

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO – OESTE – UNICENTRO-PR

**QUANTIFICAÇÃO DE CONTAMINANTES METÁLICOS EM
ESPÉCIES BIOINDICADORAS COMO FERRAMENTA EM
ESTUDOS DE IMPACTO AMBIENTAL**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

CAROLINA MARÍLIA MARTINS REPULA

GUARAPUAVA – PR

2009

CAROLINA MARÍLIA MARTINS REPULA

**QUANTIFICAÇÃO DE CONTAMINANTES METÁLICOS EM
ESPÉCIES BIOINDICADORAS COMO FERRAMENTA EM
ESTUDOS DE IMPACTO AMBIENTAL**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro- Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada, área de concentração em Metodologias Analíticas e Aplicações, para obtenção do título de Mestre.

Orientador:

Prof. Dr^a. Sueli Pércio Quináia

Co-orientador:

Prof. Dr. Edgard Morreira Ganzarolli

GUARAPUAVA - PR

2009

R426q Repula, Carolina Marília Martins
Quantificação de contaminantes metálicos em espécies bioindicadoras como ferramenta em estudos de impacto ambiental / Carolina Marília Martins Repula. -- Guarapuava, 2008.
v, 82 f.: 28 cm

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada, área de concentração em Metodologias Analíticas e Aplicações, 2009
Orientadora: Sueli Pércio Quináia
Co-orientador: Edgard Moreira Ganzarolli

Bibliografia

1. Química aplicada. 2. Especificação. 3. Crômio. I. Título. II. Universidade Estadual do Centro-Oeste.

CDD 660

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me dado força, coragem em todos os momentos difíceis que passei em minha vida.

À minha família, pela força, confiança, incentivo e principalmente pela presença em todos os momentos da minha vida.

À professora Dr^a. Sueli Pércio Quináia, pela orientação, dedicação, apoio e também pela sua amizade. Agradeço por tudo que me ensinou até aqui, principalmente sobre a vida.

Aos professores Dr. Edgard Moreira Ganzarolli e Dr. Mauro Chierici Lopes, pela paciência, críticas e sugestões para a melhoria do trabalho.

Aos meus amigos, colegas de curso e do labGATI, principalmente Bruna K. Campos, pela amizade, apoio e ajuda na realização do trabalho.

Ao meu namorado Willian Rocha pela paciência, apoio e amor a mim dedicados.

À Universidade Estadual do Centro-Oeste através do Departamento de Química pela oportunidade de realização do curso e pela infraestrutura disponibilizada.

Aos meus amigos Rodrigo Miyagui e Luiz Francisco Agner II pela ajuda e companhia nas tardes de pescaria.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	i
LISTA DE TABELAS.....	ii
LISTA DE SIGLAS E ACRÔNIMOS.....	iii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	v
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	5
2.1. Objetivo geral.....	5
2.2. Objetivos específicos.....	5
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	6
3.1. Chumbo.....	7
3.2. Crômio.....	9
3.3. Bioindicadores.....	11
3.4. Técnicas para determinar elementos-traço.....	14
3.4.1. Polarografia de pulso diferencial.....	19
3.4.2. Voltametria de Redissolução.....	21
3.4.2.1. Voltametria de Redissolução anódica.....	22
3.4.2.2. Voltametria de Redissolução catódica.....	22
3.4.3. Parâmetros importantes das técnicas eletroquímicas.....	23
3.5. DTPA.....	24
4.0 Materiais e Métodos.....	27
4.1. Local de amostragem.....	27
4.2. Características do ambiente de estudo.....	29
4.3. Equipamentos e Materiais.....	31
4.4. Reagentes.....	31
4.5. Limpeza dos materiais utilizados.....	32
4.6. Coleta das amostras.....	32
4.7. Preparo das Amostras.....	34
4.8. Quantificação do Chumbo.....	35
4.9. Quantificação do Crômio.....	36

4.10. Validação do método analítico para a determinação de Pb e Cr.....	37
4.10.1. Limite de detecção.....	39
4.11. Tratamento matemático e estatístico dos dados.....	39
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
5.1. Otimização do método analítico para a determinação do Cr.....	41
5.1.1. Estudo da adição de tampão.....	41
5.1.2. Estudo do tempo de purga.....	42
5.1.3. Estudo do pH.....	43
5.1.4. Estudo do tempo de deposição e concentração de Cr.....	45
5.1.5. Estudo do tempo de incremento de voltagem.....	48
5.1.6. Estudo da velocidade de varredura.....	49
5.1.7. Estudo do tempo de deposição.....	44
5.2. Otimização do método analítico para a determinação do Pb.....	49
5.3 Validação dos métodos analíticos.....	50
5.3.1. Estudo de adição e recuperação de Pb nas plantas.....	50
5.3.2. Estudo de adição e recuperação de Pb em peixes.....	53
5.3.3. Estudo de adição e recuperação de Cr em plantas do Salto São Francisco.....	56
5.3.4. Estudo de adição e recuperação de Cr em peixes.....	58
5.4. Quantificação de Cr e Pb em plantas e peixes.....	61
5.5 Estudo quimiométrico.....	67
6. CONCLUSÕES.....	70
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Representação de uma cadeia trófica aquática.....	3
Figura 02: Representação de uma cadeia trófica terrestre.....	4
Figura 03: Ciclo do Cr. A: atividade antropogênica; B: nos seres vivos.....	10
Figura 04: Representação esquemática mostrando os eletrodos em um recipiente polarográfico	15
Figura 05: Esquema mostrando a célula conectada a um sistema potenciostático.....	15
Figura 06: Sinal e voltamograma da corrente resultante na voltametria cíclica.....	16
Figura 07: Forma de aplicação do potencial para a varredura linear, pulso diferencial e voltametria de onda quadrada.....	18
Figura 08: Esquema representativo da aplicação do potencial em função do tempo em polarografia de pulso diferencial.....	19
Figura 09: Voltamograma resultante de uma análise de pulso diferencial.....	20
Figura 10: Variação da corrente faradaica e corrente capacitiva com o tempo, em técnicas de pulso.....	21
Figura 11: Estrutura da molécula do dietilenotriaminopentacético (DTPA).....	24
Figura 12: Reações propostas para descrever os diferentes comportamentos eletroquímicos para Cr (VI) e Cr (III) na presença de DTPA.....	25
Figura 13: Mapa da cidade de Guarapuava-PR, com a ampliação do ponto de coleta (GOOGLE EARTH).....	27
Figura 14: Imagem aérea da região com a marcação dos pontos de coleta no córrego e no tanque de peixes.....	28
Figura 15: Imagem (A) da confluência entre o descarte de efluente do curtume e o córrego e (B) proximidade entre o córrego e o tanque de peixes	28
Figura 16: (A) Salto São Francisco, Guarapuava-PR, (B) Tanque de peixes no município de Pitanga-Pr (área rural).....	29
Figura 17: Amostras de peixes coletadas no tanque próximo ao curtume (A) Carpa, (B) Tilápia, (C) Bagre.....	33
Figura 18: Amostras de pteridófitas (A) e briófitas (B) coletadas no tanque de peixes e no córrego.....	33
Figura 19: Inter-relação entre os diferentes métodos de construção da curva analítica.....	39

