



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA**

Gabriel Luiz dos Santos

**DETERMINAÇÃO MULTIELEMENTAR E ANÁLISE DE
ESPECIAÇÃO DE VANÁDIO EM AMOSTRAS AMBIENTAIS DA
BAÍA DE TODOS OS SANTOS, BAHIA, BRASIL, POR TÉCNICAS
ESPECTROMÉTRICAS**

Salvador
2013

Gabriel Luiz dos Santos

**DETERMINAÇÃO MULTIELEMENTAR E ANÁLISE DE
ESPECIAÇÃO DE VANÁDIO EM AMOSTRAS AMBIENTAIS DA
BAÍA DE TODOS OS SANTOS, BAHIA, BRASIL, POR TÉCNICAS
ESPECTROMÉTRICAS**

**Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Química da Universidade Federal da
Bahia como parte dos requisitos para obtenção do título
de Doutor em Química.**

Orientadora: Profa. Dra. Maria das Graças Andrade Korn

Salvador
2013

*A vida nem sempre segue a nossa vontade,
mas ela é perfeita naquilo que deve ser.*

Chico Xavier

IN MEMORIAM

Dedico esta tese ao grande amor da minha vida! À minha primeira educadora, orientadora e amiga. Infelizmente não estarás presente neste momento da maneira que sonhei, sinto até hoje muitas saudades da pessoa que sempre me apoiou, protegeu e deu muito amor e carinho. Nesses quase dois anos de separação, ainda lembro todos os dias, das últimas palavras que me dissestes antes de ficar inconsciente: “**Eu te Amo**”. Sei muito bem que não poderia te manter presa ao meu lado, pois sua jornada estava se completando naquele momento. Entender eu até entendo, entretanto, infelizmente ainda não tive a capacidade de aceitar essa nossa separação. Penso em ti várias vezes ao dia, as lágrimas caem involuntariamente dos meus olhos. O que me ajuda até hoje a fugir da minha tristeza é fazer o que a senhora sempre soube realizar com perfeição e que herdei de ti: “Fazer as pessoas sorrirem”!

Sei que um dia iremos nos reencontrar novamente, e neste dia vou correr a teu encontro para dizer a frase mais linda do mundo quando dita do fundo do coração: EU TE AMO!! Que Deus te ilumine em sua jornada no plano espiritual.

É para você minha querida mãe:

Silvia Lesniak Santos

Agradecimentos

- Primeiramente a Deus que sempre me deu forças para seguir o meu caminho e a todos os bons espíritos que sempre me ajudaram nos momentos mais difíceis;
- Aos meus queridos pais, João e Silvia, que me deram educação, amor e confiança necessária para alcançar mais um objetivo na minha vida;
- Aos meus dois irmãos André Luiz e Priscilla Crhistina pela paciência e apoio durante toda a minha trajetória acadêmica;
- Aos meus queridos e amados avós (Chico e Hilda), que mesmo de longe, torcem, rezam e vibram sempre por mim;
- Ao meu “filho” Luiz Otávio Ramos Gavaza (PEU), pessoa essa muito especial e que tenho o prazer de chamar de AMIGO!
- À minha orientadora Prof. Dra. Maria das Graças Andrade Korn pela amizade, paciência na correção da minha tese, pela direção a seguir no desenvolvimento do meu trabalho e na minha vida acadêmica;
- Meus agradecimentos sinceros àqueles que me apoiaram durante esse período do doutorado: Andrea Fernandes; Cristiane Neves, Fernanda Alves, Flávia Lomba, Geraldo Matos, Geovani Brandão, Geysa Brito, Jorge Almeida, José Tiago, Laiana Bastos e Milena Pinelli;
- À Isa Barbosa por toda colaboração para com o meu trabalho de doutorado!
- Ao Professor Joaquim Nóbrega por disponibilizar toda a infraestrutura laboratorial para a realização de parte do meu trabalho e me conceder a oportunidade de conhecer o maravilhoso grupo GAIA;
- À Professora Dra. Marlene C. Peso-Aguiar e a todos os pesquisadores do LAMEB, por toda contribuição para com a realização deste trabalho.

- A todos os amigos que conheci no Grupo GAIA, em especial aos amigos: George Donati, Silmara Bianchi e Luana Novaes (GPQA agora, hehehe)!
- Ao amigo Marcos Yukio Kussuda, o qual me recebeu muito bem em sua residência na cidade de São Carlos, por suas valorosas conversas e conhecimentos.
- Aos saudosos companheiros de Laboratório: Mauro Guida e Lilia Bispo, que Deus ilumine o caminho de vocês na vida espiritual;
- A todos os integrantes da Família GPQA;
- A todos os colegas do grupo GRPQQ;
- Ao IKARIAM por todos os momentos de descontração e relaxamento;
- A CNPq pela bolsa concedida durante o curso de doutorado;
- À FAPESB e a Petrobrás
- Ao Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal da Bahia, pela grande oportunidade;
- Aos membros da comissão Examinadora deste trabalho, os quais vão contribuir, e muito, para a elaboração final desta tese;
- A todos os funcionários do Instituto de Química da UFBA, em especial a TITIO e a Dona MARGARIDA;
- A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização de mais uma vitória em minha vida.

Obrigado!!!

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Esquema representativo das entradas de metais nos oceanos..... | 27 |
| Figura 2. Moluscos bivalves (a) forma, (b) valvas..... | 30 |
| Figura 3. <i>Macoma constricta</i> | 33 |
| Figura 4. (a) Espécie <i>Macoma constricta</i> totalmente enterrada em seu habitat natural; (b) Variações na posição do sifão em torno da abertura de inalação. As setas indicam os sentidos das correntes inalantes e exalantes. | 34 |
| Figura 5. <i>Macoma constricta</i> . Cavidade do manto vista do lado esquerdo do animal após a remoção da valva à esquerda; o lóbulo esquerdo do manto foi dobrado para expor o órgão sifonal unilateral..... | 35 |
| Figura 6. Mapa da Baía de Todos os Santos, Bahia, Brasil..... | 36 |
| Figura 7. (a) Gaiolas para captura de Lagostas, (b) Mariscagem, (c) Rede Linxeira para captura de peixes e (d) Pesca com tarrafa..... | 38 |
| Figura 8. Esquema de um instrumento de ICP-MS e sistemas de introdução da amostra no plasma. As linhas pontilhadas representam a amostra introduzida na forma de vapor e a linha cheia na forma de aerossol..... | 41 |
| Figura 9. Esquema de uma tocha, constituída de três tubos concêntricos, acoplada a uma bobina de indução de um gerador de radiofrequência..... | 43 |
| Figura 10. Espectro de massa da água desionizada de massa 40 a massa 85..... | 44 |
| Figura 11. Esquema da tocha e interface do ICP-MS..... | 46 |

| | |
|---|----|
| Figura 12. Processos de colisão e discriminação de energia cinética..... | 47 |
| Figura 13. Mapa de distribuição dos pontos de coletas de sedimentos ao longo da BTS..... | 50 |
| Figura 14. (a) Marcas de identificação da presença da espécie <i>Macoma constricta</i> ; (b) Procedimento de coleta..... | 51 |
| Figura 15. Liofilizador utilizado para tratamento das amostras de moluscos bivalves..... | 52 |
| Figura 16. Moinho de bolas utilizado para moagem das amostras de moluscos bivalves..... | 53 |
| Figura 17. Forno de micro-ondas com cavidade utilizado na digestão das amostras de moluscos bivalves..... | 54 |
| Figura 18. Espectrômetro de massa com fonte de plasma (Equipamento 1)..... | 55 |
| Figura 19. Espectrômetro de massa com fonte de plasma (Equipamento 2)..... | 57 |
| Figura 20. Repetibilidade para As, Cr, Ni, Se e V no modo padrão (Equipamento 1)..... | 63 |
| Figura 21. Repetibilidade para As, Cr, Ni, Se e V no modo CCT-KED (Equipamento 1)..... | 64 |
| Figura 22. Repetibilidade para As, Cr, Ni, Se e V utilizando ICP-MS (Equipamento 2) com He 80 mL min ⁻¹ | 69 |
| Figura 23. Concentração em peso seco de Ni e V em amostras de molusco da espécie <i>Macoma constricta</i> na região da BTS no período seco em 2010..... | 72 |
| Figura 24. Concentração em peso seco de Ni e V em amostras de molusco da espécie <i>Macoma constricta</i> na região da BTS no período chuvoso em 2011..... | 73 |
| Figura 25. Formas de apresentação do vanádio em processos industriais | |

| | |
|--|-----|
| (a) Folhas metálicas (b) Grânulos (c) Barras de aço contendo Vanádio..... | 98 |
| Figura 26. Principais vias de absorção, distribuição e excreção de compostos de vanádio..... | 102 |
| Figura 27. Principais processos envolvendo metais traços no meio ambiente..... | 104 |
| Figura 28. Mapa de distribuição dos pontos de coletas de sedimentos ao longo da BTS..... | 106 |
| Figura 29. Banho de areia para extração de V(V) em amostras de sedimento..... | 110 |
| Figura 30. Curvas analíticas preparadas em meio de solução de ácido nítrico diluído e em meio de solução de Na_2CO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para a linha V II 292,401 nm..... | 114 |
| Figura 31. Curvas analíticas preparadas em meio de solução de ácido nítrico diluído e em meio de solução de Na_2CO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para a linha V II 309,310 nm..... | 114 |
| Figura 32. Curvas analíticas preparadas em meio de solução de ácido nítrico diluído e em meio de solução de Na_2CO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para a linha V II 311,837 nm..... | 115 |
| Figura 33. Distribuição de V(V) na primeira campanha em 2010 e na segunda campanha em 2011 nas amostras de sedimentos em diferentes partes da BTS..... | 120 |
| Figura 34. Distribuição de V(V) e Vanádio Total na primeira campanha em 2010 nas amostras de sedimentos em diferentes regiões da BTS..... | 121 |
| Figura 35. Distribuição de V(V) e Vanádio Total na segunda campanha em 2011 nas amostras de sedimentos em diferentes regiões da BTS..... | 122 |
| Figura 36. Comparação da distribuição de V(V), V(IV) e Vanádio Total contidos nos sedimentos entorno da BTS na primeira campanha em 2010 (período seco)..... | 123 |

Figura 37. Comparação da distribuição de V(V), V(IV) e Vanádio Total contidos nos sedimentos entorno da BTS na segunda campanha em 2011 (período chuvoso)..... 124

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Programa de aquecimento do forno de micro-ondas com cavidade para digestão de amostras de moluscos bivalves..... | 54 |
| Tabela 2. Condições operacionais do ICP-MS (Equipamento 1)..... | 56 |
| Tabela 3. Condições operacionais do ICP-MS (Equipamento 2)..... | 57 |
| Tabela 4. Relação do coeficiente de correlação e equação de calibração dos analitos por ICP-MS (n=3)..... | 62 |
| Tabela 5. Figuras de mérito para a calibração: LOD (Limite de detecção) e LOQ (Limite de quantificação) expressos em $\mu\text{g g}^{-1}$ para o Equipamento 1..... | 62 |
| Tabela 6. Determinação de $^{75}\text{As}^+$, $^{52}\text{Cr}^+$, $^{53}\text{Cr}^+$, $^{60}\text{Ni}^+$, $^{78}\text{Se}^+$, $^{80}\text{Se}^+$, $^{82}\text{Se}^+$ e $^{51}\text{V}^+$ ($\mu\text{g g}^{-1}$, média \pm Intervalo de confiança, n=3) em materiais de referência certificados usando ICP-MS (Equipamento 1)..... | 65 |
| Tabela 7. Condições otimizadas para As, Cr, Ni, Se e V no modo normal e CRI no ICP-MS (Equipamento 2)..... | 67 |
| Tabela 8. Determinação de $^{75}\text{As}^+$, $^{52}\text{Cr}^+$, $^{58}\text{Ni}^+$, $^{77}\text{Se}^+$ e $^{51}\text{V}^+$ ($\mu\text{g g}^{-1}$, média \pm Intervalo de confiança, n=3) em materiais de referência certificados usando ICP-MS (Equipamento 2)..... | 67 |
| Tabela 9. Limites de detecção e quantificação para As, Cr, Ni, Se e V utilizando ICP-MS (Equipamento 2) com He 80 mL min^{-1} | 68 |
| Tabela 10. Relação do coeficiente de correlação e equação de calibração dos analitos por ICP-MS (Equipamento 2) (n=3)..... | 70 |
| Tabela 11. Comparação entre os equipamentos 1 e 2 na quantificação de As, Cr, Ni, Se e V na Amostra 1 de molusco bivalve..... | 71 |
| Tabela 12. Comparação entre os equipamentos 1 e 2 na quantificação de As, Cr, Ni, Se e V na Amostra 2 de molusco bivalve..... | 71 |

| | |
|---|-----|
| Tabela 13. Resultados obtidos na determinação de As, Cr e Se em mariscos da espécie <i>Macoma constricta</i> ao longo da BTS em $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido)..... | 76 |
| Tabela 14. Propriedades físico-químicas do vanádio..... | 97 |
| Tabela 15. Produto de vanádio como subproduto..... | 99 |
| Tabela 16. Programa de aquecimento do forno de micro-ondas com cavidade..... | 108 |
| Tabela 17. Parâmetros instrumentais para as medidas de V(V) por ICP OES axial..... | 111 |
| Tabela 18. Valores obtidos para o LOD e LOQ em $\mu\text{g L}^{-1}$ e mg kg^{-1} com detecção por ICP OES..... | 116 |
| Tabela 19. Média, desvio padrão (SD) e CV das soluções dos extratos de sedimentos..... | 119 |
| Tabela 20. Taxa de recuperação (%) para V(V) em quatro níveis de concentração, em amostras de sedimentos..... | 120 |
| Tabela 21. Recuperação para o V_{Total} , V(IV) e V(V) em CRM..... | 121 |
| Tabela 22. Concentração de Vanádio Total e V(V) em amostras de sedimentos da BTS..... | 123 |

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

BEC: Concentração equivalente ao sinal de fundo (do inglês: *Background equivalent concentration*).

BTS: Baía de Todos os Santos.

CG-MS: Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (do inglês: *Gas chromatography mass spectrometry*).

CIA: Centro Industrial de Aratú.

COPEC: Complexo Petroquímico de Camaçari.

CQR: Companhia Química de Camaçari.

CRC: Cella de reação e colisão (do inglês: *Collision and reaction cell*).

CRI: Interface de reação e colisão (do inglês: *Collision and reaction interface*).

CRM: Material de referência certificado (do inglês: *Certified reference materials*).

CV: Coeficiente de variação.

DNA: Ácido desoxirribonucléico (do inglês: *Deoxyribonucleic acid*).

DRC: Cella dinâmica de reação (do inglês: *Dynamic reaction cell*).

EPA: Agência de Proteção Ambiental (do inglês: *Environmental Protection Agency*).

FAAS: Espectrometria de absorção atômica em chama (do inglês: *Flame atomic absorption spectrometry*).

FDA: Administração de alimentos e medicamentos (do inglês: *Food and Drugs Administration*).

GF AAS: Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (do inglês: *Graphite furnace atomic absorption spectrometry*).

HPLC: Cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês: *High performance liquid chromatography*).

ICP-MS: Espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (do inglês: *Inductively coupled plasma mass spectrometry*).

ICP OES: Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (do inglês: *Inductively coupled plasma optical emission spectrometry*).

INAA: Análise por ativação por nêutron instrumental (do inglês: *Instrumental neutron activation analysis*).

INMETRO: Instituto nacional de metrologia, normalização e qualidade industrial.

IUPAC: União internacional de química pura e aplicada (do inglês: *International union of pure and applied chemistry*).

KED: Discriminação por energia cinética (do inglês: *Kinetic energy discrimination*).

LOD: Limite de detecção (do inglês: *Limit of detection*).

LOQ: Limite de quantificação (do inglês: *Limit of quantification*).

LT: Limite de tolerância.

m/z: Razão massa/carga

NIST: Instituto nacional de padrões e tecnologia (do inglês: *National institute of Standards and technology*).

ppb: parte por bilhão (do inglês: *parts per billion*).

RMS: Região metropolitana de Salvador.

RSD: Desvio padrão relativo (do inglês: *Relative standard deviation*).

RESUMO

O presente trabalho realizado em amostras coletadas na Baía de Todos os Santos, Bahia, Brasil, propõe estratégias para determinação multielementar e análise de especiação de vanádio em amostras de moluscos bivalves e sedimentos, empregando ICP OES e ICP-MS. Na primeira parte da tese, foram avaliadas as potencialidades de dois espectrômetros de massa com plasma indutivamente acoplado para determinação de As, Cr, Ni, Se e V em amostras de moluscos bivalves. Para efeito de comparação, três materiais de referência certificados (CRM) foram analisados: NIST 1566b SRM *Oyster tissue*, NRCC TORT-2 *Lobster Hepatopancreas* e NIST 2977 SRM *Mussel tissue*. A condição recomendada, que consistiu na determinação no modo padrão com adição de padrão interno, foi aplicada na determinação dos analitos em amostras de *Macoma constricta* coletadas em diferentes regiões da BTS. Os resultados apontaram que a maioria dos níveis de As, Cr, Ni, Se e V presentes na espécie *Macoma constricta* apresentaram valores acima dos níveis estabelecidos pela legislação vigente brasileira que são: 1,0 (As); 0,1 (Cr); 5,0 (Ni); 0,3 (Se) e 0,77 (V) $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido), o que representa risco à população e ao ecossistema. Na segunda parte da tese, foram investigadas as condições para a análise de especiação de vanádio em amostras de sedimentos, empregando extração alcalina e determinação por ICP OES. A concentração de V(IV) foi determinada por diferença, considerando a determinação de vanádio total, também realizada por ICP OES, após digestão das amostras com ácido nítrico em forno de micro-ondas com cavidade, usando o procedimento EPA 3051A. O procedimento foi validado através de testes de adição e recuperação e de análise do seguinte material de referência certificado: NIST 2702 (*Inorganics in marine sediment*). Pelos resultados obtidos pode-se concluir que os compostos contendo V(IV) são mais dominantes nas amostras dos sedimentos analisados.

Palavras Chaves: Moluscos bivalves, ICP-MS, Especiação, Vanádio, BTS.

ABSTRACT

The present work conducted on samples collected in Todos os Santos Bay, Bahia, Brasil, proposes strategies for multielement determination and speciation analysis of vanadium in bivalve molluscs and sediments samples, using ICP OES and ICP-MS. In the first part of the thesis, the potential of two inductively coupled plasma mass spectrometers for determination of As, Cr, Ni, Se and V in bivalve molluscs samples were evaluated. For comparison, three certified reference materials (CRM) were analyzed: NIST 1566b SRM *Oyster tissue*, NRCC TORT-2 *Lobster Hepatopancreas* e NIST 2977 SRM *Mussel tissue*. The recommended condition, which consisted in determining the standard mode with addition of internal standard, was applied in the determination of analytes in samples of *Macoma constricta* collected in different regions of the BTS. The results showed that most levels of As, Cr, Ni, Se and V present in the species *Macoma constricta* have values above the levels established by the Brazilian legislation, that are: 1.0 (As); 0.1 (Cr); 5.0 (Ni); 0.3 (Se) and 0.77 (V) $\mu\text{g g}^{-1}$ (wet weight), which represents risk to the population and the ecosystem. In the second part of the thesis, the conditions for speciation analysis of vanadium in soil and sediment samples were investigated, using alkaline extraction and determining by ICP OES. The V (IV) concentration was determined by difference, considering the total vanadium determination, also performed by ICP OES, after the samples digestion with nitric acid in cavity microwave oven, using the procedure EPA 3051A. The procedure was validated through addition and recovery tests and analysis of the following certified reference material: NIST 2702 (*Inorganics in marine sediment*). From the obtained results it can be concluded that compounds containing V (IV) are majority in the sediment samples analyzed.

Keywords: Bivalve molluscs, ICP-MS, Speciation, Vanadium, TSB.

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| Apresentação..... | 21 |
| 1- Capítulo 1. Avaliação das potencialidades de dois espectrômetros de massa com plasma indutivamente acoplado na determinação de elementos traço em amostras de moluscos bivalves..... | 22 |
| 1.1 Introdução..... | 23 |
| 1.2 Objetivo Geral..... | 25 |
| 1.2.1 Objetivos Específicos..... | 25 |
| 1.3 Revisão Bibliográfica..... | 26 |
| 1.3.1 Poluição do ambiente marinho..... | 26 |
| 1.3.2 Metais e o Meio Ambiente..... | 27 |
| 1.3.3 Moluscos bivalves..... | 29 |
| 1.3.4 <i>Macoma constricta</i> | 32 |
| 1.3.5 Área de Estudo: Baía de Todos os Santos..... | 35 |
| 1.3.6 Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS)..... | 40 |
| 1.4 Procedimento Experimento..... | 49 |
| 1.4.1 Coleta das amostras de moluscos da espécie <i>Macoma constricta</i> | 49 |
| 1.4.2 Metodologia de coleta e procedimento no laboratório..... | 49 |
| 1.4.3 Reagentes e Soluções..... | 51 |
| 1.4.4 Preparo das amostras..... | 52 |
| 1.4.4.1 Liofilização..... | 52 |
| 1.4.4.2 Homogeneização..... | 53 |
| 1.4.4.3 Digestão em forno de microondas com cavidade..... | 53 |
| 1.4.5 Descrição do Equipamento 1..... | 54 |

| | | |
|---------|---|----|
| 1.4.6 | Descrição do Equipamento 2..... | 56 |
| 1.4.7 | Validação do Método..... | 58 |
| 1.4.7.1 | Linearidade e Faixa de Trabalho..... | 58 |
| 1.4.7.2 | Precisão..... | 59 |
| 1.4.7.3 | Limite de detecção (LOD) e Limite de Quantificação (LOQ)..... | 59 |
| 1.4.7.4 | Exatidão..... | 60 |
| 1.5 | Resultados e Discussão..... | 60 |
| 1.5.1 | Resultados obtidos utilizando ICP-MS (Equipamento 1)..... | 61 |
| 1.5.1.1 | Linearidade e Faixa Linear de Trabalho..... | 61 |
| 1.5.1.2 | Limite de Detecção e Quantificação | 62 |
| 1.5.1.3 | Precisão..... | 63 |
| 1.5.1.4 | Exatidão..... | 64 |
| 1.5.2 | Resultados obtidos utilizando ICP-MS (Equipamento 2)..... | 66 |
| 1.5.2.1 | Exatidão..... | 67 |
| 1.5.2.2 | Limite de detecção e quantificação..... | 68 |
| 1.5.2.3 | Precisão..... | 68 |
| 1.5.2.4 | Linearidade e Faixa de Trabalho..... | 69 |
| 1.5.3 | Comparação entre o Equipamento 1 e o Equipamento 2 na determinação de As, Cr, Ni, Se e V em amostras de molusco da espécie <i>Macoma constricta</i> | 70 |
| 1.5.4 | Determinação de Níquel e Vanádio no molusco bivalve <i>Macoma constricta</i> por ICP-MS..... | 72 |
| 1.5.5 | Determinação por ICP-MS de As, Cr e Se em molusco bivalve <i>Macoma constricta</i> | 76 |
| 1.6 | Conclusões | 78 |
| 1.7 | Referências Bibliográficas..... | 80 |

| | |
|--|-----------|
| 2- Capítulo 2. Análise de Especificação de Vanádio em Amostras de Sedimentos Empregando Extração Alcalina e Determinação por ICP-OES..... | 90 |
| 2.1 Introdução..... | 91 |
| 2.2 Objetivo Geral..... | 93 |
| 2.2.1 Objetivos Específicos..... | 93 |
| 2.3 Revisão Bibliográfica..... | 94 |
| 2.3.1 Especificação Química..... | 94 |
| 2.3.2 O Elemento Vanádio..... | 95 |
| 2.3.3 Propriedades Químicas e Ocorrência..... | 96 |
| 2.3.4 Essencialidade e Toxicidade..... | 99 |
| 2.3.5 Estudo para vanádio em sedimentos..... | 102 |
| 2.4 Procedimento Experimental..... | 106 |
| 2.4.1 Coleta das amostras de sedimentos..... | 106 |
| 2.4.2 Reagentes e Soluções..... | 107 |
| 2.4.3 Pré-tratamento das amostras de sedimentos marinhos..... | 107 |
| 2.4.4 Preparo das amostras de sedimentos marinhos..... | 108 |
| 2.4.4.1 Digestão das amostras de sedimentos marinhos..... | 108 |
| 2.4.4.2 Extração de Vanádio (V)..... | 108 |
| 2.4.5 Determinação de Vanádio Total e V(V) por ICP OES..... | 110 |
| 2.4.6 Validação do método..... | 111 |
| 2.4.6.1 Precisão..... | 111 |
| 2.4.6.2 Limite de Detecção (LOD) e Limite de Quantificação (LOQ)..... | 112 |
| 2.4.6.3 Exatidão..... | 112 |
| 2.5 Resultados e Discussão..... | 113 |

| | |
|---|-----|
| 2.5.1 Otimização das condições operacionais do ICP OES..... | 113 |
| 2.5.2 Validação do procedimento para especiação de Vanádio (V) em amostras de sedimentos..... | 116 |
| 2.5.2.1 Limite de Detecção e Quantificação..... | 116 |
| 2.5.2.2 Precisão..... | 117 |
| 2.5.2.3 Exatidão..... | 117 |
| 2.5.3 Determinação de Vanádio Total em sedimento marinhos..... | 119 |
| 2.5.4 Determinação de V(V) em amostras de sedimento marinhos. | 119 |
| 2.5.4.1 Resultados para V(V) nas amostras de sedimento..... | 120 |
| 2.6 Conclusões..... | 125 |
| 2.7 Referências Bibliográficas..... | 126 |

Apresentação

Esta tese esta dividida em duas partes: **(I)** Avaliação das potencialidades de dois espectrômetros de massa com plasma indutivamente acoplado para determinação de As, Cr, Ni, Se e V em amostras de moluscos bivalves e aplicação da condição recomendada na determinação de As, Cr, Ni, Se e V em *Macoma constricta* coletada em diferentes regiões da BTS por ICP-MS; e **(II)** Análise de especiação de vanádio em amostras de sedimentos, empregando extração alcalina e determinação por ICP OES.

Capítulo 1

Avaliação das potencialidades de dois espectrômetros de massa com plasma indutivamente acoplado para a determinação de elementos traço em amostras de moluscos bivalves

1.1 INTRODUÇÃO

A Baía de Todos os Santos (BTS) é uma grande baía que envolve a borda leste de Salvador, capital do Estado da Bahia. De todas as baías que ficam a leste do Brasil, é a única que apresenta dez terminais portuários com alguns de grande porte, um canal de entrada naturalmente navegável e alguns canais internos profundos, os quais facilitam o desenvolvimento da região. Possui uma grande riqueza natural, com significativa extensão de recifes, estuários, corais e manguezais, sendo também um grande polo turístico. No entanto, as condições de vida e trabalho das comunidades que vivem próximas a BTS têm sido drasticamente alteradas. Em compensação, apesar de ser uma área de grande desenvolvimento e base de trabalho e renda da população ribeirinha, a BTS tem sofrido com os severos efeitos da ação antrópica (HATJE e De ANDRADE, 2009).

Para os órgãos governamentais de controle dos recursos ambientais, esta região é constantemente objeto de preocupações, devido a numerosas atividades industriais que se desenvolveram ao redor da baía as quais contribuem com poluentes de diversas naturezas. A degradação da qualidade dos diversos ecossistemas presentes na BTS tem sido ocasionada pelo grande desenvolvimento industrial, pelo precário e/ou ausente sistema de tratamento de esgotos e pela alta taxa de urbanização (QUEIROZ, 2008; Da ROCHA, 2012).

Estudos recentes relacionados com a poluição por metais em sistemas aquáticos concentram-se na utilização de indicadores biológicos, capazes de acumular poluentes presentes no ambiente, proporcionando a análise química de estimativas indiretas da concentração dessas substâncias em seu ambiente. Os metais no ambiente aquático podem ser transferidos a longas distâncias bioacumulando nos organismos aquáticos através das cadeias alimentares, o que representa um risco para saúde dos seres humanos quando usado como alimento (TAPIA *et al.*, 2010).

Os moluscos bivalves além de serem amplamente utilizados na alimentação humana, de grande valor nutricional, têm sido amplamente empregados em programas de biomonitoramento, uma vez que esses organismos acumulam metais do ambiente nos seus tecidos. A quantidade acumulada de metal no molusco representa todo o metal incorporado e/ou excretado pelo organismo ao longo do seu tempo de vida (JU *et al.*, 2011, Da ROCHA, 2012).

Um dos problemas encontrados na monitoração ambiental está na necessidade de se conhecer com exatidão os teores que podem ser considerados “normais” em amostras ambientais. Esse fato tem contribuído para o desenvolvimento de técnicas analíticas sensíveis, servindo como ferramentas poderosas para a determinação de elementos traços. Dentre as técnicas mais utilizadas para a determinação de vanádio em amostras ambientais, as mais utilizadas são: ICP OES, GF AAS e UV/VIS. Além dessas técnicas, a espectrometria de massas com fonte de plasma induzido (ICP-MS), se constitui em uma ferramenta eficiente na determinação de elementos a níveis traço para análise de amostras ambientais (RIBEIRO, 2002).

A espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente é uma técnica de destaque na análise de constituintes inorgânicos presentes em baixas concentrações, na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$. Com elevada sensibilidade e seletividade, a técnica de espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) permite a determinação sequencial de quase todos os elementos da tabela periódica, com aplicação a uma variedade de matrizes tais como: peixes, mariscos, e outros alimentos, etc. Esta técnica apresenta algumas limitações quanto à introdução da amostra, dentre elas, as baixas quantidades de sólidos dissolvidos (0,2 a 2%) e a baixa acidez final (1 a 2%). Além disso, ao aplicar esta técnica, é necessário levar em conta a possibilidade de interferências espectrais ou não-espectrais (GUEIFÃO *et al.*, 2011, LEME, 2012). Uma das maneiras de se contornar as interferências espectrais é a utilização de estratégias instrumentais como a cela de reação e colisão (CRC), cela dinâmica de reações (DRC) e a interface de reação e colisão (CRI).

1.2 OBJETIVO GERAL

Investigar e propor procedimento analítico validado para a determinação de As, Cr, Ni, Se e V em amostras de partes moles de *Macoma constricta*, coletadas em regiões da Baía de Todos os Santos, Bahia, Brasil, por espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado.

1.2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Avaliar o emprego da interface de reação e colisão e da cela de colisão na eliminação de interferências poliatômicas para determinação de As, Cr, Ni, Se e V;
- ✓ Validar o procedimento proposto através da avaliação dos limites de detecção e quantificação da faixa de trabalho; além da exatidão e da precisão;
- ✓ Aplicar o procedimento desenvolvido para determinação de As, Cr, Ni, Se e V em moluscos da espécie *Macoma constricta* provenientes de diferentes regiões da BTS.

1.3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.3.1 Poluição do ambiente marinho

Segundo a Convenção das Nações Unidas sobre o Direito do Mar, a poluição marinha pode ser definida como a introdução pelo homem, direta ou indiretamente, de substâncias ou de energia no ambiente marinho, incluindo os estuários, sempre que a mesma provoque ou possa vir a provocar efeitos nocivos, tais como danos aos recursos vivos e à vida marinha, riscos à saúde do homem, entraves às atividades marítimas, incluindo a pesca e outras utilizações legítimas do mar, alteração da qualidade da água, no que se refere à sua utilização e deterioração dos locais de recreio (DECRETO 1.530, 1995).

Nos últimos anos, a poluição ambiental e a resposta direta desta ao homem, vêm sendo tema de debates nos meios de comunicação científica. A presença de agentes químicos indesejáveis no ecossistema tem sido alvo de sérias preocupações para a sociedade, se tornando pauta de discussões em fóruns nacionais e internacionais por especialistas de diversas áreas, incluindo a Química, na busca de respostas e resoluções para o problema (ADACHI, 1997; MELO, 2003).

Os ecossistemas aquáticos são afetados diretamente por impactos antropogênicos, os quais alteram o seu funcionamento, resultando em diversos resíduos sólidos líquidos e gasosos. As principais fontes de poluição do ambiente aquático são os despejos industriais e domésticos. Este problema vem sendo acentuado nas últimas décadas devido ao desenvolvimento econômico e ao crescimento urbano, o que tem influenciado os seres vivos direta e indiretamente, alterando as características naturais dos ecossistemas atingidos (QUEIROZ, *et al.*, 2008; MILAZZO, 2011).

