). Além disso, a literatura tem relatado efeitos tóxicos através da exposição contínua que podem causar distúrbios no desenvolvimento de embriões e fetos, ser carcinogênicos, conduzir a problemas neuro-comportamentais, além de interferir no sistema endócrino (ADGENT *et al.*, 2014; CHAO *et al.*, 2011; MAN *et al.*, 2011; METCALFE *et al.*, 2013; MOREAU-GUIGON e CHEVREUIL, 2014; WHEATLEY e SADHRA, 2010)

Como estes compostos são encontrados em nível traço no ambiente, com concentrações que variam de picogramas por grama, ou por litro, até nanogramas por grama ou por litro, as técnicas analíticas empregadas em sua determinação precisam ser sensíveis e robustas. Nesse contexto, a cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS) caracteriza-se como uma técnica capaz de atender a tais requisitos.

Apesar de GC-MS ser uma técnica robusta na determinação de compostos presentes em nível traço em diferentes matrizes, na maioria das vezes, é necessário o emprego de procedimentos prévios de extração e separação dos analitos. As técnicas tradicionais para a determinação dos PBDE consistem na extração com solvente ou digestão e em grande parte são seguidas da purificação do extrato. Dessa forma, um pré-tratamento adequado das amostras, incluindo a extração de compostos que estão associados à matriz, torna-se crucial. Ao mesmo tempo, é a etapa mais trabalhosa do processo analítico onde se tem utilizado grandes quantidades de solvente orgânico, além de dispendir um tempo considerável Ferreira et al. (2012).

Por sua vez, ao longo dos últimos anos, a Química Verde tem proposto o desenvolvimento de técnicas e metodologias que visam à redução ou eliminação do uso de reagentes e a geração de produtos e subprodutos tóxicos, que são nocivos à saúde humana ou ao ambiente. Aliadas as questões ambientais, estas técnicas contribuem significativamente para a redução do tempo e do custo das análises. Dentre elas destacam-se a extração líquida pressurizada (PLE), também conhecida como extração por solvente acelerada (ASE) e a extração assistida por micro-ondas (MAE), que

podem ser usadas como alternativa ao sistema Soxhlet (LEITE, PERALTA-ZAMORA E GRASSI, 2008; CAVALCANTE, LIMA E CORREIA, 2008).

Nesse sentido, nos últimos anos, a extração assistida por ultrassom tem se destacado como alternativa às técnicas tradicionais no preparo de amostras para a determinação de compostos em nível traço tendo em vista o crescente número de publicações que abordam a técnica. Isso se deve ao fato da radiação ultrassônica se mostrar eficaz no pré-tratamento de amostras sólidas e líquidas, devido sua eficiência, rápida extração de compostos orgânicos e inorgânicos, além do equipamento ser de baixo custo e de fácil operação.

O processo de aplicação das ondas ultrassônicas, conhecido como sonicação, conduz a um contato eficiente entre o material sólido e o solvente extrator, o que resulta em níveis de recuperação satisfatórios do analito. O rompimento das bolhas de cavitação é considerado a fonte principal dos efeitos químicos e mecânicos das ondas ultrassônicas. A sonicação pode ser feita em banho-maria ou em outros dispositivos, tais como, as sondas cilíndricas que, por sua vez, têm se mostrado mais eficientes que o banho. A escolha entre o banho-maria e a sonda depende das necessidades pertinentes de cada análise. O uso da sonda é preferível devido ao menor tempo de extração. Contudo, quando é necessário analisar um grande número de amostras o banho é a melhor opção. A eficiência da extração de um contaminante depende das condições em que será realizada devido ao fato de cada analito apresentar diferentes interações com a matriz (CAPELO-MARTINEZ, 2009; TADEO *et al.*, 2010; PICO, 2013). Após a extração, a etapa de *clean-up*, que consiste na separação dos constituintes de uma amostra através da adsorção em fase sólida, tem sido essencial na determinação de compostos orgânicos provenientes de matrizes sólidas tais como sedimentos. Dentre as fases sorventes podem ser citadas carvão ativado, octadecil-sílica (C18), florisil, sílica e alumina. O uso das duas últimas destaca-se, especialmente pelo baixo custo de aquisição e facilidades operacionais.

Apesar de cruciais nas análises químicas, as etapas de extração e *clean-up* tradicionais exigem o uso de grandes quantidades de reagentes e

insumos. Contudo, recentemente, tem surgido um interesse especial em práticas que envolvem a redução dos impactos negativos das análises químicas sobre o ambiente e permitem o uso de princípios sustentáveis em seus laboratórios, de outra forma, que sejam ambientalmente amigáveis. A partir dessa preocupação surgiu uma nova área de estudos denominada Química Analítica Verde, que tem como princípios fundamentais minimizar o tamanho e a quantidade de amostras, a geração de resíduos e substituir o uso de reagentes tóxicos por outros menos agressivos (GAŁUSZKA, MIGASZEWSKI e NAMIEŚNIK, 2013)

Nesse sentido, o escopo do trabalho desenvolvido por Aydin e colaboradores (2006) foi propor uma técnica em escala reduzida para a determinação de bifenilas policloradas (PCB) através da micro extração assistida por banho ultrassônico e fracionamento em uma pipeta *pasteur* de 10 cm de comprimento e 0,5 cm de diâmetro interno empacotada com óxido de alumínio. A separação dos compostos de interesse foi realizada com 5 mL de hexano e a detecção dos compostos-alvo se deu via GC-MS, obtendo-se recuperações acima de 90% e limites de detecção entre 0,003 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e 0,006 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Segundo os autores, os resultados obtidos a partir da nova proposta são comparáveis à técnica tradicional de extração por líquido-sólido convencional (AYDIN, TOR E OZCAN, 2006).

Fontana e colaboradores (2010) utilizaram a extração dispersiva em fase sólida assistida por ultrassom (USAL-DSPE) seguida de micro extração líquido-líquido (DLLME) para a determinação de PBDE em amostras de sedimento por GC-MS/MS.

Após a otimização das variáveis que regem o método, os limites de detecção obtidos variaram entre 0,02 ng g^{-1} e 0,06 ng g^{-1} , com percentuais de recuperação superiores a 80%. O protocolo analítico mostrou-se robusto e sensível para a determinação dos analitos em baixas concentrações (FONTANA *et al.*, 2010a).

Em outro estudo recente, a fim de determinar a presença de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) em óleo de peixe, pesquisadores avaliaram os efeitos da microextração assistida por ultrassom (USAME) sobre essa matriz bastante complexa (YEBRA-PIMENTEL *et al.*,

2013). Na etapa de *clean-up* foi testada uma coluna de vidro empacotada com sílica gel. A determinação dos HPA foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência com a detecção por fluorescência. A otimização das etapas de extração e *clean-up* propiciou percentuais de recuperação entre 70% e 100% e limites de detecção entre 0,020 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e 2,6 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Os valores obtidos, apesar de baixos, indicam a contaminação desses animais e possivelmente da cadeia trófica. A Tabela 2 resume, em ordem cronológica, os eventos de maior relevância envolvendo os éteres difenílicos polibromados Vonderheide et al. (2008).

Tabela 2: Eventos históricos envolvendo os PBDE

1871: Hoffmeister sintetiza os congêneres mono e dibromo;
1910: Cook sintetiza congêneres tetrabromo;
1960: Primeira patente concedida aos retardantes de chama (penta-BDE);
1965: Início da fabricação de produtos comerciais contendo PBDE;
1975: Estudo toxicológico em ratos, realizado por dois anos, acusa presença de congêneres octa e deca-BDE;
1979: Produção de PCB é proibida nos EUA. Pela primeira vez é detectada a presença do deca-BDE no ambiente;
1981: Congêneres de tri, tetra, penta e hexa-BDE são encontrados em amostras de peixe na Suécia em concentrações superiores a 27.000 ng g^{-1} ;
1987: PBDE são apontados como contaminantes de alcance global. Ministério da Saúde americano associa a presença de PBDE no organismo de ratos ao aumento de nódulos neoplásicos;
1989: Alemanha proíbe produção e uso de deca-BDE
1990: Detecção em tecido adiposo humano em concentrações superiores a 1,0 ng g^{-1} ;
1995: U.S. EPA classifica deca-BDE como um possível causador de câncer em humanos;
1998: Na Suécia, há um aumento expressivo da concentração em amostras de leite materno;
1999: A produção mundial de PBDE é estimada em 400 mil toneladas;
2004: Dois congêneres (penta-BDE e octa-BDE) têm a produção proibida na União Europeia e nos EUA;
2005: Detecção de altas concentrações no tecido adiposo de nova-iorquinos: 9630 ng g^{-1} ;
2006: Congêneres deca-BDE é listado como “substância tóxica” pela Agência de Proteção Ambiental Canadense;
2007: Suécia proíbe o uso do deca-BDE em produtos têxteis, móveis e cabos de energia;
2008: Restrição ao uso do deca-BDE em colchões e móveis nos estados de Maine e Washington (EUA).

No Brasil, são poucos os trabalhos que investigaram a presença dos

retardantes de chama em qualquer tipo de matriz. Levando-se em consideração estes aspectos, o desenvolvimento do presente estudo visa suprir pelo menos parcialmente esta lacuna. Para tanto, foi desenvolvido um método analítico de preparo de amostras em escala reduzida, utilizando estratégias experimentais no contexto dos princípios da Química Analítica Verde.

2. OBJETIVOS

O objetivo principal deste trabalho consistiu na implantação de um protocolo analítico voltado para a determinação de PBDE em sedimentos, empregando:

- Extração em sonda ultrassônica;
- *Clean-up* em escala reduzida;
- Determinação por cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas (GC-MS).

Além disso, avaliou-se a ocorrência e distribuição de PBDE em sedimentos de rios da Região Metropolitana de Curitiba (RMC), incluindo o reservatório do Iraí.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL E REAGENTES

Com o intuito de minimizar possíveis contaminações a vidraria empregada nos experimentos foi submetida, previamente, a um procedimento de limpeza. Primeiramente, a vidraria foi deixada em banho de detergente (extran a 5% v/v) por pelo menos 24 horas, sendo em seguida abundantemente enxaguada em água corrente, água destilada, água Milli-Q, acetona e por fim mantida em forno mufla a 450°C por um período de 4 h. Esta última etapa não foi aplicada a vidraria que apresenta precisão volumétrica (U.S. EPA, 2010).

Em todas as etapas do desenvolvimento do método analítico foram utilizados solventes com grau HPLC. Os solventes hexano, diclorometano e acetona foram adquiridos da Mallinckrodt Inc. (EUA). O detergente Extran neutro foi adquirido da Merck (Brasil).

O padrão denominado BDE-COC (99% de pureza), na concentração de $5,0 \mu\text{g mL}^{-1}$, foi adquirido da Accustandard (EUA). Este padrão é uma mistura dos 14 congêneres mais comumente encontrados no meio ambiente (Figura 3) e as soluções de calibração foram preparadas a partir da sua diluição. Os padrões de PBDE contendo isótopos de carbono 13, Tabelas 3 e 4, foram usados como padrão interno e padrão sub-rogado, respectivamente, e adquiridos da empresa Wellington (MBDE-MXFS e MBDE-MXFR, pureza de 99%), a partir da diluição do padrão contendo PBDE com isótopos de carbono 13, em concentração de $2,0 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Tabela 3: Padrão interno de PBDE (MBDE-MXFR) adquirido da Wellington

Analito	Sigla BDE
2,4,4'-Tribromo[$^{13}\text{C}_{12}$]difênil éter	28L
2,2',4,4'-Tetrabromo[$^{13}\text{C}_{12}$]difênil éter	47L
2,2',4,4',5-Pentabromo[$^{13}\text{C}_{12}$]difênil éter	99L
2,2',4,4',6-Pentabromo[$^{13}\text{C}_{12}$]difênil éter	100L
2,2',4,4',5,5'-Hexabromo[$^{13}\text{C}_{12}$]difênil éter	153L
2,2',4,4',5,6'-Hexabromo[$^{13}\text{C}_{12}$]difênil éter	154L
2,2',3,4,4',5',6-Heptabromo[$^{13}\text{C}_{12}$]difênil éter	183L

Tabela 4: Padrão de PBDE de sub-rogado (MBDE-MXFS) adquirido da Wellington

Analito	Sigla BDE
3,3',4,4'-Tetrabromo[$^{13}\text{C}_{12}$]difênil éter	77L
2,2',3,4,4',5'-Hexabromo[$^{13}\text{C}_{12}$]difênil éter	138L

Para a otimização da etapa de *clean-up* foi utilizado um padrão de hidrocarbonetos, adquirido do laboratório Accustandard, abrangendo 35 congêneres na concentração de $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Tabela 5), e que já vinha sendo utilizada em outros trabalhos anteriores desenvolvidos no Grupo de Química Ambiental (GQA).

Tabela 5: Padrão de hidrocarbonetos que foram monitorados na etapa de *clean-up*

Analito	Número CAS	Analito	Número CAS
n-Octano	111-65-9	n-Tetracosano	646-31-1
n-Nonano	111-84-2	n-Pentacosano	629-99-2
n-Decano	124-18-5	n-Hexacosano	630-01-3
n-Undecano	1120-21-4	n-Heptacosano	593-49-7
n-Dodecano	112-40-3	n-Octacosano	630-02-4
n-Tridecano	629-50-5	n-Nonacosano	630-03-5
n-Tetradecano	629-59-4	n-Triacontano	638-68-6
n-Pentadecano	629-62-9	n-Hentriacontano	630-04-6
n-Hexadecano	544-76-3	n-Dotriacontano	544-85-4
n-Heptadecano	629-78-7	n-Tritriacontano	630-05-7
Pristano	1921-70-6	n-Tetratriacontano	14167-59-0
n-Octadecano	593-45-3	n-Pentatriacontano	630-07-9
Phytano	638-36-8	n-Hexatriacontano	630-06-8
n-Nonadecano	629-92-5	n-Heptatriacontano	7194-84-5
n-Eicosano	112-95-8	n-Octatriacontano	7194-85-6
n-Heneicosano	629-94-7	n-Nonatriacontano	7194-86-7
n-Docosano	629-97-0	n-Tetracontano	4181-95-7
n-Tricosano	638-67-5		

3.2 PREPARO DE SOLUÇÕES

O preparo das soluções de PBDE se deu a partir do Método 1614A da Agência de Proteção Ambiental dos EUA (U.S. EPA, 2010). Assim, o conteúdo de 1,0 mL de uma ampola de BDE-COC, na concentração de 5,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, foi transferido para um balão de 1,0 mL e evaporado sob fluxo de gás nitrogênio com 99,996% de pureza. Em seguida, avolumou-se para 1,0 mL com solvente hexano.

A partir desta solução estoque retirou-se uma alíquota de 150 μL para um balão volumétrico de 5,0 mL e completou-a com hexano obtendo uma concentração final de 150 ng mL^{-1} . A partir desta solução foram feitos os testes posteriores.

Para os padrões interno e sub-rogado o preparo se deu de forma semelhante. As ampolas de MBDE-MXFR e MBDE-MXFS contendo solução cuja concentração era de 2,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em um volume de 1,2 mL foram transferidas a um balão de 1,0 mL, individualmente. Em seguida secou-se o conteúdo com gás N_2 e avolumou-se para 1,0 mL com solvente hexano. A partir dessa solução estoque transferiu-se 300 μL para um balão de 5,0 mL e

completou-se com hexano obtendo uma concentração final de 144 ng mL^{-1} .

O preparo do padrão de hidrocarbonetos, na concentração inicial de $500 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$, e que foi utilizado na otimização da etapa de *clean-up* se deu pela evaporação da suspensão de clorofórmio com nitrogênio gasoso. Em seguida, fez-se a ressuspensão da ampola com hexano e transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL até completar o volume final na concentração de $5,0 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$. Todas as soluções foram posteriormente mantidas sob refrigeração a -10°C .

3.3 OTIMIZAÇÃO CROMATOGRÁFICA

Para a etapa analítica, as injeções das amostras foram realizadas a partir de um autoamostrador modelo AS-3000 para o cromatógrafo a gás modelo Focus, ambos adquiridos da Thermo Scientific, cuja coluna é capaz de realizar a discriminação dos diversos congêneres com alta sensibilidade e em um menor tempo de análise possível. Trata-se de uma coluna DB-5ms com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e revestimento interno de $0,25 \text{ } \mu\text{m}$ de espessura de fenil-dimetil-polisiloxano que foi adquirida da Agilent. O gás de arraste, hélio, possui pureza de 99,999% e foi adquirido da White Martins.

Acoplado a esse sistema de separação está o espectrômetro de massas, modelo Polaris-Q (Thermo Scientific), cujo analisador opera por captura de íons. A ionização se deu no modo impacto de elétrons e a aquisição do sinal foi efetuada no modo varredura completa. A seleção dos íons a serem monitorados e utilizados para quantificação se deu de acordo com o que sugere o método 1614A da U.S. EPA. A identificação e caracterização dos congêneres contidos na solução de BDE-COC se deram através da biblioteca interna de espécies químicas do espectrômetro de massas. Os dados pertinentes a cada composto foram incluídos manualmente: fórmulas moleculares esboçadas no software ChemsSketch, massas molares e ions massa/carga.

Para dar início ao processo de implantação do método instrumental de determinação dos compostos-alvo, partiu-se de uma alíquota de $100 \text{ } \mu\text{L}$ da solução trabalho na concentração de 150 ng mL^{-1} , sendo que $2 \text{ } \mu\text{L}$ foram

injetados no sistema GC-MS. Assim, para a separação dos compostos optou-se por aquecer linearmente a coluna de 100°C a 300°C, sendo que a temperatura inicial de 150°C foi mantida por 3 min até a temperatura final de 300°C a uma velocidade de 5°C/min, conforme recomendado pelo próprio método da 1614A. Nesse programa, a corrida cromatográfica se deu em 53 minutos, conforme se observa na Figura 5 compilada a partir do software Xcalibur do cromatógrafo.

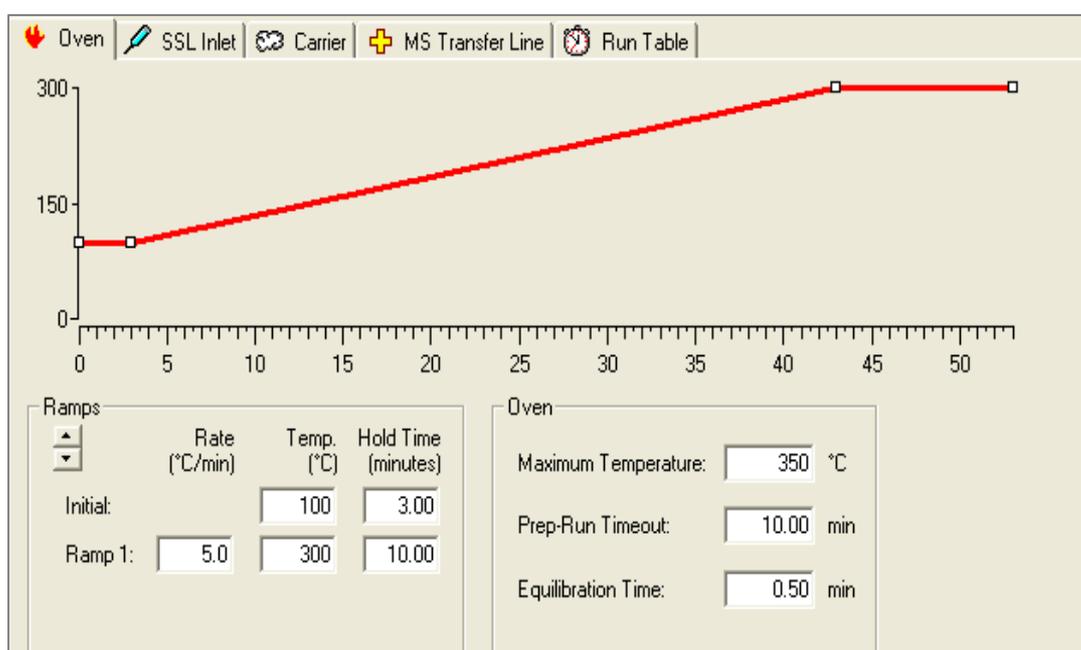


Figura 5: Programa de aquecimento proposto pelo método 1614A U.S. EPA (Software Xcalibur)

Posteriormente, visando diminuir o tempo da corrida cromatográfica, testou-se o emprego de um programa de aquecimento alternativo e que não fosse tão linear quanto o anterior. Nesse sentido, optou-se por um programa de aquecimento baseado nos trabalhos da literatura Fontana et al. (2010 e Jung et al. (2009 e Liu et al. (2009 e Zhu et al. (2008).

Para este programa de aquecimento foi utilizada a mesma solução-padrão de BDE-COC. A temperatura inicial de 40°C foi mantida durante 3 min; aquecendo-se até 200°C a uma velocidade de 20°C/min, seguido de posterior aquecimento até 260°C a 10°C/min. Por fim, a temperatura foi aumentada para 300°C a uma taxa de 5°C/min, mantendo-se essa temperatura durante

10 min ao final da corrida cromatográfica, que teve duração de 34 minutos, conforme é mostrada na Figura 6.

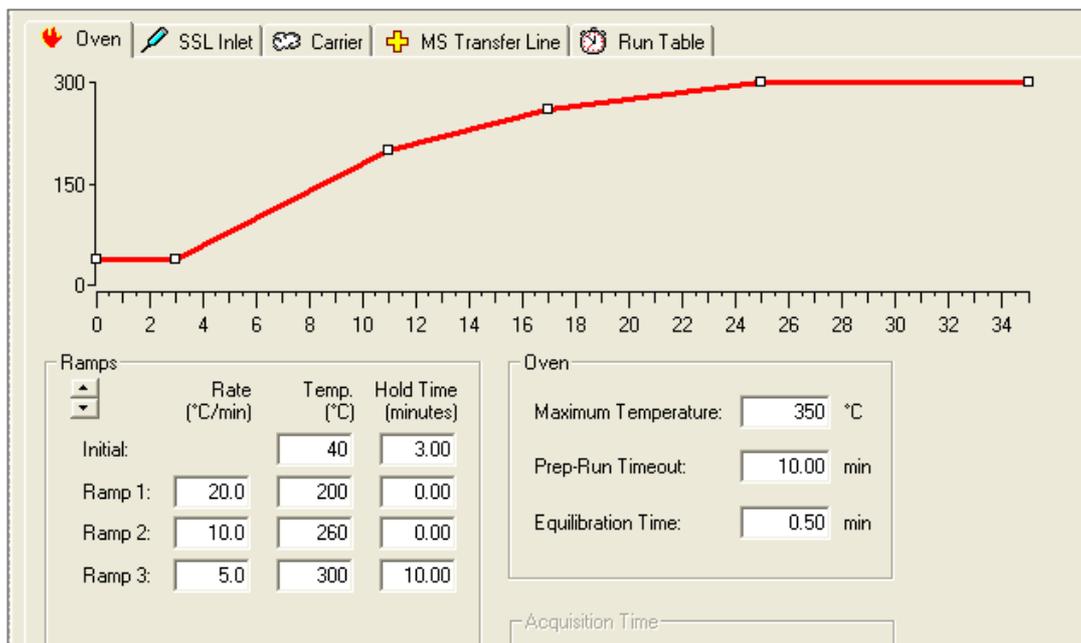


Figura 6: Programa de aquecimento não linear (Software Xcalibur)

Além do programa de aquecimento da coluna, na busca por uma melhora nos níveis de detectabilidade, foi avaliada a influência de outros parâmetros, tais como, temperatura do injetor, tempo de fechamento da sua válvula para injeção no modo *splitless* (sem divisão da amostra) e a temperatura da linha de transferência que interliga o cromatógrafo e o espectrômetro de massas (COVACI, VOORSPOELS E DE BOER, 2003).