Figura 20: Voltamogramas para Cr sem a utilização de tampão (A) e com o tampão (B).....	42
Figura 21: Curvas de adição padrão para o Cr sem tampão (A) e com a adição de tampão (B).....	42
Figura 22: Voltamograma do estudo do tempo de purga. Curvas: (A): 5s. (B) 150 s e (C) 300s.....	43
Figura 23: Estudo da variação do pH para a determinação de Cr (VI) por VRC.....	44
Figura 24: Estudo da intensidade da corrente variando o pH para determinação de Cr por VRC.....	44
Figura 25: Estudo da saturação da gota de mercúrio e deslocamento da corrente de pico em relação à concentração de Cr e ao tempo de deposição do complexo formado.....	45
Figura 26: Voltamogramas obtidos com o estudo do tempo de deposição do Cr ($0,1 \text{ mg L}^{-1}$) em 5 e 30 s.....	47
Figura 27: Curvas de adição de padrão para Cr ($0,1 \text{ mg L}^{-1}$) em 5 e 30 s.....	47
Figura 28: Voltamogramas do estudo do tempo de incremento de voltagem para 0,1 s (A), 0,4 s (B), 0,6 s (C) e 0,8 s (D).....	48
Figura 29: Variação da velocidade de varredura com o sinal analítico.....	49
Figura 30: Estudo do volume de tampão $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{NH}_3$ e recuperação do Pb na medida voltamétrica por VRA.....	50
Figura 31: Voltamograma e curva de adição de padrão para recuperação de Pb adicionado em amostras de planta do Salto São Francisco.....	47
Figura 32: Voltamograma e curva de adição da quantificação de Pb no branco digerido.....	52
Figura 33: Voltamograma e curva de quantificação do Pb em amostra de planta (coletada no Salto São Francisco).....	52
Figura 34: Voltamograma e curva de adição de padrão para quantificação de Pb em amostras de músculo de peixe.....	53
Figura 35: Voltamograma e curva de adição para recuperação do Pb adicionado no músculo ($0,1 \text{ mg L}^{-1}$).....	54
Figura 36: Voltamograma e curva de adição para quantificação de Pb em amostra de fígado.....	54
Figura 37: Voltamograma e curva de adição para recuperação do Pb adicionado na amostra de fígado ($0,1 \text{ mg L}^{-1}$).....	55

Figura 38: Voltamograma e curva de adição para a quantificação de Cr no branco.....	56
Figura 39: Voltamograma e curva de adição para a recuperação de Cr (VI) 1,0 mg L ⁻¹ nas plantas.....	57
Figura 40: Voltamograma e curva de adição para quantificação de Cr (VI) nas plantas.....	57
Figura 41: Voltamograma e curva de adição para quantificação de Cr no branco digerido....	58
Figura 42: Voltamograma e curva de adição da medida de recuperação do Cr adicionado no fígado.....	59
Figura 43: Voltamograma e curva de adição para quantificação de Cr em amostra de fígado.....	59
Figura 44: Voltamograma e curva de adição para recuperação do Cr adicionado no músculo (0,1 mg L ⁻¹).....	60
Figura 45: Voltamograma e curva de adição para quantificação do Cr no músculo.....	60
Figura 46: Escores (A) e Pesos (B) da primeira e segunda componentes principais para as amostras das plantas briófitas (BD, BE, BF, BG, BH) e pterodófitas (PA, PB e PC).....	67
Figura 47: Pesos da primeira (A) e segunda (B) componentes principais nas amostras de peixes.....	68
Figura 48: Escores (A) e Pesos (B) da primeira e segunda componentes principais para as amostras de peixes.....	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Propriedades físicas do elemento Pb.....	7
Tabela 02: Propriedades físicas do elemento Cr.....	9
Tabela 03: Parâmetros físico-químicos medidos em amostras de águas (julho de 2007).....	30
Tabela 04: Concentrações de Cr determinados em amostras de material particulado em suspensão (MPS), em amostras de água filtrada (0,45 µm) e em amostras de sedimentos.....	30
Tabela 05: Parâmetros utilizados para as determinações voltamétricas do chumbo.....	36
Tabela 06: Parâmetros utilizados para as determinações voltamétricas do cromo.....	37
Tabela 07: Estudo da adição e recuperação de Pb em plantas por voltametria.....	53
Tabela 08: Estudo da adição e recuperação de 0,10 mg L ⁻¹ de Pb em peixes por voltametria.....	55
Tabela 09: Estudo da adição e recuperação de Cr em plantas por voltametria.....	58
Tabela 10: Estudo da adição e recuperação de Cr em peixes por voltametria.....	61
Tabela 11: Concentrações máximas de Cr e Pb permitido pela legislação brasileira.....	61
Tabela 12: Determinação de Pb e Cr em plantas por voltametria.....	62
Tabela 13: Comparação dos resultados obtidos neste trabalho com informações citadas em literatura específica.....	63
Tabela 14: Determinação de Cr e Pb em amostras de peixes por voltametria (µg g ⁻¹).....	64
Tabela 15: Comparação dos resultados obtidos neste trabalho com informações citadas em literatura específica.....	66