Processos naturais e antrópicos conduzem a alterações nos fatores abióticos e transformações nas comunidades biológicas. Os estuários e as regiões costeiras são os principais receptores dos efluentes urbanos e industriais. O aumento do nível desses contaminantes tem levado os países a formularem estratégias para a diminuição dos impactos ocasionados nesses ecossistemas (MAIA, 2006).

1.3.2 Metais e o Meio Ambiente

Cerca de 70 a 80% da contaminação do ambiente marinho provém de fontes de origem terrestre, enquanto apenas 20 a 30% dos poluentes são oriundos das atividades *in situ*, tais como o transporte marítimo, exploração de recursos minerais na plataforma continental e a descarga direta dos contaminantes realizadas por emissários submarinos. Além disso, cerca de 70% de tudo que é emitido na atmosfera retorna diretamente aos oceanos, causando efeitos muitas vezes acumulativos, dependendo da espécie e sua capacidade de degradação. Dentre os contaminantes que afetam o ambiente marinho incluem-se alguns metais e metaloides. A **Figura 1** representa as diversas vias de entradas de metais nos oceanos (LIBES, 1992; MIGUEL, *et al.* 1999; MELO, 2003; LACERDA, 2006).

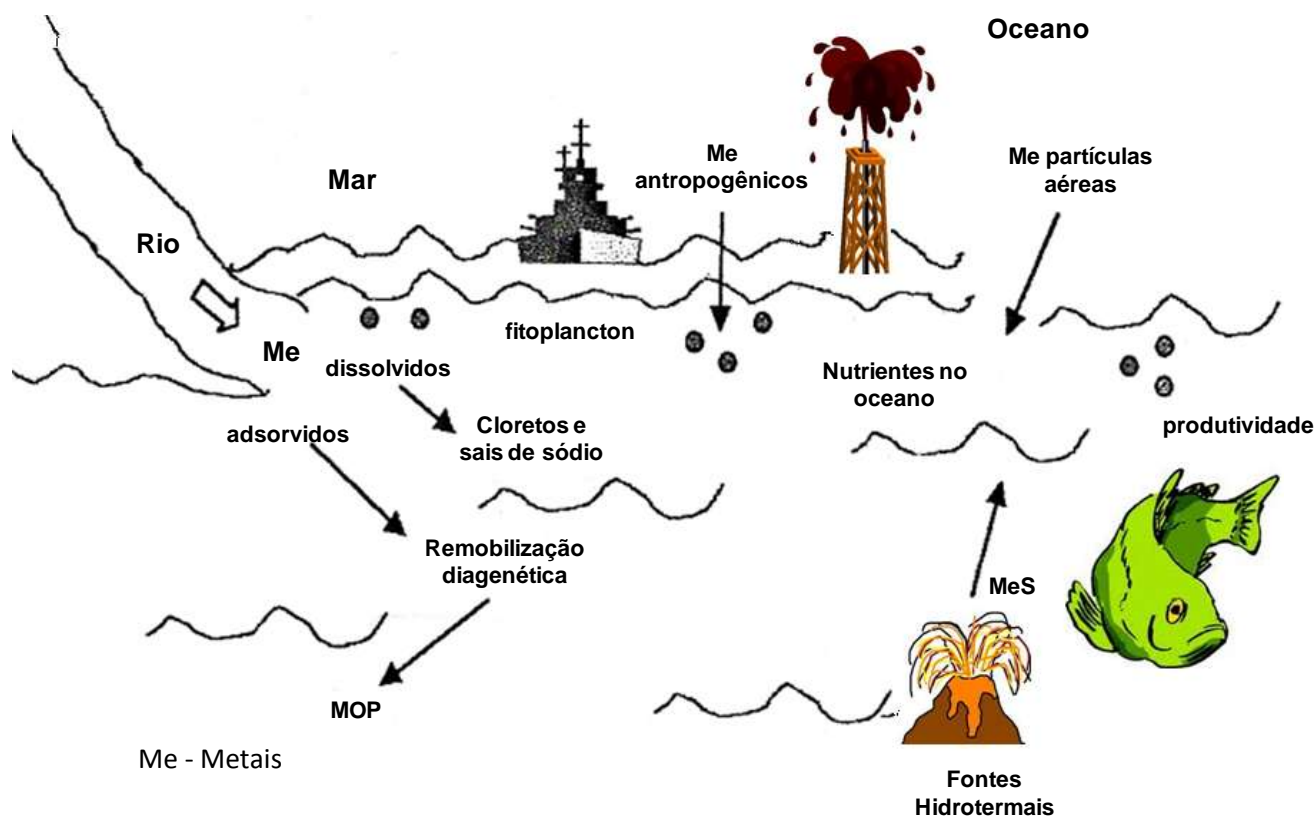


Figura 1. Esquema representativo da entrada de metais nos oceanos (adaptado de LIBES, 1992).

A contaminação do meio ambiente por petróleo é uma importante fonte de poluentes orgânicos e também metálicos. Dentre os metais predominantes

na constituição do petróleo, destacam-se o vanádio e o níquel. Os resíduos gerados pelo petróleo no ambiente podem ocasionar aumento na incidência de câncer nos ossos, cérebro e pulmões, além de leucemias. Os efeitos da toxicidade nas comunidades marinhas podem ser agudos ou crônicos, isso irá depender principalmente, do tempo de exposição e da quantidade de contaminante sobre o organismo. Certos metais podem se acumular em organismos filtradores tais como as ostras e mexilhões, se concentrando ao longo da cadeia alimentar, podendo ser perigoso aos organismos superiores da cadeia trófica (RIBEIRO, 2008).

Água, sedimentos e a biota são geralmente reservatórios de metais em ambientes marinhos, os quais são distribuídos por meio de vários processos físico-químicos e biológicos. Os organismos vivos, entretanto, necessitam de alguns metais, em baixas concentrações, com exceção dos macro-nutrientes tais como Ca, K, Mg e P. Os micronutrientes (Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, V e Zn) são necessários aos seres vivos em pequenas quantidades. No entanto, podem tornar-se bastante tóxicos quando ultrapassam determinadas concentrações a depender da forma na qual o metal está presente em uma matriz. Elementos como As, Cd, Hg e Pb, tem toxicidade comprovada, não ocorrem naturalmente nos organismos, além de não exercerem funções nutricionais ou bioquímicas (FREEDMAN, 1995; PEIXOTO, 2006; CREPLIVE, 2008).

Os perigos envolvidos com a presença de metais no ambiente marinho derivam não só da sua persistência e toxicidade, mas também da capacidade de concentração ao longo da cadeia trófica, podendo chegar até o homem (MIGUEL *et al.* 1999).

Os organismos que vivem no ambiente aquático podem concentrar níveis superiores àqueles usualmente encontrados na água. Os metais e outros poluentes são incorporados inicialmente pelo fitoplâncton (algas unicelulares), os quais servem de alimento para o zooplâncton (alevinos, larvas de moluscos e crustáceos, poliquetas etc...), que por sua vez servem de comida para outros animais maiores, e assim por diante (VIRGA, 2006).

O teor dos metais pode ser avaliado através de biodisponibilidade e a bioconcentração nos organismos dos ambientes onde os mesmos se encontram. A fração biodisponível é definida como a fração da concentração total de metais em cada reservatório abiótico que é captado pelos organismos. A bioconcentração aplica-se a concentração encontrada nos tecidos dos organismos, sendo que alguns podem acumular os metais em níveis de concentração proporcionais às encontradas no ambiente, tornando-os reguladores parciais das concentrações de cátions em seus corpos. Em muitos casos, estes organismos participam da ciclagem de metais retidos nos compartimentos abióticos do ambiente aquático, remobilizando e exportando deste sistema para o ser humano via cadeia alimentar (LIMA *et al.*, 2006; MILAZZO, 2011).

Vários organismos marinhos têm sido utilizados como bioindicadores de poluição por elementos traço em ecossistemas aquáticos. As concentrações dos poluentes nos organismos são o resultado tanto do passado, como também da contaminação recente do meio aquático em que vivem (SILVA *et al.*, 2001; ALI *et al.*, 2005; CONTI *et al.*, 2010).

1.3.3 Moluscos bivalves

Os moluscos são animais de hábitos bentônicos, predominantemente marinhos, apesar de existirem espécies de água doce e terrestre. A maioria se distribui ao longo de estuários e praias, de vida livre, podendo viver fixos, enterrados, se deslocando sobre o fundo ou nadando na coluna d'água. Entre as classes pertencentes ao *filo* Mollusca, três delas merecem destaque: a dos Gastropodas, Bivalvia ou Pelecípodos e a dos Cephalopodas. Os pelecípodas apresenta corpo mole, localizado no interior de uma concha rígida formada por duas valvas (**Figura 2**) (CARVALHO, 2006).



(a)



(b)

Figura 2. Moluscos bivalves: a) formas, b) valvas

Os bivalves são organismos simétricos e comprimidos lateralmente. A captura do alimento está baseada em sistemas de cílios, que provoca a entrada de água na cavidade do manto e muco, que aprisiona as partículas, principalmente orgânicas e microorganismos, os quais constituem sua fonte alimentar (SOUZA, 2010).

Algumas características fazem dos moluscos bivalves ótimos monitores de poluição ambiental: ocorrem em estuários e ao longo da região costeira; são sésseis; possuem baixa capacidade de se deslocar para escapar da poluição; possuem tempo de vida relativamente longo, permitindo estudos em longo prazo; apresentam vasta distribuição geográfica, permitindo a intercomparação dos dados obtidos de regiões distintas; são bastante abundantes e de fácil coleta; tem a capacidade de acumular os contaminantes em seus tecidos, em quantidade superior a encontrada no ambiente contaminado, sem que apresentem efeitos tóxicos (GALVÃO *et al.*, 2009; RODRIGUES, 2009).

As ostras, mexilhões e outros bivalves têm sido utilizados com bastante sucesso na avaliação de metais em ambientes aquáticos, fornecendo informações exatas e integradas sobre a contaminação ambiental e

biodisponibilidade do metal a curto e longo prazo (De ARAUJO *et al.*, 2010;. HEDGE *et al.*, 2009).

HEDGE *et al.* (2009) testaram os efeitos da ressuspensão de sedimentos contaminados no acúmulo de diversos metais, pela ostra da rocha de Sydney, *Saccostrea glomerata*. Essa espécie de bivalve foi escolhida devido a sua ampla distribuição na região de estudo e sua capacidade em acumular vários compostos, nas formas dissolvida e particulada. As ostras foram implantadas em vários locais no Porto Kembla e em dois estuários de referência, 11 semanas antes da dragagem e para dois períodos equivalentes durante a dragagem. Os efeitos observados foram grandes, com aumento de 100% nas concentrações de alguns metais nas áreas externa e interna do porto. Em relação às ostras implantadas no estuário de referência, observou-se aumento na acumulação de Zn, Cu e Sn durante a dragagem. As concentrações de Pb e Sn foram encontrados em níveis permanentemente elevados no Porto Kembla. Os padrões de acumulação dos metais indicam que a ressuspensão de sedimentos aumenta a contaminação na coluna d'água expondo os organismos a quantidades substanciais de contaminantes metálicos.

AMADO-FILHO *et al.* (2008) avaliaram a contaminação de metais na ostra *Crassostrea rhizophorae*, em três áreas da BTS (norte e nordeste) mais afetadas pelas atividades industriais. As concentrações de Al, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn foram determinadas por espectrofotometria de absorção atômica. Os resultados indicaram que na região de Botelho (Nordeste da BTS) foram encontradas maiores concentrações de Cd, Cr, Cu, Fe, Ni e Zn. Na região de Tapera (Norte da BTS), foram observadas altas concentrações de Cd e Fe. Para os elementos Cd, Cu e Ni foram encontradas concentrações de áreas contaminadas, sendo que as concentrações de Cu e Ni nesses organismos excederam os limites recomendados pela ANVISA para consumo humano (ANVISA, 1998).

JESUS (2011) avaliou os teores de metais traço no molusco *Anomalocardia brasiliiana* (GMELIN, 1791) dos municípios de Madre de Deus, São Francisco do Conde e de Saubara, BA. Nas amostras da *A. brasiliiana* os

maiores teores de metais traços foram Fe > Mn > Zn > Cu nas praias de Cação e Caípe, em Madre de Deus e São Francisco do Conde, e Fe > Zn > Mn > Cu na praia do Porto, em Saubara. Comparando os resultados obtidos com os de estudos anteriores na região de São Francisco do Conde e Madre de Deus, foram constatados valores de Fe e Zn menores; a concentração de Mn foi praticamente a mesma e houve incremento de Cu. Nas duas áreas analisadas os teores de Cu foram de 49, 94 e 46, 89 mg Kg⁻¹, sendo esses valores maiores do que o limite máximo aceitável por órgãos internacionais.

De SOUZA *et al.* (2011) determinou concentrações de elementos traço em moluscos (ostras, mariscos e mexilhões) das espécies *Anomalocardia brasiliiana*, *Brachidontes exustus*, *Crassostrea rhizophorae* e *Mytella guyanensis*, recolhidos em 34 diferentes locais ao longo da BTS. Foram determinados os elementos Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb, Se, V e Zn por ICP OES e Hg por análise direta de mercúrio. Concentrações relativamente altas foram encontradas para: As, Zn, Se e Cu nos tecidos dos frutos do mar. Foram observadas grandes diferenças nas acumulações dos elementos traço entre cada estação amostrada, devido à proximidade com fontes de contaminação (indústrias, saneamento básico e agricultura), hidrodinâmica, teor de matéria orgânica e granulometria dos sedimentos. Maior biodisponibilidade foi verificada para As, Al, Cu, Fe, Pb, Mn e Zn.

1.3.4 *Macoma Constricta*

De acordo com (SKAPHANDRUS, 2012), a espécie *Macoma constricta* (**Figura 3**) possui a seguinte classificação Taxonômica:

REINO: ANIMÁLIA
FILO: MOLLUSCA
CLASSE: BIVALVIA
SUBCLASSE: HETERODONTA
ORDEM: VENEROIDA
SUPERFAMÍLIA: TELLINOIDEA
FAMÍLIA: TELLINIDAE

GÊNERO: MACOMA



Figura 3. *Macoma constricta* (Foto: Marlene Peso-Aguiar).

Espécies da família Tellinidae são notáveis por sua grande diversidade em águas tropicais e subtropicais. São ecologicamente importantes em vários lugares, sendo importantes fontes de recursos econômicos e alimentação para muitas comunidades costeiras. A espécie *Macoma constricta* (**Figura 4**) faz parte da família Tellinidae. Possui sífões desiguais, no qual o inalante é maior do que o exalante, podendo se estender até quatro vezes o tamanho da valva. Os palpos radiais bem desenvolvidos são capazes de extensão e contração considerável. Durante a maré baixa, o sífão deste molusco faz uma série de radiais enquanto a ponta suga os sedimentos superficiais (retém pequenas partículas e microorganismos que lhe servem de alimento), o que faz com que fiquem pistas deixadas na superfície, indicando a presença de um espécime. A espécie *Macoma constricta*, é conhecida pelo nome vulgar “pé-de-galinha” e seu tamanho médio é entre 40-50 mm. Vive enterrada em fundos arenosos. A espécie pode ser encontrada em fundos de cascalho de coral, pedra ou concha. Por serem alimentadores de depósito, esta espécie têm a capacidade de bioacumular compostos e agentes tóxicos da água do mar mais facilmente do que outras espécies (NARCHI, 2003; HYDROS, 2004; PIFFER *et al.*, 2011; CDB, 2012).

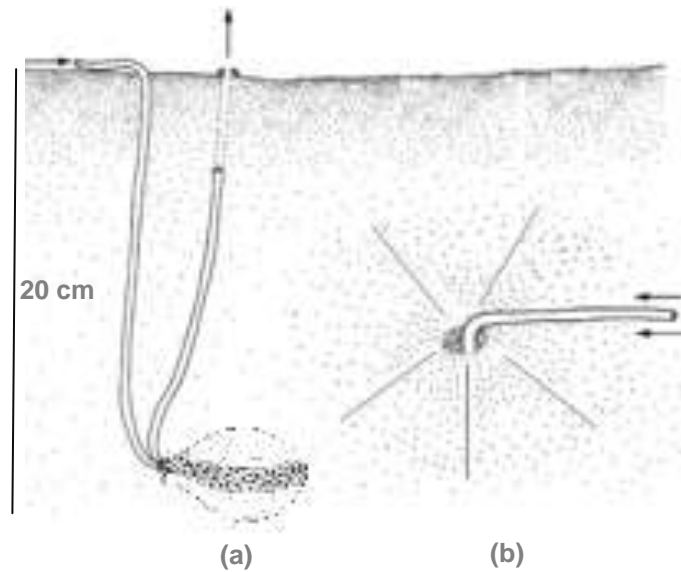


Figura 4. (a) Espécie *Macoma constricta* totalmente enterrada em seu habitat natural; **(b)** Variações na posição do sifão em torno da abertura de inalação. As setas indicam os sentidos das correntes inalantes e exalantes (Adaptado de: ARRUDA, *et al.* 2003).

Este molusco vive na areia enlameada (a uma profundidade de até 20 cm), deitado na sua valva à esquerda, com o longo eixo do reservatório mais ou menos horizontal. A valva é de aproximadamente 3,5 cm de comprimento e elíptico em vista lateral. Sua região anterior é arredondada e a posterior ligeiramente pontiaguda e inclina-se para a direita. As valvas são finas, sendo que a valva esquerda é mais convexa do que a direita. A **Figura 5** mostra a cavidade do manto vista do lado esquerdo do animal, após a remoção da valva à esquerda (NARCHI, 2003).

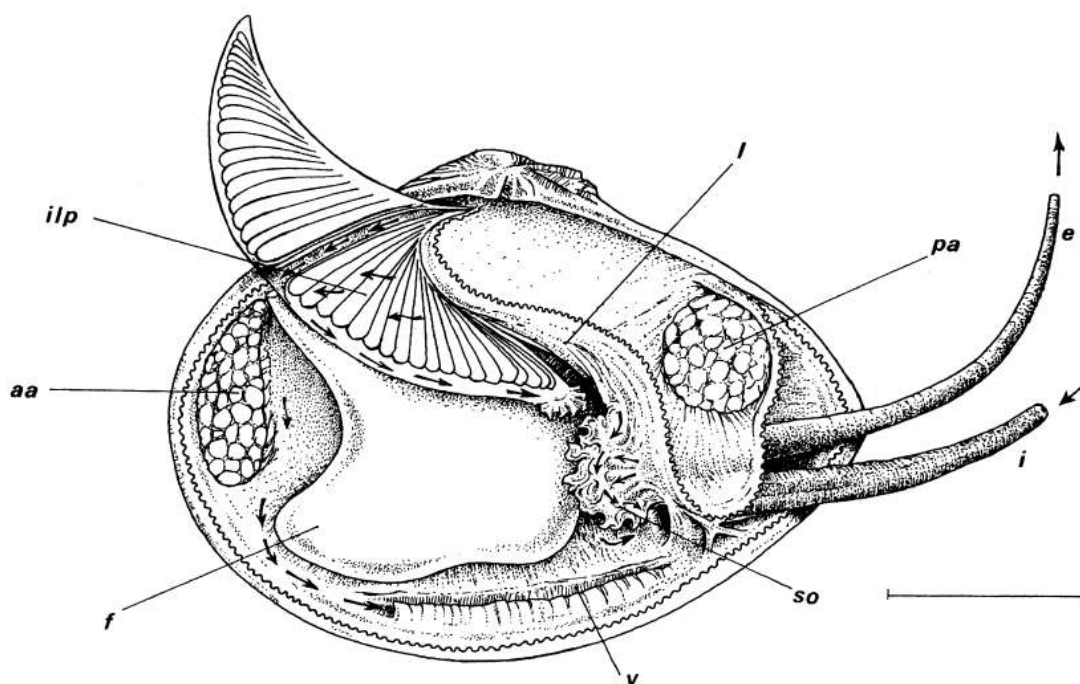


Figura 5. *Macoma constricta*. Cavidade do manto vista do lado esquerdo do animal após a remoção da valva à esquerda; o lóbulo esquerdo do manto foi dobrado para expor o órgão sifonal unilateral. Abreviaturas: **aa**, músculo adutor anterior; **e**, sifão exalante; **f**, pé; **i**, sifão inalantes; **ilp**, saciforme labial interno esquerdo, **l**, manto esquerdo do lóbulo; **pa**, músculo adutor posterior; **so**, órgão sifonal unilateral; **v**, canal ventral (Fonte: NARCHI, 2003).

1.3.5 Área de Estudo: Baía de Todos os Santos

A Baía de Todos os Santos (BTS) (**Figura 6**) está localizada no Estado da Bahia, nas proximidades da terceira maior cidade brasileira, Salvador, entre as coordenadas 08°30' e 18°30' S e 37°30' e 46°30' W. A BTS apresenta uma área de 1.233 km², 184 km de perímetro de costa, sendo a segunda maior baía costeira do Brasil, atrás apenas da baía de São Marcos, no Maranhão (HATJE e De ANDRADE, 2009; Da ROCHA *et al.* 2012).

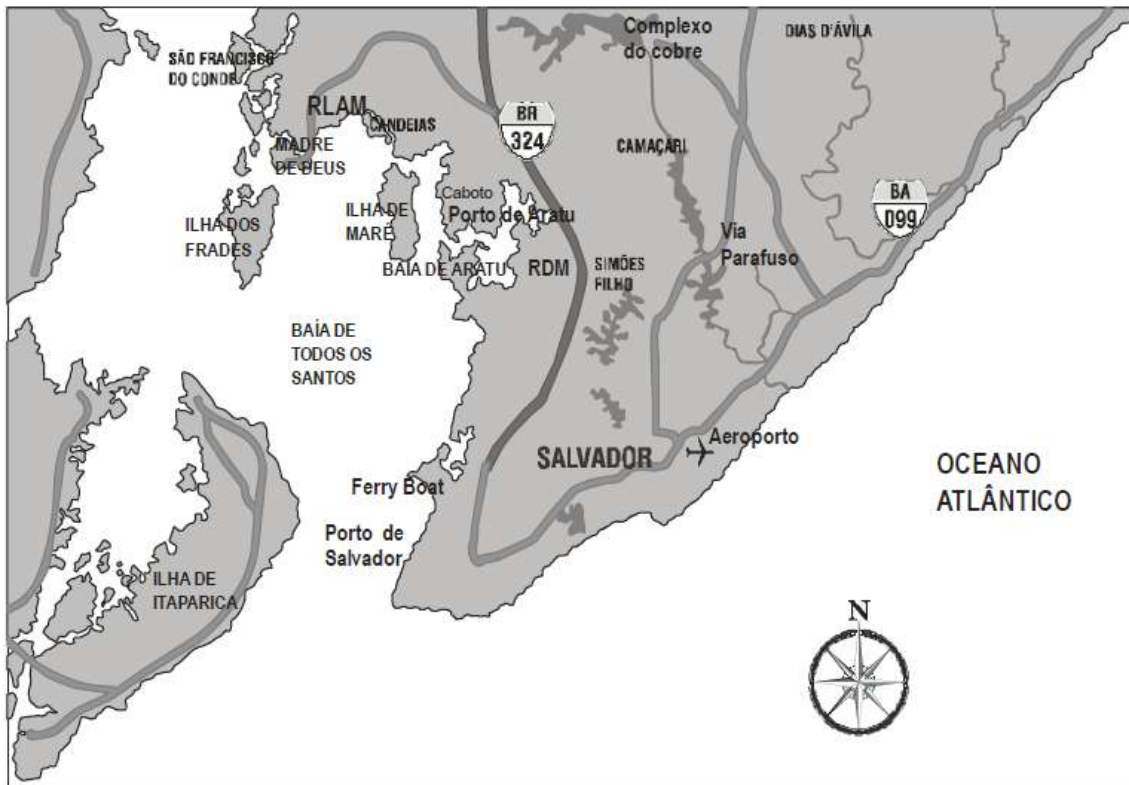


Figura 6. Mapa da Baía de Todos os Santos, Bahia, Brasil (Fonte: Da ROCHA *et al.*, 2012)

Na maior parte de sua extensão, a BTS apresenta topografia de fundo relativamente plana, com profundidade média de 6 m e profundidade máxima de até 100 m, no Canal de Salvador. Três grandes bacias de drenagem convergem para a BTS: as dos rios Paraguaçu, Jaguaribe e Subaé, responsáveis por uma descarga média anual de 101 m.s^{-1} , ou 74% da descarga fluvial total. Apesar disso, suas características são claramente salinas, pois o volume de água doce é duas ordens de grandeza inferior ao aporte de água salgada que entra pela abertura da baía, com salinidade variando entre 28 e 36‰ (CELINO e QUEIROZ, 2006; ONOFRE *et al.*, 2007; HATJE e de ANDRADE, 2009).

A região do entorno da BTS apresenta clima quente e úmido sem estação seca, com chuvas predominantes no inverno, precipitação média anual próxima a $2.142 \text{ mm ano}^{-1}$, variando de 95,5 mm em janeiro e 350 mm em maio. Durante todo o ano o vento predominante é o sudeste, entretanto, entre os meses de setembro e janeiro há a predominância do vento leste. No outono e inverno ocorrem ainda os ventos sul, acompanhando a chegada das frentes frias, o que torna o mar mais agitado. A temperatura média anual é de 25°C ,

com amplitude térmica de 5,5°C. A insolação anual média é de 2.464,6 h, sendo os meses de janeiro, fevereiro e março de maior insolação, e os meses de maio a julho os de menor insolação. A umidade relativa do ar apresenta médias anuais de 77 a 85%, tendo o mês de janeiro como o período mais seco e os meses de abril a julho como mais úmido (HYDROS, 2004; ONOFRE *et al.*, 2007).

As principais atividades extrativistas realizadas na BTS são a pesca, a mariscagem e a extração de produtos dos manguezais (**Figura 7**). Essa baía é ainda a principal fonte de proteína animal e alternativa de emprego ou complementação de renda das comunidades ribeirinhas. A pesca é realizada principalmente pelos homens para a captura de peixes, lagostas e camarões, e a coleta de mariscos é exercida, principalmente por mulheres e crianças, para a extração de moluscos e crustáceos nas praias, coroas e nos manguezais. O mergulho é uma atividade realizada pelos homens na captura manual de moluscos e lagostas e na caça com arbalete de lagostas e peixes (SOARES *et al.*, 2009; Da ROCHA 2012).

O entorno da BTS compreende uma área urbana denominada Região metropolitana de Salvador – RMS, com mais de 3 milhões de habitantes e extensa zona industrial. A partir dos anos 40 teve início o crescimento industrial na região da BTS, ganhando o espaço da atividade agrícola. Na década de 50 foi implantada a Refinaria Landulpho Alves de Mataripe (RLAM), sendo decisiva na nova conformação espacial do entorno da BTS, o que levou a construção de estradas e ao crescimento urbano acelerado. Posteriormente, foram implantados o Centro Industrial de Aratu (CIA), o Centro Industrial do Subaé, o Complexo Petroquímico de Camaçari (COPEC) e de diversos terminais marítimos. Em Salvador, na região do entorno da baía de Itapagipe, várias empresas estiveram instaladas por muito tempo, como a Companhia Química do Recôncavo (CQR), a Chadler (fábrica de chocolates), fábricas de cigarro e bebidas, várias indústrias têxteis etc. Todas elas por longos períodos lançaram seus efluentes industriais nas águas da BTS, nem sempre com tratamento adequado (HYDROS, 2004).



(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 7. (a) Gaiolas para captura de Lagostas, (b) Mariscagem, (c) Rede Linxeira para captura de peixes (Fotos: Roberto Giannini) e (d) Pesca com tarrafa (Fonte: HYDROS, 2004).

O modelo de desenvolvimento industrial a partir da década de 50 provocou uma rápida expansão demográfica da região do entorno da BTS, principalmente naquelas áreas próximas aos complexos industriais. Além disso, esse modelo foi aplicado sem a utilização de critérios adequados de avaliação dos impactos decorrentes, os quais ao passar dos anos foram emergindo de maneira muitas vezes irreversíveis. Atualmente, o ambiente natural e as ocupações ao redor da BTS possuem gradientes físicos e sociais bastante diferenciados, de acordo com as dificuldades de acesso e de infraestrutura disponíveis. Aliado a isso, vários problemas contribuíram para agravar a situação dos diferentes ecossistemas da BTS, dentre eles vale citar a poluição

decorrente do derramamento de petróleo e seus derivados; degradação da qualidade das águas devido ao aporte de efluentes domésticos; resíduos sólidos e efluentes industriais sem tratamento adequado; drenagens; dentre outros. Todos esses fatores afetam diretamente a vida aquática, a composição química da atmosfera, a saúde e qualidade de vida das populações ribeirinhas. Entretanto, muito pouco foi estudado sobre poluição ambiental na BTS até hoje, principalmente no entorno das fontes potenciais, onde a capacidade restrita de renovação das águas é limitada, principalmente na sua porção norte, onde possui águas rasas e as velocidades das correntes são baixas (PEREIRA *et al.*, 2001; Da ROCHA *et al.*, 2012).

Desde a implantação da RLAM em 1950, casos de derramamento e vazamento de óleo têm comprometido a qualidade de vida da população que vive no entorno da BTS, principalmente no setor norte da baía, deixando um passivo ambiental que se reflete na contaminação ambiental, incluindo a biota comestível. Esse problema vem reduzindo a área de pesca, causando desmatamento, aterramento de manguezais e limitando o acesso aos recursos naturais. Com isso, as comunidades e populações que moram na baía encontram-se bastante vulneráveis e ameaçadas, sofrendo diversos impactos e sem nenhum amparo do Poder Público, com restrito ou nenhum acesso a indenizações (SARAIVA, 2008; QUEIROZ e CELINO, 2008).

O Petróleo é, talvez, a mistura natural mais complexa do nosso planeta. Consiste de uma mistura de hidrocarbonetos, parafínicos, naftalênicos e aromáticos (50 a 98%), sendo a parte restante constituída de certa quantidade de elementos metálicos e metalóides, principalmente na forma de compostos organometálicos ou de dispersão de colóides inorgânicos. A presença de vanádio e níquel é um exemplo típico, os quais estão na forma de compostos porfirínicos e/ou complexos organometálicos com ligantes tetra dentados de caráter não-porfirínicos. A presença desses metais no corpo d'água pode afetar a biota marinha de duas formas básicas: sendo tóxico ao organismo em níveis acima do legislado ou bioacumulado, tendo seu efeito potencializado ao longo da cadeia alimentar. Os moluscos bivalves são bons indicadores da contaminação do meio marinho, sendo capazes de concentrar metais traço em várias ordens de grandeza acima das concentrações encontradas na coluna

d'água. Além disso, os processos de bioacumulação fazem com que estes metais alcancem concentrações consideradas tóxicas tanto para a biota quanto para o ser humano. Dessa maneira, a determinação desses elementos é, portanto, de grande interesse, não somente pelo aspecto ambiental, como também por fornecer informações sobre a biodisponibilidade do Ni e V nas espécies em estudo (PINTO, 2006; MARTINIANO, 2009; LIMA e MERÇON, 2011).

1.3.6 Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS)

No início dos anos 70, pesquisadores a procura de uma técnica complementar à espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES), começaram a estudar a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). O surgimento desta nova técnica veio com a necessidade de minimizar as interferências espectrais e a obtenção de limites de detecção menores do que os obtidos por ICP OES. Devido a características favoráveis como a capacidade de análise multielementar, a alta frequência analítica, elevada sensibilidade, obtenção de excelentes limites de detecção, baixo consumo de amostras e a medida da razão isotópica, o uso do ICP-MS tornou-se vantajoso para resolução de muitos problemas encontrados na análise de elementos-traço em diversos materiais, sendo adequado para a determinação de concentrações na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ (NASCIMENTO, 2008; PINTO, 2010; LEME, 2012).