A otimização das melhores condições instrumentais foi avaliada a partir da aplicação de um planejamento fatorial de experimentos, no intuito de determinar a melhor combinação dos fatores para injeção das amostras, conforme mostra a Tabela 6A. Assim, foi realizado um planejamento fatorial 2^3 , com auxílio do software Statistica 7.0, que consiste em oito análises aleatórias mais a triplicata do ponto central. Os parâmetros avaliados foram:

- Temperatura do injetor: 250°C (-); 275°C (0); 300°C (+);
- Tempo de *splitless*: 1 min (-); 2 min (0); 3 min (+);
- Temperatura da linha de transferência: 250°C (-); 275°C (0); 300°C (+).

Tendo sido observados resultados positivos após a execução e análise do planejamento 2³, foram avaliados os efeitos que outros dois fatores além dos já mencionados poderiam trazer ao método.

- Intensidade do pulso de pressão: 50 kPa (-); 100 kPa (0); 150 kPa (+);
- Duração do pulso de pressão: 0,25 min (-), 0,63 min (0); 1,00 min (+);

Neste caso foi utilizado um planejamento fatorial 2⁴ consistindo em 16 ensaios mais a triplicata do ponto central, conforme mostra a Tabela 6B.

Tabela 6: (A) Planejamento fatorial de experimento 2³ a fim de avaliar os efeitos da Temperatura do injetor, Tempo de *splitless* e Temperatura da linha de transferência sobre a detectabilidade dos PBDE. (B) Planejamento fatorial de experimento 2⁴ a fim de avaliar os efeitos da Temperatura do injetor, Duração do pulso de pressão e Intensidade do pulso de pressão Temperatura da linha de transferência sobre a detectabilidade dos PBDE

Ensaio	T. I. (°C)	T. S. (min)	T. L. T. (°C)
3	-	+	-
7	-	+	+
6	+	-	+
9 (C)	0	0	0
8	+	+	+
2	+	-	-
5	-	-	+
1	-	-	-
10 (C)	0	0	0
11 (C)	0	0	0
4	+	+	-

(A)

Onde,
T.I.: Temperatura do injetor
T.S.: Tempo de *splitless*
T.L.T.: Temperatura da linha de transferência

Ensaio	T. I. (°C)	D. P. P. (min)	P. P. (kPa)	T. L. T. (°C)
9	-	-	-	+
5	-	-	+	-
10	+	-	-	+
17 (C)	0	0	0	0
6	+	-	+	-
16	+	+	+	+
19 (C)	0	0	0	0
15	-	+	+	+
8	+	+	+	-
12	+	+	-	+
2	+	-	-	-
11	-	+	-	+
14	+	-	+	+
4	+	+	-	-
7	-	+	+	-
1	-	-	-	-
18 (C)	0	0	0	0
13	-	-	+	+
3	-	+	-	-

(B)

Onde,
D.P.P.: Duração do pulso de pressão
P.P.: Intensidade do pulso de pressão

3.4 OTIMIZAÇÃO DAS ETAPAS DE EXTRAÇÃO E *CLEAN-UP*

3.4.1 ETAPA DE *CLEAN-UP*

Para a etapa de *clean-up* utilizou-se uma pipeta graduada com 20 cm de comprimento e 0,6 cm de diâmetro interno a qual se adicionou na extremidade inferior um chumaço de lã de vidro suficiente para impedir a passagem direta das fases adsorventes. Em seguida, adicionou-se 1,0 g de sílica e 1,0 g de alumina ativadas (70-230 mesh ASTM), equivalentes a 10 cm de altura da pipeta. Os adsorventes foram, então, empacotados utilizando o método “seco” que consiste na adição de solvente aos adsorventes ainda secos, acompanhada do empacotamento utilizando nitrogênio gasoso (AYDIN *et al.*, 2006), conforme ilustra a Figura 7.

A fim de simular as condições encontradas em uma matriz ambiental, onde a presença de alcanos pode interferir nas análises pipetou-se uma alíquota de 10 μL de uma solução contendo uma mistura de padrão de hidrocarbonetos ($5,0 \mu\text{g mL}^{-1}$), listados na Tabela 6, e 100 μL de uma mistura de padrão de PBDE (150 ng mL^{-1}) em um *vial*, cuja suspensão foi evaporada sob vazão de nitrogênio gasoso e suspensa novamente a 100 μL de hexano. Essa solução foi transferida ao topo da microcoluna e eluída, primeiramente, com 5,0 mL de hexano a fim de permitir que grande parte dos alcanos fosse eliminada e não interferisse na detecção dos PBDE Suárez *et al.* (2011 e Wang *et al.* (2009).

De modo contínuo, fez-se a eluição com 5,0 mL de uma mistura de hexano e diclorometano (3:1 v/v), respectivamente, com o objetivo de eluir prioritariamente os PBDE, além dos alcanos remanescentes. A quantificação dos alcanos se deu por meio da avaliação do somatório de suas áreas selecionando o íon m/z 71 Gao *et al.* (2011 e Kanzari *et al.* (2012).

O eluato foi coletado em *vials* a cada 0,5 mL tendo sido coletadas vinte frações, no total. O solvente foi evaporado com nitrogênio gasoso, lavou-se com hexano e transferiu-se o extrato para um *insert* em um volume final de 100 μL também com hexano e posteriormente injetou-se no GC-MS. Além dessa condição de *clean-up* foram testadas outras, conforme mostra a Tabela 7.

Tabela 7: Condições empregadas no empacotamento da microcoluna utilizada na etapa de *clean-up*

Adsorvente	Massa (g)	Eluente	V (mL)
1. Sílica/Alumina	1,0/1,0	Hexano/Diclorometano	6/2
2. Sílica/Alumina	4,0/1,0	Hexano	30

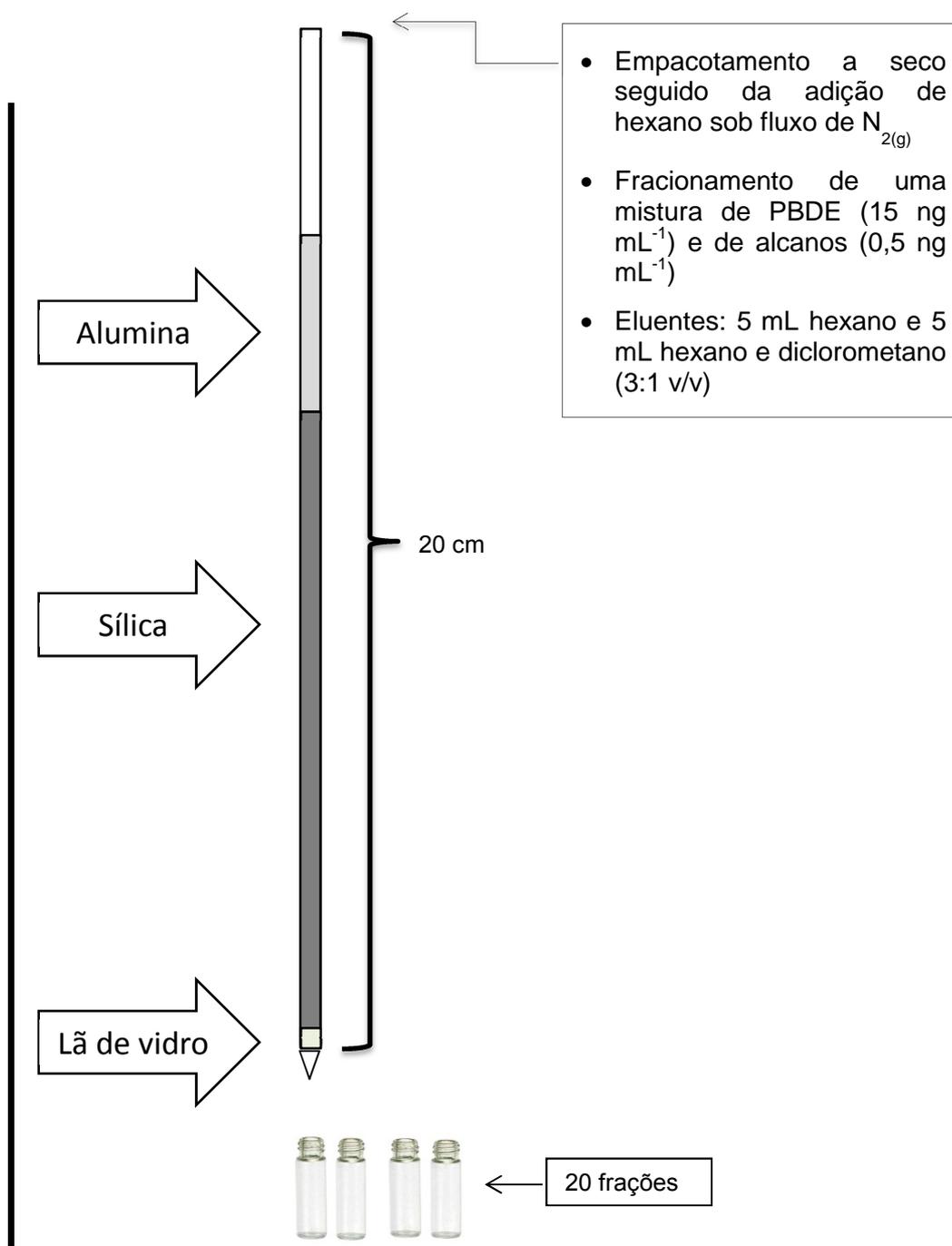


Figura 7: Sistema utilizado na etapa de *clean-up* formado por uma pipeta graduada empacotada com sílica e alumina sob fluxo de gás nitrogênio

3.4.2 EXTRAÇÃO DOS ANALITOS

A etapa de extração foi realizada em um equipamento sonicador de ponteira desruptor de célula ultrassônica, modelo DES500 que foi adquirido da empresa Unique e possui as seguintes características:

- Potência ultrassônica: 500 W
- Frequência ultrassônica: 20 kHz
- Temporizador: de 0 a 9 minutos
- Diâmetro da micropona de titânio: 4 mm
- Diâmetro da macroponta de titânio: 13 mm

Os testes preliminares visando à otimização da etapa de extração foram feitos com sulfato de sódio (Na_2SO_4), considerado um sistema modelo de sedimento principalmente pela capacidade de absorver e reter umidade, além de resistir à degradação mesmo em condições de elevadas temperatura e pressão Harris (2001b). O Na_2SO_4 foi previamente calcinado a 400°C por um período de 4 h. Aos tubos de centrífuga adicionou-se 1,0 g de Na_2SO_4 que por sua vez foi fortificado com 100 μL de PBDE (150 ng mL^{-1}) e 10 μL do padrão de alcanos ($5,0 \mu\text{g mL}^{-1}$), permanecendo em repouso por no mínimo 48 h (Fontana *et al.*, 2010a).

Os tubos foram vedados com papel alumínio calcinado e com uma tampa plástica. A sonicação foi realizada em uma sonda ultrassônica pela adição, separadamente, de 6,0 mL dos solventes acetona, hexano e diclorometano. A eficiência de extração de cada solvente foi avaliada após 3 e 5 etapas de extração em um tempo máximo de sonicação de 5 min por etapa, com aplicação da potência de 500 W. Assim, além da eficiência dos solventes extratores, o objetivo deste procedimento foi avaliar a influência do número de etapas de ondas ultrassônicas, com intervalo de 1 minuto entre cada uma, no processo de extração.

Durante esse procedimento, os tubos de ensaio permaneceram em banho de gelo a fim de evitar que parte do solvente volatilizasse. Após os ciclos de extração os tubos foram centrifugados a 2000 rpm, por 5 min com o intuito de separar as fases sólida e líquida. O sobrenadante foi transferido para um béquer de 5 mL, o solvente foi evaporado com nitrogênio gasoso, a

solução foi ressuspensa com 10 μL de hexano e essa solução foi fracionada na microcoluna, conforme especificado na etapa de *clean-up*. Uma vez definido o solvente mais eficiente e a quantidade de etapas de sonicação, os testes foram refeitos substituindo, desta vez, o Na_2SO_4 por uma amostra de sedimento coletada no rio Iguaçu, no município de São José dos Pinhais.

No intuito de se obter uma maior eficiência nesse procedimento, empregou-se um planejamento fatorial 2^3 com triplicata do ponto central (Tabela 8) a fim de se analisar quais parâmetros de extração poderiam influenciar significativamente nessa etapa crucial para a determinação dos retardantes de chama:

- Duração do ciclo de sonicação (min): 3 (-), 5 (0) e 7 (+);
- Volume de solvente utilizado (mL): 4 (-), 6 (0) e 8 (+);
- Potência do ultrassom (%): 40 (-), 70 (0) e 100 (+).

Tabela 8: Otimização das condições de extração a partir do planejamento fatorial 2^3 .

Ensaio	t (min)	V (mL)	P (%)
1	+	+	+
2	+	+	-
3	+	-	+
4	+	-	-
5	0	0	0
6	0	0	0
7	-	+	+
8	-	+	-
9	-	-	+
10	-	-	-
11	0	0	0

Onde, t = duração da sonicação; V = volume do solvente; P = potência do ultrassom.

3.4.3 TESTE DE ADIÇÃO E RECUPERAÇÃO DOS PBDE

Os testes de adição e recuperação foram realizados em triplicata através da adição de uma solução padrão de 100 μL de PBDE (150 ng mL^{-1}) e 10 μL de alceno ($5,0 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$) a Na_2SO_4 calcinado. Os compostos foram extraídos e fracionados conforme o método otimizado pelo planejamento fatorial.

3.4.4 PREPARO DO MATERIAL DE REFERÊNCIA

O sedimento de referência foi preparado a partir da descontaminação de uma amostra natural coletada no rio Iguaçu, no município de São José dos Pinhais pela extração dos compostos presentes neste sedimento. A extração foi feita em Soxhlet por um período de 8 horas utilizando 180 mL de diclorometano:metanol (2:1). Após a descontaminação, o frasco que continha o sedimento contaminado foi vedado com papel alumínio calcinado com pequenos furos e deixado à temperatura ambiente por dois dias, para completa evaporação do diclorometano Li et al. (2007).

Transferiu-se uma massa de sedimento de 1,0 g para tubos de centrífuga, e adicionou-se 100 µL de PBDE (150 ng mL⁻¹) e 10 µL de alcano (5,0 µg mL⁻¹). Após a secagem do solvente o frasco foi vedado com papel alumínio, tampa plástica, em seguida, homogeneizado por agitação manual de forma aleatória durante 48 h. Após este período foi feita a análise do material de referência, de maneira idêntica ao método otimizado com o Na₂SO₄. Realizou-se a análise de um branco do sedimento descontaminado.

3.5 COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS

Os locais de coleta das amostras envolveram pontos estratégicos da Bacia Hidrográfica do Alto Iguaçu, situada na Região Metropolitana de Curitiba (RMC). Foram selecionados cinco pontos de amostragem de modo a abranger locais sujeitos aos mais diferenciados níveis de atividades antrópicas: intensa atividade industrial, elevado grau de urbanização e área de proteção ambiental.

As coletas de sedimento foram realizadas no dia três de dezembro de 2013. A Tabela 9 apresenta a identificação e as coordenadas geográficas dos pontos de amostragem, bem como alguns parâmetros de campo tais como temperatura da coluna d'água e temperatura ambiente. A Figura 8 exhibe os dados fornecidos pelo Sistema Meteorológico do Paraná (SIMEPAR), referentes à quantidade de chuva acumulada na semana que antecedeu a amostragem. Convém destacar o elevado índice pluviométrico registrado no dia 28 de novembro, que foi superior a 22 mm. De tal maneira, existe uma

grande possibilidade que devido as fortes enxurradas, boa parte do compartimento sedimentar, da matéria orgânica e seus contaminantes foram lixiviados e carreados para outros pontos do rio Bertol et al. (2010).

A Bacia do Iguaçu está dividida nas seguintes Unidades Hidrográficas de Gestão de Recursos Hídricos: Baixo Iguaçu, Médio Iguaçu e Alto Iguaçu. Nessa última se localiza a Região Metropolitana de Curitiba onde vivem em torno de 2,5 milhões de pessoas e que é caracterizada pela intensa atividade industrial, e onde foram realizadas as amostragens dos sedimentos (Figura 9).

Tabela 9: Identificação dos pontos de coleta de amostras de sedimento em rios da bacia Hidrográfica do Alto Iguaçu, na Região Metropolitana de Curitiba.

Rio	Latitude Longitude	Início Coleta	T. R. (°C)	T. A. (°C)
Barigui	S25°33'17.67" W49°20'30.36"	9:30 às 10:10	21,8	26
Passaúna	S 25°31'3.13" W49°22'13.04"	11:00 às 11:30	23,2	26
Iguaçu	S25°32'13.43" W49°13'24.67"	13:35 às 14:00	23,6	28,5
Iraí	S25°23'9.39" W49°4'55.35"	15:00 às 15:35	25,8	33,6
Timbu	S25°22'18.88" W49°5'10.39"	16:30 as 17:00	28,5	30,2

Onde, T.R.: Temperatura da água do rio; T.A.: Temperatura Ambiente

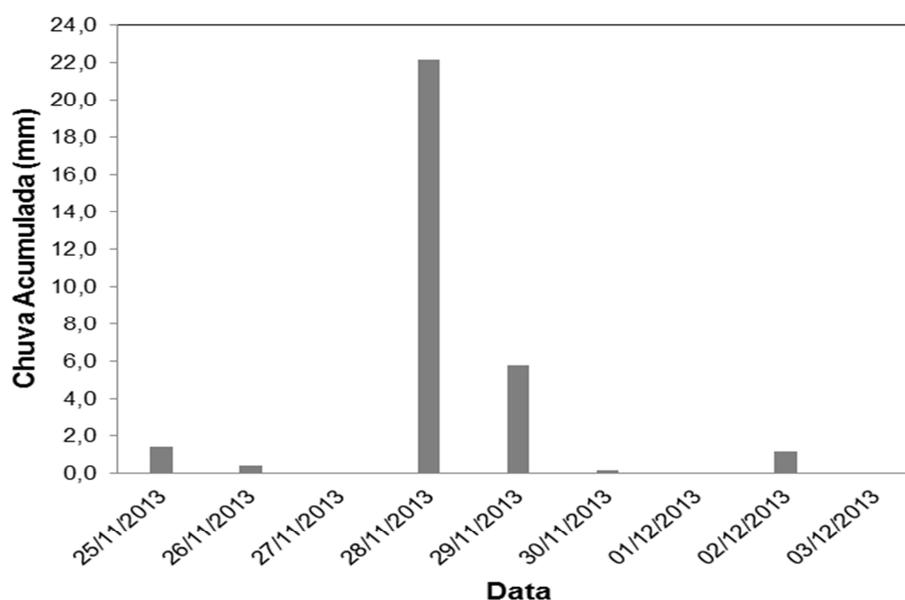


Figura 8: Índice de chuva acumulada no período de 25/11/2013 a 03/12/2013

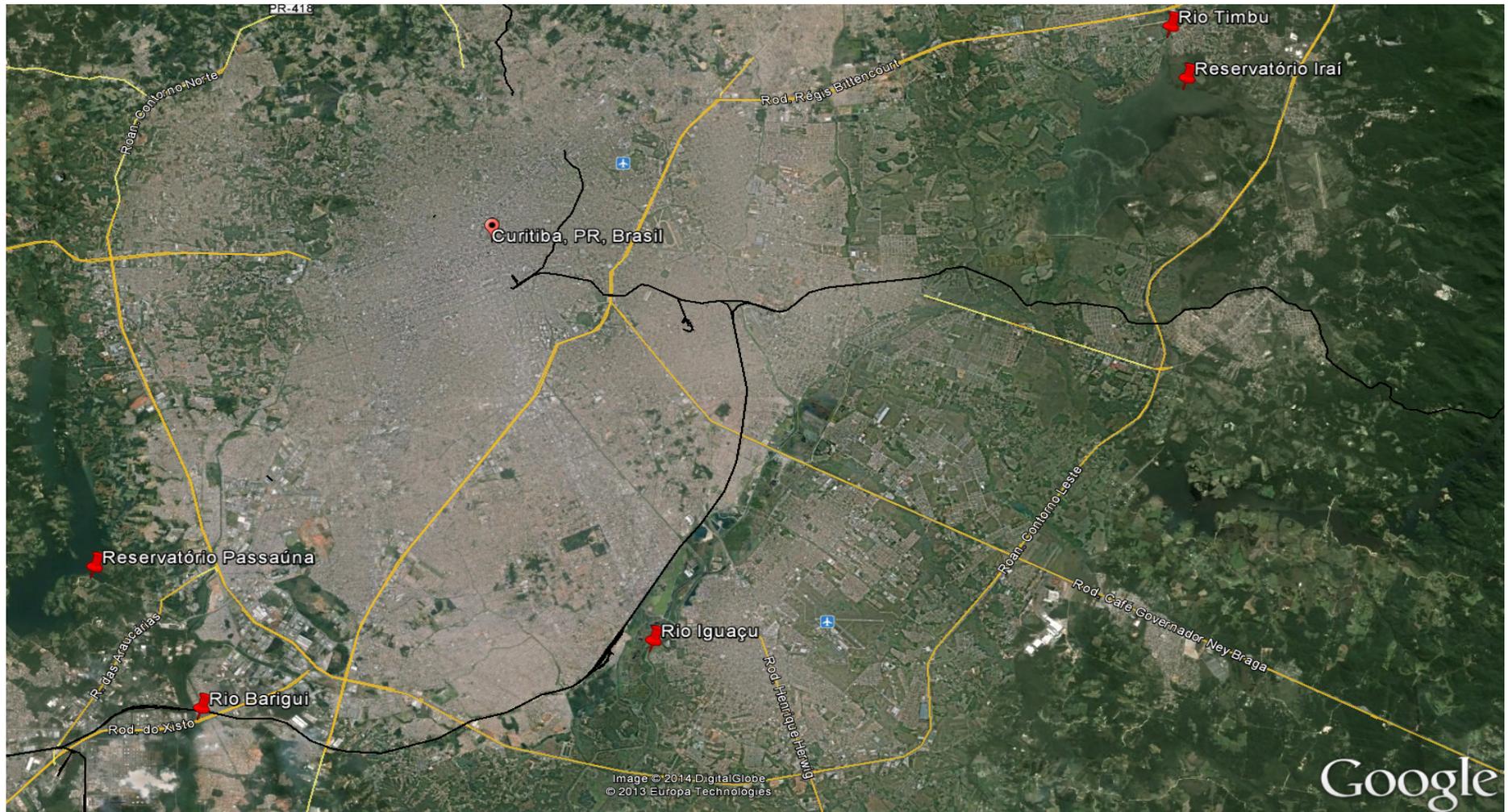


Figura 9: Principais mananciais da Bacia Hidrográfica do Iguaçu, na Região Metropolitana de Curitiba onde foi feita a amostragem de sedimento nos rios Barigui, Iguaçu, Timbu e Reservatórios Iraí e Passaúna. Os pontos em vermelho indicam os locais aproximados

O Iguaçu, além de ser considerado o maior rio totalmente paranaense, é formado pelo encontro dos rios Iraí e Atuba na parte leste do município de Curitiba. As nascentes dos referidos rios estão localizadas na Serra do Mar e seguem um percurso de 1320 km cruzando os três planaltos paranaenses até desaguar no Rio Paraná. A Bacia Hidrográfica do Iguaçu possui uma área total, dentro do Estado do Paraná, de 54.820 Km², o que equivale a aproximadamente 28% da sua área total, e alcança uma população de 4.405.882 habitantes, em torno de 43% do total do estado. Ao atravessar a região de Curitiba, o rio Iguaçu recebe como principais afluentes os rios Iraí, Atuba, Belém, Barigui e Passaúna SEMA (2010). No entorno da cidade de São José dos Pinhais este rio sofre muitos desequilíbrios ambientais, consequência de uma infraestrutura sanitária que se encontra em condições precárias, além de ocupações irregulares às margens do mesmo (Figura 10).