LISTA DE SIGLAS E ACRÔNIMOS

- ACP – Análise de Componentes Principais.
- DBO – Demanda Bioquímica de Oxigênio.
- DQO – Demanda Química de Oxigênio.
- DME – eletrodo gotejante de mercúrio.
- DGT - Gradiente Difusivo em Filmes Finos
- DMT - técnicas de membrana Donnan
- DET - técnica difusiva de equilíbrio em filme fino.
- DPV – Voltametria de pulso diferencial.
- DTPA – Ácido Dietilenotriaminopentacético.
- E_{dep} - potencial de deposição.
- E^0 – Potencial padrão.
- EPA – Environmental Protection Agency.
- ETAAS - Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica.
- FAAS – Espectrometria de Absorção Atômica com Chama.
- GATI – Grupo de Análises de Traços e Instrumentação.
- GIME - técnica de microeletrodo integrado a gel
- HMDE – eletrodo de mercúrio de gota pendente.
- ICP – OES – espectrometria de emissão óptica com acoplamento de plasma induzido.
- K_d – Coeficiente de Distribuição.
- LD – limite de detecção
- MES - ácido Morpholinoethanesulfonic
- OD – Oxigênio Dissolvido.
- pH – potencial hidrogenionico
- ppb – partes por bilhão.
- S_1 – Corrente antes do pulso
- S_2 – Corrente após o pulso
- SDT – Sólidos Dissolvidos Totais.
- SST – Sólidos Suspensos Totais.
- SWV – Voltametria de onda quadrada.
- t_{dep} – tempo de deposição.
- VRA – Voltametria de Redissolução Anódica.

VRC – Voltametria de Redissolução Catódica.

WHO – World Health Organization.

RESUMO

Vários estudos de contaminação de metais em ambientes aquáticos têm sido realizados nos últimos anos focalizando o uso de indicadores biológicos. A importância de metais-traço varia conforme a sua necessidade para a vida humana. O cromo no estado de oxidação (III) é benéfico em pequenas quantidades, participando do metabolismo do corpo humano, mas, no estado de oxidação (VI) possui poder cancerígeno. O chumbo é de grande interesse ambiental, pois o mesmo está presente em concentrações consideráveis no meio urbano. As fontes de contaminação desses metais em ambientes aquáticos podem ser provenientes de despejos industriais tais como: galvanização, gráfica, coureira e de pigmentos. O estudo para avaliação da poluição ambiental pode ser realizada através de indicadores biológicos como os peixes e as plantas, pois os mesmos sofrem bioacumulação e biomagnificação dos metais. O ambiente de estudo avaliado neste trabalho, um córrego localizado na região de Guarapuava – PR, recebe carga do efluente sem tratamento de curtume a mais de trinta anos. Em estudos anteriores realizados pelo Grupo de Análises de Traços e Instrumentação (GATI) foram determinados elevadas quantidades de cromo no material particulado em suspensão neste mesmo ambiente aquático. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o nível de poluição presente no mesmo através da quantificação de Cr e Pb em plantas e peixes coletados no local. O trabalho consistiu na otimização da metodologia analítica usada na preparação das amostras e na técnica de quantificação. Os peixes e as plantas foram preparados por via úmida através de digestão ácida. A técnica utilizada para a quantificação dos metais foi a voltametria de redissolução anódica e catódica com a utilização da polarografia de pulso diferencial. Indicadores biológicos coletados de fontes isentas de contaminação também foram avaliados para a obtenção de um padrão de linha de base “background” local. A comparação dos valores obtidos com as amostras do ambiente avaliado e do padrão de “background” foram importantes para confirmar a poluição presente no córrego devido ao excesso de despejo de efluente industrial. Esses despejos representam um risco para o equilíbrio das comunidades aquáticas.