O ICP-MS oferece alta produtividade e torna-se muito vantajoso em análises com um número elevado de amostras e/ou elementos. O equipamento pode ainda realizar determinações isotópicas, acoplar outros instrumentos (como é o caso da cromatografia líquida) e agregar a possibilidade de usar métodos de pré-concentração de amostra (micro-colunas ou extração em fase sólida). Vários são os modelos de ICP-MS disponíveis comercialmente, entretanto, todos possuem como componentes básicos um sistema de

introdução de amostra (nebulizador e câmara de nebulização), tocha de quartzo, bombas de vácuo, interface, lentes iônicas, analisador de massas e detector. A **Figura 8** apresenta um esquema do espectrômetro de massas com fonte de plasma indutivamente acoplado (COIMBRA, 2007; PEREIRA, 2012).

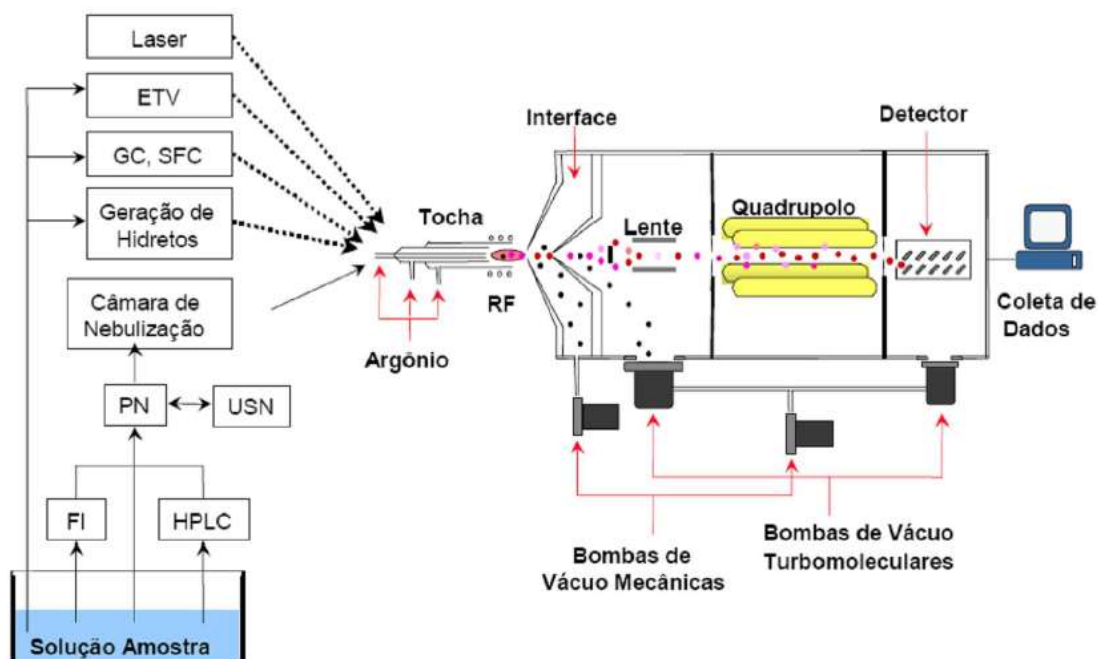


Figura 8. Esquema de um instrumento de ICP-MS e sistemas de introdução da amostra no plasma. As linhas pontilhadas representam a amostra introduzida na forma de vapor, e a linha cheia na forma de aerossol (Fonte: PINTO, 2010).

A introdução da amostra no plasma é realizada mais comumente através de nebulização pneumática de solução, embora a eficiência deste dispositivo seja somente de cerca de 1 a 2%. Neste procedimento, a solução da amostra é aspirada com o auxílio de uma bomba peristáltica e entra para o nebulizador pneumático no qual um aerossol fino é gerado e transportado para o plasma (por uma vazão de argônio) através da câmara de nebulização. Os processos de atomização, vaporização e ionização ocorrem no plasma de argônio. No entanto, no plasma o solvente da amostra é totalmente evaporado e os compostos presentes são decompostos nos seus átomos constituintes. Os átomos do analito são, em grande parte dos casos, praticamente ionizados. Chegando ao espectrômetro de massas, os íons são separados por campos

elétricos e magnéticos de acordo com a razão massa/carga (m/z). A seguir, os íons atingem o detector, o qual amplifica o sinal gerado. Neste sistema, mais de 98% da solução da amostra é rejeitada e drenada para o descarte (PINTO, 2010; PEREIRA, 2012; LEME, 2012).

O plasma é um gás no estado excitado e total ou parcialmente ionizado, operando a temperaturas de 6000 a 10000 K no centro e aproximadamente 800 K nas extremidades. O plasma (**Figura 9**) é mantido por uma bobina de rádiofrequência, após iniciação produzida por descarga elétrica de uma bobina de Tesla (COIMBRA, 2007; NASCIMENTO, 2008; PINTO, 2010).

Embora a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado seja uma poderosa técnica analítica na determinação de baixas concentrações de metais, um dos seus maiores problemas é a suscetibilidade a interferências, as quais podem ser divididas em dois grupos: Interferências espectrais e não-espectrais (NASCIMENTO, 2008).

Os íons atômicos ou moleculares são os causadores das interferências espectrais por apresentarem a mesma massa nominal do analito, resultando em contagens maiores e um maior sinal para a razão massa/carga de interesse. Logo, essa interferência ocorre quando acontece sobreposição espectral de alguma espécie iônica com o analito. A complexidade nesse tipo de interferência espectral pode ser visualizada na **Figura 10**, onde mostra o espectro de massa da água deionizada de massa 40 até massa 90. Relativamente às espectrais podem ocorrer as interferências isobáricas, dupla carga, poliatômicas e interferências por espécies óxido e hidróxido (THOMAS, 2002; COIMBRA, 2007; PINTO, 2010).

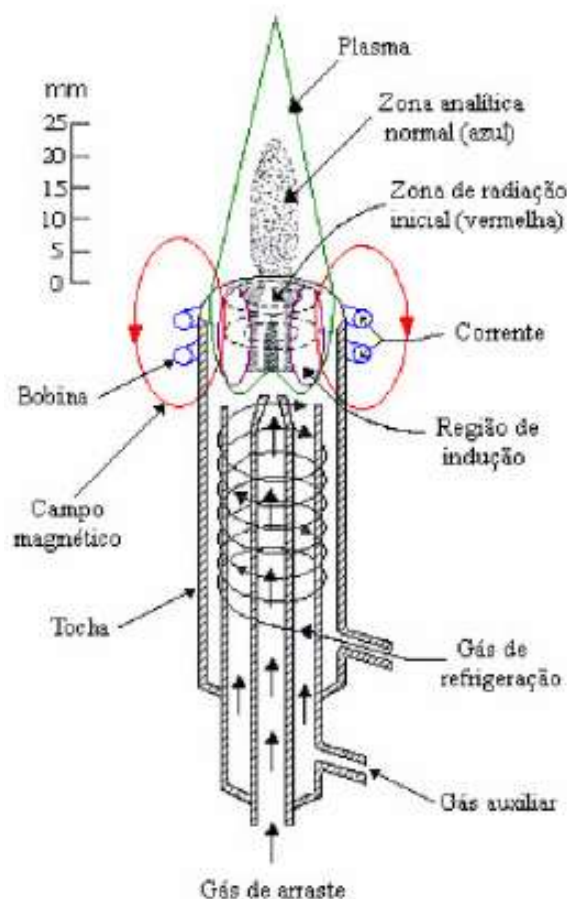


Figura 9. Esquema de uma tocha, constituída de três tubos concêntricos, acoplada a uma bobina de indução de um gerador de radiofrequência (Fonte: NASCIMENTO, 2008).

A sobreposição isobárica ocorre quando um determinado íon possui a mesma massa que o íon do analito. O interferente pode ser um isótopo de algum elemento, espécies presentes na composição do plasma, óxidos e hidróxidos e espécies provenientes da matriz e/ou solvente. Normalmente os íons gerados na espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado são monovalentes e por isso a razão m/z é igual à massa do íon. Existem, no entanto, alguns elementos como é o caso do bário ($^{138}\text{Ba}^+ \rightarrow ^{69}\text{Ba}^{++}$) que podem gerar dupla carga (2+), logo, a massa do íon será dividida por 2. Somente em casos raros este tipo de interferência impede uma determinação, visto que, a maioria dos elementos possui um, dois ou até três isótopos, os quais estão livres da superposição isobárica (PEREIRA, 2012).

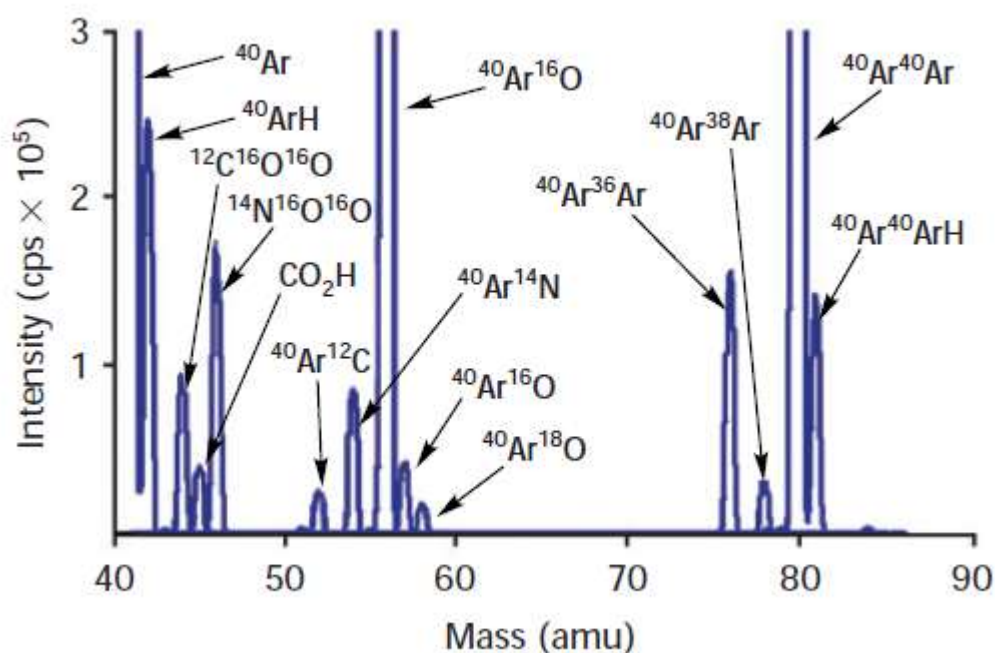
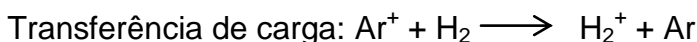
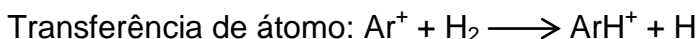


Figura 10. Espectro de massa da água desionizada, de massa 40 a massa 85 (Fonte: THOMAS, 2002).

Os íons poliatômicos são gerados pela combinação de espécies presentes no plasma (Ar do gás de arraste, O e H da água e ácidos, N, C e Cl dos ácidos utilizados na preparação da solução das amostras) e na matriz da amostra. Esse tipo de interferência é mais comumente encontrada em valores de razão m/z abaixo de 82, sendo uma das principais causas dos pobres limites de detecção nesta faixa de massa. Alguns elementos pode estar sujeita à interferências ocasionadas por íons poliatômicos produzidos no plasma e na interface, como por exemplo: $^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^+$ no $^{51}\text{V}^+$; $^{35}\text{Cl}^{15}\text{O}^1\text{H}^+$ no $^{52}\text{Cr}^+$; $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ em $^{75}\text{As}^+$ e $^{40}\text{Ar}^{38}\text{Ar}^+$ em $^{78}\text{Se}^+$. Para correção desse tipo de interferências, alguns métodos são propostos, tais como: uso de branco, utilização de um isótopo diferente do analito, correções matemáticas, ajustes experimentais nas condições do plasma, dessolvatação, utilização de um gás alternativo, separação cromatográfica, dentre outros (Dos SANTOS, 2007).

A interferência por íons poliatômicos acontece com elementos sensíveis a esta interferência, tais como os alcalinos terrosos, alguns metais de transição e os elementos terras-raras, por estes possuírem baixo potencial de ionização. Neste caso, o elemento vai se ionizar duas vezes formando um íon de dupla

carga (+2) e conseqüentemente seu espectro aparecerá com metade da massa desejada, o que pode ocasionar perda de sinal e interferência com outros elementos. Uma maneira de se tentar contornar este problema é aumentar a vazão do gás carreador e/ou diminuir a potencia de rádio frequência (RF). Além disso, algumas estratégias instrumentais são bastante utilizadas, como a cela de reação e colisão (CRC), cela dinâmica de reações (DRC) e a interface de reação e colisão (CRI). Nesses casos, os íons poliatômicos interferentes são suprimidos pela introdução de diferentes gases no sistema. Gases como o He e Xe podem atenuar os interferentes poliatômicos através dos processos colisionais. Este processo ocorre pelo fato de que os íons poliatômicos são maiores do que os íons do analito da mesma massa, então eles colidem com maior frequência com o gás e, conseqüentemente, diminuem a sua energia cinética (discriminação por energia cinética). Já os gases reacionais, tais como o CH₄ e H₂ promovem reações pela interação com os íons poliatômicos, o que faz com que sejam produzidas espécies não interferentes por reações de transferência de carga, transferência de átomo, transferência de próton, oxidação, reações íon-elétron etc (NUNES, 2009; Das NEVES, 2010; BIANCHI *et al.*, 2012). A química de reação do H₂ exemplifica os processos principais que ocorrem na cela de reação (Giné-Rosias, 1999):



A CRI funciona introduzindo He ou H₂ como gases de colisão/reação para o plasma através da interface de um ou ambos os cones (amostragem e *skimmer*). O papel da interface é o da formação de uma região de pré-vácuo que auxilia o transporte dos íons que são direcionados ao analisador de massas devido ao gradiente de pressão estabelecido (**Figura 11**). O gás introduzido colide e/ou reage com os íons potencialmente interferentes, removendo-os do plasma antes de quaisquer íons serem extraídos pelo sistema de focalização da lente. De uma maneira geral, os íons que poderiam causar interferências espectrais são mais susceptíveis a esses processos que

os íons do analito de interesse. Sendo assim, os íons interferentes podem ser removidos do plasma (Das NEVES, 2010; FIALHO *et al.*, 2011).

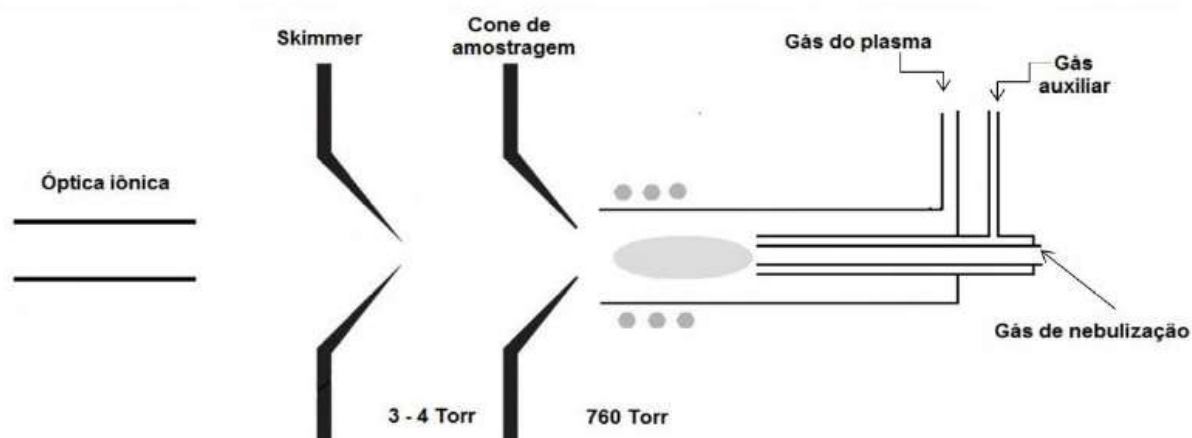


Figura 11. Esquema da tocha e interface do ICP-MS (Fonte: Das NEVES, 2010).

Na CRC pode ocorrer conversão da espécie (íon), o qual reage com um gás pouco (ex: H_2) ou altamente reativo (ex: NH_3 , CH_4) formando outras espécies. Podem ocorrer também processos colisionais, onde é verificada a fragmentação ou transferência de energia do íon para o gás inerte (ex: He). As colisões quebram as espécies poliatômicas, que têm a mesma massa que o analito de interesse. O interferente sofrerá mais colisão devido ao seu maior volume. Qualquer espécie poliatômica que permanece intacta, em seguida, pode ser retardada por discriminação de energia cinética, pois as moléculas poliatômicas maiores não viajam mais rápido que o íon elementar. Se todos os íons entram na cela com a mesma energia, os íons maiores (espécies interferentes) que sofreram mais colisões terão menor energia, sendo assim energeticamente discriminados dos íons menores, neste caso, o analito de interesse (MENEGÁRIO, 2010) (Figura 12).

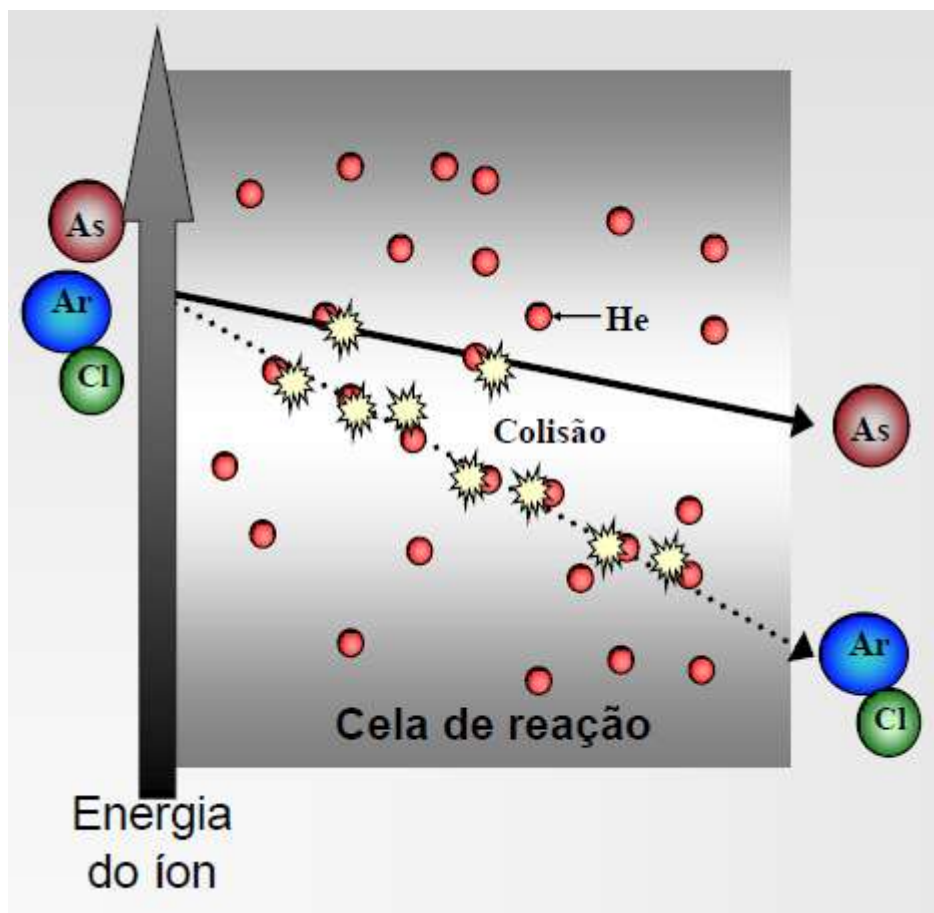


Figura 12. Processos de colisão e discriminação de energia cinética (Fonte: MENEGÁRIO, 2010).

Vários trabalhos relatam a aplicação bem sucedida apenas de H_2 , ou misturado com He em diferentes proporções para atenuação de ArX e outros íons poliatômicos em vários tipos de matrizes. O H_2 sozinho é utilizado como gás de reação, e quando outro gás é introduzido na cela de colisão (como é o caso do He) para colidir com os íons interferentes com diâmetros maiores, faz com que haja redução de sua energia cinética, e que apenas os íons selecionados possam adquirir energia suficiente para atravessar a barreira de potencial e chegar até o detector. Neste caso, os interferentes são rejeitados por discriminação de energia cinética (KED). A introdução destes dois gases faz com que se tenha um efeito benéfico do He como um gás de colisão quando o H_2 é utilizado como gás de reação, na eliminação de interferências por íons poliatômicos (MENEGÁRIO, 2010).

Dentre os tipos de interferências, as mais graves que ocorrem no ICP-MS, são aquelas que envolvem óxidos e hidróxidos formados pelo analito, pela matriz, pelos gases do plasma e pelo vapor d'água transportado. Os íons MO^+ e MOH^+ são formados por quase todas as espécies, onde o M representa o analito de interesse ou o elemento de matriz. É de grande importância a eliminação ou atenuação dos óxidos, pois a razão m/z do óxido pode se sobrepor a uma razão m/z do analito. Para minimização desse tipo de interferência se faz necessário à otimização dos parâmetros instrumentais, uso de plasma de alta potencia, velocidade do fluxo de gás carreador baixa e a utilização de uma Célula Dinâmica de Reações (DRC), a qual diminui drasticamente a produção desses óxidos (NASCIMENTO, 2008).

As interferências não espectrais estão relacionadas pelos efeitos de supressão e aumento de sinal, como efeito de matriz, e por efeitos físicos como é o caso do efeito de memória. Os elementos que estiverem em concentrações entre 500 a 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ na solução amostra, possuem efeito de matriz mais severos no ICP-MS. Esses efeitos podem resultar em um aumento ou diminuição do sinal do analito. Existem algumas formas de contornar ou minimizar esses efeitos, tais como: diluição da amostra, alteração da introdução de amostras, a separação das espécies interferentes ou pelo uso de padrões internos (Dos SANTOS, 2007). Após passagem da amostra contendo concentrações elevadas, alguns elementos podem apresentar efeitos de memória. Isso se deve ao fato da aderência das amostras a partes do sistema de introdução de amostra. Para contornar este problema ou minimizar este efeito, deve-se neste caso trabalhar com concentrações baixas e com soluções pouco viscosas (CORREIA, 2003).

O procedimento proposto neste trabalho foi empregado para determinação dos teores de As, Cr, Ni, Se e V em amostras de moluscos bivalves, da espécie *Macoma constricta*, coletadas em diferentes regiões da BTS, como indicador do comprometimento da qualidade ambiental, em função da atividade relacionada à indústria petrolífera existentes na região, indicando possíveis fontes naturais ou antropogênicas.

1.4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

1.4.1 Coleta das amostras de moluscos da espécie *Macoma constricta*

Foram realizadas duas campanhas de amostragens em diferentes regiões da BTS pela equipe da Profa. Dra. Marlene C. Peso-Aguiar, do Instituto de Biologia da UFBA. A primeira campanha foi realizada entre setembro e outubro de 2010, e a segunda campanha entre abril e maio de 2011, durante os períodos seco e chuvoso, respectivamente. Para a definição dos pontos de coleta levou-se em consideração os fatores ambientais e de ação antropogênica. As amostras da espécie *Macoma constricta* foram coletadas em 6 estações, as quais foram escolhidas em função das atividades desenvolvidas próximo às possíveis fontes de contaminação. Cada estação foi denominada da seguinte maneira (**Figura 13**): Madre de Deus (S1); Acupe/Itapema (S2); Mutá (S3); Bom Jesus dos Pobres (S4); Salinas (S5) e Ilha de Maré (S6). Vale salientar que o ponto S1 é uma região onde predominam atividades industriais e tem proximidade com a Refinaria Landulpho Alves Mataripe (RLAM) a qual explora, produz e faz o refino do petróleo localmente.

1.4.2 Metodologia de coleta e procedimentos no laboratório

Os indivíduos da espécie *Macoma constricta* foram coletados durante a baixa-mar, na faixa do mesolitoral, onde a população ocorrente fica descoberta pela maré. A localização da espécie no sedimento é denunciada por uma marcação (“rastros”) similar à pegada de uma ave, daí o nome vulgar de “pé de galinha”. Essa marcação deixada nos sedimentos é dada pela aspiração do material orgânico depositado na camada superficial do substrato, a partir dos sífoes inalante e exalante do animal. Ao encontrar esta pista é necessário escavar com uma pá de jardinagem aproximadamente de 10 a 15 cm de profundidade até encontrar o animal sem causar nenhum tipo de traumatismo aos organismos retirados. Após o término das coletas, os moluscos foram

encaminhados ao Laboratório de Malacologia e Ecologia de Bentos – LAMEB, do grupo da Profa. Dra. Marlene C. Peso-Aguiar, instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia. No LAMEB, os moluscos bivalves foram lavados externamente com água destilada para a remoção de possíveis contaminantes à carne do animal, durante o procedimento de abertura de cada concha. As conchas foram abertas com o auxílio de um bisturi, sendo em seguida retirada toda água presente no interior das conchas. Toda a carne foi removida, colocada em recipientes de vidro devidamente descontaminados, pesada em balança analítica, devidamente identificada e colocada em freezer para posterior análise. Na **Figura 14** estão mostradas as marcas deixadas pela espécie *Macoma constricta* nos sedimentos e o procedimento de coleta realizado neste estudo.

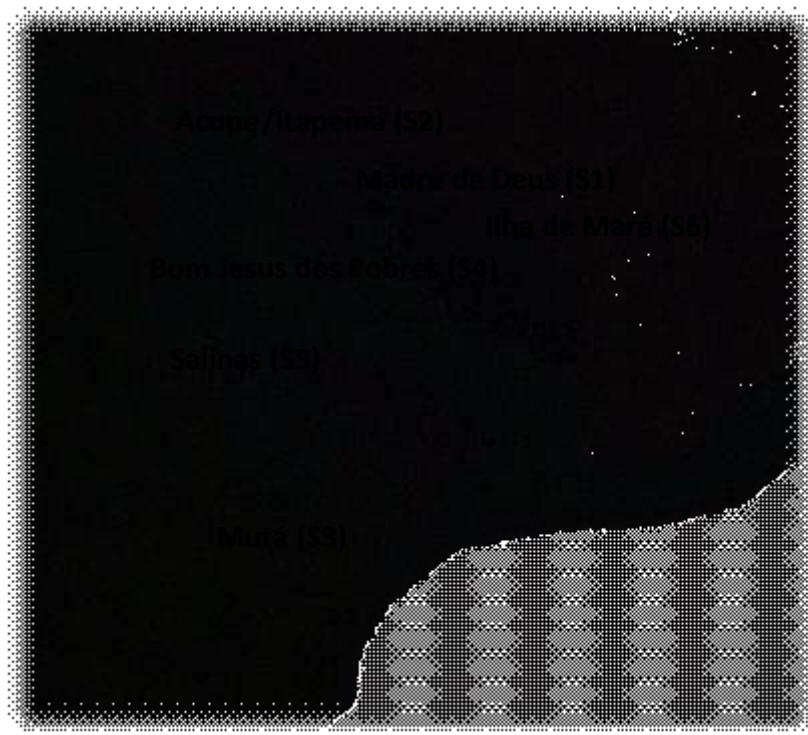


Figura 13. Mapa de distribuição dos pontos de coletas de sedimentos ao longo da BTS (Fonte: Marlene C. Peso-Aguiar).



Figura 14. (a) Marcas de identificação da presença da espécie *Macoma constricta*; (b) Procedimento de coleta (Foto: Marlene C. Peso-Aguiar).

1.4.3 Reagentes e Soluções

As soluções de trabalho foram preparadas com reagentes de grau analítico e água ultrapura, com resistividade específica de $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$, de um sistema de purificação Millipore (Milli-Q[®], Millipore, Bedford, MA, EUA). Todas as vidrarias e frascos foram previamente lavados com solução de Extran 5% (v/v) por um período de 24h, enxaguados com água corrente e imersos em banho contendo HNO_3 10% v/v, por no mínimo 24 h. Após este período, todo material foi retirado e lavado com água desionizada antes do uso.

Todas as soluções utilizadas no desenvolvimento do trabalho foram de pureza analítica. Os seguintes reagentes foram empregados: ácido nítrico 65% (Merck, Alemanha) e peróxido de hidrogênio 30% v/v (Merck, Alemanha).

As soluções estoques foram preparadas a partir de soluções individuais contendo 1000 mg L^{-1} de As, Cr, Ni, Se e V (Chemis High Purity) após diluição com uma solução 2% (v/v) de HNO_3 destilado, as quais eram preparadas em cada dia de análise. Nas análises por ICP-MS foi utilizada solução multielementar do padrão interno contendo Sc, Ge, Rh e Tl (SpecSol[®], Brasil).

1.4.4 Preparo das amostras

O preparo das amostras é uma das operações preliminares da análise química, a qual consiste em submeter uma alíquota representativa da amostra a um tratamento adequado, objetivando sua preparação para os passos subsequentes (DUTRA *et al.*, 2004). O procedimento de preparo das amostras foi dividido em 3 etapas: liofilização, homogeneização e digestão.

1.4.4.1 Liofilização

Inicialmente as amostras dos moluscos foram submetidas a etapa de pré-congelamento, onde os tecidos da espécie *Macoma constricta* foram congelados em ar estático usando um freezer até temperatura final de congelamento de - 20°C. Após congelamento, as amostras foram colocadas em recipientes de vidro (previamente descontaminados), cobertas com filme plástico (PVC) e deixadas no liofilizador por um período de 48 horas. A liofilização das amostras foi realizada em um liofilizador CHRIST (modelo ALPHA 2-4 LD PLUS), acoplado a uma bomba a vácuo (**Figura 15**).



Figura 15. Liofilizador utilizado para tratamento das amostras de moluscos bivalves.

1.4.4.2 Homogeneização

Após a liofilização, as amostras secas foram moídas em moinho de bolas modelo 8000 M (Spex Sample Prep, USA) com frasco e esferas de carbeto de tungstênio (**Figura 16**). O peneiramento das amostras foi realizado em malhas de *nylon* TENYL (Guarulhos, São Paulo) de 500 μm , devidamente identificadas e colocadas em frascos de polietileno de 50 mL. Essas amostras foram imediatamente colocadas em dessecadores sob vácuo contendo sílica gel até o momento das análises.



Figura 16. Moinho de bolas utilizado para moagem das amostras de moluscos bivalves.

1.4.4.3 Digestão em forno de microondas com cavidade

Para o procedimento de digestão das amostras em forno de micro-ondas com cavidade, modelo Ethos EZ (Milestone, Sorisole, 67 Itália). Alíquotas de 200 mg de cada amostra de tecido foram transferidas para frasco de PTFE. Volumes de 4,0 mL de HNO_3 destilado 65% (v/v), 3,0 mL de H_2O (Milli-Q[®]) e 1,0 mL de H_2O_2 30% (v/v) foram adicionados aos frascos reacionais. Logo em seguida, os frascos foram fechados e colocados no carrossel do forno de microondas com cavidade (**Figura 17**). O programa de aquecimento utilizado

no experimento é mostrado na **Tabela 1**. O volume final foi ajustado com água Milli-Q para 20 mL, após digestão.

Tabela 1. Programa de aquecimento do forno de micro-ondas com cavidade para digestão de amostras de moluscos bivalves.

| ETAPA | TEMPO (min) | P _{max} (W) | T (°C) | P (bar) |
|------------|-------------|----------------------|--------|---------|
| 1 | 5 | 750 | 120 | 35 |
| 2 | 3 | 750 | 120 | 35 |
| 3 | 6 | 1000 | 180 | 35 |
| 4 | 20 | 1000 | 180 | 35 |
| Ventilação | 10 | - | - | - |



Figura 17. Forno de micro-ondas com cavidade utilizado na digestão das amostras de moluscos bivalves.