Figura 10: Ponto de coleta no rio Iguaçu. Ao lado esquerdo, lançamento de esgoto clandestino

No município de Araucária está localizado um grande polo industrial da região de Curitiba e de onde foram amostrados sedimentos do rio Barigui e do reservatório Passaúna, este último localizado em área de proteção ambiental. O rio Barigui, um dos principais tributários do rio Iguaçu, é um exemplo de degradação dos recursos hídricos situados em regiões sob intensas atividades industriais e com alta densidade populacional.

A maior fonte de poluição observada nesse rio é a doméstica, no entanto, a poluição industrial também contribui expressivamente para a degradação, devido ao descarte de efluentes em rios e córregos. Este material lançado tem, muitas vezes, como destino final os sedimentos. A contaminação

destes reflete em alterações na coluna d'água e na composição biogênica dos sedimentos (FROEHNER, 2008). Na Figura 11, são apresentadas as regiões de coleta, no rio Barigui na Cidade Industrial de Curitiba (CIC) e no Reservatório Passaúna no município de Araucária.



Figura 11: (A) Margem do rio Barigui; (B) Ponto de coleta rio Barigui; (C) Reservatório Passaúna. Ambos localizados no município de Araucária

O reservatório do Iraí, responsável por cerca de 70% do abastecimento de água para consumo na RMC, está localizado na Área de Proteção Ambiental da Bacia do Rio Iraí (APA do Iraí), na porção nordeste da RMC e seus principais afluentes abrangem quatro rios: Canguiri, Timbu, Cercado e Currallinho. O reservatório é caracterizado por uma pequena vazão afluente de $1,8 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, baixa profundidade (3,97 m em média), alto tempo de residência (527 dias) e grande espelho de água ($14,69 \text{ km}^2$). Tal morfometria favorece o processo de eutrofização, muitas vezes, dependente do grande aporte de nutrientes provenientes de seus principais afluentes.

O Rio Timbu, em estudos realizados em 2001 para o controle da

proliferação de algas na represa do Iraí revelou-se como um dos maiores responsáveis pelo aporte de matéria orgânica e nutrientes da represa. Essa contaminação se deve a ocupação irregular de áreas às margens do rio onde foi constatado o lançamento de esgoto doméstico *in natura* SEMA (2010). A Figura 12 mostra imagens dos pontos de coleta no Reservatório do Iraí (A) e Rio Timbu (B), respectivamente.

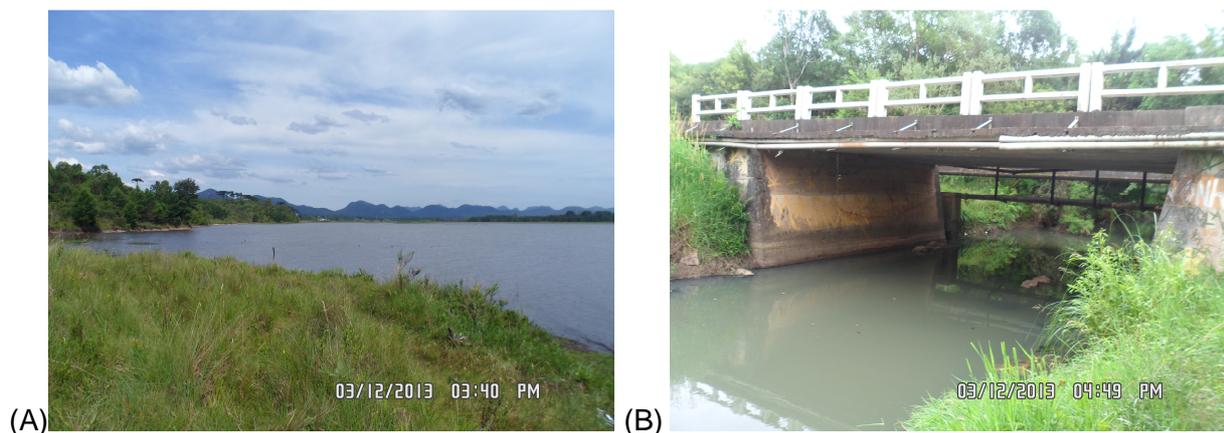


Figura 12: (A) Reservatório do Iraí. (B) Ponto de coleta rio Timbu no município de Quatro Barras

As amostras foram coletadas utilizando um amostrador desenvolvido em nosso laboratório para obtenção de sedimentos superficiais e testemunhos, sendo, neste trabalho utilizado apenas a parte superior da estrutura sedimentar (aproximadamente os primeiros 7 cm do sedimento). O coletor utilizado consiste em um tubo de PVC aberto (tubo coletor), com 50 mm de diâmetro interno e em sua extremidade inferior há um êmbolo de borracha justamente encaixado na sua base interna. O êmbolo foi montado em um eixo interno que se prolonga até a extremidade superior do tubo coletor, a partir do qual o mesmo é operado (LEITE, PERALTA-ZAMORA e GRASSI, 2008). A Figura 13 mostra o testemunhador que representa uma alternativa de baixo custo e eficiência tão satisfatória quanto à de amostradores comerciais.



Figura 13: Testemunhador de PVC desmontado (A) e pronto para o uso (B)

Imediatamente após a coleta, cada amostra de massa aproximada de 2,0 kg foi transferida da forma de alumínio para frascos de vidro de 300 mL, sendo então vedados e mantidos resfriados em caixa térmica até a chegada ao laboratório. No laboratório, as amostras de sedimento foram acondicionadas em bandejas de alumínio, encapadas com papel alumínio previamente calcinado em mufla (400 °C por 4 h), e submetidas à secagem em estufa à temperatura de 40°C durante 5 dias (Figura 14).



Figura 14: Sedimentos coletados nos rios e reservatórios de abastecimento de água pertencentes à Bacia Hidrográfica do Alto Iguaçu. Da esquerda para a direita: sedimentos do Reservatório Passaúna, Reservatório Iraí, Rio Timbu, Rio Iguaçu e Rio Barigui

Após o processo de secagem, materiais tais como folhas, gravetos e rochas, foram retirados e, então, as amostras foram peneiradas e, então,

maceradas de forma homogênea utilizando almofariz de porcelana e pistilo. As amostras foram armazenadas em frascos de vidro âmbar e mantidas em dessecador até o momento da análise (Figura 15). A determinação dos PBDE foi feita em triplicata conforme a metodologia descrita.



Figura 15: Sedimentos coletados na Bacia Hidrográfica do Alto Iguaçu já secos e macerados

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 OTIMIZAÇÃO CROMATOGRÁFICA

Apesar da existência de 209 congêneres de PBDE utilizados comercialmente, a presença dessa classe de compostos no meio ambiente tem sido relatada principalmente com relação aos congêneres penta-, octa- e deca-bromados. Portanto, para uma investigação mais apurada, foram adquiridos os padrões dos congêneres tanto de menor nível de bromação (1 a 4), quanto de níveis superiores (5 a 10).

Também foi necessário um sistema cromatográfico com detector capaz de identificar e quantificar, com confiabilidade, mesmo os congêneres que não puderam ser resolvidos pela coluna. Os PBDE são facilmente determinados em colunas apolares ou de baixa polaridade, por exemplo, 100% metil-polisiloxano (DB-1) e/ou 5% fenil dimetil-polisiloxano (DB-5) como relatado em vários trabalhos (COVACI, VOORSPOELS, DE BOER, 2003; GUO, 2010; KIERKEGAARD, BJÖRKLUND, FRIDÉN, 2004; RAHMAN *et al.*, 2001).

Por serem compostos halogenados, os PBDE são altamente sensíveis à técnica de cromatografia a gás acoplada a um detector de captura de elétrons

(ECD), entretanto sua determinação é comprometida devido à coeluição das bifenilas policloradas (PCB). Esta dificuldade foi resolvida com o uso da cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas pelo monitoramento *full scan*. Neste sistema a ionização ocorre externamente ao analisador de massa com excelente desempenho e confiabilidade, ao mesmo tempo em que gera espectros de massa clássicos, comparáveis aos espectros de bibliotecas, independentemente da concentração e matriz (ALAE e WENNING, 2002; BICCHI *et al.*, 2009; DE WIT, 2002).

Assim, a partir dos testes preliminares que foram realizados visando a estabelecer os parâmetros de aquecimento da coluna cromatográfica, os cromatogramas contidos nas Figuras 16 e 17, referem-se à injeção do padrão sob o programa de aquecimento linear, conforme é proposto pelo método 1614A da U.S. EPA. A programação de temperatura é crucial na cromatografia gasosa já que diminui o tempo de análise. A coluna cromatográfica é aquecida com temperaturas mais baixas para que compostos de baixo ponto de ebulição possam eluir como picos separadamente. Durante a análise a temperatura é aumentada a fim de diminuir a retenção de compostos com maior ponto de ebulição.

Constatou-se através da Figura 16, que apesar da satisfatória separação dos picos cromatográficos para os compostos de interesse, a corrida cromatográfica demandou um tempo de análise superior a 50 minutos. No entanto, a Figura 17 permite inferir que para os compostos de menor massa molar a separação ocorreu com maior resolução, porém, o mesmo não foi observado para os de maior massa molar. Dentre esses, convém destacar os congêneres BDE 190 e BDE 209 que não apresentaram sinal analítico detectável.

Tal fato pode ser explicado pela longa permanência dos compostos no interior da coluna cromatográfica, pois, o sinal do primeiro analito, BDE 17, foi detectado apenas 29 minutos depois da injeção no cromatógrafo e o último, após 50 minutos. De acordo com a literatura, os retardantes de chama são termicamente instáveis e ao permanecer em elevadas temperaturas podem inclusive acarretar em processos de degradação térmica Stapleton (2006).

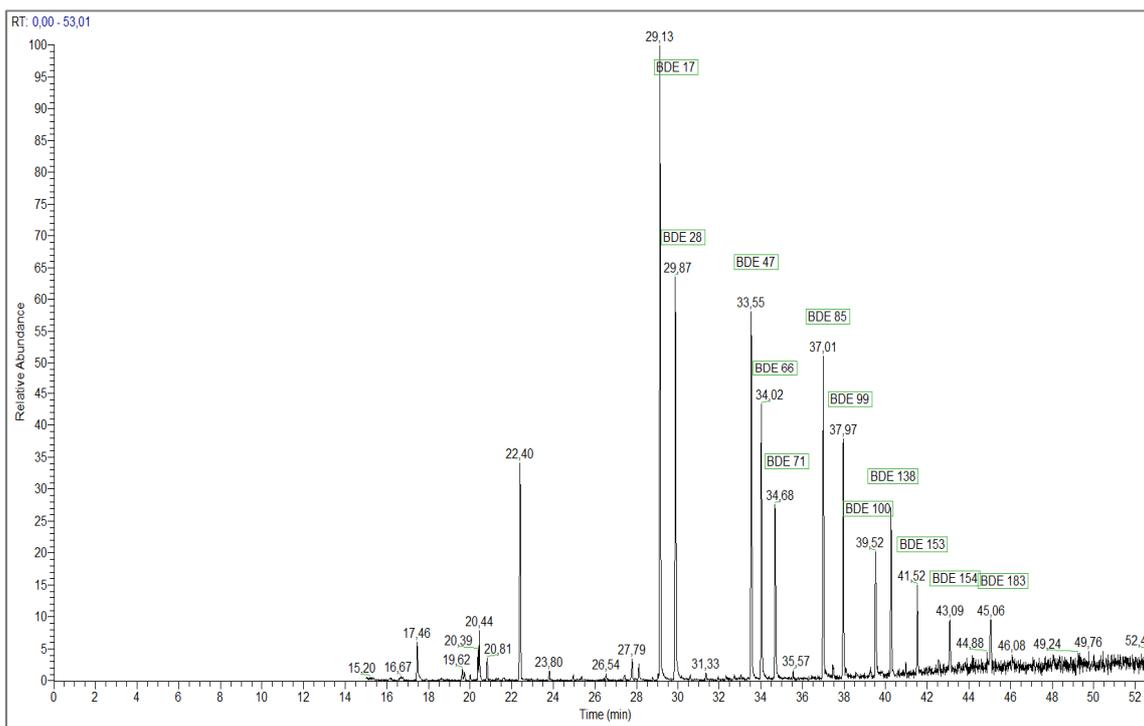


Figura 16: Cromatograma obtido após injeção sob programa de aquecimento da coluna cromatográfica proposto pelo método 1614A (U.S. EPA). Destaca-se o sinal do primeiro analito (BDE 17) cuja eluição ocorreu 29 min após a injeção

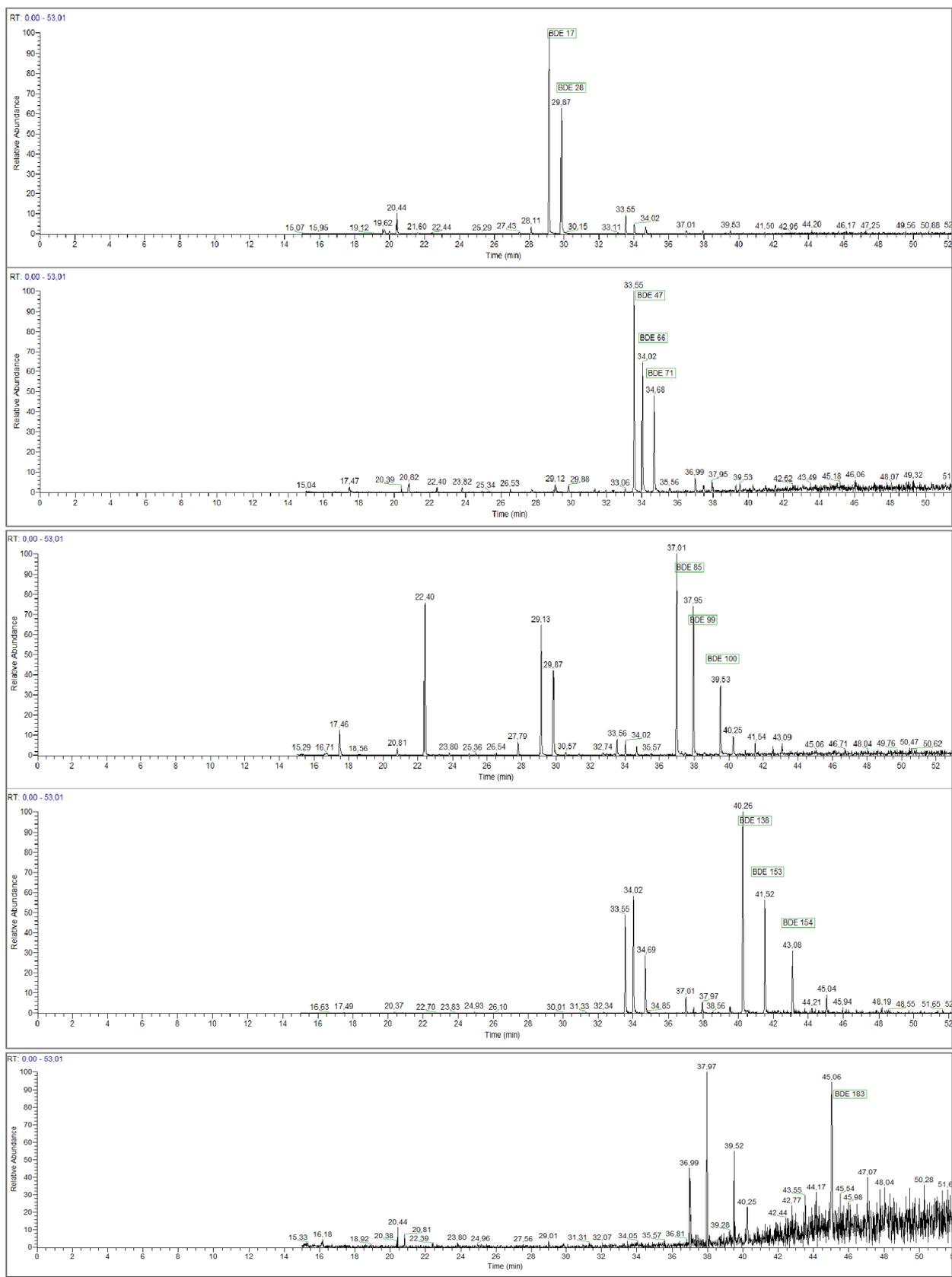


Figura 17: Cromatogramas obtidos pela seleção individual dos íons m/z dos compostos de interesse e que evidenciam a satisfatória separação dos sinais cromatográficos (Método 1614A)

Como alternativa ao método 1614A, otimizou-se um programa de aquecimento em etapas, conforme mostrado anteriormente na Figura 6 e de forma resumida na Tabela 12. De tal maneira, o objetivo principal foi melhorar os níveis de detectabilidade dos compostos de interesse, aliado a um menor tempo de residência na coluna. Pôde-se constatar pela Figura 18 que esse objetivo foi alcançado, uma vez que após a otimização da programação de aquecimento alternativa ao método 1614A houve um incremento a intensidade do sinal analítico, em comparação ao cromatograma da Figura 16.

Além disso, o primeiro congênere de PBDE (BDE 17) eluiu em pouco mais de 19 minutos após a injeção e o tempo total da corrida cromatográfica se deu em aproximadamente 35 minutos (Figuras 18 e 19). Apesar da significativa melhora na intensidade do sinal analítico, os congêneres BDE 190 e BDE 209 não foram detectados.

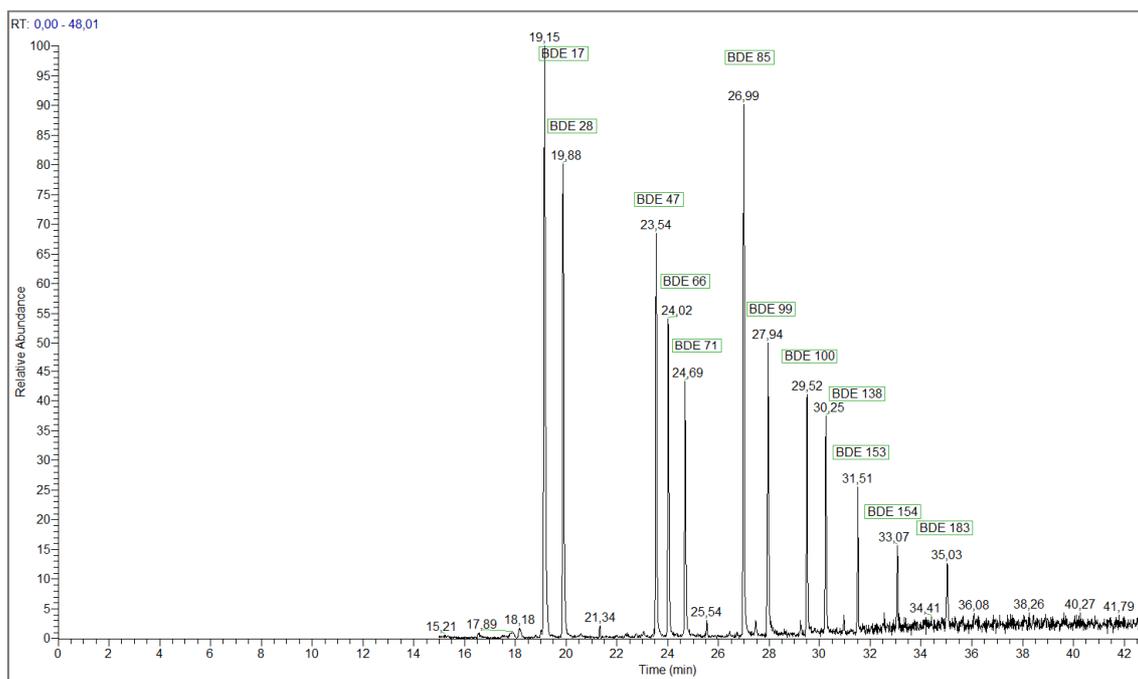


Figura 18: Cromatograma referente ao programa de aquecimento da coluna cromatográfica proposto pelo método alternativo ao preconizado pela U.S. EPA

Dessa forma, ficaram estabelecidas as temperaturas para a corrida cromatográfica e que atendam as condições de elevada detectabilidade em um tempo reduzido de análise. No entanto, foram avaliados outros parâmetros a fim de incrementar o poder de resolução da técnica e optou-se por um planejamento fatorial 2^3 , com triplicata do ponto central.