ABSTRACT

Several studies of metal contamination in aquatic environments have been made in recent years focusing on the use of biological indicators. The importance of trace metals varies according to their need for human life. The oxidation state (III) for chromium is beneficial in small quantities, participating in the metabolism of the human body, but in the oxidation state (VI) has carcinogenic. Lead is of great environmental interest, because it is present in considerable urban concentrations. The sources of contamination of these metals in aquatic environments can come from industrial waste such as: plating, printing, tannery and pigments. The study to evaluate the environmental pollution can be accomplished through biological indicators such as fish and plants, because the same suffer bioaccumulation and biomagnification of metals. The studied environment in this work, stream of Guarapuava city – PR, receives unhandled sewage load of tanning to more than thirty years. In previous studies conducted by the Group of Trace Analysis and Instrumentation (GATI) were determined high levels of chromium in the particulate for the same environment. Therefore, the aim of this study was to evaluate the level of pollution present in that stream through the quantification of Cr and Pb in plants and fish. The work consisted in the optimization of the analytical methodology used in the sample preparing and quantification technique. Fish and plants were prepared by wet acid digestion. The technique used for the quantification of metals was the anodic and cathodic stripping voltammetry with differential pulse polarography. Biological indicators collected from sources free of contamination were also evaluated to obtain a pattern of local background. The comparison of the values obtained with samples of the studied and pattern background was important to confirm the pollution in the stream due to the excessive discharge of industrial effluent. These discharges represent a risk to the balance of aquatic communities.

1. INTRODUÇÃO

Cada vez mais é preocupante a poluição ambiental proveniente de resíduos domésticos ou industriais, com o crescimento da população humana que vêm exigindo um elevado consumo de água para os mais variados fins. A água, que através do ciclo hidrológico poderia ser considerada um recurso mineral renovável, não pode ser mais considerada assim. O despejo de dejetos nos cursos d'água tem sido enorme, degradando os ecossistemas aquáticos. Ao contrário dos poluentes orgânicos, os metais não são biodegradáveis e podem ser acumulados no organismo (DALMAN et al., 2007).

Os elementos-traço são elementos químicos que ocorrem na natureza em pequenas quantidades e estão classificados como um dos maiores poluentes dos ambientes aquáticos por não apresentarem degradação biológica. As fontes desses elementos podem ser naturais como o intemperismo ou antropogênica como atividades industriais, mineração e poluição atmosférica (PAQUIM et al., 2007; ESTEVES, 1998). Esses elementos são absorvidos principalmente através da água ou na alimentação. A poluição e conseqüente contaminação por elementos-traço em ecossistemas aquáticos ou terrestres ocorrem de maneira lenta e, por este motivo, pode-se considerar, erroneamente, que não traz efeitos graves.

Esses elementos apresentam peso atômico relativamente alto e caracterizam-se pelo efeito bio-acumulativo. Em concentrações superiores às legalmente recomendadas, têm sido responsabilizados por causar agravos à saúde, além de uma série de doenças carcinogênicas (DENILSON & SILBERGELD, 1998).

Esse trabalho envolveu dois aspectos relevantes, primeiro, a otimização de metodologias analíticas para o preparo de amostras biológicas e determinação de elementos-traço por voltametria, e segundo, uma avaliação da poluição por esses elementos-traço em um ambiente aquático no município do Guarapuava – PR, provenientes de fontes antropogênicas. Esse local foi escolhido, pois uma indústria de curtimento de couro lança seus efluentes diretamente em um córrego sem tratamento prévio a mais de trinta anos. Conseqüentemente, uma grande quantidade de cromo pode estar sendo lançada nas águas desse córrego. Além do córrego, um tanque de peixes foi avaliado devido a sua proximidade.

As indústrias de curtimento de couro produzem grandes quantidades de resíduos sólidos, incluindo os rejeitos do processamento industrial e os resultantes do tratamento dos efluentes. Somando-se os rejeitos do processamento das peles e os resíduos do tratamento de

efluentes, os resultados podem chegar a 1,2 vezes a quantidade de couro produzida. O Brasil é o quarto maior produtor de couros e peles do mundo, produzindo couros bovinos, eqüinos e suínos, peles de ovinos, caprinos e de coelhos e ainda couros de animais silvestres como lagarto, jacaré e veado. A preocupação com o lançamento dos resíduos de curtume no ambiente se deve à presença de matéria orgânica, constituída predominantemente por substâncias putrescíveis, e de matéria inorgânica, rica em sais, sulfetos e íons metálicos como o crômio, e em concentrações menores de outros íons como o zinco e chumbo (MARAGNO & POVINELLI, 2001). O curtimento mais utilizado atualmente é o curtimento mineral, que tem como base o sulfato de crômio.

Em estudos realizados pelo Grupo de Análises de Traços e Instrumentação (GATI) da UNICENTRO, foram determinados os mecanismos de distribuição do crômio nas formas dissolvidas e no material particulado em suspensão deste mesmo ambiente aquático. A distribuição de um elemento-traço entre a fase dissolvida e o material particulado em suspensão é um dos mais importantes mecanismos no controle do transporte desse poluente em ambientes aquáticos. Quanto maior o valor de K_d (coeficiente de distribuição) maior a tendência do metal estar sorvido ao material particulado (PEREIRA, et al., 1999).

O coeficiente de distribuição é uma expressão matemática que permite que um estudo mais aprofundado seja realizado sobre o transporte e distribuição do metal entre a água e os sólidos em suspensão. Os cálculos são realizados através da expressão (1):

$$K_d: \frac{\text{concentração do metal no material particulado (mg Kg}^{-1}\text{)}}{\text{concentração do metal na água (mg L}^{-1}\text{)}} \quad (1)$$

Elevadas quantidades de crômio foram determinadas no sedimento, 1473 (mg $Cr_{\text{total}} \text{ Kg}^{-1}$), e no material particulado em suspensão, 2877 ($\mu\text{g } Cr_{\text{total}} \text{ Kg}^{-1}$) no tanque de peixes (PEREIRA et al., 2007). O grupo verificou que a distribuição do crômio na água do córrego está predominantemente no material particulado em suspensão e que apenas pequenas quantidades de crômio trocável permanecem livres na água. Os resultados indicaram que o córrego recebe grandes descargas de Cr provenientes de atividades antropogênicas. Como o crômio apresentou-se preferencialmente na forma particulada, concluiu-se que o material em suspensão tem a tendência de decantar e sedimentar ao longo do percurso do córrego. Com base nestes resultados, é de suma importância o conhecimento do seu efeito para a fauna e a flora do meio.