1.4.5 Descrição do Equipamento 1

O Equipamento 1 empregado neste trabalho é um espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado ICP-MS XSeries^{II} (Thermo

Electron Corporation), equipado com nebulizador concêntrico e câmara de nebulização com refrigeração por Peltier, mostrado na **Figura 18**. Foram investigados dois modos de análise, um no modo padrão e outro usando cela de colisão CCT-KED. Os isótopos escolhidos, livres de interferências isobáricas foram: $^{75}\text{As}^+$, $^{53}\text{Cr}^+$, $^{60}\text{Ni}^+$, $^{78}\text{Se}^+$, $^{82}\text{Se}^+$ e $^{51}\text{V}^+$. A **Tabela 2** mostra as condições operacionais do equipamento. As curvas analíticas foram preparadas na faixa de 0,2 a 25 $\mu\text{g L}^{-1}$, em meio de ácido nítrico 2,0%, a partir de uma solução multielementar de concentração 500 $\mu\text{g L}^{-1}$, contendo todos os elementos de interesse. A solução multielementar foi preparada a partir da solução padrão de 1000 mg L^{-1} de cada elemento. Tanto nas soluções para a curva analítica como para as amostras foi necessário o ajuste da acidez para 2,0 % v/v (0,28 mol L^{-1} de HNO_3), conforme recomendação do fabricante do equipamento. Em todas as soluções foram adicionados 5 μL de solução multielementar contendo os elementos Sc, Ge, Rh e Tl, utilizados como padrão interno, a cada replicata da amostra e também a cada ponto da curva analítica.



Figura 18. Espectrômetro de massa com fonte de plasma (Equipamento 1).

Tabela 2. Condições operacionais do ICP-MS (Equipamento 1).

| Parâmetros | Valores |
|--|--|
| Potência de RF (W) | 1300 |
| Extração, V | -184 |
| Tempo de parada, MS | 10 |
| Vazões dos gases: | |
| Plasma (L min ⁻¹) | 13 |
| Auxiliar (L min ⁻¹) | 0,7 |
| Nebulizador (L min ⁻¹) | 0,89 |
| Fluxo gás cela colisão/reação (L min ⁻¹) | 0,18 |
| Condições | ¹⁴⁰ Ce ¹⁶ O ⁺ / ¹⁴⁰ Ce ⁺ <2% e ¹³⁷ Ba ⁺⁺ / ¹³⁷ Ba ⁺ <3% |
| Fenda diferencial (DA), V | -40,8 |
| Medições, scans | 3 - 30 |
| Modo de análise | Peak Jump |
| Dwell time (ms) | 10 |
| Replicatas | 3 |
| Sweeps | 100 |
| Inclinação Hexapole, V | -4,0 |
| Sinal ¹¹⁵ IN (1 mg L ⁻¹) | > 40 kcps |
| Gás CCT | H ₂ /He |
| Fluxo do Gás CCT (L min ⁻¹) | 6,5 |

1.4.6 Descrição do Equipamento 2

A espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente empregando interface de reação/colisão (ICP-QMS) foi avaliada para o aperfeiçoamento da exatidão na determinação sequencial de As, Cr, Ni, Se e V, nas amostras dos materiais de referência certificado. O equipamento 2 é um espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado modelo 820-MS (Varian) com arranjo “double off-axis” em 90° para extração e focalização dos íons (**Figura 19**). Um nebulizador concêntrico, uma câmara de nebulização de duplo passo do tipo Scott e um amostrador automático (SPS3, Varian) compõem o sistema de introdução de amostras. O estudo foi realizado no modo padrão (sem CRI) e com diferentes vazões de H₂ ou He (60, 80 e 100 mL min⁻¹) introduzidos através do cone *skimmer*. Foram avaliados também o uso ou não de cada padrão interno (Sc, Ge, Rh e Tl) na determinação dos analitos

de interesse. Na **Tabela 3** estão ilustradas as condições operacionais utilizadas para as determinações de As, Cr, Ni, Se e V nos CRMs.



Figura 19. Espectrômetro de massa com fonte de plasma (Equipamento 2).

Tabela 3. Condições operacionais do ICP-MS (Equipamento 2).

| Parâmetros | Valores |
|---|---------|
| Potência de RF (W) | 1400 |
| Gerador de radiofrequência (MHz) | 27 |
| Diâmetro interno do tubo injetor (mm) | 2 |
| Vazões dos gases: | |
| Plasma (L min ⁻¹) | 18 |
| Auxiliar (L min ⁻¹) | 1,8 |
| Nebulizador (L min ⁻¹) | 1 |
| Sheath gas (L min ⁻¹) | 0,18 |
| Profundidade de amostragem (mm) | 5,5 |
| Dwell time (s) | 10 |
| Scans/Replicata | 20 |
| Replicatas | 5 |
| Cone de amostragem e <i>skimmer</i> | Ni |
| Temperatura da câmara de nebulização (°C) | 2 |

1.4.7 Validação do Método

Segundo BRASIL (2003) a validação dos métodos analíticos deve garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. No Brasil, há duas agências credenciadoras para verificar a competência de laboratórios de ensaio, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e o INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial).

A validação dos métodos analíticos é de extrema importância para qualquer metodologia desenvolvida. Além disso, as qualidades das medições analíticas estão sendo cada dia mais exigidas e reconhecidas. Para que o método atenda as exigências, algumas características analíticas típicas são necessárias e deverão apresentar: exatidão, precisão, linearidade, sensibilidade, faixa de aplicação, seletividade, reprodutibilidade e estabilidade adequada às análises (BRASIL, 2003).

Neste trabalho alguns destes parâmetros foram avaliados no processo de validação, são eles: Faixa de trabalho e linearidade, precisão, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ) e exatidão.

1.4.7.1 Linearidade e Faixa de trabalho

A faixa de trabalho do método foi definida como o intervalo entre os níveis inferior e superior de concentração do analito de interesse, no qual foi demonstrado ser possível a determinação com precisão, exatidão e linearidade exigidas sob as condições específicas para cada ensaio realizado. A faixa de trabalho foi definida através de análise preliminar das amostras, utilizando uma faixa de concentração de 0,5 a 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ para os elementos As, Cr, Ni, Se e V. A linearidade do método foi avaliada a partir do coeficiente de correlação calculado e a sensibilidade a partir da inclinação das curvas analíticas

(CHIARADIA, 2009). A ANVISA recomenda um coeficiente de correlação maior ou igual a 0,999 (BRASIL, 2003).

1.4.7.2 Precisão

A precisão é a medida do nível de concordância entre os resultados do teste analítico aplicado repetidamente a várias amostragens de uma mesma amostra sob condições definidas. Obtido os valores dos resultados destas repetições, são calculados a média, o desvio padrão (SD) e o coeficiente de variação (CV). A precisão é dada em termos de percentagem de uma série de medidas, sendo expressa por meio da repetibilidade e reprodutibilidade do método analítico em condições normais de operação (VALENTINI *et al.*, 2007).

De acordo com RIBANI *et al.* (2004), os métodos que quantificam compostos em quantidades macro requerem CV entre 1 a 2%. No caso das análises de elementos-traço ou impurezas, são aceitáveis CV de até 20%, a depender da complexidade da matriz. Neste estudo, a precisão foi avaliada pela repetibilidade (vinte repetições) em amostra da espécie *Macoma constricta*, para as concentrações de 5 e 20 µg L⁻¹, para cada isótopo no mesmo dia.

1.4.7.3 Limite de detecção (LOD) e Limite de quantificação (LOQ)

Os limites de detecção e quantificação foram calculados segundo as recomendações da IUPAC (TEMPLETON, 2000) e utilizando a concentração equivalente no sinal de fundo de acordo com a equação abaixo:

$$LOD = \frac{3 \times BEC \times R.S.D}{100}$$

$$LOQ = \frac{10 \times BEC \times R.S.D}{100}$$

$$BEC = \frac{C_{Sr}}{SBR}$$

$$SBR = \frac{I_{Sr} - I_{Br}}{I_{Br}}$$

RSD: desvio padrão relativo para 10 medidas da solução do branco;

BEC: concentração equivalente ao sinal de fundo;

C_{Sr} : concentração da solução multi-elementar de referência ($5 \mu\text{g L}^{-1}$);

SBR: relação entre o sinal analítico e o sinal de fundo;

I_{Sr} : intensidade do sinal da solução multi-elementar de referência;

I_{Br} : intensidade de sinal do branco.

1.4.7.4 Exatidão

A exatidão do método é representada pelos resultados por ele obtidos comparados com o valor referência aceito como verdadeiro. Para verificação da exatidão são geralmente utilizados materiais de referência certificado, comparações interlaboratoriais, ensaios de recuperação e adição padrão (Dos Santos, 2009). Para verificação da exatidão foram utilizados três materiais de referência certificados: 1566b SRM *Oyster tissue*, NRC TORT-2 *Lobster Hepatopancreas* e 2977 SRM *Mussel tissue*.

1.5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Serão apresentados aqui os resultados dos experimentos realizados nos dois espectrômetros de massa com plasma indutivamente acoplado, com o objetivo de avaliar a potencialidade dos dois equipamentos na eliminação de interferentes para determinação de As, Cr, Ni, Se e V. Para todo o estudo foram utilizados três materiais de referência certificados: 1566b SRM *Oyster tissue*, NRC TORT-2 *Lobster Hepatopancreas* e 2977 SRM *Mussel tissue*.

1.5.1 Resultados obtidos utilizando ICP-MS (Equipamento 1)

O estudo realizado no ICP-MS da THERMO Xseries^{II} foi conduzido no modo padrão (sem a introdução de gases) e no modo CCT com KED (usando como gás de reação/colisão a mistura 7,0% (v/v) H₂ em He). A validação do método foi efetuada a partir da avaliação dos parâmetros analíticos: faixa de trabalho, exatidão (recuperação), limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ).

Os parâmetros operacionais do ICP-MS estão descritos na **Tabela 2**. Os isótopos selecionados no modo normal de operação do equipamento foram: ⁷⁵As⁺, ⁵²Cr⁺, ⁵³Cr⁺, ⁶⁰Ni⁺, ⁷⁸Se⁺, ⁸²Se⁺ e ⁵¹V⁺. Para o modo com cela de colisão, os isótopos foram: ⁷⁵As⁺, ⁵²Cr⁺, ⁵³Cr⁺, ⁶⁰Ni⁺, ⁸⁰Se⁺, e ⁵¹V⁺.

1.5.1.1 Linearidade e Faixa de trabalho

A linearidade do método foi obtida com o intuito de serem conseguidos resultados diretamente proporcionais às concentrações dos analitos nas amostras, utilizando uma faixa de concentração de 0,5 a 25 µg L⁻¹, para os elementos As, Cr, Ni, Se e V. A linearidade do método foi avaliada a partir do coeficiente de correlação calculado, e a sensibilidade a partir da inclinação das curvas analíticas. A **Tabela 4** apresenta a relação do coeficiente de correlação e a equação de calibração dos analitos por ICP-MS (n=3).

Os coeficientes de correlação linear (r) foram todos acima de 0,999, bem próximo da unidade, expressando assim uma boa linearidade entre a área do analito e a concentração, tendo em vista o menor valor aceitável pela ANVISA, (BRASIL, 2003).

Tabela 4. Relação do coeficiente de correlação e equação de calibração dos analitos por ICP-MS (n=3).

| Isótopo | ^a Coeficiente de Correlação (r) | ^b Coeficiente de Correlação (r) | ^a Equação de calibração | ^b Equação de calibração |
|-------------------------------|--|--|------------------------------------|------------------------------------|
| ⁷⁵ As ⁺ | 0,9998 | 0,9998 | y= 4508,27 – 161,34 | y=2899,89 + 464,94 |
| ⁵² Cr ⁺ | 0,9998 | 0,9997 | y= 23699,87 + 9773,66 | y= 13320,61 + 765,98 |
| ⁵³ Cr ⁺ | 0,9997 | 0,9997 | y= 2732,64 + 4453,16 | y= 1569,11 + 1556,02 |
| ⁶⁰ Ni ⁺ | 0,9998 | 0,9998 | y= 5430,64 + 1521,47 | y= 4220,39 + 1174,72 |
| ⁷⁸ Se ⁺ | - | 0,9994 | - | y= 1113,47 + 7795,37 |
| ⁸⁰ Se ⁺ | 0,9998 | - | y= 1145,22 + 456,15 | - |
| ⁸² Se ⁺ | 0,9998 | 0,9998 | y= 213,33 + 149,89 | - |
| ⁵¹ V ⁺ | 0,9998 | 0,9998 | y= 23316,96 + 13102,13 | y= 8803,73 – 3776,21 |

a: Modo padrão

b: CCT-KED

1.5.1.2 Limite de detecção e quantificação

Os valores para LOD e LOQ, expressos em $\mu\text{g L}^{-1}$ para os analitos são mostrados na **Tabela 5**.

Tabela 5. Figuras de mérito para a calibração: LOD (Limite de detecção) e LOQ (Limite de quantificação) expressos em $\mu\text{g L}^{-1}$, para o ICP-MS (Equipamento 1).

| | Modo Padrão | | | Modo CCT-KED | |
|-------------------------------|-------------|-------|-------------------------------|--------------|-------|
| | LOD | LOQ | | LOD | LOQ |
| ⁷⁵ As ⁺ | 0,006 | 0,019 | ⁷⁵ As ⁺ | 0,530 | 1,767 |
| ⁵² Cr ⁺ | 0,008 | 0,025 | ⁵² Cr ⁺ | 0,050 | 0,165 |
| ⁵³ Cr ⁺ | 0,008 | 0,027 | ⁵³ Cr ⁺ | 0,080 | 0,268 |
| ⁶⁰ Ni ⁺ | 0,011 | 0,037 | ⁶⁰ Ni ⁺ | 1,269 | 4,229 |
| ⁷⁸ Se ⁺ | 0,166 | 0,553 | ⁸⁰ Se ⁺ | 0,704 | 2,346 |
| ⁸² Se ⁺ | 0,025 | 0,083 | ⁵¹ V ⁺ | 0,031 | 0,102 |
| ⁵¹ V ⁺ | 0,002 | 0,006 | | | |

1.5.1.3 Precisão

A precisão foi determinada em termos de percentagem de uma série de medidas, sendo expressa por meio da repetibilidade do método analítico em condições normais de operação. Neste estudo, a precisão foi avaliada pela repetibilidade (vinte repetições) nas concentrações de 5 e 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ para cada isótopo no mesmo dia. Os resultados obtidos para o Modo Padrão e Modo CCT-KED, estão apresentados na **Figura 20 e 21**, respectivamente.

O desvio padrão foi calculado para cada nível de concentração investigada na faixa de trabalho. Observando os resultados mostrados nas **Figuras 20 e 21**, nota-se que os valores de RSD encontram-se abaixo do limite de 20% quando se faz análises de elementos-traço em amostras complexas. Pode-se concluir através destes resultados que o método apresenta boa precisão para a determinação dos diferentes isótopos em ambos os modos (Padrão e CCT-KED), no tipo de amostra estudada.

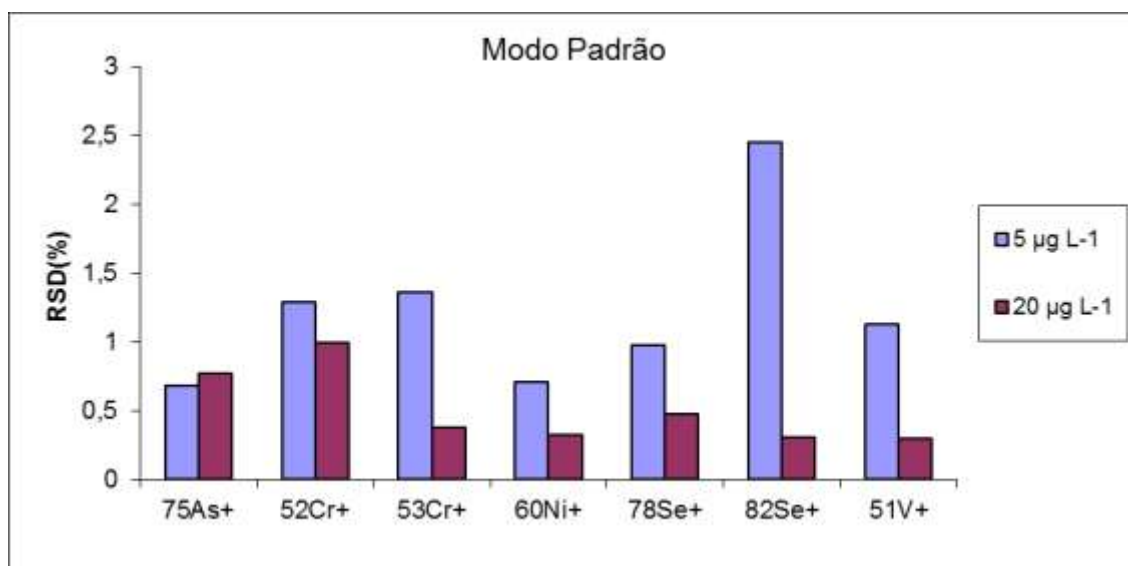


Figura 20. Repetibilidade para As, Cr, Ni, Se e V no modo padrão usando ICP-MS (Equipamento 1).

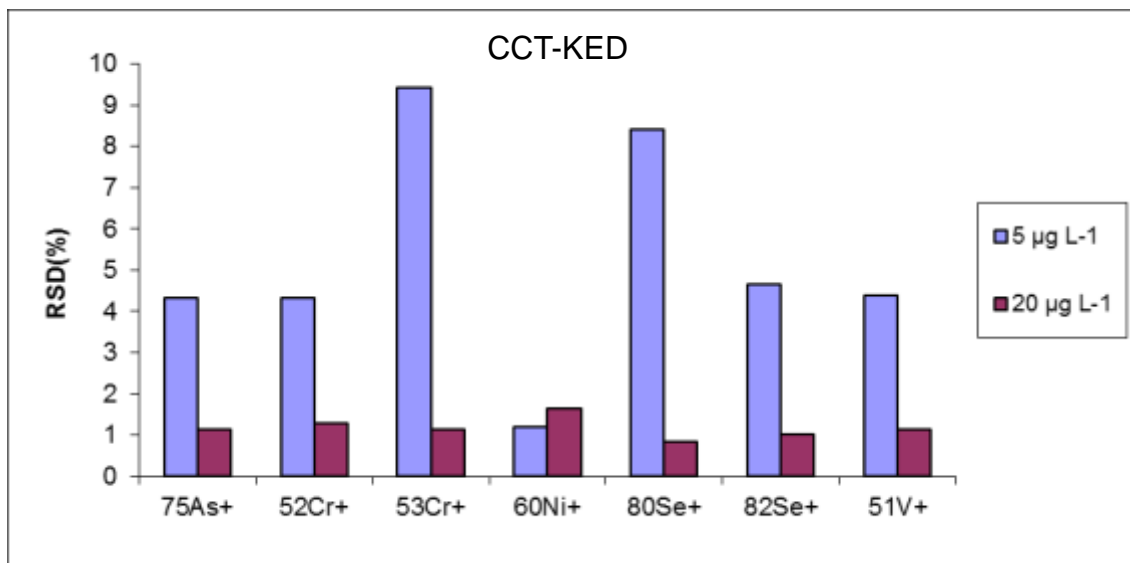


Figura 21. Repetibilidade para As, Cr, Ni, Se e V no modo CCT-KED usando ICP-MS (Equipamento 1).

1.5.1.4 Exatidão

Três materiais de referência certificados foram usados para avaliação da exatidão: 1566b SRM *Oyster tissue*, NRC TORT-2 *Lobster Hepatopancreas* e 2977 SRM *Mussel tissue*. Os resultados estão apresentados na **Tabela 6**.

A aplicação do *test t* pareado demonstrou que todos os teores determinados para os isótopos estudados (com exceção do $^{80}\text{Se}^+$ e $^{82}\text{Se}^+$ no Modo CCT em Tecido de Molusco e Hepatopâncreas de Lagosta), são concordantes com os valores certificados, com 95% de confiança, tanto no modo padrão quanto no modo CCT-KED. De um modo geral, melhores percentuais de recuperação nos materiais de referência certificados foram obtidos utilizando o Modo Padrão de operação do equipamento.

Tabela 6. Determinação de $^{75}\text{As}^+$, $^{52}\text{Cr}^+$, $^{53}\text{Cr}^+$, $^{60}\text{Ni}^+$, $^{78}\text{Se}^+$, $^{80}\text{Se}^+$, $^{82}\text{Se}^+$ e $^{51}\text{V}^+$ ($\mu\text{g g}^{-1}$, média \pm Intervalo de confiança, n=3) em materiais de referência certificados usando ICP-MS (Equipamento 1).

| Isótopo | Tecido de Ostra | | | Hepatopâncreas de Lagosta | | | Tecido de Molusco | | |
|--------------------|-----------------|------------------|-----------------|---------------------------|------------------|-----------------|-------------------|------------------|-----------------|
| | Modo Padrão | CCT-KED | Certificado | Modo Padrão | CCT-KED | Certificado | Modo Padrão | CCT-KED | Certificado |
| $^{75}\text{As}^+$ | 7,62 \pm 0,43 | 5,34 \pm 0,05 | 7,65 \pm 0,65 | 15,09 \pm 0,34 | 18,95 \pm 0,17 | 21,6 \pm 1,80 | 7,64 \pm 0,39 | 5,93 \pm 0,44 | 8,83 \pm 0,91 |
| $^{52}\text{Cr}^+$ | 0,60 \pm 0,01 | 0,31 \pm 0,06 | ND | 0,86 \pm 0,03 | 0,87 \pm 0,03 | 0,77 \pm 0,15 | 3,76 \pm 0,25 | 3,09 \pm 0,23 | 3,91 \pm 0,47 |
| $^{53}\text{Cr}^+$ | 0,85 \pm 0,01 | < LOQ | ND | 1,03 \pm 0,19 | < LOQ | 0,77 \pm 0,15 | 3,60 \pm 0,07 | 2,73 \pm 0,46 | 3,91 \pm 0,47 |
| $^{60}\text{Ni}^+$ | 1,08 \pm 0,01 | 0,97 \pm 0,09 | 1,04 \pm 0,09 | 2,28 \pm 0,17 | 2,31 \pm 0,22 | 2,50 \pm 0,19 | 5,80 \pm 0,67 | 5,18 \pm 0,39 | 6,06 \pm 0,24 |
| $^{78}\text{Se}^+$ | 1,45 \pm 0,20 | ND | 2,06 \pm 0,15 | 5,33 \pm 0,29 | ND | 5,63 \pm 0,67 | 1,76 \pm 0,10 | ND | 1,78 \pm 0,16 |
| $^{80}\text{Se}^+$ | ND | 1,91 \pm 0,004 | 2,06 \pm 0,15 | ND | 5,89 \pm 0,10 | 5,63 \pm 0,67 | ND | 2,77 \pm 0,008 | 1,78 \pm 0,16 |
| $^{82}\text{Se}^+$ | 2,30 \pm 0,13 | 2,62 \pm 0,03 | 2,06 \pm 0,15 | 5,90 \pm 0,02 | 10,03 \pm 0,03 | 5,63 \pm 0,67 | 1,84 \pm 0,07 | 8,65 \pm 0,71 | 1,78 \pm 0,16 |
| $^{51}\text{V}^+$ | 0,64 \pm 0,02 | 0,25 \pm 0,002 | 0,58 \pm 0,02 | 1,66 \pm 0,14 | 1,50 \pm 0,06 | 1,64 \pm 0,19 | 1,19 \pm 0,11 | 0,73 \pm 0,07 | ND |

ND: Não determinado;

1.5.2 Resultados obtidos utilizando ICP-MS (Equipamento 2)

O estudo realizado no ICP-MS da Varian 820-MS foi com o intuito de investigar o desempenho de uma interface de colisão e reação (CRI) na remoção de interferentes que possam dificultar a determinação de As, Cr, Ni, Se e V em três amostras de materiais de referência certificados: 1566b SRM *Oyster tissue*, NRC TORT-2 *Lobster Hepatopancreas* e 2977 SRM *Mussel tissue*. Esse equipamento possui os cones de amostragem e *skimmer* com aberturas que possibilitam a introdução de gases para promoção de reações e/ou colisões, e um arranjo “double off-axis” em 90° para a extração e focalização dos íons. Os experimentos foram realizados com a introdução dos gases H₂ ou He através do cone *skimmer* (nas vazões de 60, 80 e 100 mL min⁻¹), para a remoção de espécies poliatômicas que interferem na determinação dos isótopos de interesse.

Inicialmente foram realizados testes no modo padrão e no modo CRI nas vazões (60, 80 e 100 mL min⁻¹) dos gases H₂ ou He sem a utilização de padrão interno. Os resultados evidenciaram que recuperações satisfatórias para alguns dos materiais de referência foram obtidas no Modo Padrão para ⁵¹V⁺, ⁵⁸Ni⁺, ⁶⁰Ni⁺, ⁷⁵As⁺ e ⁷⁷Se⁺. Para o estudo no modo CRI, somente foram obtidas recuperações satisfatórias utilizando a vazão do gás He a 80 mL min⁻¹ para ⁶⁰Ni⁺ e ⁷⁷Se⁺.

Diante desses resultados foi realizado um estudo mais criterioso no modo normal (sem CRI) e CRI He 80 utilizando desta vez padrão interno (Ge, Sc, Rh, Tl), para a redução de interferentes nas determinações de As, Cr, Ni, Se e V. Os melhores resultados foram obtidos neste estudo para todos os materiais de referência certificados nas condições listadas na **Tabela 7**.

Tabela 7. Condições otimizadas para As, Cr, Ni, Se e V no modo normal e CRI no ICP-MS (Equipamento 2).

| $^{51}\text{V}^+$ | $^{52}\text{Cr}^+$ | $^{58}\text{Ni}^+$ | $^{75}\text{As}^+$ | $^{77}\text{Se}^+$ |
|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Modo Padrão c/ PI | | Modo Padrão c/ PI | | |
| CRI He 80 c/ PI | CRI He 80 c/ PI | CRI He 80 c/ PI | CRI He 80 c/ PI | CRI He 80 s/ PI |

PI: Padrão Interno

1.5.2.1 Exatidão

Para todos os isótopos foram obtidas as melhores condições utilizando CRI na vazão 80 mL min⁻¹ de He no cone *skimmer*. Logo, essa condição foi considerada como ótima na determinação de As, Cr, Ni, Se e V nos materiais de referência certificado. Os resultados obtidos na avaliação da exatidão do método estão apresentados na **Tabela 8**.

Tabela 8. Determinação de $^{75}\text{As}^+$, $^{52}\text{Cr}^+$, $^{58}\text{Ni}^+$, $^{77}\text{Se}^+$ e $^{51}\text{V}^+$ ($\mu\text{g g}^{-1}$, média \pm Intervalo de confiança, n=3) em materiais de referência certificados usando ICP-MS (Equipamento 2)

| Isótopo | 1566b SRM <i>Oyster tissue</i> | | NRC TORT-2 <i>Lobster</i> <i>Hepatopancreas</i> | | 2977 SRM <i>Mussel tissue</i> | |
|--------------------|-----------------------------------|-------------------|--|-----------------|----------------------------------|-----------------|
| | Determinado | Certificado | Determinado | Certificado | Determinado | Certificado |
| $^{75}\text{As}^+$ | 7,56 \pm 0,51 | 7,65 \pm 0,65 | 22,3 \pm 3,80 | 21,6 \pm 1,80 | 9,13 \pm 0,98 | 8,83 \pm 0,91 |
| $^{52}\text{Cr}^+$ | ND | ND | 0,79 \pm 0,19 | 0,77 \pm 0,15 | 3,87 \pm 0,79 | 3,91 \pm 0,47 |
| $^{58}\text{Ni}^+$ | 0,897 \pm 0,28 | 1,04 \pm 0,09 | 2,15 \pm 0,34 | 2,50 \pm 0,19 | 5,37 \pm 0,86 | 6,06 \pm 0,24 |
| $^{77}\text{Se}^+$ | 1,77 \pm 0,01 | 2,06 \pm 0,15 | 6,00 \pm 0,06 | 5,63 \pm 0,67 | 1,77 \pm 0,01 | 1,78 \pm 0,16 |
| $^{51}\text{V}^+$ | 0,51 \pm 0,09 | 0,577 \pm 0,023 | 1,70 \pm 0,16 | 1,64 \pm 0,19 | 1,09 \pm 0,02 | ND |

Modo CRI (He 80) utilizando Tálcio como padrão interno para $^{58}\text{Ni}^+$; e Germânio para $^{75}\text{As}^+$, $^{52}\text{Cr}^+$ e $^{51}\text{V}^+$;
Modo CRI (He 80) sem a utilização de padrão interno para o $^{77}\text{Se}^+$;

ND: Não determinado

O teste *t-student* foi aplicado nos resultados obtidos na determinação dos isótopos em cada material de referência certificado. O teste estatístico comprovou que os resultados para todos os isótopos não foram

significativamente diferentes dentro de um nível de 95% de confiança, mostrando assim a aplicabilidade da utilização da CRI He 80 na determinação de As, Cr, Ni, Se e V, com recuperações na faixa de 82,2 a 106,6 %.

1.5.2.2 Limites de detecção e quantificação

A **Tabela 9** apresenta os valores dos limites de detecção e quantificação para todos os isótopos estudados utilizando ICP-MS He 80 mL min⁻¹.

Tabela 9. Limites de detecção e quantificação para As, Cr, Ni, Se e V utilizando ICP-MS (Equipamento 2) com He 80 mL min⁻¹.

| Isótopo | Padrão Interno | LOD (µg L ⁻¹) | LOQ (µg L ⁻¹) |
|-------------------------------|----------------|---------------------------|---------------------------|
| ⁷⁵ As ⁺ | Germânio | 0,004 | 0,014 |
| ⁵² Cr ⁺ | Germânio | 0,127 | 0,423 |
| ⁵⁸ Ni ⁺ | Tálio | 0,039 | 0,129 |
| ⁷⁷ Se ⁺ | - | 0,517 | 1,722 |
| ⁵¹ V ⁺ | Germânio | 0,023 | 0,075 |

1.5.2.3 Precisão

A precisão foi avaliada pela repetibilidade (vinte repetições) utilizando solução padrão nas concentrações de 5 e 20 µg L⁻¹ para cada isótopo no mesmo dia. Os resultados obtidos estão apresentados na **Figura 22**.

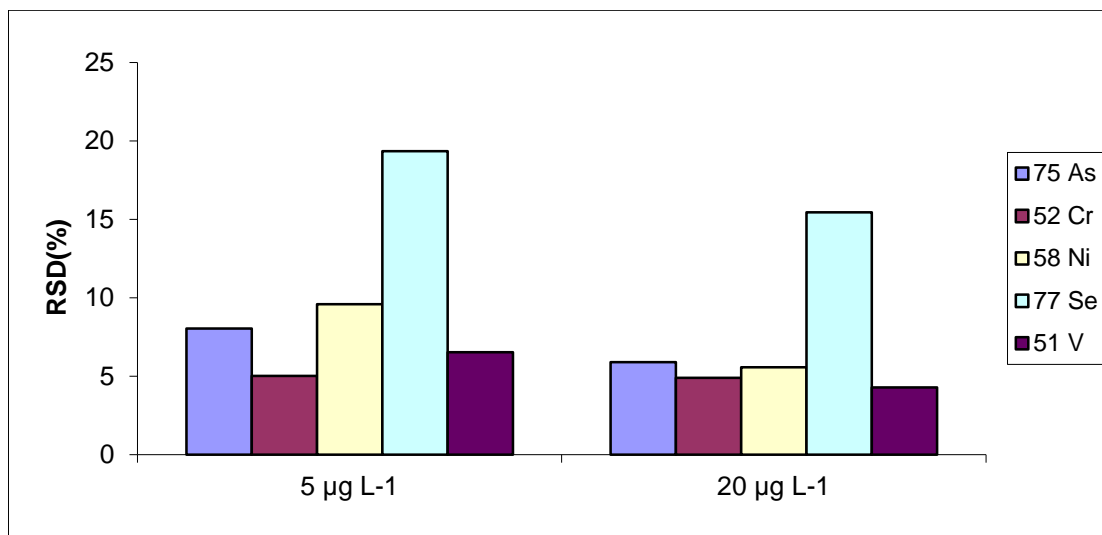


Figura 22. Repetibilidade para As, Cr, Ni, Se e V utilizando ICP-MS (Equipamento 2) com He 80 mL min⁻¹.

Observando os resultados obtidos, foi possível constatar que os valores de RSD para ⁷⁵As⁺, ⁵²Cr⁺, ⁵⁸Ni⁺, ⁷⁷Se⁺ e ⁵¹V⁺ encontram-se dentro do limite estabelecido (20%) para todas as duas concentrações das soluções padrões na amostra.