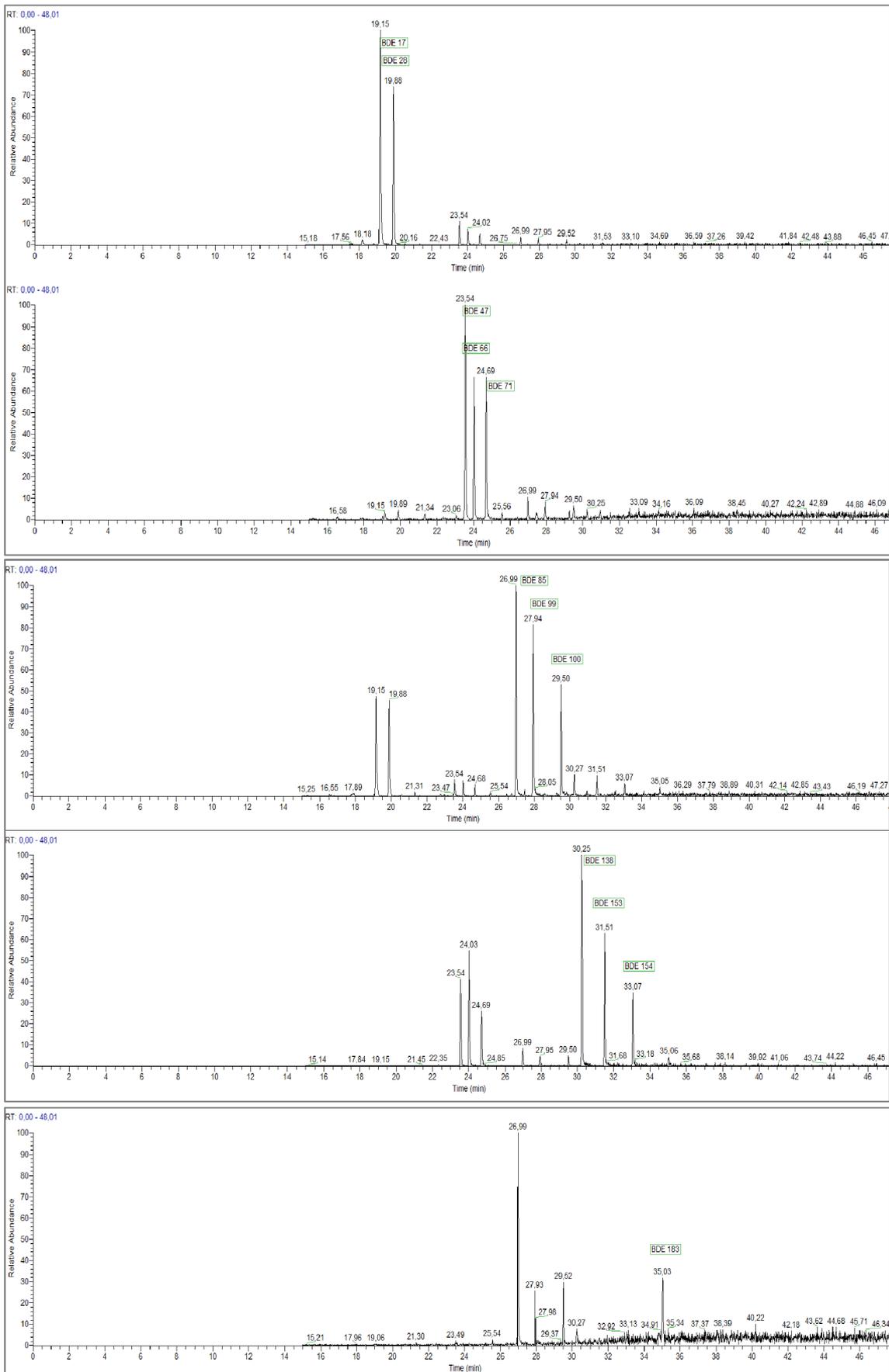


Figura 19: Cromatogramas obtidos pela seleção individual dos íons m/z dos compostos de interesse no programa de aquecimento alternativo ao proposto pela U.S. EPA

Assim, avaliaram-se os efeitos da temperatura do injetor ao aquecê-lo entre 250°C a 300°C. Antes mesmo que ocorra a aquisição da amostra é importante que se garanta a volatilização completa do solvente e dos analitos a fim de que a eluição na coluna cromatográfica seja a mais eficiente possível. Por sua vez, a injeção no modo *splitless* é a mais adequada para os compostos em nível traço, pois, além de oferecer menor potencial de discriminação dos analitos, necessita de um pequeno volume de amostra, geralmente de 1,0 µL a 3,0 µL. Além disso, para essa análise, cujas concentrações atingem nível traço, avaliou-se o efeito do tempo em que a válvula do injetor permanece fechada após a injeção da amostra. Com isso é possível transferir efetivamente toda a amostra para a coluna. Após o tempo pré-estabelecido, a válvula se abre a fim de purgar os analitos e solventes remanescentes. (BJÖRKLUND *et al.*, 2004; COLLINS, BRAGA, BONATO, 2011; HARRIS, 2001; SKOOG *et al.*, 2009; STAPLETON, 2006).

Outro fator investigado refere-se à temperatura da linha de transferência entre 250°C a 300°C. Por se tratar de um tubo metálico rígido que liga o cromatógrafo ao espectrômetro de massas, sua função é isolar termicamente a transferência quantitativa de massa entre as interfaces de ambos os equipamentos, assim, as elevadas temperaturas justificam-se ao evitar uma possível condensação do gás de arraste durante esse processo (MCNAIR e MILLER, 2009).

Nesse sentido, os dados contidos na Tabela 10 exibem os ensaios e as condições em que o planejamento fatorial de experimentos foi realizado. A coluna denominada média geométrica refere-se à média dos valores das áreas dos analitos obtidos após cada injeção. Observa-se que o maior valor 579.816 para a média geométrica das áreas dos picos cromatográficos dos compostos estudados refere-se ao ensaio número 8, onde a temperatura do injetor é de 300°C, o tempo de *splitless* é de 3 min e a temperatura da linha de transferência é de 250°C.

Os efeitos e as interações significativas de tais parâmetros podem ser observados nos gráficos de pareto e de superfície, respectivamente, nas Figuras 20 e 21. O efeito significativo da temperatura máxima do injetor, observado no gráfico de pareto, pode ser explicado pela necessidade de volatilizar a amostra antes mesmo que a injeção ocorra, garantindo assim a

efetiva separação dos analitos na coluna cromatográfica. De forma semelhante, o tempo em que a válvula do injetor no modo *splitless* permanece fechada permite uma substancial aquisição de amostra na coluna e somente após os 3 min a válvula se abre a fim de purgar os traços remanescentes da amostra volatilizada.

As temperaturas elevadas, tanto no injetor ou na coluna cromatográfica, apesar de necessárias para efetiva volatilização do solvente e do analito, podem levar a degradação dos PBDE que possuem maior substituição por átomos de bromo, ou seja, os de maior massa molar. Tal fato tem ocorrido especificamente neste trabalho com o BDE 190 e BDE 209, conforme é relatado pela literatura Arnold et al. (2008 e Mariottini et al. (2008 e Möller et al. (2011 e Wang et al. (2005).

Tabela 10. Variáveis avaliadas no planejamento fatorial 2^3 para determinação experimental de PBDE em GC-MS e resposta obtida após injeções através do cálculo da média geométrica das áreas dos analitos.

Ensaio	T. I. (°C)	T. S. (min)	T. L. T. (°C)	Média Geométrica
3	-	+	-	454125
7	-	+	+	485064
6	+	-	+	483023
9 (C)	0	0	0	487579
8	+	+	+	579816
2	+	-	-	456436
5	-	-	+	329262
1	-	-	-	450819
10 (C)	0	0	0	509696
11 (C)	0	0	0	514801
4	+	+	-	500353

Onde: T.I.: Temperatura do Injetor; T.S.: Tempo de splitless;
T.L.T.: Temperatura da Linha de Transferência

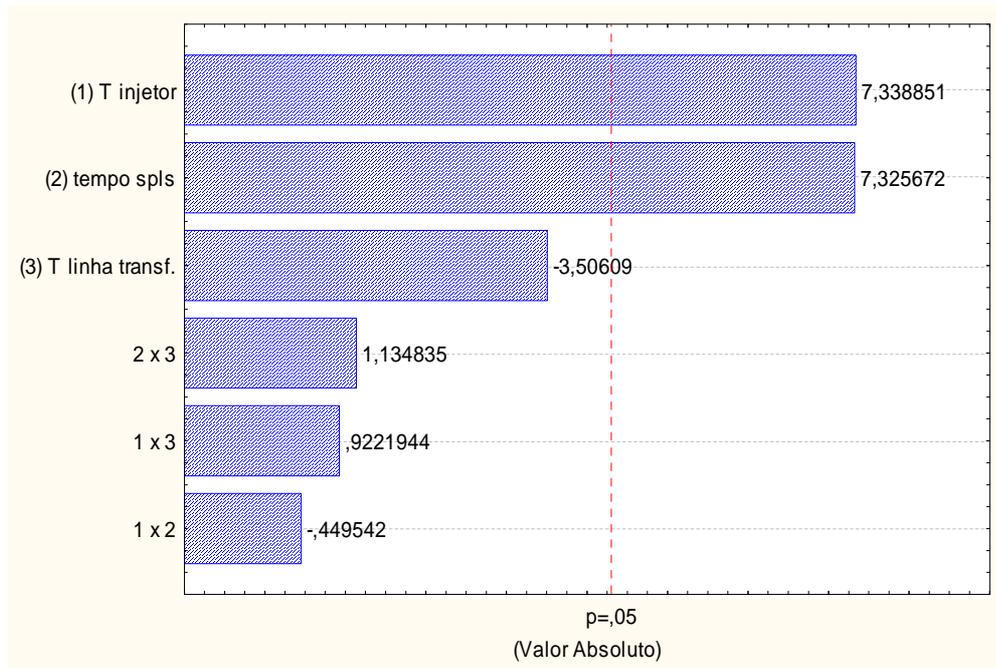


Figura 20: Gráfico de Pareto referente ao planejamento 2^3 evidenciando a influência da temperatura do injetor e do tempo de *splitless*.

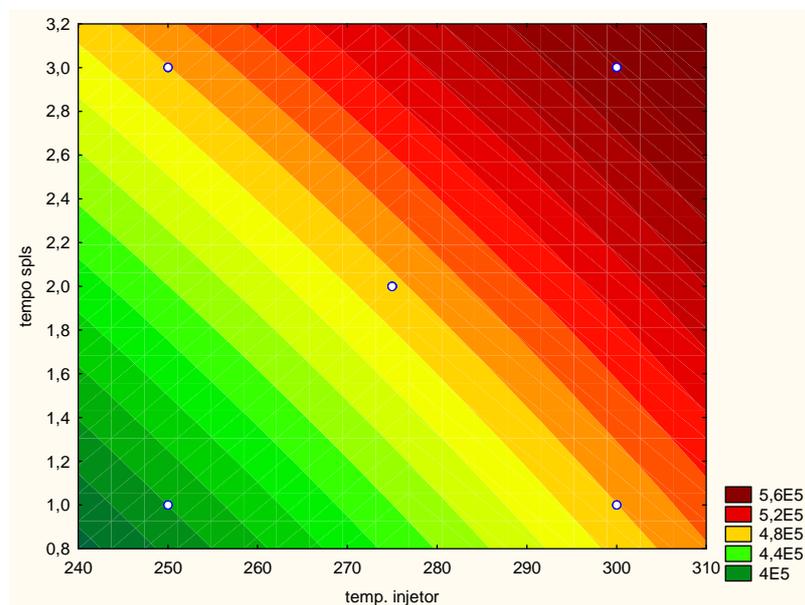


Figura 21A: Superfícies de resposta mostrando a influência da temperatura do injetor e do tempo de *splitless* através das cores quentes do planejamento 2^3 . Temperatura do injetor versus tempo de *splitless*;

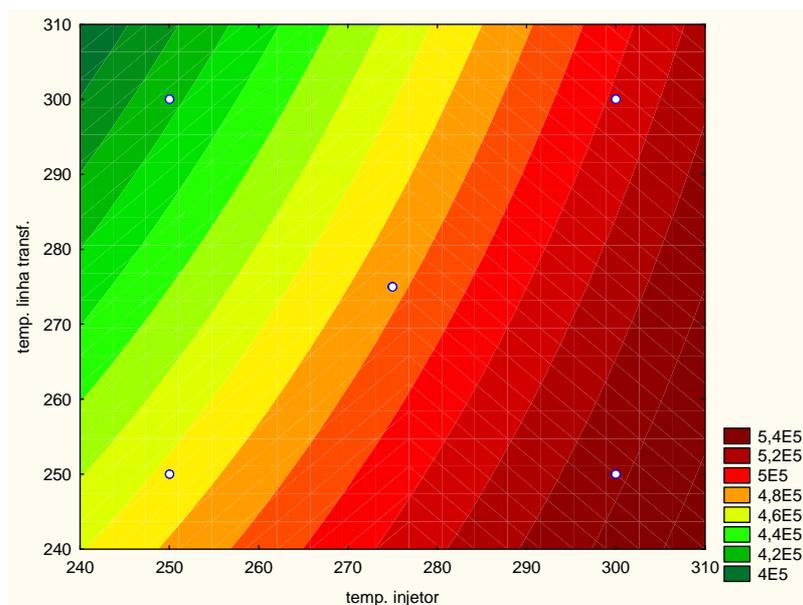


Figura 21B: Superfícies de resposta mostrando a influência da temperatura do injetor e do tempo de splitless através das cores quentes do planejamento 2^3 . Temperatura do injetor versus temperatura da linha de transferência

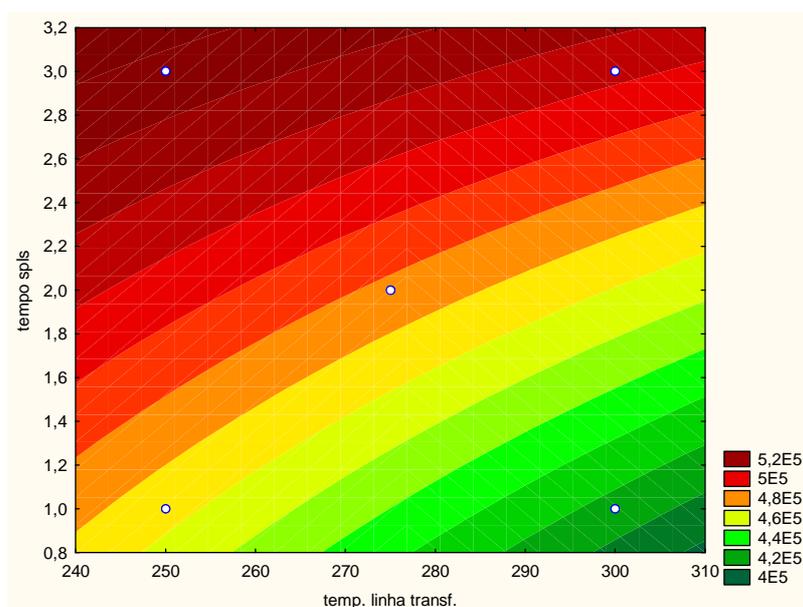


Figura 21C: Superfícies de resposta mostrando a influência da temperatura do injetor e do tempo de splitless através das cores quentes do planejamento 2^3 . Temperatura da linha de transferência versus tempo de splitless.

Assim, como foram observados resultados satisfatórios no planejamento fatorial 2^3 , optou-se por avaliar uma possível melhora dos níveis de detectabilidade ao se incluir outro fator, o pulso de pressão na coluna cromatográfica, onde foram avaliados efeitos da sua duração e intensidade. Testou-se, então, a eficiência desse parâmetro na aquisição da amostra a fim

de que os compostos de interesse percolem sob alta pressão a coluna cromatográfica e os componentes individuais da mistura migrem a diferentes velocidades devido às suas interações com as fases móvel e estacionária Harris (2001b e Jung et al. (2009).

Desse modo, foi realizado um planejamento fatorial 2^4 (Tabela 11). Nas condições do ensaio 16, onde todos os fatores avaliados estão na intensidade máxima, foram obtidas áreas de pico cujo valor da média geométrica foi de 645.855. Este resultado corrobora o obtido no planejamento anterior e confirma a influência significativa do pulso de pressão.

Tabela 11: Planejamento fatorial 2^4 para otimização experimental da determinação de PBDE em GC-MS

Ensaio	T. I. (°C)	T. P. P. (min)	P. P. (kPa)	T. L. T. (°C)	Média Geométrica
9	-	-	-	+	159747
5	-	-	+	-	375618
10	+	-	-	+	231542
17 (C)	0	0	0	0	406623
6	+	-	+	-	510401
16	+	+	+	+	645855
19 (C)	0	0	0	0	465911
15	-	+	+	+	514482
8	+	+	+	-	527085
12	+	+	-	+	309743
2	+	-	-	-	251387
11	-	+	-	+	319928
14	+	-	+	+	565801
4	+	+	-	-	263108
7	-	+	+	-	376951
1	-	-	-	-	170567
18 (C)	0	0	0	0	253857
13	-	-	+	+	565350
3	-	+	-	-	412828

Onde, T.I.: Temperatura do Injetor; T.P.P.: Tempo de Pulso de Pressão; P.P.: Pulso de Pressão; T.L.T.: Temperatura da Linha de Transferência

Pôde-se constatar, adicionalmente, uma significativa melhora na intensidade do sinal no cromatograma, conforme mostrado na Figura 18, bem como no incremento das áreas de cada analito. Por meio da análise dos gráficos de pareto (Figura 22) e das superfícies de resposta (Figura 23) fica

evidente quão significativa é a intensidade do pulso de pressão, neste caso de 150 kPa, aplicado durante a injeção das amostras. O incremento de pressão na cabeça da coluna justifica-se pelo fato de evitar que a amostra fique mais tempo no interior da coluna cromatográfica e, assim, haja um alargamento dos picos cromatográficos, fato que melhora significativamente a resolução dos sinais analíticos.

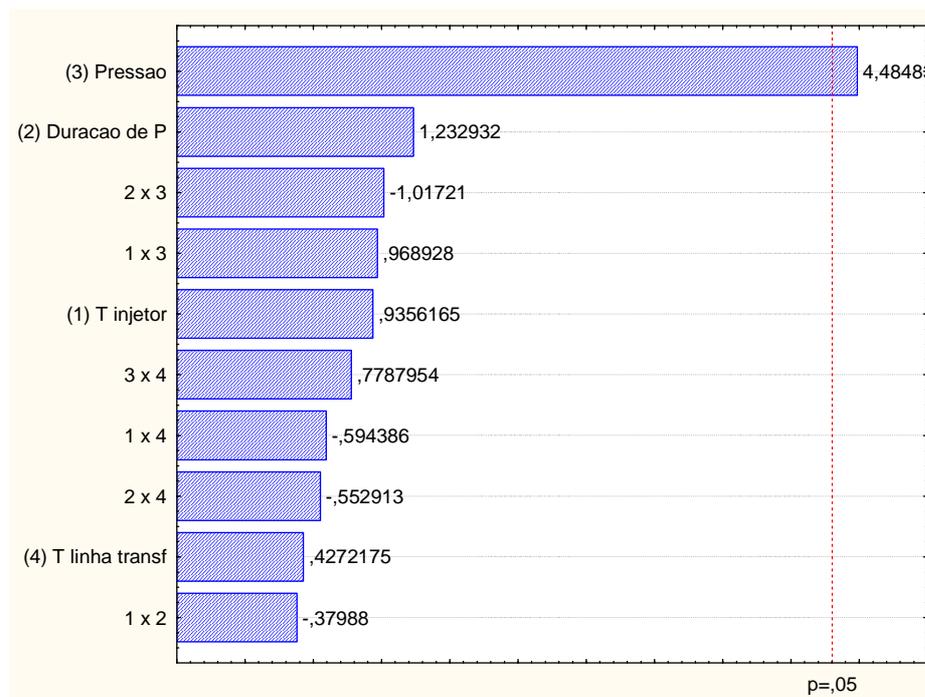


Figura 22: Gráfico de Pareto referente ao planejamento 2^4 evidenciando a influência significativa do pulso de pressão na melhora da detectabilidade

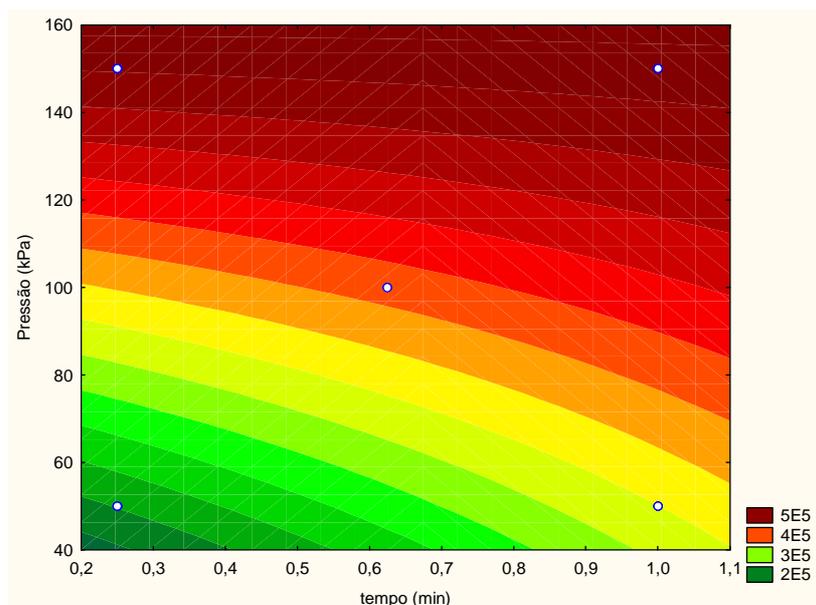


Figura 23A: Relação entre a intensidade da pressão aplicada e duração do tempo de aplicação da mesma. Aplicação de pressão acima de 120 kPa leva a respostas significativas na detectabilidade dos compostos seja qual for a duração da pressão

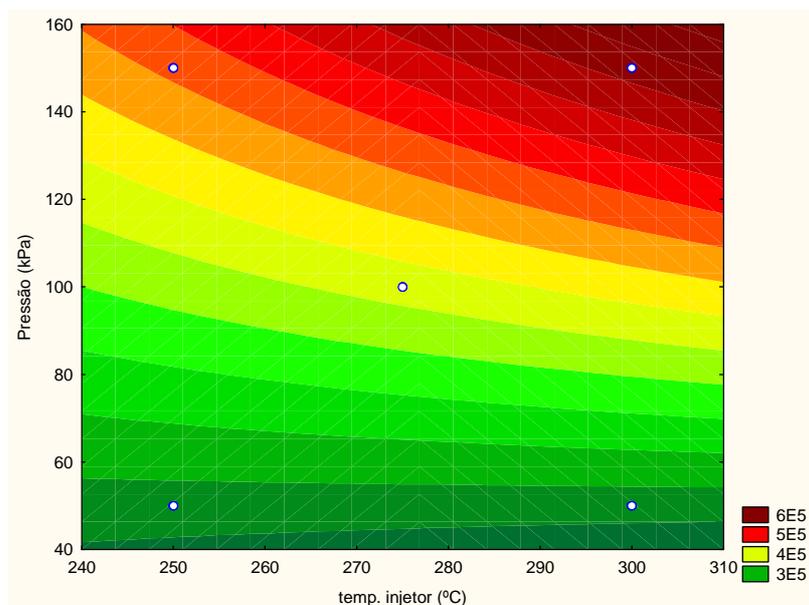


Figura 23B: Os efeitos das interações entre a intensidade da pressão aplicada e ao aumento da temperatura do injetor são significativos quanto a maiores forem seus respectivos valores

Dessa forma, a avaliação dos parâmetros mencionados durante os planejamentos fatoriais de experimentos possibilitou estabelecer e fixar os valores a serem utilizados nas demais etapas deste trabalho. As condições cromatográficas foram seguidas conforme está resumido na Tabela 12. Além destes, foi possível identificar os congêneres de PBDE baseando-se nos tempos de retenção individuais e seus respectivos íons de quantificação, como são verificados na Tabela 13.