Para esse estudo podemos destacar dois elementos, o cromo e o chumbo. O cromo tem grande importância para a saúde humana, pois participa de vários processos metabólicos, mas esses benefícios dependem da sua forma de oxidação presente no organismo.

Os estados de oxidação mais estáveis do cromo nos corpos aquáticos são as formas Cr (III) e Cr (VI), sendo que estas possuem ações diferentes nos organismos vivos (WEN et al., 2000).

Quanto ao chumbo, a contaminação antrópica é predominante em relação aos processos naturais. Apresenta grande interesse ambiental, pois o mesmo está presente em consideráveis concentrações no meio urbano.

Estudos recentes têm levado em consideração os efeitos que os elementos-traço podem causar apresentando-se em altas concentrações ao meio ambiente através da bioacumulação e da biomagnificação. Segundo Esser (1986), a bioacumulação trata da capacidade de acumulação de uma substância, através do meio circundante (água ou ar) ou de seu alimento, por um dado organismo. Já a biomagnificação consiste da transferência de uma substância química de um nível trófico inferior para um superior, como a cadeia trófica aquática (Figura 01) e a terrestre (Figura 02).

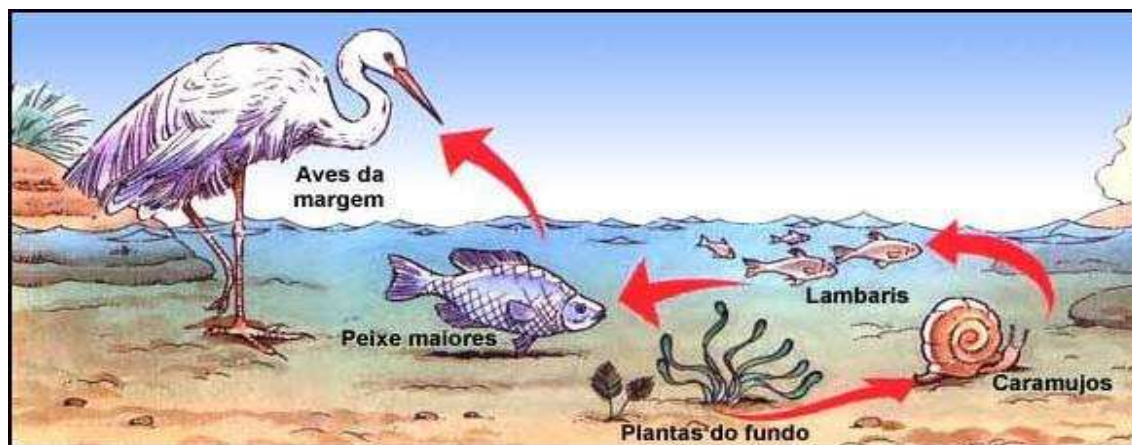


Figura 01: Representação de uma cadeia trófica aquática.

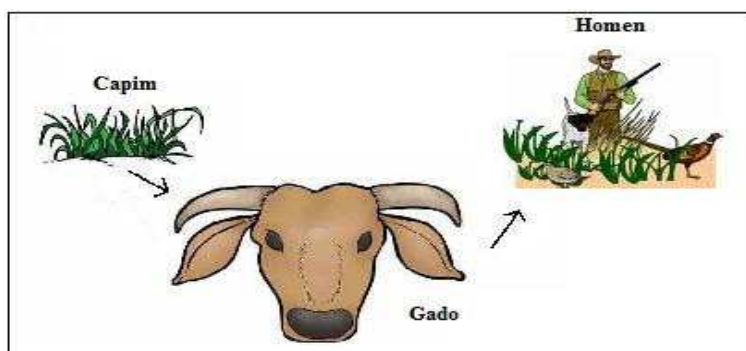


Figura 02: Representação de uma cadeia trófica aquática.

Vários estudos de contaminação por metais em ambientes aquáticos têm sido realizados nos últimos anos focalizando o uso de indicadores biológicos. Esses organismos são capazes de armazenar quantidades de substâncias nocivas, sem sofrer danos. Os peixes se constituem em verdadeiros agentes concentradores, e por isso, servem como indicadores de contaminação para avaliar a qualidade de água em rios e em bacias hidrográficas.

Estudos realizados por Gonçalves et al.(1994) e Nimis et al.(2002) comprovaram que o uso de briófitas (musgos, hepáticas e antóceros) como acumulador tem sido uma das poucas técnicas efetivas para a detecção da poluição intermitente, esporádica e sazonal e no fornecimento de informações relativas à fração biodisponível do metal. Essas briófitas obtêm os nutrientes e conseqüentemente os contaminantes através da água, da deposição atmosférica e do solo (substrato).