1.5.2.4 Linearidade e Faixa de Trabalho

A linearidade do método foi determinada com o intuito de conseguir resultados diretamente proporcionais às concentrações dos analitos nas amostras, utilizando uma faixa de concentração de 1,0 a 200 µg L⁻¹ para os elementos As, Cr, Ni, Se e V. A avaliação foi feita a partir do coeficiente de correlação calculado e a sensibilidade a partir da inclinação das curvas analíticas. A **Tabela 10** apresenta a relação do coeficiente de correlação e a equação de calibração dos analitos por ICP-MS (Equipamento 2) (n=3).

Tabela 10. Relação do coeficiente de correlação e equação de calibração dos analitos por ICP-MS (Equipamento 2) (n=3).

| Isótopo | Coeficiente de Correlação (r) | Equação de calibração |
|-------------------------------|-------------------------------|-----------------------|
| ⁷⁵ As ⁺ | 0,9999 | y = 0,0429x + 0,0295 |
| ⁵² Cr ⁺ | 0,9999 | y = 0,6916x + 1,3945 |
| ⁵⁸ Ni ⁺ | 0,9999 | y = 0,0204x + 0,0282 |
| ⁷⁷ Se ⁺ | 0,9990 | y = 0,8356x + 0,7262 |
| ⁵¹ V ⁺ | 0,9998 | y = 0,4255x + 0,0674 |

Os coeficientes de correlação linear (r) foram todos iguais ou superiores a 0,999, bem próximo da unidade, expressando assim uma boa linearidade entre a área do analito e a concentração, tendo em vista o menor valor aceitável pela ANVISA (BRASIL, 2003).

1.5.3 Comparação entre o Equipamento 1 e o Equipamento 2 na determinação de As, Cr, Ni, Se e V em amostras de molusco da espécie *Macoma constricta*

A comparação do desempenho analítico dos dois equipamentos na quantificação de As, Cr, Ni, Se e V em 2 amostras de moluscos bivalves foi realizada. As **Tabelas 11 e 12** apresentam os valores das concentrações obtidas para cada analito estudado, pelos equipamentos 1 e 2.

Tabela 11. Comparação entre os equipamentos 1 e 2 na quantificação de As, Cr, Ni, Se e V na Amostra 1 de molusco bivalve.

| Analito | Amostra 1 – Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$) | |
|---------|---|------------------|
| | Equipamento 1 | Equipamento 2 |
| As | 39,82 \pm 0,57 | 42,52 \pm 0,58 |
| Cr | 4,24 \pm 0,08 | 4,22 \pm 0,13 |
| Ni | 24,90 \pm 0,23 | 23,86 \pm 0,83 |
| Se | 6,53 \pm 0,18 | 6,65 \pm 0,22 |
| V | 4,21 \pm 0,05 | 4,23 \pm 0,13 |

Tabela 12. Comparação entre os equipamentos 1 e 2 na quantificação de As, Cr, Ni, Se e V na Amostra 2 de molusco bivalve.

| Analito | Amostra 2 – Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$) | |
|---------|---|-------------------|
| | Equipamento 1 | Equipamento 2 |
| As | 154,87 \pm 0,67 | 152,19 \pm 1,88 |
| Cr | 5,82 \pm 0,43 | 5,79 \pm 0,60 |
| Ni | 39,59 \pm 1,11 | 41,57 \pm 2,02 |
| Se | 9,95 \pm 0,41 | 10,03 \pm 0,10 |
| V | 6,01 \pm 0,33 | 6,13 \pm 0,26 |

A aplicação do teste *t* para os valores encontrados nas Tabelas 11 e 12 mostraram que não há diferença significativa entre os dois equipamentos (1 e 2) na determinação de As, Cr, Ni, Se e V. Considerando a disponibilidade do Equipamento 1, o procedimento analítico validado foi aplicado para determinação desses analitos em amostras de *Macoma constricta*.

1.5.4 Determinação de Níquel e Vanádio no molusco bivalve *Macoma constricta* por ICP-MS

As **Figuras 23 e 24** apresentam os valores das médias e desvio padrões, em $\mu\text{g g}^{-1}$, em peso seco, para V e Ni determinados, considerando-se todas as amostragens realizadas em 6 pontos da BTS em dois períodos: seco e chuvoso. As determinações de V e Ni foram realizadas utilizando ICP-MS, com o programa otimizado no tópico 3.1 deste trabalho.

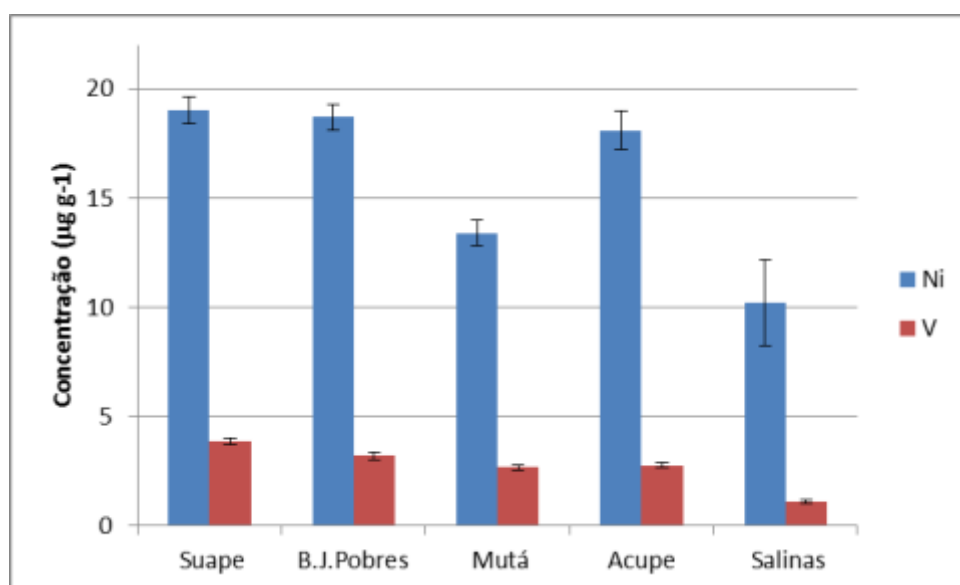


Figura 23. Concentração em peso seco de Ni e V em amostras de molusco da espécie *Macoma constricta* na região da BTS, no período seco, em 2010.

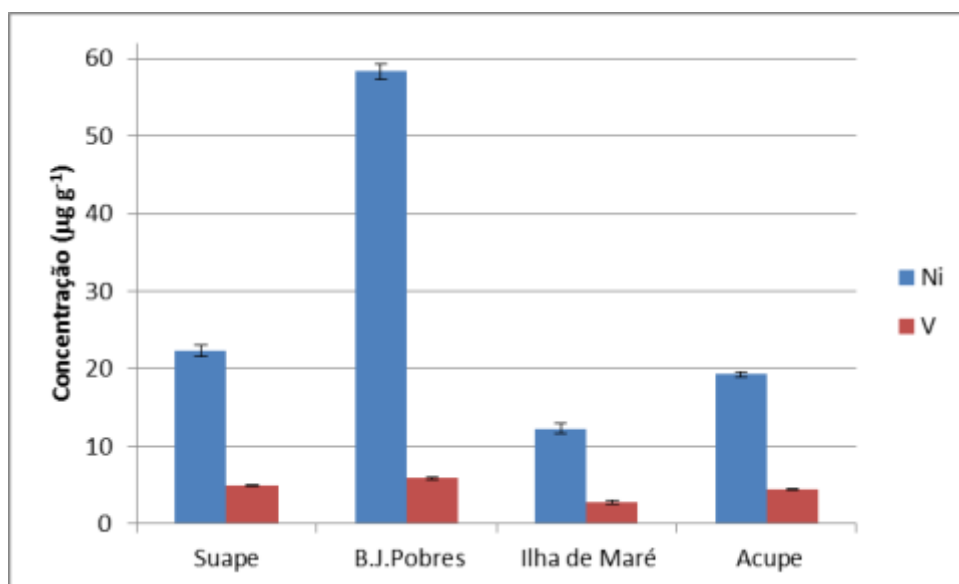


Figura 24. Concentração em peso seco de Ni e V em amostras de molusco da espécie *Macoma constricta* na região da BTS, no período chuvoso, em 2011.

Para facilitar a comparação entre as concentrações máximas permitidas pela ANVISA, os resultados estão expressos em peso úmido, visto que os bivalves são consumidos na forma úmida. O limite de tolerância para produtos alimentícios indicados de acordo com a ANVISA para Ni é de $5 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido. O limite de tolerância para moluscos bivalves indicados de acordo com a FDA (2007) para Ni é de $80 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco. As maiores concentrações obtidas para Ni no primeiro período de campanha foram de 3,99; 3,88 e $3,80 \mu\text{g g}^{-1}$ para as localidades de Suape (Madre de Deus), Bom Jesus dos Pobres e Acupe respectivamente. Para as regiões de Mutá e Salinas as concentrações de Ni foram de 2,81 e $2,14 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente. Para as coletas realizadas no segundo período de campanha, as concentrações obtidas para o Ni foram de 4,24; 11,6 e $3,48 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido para as localidades de Suape (Madre de Deus), Bom Jesus dos Pobres e Acupe respectivamente. Para a região de Ilha de Maré, a concentração de Ni foi de $2,12 \mu\text{g g}^{-1}$ em peso úmido. Comparando os valores obtidos com os recomendados pela ANVISA, nota-se que de todas as áreas, apenas em Bom Jesus dos Pobres (segundo período), a concentração de Ni foi superior ao valor preconizado para o consumo. Já na comparação dos valores obtidos neste trabalho com a FDA (2007), pode-se

constatar que os valores estão a níveis abaixo do valor preconizado por esta instituição. De maneira geral, os teores obtidos para níquel na espécie *Macoma constricta* no segundo período de amostragem foram maiores do que os valores encontrados no primeiro período de amostragem nas regiões de Suape e Bom Jesus dos Pobres. Neste último local o valor encontrado para o Ni foi 3 vezes maior do que no primeiro período de amostragem. Outros estudos devem ser realizados na região para que se possa inferir algum tipo de contaminação por este elemento.

CARVALHO (2006) avaliou o teor de metais a níveis de traço na espécie *Anomalocardia brasiliiana* coletada em dois períodos entre 2002 e 2004 na BTS em zonas no interior do manguezal na região de São Francisco do Conde e Madre de Deus – Recôncavo Baiano. A determinação de Ni foi realizada utilizando ICP OES. Os resultados obtidos mostraram concentrações do Ni variando de $<0,45 - 1,67 \mu\text{g g}^{-1}$.

EMERENCIANO *et al.* (2008) determinaram vários metais-traço, dentre eles o Níquel em amostras de mexilhões (*Anomalocardia brasiliiana*) coletadas no Estuário Potengi/Jundiaí no RN. A determinação dos metais foi realizada utilizando o método da espectrofotometria de absorção atômica. Os resultados obtidos para Ni para os resíduos secos e amostra *in natura* foram de 0,46 e 0,07 mg/100g, respectivamente.

De ARAUJO *et al.* (2010) caracterizaram o molusco *Anadara notabilis* (conhecido como Xibiu ou Búzio) a respeito de vários metais de caráter toxicológico. Dentre estes o Ni, com o objetivo de comparar os teores apresentados com os valores permitidos pela legislação. A determinação dos analitos foi realizada por ICP OES descrito pela metodologia USEPA 6010C. O níquel apresentou valor médio de $4,23 \text{ mg kg}^{-1}$, estando este próximo do valor permitido pela legislação brasileira de 5 mg kg^{-1} , considerando os organismos *in natura*.

O limite de tolerância para V em moluscos indicados de acordo com World Health Organization (WHO, 1988) para V é de $0,77 \text{ mg kg}^{-1}$ (peso úmido). As maiores concentrações obtidas para V no primeiro período de amostragem (**Figura 23**) foram de 0,81; 0,67 e $0,58 \mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido) para

as localidades de Suape (Madre de Deus), Bom Jesus dos Pobres e Acupe respectivamente. Para as regiões de Mutá e Salinas as concentrações de V foram de 0,56 e 0,41 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente. Para as coletas realizadas no segundo período de amostragem (**Figura 24**), as concentrações obtidas para V foram de 1,03; 1,23 e 0,95 $\mu\text{g g}^{-1}$ para as localidades de Suape (Madre de Deus), Bom Jesus dos Pobres e Acupe, respectivamente. Para a região de Ilha de Maré, a concentração de V foi de 0,58 $\mu\text{g g}^{-1}$. De um modo geral, as concentrações obtidas para vanádio na *Macoma constricta* no primeiro período estavam com valores abaixo do preconizado pela WHO (1988), com exceção de Suape (Madre de Deus), onde a concentração ultrapassou aquele valor. No segundo período de coleta os valores obtidos para todos os pontos de coleta foram maiores do que os valores encontrados no primeiro período de amostragem nas regiões de Suape, Bom Jesus dos Pobres e Acupe. Comparando os valores obtidos no segundo período de coleta com o recomendado pela WHO (1988), nota-se que todas as localidades apresentam concentrações de Vanádio superiores ao valor preconizado para moluscos, com exceção para Ilha de Maré.

A região de Acupe é bastante influenciada pelo rio Subaé. A estação Suape é conhecida como área contaminada, principalmente devido às atividades petrolíferas desenvolvidas pela RLAM (Refinaria Landulpho Alves de Mataripe), a exploração, transporte e refino de petróleo. A localidade de Bom Jesus dos Pobres foi atingida por contaminação química recentemente, quando mais de 50 toneladas de peixes, mariscos e crustáceos foram encontrados mortos no litoral. As regiões de Mutá e Salinas podem ser consideradas como áreas de controle, visto que são regiões pouco ou não impactadas diretamente por processos envolvendo atividades petrolíferas ou de outras indústrias.

1.5.5 Determinação por ICP-MS de As, Cr e Se em molusco bivalve *Macoma constricta*

Na Tabela 13 estão apresentados os valores das médias e desvio padrão de As, Cr e Se, em $\mu\text{g g}^{-1}$ em molusco bivalve da espécie *Macoma constricta* para as amostragens realizadas no entorno da BTS nos períodos seco e chuvoso. Para facilitar a comparação com as concentrações máximas permitidas pela ANVISA, os resultados estão expressos em peso úmido.

Tabela 13. Resultados obtidos neste trabalho para a determinação de As, Cr e Se em mariscos da espécie *Macoma constricta* em seis pontos ao longo da BTS em $\mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido).

| Isótopo | As | | Cr | | Se | |
|----------------|--------------|--------------|-------------|-------------|--------------|-------------|
| | P. Seco | P. Chuvoso | P. Seco | P. Chuvoso | P. Seco | P. Chuvoso |
| Acupe | 7,16 ± 0,46 | 7,69 ± 0,25 | 0,23 ± 0,02 | 0,40 ± 0,02 | 1,41 ± 0,13 | 0,94 ± 0,05 |
| BJP | 19,93 ± 0,12 | 32,66 ± 0,20 | 1,35 ± 0,21 | 0,57 ± 0,01 | 10,15 ± 0,30 | 2,15 ± 0,30 |
| IM | ND | 3,13 ± 0,03 | ND | 0,27 ± 0,02 | ND | 0,86 ± 0,04 |
| MDD | 6,10 ± 0,79 | 4,85 ± 0,08 | 0,39 ± 0,08 | 0,35 ± 0,01 | 1,44 ± 0,20 | 1,05 ± 0,06 |
| Mutá | 7,83 ± 0,69 | ND | 0,33 ± 0,04 | ND | 1,20 ± 0,07 | ND |
| Salinas | 8,04 ± 0,48 | ND | 0,27 ± 0,02 | ND | 1,41 ± 0,10 | ND |
| CMP | 1,0 | 1,0 | 0,1 | 0,1 | 0,3 | 0,3 |

ND= Não determinado

CMP= Concentração máxima permitida (ANVISA, 1998)

IM= Ilha de Maré

A tolerância de ingestão diária de As está baseada na exposição à espécie na forma inorgânica. Comparando os valores encontrados para o As

em todas as regiões em ambos os períodos, verifica-se que todas ultrapassam os valores preconizados pela ANVISA. Entretanto, a análise de especiação realizadas nas amostras da *M. Constricta* constataram que o arsênio na forma de Arsenobetaína (AsB) é a principal espécie presente nos tecidos deste bivalve. As espécies Arsenito (Arsênio (III)) e o ácido dimetilarsônico (DMA) estavam presentes na *M. Constricta* em menores concentrações quando comparado à AsB. O ácido monometilarsônico (MMA) e arseniato (Arsênio (V)) estavam abaixo do limite de quantificação (SANTOS *et al.* 2013). Segundo De SOUZA *et al.* (2012), altas concentrações de As parecem estar associadas a fontes naturais desse elemento presente na BTS.

Os valores obtidos por HYDROS (2004) para o As em Mutá e Acupe na região da BTS apresentaram concentrações de As de $1,1 \pm 0,3$ e $1,8 \pm 0,4 \mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido) respectivamente para a espécie *Macoma constricta*. Os teores de As obtidos foram na faixa de 2,9 a $11,7 \mu\text{g g}^{-1}$ (peso seco) para a *Macoma constricta* coletadas na BTS. Comparando esses resultados com os obtidos neste trabalho, verifica-se que os níveis de As em ambas as regiões aumentaram, o que representa um incremento deste elemento na região.

Os teores encontrados para o Cr em todas as regiões nos dois períodos apresentaram valores bem superiores ao aceitável pela ANVISA de $0,1 \mu\text{g g}^{-1}$ (peso úmido), sendo assim necessário um controle ambiental das fontes de emissão deste elemento para o ambiente. No relatório HYDROS (2004) as médias gerais para a concentração do Cr na espécie *Macoma constricta* foi de $0,5 \pm 0,2$ e $1,3 \pm 0,4$ para as regiões de Mutá e Acupe, respectivamente. Para ambas as regiões, esses valores estão acima dos valores encontrados neste trabalho.

O selênio é conhecido como micronutriente essencial para grande parte dos animais, entretanto, em concentrações elevadas é considerado como tóxico. Os detritos orgânicos nos sedimentos é a fonte mais importante fonte para a contaminação da cadeia alimentar, podendo causar sérios danos à biota. Os valores encontrados neste trabalho para o Se em todas as áreas se apresentaram acima do limite estabelecido pela legislação brasileira em vigor de $0,3 \mu\text{g g}^{-1}$ que fixa limites máximos de tolerância de Se em alimentos (peso

úmido). Em peso seco, os valores encontrados neste estudo nas diferentes áreas variaram de 4,09 a 48,3 $\mu\text{g g}^{-1}$ em peso seco. Esses valores são semelhantes aos obtidos por LOBEL *et al.* (1991) quando analisaram moluscos bivalves em ambientes relativamente não impactados da Austrália, com concentrações variando de 1,3 a 11 $\mu\text{g g}^{-1}$, com exceção para o valor obtido em Bom Jesus dos Pobres, no qual a concentração média foi de 48,3 $\mu\text{g g}^{-1}$. Entretanto, outros estudos precisam ser realizados para melhor compreender o comportamento do Se nos moluscos bivalves e no meio ambiente.

1.6 CONCLUSÕES

A técnica de ICP-MS se mostrou bastante eficaz para a determinação de elementos-traço em amostras de moluscos bivalves. As calibrações e figuras de mérito mostraram que ambos os modos apresentaram boa linearidade, sensibilidade e adequados limites de detecção e quantificação para As, Cr, Ni, Se e V nas amostras de material de referência certificado. A aplicação do teste *t* pareado demonstrou que para a determinação de todos os isótopos estudados nos MRC (com exceção dos isótopos $^{80}\text{Se}^+$ e $^{82}\text{Se}^+$ no modo CCT em Tecido de Molusco e Hepatopâncreas de Lagosta) são concordantes com os valores certificados com 95% de confiança tanto no Modo Padrão quanto no Modo CCT-KED. Para as análises de amostras de mariscos, o modo padrão de operação do equipamento foi escolhido por apresentar melhores percentuais de recuperação nos materiais de referência certificados, quando comparados ao modo CCT-KED.

Para o estudo no modo CRI, somente foram obtidas recuperações satisfatórias utilizando a vazão do gás He a 80 mL min^{-1} para $^{60}\text{Ni}^+$ e $^{77}\text{Se}^+$. Estudos mais criteriosos foram realizados no modo normal (sem CRI) e CRI He 80 utilizando desta vez padrão interno (Ge, Sc, Rh, Tl) para a redução de interferentes nas determinações de As, Cr, Ni, Se e V. A utilização da CRI He 80 mL min^{-1} no cone *skymmer* com padrão interno foi o modo mais eficiente na determinação de As, Cr, Ni e V, e sem padrão interno para Se, com recuperações na faixa de 82,2 a 106,6 %, para os diferentes MRCs.

O estudo demonstrou a viabilidade do uso de um ICP-MS equipado com a CRI para a eliminação de interferências poliatômicas na determinação de As, Cr, Ni, Se e V. A introdução do gás He 80 mL min⁻¹ através do cone *skimmer* foi mais eficiente do que o gás H₂ e, conseqüentemente, pode deduzir que os processos colisionais são predominantes em relação aos processos reacionais.

A aplicação do teste *t* a 95% de confiança mostrou que não há diferença significativa entre os dois equipamentos (1 e 2) na determinação de As, Cr, Ni, Se e V, possibilitando a determinação destes analitos nas amostras de moluscos bivalves de maneira satisfatória para a avaliação de possível contaminação de moluscos de diferentes pontos da BTS.

De maneira geral, os teores obtidos para níquel e vanádio na espécie *Macoma constricta* no segundo período de amostragem foram maiores do que os valores encontrados no primeiro período em todos os pontos de amostragem. Os valores de concentração encontrados para Ni foram superiores ao valor preconizado pela ANVISA, para consumo. Já na comparação dos valores obtidos neste trabalho com a FDA, pode-se constatar que os valores estão a níveis abaixo do valor preconizado por essa instituição. Para o V todas as localidades apresentam concentrações superiores ao valor preconizado para o consumo humano de moluscos pela WHO (1988).

As concentrações de As, Cr e Se no bivalve *Macoma constricta* foram todas superiores aos valores máximos permitidos pela ANVISA, 1998, que fixa limites máximos de tolerância de contaminantes químicos em alimentos. No caso do As, a análise de especiação realizadas nesta espécie constataram que o arsênio na forma de Arsenobetaína (AsB) é a principal espécie presente nos tecidos deste bivalve.

1.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADACHI, A.; OGAWA, K.; TSUSHI, Y.; NAGAO, N.; KOBAYAH, T. Determination of Vanadium in Environmental Samples by Atomic Absorption Spectrophotometry, **Water Res.**, v. 31 (5), p. 1247-1250, 1997.

AMADO FILHO, G. M.; SALGADO, L. T.; REBELO, M. F.; REZENDE, C. E.; KAREZ, C. S.; PFEIFFER, W. C., Heavy metals in benthic organisms from Todos os Santos Bay, Brazil, **Braz. J. Biol.**, v. 68 (1), p. 95-100, 2008.

ANVISA. *Portaria n^o 33, de 13 de janeiro de 1998*. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/33_98.htm>. Acesso em: 02maio2012.

ARRUDA, E. P.; DOMANESCHI, O.; AMARAL, A. C. Z., Mollusc feeding guilds on sandy beaches in São Paulo State, Brazil, **Mar. Biol.**, v. 143, p. 691-701, 2003.

BIANCHI, S. R.; AMAIS, R. S.; PEREIRA, C. D.; SALAZAR, R. F. S.; NÓBREGA, J. A.; NOGUEIRA, A. R. A., Evaluation of a collision-reaction interface (CRI) for carbono effect correction on chromium determination in environmental samples by ICP-MS, **Anal. Let.**, v. 45, p. 2845-2855, 2012.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária; Resolução RE n^o 899, de 29 de maio de 2003, **DOU**, 02/06/2003.

CARVALHO, R. M. W. N., Determinação de íons metálicos em moluscos bivalves do manguezal da região petrolífera de São Francisco do Conde – Recôncavo Baiano, **Tese (Doutorado)**, Campinas, São Paulo, Brasil, p. 1-181, 2006.

CELINO, J. J; QUEIROZ, A. F. S., Fonte e grau da contaminação por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) de baixa massa molecular em sedimentos da Baía de Todos os Santos, Bahia. **R. Esc. Minas**, Ouro Preto, v. 59 (3), p. 265-270, 2006.

CdB. *Conquiliologia Brasil*, 2012. Disponível em: <<http://www.conchasbrasil.org.br/conquiliologia/>> Acesso em: 10 de janeiro de 2013.

CHIARADIA, M. C., Desenvolvimento, validação e aplicação de métodos para análise multirresidual de agrotóxicos em suco de laranja e tangerina utilizando CLAE-DAD, CL-EM-EM e CLUE-DAD, **Tese (Doutorado)**, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 119 f., 2009.

COIMBRA, J. M. S. C. D., Controlo de qualidade aplicado à análise de água de consumo por ICP-MS, **Dissertação (Mestrado)**, Universidade de Aveiro, Aveiro, Portugal, 242 f., 2007.

CONTI, M. E.; BOCCA, B.; LACOBUCCI, M.; FINOIA, M. G.; MECOZZI, M.; PINO, A.; ALIMONTI, A. Baseline trace metals in Seagrass, algae and mollusks in a Southern Tyrrhenian ecosystem (Linosa Island, Sicily), **Arch. Environ. Contam. Toxicol**, v. 58, p. 79-95, 2010.

CORREIA, A. L., Histórico da deposição de elementos traço na Bacia Amazônica Ocidental ao longo do século XX, **Tese (Doutorado)**, Universidade de São Paulo, São Paulo, 205 f., 2003.

CREPLIVE, M. R. Remoção de Vanádio a partir de Catalisadores Termodinamicamente Estáveis, **Dissertação (Mestrado)**, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 105f., 2008.

Da ROCHA, G. O.; GUARIEIRO, A. L. N.; de ANDRADE, J. B.; EÇA, G. F.; de ARAGÃO, N. M.; AGUIAR, R. M.; KORN, M. G. A.; BRITO, G. B.; MOURA, C. W. N.; HATJE, V. Contaminação na Baía de Todos os Santos, **Rev. Virtual Quim.**, v. 4 (5), p. 583-610, 2012.

Das NEVES, D. R., Avaliação de interface de reação e colisão para eliminar interferências poliatômicas na análise de etanol combustível por ICP-MS, **Dissertação (Mestrado)**, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 78 f., 2010.

De ARAUJO, M. A. U.; De MOURA, M. F. V.; De CARVALHO, G. B., Determinação de metais classificados como de importância toxicológica no molusco bivalve *Anadara notabilis* (Roding, 1798) Encontrado em galinheiros, Rio Grande do Norte, Brasil, **Acta Toxicol. Argent.**, v. 18(2), p. 54-58, 2010.

De SOUZA, M. M.; WINDMOLLER, C. C.; HATJE, V., Shellfish from Todos os Santos Bay, Bahia, Brasil: Treat or threat?, **Mar. Pollut. Bull.**, v. 62, p. 2254-2263, 2011.

Decreto nº.1.530, de 22 de junho de 1995. **Declara a entrada em vigor da Convenção das Nações Unidas sobre o Direito do Mar, concluída em Montego Bay, Jamaica, em 10 de dezembro de 1982.** Disponível em: <http://https://www.dpc.mar.mil.br/sta/legislacao/Decreto/DECRETO1530_95_CNDUM.pdf>. Acessado em 14/01/2013.

Dos SANTOS, G. L., Determinação de cádmio e chumbo em tecidos de cetáceos por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, **Dissertação (Mestrado)**, Salvador, Bahia, 92 f., 2009.

Dos SANTOS, S. B., Elementos traço em soro sanguíneo medidos pelo método PIXE e ICP-MS, **Dissertação (Mestrado)**, 147 f., Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

DUTRA, M. J. A.; dos SANTOS, D. M.; COELHO, N. M. M., Comparação de procedimentos analíticos para preparo de amostras para determinação de cálcio e magnésio em leite, **Rev. Anal.**, nº 12, p. 36-40, 2004.

EMERENCIANO, D.P.; DA SILVA, H.F.O.; CARVALHO, G.C.; CRUZ, A.M.F.; MOURA, M.F.V. Análise da ocorrência de metais: bário, cádmio, chumbo, cromo, estanho, níquel e zinco, em mexilhão (*Anomalocardia brasiliiana*) coletados no Estuário Potengi/Jundiaí- RN. **Publica IV**. 01-09, 2008.

FIALHO, L. L.; PEREIRA, D. P.; NÓBREGA, J. A., Combination of cool plasma and collision-reaction interface for correction of polyatomic interferences on copper signals in inductively coupled plasma quadrupole mass spectrometry, **Spectrochim. Acta Part B**, v. 66, p. 389-393, 2011.

Food and Drug Administration (FDA), Guide for the control molluscan shellfish. U. S., Department of Health and Human Services, Public Health Service, **NSSP**, 547 f., 2007.

FREEDMAN, B. Environmental Ecology: the ecological effects of pollution, disturbance, and other stresses. [S.l.]: **Academic Press**, p. 588, 1995.

GALVÃO, P. M. A.; REBELO, M. F.; GUIMARÃES, J. R. D.; TORRES, J. P. M.; MALM, O., Bioacumulação de metais em moluscos bivalves: Aspectos evolutivos e ecológicos a serem considerados para a biomonitoração de ambientes marinhos. **Braz. J. Aquat. Sci. Technol**, v. 13 (2), p. 59-65, 2009.

GINÉ-ROSIAS, M. F., Espectrometria de massa com fonte de plasma. (ICP-MS)., Seção Técnica de Biblioteca – CENA/USP, Piracicaba, p. 118: il., 1999.

GUEIFÃO, S.; COELHO, I.; CASTANHEIRA, I., Determinação de metais pesados por ICP-MS e especiação química por HPLC-ICP-MS, **Inst. Nac. Dr. Ricardo Jorge**, IP, 2011.

HATJE, V.; de ANDRADE, J. B. Baía de Todos os Santos: aspectos oceanográficos - Introdução, **EDUFBA**, p. 1-306, 2009.

HEDGE, L. H.; KNOTT, N. A.; JOHNSTON, E. L.. Dredging related metal bioaccumulation in oysters, **Mar. Pollut. Bull.**, v. 58, p. 832-840, 2009.

HYDROS, Diagnóstico do grau de contaminação da Baía de Todos os Santos por metais pesados e hidrocarbonetos de petróleo a partir da análise das suas concentrações nos sedimentos de fundo e na biota associada - VOLUME I – Caracterização geral da Baía de Todos os Santos, **Governo da Bahia**, p. 1-366, 2004.

JESUS, R. S., Metais traço em sedimentos e no molusco bivalve *Anomalocardia brasiliiana* (GMELIN, 1791), Municípios de Madre de Deus e de Saubara, Bahia., **Dissertação (Mestrado)**, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, 100f, 2011.

JU, Y. R.; CHEN, W. Y.; SINGH, S.; LIAO, C. M., Trade-offs between elimination and detoxification in rainbow trout and common bivalve molluscs exposed to metal stressors, **Chemosphere**, v. 85, p. 1048-1056, 2011.

LACERDA, L. D.; MARTINS, R. V. Geoquímica de Sedimentos e o Monitoramento de Metais na Plataforma Continental Nordeste Oriental do Brasil, **Geo. Brasiliensis**, v 20 (1), p. 123-135, 2006.

LEME, A. B. P., Análise quimiométrica de méis brasileiros, **Dissertação (Mestrado)**, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, São Paulo, 99 f., 2012.

LIBES, S. M. An introduction to Marine Biogeochemistry. New York: **John Wiley and Sons Inc.**, p. 734, 1992.

LIMA, V. F.; MERÇON, L. F., Metais Pesados no Ensino de Química, **QNEsc**, v. 33 (4), p. 199-205, 2011.

LIMA, E. A. R.; SIQUEIRA, G. W.; LIMA, W. N. Utilização dos critérios de avaliação ambiental de metais pesados nos sedimentos de fundo da plataforma continental do Amazonas, **Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi**. Ciências Naturais, Belém, v. 1 (1), p. 105-114, 2006.

LOBEL, P. B.; LOGERICH, H. P.; JACKSON, S. E.; BELKHODE, S. P., A major factor contributing to the high degree of unexplained variability of some elements concentrations in biological tissue: 27 elements in 5 organs of the mussel *Mytilus edulis* as a model. **Arch. Environ. Com. Tox.**, v. 21, p. 118-125, 1991.

MAIA C.B.; ALMEIDA A.C.M.; MOREIRA F.R. Avaliação do Teor de Chumbo em Mexilhões da Espécie *Perna perna* na Região Metropolitana da Cidade do Rio de Janeiro. **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.**, v. 1 (2), p. 195-198, 2006.