Tabela 12: Parâmetros operacionais para determinação dos PBDE utilizando GC-MS

Equipamento	- GC-MS modelo Focus-PolarisQ; - Auto-amostrador AS 3000 (Thermo Electron Corporation)
Coluna	DB-5ms (Agilent): 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm
Gases	Arraste: He 1,0 mL min ⁻¹ (vazão constante); Gas saver: off.
Temperaturas	Coluna: - 100°C durante 3 minutos; - 200°C, à taxa de 20°C/minuto; - 260°C, à taxa de 10°C/minuto; - 300°C, à taxa de 5°C/minuto – (10 min) V injeção: 2,00 µL Detector: 300°C Injetor: 300°C (<i>splitless</i>) Linha de Transferência: 300°C Fonte de íons IE: 300°C

Tabela 13: Tempo de retenção e íons de quantificação referentes aos congêneres de PBDE obtidos após corrida cromatográfica

BDE	Tempo de Retenção (min)	Íons de Quantificação (m/z)
17	16,64	246; 248
28	16,98	246; 248
47	18,91	326
66	19,20	326
71	19,59	326
85	21,11	404; 406
99	21,78	404; 406
100	22,99	404; 406
138	23,54	484
153	24,60	484
154	25,97	484
183	27,87	564

4.2 RESULTADOS DA ETAPA DE *CLEAN-UP*

O procedimento de *clean-up* proposto neste trabalho baseia-se no método descrito por Aydin e colaboradores (2006) e consistiu na avaliação das quantidades de adsorventes necessárias para promover a separação dos compostos e da polaridade dos solventes para eluição.

A cromatografia em coluna empregada na etapa de *clean-up* é uma técnica muito utilizada para isolamento de produtos naturais e purificação de produtos de reações químicas. As fases estacionárias mais utilizadas são sílica e alumina à separação por adsorção. De uma forma geral, sílica e alumina são empregadas na separação de compostos por adsorção.

Os adsorventes foram adicionados lentamente à coluna fixada na posição vertical, batendo-se continuamente ao longo da mesma para que todo o ar fosse expulso, de modo a se obter uma compactação uniforme. A existência de ar entre as partículas pode levar à formação de canais na coluna, os quais alargam as bandas eluídas.

Após o empacotamento, foi necessário passar o hexano sob fluxo de nitrogênio gasoso através da coluna antes da introdução da amostra. Esta foi adicionada no momento em que o nível do eluente estava o mais próximo possível do adsorvente. Esse procedimento ameniza o alargamento das bandas a serem eluídas. Após a amostra ter penetrado no adsorvente, o

eluente foi adicionado continuamente.

Nesse trabalho as amostras eram constituídas por substâncias que apresentam diferenças de polaridade. Assim, utilizou-se primeiramente um eluente apolar, hexano, a fim de separar primeiramente os interferentes hidrocarbonetos, que podem ser tanto de origem natural ou antropogênica e, em seguida, utilizou-se de um eluente de caráter polar a fim de eluir os PBDE, cujos átomos de bromo por apresentam pares de elétrons livres e lhes conferem um caráter ligeiramente polar.

Constatou-se que a maior concentração de hidrocarbonetos foi verificada nas primeiras nove frações, após eluição com 5,0 mL de hexano, conforme mostra a Figura 24. De tal maneira, eliminou-se significativamente a interferência na quantificação dos PBDE apesar de ainda estarem presentes em toda extensão do fracionamento, porém em menor concentração. De modo contínuo, a eluição com uma mistura de 5,0 mL de hexano e diclorometano (3:1 v/v), cujas diferenças de polaridades, permitiram separar os retardantes de chama a partir da décima fração em diante sem interferência significativa dos alcanos.

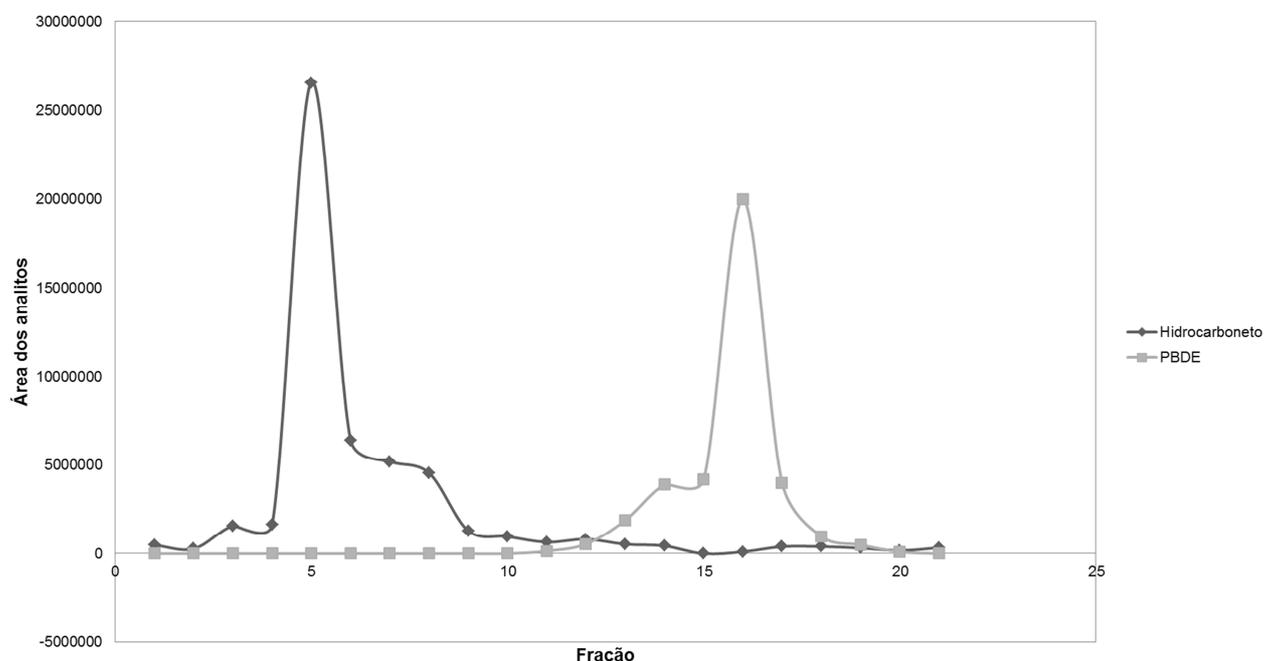


Figura 24: Eluição de hidrocarbonetos e PBDE com mistura de hexano/diclorometano (3:1) em coluna miniaturizada de sílica e alumina.

Apesar da coluna miniaturizada ter apresentado resultados satisfatórios, testou-se uma coluna de volume maior e com maiores quantidades de

adsorventes, mostrada no teste 2 da Tabela 7, a fim de tentar obter melhores respostas e eliminar ao máximo qualquer interferência dos alcanos que possivelmente estarão nas matrizes ambientais que serão coletadas e analisadas de acordo com o protocolo analítico proposto.

Assim, a Figura 25 mostra que na etapa de fracionamento a maior concentração de alcanos se deu entre as frações 9 e 15, contudo não foi possível separar os PBDE satisfatoriamente, o que implicaria na adição de mais eluente, além dos 25 mL previstos inicialmente. Esta estratégia foi abandonada por fugir do escopo deste trabalho, o qual está voltado para a utilização de técnicas ambientalmente amigáveis, usando menores quantidades de solventes, bem como reduzindo ao máximo a quantidade de adsorventes na etapa de *clean-up*. Desta forma, optou-se por dar continuidade aos trabalhos utilizando quantidades menores de sílica e alumina, de acordo com a condição 2 da Tabela 7.

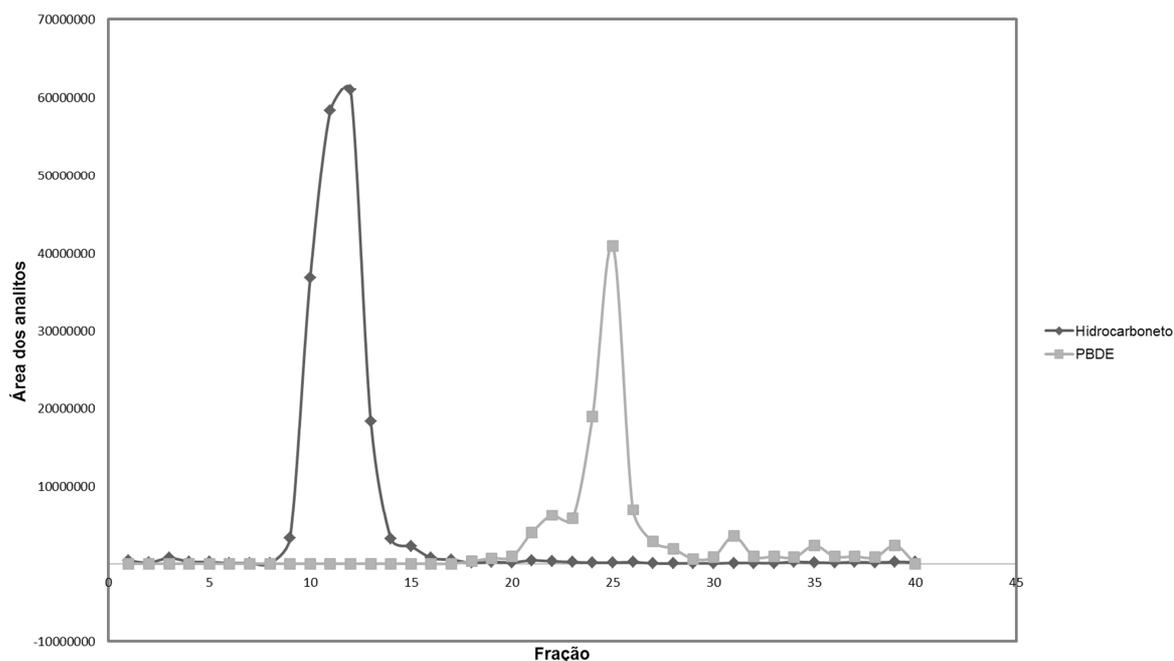


Figura 25: Eluição de alcanos com mistura de hexano/diclorometano (3:1) em coluna constituída por 4 g de sílica e 1 g de alumina.

Nestas condições observou-se que a maior concentração de alcanos se deu entre as frações 9 e 16 (Figura 24). Contudo, não foi possível detectar o ponto final do fracionamento dos PBDE, o que implicaria na necessidade de adição de mais eluente, além dos 25 mL previstos inicialmente. Esta estratégia foi abandonada, pelas mesmas razões apresentadas anteriormente. Portanto, a

continuidade do trabalho se deu com o uso da coluna com as menores dimensões, ou seja, 20 cm de comprimento e 0,6 cm de diâmetro interno.

A Figura 26 apresenta os resultados obtidos para os percentuais de recuperação dos compostos após a etapa de *clean-up* realizada empregando-se Na₂SO₄ fortificado com padrões de alcano e PBDE. Os resultados foram calculados empregando-se a razão entre a média aritmética das áreas dos picos dos analitos fracionados na microcoluna e as áreas dos analitos da solução-padrão de PBDE, após análise via GC-MS. É possível perceber que os percentuais de recuperação se mostraram satisfatórios, variando entre 83% e 126%, com desvios-padrão na faixa de 1% a 22%.

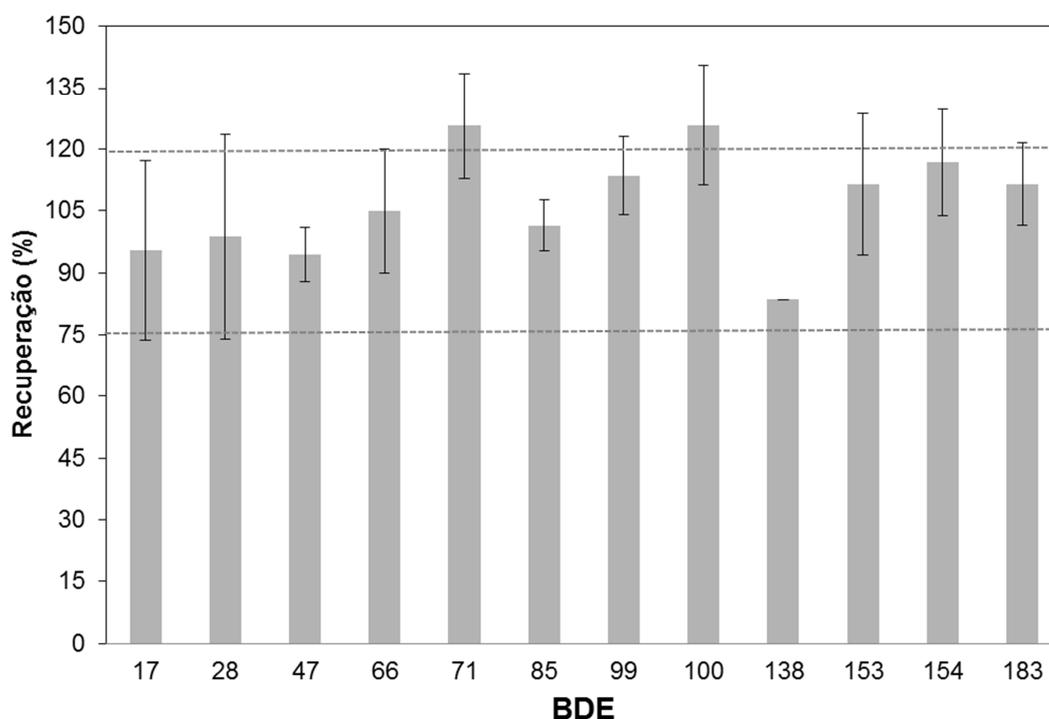


Figura 26: Percentuais de recuperação obtidos a partir da eluição na microcoluna, em comparação a injeção do padrão puro de PBDE.

4.3 OTIMIZAÇÃO DA ETAPA DE EXTRAÇÃO

4.3.1 ESCOLHA DO SOLVENTE EXTRATOR

A partir dos testes preliminares realizados com Na₂SO₄ fortificado com os padrões de PBDE e alcanos constatou-se que o solvente mais eficiente a ser utilizado nas demais extrações é a acetona, fato também comprovado por Aydin e colaboradores (2006). Corroboram com esse fato as Figuras 27 e 28, cujos gráficos apresentam as áreas dos congêneres de PBDE. A eficiência da

acetona mostrou-se superior em relação ao hexano e ao diclorometano, tanto na extração com 5 etapas quanto com 3 etapas. Isso pode ser explicado pelo fato de que dentre os solventes avaliados a acetona apresenta maior caráter polar que, por sua vez, lhe garante maior afinidade eletrônica tendo em vista que os átomos de bromo possuem pares de elétrons livres e, assim, confere uma polaridade e eficiência ao extrair as moléculas de PBDE da matriz sólida.

Desta forma, empregando a acetona como solvente extrator os coeficientes de variação ficaram entre 12% e 27% após 5 etapas de sonicação e entre 3% e 20% para 3 etapas de sonicação. Utilizando-se hexano como extrator os valores dos coeficientes de variação ficaram entre 5% e 47% após os 5 etapas e entre 3% e 37% para 3 etapas.

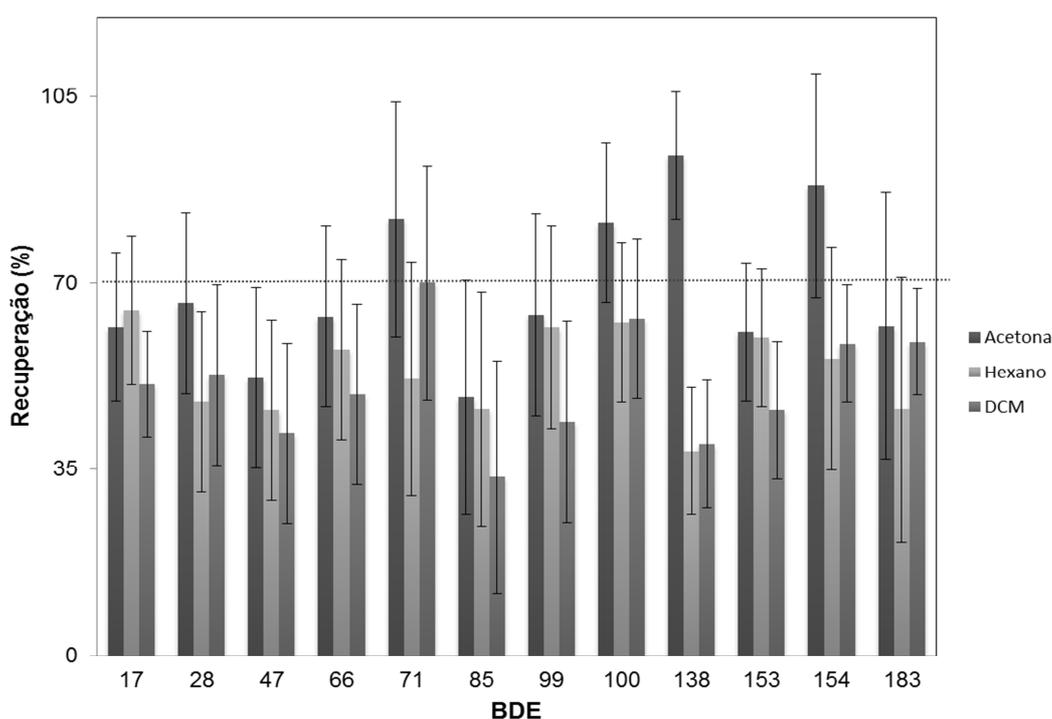


Figura 27: Percentuais de recuperação após extração realizada em 5 etapas de 5 minutos e intervalo de 1 minuto usando como solventes acetona, hexano e diclorometano.

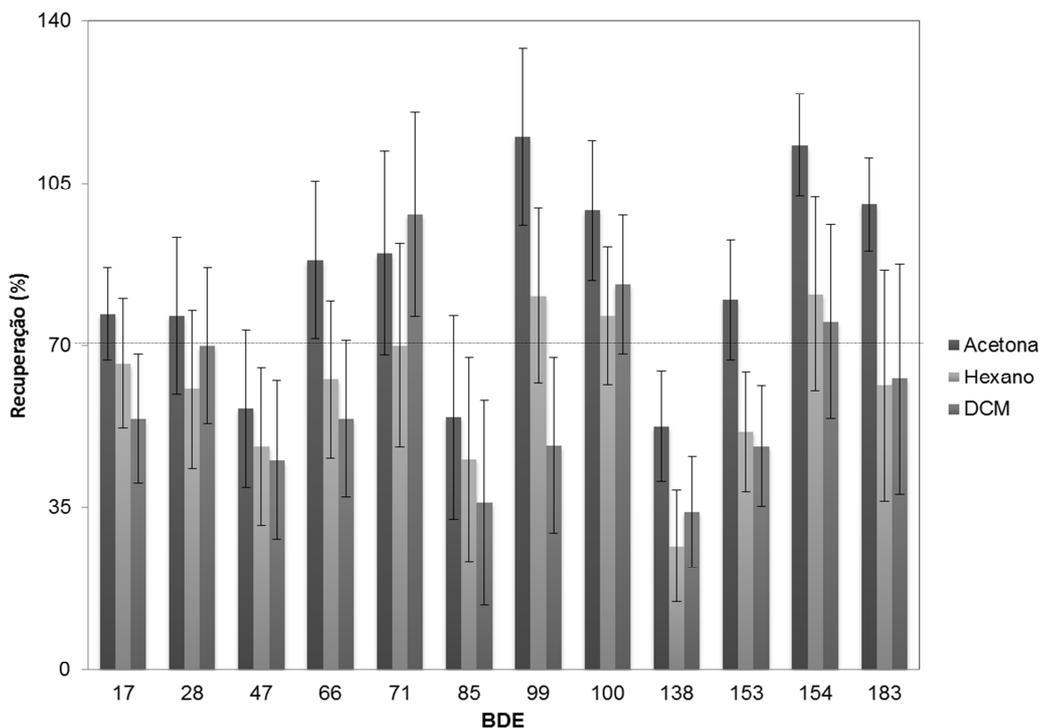


Figura 28: Percentuais de recuperação após extração feita em 3 etapas de 5 minutos e intervalo de 1 minuto usando como solventes acetona, hexano e diclorometano.

Ao realizar a extração em 5 etapas e mesmo em 3 etapas foi possível observar a evaporação dos solventes devido ao aquecimento gerado pela sonda ultrassônica. Convém destacar que ao se utilizar o diclorometano houve volatilização de mais da metade do volume de solvente inicialmente adicionado, mesmo mantendo o tubo imerso em um béquer com gelo. Este também foi um dos motivos para não se seguir em frente com este procedimento, além da menor eficiência de extração.

4.3.2 PARÂMETROS DE EXTRAÇÃO

A escolha da acetona como solvente extrator foi feita utilizando um volume de 6 mL e aplicou-se a potência máxima da sonda ultrassônica nas 3 etapas de extração que duraram 5 minutos, cada um. Contudo, conforme se observa na Figura 29, nos testes de extração feitos em amostras de sulfato de sódio e posteriormente com sedimentos não se obteve recuperações satisfatórias dos compostos pesquisados nesse trabalho. Para as amostras de sulfato de sódio a faixa de recuperação ficou entre 43% e 64% e para as amostras de sedimento entre 37% e 93%.