Esse trabalho tem como finalidade comprovar se o ambiente de estudo (córrego e tanque de peixes), já previamente avaliado e qualificado como contaminado, por PEREIRA, et al., (2007) está poluído com a presença de crômio e chumbo através da quantificação dos metais em indicadores biológicos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Os objetivos gerais do presente trabalho consistem em avaliar os contaminantes metálicos crômio e chumbo, através de suas quantificações, em bioindicadores coletados em um ambiente aquático localizado na cidade de Guarapuava-PR. Aplicando diversas abordagens e empregando uma série de procedimentos experimentais, foi dada ênfase aos aspectos mais específicos:

2.2. Objetivos específicos

- i. Otimização de um protocolo para digestão dos bioindicadores (plantas e peixes).
- ii. Implantação e validação de um protocolo analítico para determinação de crômio empregando a voltametria adsortiva de redissolução catódica.
- iii. Implantação e validação de um protocolo analítico para a determinação de chumbo empregando a voltametria de redissolução anódica.
- iv. Determinação de crômio e chumbo em amostras reais.
- v. Comparar com amostras de bioindicadores coletados em locais isentos de contaminação antrópica.
- vi. Aplicar ferramentas estatísticas aos resultados obtidos a fim de conhecer possíveis correlações entre os íons metálicos estudados e a sua bioacumulação em plantas e peixes.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

O constante avanço da tecnologia nos últimos séculos tem possibilitado ao homem modificar a natureza, utilizando-se dos recursos naturais disponíveis para inúmeros propósitos. Como consequência, observa-se descargas de resíduos dos mais diversos tipos no ar, no solo, e na água, que acabam por acumular substâncias nocivas aos seres vivos em toda a biosfera (LI & XUE, 2001).

As substâncias tóxicas são aquelas que mesmo em pequenas quantidades podem causar sérios danos aos organismos vivos, e incluem em seu gênero: metais pesados, compostos orgânicos naturais e sintéticos e compostos inorgânicos. Geralmente o lançamento desses rejeitos ocorre de forma pontual e é concentrada em locais rasos (DOMINGUEZ & ARCOS, 2002).

Todo organismo vivo tem sua vida afetada pelos metais, devido ao fato deles não serem produzidos naturalmente pelo homem e não serem biodegradáveis. Juntamente com o crescimento da era industrial a concentração dos metais em ecossistemas aquáticos aumentou consideravelmente gerando alterações nos ciclos biogeoquímicos.

As quantidades naturais desses elementos podem ser desequilibradas por processos naturais ou antropogênicos.

Sabe-se que o descarte inadequado de elemento traço em concentrações acima das que ocorrem naturalmente no ambiente implica em riscos à saúde pública. Isto ocorre devido à alta toxicidade aos seres humanos e à longa persistência no ambiente. No organismo humano o acúmulo de metais acaba por causar efeitos carcinogênicos, mutagênicos, degenerativos dentre outros. Podemos citar como, por exemplo, as doenças de Minamata, em 1956, e Itai-Itai, em 1955, causadas através da contaminação por mercúrio e cádmio, respectivamente, no Japão (LI & XUE, 2001).

Metais traço apresentam um papel importante no funcionamento da vida em nosso planeta. Alguns são considerados micronutrientes essenciais, tais como ferro, manganês, cobre, cobalto, zinco e selênio, entretanto podem se tornar tóxicos em concentrações mais elevadas. Enquanto outros não têm função biológica conhecida, como o cádmio, chumbo, mercúrio (ANJOS, 2006).

3.1. Chumbo

O chumbo juntamente com o carbono, o silício, o germânio e o estanho formam o grupo 14 da tabela periódica. É encontrado no seu estado natural em depósitos minerais, de onde são extraídos de 3 a 10% de Pb. É um metal de cor cinza azulada (OHWEILER, 1971).

O chumbo fundido produz fumos em quantidades mensuráveis a partir de temperaturas entre 500 e 600 °C, que combinados com o oxigênio do ar formam o óxido de chumbo. A evaporação aumenta com a elevação da temperatura. Este metal é macio e maleável, e contrai-se consideravelmente sob resfriamento. Embora o chumbo tenha quatro elétrons na sua camada de valência, somente dois ionizam-se facilmente. Por isso, o estado de oxidação comum para o chumbo em compostos inorgânicos é +2 ao invés de +4. A Tabela 01 apresenta suas propriedades físicas (MOREIRA & MOREIRA, 2004).

Tabela 01: Propriedades físicas do elemento Pb.

Número atômico	82
Massa atômica relativa (g/mol)	207,2
Configuração eletrônica	[Xe] 4f ¹⁴ 5d ¹⁰ 6s ² 6p ²
Ponto de fusão (°C)	327,4
Ponto de ebulição (°C)	1749
Densidade relativa (20°) g/cm ³	11,4
Solubilidade em água	Insolúvel

O chumbo é um elemento de ocorrência natural, que vem sendo usado praticamente desde o início da civilização. Atualmente, este metal é onipresente no ambiente, devido às inúmeras atividades industriais que favorecem sua ampla distribuição. Todos os seres humanos têm chumbo em seus organismos, originalmente como um resultado de exposição às fontes exógenas. Depósitos naturais de chumbo ocorrem em todo o mundo, sendo que a galena (PbS) é o minério mais abundante e de onde é extraída a maior parte do chumbo obtido comercialmente (ATSDR, 1992).

Devido ao seu baixo ponto de fusão e à facilidade de trabalho, este metal tem sido transformado em uma enorme variedade de objetos e utensílios, tais como munição, canos, tipos para impressão, proteção radiológica, folhas de chumbo, produtos de latão e bronze,

entre outros. Além disso, ele tem sido usado de várias formas, como pigmento em tintas, verniz para cerâmicas, soldas, aditivos anti-detonantes em combustíveis (ASSAY, 2009).

Por ser considerado um elemento tóxico não essencial, o chumbo não apresenta nenhuma função fisiológica no organismo. Como este metal afeta virtualmente todos os órgãos e sistemas do organismo, os mecanismos de toxicidade propostos envolvem processos bioquímicos fundamentais, que incluem a capacidade do chumbo de inibir ou imitar a ação do cálcio e interagir com proteínas.