MARTINIANO, L. C. Validação de um método para determinação de metais em microemulsões de combustíveis por voltametria de redissolução. **Tese (Doutorado)**, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 104f., 2009.

MELO, A. S. Q. Métodos Analíticos para Avaliação e Controle de Vanádio e Cobre em Água de Mar e Efluentes de Refinaria de Petróleo, **Tese (Doutorado)**, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, 176f., 2003.

MENEGÁRIO, A. A., Curso de espectrometria de massas com fonte de plasma (ICP-MS), Capítulo IV – O sistema ICP-ME (instrumentação), UFBA, 2010.

MIGUEL, C. S.; MACHADO, L. M.; BEBIANNO, M. J. Concentrações de Cd, Cu e Zn em mexilhões *Mytilus galloprovincialis* e *Lapas patella* áspera, ao longo da Costa Algarvia (Sul de Portugal). **Ecotoxicol. Environ., Rest.**, nº 2, p. 1-6, 1999.

MILAZZO, A. D. D., Biodisponibilidade e bioconcentração de metais em ecossistema manguezal do estuário do rio São Paulo, Baía de Todos os Santos, Bahia, Brasil. **Dissertação (Mestrado)**, Universidade Federal da Bahia, Bahia, Brasil, 87f., 2011.

NARCHI, W., The relationship between the unilateral siphonal organ and labial palps of *Macoma constricta* (Bruguière, 1792) (Bivalvia: Tellinidae), **J. Moll. Stud.**, v. 69, p. 359–363, 2003.

NASCIMENTO, R. S., Aplicação de métodos quimiométricos para a determinação de constituintes inorgânicos em leite materno por ICP-MS e ICP OES, **Dissertação (Mestrado)**, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, p. 140 f, 2008.

NUNES, J. A., Desenvolvimento de método para determinação de Ag, As, Cd, Co, Mn, ni, Pb e Se em sangue por espectrometria de massas com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) utilizando diluição das amostras em meio alcalino, **Dissertação (Mestrado)**, Faculdade de Ciências Farmacêutica de Ribeirão Preto – USP, 77 f., 2009.

ONOFRE, C. R. E.; CELINO, J. J.; NANO, R. M. W.; QUEIROZ, A. F. S., Biodisponibilidade de metais traço nos sedimentos de manguezais da porção norte da Baía de Todos os Santos, Bahia, Brasil., **Rer. Biol. Ciênc. Terra**, V. 7 (2), p. 65-82, 2007.

PEIXOTO, E. M. A. Vanádio, Química Nova na Escola, Nº 24, p. 1, 2006.

PEREIRA, L. F. C. B.; CAMARGO, S. L.; LIMA, U. F.; HELENO, C. A. C., VI-072 – A contribuição do programa Bahia Azul na elaboração de ferramentas para gestão ambiental da Baía de Todos os Santos, **21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**, p.1-13, 2001.

PEREIRA, C. D., Avaliação e correção de interferências na determinação de As e Se por técnicas com plasma acoplado indutivamente, **Tese (Doutorado)**, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, São Paulo, 150 f., 2012.

PIFFER, P. R.; ARRUDA, E. L.; PASSOS, F. D., The biology and functional morphology of *Macoma biota* (Bivalvia: Tellinidae: Macominae), **Zoologia**, v. 28 (3), p. 321-333, 2011.

PINTO, G. H. V. P., A Importância da Determinação de Metais Pesados nos Derivados de Petróleo, **Monografia (Graduação)**, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Rio Grande do Norte, p. 1-60, 2006.

PINTO, F. G., Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de terras raras, Th, U e Y em rochas, solos e sedimentos por ICP-MS, **Tese (Doutorado)**, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 119 f., 2010.

QUEIROZ, A. F. S.; CELINO, J. J. Impacto ambiental da indústria petrolífera em manguezais da região norte da Baía de Todos os Santos (Bahia, Brasil), **Bol. Par. Geoc.**, n. 62-63, p. 23-34, 2008.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C.; COLLINS, C.; JARDIM, I.; MELO, L. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Quim. Nova**, v. 27 (5), p. 771–780, 2004.

RIBEIRO, A. P. Determinação de metais pesados e outros elementos de interesse em sedimentos lacustre da estação de tratamento de esgoto de Barueri, São Paulo, por ativação neutrônica. **Dissertação (Mestrado)**, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 85f., 2002.

RIBEIRO, G. A., Utilização do modelo aera-werf para a avaliação do risco ecológico em ambientes aquáticos relacionados com atividades petrolíferas, **TCC**, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, Espírito Santo, 86f., 2008.

RODRIGUES, A. M. L., Ecologia populacional do molusco bivalve *Anomalocardia brasiliiana* (GMELIN, 1791) (Bivalvia, veneridae) em praias da região estuarina do rio Apodi/Mossoró-RN. **Dissertação (Mestrado)**, Universidade Federal Rural do Semi-Árido-UFERSA, Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil, 94f., 2009.

SANTOS, C. M. M.; NUNES, M. A. G.; BARBOSA, I. S.; SANTOS, G. L.; PESO-AGUIAR, M. C.; KORN, M. G. A.; FLORES, E. M. M.; DRESSLER, V. L., Evaluation of microwave and ultrasound extraction procedures for arsenic speciation in bivalve mollusks by liquid chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometry, **Spectrochim. Acta Part B**, v. 86, p. 108-114, 2013.

SARAIVA, J. A. P. Baía de Todos os Santos: vulnerabilidades e ameaças. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Federal da Bahia. Escola Politécnica, Salvador, 191f., 2008.

SILVA, C. A. R.; RAINBOW, P. S.; SMITH, B. D.; SANTOS, Z. L. Biomonitoring of trace metal contamination in the Potengi estuary, Natal (Brasil), using the Oyster *Crassostrea rhizophorae*, a local food source. **Wat. Res.**, v. 35 (17), p. 4072-4078, 2001.

SKAPHANDRUS, http://skaphandrus.com/pt/marine_species/info/species/Macoma_constricta, acessado no dia 18/01/2013 às 10:05.

SOARES, L. S. H. S.; SALLES, A. C. R.; LOPEZ, J. P.; MUTO, E. Y.; GIANNINI, R., Baía de Todos os Santos: aspectos oceanográficos - Pesquisa e produção pesqueira, **EDUFBA**, p. 1-306, 2009.

SOUZA, M.C.M.B.N. Avaliação em nível de rastreamento do risco toxicológico para a saúde humana por ingestão de invertebrados marinhos: Baía de Todos os Santos, Bahia, Brasil. (**Monografia em Oceanografia**), Universidade Federal da Bahia, 2010.

TAPIA, J.; VARGAS-CHACOFF, L.; BERTRÁN, C.; CARRASCO, G.; TORRES, F.; PINTO, R.; URZÚA, S.; VALDERRAMA, A.; LETELIER, L., Study of the content of cádmium, chromium and lead in bivalve molluscs of the Pacific Ocean (Maule Region, Chile), **Food Chem.**, v. 121, p. 666-671, 2010.

THOMAS, R., A Beginner's Guide to ICP-MS, Part XII – A review of interferences, **Spectroscopy**, v. 17 (10), p. 24-31, 2002.

VALENTINI, S. R.; SOMMER, W. A.; MATIOLI, G., Validação de métodos analíticos. **Arq Mudi.**, v. 11(2), p. 26-31, 2007.

VIRGA, R. H. P., Análise quantitativa de metais pesados (Cd, Cr, Cu, Pb e Zn) em siris-azuis do gênero *Callinectes sp* (Crustacea, Portunidae), provenientes do rio Cubatão, Cubatão, São Paulo, Brasil. **Dissertação (Mestrado)**, Universidade Católica de Santos, Santos, Brasil, 105f., 2006.

WHO, Guidelines for safe recreational Waters – **Waters Environ.**, Coastal and Fresh-Waters, Geneva, v. 1, p. 208, 1998.

Capítulo 2

Análise de Especificação de Vanádio em Amostras de Sedimentos Empregando Extração Alcalina e Determinação por ICP OES.

2.1 INTRODUÇÃO

O sedimento é o compartimento do sistema aquático onde são depositados os compostos minerais, estruturas de animais e vegetais que não foram totalmente decompostos. A poluição nos sedimentos tem origem em várias fontes dentre as quais se destacam: efluentes domésticos e industriais, carga difusa urbana e agrícola. Onde existem atividades portuárias, depósitos de resíduos industriais e urbanos, a situação ainda é mais crítica. O acúmulo e a redistribuição de espécies nos sedimentos os qualificam como de extrema importância em estudos de impacto ambiental, sendo que a análise dos sedimentos registra em caráter mais permanente, os efeitos da contaminação. Os sedimentos têm sido utilizados como indicadores da poluição por metais, devido à sua habilidade de integrar descargas liberadas no sistema (SAMPAIO, 2003; HORTELLANI *et al.*, 2008).

Na avaliação de risco ecológico por poluentes químicos é de grande importância quantificar as concentrações de substâncias livremente dissociadas para caracterização aproximada da fração biodisponível. Os íons metálicos podem ser distribuídos no ambiente circundante em forma de íons livres-hidratados, complexos orgânicos e inorgânicos dissolvidos e metais associados em partículas coloidais. Além disso, algumas dessas formas citadas podem existir em estados de oxidação diferentes dependendo do íon metálico e das condições do ambiente. A toxicidade dos contaminantes não deve ser avaliada apenas pelo teor total da espécie, pois a biodisponibilidade e os efeitos toxicológicos vão depender da forma química em que se encontram os metais no meio ambiente. Dessa forma, a especiação química assume uma grande importância ambiental (CHIMUKA e MAJOR, 2004; BISINOTI e JARDIM, 2004; PIRES *et al.*, 2011).

O Vanádio é um elemento relativamente tóxico para o ser humano e animais. No entanto, a níveis vestigiais, o vanádio é considerado essencial, possuindo funções essenciais ao crescimento de células. No entanto, pode ser considerado tóxico em altas concentrações. As atividades antrópicas são as principais fontes de liberação deste elemento para o ambiente. Dentre essas

atividades podem se destacar os processos de combustão de óleo, seguido da combustão do carvão. A poluição ambiental devido ao vanádio tornou-se um problema sério com o aumento da queima de óleos combustíveis e carvão de acordo com aumento do consumo recente desses combustíveis. Logo, o monitoramento cuidadoso deste elemento se faz necessário (BERMEJO-BARRERA, 2000; ADACHI, 1997).

Os estados de oxidação múltiplos conferem um nível de complexidade para a química do vanádio bem superior ao de muitos metais. Portanto, uma determinação precisa das diferentes espécies de vanádio é importante para avaliar a compreensão de suas funções biológicas e fisiológicas, bem como da sua toxicidade. A toxicidade do vanádio vai depender do seu estado de oxidação e da sua solubilidade. Com base na toxicidade, o vanádio (V) na forma de vanadato é mais tóxico do que o vanádio (IV) presente na forma de íons vanadilo. Por possuírem propriedades nutricionais e de toxicidade diferentes, estas duas espécies justificam a necessidade de estudos a serem executados, no intuito de desenvolver metodologias que visem à especiação de vanádio em amostras reais. Assim, é importante separar e quantificar as espécies de vanádio presentes nas amostras ambientais, a fim de avaliar o seu potencial risco para o meio ambiente e sistemas biológicos (PYRZYNSKA, 2004; WU, 2005; LI, 2007).

2.2 OBJETIVO GERAL

Utilização de um método simples e adequado para extração de V(V) em amostras de sedimentos marinhos.

2.2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Validar o procedimento proposto através da avaliação dos limites de detecção e quantificação, da faixa de trabalho, exatidão e precisão;
- ✓ Levantar os primeiros dados de especiação de V(V) em amostras de sedimentos provenientes de diferentes regiões da Baía de Todos os Santos (BTS);
- ✓ Estimar as concentrações de V(IV) para avaliar qual o estado de oxidação predominante para o vanádio nas amostras de sedimentos marinhos.

2.3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.3.1 Especiação química

Nos últimos anos, a industrialização aliada ao rápido crescimento urbano, bem como algumas atividades agrícolas, aumentaram o risco de contaminação de ambientes naturais, tais como a água, o solo, o ar e principalmente os sedimentos. Em muitas regiões, os impactos gerados pela exploração dos recursos naturais, descarga de resíduos industriais e urbanos para o ambiente, começou a superar a resiliência do ambiente. Dentre os contaminantes ambientais mais comuns, tem-se destaque para os metais, especialmente os metais-traço, por serem não degradáveis, permanecendo por longo tempo no ambiente, principalmente nos sedimentos, representando uma ameaça à biodiversidade bem como aos ecossistemas (BISINOTI e JARDIM, 2004; De OLIVEIRA e MARTINS, 2011).

A quantidade de metais em uma dada matriz ambiental é importante. Entretanto, os valores determinados não refletem a disponibilidades desses elementos para predizer a ecotoxicologia destes no ambiente. A toxicidade desses contaminantes não deve ser avaliada apenas pelo teor total da espécie, pois a biodisponibilidade e os efeitos tóxicos dependem da forma química em que os metais se encontram no ambiente. Dessa forma, a especiação química assume uma grande importância ambiental (BISINOTI e JARDIM, 2004; PIRES *et al.*, 2011).

Segundo a IUPAC, especiação química é “a forma específica de um elemento: composição isotópica, estado de oxidação ou eletrônico, estrutura molecular ou complexo” (TEMPLETON *et al.*, 2000). De acordo com (URE, 1991), o termo especiação química pode ser definido como sendo um processo ativo de identificação e quantificação das diferentes formas ou fases de determinadas espécies na qual um elemento ocorre em um material, ou a descrição das quantidades e tipos das espécies, formas ou fases presentes no material.

A determinação de metais em amostras ambientais pode ser realizada por várias técnicas analíticas. Entretanto, no caso da especiação química de metais está cada vez mais complicado de se realizar em química analítica, uma vez que é essencial definir o nível toxicológico de metais nos diferentes estados de oxidação para o ambiente. Vários trabalhos enfocando a especiação de metais tem sido de interesses de pesquisadores, com muitos trabalhos encontrados na literatura. Pode-se encontrar na literatura vários trabalhos utilizando diferentes técnicas para especiação de metais em matrizes ambientais, tais como: os métodos espectrométricos (ICP-MS, ICP OES, GF AAS, FAAS), métodos cromatográficos (CG-MS e HPLC) e os métodos eletroforéticos. Vale ressaltar também a hifenação de técnicas, importantes para resolver problemas relacionados à sensibilidade analítica (SANTOS *et al.* 2009).

2.3.2 O Elemento Vanádio

O histórico de descoberta do vanádio inicia-se em 1801, na cidade do México pelo químico e mineralogista espanhol Don Andrés Manuel del Río (1764-1849), no mineral vanadinita, proveniente de Zimapán, México. Inicialmente ele deu ao vanádio o nome de pancrómio em alusão à variedade de cores dos seus compostos, para em seguida denominá-lo de eritrônio (do grego erythros, que significa vermelho) por causa da cor vermelha dos seus sais quando o metal era tratado com ácidos; entretanto, mais tarde, ele pensou que o encontrado nada mais era do que um composto de cromo impuro (talvez cromato de chumbo) (PEIXOTO, 2006; CREPLIVE, 2008).

Este elemento foi redescoberto em 1830 pelo sueco Nils Gabriel Sefstrm (1787-1845). A origem do nome é devido a Vanadis, a deusa nórdica da beleza na mitologia Escandinávia. Este nome foi escolhido por causa das belas cores dos compostos de vanádio quando em solução. Em 1867, o vanádio foi obtido de uma forma pura pelo químico inglês Henry Enfield Roscoe, mediante a redução do tricloreto de vanádio (VCl_3) com hidrogênio (RIBEIRO, 2005; PEIXOTO, 2006).

2.3.3 Propriedades Químicas e Ocorrência

O Vanádio é um metal de transição do bloco d da tabela periódica, possui configuração [Ar] 3d³ 4s², de número atômico 23 e massa molar 50,9415 g mol⁻¹, sendo o vigésimo elemento mais abundante da crosta terrestre, em peso, e o quinto entre os metais de transição (MELO, 2003; AMORIM 2007).

O elemento vanádio possui estados de oxidação que variam desde o estado -1 (d⁶) ao estado +5 (d⁰). No entanto, os estados de oxidação mais comuns são os estados +3, +4 e +5, os quais podem ser estáveis em solução aquosa e são as únicas formas que possuem algum significado biológico nos organismos vivos. O vanádio é, no estado puro, um elemento metálico, brilhante, prateado, dúctil, existindo usualmente na forma de cristais. Na **Tabela 14** estão apresentadas algumas propriedades físico-químicas do vanádio (SILVA, 2008).

Os íons de Vanádio +2 e +3 são facilmente oxidados pelo ar e existem tanto no estado sólido como em solução, na forma hexaidratada. O íon VO⁺² é o predominante em que o vanádio apresenta-se no estado de oxidação (+4). Este é bastante estável e existe numa grande variedade de compostos como íon hidratado. No estado de oxidação +5, tem-se o pentóxido de vanádio V₂O₅, o qual é um óxido anfótero que se dissolve em bases para originar o íon vanadato, VO₃⁻ e em ácido para gerar uma mistura complexa de espécies hidróxido e óxido. Acredita-se que em soluções bastante ácidas o íon dioxovanádio (V), VO₂⁺, esteja presente. A natureza da espécie de vanádio presente em solução vai depender fortemente do pH e da concentração desta (CREPLIVE, 2008; MELO, 2003; SILVA, 2008).

Em condições fisiológicas, as espécies de vanádio que predominam são os íons vanadato (V(V), VO₃⁻) e vanadilo (V(IV), VO²⁺), havendo, porém a presença de outras espécies devido a equilíbrios de protonação e oligomerização que ocorrem em soluções aquosas (DUARTE *et al.*, 2006).

Tabela 14. Propriedades físico-químicas do vanádio.

| Grandeza | Valor | Unidade |
|---------------------------------|--|----------------------------|
| Massa Específica do sólido | 6110 | kg/m ³ |
| Ponto de fusão | 1890 ± 10 | °C |
| Calor de fusão | 22,8 | kJ/mol |
| Ponto de Ebulição | 3407 (3380, a 1 atm = 1.013x10 ⁻⁵ Pa) | °C |
| Calor de vaporização | 453 | kJ/mol |
| Eletronegatividade | 1,63 | Pauling |
| Resistividade elétrica | 20 | 10 ⁻⁸ Ω m |
| Condutividade térmica | 31 | W/(m°C) |
| Calor específico | 489 | J/(kg°C) |
| Coeficiente de expansão térmica | 0,84 | 10 ⁻⁵ (1/°C) |
| Coeficiente de Poisson | 0,37 | - |
| Estrutura cristalina | Cúbica de corpo centrado | - |
| d | 5,96 | g cm ⁻³ |

O vanádio está presente na crosta terrestre numa concentração média estimada de 150 ppm (0,0150% ou 150 g/t), sendo largamente encontrado, embora escassamente distribuído na natureza. Forma mais de 60 minerais diferentes, sendo esses minerais em sua maioria obtidos como co-produtos, juntamente com outros minerais. Alguns dos mais importantes minerais de vanádio são: magnetitas, tyuyamunita, carnotita, fosfatos, vanaditina, descloizita e patronita (CREPLIVE, 2008).

Boa parte do vanádio produzido industrialmente tem como origem a fuligem da queima de certos combustíveis derivados do petróleo. A maior parte do vanádio é empregada como componente da liga ferrovanádio (com até 80% de vanádio), usada na produção de aço e outras ligas, na qual esta combinação confere propriedades mecânicas e de resistência. Como fontes menos importantes de vanádio, pode-se citar os sais residuais da produção de

bauxita e os catalisadores remanescentes dos processos das indústrias químicas e petroquímicas (MELO, 2003; PEIXOTO, 2006).

A **Figura 25** mostra as mais diferentes disponibilidades de vanádio utilizadas para produção de bens industriais.

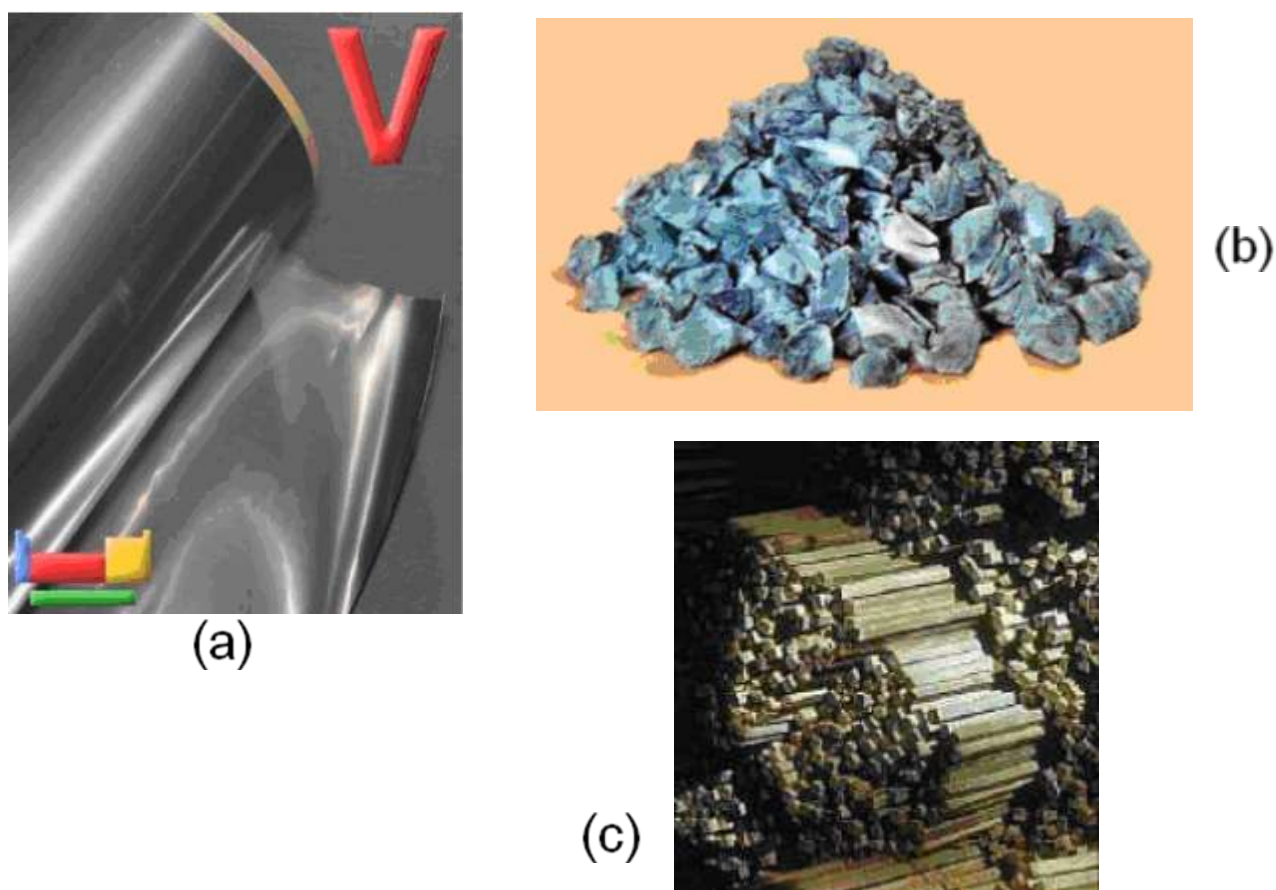


Figura 25. Formas de apresentação do vanádio em processos industriais (a) Folhas metálicas (b) Grânulos (c) Barras de aço contendo Vanádio (CREPLIVE, 2008).

As fontes mais importantes de extração de vanádio de todas as matérias-primas atualmente disponíveis, com exceção do processamento direto das titanomagnetitas, são apresentadas na **Tabela 15**.

Tabela 15. Produto de vanádio como subproduto (RIBEIRO, 2005).

| Matéria-prima | Faixa de teor de vanádio | Produto acoplado | Subproduto de vanádio |
|----------------------------|--------------------------|-----------------------|-----------------------------|
| Titanomagnetitas | 0,02 - 0,36 % | Ferro/aço | Escória de vanádio |
| Óleos minerais | 0,001 - 0,14% (petróleo) | Energia/petroquímicos | Cinzas e resíduos da queima |
| Minérios de urânio-vanádio | 0,06 - 0,50% | Urânio | Resíduo químico |
| Vanadato de chumbo | 0,06% | Chumbo, zinco | Escória de vanádio |
| Fosfatos | 0,08 - 0,46% | Fósforo | Ferrofósforo |
| Bauxita | (-) | Sais de vanádio | Sais de vanádio |

2.3.4 Essencialidade e Toxidez

O vanádio é considerado um elemento-traço essencial, com funções fisiológicas específicas em alguns organismos. No entanto, nos seres humanos não está demonstrada a sua essencialidade, apesar de existirem compostos de vanádio que imitam e potencializam a atividade da insulina (ATSDR, 1996; MANDIWANA, 2006).

O vanádio é necessário para o desenvolvimento e crescimento normais de algumas espécies, tendo em vista que sua deficiência produz retardos no crescimento, deformidades ósseas e infertilidade em alguns animais. Contudo suas funções ainda não estão bem definidas. Este metal em alguns mamíferos pode acelerar a mineralização dos ossos e exercer um efeito anticárie, também sendo bastante importante como inibidor da síntese do colesterol, da incidência de doenças cardiovasculares e auxiliar na cura da tuberculose. É ainda um elemento essencial para que microorganismos existentes no solo possam fixar o nitrogênio (WATERS, 1977; MELO, 2003; FABRINO, 2008).

A níveis de partes por bilhão (ppb), o vanádio é um micronutriente que possui funções fisiológicas específicas. No entanto, pode ser tóxico quando presente em concentrações a níveis de parte por milhão (ppm). A toxicidade do

vanádio depende de uma série de fatores, tais como: (a) forma química do específico composto de vanádio, estado de oxidação, (b) o percurso da exposição e (c) dose administrada. Por possuir diferentes estados de oxidação, sua toxicidade aumenta com o aumento da valência. É amplamente reconhecido que o vanádio (V) na forma de vanadato (VO_3^-) é mais tóxico do que o vanádio (IV) presentes na forma de íons vanadilo (VO^{+2}). O íon vanádio no estado de oxidação +5 é mais ativo do que os outros íons, podendo causar várias doenças, como a degradação do DNA e mudanças na proteína do sangue (ATSDR, 1996; DOMINGO, 1996; LUZ, 2003; MELO, 2003).

A contaminação excessiva de humanos e animais ao vanádio se dá principalmente no trato respiratório após a exposição por inalação. Os efeitos adversos causados pela exposição excessiva são: lesões e descoloração da pele, irritação nos olhos e trato respiratório superior (ao invés de toxicidade sistêmica), caracterizado por rinite, hemorragia nasal, conjuntivite, bronquite, tosse e dor torácica, pois os pulmões absorvem bem as oxo-espécies de vanádio, que são as formas solúveis de vanádio (LUZ, 2003; SILVA, 2008).

Alguns estudos foram realizados em ratos expostos a $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ de V_2O_5 , e confirmaram a possibilidade de efeitos pulmonares severos em animais. Também foram observados outros efeitos em ratos e outros organismos após a exposição oral ou inalação de vanádio, em parâmetros sanguíneos, no fígado e no desenvolvimento neurológico (SABBIONI, 1996; MELO, 2003; SILVA, 2008).

Absorção, excreção e mecanismos de armazenamento de vanádio no sistema vivo não são completamente entendidos. Em geral, os sais de vanádio são pobremente absorvidos pelo trato gastrointestinal humano. A estimativa para a absorção gastrointestinal de compostos solúveis de vanádio é de 2%. O vanádio absorvido é transportado principalmente no plasma. As concentrações mais altas tendem a ocorrer no fígado, rim e pulmão (MUKHERJEE, 2004; VENKATARAMAN, 2005; SILVA, 2008).

A eliminação do vanádio pelo organismo humano depende da forma de exposição e da forma química em que este se encontra presente. Contudo, as principais vias de excreção são a urina e as fezes, em uma razão de 5:1,

respectivamente. Em estudos com ratos foi observado que o ácido ascórbico aumenta a eliminação de vanádio na urina e fezes. Isso devido à sua capacidade em reduzir o vanádio ao estado de oxidação (IV). Já em casos de absorção de vanádio pelo tecido ósseo o que percebe-se é que sua liberação ocorre bastante lentamente (SABBIONI, 1996; VENKATARAMAN, 2005; SILVA, 2008).

A **Figura 26** apresenta um fluxograma do metabolismo do vanádio em animais superiores. Relatórios sugerem que a maioria do vanádio ingerido se transforma na forma de íons vanadilo (VO^{+2}) no estômago antes de ser absorvido no duodeno através de um mecanismo ainda desconhecido. Através do sistema de transporte aniônico, o vanádio em sua forma de vanadato (VO_3^-), foi encontrado para ser absorvido em quantidades bem superiores (cerca de cinco vezes mais do que a forma de íons vanadilo). Ao atingir a corrente sanguínea (transporte realizado por proteínas do sangue para vários tecidos), o vanadato é novamente convertido em íon vanadilo, apesar da forma vanadato também existir. Foi relatado que o vanádio é excretado também através da bile e urina. É através da via biliar que uma quantidade significativa de vanádio pode ser finalmente excretada pelas fezes. No entanto, os autores sugerem que o conteúdo de vanádio nas fezes não reflete a quantidade de vanádio absorvido ou não absorvido (MUKHERJEE, 2004).

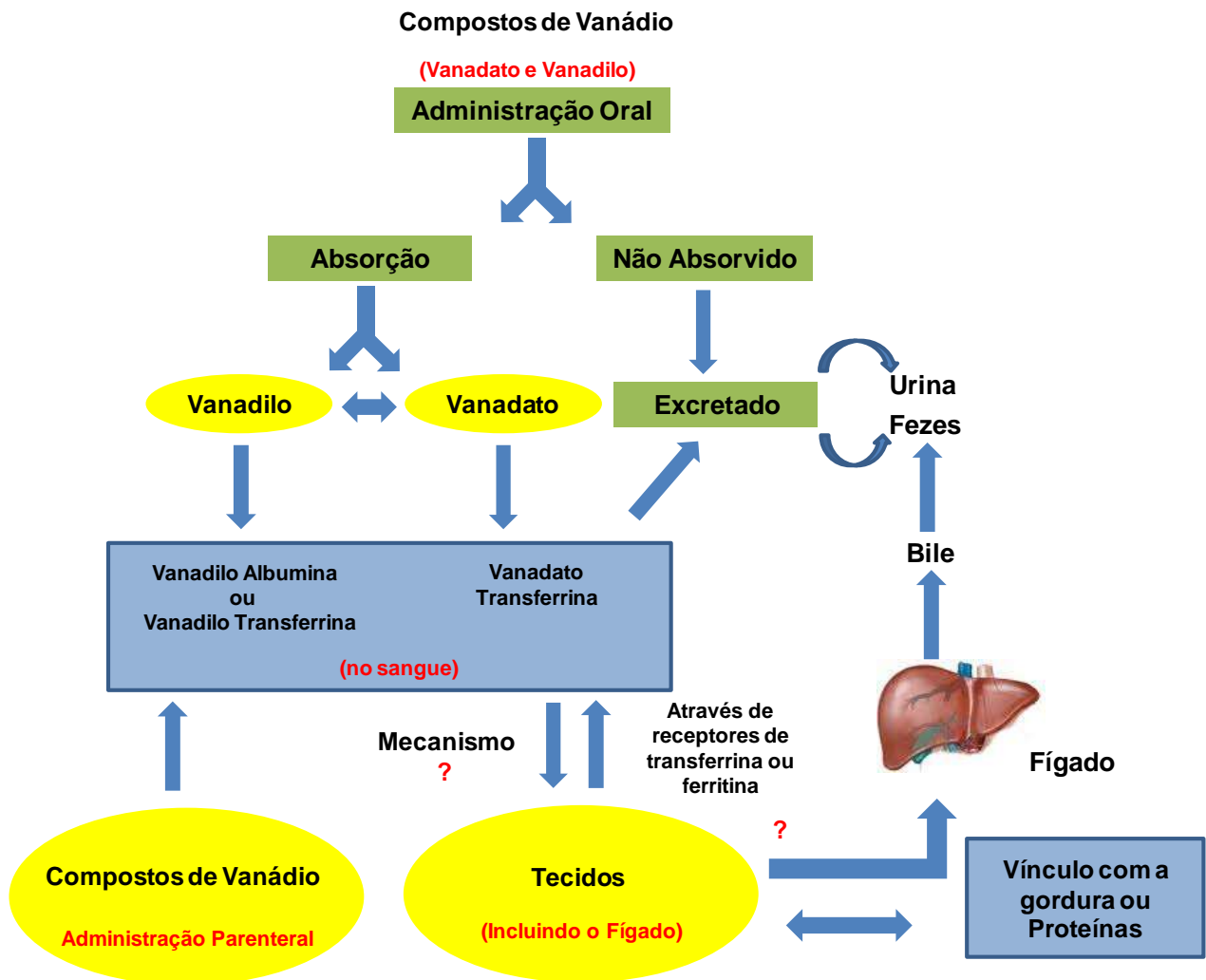


Figura 26. Principais vias de absorção, distribuição e excreção de compostos de vanádio (adaptado de MUKHERJEE, 2004).