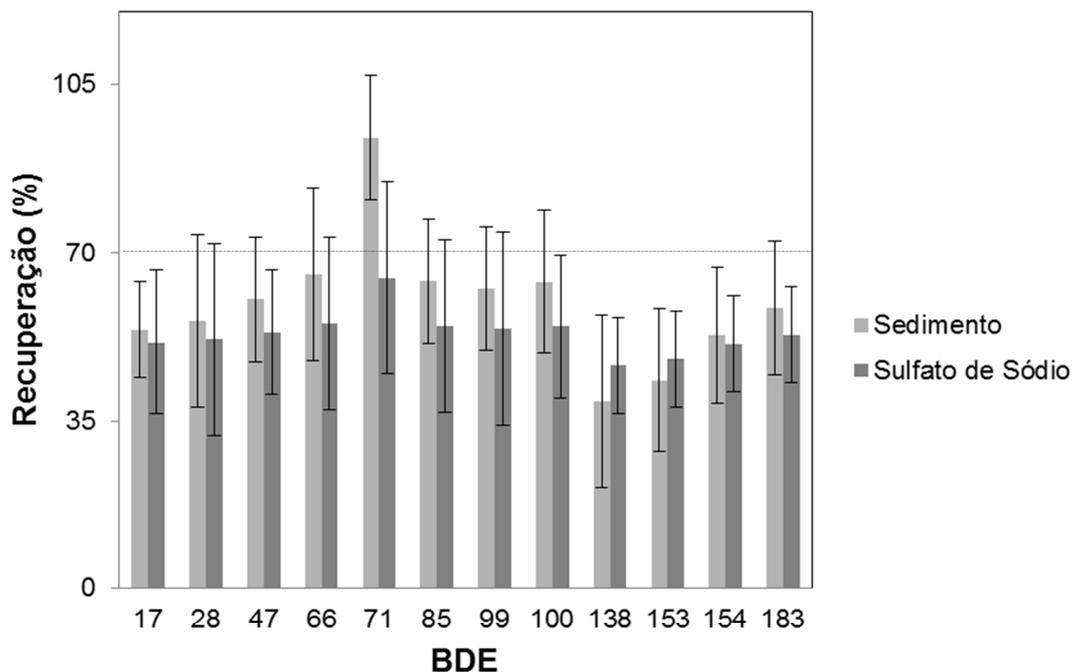


Figura 29: Percentuais de recuperação dos congêneres de PBDE obtido a partir da extração em Na_2SO_4 e em sedimento utilizando como solvente extrator a acetona em 3 etapas de sonicação na potência máxima de 500 W.

Visando melhorar a eficiência do método, no que diz respeito à recuperação dos analitos, executou-se um planejamento fatorial 2^3 avaliando-se a influência dos fatores relacionados na Tabela 8. Assim, o tratamento dos dados obtidos após a execução do planejamento possibilitou a construção do gráfico de pareto mostrado na Figura 30. Este gráfico permite inferir que apenas o efeito do volume de solvente utilizado se mostrou significativo durante a etapa de extração. De acordo com gráfico de pareto, o efeito negativo indicou que a extração é mais efetiva quando se utiliza um menor volume de solvente. As superfícies de resposta estão apresentadas nas Figuras 31, 32 e 33. Estas figuras permitem avaliar as interações dos fatores volume do solvente, duração do ciclo de extração e potência da radiação ultrassônica aplicada.

Os efeitos significativos são representados pelas cores quentes das superfícies de resposta e pôde-se constatar, a partir da Figura 31, que ao se utilizar um volume de solvente extrator inferior a 5 mL uma resposta significativa é obtida, em detrimento das maiores quantidades de solvente. Essa resposta se mostrou bastante positiva, pois, além de atender aos requisitos da química verde, propiciou uma maior eficiência na extração dos

analitos, ocasionada provavelmente pelo efeito de pré-concentração dos analitos devido à volatilização de parte da acetona. No entanto, o tempo de aplicação da radiação ultrassônica não se mostrou representativo nessa análise bidimensional, pois não levou em conta a potência das ondas ultrassônicas, conforme está evidenciado na Figura 32.

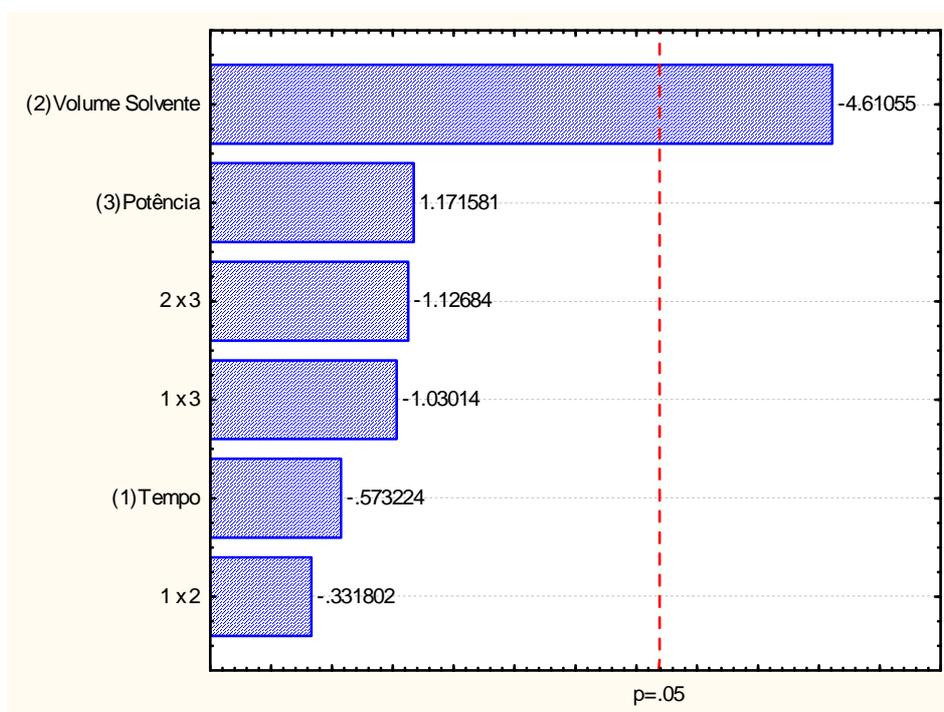


Figura 30: Gráfico de Pareto obtido a partir da realização de testes segundo um planejamento fatorial 2^3 visando otimizar o processo de extração.

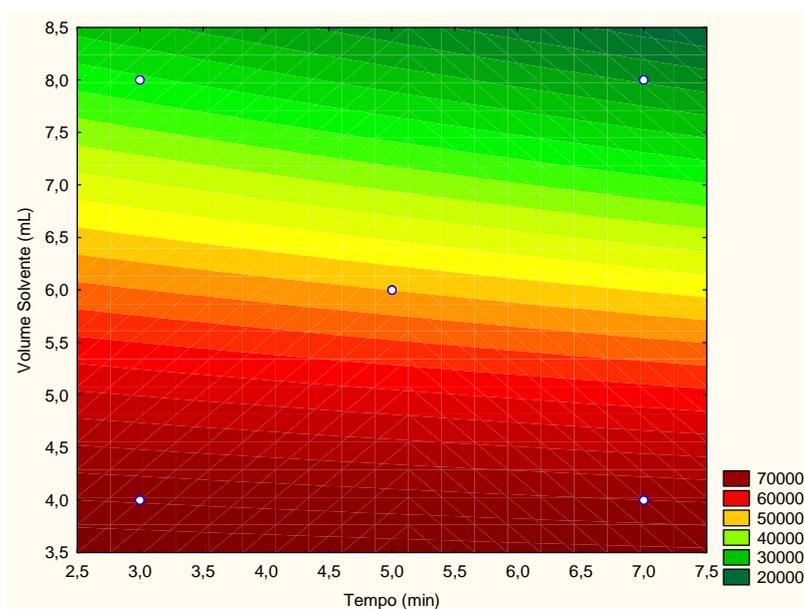


Figura 31: Superfície de resposta obtida a partir da realização de testes segundo um planejamento fatorial 2^3 visando otimizar o processo de extração, evidenciando apenas o efeito significativo das menores quantidades de solvente.

A análise da Figura 32 permite concluir que a utilização da potência máxima da sonda ultrassônica durante a extração deve ser realizada em um curto intervalo de tempo, tendo em vista um possível decaimento da eficiência do processo extração em função do aquecimento ocasionado pelo efeito de cavitação durante a radiação ultrassônica. Como consequência, se obtém perdas significativas do sinal analítico em função da degradação térmica dos congêneres de PBDE, dada sua sensibilidade a temperaturas superiores a 300°C Arnold et al. (2008).

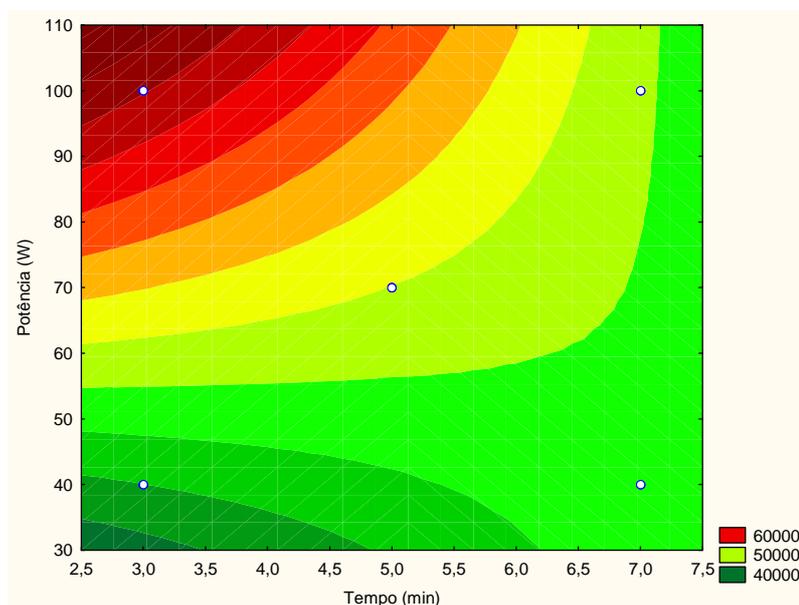


Figura 32: Superfície de resposta obtida a partir da realização de testes segundo um planejamento fatorial 2^3 visando otimizar o processo de extração, evidenciando os efeitos significativos da aplicação de maior potência das ondas ultrassônicas e do menor tempo de exposição das amostras analisadas em decorrência de possível degradação térmica dos analitos e consequente perda de sinal dos mesmos.

Observando-se a superfície de resposta da Figura 33 é possível perceber que a combinação de maior potência da radiação ultrassônica aplicada a amostras contendo uma quantidade menor de solvente confere uma eficiência significativa na etapa de extração. Tal fato se relaciona, provavelmente, a maior intensidade do efeito de cavitação que, por sua vez, aliado ao menor volume de solvente conduz a um maior e mais efetivo grau de agitação das moléculas do solvente, o que favorece a liberação dos PBDE da matriz. Além disso, o volume reduzido de solvente favorece a pré-concentração dos analitos antes da injeção no GC-MS.

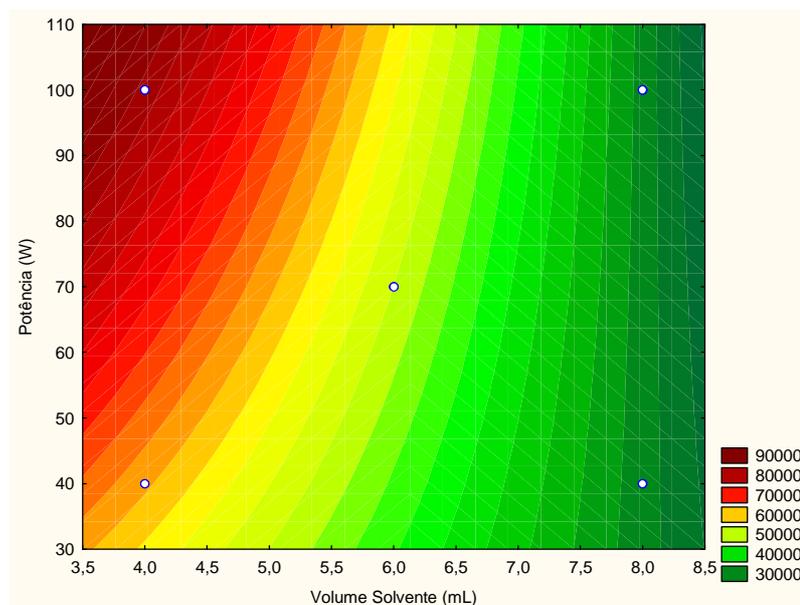


Figura 33: Superfície de resposta obtida a partir da realização de testes segundo um planejamento fatorial 2^3 visando otimizar o processo de extração, evidenciando apenas os efeitos significativos da aplicação de maior potência das ondas ultrassônicas e menor tempo de exposição da amostra analisada.

O gráfico de recuperação exibido na Figura 34 foi obtido a partir da etapa de extração nas condições estabelecidas no planejamento fatorial 2^3 , seguida do fracionamento em microcoluna de sílica e alumina. Comparativamente ao gráfico apresentado na Figura 24 percebe-se que os valores absolutos são superiores o que demonstra a eficiência do método utilizado. No entanto, mesmo estando dentro dos limites aceitáveis acredita-se ser possível alcançar resultados mais favoráveis utilizando-se duas etapas extras de sonicação da mesma amostra, retirando-se o sobrenadante após cada etapa. Os valores de recuperação para as condições otimizadas no planejamento fatoriais ficaram na faixa de 76% a 87% e os desvios-padrão entre 14% e 21%.

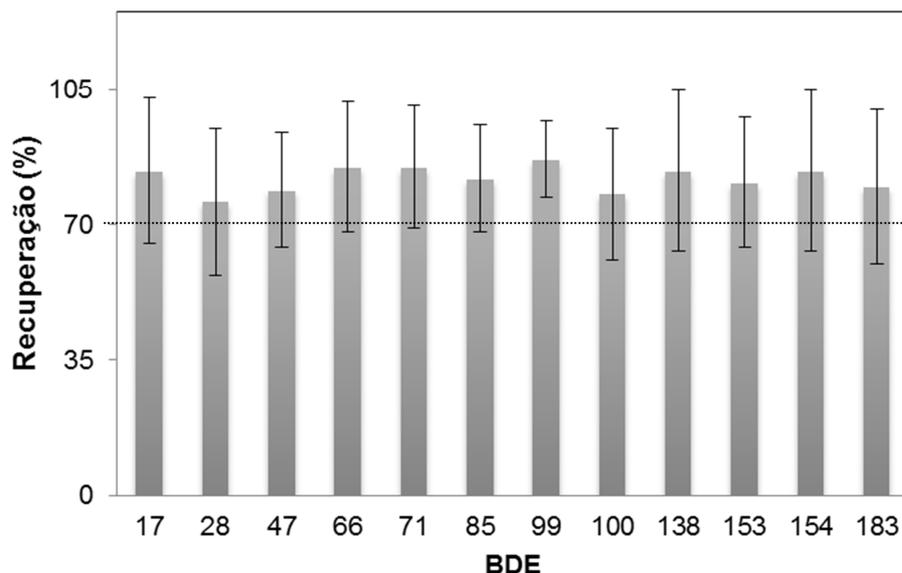


Figura 34: Percentual de recuperação para congêneres de PBDE obtidos a partir do planejamento fatorial 2^3 visando otimizar a etapa de extração.

4.4 PARÂMETROS DE MÉRITO

Uma vez cumpridas todas as etapas do processo de otimização das condições experimentais e instrumentais, foi realizada a validação parcial do método proposto para a determinação de PBDE, conforme se observa na Tabela 14.

Com o objetivo de garantir a confiabilidade da resposta analítica obtida a partir das amostras em análise, a avaliação do método consistiu na estimativa de alguns parâmetros analíticos de mérito, indicados a seguir: faixa linear de trabalho, limites de detecção e quantificação, seletividade, precisão e exatidão.

Através da linearidade é verificada a capacidade do método analítico de estabelecer uma relação direta, em uma determinada faixa de concentração, entre resultados que sejam proporcionais à concentração do analito na amostra com a resposta do método. Dessa forma, o coeficiente de correlação é utilizado para indicar o quanto a reta pode ser considerada adequada como modelo matemático para o estudo de caso. Nesse sentido, as curvas analíticas para a quantificação dos PBDE foram construídas a partir da diluição sucessiva da solução-padrão contendo os retardantes de chamas com a obtenção de sete soluções de concentrações 0,50; 1,00; 2,50; 5,00; 7,50 e 10,00 ng mL⁻¹. Cada solução da curva analítica recebeu uma alíquota da solução de padrão interno

de PBDE que é constituído por isótopos de carbono, na concentração de 5,76 ng mL⁻¹.

A regressão linear das curvas analíticas foi obtida com a plotagem da razão entre a área do pico do composto (AA) pela área do pico do padrão interno (API), em relação à concentração do composto (CA). Sob estas condições, as curvas analíticas obtidas apresentaram coeficientes de correlação linear na faixa de 0,9900 a 0,9992 para todos os compostos analisados, as quais atendem satisfatoriamente os critérios de linearidade.

Quando são realizadas medidas de analitos em nível de concentração traço é importante definir os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método que está sendo utilizando. O LD é definido como a menor concentração de um analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada e o LQ representa a menor concentração do analito que pode ser medida. Uma das formas de calcular estes limites é a partir dos parâmetros da curva analítica. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados a partir das Equações 1 e 2, respectivamente.

$$\text{(Equação 1)} \quad LD = 3,3 \times \frac{S}{S} \qquad \text{(Equação 2)} \quad LQ = 10 \times \frac{S}{S}$$

Em ambas as equações “s” representa a estimativa do desvio padrão e “S” o coeficiente angular da curva analítica.

A seletividade de um método instrumental consiste na capacidade de distinguir de forma satisfatória a resposta do analito de interesse e a resposta de outros analitos que não se deseja quantificar. Dessa forma, avaliou-se o efeito interferente de alcanos alifáticos, de origem petrogênica, antropogênica ou natural, que poderiam estar presentes na matriz ambiental e impactar na determinação de PBDE. Conforme descrito na Seção 4.1, grande parte dos alcanos foi eliminada na etapa de *clean-up* e, apesar de detectados, não interferiram significativamente na determinação dos retardantes de chama o que demonstra a eficiência do procedimento.

Tabela 14: Faixa linear de concentração da curva analítica, coeficiente de correlação, limites de detecção e quantificação para os PBDE

Congêneres	Faixa Linear (ng mL ⁻¹)	R ²	LD (ng mL ⁻¹)	LQ (ng mL ⁻¹)
BDE 17	0,5 a 10	0,9995	0,21	0,63
BDE 28	0,5 a 10	0,9971	0,53	1,60
BDE 47	0,5 a 10	0,9900	1,36	4,12
BDE 66	0,5 a 10	0,9965	0,58	1,75
BDE 71	0,5 a 10	0,9902	1,07	3,25
BDE 85	0,5 a 10	0,9995	0,23	0,70
BDE 99	0,5 a 10	0,9942	0,75	2,27
BDE 100	0,5 a 10	0,9989	0,38	1,15
BDE 138	0,5 a 10	0,9906	1,05	3,18
BDE 153	0,5 a 10	0,9902	1,18	3,58
BDE 154	0,5 a 10	0,9992	0,29	0,87
BDE 183	0,5 a 10	0,9989	0,33	0,99

A exatidão e a precisão na quantificação de compostos orgânicos em amostras de sedimento são aspectos importantes para avaliação da presença destes. Conseqüentemente, torna-se necessário que a metodologia analítica empregada para a análise dessa matriz ambiental forneça resultados confiáveis. Uma das formas de garantir a confiabilidade dos resultados fornecidos por uma metodologia analítica em termos de precisão é através da validação da metodologia Carreira et al. (2009).

Segundo Jardim e colaboradores (2004), a precisão representa a dispersão de resultados entre ensaios independentes que foram repetidos a partir de uma mesma amostra ou amostras semelhantes. Uma das maneiras de representar a precisão é através do desvio padrão relativo (DPR), que também é conhecido por coeficiente de variação (CV) e é calculado pela Equação 3:

$$\text{(Equação 3) } DPR(\%) = CV(\%) = \frac{s}{X}$$

Onde “s” representa a estimativa do desvio padrão e X é a média aritmética das determinações.

Nesta etapa de validação, utilizou-se um sedimento de referência preparado no laboratório, com concentrações conhecidas de PBDE. O preparo deste sedimento de referência foi em função da ausência de um material certificado para PBDE. O procedimento de preparo foi baseado no trabalho descrito por Li e colaboradores, (2007). De acordo com os autores, após a

descontaminação de um sedimento natural para o preparo do sedimento de referência, através de extração por solvente, parte da matéria orgânica que é responsável pela interação com os analitos é extraída com os mesmos. Entretanto alguns compostos remanescentes no sedimento como ácidos húmicos, podem promover a interação com os analitos adicionados neste material. Os autores ainda ressaltam que além da interação com os ácidos húmicos, outras interações como ligações de hidrogênio, íon-dipolo e Van der Waals podem ocorrer entre a matriz descontaminada e os analitos adicionados. Desta forma, presume-se que de alguma forma ocorra à interação dos compostos adicionados com o sedimento descontaminado. Li et al. (2007).

A análise do sedimento de referência foi feita em triplicata sendo a precisão avaliada com base na estimativa do desvio padrão relativo (coeficiente de variação) calculado através dos valores de recuperação dos compostos. Os resultados e o desvio obtidos para os PBDE encontram-se na Tabela 15.

Tabela 15: Percentuais de recuperação e coeficiente de variação (n=3) obtido para os PBDE em sedimento de referência preparado em laboratório

BDE	Recuperação (%)	Coeficiente de Variação (%)
17	84	19
28	76	19
47	79	15
66	85	17
71	85	16
85	82	14
99	87	10
100	78	17
138	84	21
153	81	17
154	84	21
183	80	20

As faixas de recuperação média obtidas para os PBDE foram de 76% a 87% e os desvios-padrão entre 10% e 21% sendo esses valores considerados satisfatórios para a grande maioria dos compostos de interesse, uma vez que a análise de compostos em matrizes complexas, como sedimentos, cujas concentrações são em nível traço valores de até 20% são aceitos, de acordo com o preconizado por Jardim e colaboradores (2004) e INMETRO (2011).

Os resultados obtidos mostram que o processo de otimização analítica para determinação de PBDE resultou em condições favoráveis para obtenção de resultados confiáveis o que permite supor que a determinação destes compostos em matrizes ambientais pode ser feita satisfatoriamente.

Nesse trabalho optou-se por otimizar uma metodologia que fosse mais rápida que o método 1614A preconizado pela U.S. EPA e que demandasse menores quantidades de insumos materiais, de forma a minimizar o tempo de análise bem como os resíduos gerados. Na Figura 35, apresenta-se uma síntese do método otimizado neste trabalho.