O metal afeta o trato gastrointestinal serve como via primária de entrada no corpo humano, e também fumaças contendo chumbo podem ser inaladas, resultando na absorção de partículas muito pequenas através do pulmão (CEHN, 1999).

Mesmo baixas concentrações de chumbo são capazes de inibir enzimas responsáveis pela catalisação de uma etapa essencial na síntese de hemoglobina, levando a quadros de anemia crônica. Apresenta também efeitos adversos no Sistema Nervoso Central, podendo causar retardo mental, distúrbios do aprendizado, disfunções cognitivas e encefalopatias nas crianças (SEGURA, 2002).

A absorção do chumbo é influenciada pela rota de exposição, forma química, tamanho da partícula, bem como pela solubilidade dos compostos deste metal, e variações individuais fisiológicas e patológicas. Pode ser superior a 50%, no caso da inalação de gases de exaustão de motores e de sais altamente solúveis, assim como nos fumantes e pessoas sofrendo de doenças agudas e crônicas das vias respiratórias superiores (SARYAN & ZENZ, 1994). Após entrar no sangue, o chumbo é distribuído entre os órgãos, dependendo do gradiente de concentração e da afinidade com o tecido específico. Os níveis mais altos têm sido encontrados na aorta, fígado, rins, pulmões e cérebro. A retenção do chumbo nos tecidos moles estabiliza-se na vida adulta e pode decrescer em alguns órgãos com a idade. Entretanto, este metal continua a se acumular nos ossos e na aorta durante toda a vida (TSALEV & ZAPRIANOV, 1983).

O chumbo é considerado um microcontaminante. Nas plantas, o metal interfere na divisão celular e inibe a extensão do sistema radicular, a diminuição do processo respiratório, causada pela redução na assimilação de CO₂, provocando assim, a redução no seu crescimento, a interrupção do metabolismo de cálcio e a inativação enzimática (FERREIRA et al., 2001).

3.2. Crômio

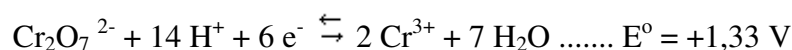
O crômio é um metal cinza aço, com forma cristalina cúbica, sem odor e muito resistente à corrosão. O crômio é o sétimo elemento mais abundante na Terra. O metal não é encontrado livre na natureza. Os estados de oxidação mais comuns do crômio são: +2, +3, +6. São mais estáveis as formas tri e hexavalente, além da forma elementar, aparecendo na composição de óxidos, sulfatos, cromatos, dicromatos, sais básicos e na forma elementar recobrando peças metálicas e plásticas nos processos de tratamento de superfície (SILVA, 2001).

Na tabela periódica o Cr é membro do grupo VIB apresentando as seguintes propriedades físicas (QUINÁIA, 1999) conforme apresenta a Tabela 02.

Tabela 02: Propriedades físicas do elemento Cr.

Número atômico	24
Massa atômica relativa (g/mol)	51,996
Configuração eletrônica	[Ar]3d ⁵ 4s ¹
Ponto de fusão (°C)	1857
Ponto de ebulição (°C)	2672
Densidade relativa (20°) g/cm ³	7,19
Solubilidade em água	Insolúvel

A forma hexavalente é mais solúvel e tóxica que a forma trivalente e a relação entre as espécies pode ser observada no equilíbrio abaixo:



Pode-se observar pelo valor positivo de E° , que a oxidação do Cr (III) nas condições padrão não é espontânea em relação ao eletrodo padrão de hidrogênio, o que favorece a forma trivalente (HARRIS, 2005). Assim, essa oxidação nunca ocorre em sistemas biológicos. Já a redução do Cr (VI) no organismo é uma reação espontânea, salvo quando o metal encontra-se na forma insolúvel.

A forma natural de ocorrência é a trivalente que se encontra na crosta terrestre como constituinte de rochas basálticas, graníticas ou argilosas, na atmosfera, na água e sedimentos. A concentração deste elemento varia com a natureza da rocha ou sedimento (CSIC, 2006).

Enquanto que o Cr (III) é considerado essencial aos metabolismos da glicose, lipídio e proteína, o Cr (VI) é tóxico devido principalmente ao seu comportamento oxidante possuindo a capacidade de penetrar em membranas celulares (PRESTES et al., 2005). E o Cr (VI) é oriundo geralmente de fontes antropogênicas.

Como fontes antropogênicas de Cr pode-se citar emissões decorrentes da fabricação de cimento, soldagem de ligas metálicas, fundições, minas, curtumes, efluentes urbanos e industriais (SILVA, 2001). A determinação do Cr é importante devido à toxicidade do Cr (VI) e a suposta essencialidade biológica do Cr (III).

Como já citado, a função do crômio está relacionada ao metabolismo da glicose, pois age como um co-fator nas reações da insulina com as membranas celulares, também participa do metabolismo do colesterol e dos ácidos graxos. Portanto, a deficiência de Cr (III) pode provocar doenças cardiovasculares e arteriosclerose (BENITE, et al., 2007).

A ingestão diária do Cr deve ser feita de maneira cautelosa, deve-se considerar não só a dose como também o estado de oxidação do elemento. Doses acima das recomendadas podem provocar intoxicação e serias doenças. Diversos estudos comprovaram que a exposição do homem ao Cr (VI) pode provocar diversos tipos de câncer como o de pulmão (LARINE et al., 1993). A Figura 03 apresenta o ciclo do Cr na natureza e nos seres vivos. Este elemento pode estar presente na fases solida, liquida e gasosa, naturalmente ou através de ações antropogênicas (REMIÃO, 2005).