2.3.5 Estudo para vanádio em sedimentos

Os sedimentos são constituídos por partículas minerais derivadas das fragmentações das rochas, através de processos químicos e físicos, e que são transportadas pelas águas ou pela ação dos ventos do lugar de origem aos rios, estuários, mares e oceanos. O sedimento pode ser considerado como o produto da integração de todos os processos que acontecem no ecossistema aquático, e tudo que esteve em algum período no corpo hídrico migra para o

sedimento e aí fica acumulado, atuando este como um testemunho do que ocorreu na coluna de água (GOMES, 1999; NOALE, 2007; FLYNN, 2007).

A contaminação dos sedimentos está diretamente ligada com a poluição das águas, e tem origem nos efluentes domésticos e industriais, despejos urbanos e agrícolas. Nas regiões onde existem atividades portuárias, a situação é ainda mais crítica, visto que acontecem os depósitos de resíduos industriais e urbanos. Para a fauna aquática, os sedimentos apresentam um papel bastante importante, tendo em vista que estes atuam como habitat e fonte de alimentação. São capazes de reter e acumular espécies químicas orgânicas, tais como inseticidas e herbicidas, e espécies inorgânicas, como os metais (GOMES, 2009; CRUVINEL, 2009).

Por possuírem grande capacidade de incorporar e acumular elementos contaminantes, os sedimentos vêm sendo amplamente utilizados como indicadores ambientais. A análise dos sedimentos em diversos pontos de uma região de interesse serve para localizar fontes de contaminação ou monitorar os contaminantes, uma vez que os sedimentos são levados pelos rios para outros cursos de água ou para o mar. O acúmulo e a remobilização de espécies no sedimento os qualificam como de grande importância em estudos de impacto ambiental, visto que registram de uma forma permanente os efeitos da contaminação. Dessa maneira, com a quantificação de metais-traço nos sedimentos pode-se detectar o grau de contaminação em que a água e os organismos bentônicos estão sujeitos (De OLIVEIRA e MARINS, 2011).

Os metais traços são elementos conservativos e geralmente estão associados ao material particulado (sólido) na coluna d'água em condições aquáticas naturais, se acumulando no fundo de rios, oceanos e lagos por meio da deposição do material particulado nos sedimentos. No entanto, quando a ação antrópica aumenta os fluxos de metais despejados nas águas, geram o aumento da concentração de metais nos sedimentos numa determinada região, podendo estar correlacionada, com alguma fonte poluente, definida como fonte antropogênica, por via natural ou não. Devido às diferentes formas químicas dos metais nos sedimentos, os metais apresentam diferentes mobilidades,

modo de complexação e biodisponibilidade no meio, conforme observado na **Figura 27** (GOMES, 1999; GOMES, 2009).

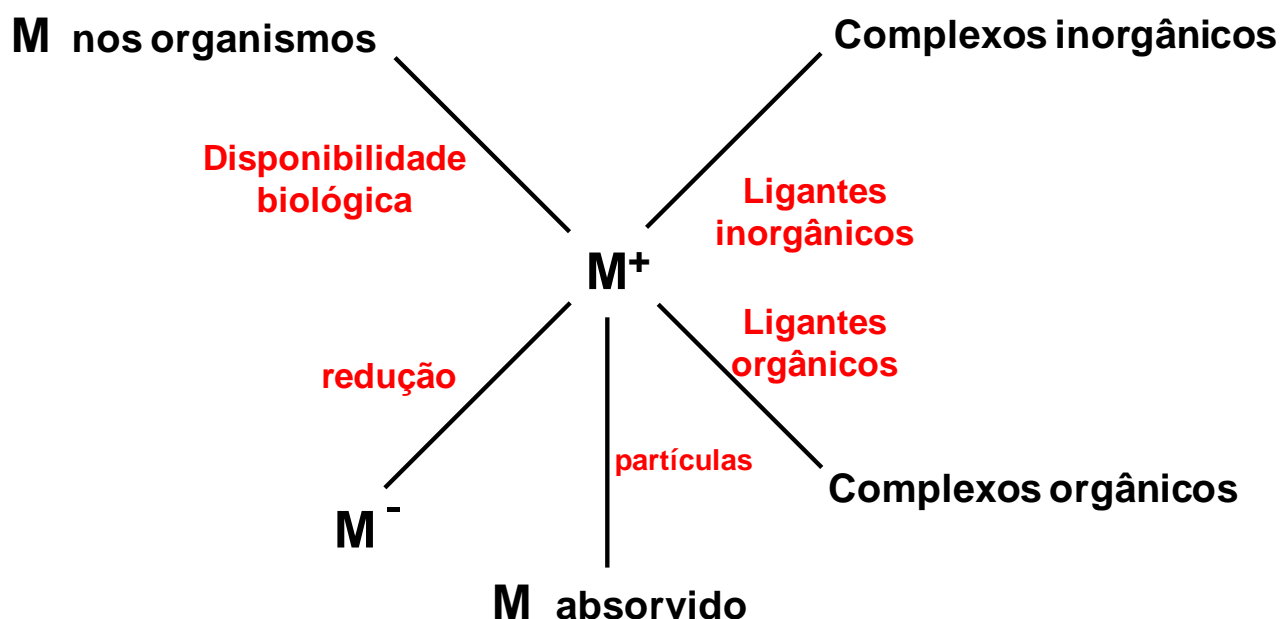


Figura 27. Principais processos envolvendo metais traços no meio ambiente (Adaptado de GOMES, 1999).

Mais de 99% das substâncias que atingem o sistema aquático são estocadas no sistema sedimentar. No entanto, os processos de dragagens e alterações ambientais podem disponibilizar os contaminantes presentes nos sedimentos tanto para a coluna d'água como para a comunidade bentônica, gerando consequências negativas não apenas à biota aquática, mas também à saúde humana. Daí a grande importância da análise de metais nos sedimentos, utilizando estes como indicadores de poluição ambiental (CRUVINEL, 2009; GOMES, 2009; FLYNN, 2007).

Os metais, como o vanádio, têm como fonte principal para o ambiente a precipitação atmosférica, especialmente devido à combustão de combustíveis derivados do petróleo, e em menor grau, poeiras transportadas pelos ventos. Algumas outras fontes importantes de vanádio são: despejo de lodo de esgotos, efluentes domésticos e industriais, especialmente fertilizantes que

contenham materiais de alto teor de vanádio. Em todas essas situações, os metais vão se depositando nos sedimentos, contaminando o ambiente marinho. Logo, a análise deste tipo de material pode indicar a origem da poluição e fornecer um indicativo das influências do sistema aquático, pelo nível de background e da acumulação provenientes de atividades antrópicas. Assim sendo, o monitoramento dos sedimentos é de grande importância na investigação ambiental (RIBEIRO, 2005; MOSELHY-EL, 2006).

COLINA *et al.* (2005) estudaram um método de separação do V (IV) e V (V) por cromatografia líquida com detector de massa com plasma indutivamente acoplado. Uma coluna de C-8 de fase reversa com 15 cm de comprimento foi utilizada para separar as espécies. A fase móvel utilizada continha acetato de amônio $0,06 \text{ mol L}^{-1}$, hidróxido de tetrabutilamônio 10 mmol L^{-1} , difosfato de amônio 10 mmol L^{-1} e $2,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de EDTA em pH 6. O método desenvolvido foi aplicado ao estudo da especiação de vanádio em sedimentos coletados no Lago de Maracaibo, Venezuela. A área foi representada por 13 pontos de amostragem em que as amostras foram coletadas em novembro de 1998 e março 1999. As espécies de vanádio foram extraídas dos sedimentos utilizando 15 mL de EDTA $2,5 \text{ mmol L}^{-1}$, com 1 hora de agitação e detecção por cromatografia líquida de íons. O vanádio total contido nos sedimentos foi obtido pela digestão de 0,2 g do sedimento em forno de microondas, utilizando como oxidantes o HNO_3 e o H_2O_2 . A determinação da concentração de vanádio foi obtida por ICP OES. As faixas de concentração obtidas para V (IV) e V (V) nas amostras de sedimentos foram de 0,7 a 61 e 1,4 a 2,3 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente. O método é simples e tem a sensibilidade adequada para essas aplicações práticas. A dominância de V (IV) em todos os pontos amostrados pode ser associada com a fonte de petróleo, envolvendo um complexo porfirina vanádio.

A geoquímica dos sedimentos é pouco conhecida, o que torna imprescindível seu estudo para ações de gerenciamento ambiental na determinação dos teores de metais, visto que esse ecossistema é habitat natural de várias espécies biológicas de interesse econômico e que mantêm a dieta básica de populações locais. Os estudos ambientais na maioria das vezes priorizam a utilização da fração mais fina dos sedimentos. Isso porque os

metais retidos nos sedimentos de fundo geralmente estão associados à fração de granulometria inferior a 63 μm , isso devido à grande área superficial destas partículas (RIBEIRO, 2002; MARINS, 2005). Há um aumento na concentração de vanádio nos sedimentos em áreas próximas de fontes de poluição, principalmente relacionadas com as atividades de exploração de petróleo.

2.4 Procedimento Experimental

2.4.1 Coleta das amostras de sedimentos

As amostras de sedimento foram coletadas em 5 estações da BTS realizada entre setembro e outubro de 2010, e a segunda campanha entre abril e maio de 2011 (**Figura 28**) nos seguintes locais: Madre de Deus; Acupe/Itapema; Mutá; Bom Jesus dos Pobres; Salinas e Ilha de Maré.

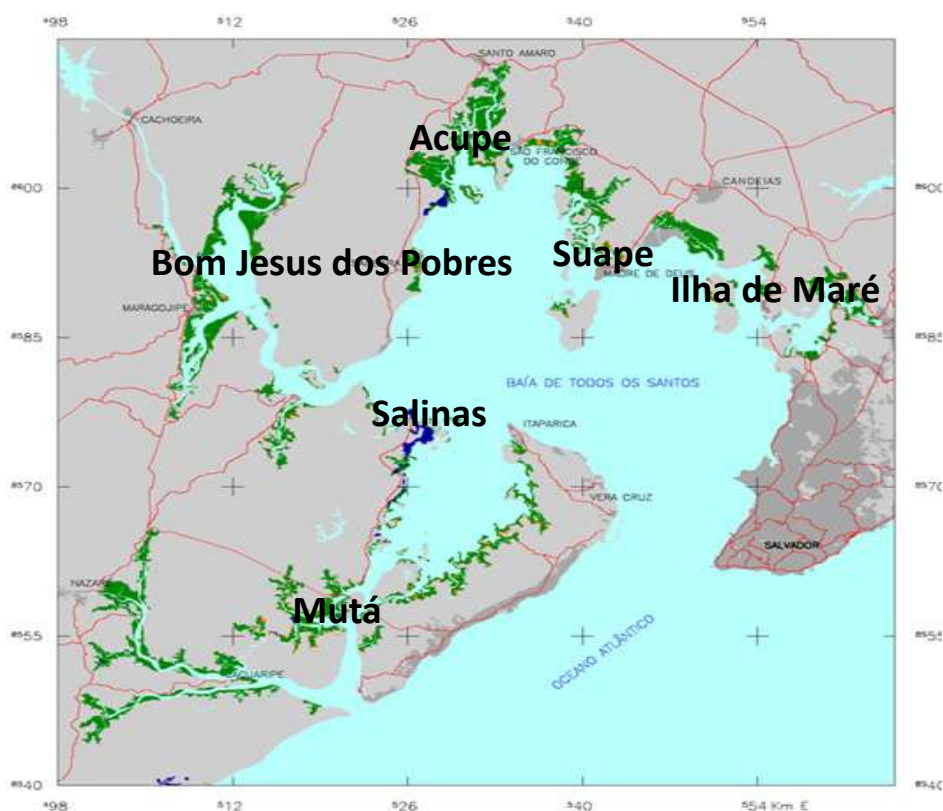


Figura 28. Mapa de distribuição dos pontos de coletas de sedimentos ao longo da BTS.

2.4.2 Reagentes e Soluções

Todos os materiais utilizados para a coleta das amostras de sedimentos marinho são de polietileno e foram previamente imersos por um período mínimo de 24 horas em solução de Extran 5% (v/v). Posteriormente esses materiais foram enxaguados abundantemente em água corrente e novamente imersos por pelo menos 24 horas em solução de ácido nítrico (Merck) 10% (v/v), para eliminação de possíveis metais interferentes. Em seguida, foram lavados com água ultra-pura, com resistividade específica de $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$, de um sistema de purificação do tipo Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA). Até o dia das coletas e análises, todo o material foi guardado e devidamente protegido de contato com superfícies metálicas e de poeira.

Na determinação de Vanádio Total, as amostras de sedimentos marinho foram digeridas utilizando: ácido nítrico concentrado, HNO_3 65% (v/v) (Merck, Alemanha). Para determinação de Vanádio Total foram preparadas soluções de trabalho a partir da solução estoque de 1000 mg L^{-1} de Vanádio (Chemis High Purity).

Para o procedimento de especiação de vanádio nas amostras de sedimento, foram preparadas soluções estoque contendo 1000 mg L^{-1} de V(V) utilizando NH_4VO_3 (Merck, Alemanha). Para evitar possível redução de V(V) a V(IV), as soluções de trabalho foram preparadas com adequada diluição da solução estoque contendo 1000 mg L^{-1} de V(V) com a solução de $0,1 \text{ M}$ de Na_2CO_3 .

2.4.3 Pré-tratamento das Amostras de sedimentos marinhos

Os sedimentos foram coletados com o auxílio de pás plásticas, sendo armazenados em sacos plásticos vedados e devidamente identificados. No laboratório, as amostras de sedimento foram secas em estufa a 60°C por aproximadamente 2 dias. Após procedimento de secagem, os sedimentos

foram peneirados em malhas de 2 mm e armazenadas em recipientes plásticos para realização do procedimento de digestão.

2.4.4 Preparo das Amostras de sedimentos marinhos

2.4.4.1 Digestão das amostras de sedimentos

Para a determinação de vanádio total, as amostras de sedimentos foram submetidas ao procedimento de digestão ácida, seguindo o método padrão da agência de proteção ambiental, (EPA 3051a). Foram pesadas cerca de 0,2500 g de amostra em tubo de teflon, sendo adicionado 10 mL de HNO₃ concentrado. Em seguida, fecharam-se os frascos, e estes foram colocados no carrossel do forno de micro-ondas com cavidade (**Figura 17**) seguindo o programa de aquecimento apresentado na **Tabela 16**.

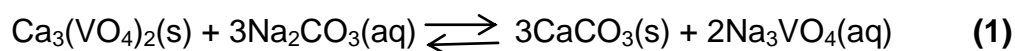
Tabela 16. Programa de aquecimento do forno de micro-ondas com cavidade.

| ETAPA | TEMPO (min) | P _{max} (W) | T (°C) | P (bar) |
|------------|-------------|----------------------|--------|---------|
| 1 | 3 | 750 | 100 | 35 |
| 2 | 2 | 750 | 100 | 35 |
| 3 | 5 | 1000 | 180 | 35 |
| 4 | 10 | 1000 | 180 | 35 |
| Ventilação | 5 | | | |

2.4.4.2 Extração de Vanádio (V)

O V(V) pode existir em condições naturais no ambiente na forma aniônica correspondente ao íon VO₄³⁻ e VO³⁻. Este íon pode ser separado de compostos de V(IV) por tratamento com solução de Na₂CO₃. Amostras sólidas

quando aquecidas em meio à solução de Na_2CO_3 produz carbonatos insolúveis de metais comuns, liberando ânions presentes em solução de acordo com as seguintes equações:



Mesmo se as diferenças de solubilidade forem moderadamente desfavoráveis, a maior concentração do íon carbonato irá assegurar a conversão adequada. Neste trabalho foi aplicada a extração alcalina, utilizando o Na_2CO_3 , para obtenção dos teores de V(V) presentes em amostras de sedimentos. A determinação desta espécie foi realizada utilizando ICP OES. Após otimização do procedimento, foi efetuado o processo de validação, com o objetivo de assegurar que o procedimento analítico selecionado produza resultados reprodutíveis e confiáveis, e que esteja de acordo com os fins ao quais foi elaborado. Alguns parâmetros foram investigados no processo de validação, com o intuito de medir a qualidade analítica dos resultados obtidos pelo método (PANICHEV *et al.*, 2006).

O procedimento para extração e determinação de V(V) nas amostras de sedimentos foi realizado pesando-se aproximadamente 0,2500 g de amostra em erlenmeyer e a essa massa foram adicionados 25,0 mL da solução extratora $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de Na_2CO_3 . A mistura foi mantida por 15 minutos sob fervura em um sistema de banho de areia (**Figura 29**). Sendo então resfriada à temperatura ambiente, transferida para frascos de polipropileno de 50 mL e avolumados com água Milli-Q até o volume de 25 mL. Posteriormente, a mistura foi centrifugada a uma velocidade de 3000 rpm por 10 minutos e, em seguida, o sobrenadante foi transferido para outro tubo de polipropileno para ser analisado por ICP OES.



Figura 29. Banho de areia para extração de V(V) em amostras de sedimento.

2.4.5 Determinação de Vanádio Total e V(V) por ICP OES

A determinação de Vanádio Total e V(V) foi realizada utilizando um Espectrômetro de emissão ótica com plasma de argônio indutivamente acoplado (ICP OES), simultâneo, com visão axial e detector de estado sólido VISTA PRO (Varian, Mulgrave, Austrália). A linha espectral para o V(V) foi selecionada considerando-se a intensidade do sinal de emissão do analito de interesse e do sinal de fundo, além do desvio padrão das medidas realizadas e a adequada sensibilidade para a determinação do elemento em estudo presentes em altas e baixas concentrações nas amostras de sedimentos. Na **Tabela 17** estão ilustradas as condições operacionais utilizadas para as determinações de V(V).

Tabela 17. Parâmetros instrumentais para as medidas de V(V) por ICP OES axial.

| PARÂMETROS | VALORES |
|--|----------------------------|
| Potência RF (kW) | 1,3 |
| Vazão do gás de nebulização (L min ⁻¹) | 0,70 |
| Vazão do gás auxiliar (L min ⁻¹) | 1,5 |
| Vazão do gás do plasma (L min ⁻¹) | 15 |
| Tempo de integração (s) | 2,0 |
| Tempo de estabilização (min) | 15 |
| Tempo de leitura (min) | 1 |
| Replicatas | 3 |
| Linhas espectrais estudadas | 292,401; 309,310 e 311,837 |
| Nebulizador | V-Groove |
| Câmara de Nebulização | Sturman-Master |

2.4.6 Validação do Método

Neste trabalho alguns parâmetros foram avaliados no processo de validação: Precisão, limites de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ) e exatidão.

2.4.6.1 Precisão

A precisão foi determinada pela repetibilidade (sete repetições), utilizando algumas amostras nas mesmas concentrações e no mesmo dia.

2.4.6.2 Limite de Detecção (LOD) e Limite de quantificação (LOQ)

Os valores de LOD e LOQ foram obtidos a partir da análise de quinze brancos analíticos submetidos aos mesmos procedimentos que as amostras. As equações para obtenção dos valores de LOD e LOQ estão representados abaixo:

$$\text{LOD} = (3 \times \text{SD})/\alpha \quad \text{e} \quad \text{LOQ} = (10 \times \text{SD})/\alpha$$

Onde **SD** representa o desvio padrão das 15 medidas do branco e α representa a inclinação da curva analítica.

2.4.6.3 Exatidão

Para verificação da exatidão foram empregadas duas estratégias: a primeira foi a avaliação do material de referência certificado NIST 2702 (*Inorganic in Marine Sediment*) e a segunda foram ensaios de adição e recuperação, quando foram adicionadas alíquotas diferentes da solução padrão, em triplicata, nos recipientes contendo as amostras de sedimentos antes do processo de digestão (na determinação de vanádio total) ou extração em meio alcalino (especiação de V(V)).

Para avaliação da exatidão na determinação de vanádio total nas amostras de sedimentos por meio do teste de adição e recuperação, foram adicionadas duas alíquotas diferentes da solução padrão de vanádio no recipiente contendo as amostras, em triplicada. No final da digestão as amostras com concentrações de 0,1 e 1,0 mg L⁻¹, foram aferidas para 40 mL.

Na avaliação da exatidão no procedimento de especiação de V(V) foram adicionadas às amostras de sedimento concentrações diferentes da solução padrão de NH₄VO₃ nos recipientes contendo as amostras, antes da extração

alcalina. No final da extração as amostras com concentrações de 0,02; 0,1; 0,5; 1 e 3 mg L⁻¹, foram aferidas para 25 mL.

2.5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

2.5.1 Otimização das condições operacionais do ICP OES

A composição da matriz pode ter uma influência significativa nos resultados analíticos obtidos nas determinações empregando ICP OES (TODOLI *et al.*, 2002). Os componentes da matriz podem alterar as características térmicas do plasma e a distribuição espacial das espécies emitidas. Os efeitos físicos mais importantes estão relacionados às propriedades como densidade, viscosidade, tensão superficial e volatilidade da matriz. Os efeitos de matriz provocados por concomitantes podem ser identificados de acordo com as variações: no processo de nebulização; no transporte do aerossol; e na excitação da espécie química (TODOLI e MERMET, 1999; PAREDES *et al.*, 2006). Assim, nas determinações empregando ICP OES, a avaliação do efeito de matriz é necessária para obtenção de condições favoráveis para elementos traço a serem determinados em amostras reais.

Nesta etapa do trabalho foram avaliadas as alterações das intensidades das linhas espectrais de vanádio para as soluções preparadas em Na₂CO₃ 0,1 mol L⁻¹. Nas **Figuras 30, 31 e 32** estão mostradas as curvas analíticas referentes às linhas 292,401, 309,310 e 311,837 nm.

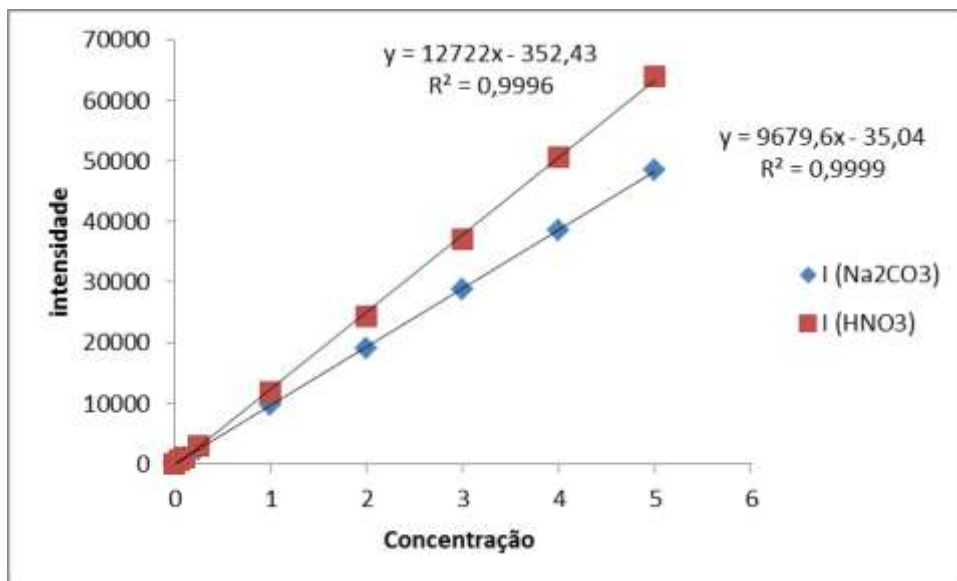


Figura 30. Curvas analíticas preparadas em meio de solução de ácido nítrico diluído e em meio de solução de Na₂CO₃ 0,1 mol L⁻¹ para a linha V II 292,401 nm.

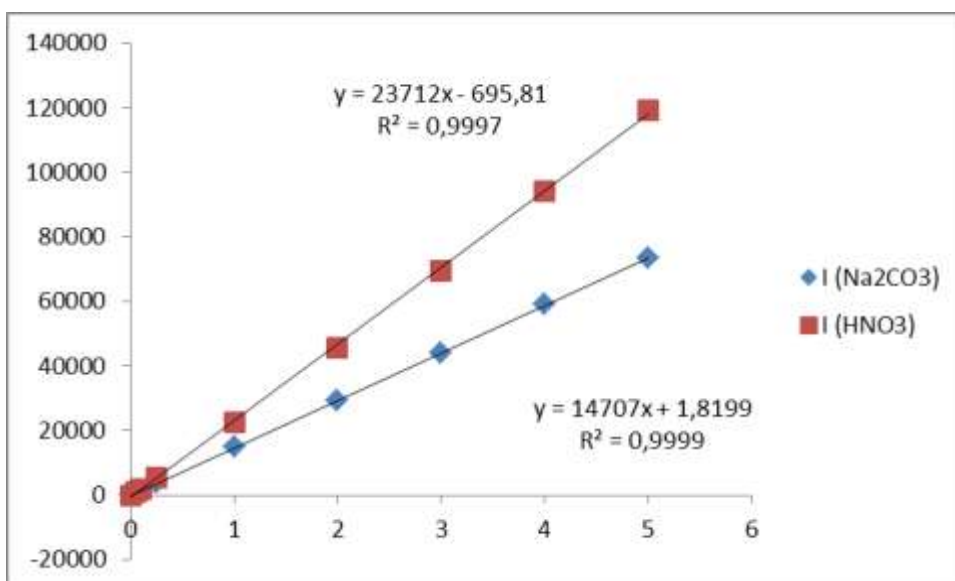


Figura 31. Curvas analíticas preparadas em meio de solução de ácido nítrico diluído e em meio de solução de Na₂CO₃ 0,1 mol L⁻¹ para a linha V II 309,310 nm.

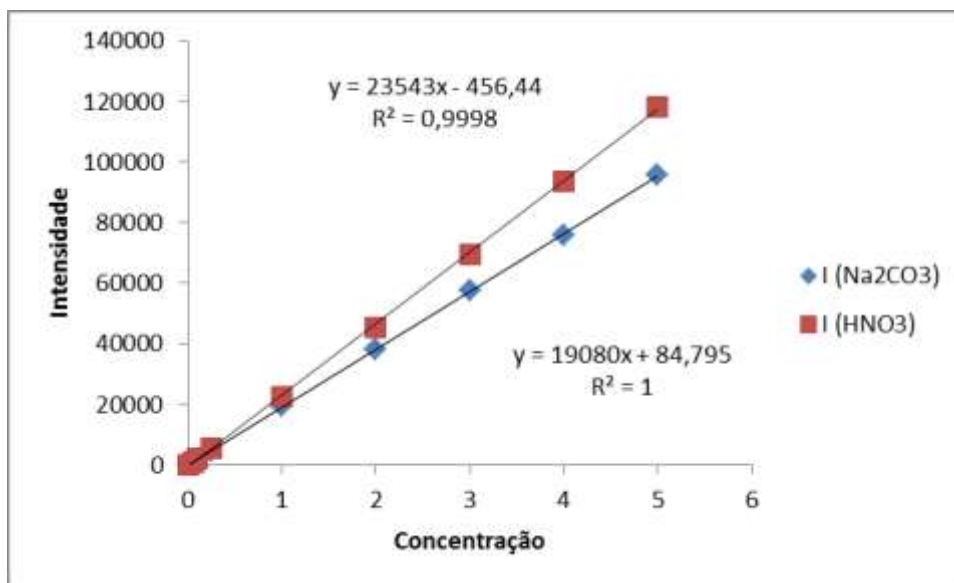


Figura 32. Curvas analíticas preparadas em meio de solução de ácido nítrico diluído e em meio de solução de Na_2CO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para a linha V II 311,837 nm.

Pode-se observar um decréscimo da sensibilidade, entre 19 e 30%, para as curvas analíticas preparadas em solução do extrator para as 3 linhas investigadas. Resultados similares foram obtidos em trabalhos anteriores para determinações de diversos elementos na presença de sódio. Tal fato pode ser creditado a alterações na geração do aerossol e eficiência de transporte para o plasma (TODOLI *et al.*, 2002; TODOLI e MERMET, 1999; PAREDES *et al.*, 2006). Portanto, nas determinações de V(V) por ICP OES, as curvas analíticas devem ser preparadas em meio da solução extratora.

A linha selecionada para as determinações foi V II 292.401 nm, de primeira ordem, que apresentou melhores valores de LOQ, LOD e repetibilidade. Além disso, para a linha 311,837 nm os valores para algumas amostras não foram concordantes, inviabilizando a seleção desta linha.

2.5.2 Validação do procedimento para especificação de Vanádio (V) em amostras de sedimentos

Neste trabalho, para a validação do procedimento proposto, foram determinados os seguintes parâmetros de desempenho: faixa de trabalho e linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão.

2.5.2.1 Limite de detecção e quantificação

Os valores de LOD e LOQ foram determinados com base no desvio padrão dos brancos analíticos e sua relação com a inclinação da reta na curva de calibração padrão, construída a baixas concentrações. Neste estudo foram analisados vinte leituras do branco submetido ao processo proposto. As equações utilizadas para o cálculo do LOD e LOQ estão apresentadas abaixo:

$$\text{LOD} = (3\text{XSD})/a \quad \text{e} \quad \text{LOQ} = (10\text{xSD})/a$$

onde: **SD** representa o desvio padrão da medida dos 20 brancos para o V(V) e **a** representa a inclinação da curva analítica para cada elemento.

Os valores para LOD e LOQ, expressos em termos de m/v e m/m para os analitos são mostrados na **Tabela 18**.

Tabela 18. Valores obtidos para o LOD e LOQ em $\mu\text{g L}^{-1}$ e mg kg^{-1} com detecção por ICP OES.

| Analitos | LOD ($\mu\text{g/L}$) | LOQ ($\mu\text{g/L}$) | LOD (mg/kg) | LOQ (mg/kg) |
|----------|-------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|
| V (V) | 0,68 | 2,27 | 0,07 | 0,23 |

2.5.2.2 Precisão

A precisão foi avaliada pela proximidade entre várias medidas efetuadas na mesma amostra. Usualmente, a precisão é expressa como o desvio padrão, variância ou coeficiente de variação (CV) de várias medidas. No estudo da especiação de V(V) em amostras de sedimentos, a precisão foi determinada pela repetibilidade (sete repetições), utilizando algumas amostras nas mesmas concentrações e no mesmo dia pela metodologia proposta neste trabalho. As concentrações obtidas, a média, os desvios padrões e o coeficiente de variação estão apresentados na **Tabela 19**.

Tabela 19. Média, desvio padrão (SD) e CV das soluções dos extratos de sedimentos.

| AMOSTRA | V(V) | |
|-------------|---|--------|
| | Média da concentração (mg kg ⁻¹) ± SD | CV (%) |
| Sedimento 1 | 1,086 ± 0,034 | 3,13 |
| Sedimento 2 | 3,237 ± 0,137 | 4,23 |

Observando os resultados mostrados na **Tabela 19** nota-se que os valores de CV para o V(V) nas amostras de sedimentos encontram-se dentro do limite de até 20% quando se faz análises de elementos-traço em amostras complexas como as de sedimentos. Pode-se concluir através destes resultados que o método apresenta boa precisão para a determinação de V(V) nas amostras dos extratos de sedimentos.