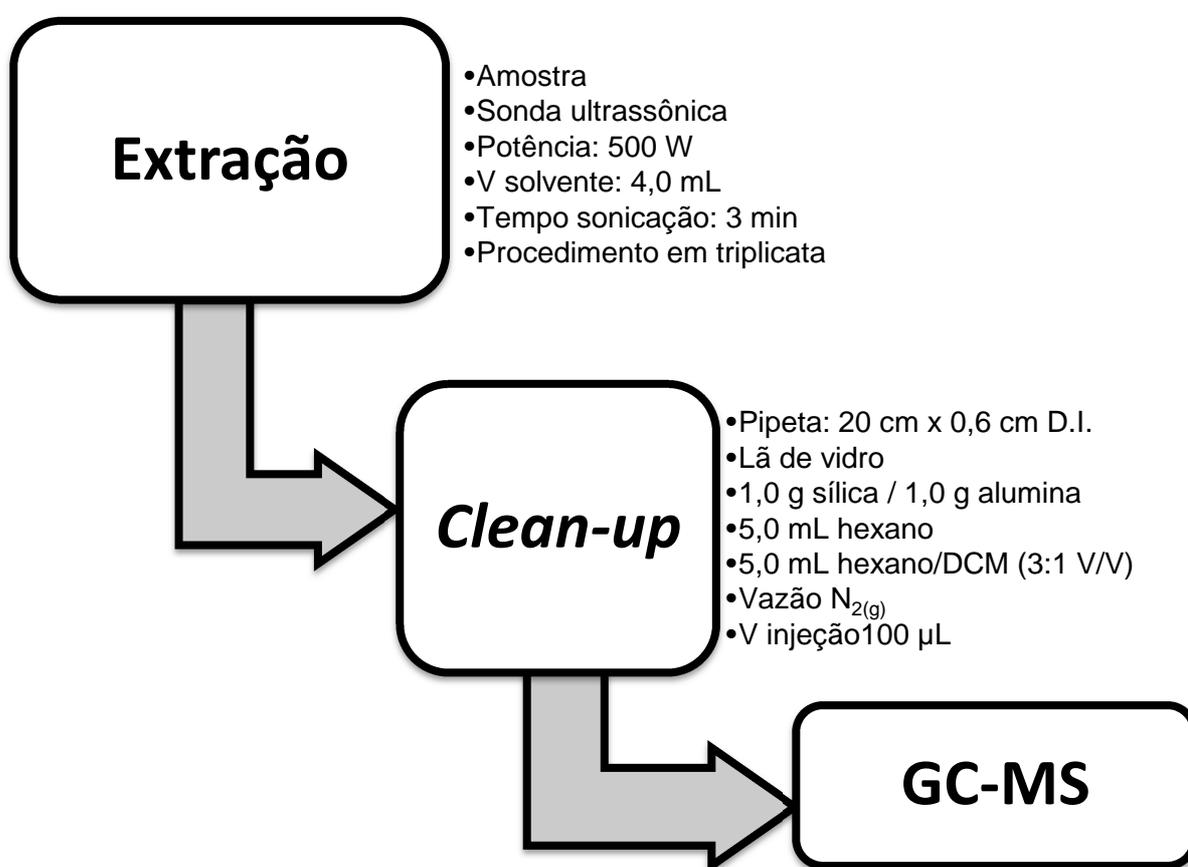


Figura 35: Esquema do método desenvolvido neste trabalho

5. APLICAÇÃO DO MÉTODO A AMOSTRAS REAIS

O objetivo principal deste trabalho consistiu em desenvolver um protocolo analítico aplicável à determinação de uma classe de retardantes de chama, os éteres difenílicos polibromados (PBDE). Além disso, priorizava-se a obtenção de dados que pudessem caracterizar a origem da presença dos PBDE em

corpos aquáticos inseridos em regiões de intensa atividade industrial, elevada densidade demográfica e em área de proteção ambiental.

A partir das análises das amostras coletadas nos corpos aquáticos da região de Curitiba foi possível determinar a presença de alguns congêneres de PBDE, especificamente o BDE 71, BDE 85 e BDE 99, conforme mostra a Tabela 16.

Tabela 16: Determinação de alguns congêneres de PBDE em sedimentos coletados nos rios da região de Curitiba

RIO	BDE 71	BDE 85	BDE 99
Barigui	< LD	< LQ	< LD
Iguaçu	< LD	< LQ	< LQ
Timbu	< LD	< LQ	ND
Passaúna	ND	ND	ND
Iraí	ND	ND	ND

Onde:

< LD: concentração inferior ao limite de detecção

< LQ: concentração inferior ao limite de quantificação

ND: concentração não detectada

Apesar de os níveis de concentração serem inferiores aos limites de detecção estabelecidos pelo método desenvolvido, há um indicativo da presença desses compostos nas amostras avaliadas. Os rios de onde foram coletadas as amostras caracterizam-se pelo histórico dos elevados níveis de contaminação por esgoto doméstico e industrial, além da presença de contaminantes tais como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, HPA, n-alcanos e esteroides fecais Taverna (2011), assim como bifenilas policloradas, PCB (LEITE, PERALTA-ZAMORA e GRASSI, 2011; LEITE, 2008)

A Figura 36 exibe o cromatograma e o espectro de massas do BDE-71 determinado em amostra do rio Barigui. É possível perceber que o pico cromatográfico não apresenta o formato desejável, contudo, no espectro de massas pode-se notar a presença do fragmento do íon massa carga em meio a outros interferentes. A confirmação do congênere se deu através da comparação do espectro obtido com o da biblioteca do espectrômetro de

massas com uma probabilidade de confirmação igual a 7,2%. Da mesma forma, a identificação dos congêneres BDE 85 (Figura 37) e BDE 99 (Figura 38), respectivamente nos rios Timbu e Iguçu, se deu através pela comparação do sinal analítico com o da biblioteca do espectrômetro de massas, porém, com probabilidade de confirmação de cerca de 1% em ambos os casos.

Isso se deve provavelmente a algum outro ajuste a ser feito nesse protocolo, de forma especial na etapa de extração onde se observam níveis de recuperação inferiores aos da etapa de *clean-up*. Além disso, foi observada uma queda da sensibilidade do GC-MS durante os testes de rotina o que demandou uma manutenção a ser realizada pelo fabricante no referido equipamento, porém não houve tempo hábil para refazer as análises.

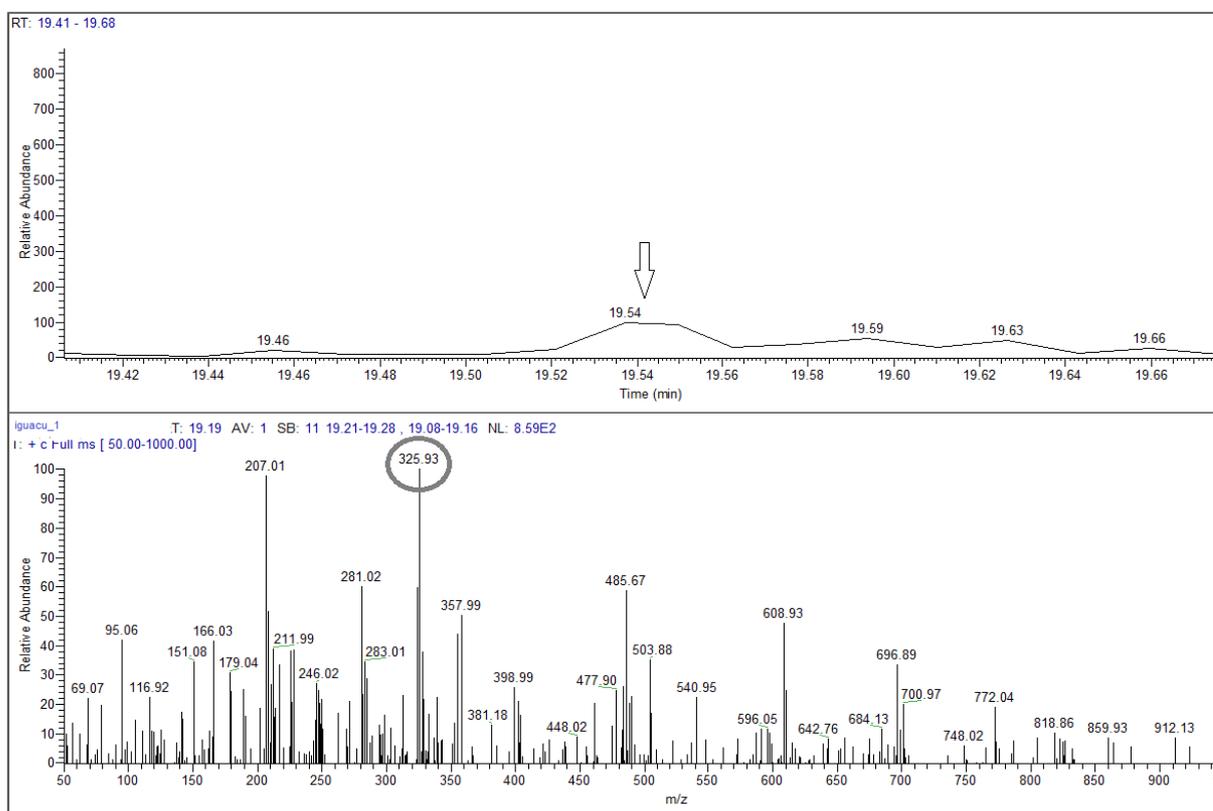


Figura 36: Cromatograma e espectro de massas do BDE-71 presente em amostra coletada no rio Barigui

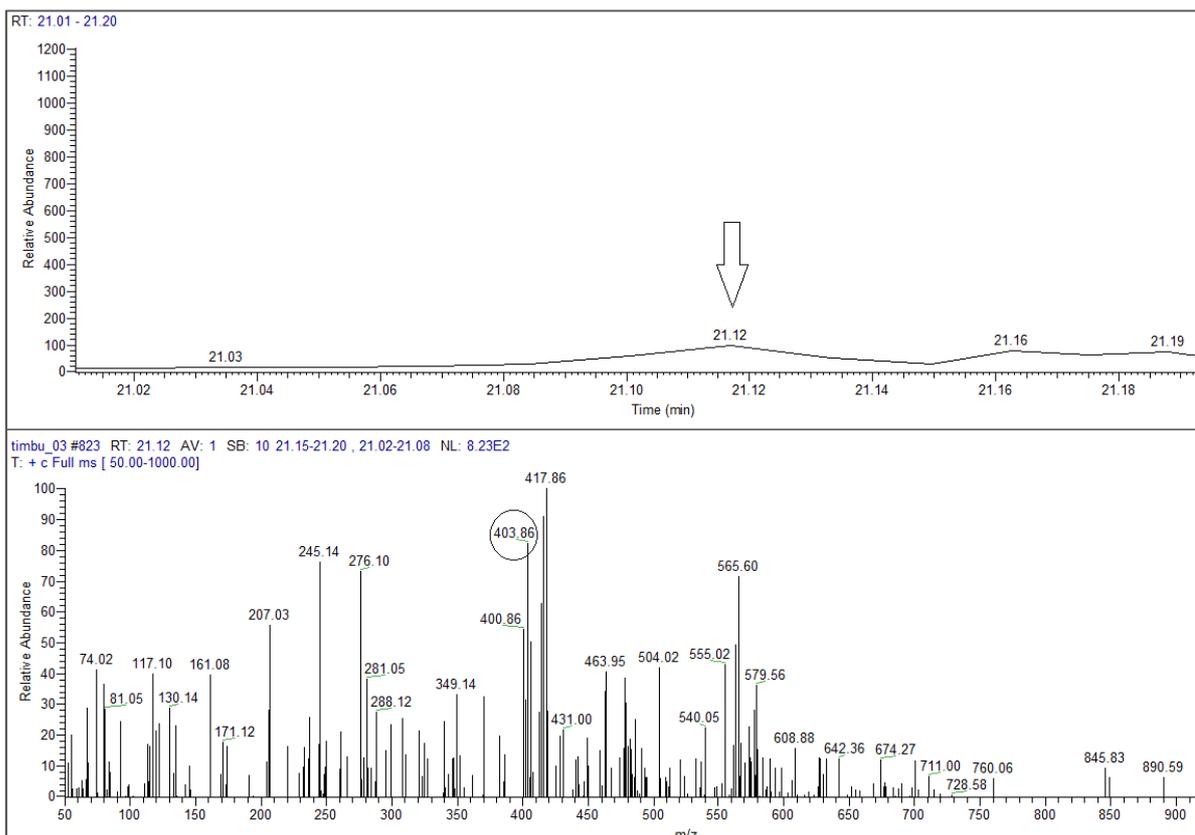


Figura 37: Cromatograma e espectro de massas do BDE-85 presente em amostra coletada no rio Timbu

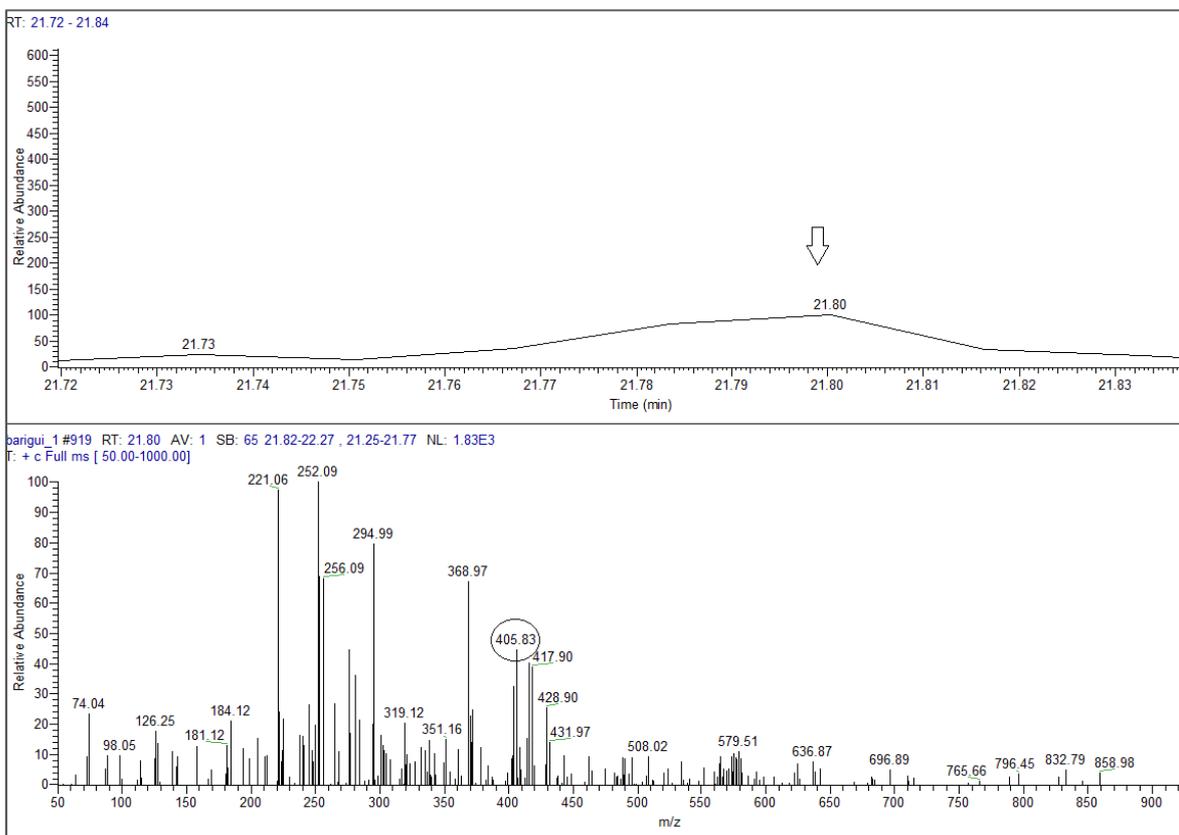


Figura 38: Cromatograma e espectro de massas do BDE-99 presente em amostra coletada no rio Iguaçu

Além disso, optou-se por fortificar 1,0 g de sedimento dos cinco corpos d'água (n=3) com 10 ng mL⁻¹ dos padrões de PBDE. Após o repouso de pelo menos 48 horas as amostras foram submetidas ao procedimento otimizado de acordo com este protocolo e calcularam-se os percentuais de recuperação, cujos valores variaram entre 68% e 111%, e seus respectivos desvios relativos entre 5% e 20%, conforme são mostrados na Figura 39.

Fontana e colaboradores (2010) desenvolveram e aplicaram um método analítico utilizando extração em banho ultrassônico seguido de *clean-up* com sílica e determinação por GC-MS/MS dos congêneres de PBDE BDE 47, BDE 99, BDE 100 E BDE 153 em sedimentos. O desempenho analítico do método permitiu obter coeficientes de variação entre 4,7% e 9,8%.

A faixa linear de 0,07 ng g⁻¹ a 1000 ng g⁻¹ e o coeficiente de correlação (R²) na ordem de 0,9991. Essas amostras foram coletadas no rio Mendoza, na Argentina, e foram determinadas concentrações entre 0,22 ng g⁻¹ a 0,32 ng g⁻¹ dos referidos congêneres Fontana et al. (2010). Cabe salientar que os valores de concentração encontrados por estes autores são da mesma ordem de grandeza daqueles determinados no presente trabalho.

Da mesma forma, Sanchez e colaboradores (2009) analisaram amostras de solo que foram coletadas em regiões próximas a aterros sanitários a fim de determinar a presença de PBDE. Para isso, utilizaram a extração assistida por ultrassom seguida de análise cromatográfica (GC-MS) e obtiveram recuperações entre 81% e 104% com variações entre 1% e 9%.

Os limites de detecção do método variaram entre 2 pg g⁻¹ e 30 pg g⁻¹ e os de quantificação de 7 pg g⁻¹ a 100 pg g⁻¹. A faixa linear foi de 0,01 ng g⁻¹ a 10,0 ng g⁻¹ com coeficiente de correlação igual ou superior a 0,997. Através do método proposto pelos autores, foi possível determinar nas amostras de solo níveis de concentração entre 1,3 ng g⁻¹ e 5,6 ng g⁻¹.

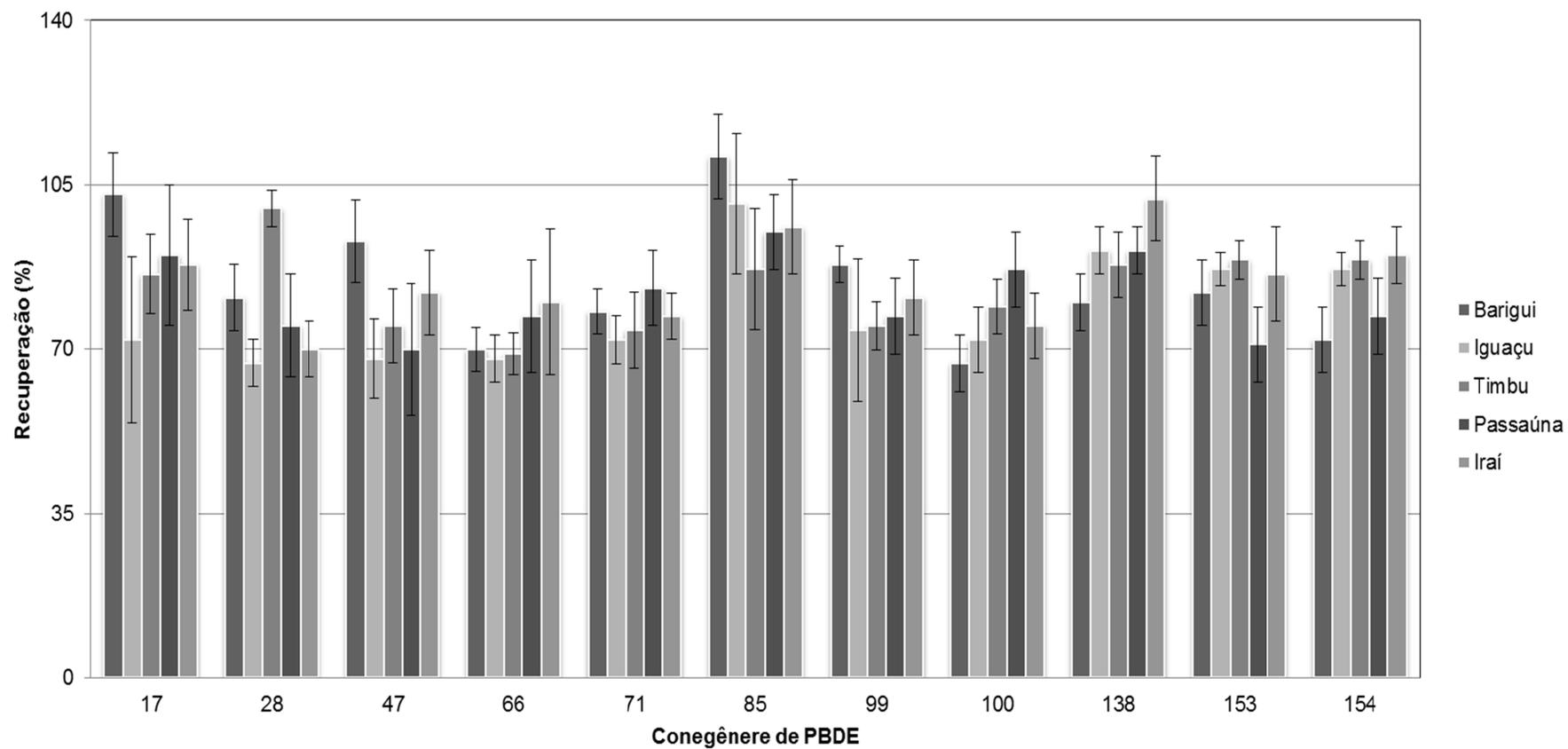


Figura 39: Gráfico de recuperação a partir da extração de amostras de sedimento fortificado com padrões de PBDE

6. CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

A realização do presente trabalho permitiu concluir que as condições experimentais empregadas nas etapas de extração por ultrassom e *clean-up* em escala reduzida para a determinação de PBDE, vão de encontro aos preceitos da Química Analítica Verde. Isso se deve ao fato de proporcionar uma diminuição significativa nas quantidades de reagentes quando comparado ao método 1614A proposto pela U.S. EPA, particularmente ao não utilizar a extração em sistema soxhlet.

Os ensaios de avaliação e validação do método demonstraram que a precisão obtida é adequada para a determinação destes compostos em sedimentos, sendo possível obter resultados com níveis satisfatórios de confiabilidade analítica.

Apesar dos baixos níveis detectados nas amostras coletadas em pontos no entorno da bacia Hidrográfica do Alto Iguaçu, a ubiquidade desta classe de retardantes de chama no ambiente, amplamente relatada na literatura, é uma questão que gera preocupação em relação à qualidade das águas, tanto do ponto de vista da proteção da vida aquática, quanto do abastecimento público.