2.5.2.3 Exatidão

A exatidão foi avaliada através de testes de adição e recuperação e da utilização de material de referência certificado de sedimento. A recuperação indica a quantidade de analito recuperado no processo em relação à quantidade real presente na amostra. Foram adicionadas alíquotas da solução

estoque de V(V) antes da execução do procedimento de extração, em quatro níveis de concentração: 0,02; 0,1; 0,5; 1 mg L⁻¹ para determinação por ICP OES. Os valores obtidos para o percentual de recuperação nos quatro níveis de concentração estão mostrados na **Tabela 20**. Para este estudo aplicou-se a seguinte equação:

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

Onde:

R: recuperação;

C₁: concentração determinada na amostra adicionada;

C₂: concentração determinada na amostra não adicionada;

C₃: concentração adicionada.

Tabela 20. Taxa de recuperação (%) para V(V) em quatro níveis de concentração, em amostras de sedimentos.

| Conc. (mg L ⁻¹) | Sedimentos |
|-----------------------------|------------|
| 0,02 | 99 ± 1 |
| 0,1 | 105 ± 5 |
| 0,5 | 106 ± 1 |
| 1,0 | 105 ± 1 |

Os testes de adição e recuperação de V(V) nas amostras de sedimentos constataam a alta eficiência do procedimento, considerando que foram obtidos percentuais de recuperação na faixa de 97 a 106%.

2.5.3 Determinação de Vanádio Total em sedimento marinho

Para verificação da exatidão do método proposto, realizou-se digestão em forno de micro-ondas do seguinte material de referência certificado de sedimento: NIST 2702 (*Inorganic in Marine Sediment*). A solução de ácido nítrico foi utilizada como extrator, sendo esta considerada um extrator moderado, uma vez que não é possível destruir os silicatos presentes nas amostras de sedimentos, logo, os resultados encontrados são denominados de “pseudo-totais” (SACRAMENTO, 2010). Na **Tabela 21** estão mostrados os intervalos de confiança e os respectivos percentuais de recuperação do Vanádio Total, V(V) e V(IV). Os percentuais de recuperação obtidos para Vanádio Total foram na faixa de 74 a 82 %. Foram observadas maiores concentrações de V(IV) quando comparado ao V(V) no MRC de sedimento.

Tabela 21. Recuperação para o V_{Total} , V(IV) e V(V) em CRM.

| | Valores determinados (mg Kg ⁻¹) | Valor certificado (mg Kg ⁻¹) | Recuperação (%) | V(V) (mg Kg ⁻¹) | V(IV) (mg Kg ⁻¹) |
|-----------|--|---|--------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| NIST 2702 | 286,1 ± 6,3 | 357,6 ± 9,2 | 80,0 ± 2,0 | 123,8 ± 2,2 | 232,6 ± 2,2 |

2.5.4 Determinação de V(V) em amostras de sedimento marinhos

A biodisponibilidade, toxicidade e a mobilidade de um determinado metal são fortemente dependentes da forma físico-química que o mesmo se encontra no meio ambiente. Apenas a concentração total do metal muitas vezes não fornecem informações muito valiosas sobre a toxicidade do mesmo. Logo, se faz muito importante investigar as diversas espécies químicas de um metal presentes num determinado meio para assim poder avaliar a sua respectiva toxicidade (BENDO, 2002).

2.5.4.1 Resultados para V(V) nas amostras de sedimento

Os estudos de especiação de metais em sedimentos na maioria das vezes envolvem o uso de agentes extratores para lixiviação das espécies metálicas associadas ao sedimento. Neste trabalho, o procedimento aplicado foi a utilização da solução extratora de Na_2CO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, com aquecimento em banho de areia e determinação de V(V) por ICP OES. Os resultados da extração de V(V) utilizando solução de Na_2CO_3 em sedimentos de cinco diferentes áreas da BTS estão apresentados na **Figura 33**.

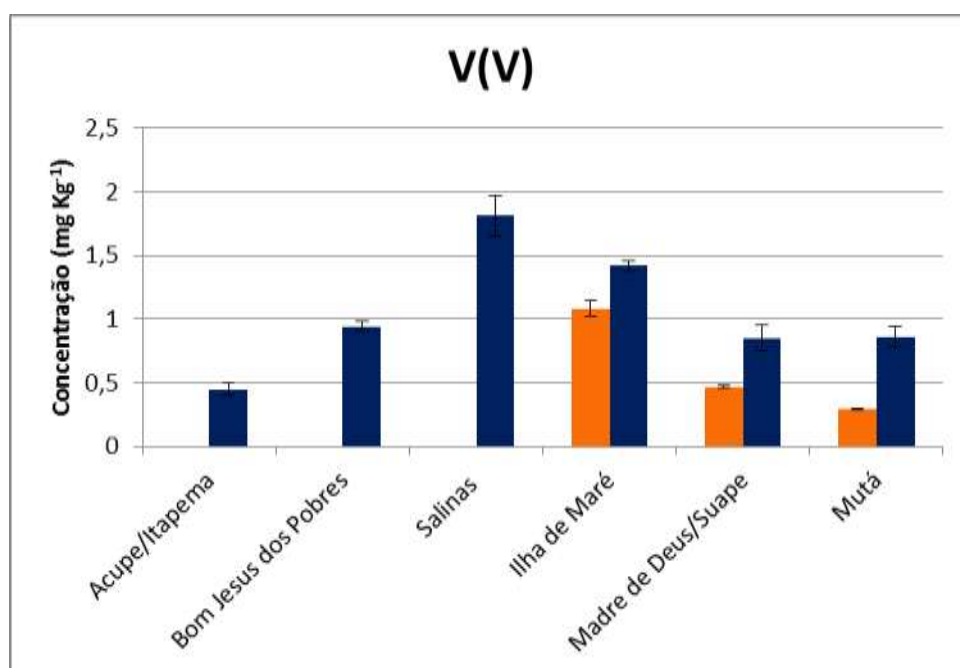


Figura 33. Distribuição de V(V) na primeira campanha em 2010 ■ e na segunda campanha em 2011 ■ nas amostras de sedimentos em diferentes partes da BTS.

Os resultados apresentados na **Figura 33** mostram que maiores concentrações de V(V) foram observadas na segunda campanha de coleta em todos os pontos amostrados. As amostras coletadas na primeira campanha, nas regiões de Acupe/Itapema, Bom Jesus dos Pobres e Salinas, apresentaram valores de V(V) abaixo do limite de quantificação do método utilizado, que é de $0,23 \text{ mg Kg}^{-1}$. Para as amostras coletadas nas regiões de

Ilha de Maré, Madre de Deus e Mutá verificou-se um aumento na concentração de V(V) entre o período seco e chuvoso. Esse fato pode ser devido a mudanças nas condições físico-químicas do meio. A segunda campanha de amostragem foi realizada em um período com grande frequência de chuvas, que pode acarretar no transporte de metais do continente para a região costeira, ou também ocasionar processos de ressuspensão de sedimentos de fundo e/ou de bioturbação, os quais desempenham um papel fundamental na remobilização de metais acumulados nos sedimentos.

A comparação dos resultados da quantidade total de vanádio e V(V) determinados nestas amostras estão mostradas na **Figura 34 e 35**, as quais revelam informações muito interessantes sobre a distribuição das espécies V(V) e Vanádio Total nas amostras analisadas.

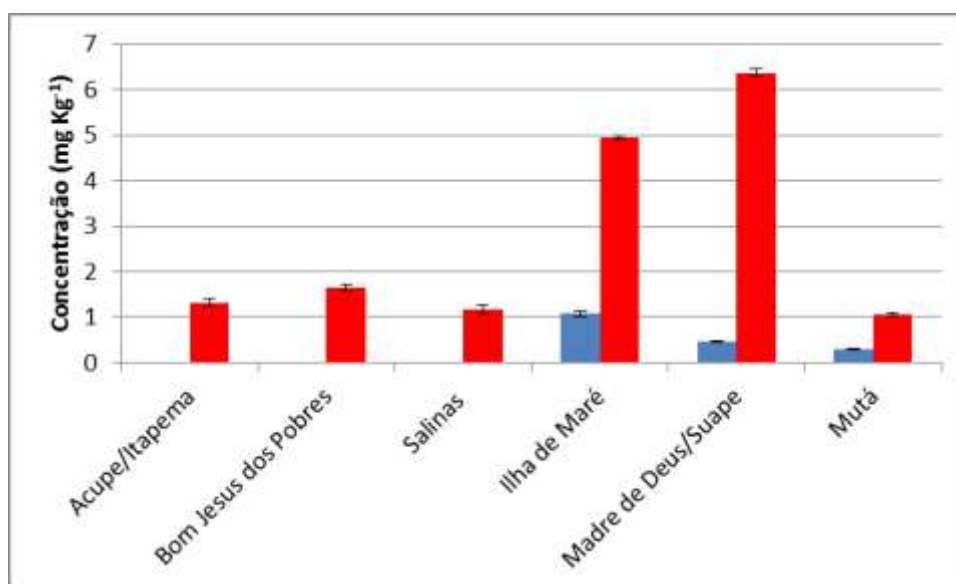


Figura 34. Distribuição de V(V) e Vanádio Total na primeira campanha em 2010 nas amostras de sedimentos em diferentes regiões da BTS.

Nas amostras de sedimentos da primeira coleta (período seco) obteve-se concentrações para vanádio total na faixa de 1,00 a 6,45 mg Kg⁻¹, enquanto que para V(V) a faixa de concentração obtida foi de LOQ a 1,08 mg Kg⁻¹. Já na segunda campanha (período chuvoso), a faixa de concentração foi de 0,52 a 4,98 mg Kg⁻¹ para Vanádio total, enquanto que para o V(V) a faixa de concentração variou de 1,05 a 6,36 mg Kg⁻¹. As amostras coletadas nas

regiões adjacentes aos setores intensamente industrializados, como a faixa localizada entre as Ilhas de Madre de Deus e Maré, apresentaram as maiores concentrações de Vanádio Total e V(V), para ambos os períodos de coleta (**Figuras 34 e 35**). Essas áreas estão sujeitas a impactação antrópica principalmente as provenientes do TEMADRE (Terminal Marítimo Almirante Alves Câmara) e da unidade operacional da TRANSPETRO, subsidiária da Petrobrás, e da proximidade com a RLAM (Refinaria Landulpho Alves – Mataripe) (ONOFRE *et al.*, 2007). O petróleo é conhecido por conter vários metais a níveis de traço, dentre estes, o vanádio, podendo assim ser justificado o maior nível deste elemento nessas duas regiões estudadas.

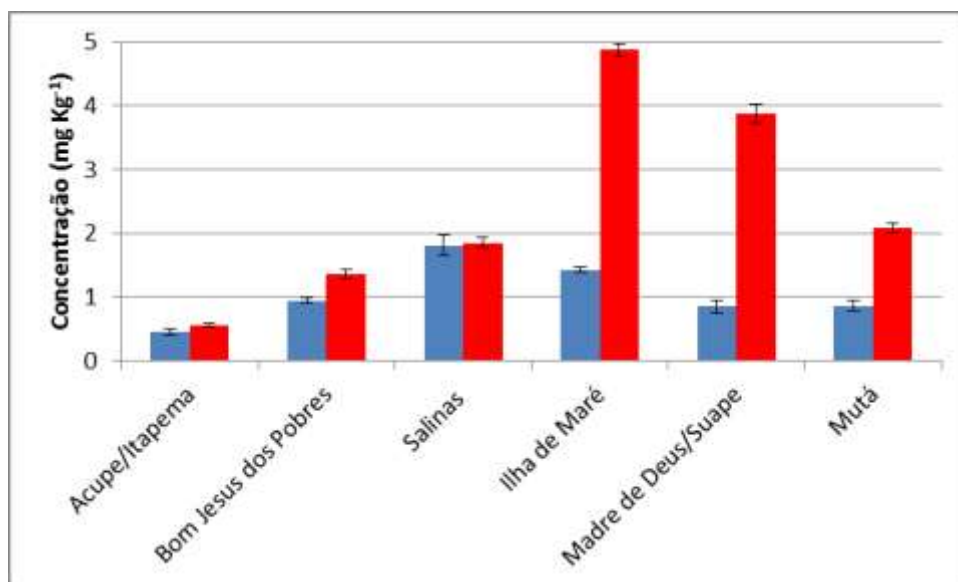


Figura 35. Distribuição de V(V) ■ e Vanádio Total ■ na segunda campanha em 2011 nas amostras de sedimentos em diferentes regiões da BTS.

Na **Tabela 22** estão apresentados os resultados obtidos para Vanádio Total e V(V) em todos os pontos de amostragem no entorno da BTS, para os dois períodos de campanha.

Tabela 22. Concentração de Vanádio Total e V(V) em amostras de sedimentos da BTS.

| | Vanádio Total (mg Kg ⁻¹) | | V(V) (mg Kg ⁻¹) | |
|-----------------------------|--------------------------------------|---------------|-----------------------------|-------------|
| | set/10 | abr/11 | set/10 | abr/11 |
| Acupe/Itapema | 1,32 ± 0,09 | 0,550 ± 0,034 | < 0,23 | 0,35 ± 0,05 |
| Bom Jesus dos Pobres | 1,64 ± 0,07 | 1,35 ± 0,07 | < 0,23 | 0,94 ± 0,04 |
| Salinas | 1,17 ± 0,09 | 1,85 ± 0,08 | < 0,23 | 1,81 ± 0,16 |
| Ilha de Maré | 4,95 ± 0,05 | 4,88 ± 0,10 | 1,08 ± 0,06 | 1,42 ± 0,04 |
| Madre de Deus/Suape | 6,36 ± 0,08 | 3,88 ± 0,15 | 0,47 ± 0,007 | 0,85 ± 0,10 |
| Mutá | 1,05 ± 0,05 | 2,08 ± 0,07 | 0,29 ± 0,005 | 0,86 ± 0,08 |

LOQ = 0,23 mg Kg⁻¹

Para as amostras de sedimentos das 6 regiões de amostragem, foram estimados os teores de V(IV) pela diferença entre as concentrações de Vanádio Total e V(V). Os resultados obtidos estão apresentados nas **Figuras 36 e 37**.

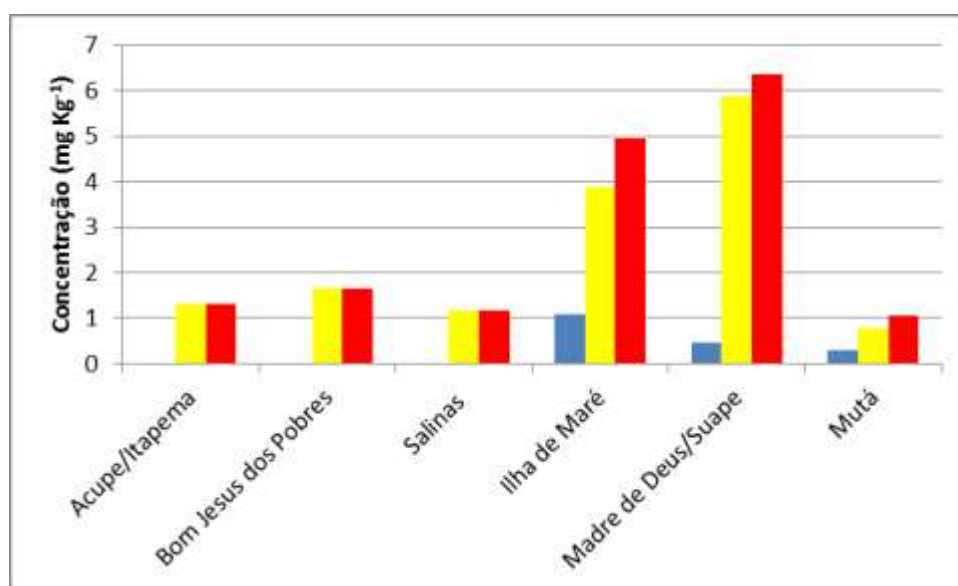


Figura 36. Comparação da distribuição de V(V) ■ V(IV) ■ e Vanádio Total ■ contidos nos sedimentos do entorno da BTS na primeira campanha, em 2010 (período seco).

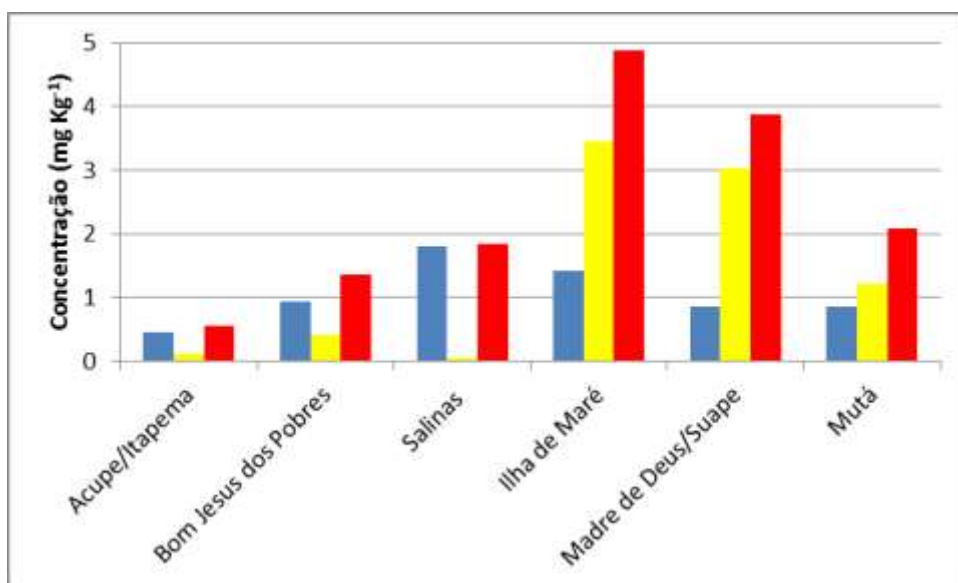


Figura 37. Comparação da distribuição de V(V) ■ V(IV) ■ e Vanádio Total ■ contidos nos sedimentos do entorno da BTS na segunda campanha, em 2011 (período chuvoso).

Os resultados obtidos para a primeira campanha (período seco) mostram que o Vanádio em todas as áreas de amostragem está presente nos sedimentos em sua grande maioria na forma de V(IV), ou seja, na forma menos tóxica deste metal. Para as amostras coletadas em Acupe/Itapema, Bom Jesus dos Pobres e Salinas, as concentrações de V(V) estavam abaixo do limite de quantificação do método. Na segunda campanha de amostragem (período chuvoso), observou-se maiores concentrações de V(V) nas amostras coletadas em Acupe/Itapema, Bom Jesus dos Pobre e Salinas. Nas demais áreas de amostragem, os teores obtidos para V(V) foram menores que os calculados para V(IV), seguindo a mesma tendência observada para o período seco.

2.6 CONCLUSÕES

O procedimento de extração de vanádio V(V) em amostras de sedimentos foi investigado para determinação por ICP OES, sendo validado através dos LOD e LOQ, da linearidade e faixa de trabalho, precisão e exatidão. Os resultados obtidos através do teste de adição e recuperação de V(V) nos sedimentos foram na faixa de 99 a 106% respectivamente, o que mostra a eficiência do procedimento de extração utilizando Na_2CO_3 para determinação desta espécie nas amostras em estudo.

Para as amostras de sedimento coletadas nas duas campanhas de amostragem, os teores de V(IV) foram superiores aos de V(V) em quase todas as regiões. Com exceção dos resultados obtidos para as amostras coletadas no período chuvoso nas regiões de Acupe/Itapema, Bom Jesus dos Pobres e Salinas, onde os teores de vanádio na forma de V(V) foram maiores quando comparados ao teor de V(IV). Maiores concentrações de V(V) e Vanádio Total foram observadas nos sedimentos das regiões de Madre de Deus e Ilha de Maré em ambos os períodos de coleta (chuvoso e seco). Apesar das concentrações relativamente baixas, percebe-se que em Acupe/Itapema e em Salinas praticamente todo vanádio está na forma de V(V), forma essa mais tóxica. Estes resultados podem ser creditados à proximidade dos locais de coleta à região altamente industrializada e com históricos de contaminação por petróleo devido à proximidade com a RLAM, a unidade operacional da TRANSPETRO.

Este trabalho pretende contribuir com novas informações sobre as áreas investigadas, mostrando uma grande contribuição para pesquisadores que desejam avaliar os sedimentos quanto à contaminação por vanádio, sendo uma fonte de comparação para avaliação de possíveis contaminações ao longo do tempo.

2.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADACHI, A.; OGAWA, K.; TSUSHI, Y.; NAGAO, N.; KOBAYAH, T. Determination of Vanadium in Environmental Samples by Atomic Absorption Spectrophotometry, **Water Res.**, v. 31 (5), p. 1247-1250, 1997.

AMORIM, F. A. C.; WELZ, B.; COSTA, A. C. S.; LEPRI, F. G.; GORETI, M.; VALE, R.; FERREIRA, S. L. C. Determination of vanadium in petroleum and petroleum products using atomic spectrometric techniques, **Talanta**, v. 72 (2), p. 349-359, 2007.

ATSDR, Toxicological profile for vanadium. Atlanta, GA: U. S. Department of Health and Human Services, **PHS**, p. 1-2, 1996.

BENDO, A., Especificação química de cobre nas águas da região costeira da ilha de Santa Catarina utilizando voltametria de redissolução catódica e métodos espectrométricos de emissão e absorção atômica, **Dissertação (Mestrado)**, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, 111 f., 2002.

BERMEJO-BARRERA, P.; PARDIÑAS-ALVITE, T.; BARCIELA-ALONSO, M. C.; BERMEJO-BARRERA, J. A.; JUAN, C. de; FRAGA-BERMÚDEZ, J. M. Vanadium determination in milk by atomic absorption spectrometry with electrothermal atomisation using hot injection and preconcentration on the graphite tube, **J. Anal. At. Spectrom.** nº 5, p. 435-439, 2000.

BISINOTI, M. C.; JARDIM, W. F., O emprego de técnicas analíticas na especificação de metais pesados e a sua importância para o estudo do ambiente, **Caderno Temático**, v. 2, UNICAMP, 2004.

CHIMUKA, L.; MAJOR, R., Speciation studies of metal ions in environmental and biological media using supported liquid membrane extraction, *LC•GC Europe*, v. 17 (7), p. 396–401, 2004.

COLINA, M., GARDINER, P. H. E., RIVAS, Z. and TRONCONE, F. Determination of vanadium species in sediment, mussel and fish muscle tissue samples by liquid chromatography–inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, v. 538 (1-2), p. 107-115, 2005.

CREPLIVE, M. R. Remoção de Vanádio a partir de Catalisadores Termodinamicamente Estáveis, **Dissertação (Mestrado)**, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 105f., 2008.

CRUVINEL, P. B. Pesquisa de Metais Tóxicos nos Sedimentos do Córrego Liso, Localizado no Distrito Industrial de Uberlândia (MG), **IX Encontro Interno & XII Seminário de Iniciação Científica**, Universidade Federal de Uberlândia, p. 1-8, 2009.

De OLIVEIRA, R. C. B.; MARINS, R. V., Dinâmica de metais-traço em solo e ambiente sedimentar estuarino como um fator determinante no aporte desses contaminantes para o ambiente aquático: Revisão, *Rev. Virtual Quim.*, v. 3 (2), p. 88-102, 2011.

DOMINGO, J. L. Vanadium: A Review of the Reproductive and Developmental toxicity, *Reprod. Toxicol.*, 10(3), p. 175-182, 1996.

DUARTE, R.; MOURA, J. J. G.; MACEDO, A. Propriedades Redox dos Metais de Transição – O Vanádio. Introdução à Química da Vida. Universidade Nova de Lisboa. Faculdade de Ciências e Tecnologia, Departamento de Química, **Secção de Química-Física e Inorgânica**, p. 1-8, 2006.

FABRINO, H. J. F. Emprego de Otimização Multivariada no Desenvolvimento de Métodos para Determinação de Metais de Interesse em Soro e Sangue Humanos por Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite. **Dissertação (Mestrado)**, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 106f., 2008.

FLYNN, M. N. Análise da Contaminação de Sedimento por Metais Pesados - Ribeirão do Meio - Socorro – SP, **Anais do VII Congresso de Ecologia do Brasil**, Caxambu, Minas Gerais, p. 1-2, 2007.

GALVÃO, P. M. A.; REBELO, M. F.; GUIMARÃES, J. R. D.; TORRES, J. P. M.; MALM, O., Bioacumulação de metais em moluscos bivalves: Aspectos evolutivos e ecológicos a serem considerados para a biomonitoração de ambientes marinhos. **Braz. J. Aquat. Sci. Technol**, v. 13 (2), p. 59-65, 2009.

GOMES, M. Da SILVA, Determinação de elementos metálicos em Sedimentos da baía do almirantado, ilha rei george, península antártica, **Dissertação (Mestrado)**, São Paulo, 220f., 1999.

GOMES, V. P.; AMARAL, C.; JÚNIOR, L. C. G. N.; CÉSAR, A.; ABESSA, D. M. S. Avaliação da Contaminação por Mercúrio nos Sedimentos do Estuário de Santos-SP, Brasil, **Rev. Cecil.**, v 1(2), p. 29-33, 2009.

HORTELLANI, M. A.; SARKIS, J. E. S.; ABESSA, D. M.; SOUSA, E. C. P. M., Avaliação da contaminação por elementos metálicos dos sedimentos do estuário Santos – São Vicente, **Quím. Nova**, v. 31 (1), p. 10-19, 2008.

LI, X.; LE, X. Speciation of vanadium in oilsand coke and bacterial culture by high performance liquid chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry. **Anal Chim Acta.**, v. 602, p. 17-22, 2007.

LUZ, R. C. S. et al. Determinação de vanádio em óleo diesel por espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite (GF AAS), **Rev. Analytica**, v. 7, p. 48-56, 2003.

MANDIWANA, K. L.; PANICHEV, N., Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of vanadium(V) in soil after leaching with Na₂CO₃, **Anal. Chim. Acta**, n. 517, p. 201-206, 2004.

MARINS, R. V.; SANTOS, J. A. dos; LOPES, D. V. Identificação de metais nos sedimentos dos estuários da costa do estado. Governo do Estado do Ceará. Universidade Federal do Ceará – UFC. **Zoneamento Ecológico e Econômico (ZEE) da Zona Costeira do Estado do Ceará**, Universidade Federal do Ceará, 18f, 2005.

MARTINS, L. L.; MOURATO, M. P. Alterações no Metabolismo de Plantas em Meios Contaminados por Metais Pesados: Stresse Oxidativo. **Ver. Agros**, nº 2, ISA, Portugal, 2008.

MELO, A. S. Q. Métodos Analíticos para Avaliação e Controle de Vanádio e Cobre em Água de Mar e Efluentes de Refinaria de Petróleo, **Tese (Doutorado)**, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, 176f., 2003.

MOSELHY-EL, KH. M. Distribution of Vanadium in Bottom Sediments From the Marine Coastal Area of the Egyptian Seas, **Egypt. J. Aquat. Res.**, v. 32(1), p. 12-24, 2006.

MUKHERJEE, b.; PATRA, B.; MAHAPATRA, S. Vanadium—an element of atypical biological significance. **Toxicol. Lett.**, 150(2), p. 35-43, 2004.

NOALE, R. Z. Avaliação do Risco Ambiental em Sedimento dos Lagos do riacho Cambé em Londrina pela Distribuição de Metais, **Dissertação (Mestrado)**, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, 71f., 2007.

ONOFRE, C. R. E.; CELINO, J. J.; NANO, R. M. W.; QUEIROZ, A. F. S., Biodisponibilidade de metais traço nos sedimentos de manguezais da porção norte da Baía de Todos os Santos, **Rev. Biol. Ciênc. Terra**, v. 7 (2), p. 65-82, 2007.

PANICHEV, N.; MANDIWANA, K.; MOEMA, D.; MOLATLHEGI, R. NGOBENI, P. Distribution of vanadium(V) species between soil and plants in the vicinity of vanadium mine, **J. Hazard. Mater.**, v. 137 (2), P 649-653, 2006.

PAREDES, E. ;MAESTRE, S. E. ; TODOLÍ, J. L. A new continuous calibration method for inductively coupled plasma spectrometry. **Anal. Bioanal. Chem.**, v.384 (2), p.531-541, 2006.

PEIXOTO, E. M. A. Vanádio, **QNEsc**, n 24, p. 1, 2006.

PIRES, N. R. X.; da SILVA, J. F.; HOLZ, F. P.; FILHO, P. J. S., Especificação química do cromo no sedimento da laguna dos patos – Saco do Laranjal – Pelotas/RS, **XX Congresso de Iniciação Científica – III Mostra Científica**, p. 1-4, 2011.

PYRZYNSKA, K.; WIERZBICKI, T. Determination of vanadium species in environmental samples. **Talanta**, v. 64, p. 823-829, 2004.

RIBEIRO, A. P. Determinação de metais pesados e outros elementos de interesse em sedimentos lacustre da estação de tratamento de esgoto de Barueri, São Paulo, por ativação neutrônica. **Dissertação (Mestrado)**, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 85f., 2002.

RIBEIRO, F. A. F. Carbocloração do Pentóxido de Vanádio e Aspectos do seu Comportamento Químico. **Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais)**, Pontifícia Universidade Católica, Rio de Janeiro, 116f., 2005.

SABBIONI, E.; KUCERA, J.; PIETRA, R.; VESTERBERG, O. A critical review on normal concentrations of vanadium in human blood, serum, and urine, **Sci. Total Environ.**, p. 49-58, 1996.

SACRAMENTO, R. V. O. Caracterizações dos solos, fitodisponibilidade e teores pseudo-totais de metais no sistema solo-planta em canaviais do Recôncavo Baiano. **Tese (Doutorado)** – Universidade Federal da Bahia, Instituto de Química, Salvador, 220 f., 2010.

SAMPAIO, A. C. S., Metais pesados na água e sedimentos dos rios da bacia do alto Paraguai, **Dissertação (Mestrado)**, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 76 f., 2003.

SANTOS, R. M.; SANTOS, L. C.; SOUZA, E. S.; NUNES, C. T. S.; GERVASIO, A. P. G., Desenvolvimento de metodologia para especiação de cromo em amostras de águas por eletroforese capilar de zona, **Sci. Plena**, v. 5, p. 1-18, 2009.

SILVA, E. S. Desenvolvimento de um Sistema de Análise por Injeção Seqüencial (SAI) para a Determinação de Vanádio (V) em Águas, **Dissertação (Mestrado)**, Universidade do Porto, Porto, Portugal, 79f., 2008.

TEMPLETON, D. M.; ARIESE, F.; CORNELIS, R.; DANIELSSON, L. G.; MUNTAU, H.; LEEUWEN, H. P. V.; LOBINSKI, R., Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches (IUPAC Recommendations 2000), **Pure Appl. Chem.**, v. 72 (8), p. 1453-1470, 2000).

TODOLI, J. L.; GRAS, L.; HERNANDIS, V.; MORA, J. Elemental matrix effects in ICP-AES. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 17, p.142–169, 2002.

TODOLÍ, J. L.; MERMET, J. M.; . Acid interferences in atomic spectrometry: analyte signal effects and subsequent reduction **Spect. Act. B**, v.54, p.895-929, 1999.

URE, A.M., Trace element speciation in soils, soil extracts and solutions. **Mikrochim. Act.**, II: 49-57, 1991.

USEPA, United States Environmental Protection Agency. Method 3051A – Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils, and oils. 1998. Revision 30p. 2007.

VENKATARAMAN, B. V.; SUDHA, S. Vanadium Toxicity - **Asian J. Exp. Sci.**, V. 19 (2), p. 127-134, 2005.

WATERS, M. D., Toxicology of vanadium. In advances in modern toxicology. **U.S. Department of Health and human service**, Wiley, New York, v. 2, p. 147-189, 1977.

WU, Y.; JIANG, Z.; HU, B. Speciation of vanadium in water with quinine modified resin micro-column separation/preconcentration and their determination by fluorination assisted electrothermal vaporization (FETV)-inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). **Talanta**, v. 67 (4), p. 854-861, 2005.

ZEMBERYOVA, M.; JANKOVIC, R.; HAGAROVA, I.; KUSS, H.M. Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of vanadium in extracts of soil and sewage sludge certified reference materials after fractionation by means of the Communities Bureau of Reference modified sequential extraction procedure, **Spectrochimica Acta**, Part B, N° 62, p. 509-513, 2007.