Como consequência, os mananciais de abastecimento público localizados nesta bacia estão cada vez mais sujeitos ao aporte de produtos de origem antrópica, seja por redes de esgoto irregulares, supressão da mata ciliar de rios e reservatórios ou ainda pelo próprio funcionamento das cidades.

Nesse sentido, caso não sejam tomadas providências em relação à inclusão do monitoramento da qualidade de sedimentos de corpos aquáticos, por parte das empresas de saneamento e órgãos ambientais, bem como, em relação a questão de infraestrutura de saneamento básico e ao processo de urbanização envolvendo particularmente Curitiba e sua região metropolitana, em curto prazo, os níveis de poluição em rios e mananciais aumentarão significativamente acarretando em custos com o tratamento de água e afetando negativamente a vida aquática.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADGENT, M. A.; HOFFMAN, K.; GOLDMAN, B. D.; SJÖDIN, A.; DANIELS, J. L. Brominated flame retardants in breast milk and behavioural and cognitive development at 36 months. **Paediatric and perinatal epidemiology**, v. 28, n. 1, p. 48–57, 2014. Disponível em: <<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84890073486&partnerID=tZOtx3y1>>. Acesso em: 2/3/2014.

ALAEI, M.; WENNING, R. J. The significance of brominated flame retardants in the environment: current understanding, issues and challenges. **Chemosphere**, v. 46, n. 5, p. 579–82, 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11999783>>. .

ANTIGNAC, J.-P.; CARIOU, R.; ZALCO, D.; et al. Corrigendum to “Exposure assessment of French women and their newborn to brominated flame retardants: Determination of tri- to decapolybromodiphenylethers (PBDE) in maternal adipose tissue, serum, breast milk and cord serum” [Environ. Pollut. 157 (2009) . **Environmental Pollution**, v. 158, n. 9, p. 3012–3013, 2010. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749110002277>>. Acesso em: 25/1/2014.

ARNOLD, R. G.; TESKE, S.; TOMANEK, M.; et al. Fate of polybrominated diphenyl ethers during wastewater treatment/polishing and sludge stabilization/disposal. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1140, p. 394–411, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18991940>>. Acesso em: 19/12/2012.

AYDIN, M. E.; TOR, A.; OZCAN, S. Determination of selected polychlorinated biphenyls in soil by miniaturised ultrasonic solvent extraction and gas chromatography-mass-selective detection. **Analytica chimica acta**, v. 577, n. 2, p. 232–7, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17723677>>. Acesso em: 13/7/2013.

BERTOL, I.; VÁZQUEZ, E. V.; GONZÁLEZ, A. P.; et al. Sedimentos transportados pela enxurrada em eventos de erosão hídrica em um nitossolo háplico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 1, p. 245–252, 2010. Disponível em: <<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-77952826578&partnerID=tZOtx3y1>>. .

BICCHI, C.; SCHILIRÒ, T.; PIGNATA, C.; et al. Analysis of environmental endocrine disrupting chemicals using the E-screen method and stir bar sorptive extraction in wastewater treatment plant effluents. **The Science of the total environment**, v. 407, n. 6, p. 1842–51, 2009. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19101021>>. Acesso em: 7/12/2012.

BJÖRKLUND, J.; TOLLBÄCK, P.; HIÄRNE, C.; DYREMARK, E.; ÖSTMAN, C. Influence of the injection technique and the column system on gas chromatographic determination of polybrominated diphenyl ethers. **Journal of Chromatography A**, v. 1041, n. 1-2, p. 201–210, 2004. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967304006041>>. Acesso em: 14/6/2013.

BRASSEUR, C.; PIRARD, C.; SCHOLL, G.; et al. Levels of dechloranes and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in human serum from France. **Environment international**, v. 65, p. 33–40, 2014. Disponível em: <<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84892465905&partnerID=tZOtx3y1>>. Acesso em: 27/2/2014.

BROWN, T. **Química: Ciência Central**. 9ª ed. São Paulo: Pearson, 2008.

BSEF. **Deca-BDE Factsheet**. Bruxelas, 2012.

CARLSSON, P.; HERZKE, D.; KALLENBORN, R. Polychlorinated biphenyls (PCBs), polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and perfluorinated alkylated substances (PFASs) in traditional seafood items from western Greenland. **Environmental science and pollution research international**, p. 1–10, 2013. Disponível em:

<<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84891819304&partnerID=tZOtx3y1>>.
Acesso em: 2/3/2014.

CARREIRA, R. S.; RIBEIRO, P. V.; SILVA, C.; FARIAS, C. HIDROCARBONETOS E ESTEROIS COMO INDICADORES DE FONTES E DESTINO DE MATÉRIA ORGÂNICA EM SEDIMENTOS. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1805–1811, 2009.

CAVALCANTE, R. M.; LIMA, D. M. DE; CORREIA, L. M. Técnicas de extrações e procedimento de clean up para a determinação de HPA em sedimentos da costa do Ceará. **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1371–1377, 2008.

CHAO, H.-R.; TSOU, T.-C.; HUANG, H.-L.; CHANG-CHIEN, G.-P. Levels of breast milk PBDEs from southern Taiwan and their potential impact on neurodevelopment. **Pediatric research**, v. 70, n. 6, p. 596–600, 2011. Disponível em: <<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-80855130789&partnerID=tZOtx3y1>>. Acesso em: 2/3/2014.

COAKLEY, J. D.; HARRAD, S. J.; GOOSEY, E.; et al. Concentrations of polybrominated diphenyl ethers in matched samples of indoor dust and breast milk in New Zealand. **Environment international**, v. 59, p. 255–61, 2013. Disponível em: <<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84880257566&partnerID=tZOtx3y1>>. Acesso em: 2/3/2014.

COLLINS, C.; BRAGA, G.; BONATO, P. **Fundamentos de Cromatografia**. 4ª ed. Campinas: Unicamp, 2011.

COVACI, A.; VOORSPOELS, S.; DE BOER, J. Determination of brominated flame retardants, with emphasis on polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in environmental and human samples--a review. **Environment international**, v. 29, n. 6, p. 735–56, 2003. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12850093>>. Acesso em: 19/2/2013.

DASO, A. P.; FATOKI, O. S.; ODENDAAL, J. P. Occurrence of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and 2,2',4,4',5,5'-hexabromobiphenyl (BB-153) in water samples from the Diep River, Cape Town, South Africa. **Environmental science and pollution research international**, v. 20, n. 8, p. 5168–76, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23361180>>. Acesso em: 12/11/2013.

DECARLO, V. J. STUDIES ON BROMINATED CHEMICALS IN THE ENVIRONMENT . **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 320, n. 1, p. 678 – 681, 1979. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-6632.1979.tb56642.x>>. .

DUKAKIS, M. S. Environmental politics in post-World War II America. **Global Environmental Biotechnology**, v. 18, p. 1 – 4, 1996.

EQANI, S. A.-M.-A.-S.; MALIK, R. N.; MOHAMMAD, A. The level and distribution of selected organochlorine pesticides in sediments from River Chenab, Pakistan. **Environmental geochemistry and health**, v. 33, n. 1, p. 33–47, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20473634>>. Acesso em: 26/1/2014.

FELDMAN, D. International Plastics Flammability Handbook. **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, v. 29, n. 2, p. 292–292, 1991. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/pola.1991.080290222>>. Acesso em: 26/2/2013.

FERREIRA, V. R.; GOUVEIA, C. D.; SILVA, C. A. DA; FERNANDES, A. N.; GRASSI, M. T. Optimization of an analytical protocol for the extraction, fractionation and determination of aromatic and aliphatic hydrocarbons in sediments. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 8, p. 1460–1468, 2012. Brazilian Chemical Society. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532012000800008&lng=en&nrm=iso&tlng=en>. Acesso em: 2/3/2014.

FONTANA, A. R.; LANA, N. B.; MARTINEZ, L. D.; ALTAMIRANO, J. C. Talanta Ultrasound-assisted leaching-dispersive solid-phase extraction followed by liquid – liquid microextraction for the determination of polybrominated diphenyl ethers in sediment samples by gas chromatography – tandem mass spectrometry. **Talanta**, v. 82, n. 1, p. 359–366, 2010. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2010.04.050>>. .

FROEHNER, S.; MARTINS, F. AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE SEDIMENTOS DO RIO BARIGÜI NA REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA. **Química Nova**, v. 31, n. 8, p. 2020–2026, 2008.

GALUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z.; NAMIEŚNIK, J. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 50, p. 78–84, 2013. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165993613001234>>. Acesso em: 10/11/2013.

GAO, Y.; ZHANG, H.; CHEN, J.; et al. Optimized cleanup method for the determination of short chain polychlorinated n-alkanes in sediments by high resolution gas chromatography/electron capture negative ion-low resolution mass spectrometry. **Analytica chimica acta**, v. 703, n. 2, p. 187–93, 2011. Disponível em: <<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-80052265352&partnerID=tZOtx3y1>>. Acesso em: 3/4/2014.

GHISELLI, G.; JARDIM, W. F. Interferentes endócrinos no ambiente. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 695–706, 2007.

GUO, G. L. **Mechanism of PBDE uptake into the liver: PBDE congeners are substrates of human hepatic OATP transporters**. 2010.

HARRIS, D. **Análise Química Quantitativa**. 5^a ed. Rio de Janeiro: LTC, 2001a.

HARRIS, D. **Análise Química Quantitativa**. 5^a ed. Rio de Janeiro: LTC, 2001b.

JANSSON, B.; ASPLUND, L.; OLSSON, M. Brominated flame retardants - Ubiquitous environmental pollutants? **Chemosphere**, v. 16, n. 10-12, p. 2343–2349, 1987. Disponível em: <<http://www.scopus.com/scopus/inward/record.url?eid=2-s2.0-0023543429&partner=40&rel=R4.5.0>>. .

JUNG, J.; BAE, S.; LEE, L.; et al. Rapid identification of brominated flame retardants by using direct exposure probe mass spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 91, n. 1, p. 140–146, 2009. Elsevier B.V. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026265X0800115X>>. Acesso em: 12/11/2013.

KANZARI, F.; SYAKTI, A. D.; ASIA, L.; et al. Aliphatic hydrocarbons, polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated biphenyls, organochlorine, and organophosphorous pesticides in surface sediments from the Arc river and the Berre lagoon, France. **Environmental science and pollution research international**, v. 19, n. 2, p. 559–76, 2012. Disponível em: <<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84855993798&partnerID=tZOtx3y1>>. Acesso em: 3/4/2014.

KARICKHOFF, S. W. Semi-empirical estimation of sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments and soils. **Chemosphere**, v. 8, n. 8, p. 833 – 846, 1981.

KIERKEGAARD, A.; BJÖRKLUND, J.; FRIDÉN, U. Identification of the flame retardant decabromodiphenyl ethane in the environment. **Environmental science & technology**, v. 38, n. 12, p. 3247–53, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15260320>>. .

KIM, S.; PARK, J.; KIM, H.-J.; et al. Association between several persistent organic pollutants and thyroid hormone levels in serum among the pregnant women of Korea. **Environment international**, v. 59, p. 442–8, 2013. Disponível em:

<<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84881339515&partnerID=tZOtx3y1>>. Acesso em: 28/2/2014.

LAVANDIER, R.; QUINETE, N.; HAUSER-DAVIS, R. A.; et al. Polychlorinated biphenyls (PCBs) and Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) in three fish species from an estuary in the southeastern coast of Brazil. **Chemosphere**, v. 90, n. 9, p. 2435–43, 2013. Disponível em: <<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84872820991&partnerID=tZOtx3y1>>. Acesso em: 2/3/2014.

LEITE, N. F. **HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPAs) E BIFENILAS POLICLORADAS (PCBs) EM SEDIMENTOS: DESENVOLVIMENTO ANALÍTICO E DIAGNÓSTICO AMBIENTAL**, 2008. UFPR. Disponível em: <<http://dspace.c3sl.ufpr.br:8080//dspace/handle/1884/24148>>. .

LEITE, N. F.; PERALTA-ZAMORA, P.; GRASSI, M. T. Multifactorial optimization approach for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in river sediments by gas chromatography-quadrupole ion trap selected ion storage mass spectrometry. **Journal of chromatography. A**, v. 1192, n. 2, p. 273–81, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18406414>>. Acesso em: 29/1/2013.

LEITE, N. F.; PERALTA-ZAMORA, P.; GRASSI, M. T. Distribution and origin of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments from an urban river basin at the Metropolitan Region of Curitiba, Brazil. **Journal of Environmental Sciences**, v. 23, n. 6, p. 904–911, 2011. The Research Centre for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1001074210604962>>. Acesso em: 1/2/2013.

LENTERS, V.; THOMSEN, C.; SMIT, L. A. M.; et al. Serum concentrations of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and a polybrominated biphenyl (PBB) in men from Greenland, Poland and Ukraine. **Environment international**, v. 61, p. 8–16, 2013. Disponível em: <<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84884961703&partnerID=tZOtx3y1>>. Acesso em: 2/3/2014.

LI, D.; DONG, M.; SHIM, W. J.; KANNAN, N. Application of pressurized fluid extraction technique in the gas chromatography-mass spectrometry determination of sterols from marine sediment samples. **Journal of chromatography. A**, v. 1160, n. 1-2, p. 64–70, 2007. Disponível em: <<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-34447519043&partnerID=tZOtx3y1>>. Acesso em: 1/3/2014.

LIU, X.; HU, J.; HUANG, C.; WANG, H.; WANG, X. Determination of polybrominated diphenyl ethers in aquatic animal tissue using cleanup by freezing-dispersive liquid-liquid microextraction combined with GC-MS. **Journal of separation science**, v. 32, n. 23-24, p. 4213–9, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19924727>>. Acesso em: 11/6/2013.

MAIA, D.; DEZOTTI, M. Desreguladores Endócrinos no Meio Ambiente: Efeitos e Consequências. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 651–666, 2007.

MAN, Y. B.; LOPEZ, B. N.; WANG, H. S.; et al. Cancer risk assessment of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in former agricultural soils of Hong Kong. **Journal of hazardous materials**, v. 195, p. 92–9, 2011. Disponível em: <<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-80054098148&partnerID=tZOtx3y1>>. Acesso em: 2/3/2014.

MARIOTTINI, M.; CORSI, I.; DELLA TORRE, C.; et al. Biomonitoring of polybrominated diphenyl ether (PBDE) pollution: a field study. **Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology: CBP**, v. 148, n. 1, p. 80–6, 2008. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18485829>>. Acesso em: 19/2/2013.

MATSUNO, Y.; KAWASHIRO, Y.; FUKATA, H.; TAKIGAMI, H.; NAKAOKA, H. Concentrations of brominated flame retardants in Japanese human blood. , p. 207–210, 2007.

MCNAIR, H.; MILLER, J. **Basic Gas Chromatography**. 2a. ed. Nova York: Wiley, 2009.

METCALFE, C. D.; KLEYWEGT, S.; LETCHER, R. J.; et al. A multi-assay screening approach for assessment of endocrine-active contaminants in wastewater effluent samples. **The Science of the total environment**, v. 454-455, p. 132–40, 2013. Disponível em: <<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84875764042&partnerID=tZOtx3y1>>. Acesso em: 2/3/2014.

MIALL, A. D. A review of the braided-river depositional environment. **Earth-Science Reviews**, v. 13, n. 1, p. 1–62, 1977. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0012825277900551>>. .

MÖLLER, A.; XIE, Z.; STURM, R.; EBINGHAUS, R. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and alternative brominated flame retardants in air and seawater of the European Arctic. **Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)**, v. 159, n. 6, p. 1577–83, 2011. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21421283>>. Acesso em: 25/1/2014.

MORI, M. Environmental pollution and bio-politics: The epistemological constitution in Japan's 1960s. **Geoforum**, v. 39, n. 3, p. 1466–1479, 2008. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016718508000092>>. Acesso em: 25/1/2014.

MULDER, T.; ALEXANDER, J. A. N. The physical character of subaqueous sedimentary density flow and their deposits. **Sedimentology**, v. 48, p. 269 – 299, 2001.

OHE, T.; WATANABE, T.; WAKABAYASHI, K. Mutagens in surface waters: a review. **Mutation research**, v. 567, n. 2-3, p. 109–49, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15572284>>. Acesso em: 31/1/2013.

PESTANA, C. R.; BORGES, K. B.; FONSECA, P.; OLIVEIRA, D. P. DE. Risco ambiental da aplicação de éteres de difenilas polibromadas como retardantes de chama. **Brazilian Journal of Toxicology**, v. 21, n. 5, p. 41 – 48, 2008.

RAHMAN, F.; LANGFORD, K. H.; SCRIMSHAW, M. D.; U, J. N. L. Polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants. **Science of the Total Environment**, v. 275, p. 1 – 17, 2001.

RENNER, R. What Fate for Brominated Fire Retardants? **Environmental science & technology**, p. 222 – 226, 2000.

RICHMAN, L. A.; KOLIC, T.; MACPHERSON, K.; FAYEZ, L.; REINER, E. Polybrominated diphenyl ethers in sediment and caged mussels (*Elliptio complanata*) deployed in the Niagara River. **Chemosphere**, v. 92, n. 7, p. 778–86, 2013. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23648331>>. Acesso em: 25/1/2014.

SALIHVIC, S.; NILSSON, H.; HAGBERG, J.; LINDSTRÖM, G. Trends in the analysis of persistent organic pollutants (POPs) in human blood. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 46, p. 129–138, 2013.

SCHUHMACHER, M.; KIVIRANTA, H.; RUOKOJÄRVI, P.; NADAL, M.; DOMINGO, J. L. Levels of PCDD/Fs, PCBs and PBDEs in breast milk of women living in the vicinity of a hazardous waste incinerator: assessment of the temporal trend. **Chemosphere**, v. 93, n. 8, p. 1533–40, 2013. Disponível em: <<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84885919500&partnerID=tZOtx3y1>>. Acesso em: 2/3/2014.

SCHWARZENBACH, R. P.; ESCHER, B. I.; FENNER, K.; et al. The challenge of micropollutants in aquatic systems. **Science**, v. 313, n. 5790, p. 1072–1077, 2006. American Association for the Advancement of Science. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16931750>>. .

SEMA. **Bacias Hidrográficas do Paraná**. 1^a ed. Curitiba: Secretaria Estadual do Meio Ambiente do Estado do Paraná, 2010.

SKOOG, D.; WEST, D.; HOLLER, J.; CROUCH, S. **Fundamentos de Química Analítica**. 8^a ed. São Paulo: Cengage Learning, 2009.

STAPLETON, H. M. Instrumental methods and challenges in quantifying polybrominated diphenyl ethers in environmental extracts : a review. , p. 807–817, 2006.

SUÁREZ, M.; GONZÁLEZ, P.; DOMÍNGUEZ, R.; et al. Identification of organic compounds in San Diego de los Baños Peloid (Pinar del Río, Cuba). **Journal of alternative and complementary medicine (New York, N.Y.)**, v. 17, n. 2, p. 155–65, 2011. Disponível em: <<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-79952014526&partnerID=tZOtx3y1>>. Acesso em: 8/2/2014.

TAVERNA, L. **Protocolo Analítico em Escala Reduzida para Determinação de n-Alcanos, HPA e Esteróis em Sedimentos e Diagnóstico Ambiental Preliminar**, 2011. UFPR.

TITTEMIER, S. A.; HALLDORSON, T.; STERN, G.; TOMY, G. Vapor pressures, aqueous solubilities, and henry's law constants of some brominated flame retardants. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 21, n. 9, p. 1804–1810, 2002.

TOMS, L.-M. L.; GUERRA, P.; ELJARRAT, E.; et al. Brominated flame retardants in the Australian population: 1993-2009. **Chemosphere**, v. 89, n. 4, p. 398–403, 2012. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22748388>>. Acesso em: 10/6/2013.

USEPA. **TOXICOLOGICAL REVIEW OF POLYBROMINATED DIPHENYL ETHER**. Washington, DC, 2008.

VAGULA, M. C.; VARTAK, M.; TALLMADGE, W. GC-MS analysis of polybrominated diphenyl ethers in Lake Erie. , v. 8371, p. 83711G–83711G–6, 2012. Disponível em: <<http://proceedings.spiedigitallibrary.org/proceeding.aspx?doi=10.1117/12.918810>>. Acesso em: 10/1/2013.

VONDERHEIDE, A. P.; MUELLER, K. E.; MEIJA, J.; WELSH, G. L. Polybrominated diphenyl ethers: causes for concern and knowledge gaps regarding environmental distribution, fate and toxicity. **The Science of the total environment**, v. 400, n. 1-3, p. 425–36, 2008. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969708005111>>. Acesso em: 25/1/2014.

WANG, D.; CAI, Z.; JIANG, G.; et al. Determination of polybrominated diphenyl ethers in soil and sediment from an electronic waste recycling facility. **Chemosphere**, v. 60, n. 6, p. 810–6, 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.04.025>>. Acesso em: 16/1/2013.

WANG, Z.; YANG, C.; KELLY-HOOPER, F.; et al. Forensic differentiation of biogenic organic compounds from petroleum hydrocarbons in biogenic and petrogenic compounds cross-contaminated soils and sediments. **Journal of chromatography. A**, v. 1216, n. 7, p. 1174–91, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19131067>>. Acesso em: 30/1/2014.

WASSWA, J.; KIREMIRE, B. T.; NKEDI-KIZZA, P.; MBABAZI, J.; SSEBUGERE, P. Organochlorine pesticide residues in sediments from the Uganda side of Lake Victoria. **Chemosphere**, v. 82, n. 1, p. 130–6, 2011. Elsevier Ltd. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20947127>>. Acesso em: 26/1/2014.

WHEATLEY, A.; SADHRA, S. Carcinogenic risk assessment for emissions from clinical waste incineration and road traffic. **International journal of environmental health research**, v. 20, n. 5, p. 313–27, 2010. Disponível em: <<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-77956942307&partnerID=tZOtx3y1>>. Acesso em: 2/3/2014.

DE WIT, C. A. **An overview of brominated flame retardants in the environment**. 2002.

ZHENG, J.; CHEN, K.-H.; LUO, X.-J.; et al. Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) in paired human hair and serum from e-waste recycling workers: source apportionment of hair PBDEs and relationship between hair and serum. **Environmental science & technology**, v. 48, n. 1, p. 791–6, 2014. Disponível em: <<http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84891788372&partnerID=tZOtx3y1>>. Acesso em: 2/3/2014.

ZHU, L.; MA, B.; LIANG, X. Quantitative analysis of polybrominated diphenyl ethers in earthworms and soil by gas chromatography coupled to ion-trap tandem mass spectrometry. , p. 394–400, 2008.