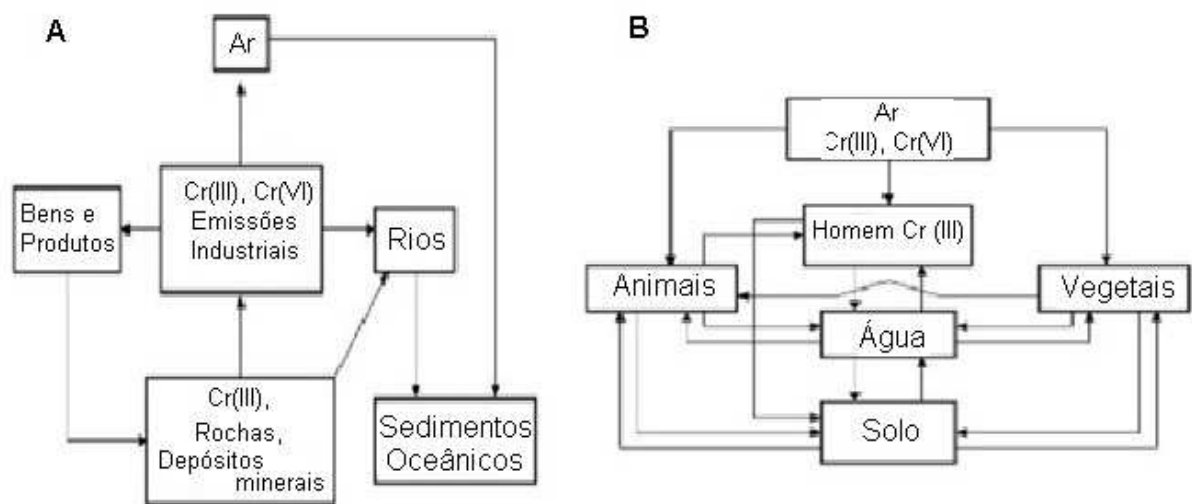


Figura 02: Ciclo do Cr. A: atividade antropogênica; B: nos seres vivos.

A concentração de Cr na planta está principalmente associada à presença de formas solúveis do elemento no solo. Na forma hexavalente o crômio aparece como um ânion solúvel que penetra facilmente através da membrana celular, possuindo uma forte ação tóxica já que é um poderoso agente oxidante. Por sua vez, o Cr (III) somente se apresenta na forma solúvel a valores de pH menores do que aqueles normalmente encontrados em sistemas biológicos ou quando complexado a moléculas orgânicas de baixo peso molecular, que possui pouca mobilidade através da membrana celular. A absorção destas espécies de crômio pelas plantas ocorre através das raízes (CSIC, 2006).

3.3. Bioindicadores

Os bioindicadores são úteis para o monitoramento da poluição ambiental em um determinado local. Através da análise química, permite a avaliação qualitativa do grau de poluição, pois estes organismos acumulam poluentes (RAMOS, 2005).

Quando o corpo d'água possui níveis de elementos-traço em altas concentrações ocorrem grandes riscos de contaminação dentro da cadeia alimentar. Devido a condições anaeróbias, há a formação de sais insolúveis e eliminação por sedimentação. Visto que os organismos aquáticos tendem a acumular metais e contaminantes orgânicos, pois formam complexos estáveis com os mesmos, estes são fixados em seus tecidos com facilidade. Para garantir que estes complexos foram eliminados a matéria orgânica deve ser digerida através do uso de reagentes oxidantes fortes.

De acordo com a literatura (KABATA & PENDIA, 1984; AKSOY & ÖZTÜRKM, 1997), a via principal de absorção de metais pelas plantas ocorre por meio das células das raízes, embora, outros tecidos também possam contribuir para este processo. Várias evidências experimentais vêm demonstrando que a absorção dos elementos-traço pelas plantas está relacionada com a sua concentração no solo.

A planta absorve pelas raízes elementos minerais nem sempre essenciais à sua vida e ao seu ciclo reprodutivo, possuindo uma capacidade seletiva limitada, podendo absorver também elementos não-essenciais e mesmo tóxicos (KERBUY, 2004).

Os ecossistemas aquáticos em geral constituem o receptáculo de substâncias produzidas e despejadas no meio pela atividade antrópica e, ou por processos naturais. Um

contaminante passa a integrar um organismo aquático quando aquele está exposto, podendo ser absorvido e bioacumulado (COSTA, 2006).

A bioacumulação é definida como um processo de captação e retenção de uma substância (contaminante) por um organismo a partir de qualquer fonte (água, sedimento, outro organismo), via qualquer rota (dieta, pele), e se constitui em efeito nocivo quando induz resposta biológica adversa (VIDOTTI & ROLLEMBERG, 2004).

Quando a bioacumulação ocorre pelas plantas desempenha três funções de importância ecológica significativa: 1) nos organismos, a bioacumulação reflete-se na alteração da concentração do contaminante no seu sítio de ação; 2) reserva: a bioacumulação de uma substância potencialmente tóxica pode torná-la, ao menos temporariamente, indisponível para outros organismos; 3) a bioacumulação de compostos orgânicos persistentes ou de metais pode ser um fator importante no transporte físico da substância potencialmente tóxica e na acumulação na cadeia alimentar pelos organismos consumidores superiores – onde inclui-se o homem (VIDOTTI & ROLLEMBERG, 2004).

Analisando essas funções, vemos que as espécies que acumulam esses contaminantes tornam-se resistentes ao impacto tóxico. E podem também atuar como um organismo protetor no ambiente aquático, pois se acumularem os metais podem diminuir a fração disponível do mesmo no meio ambiente e para os demais organismos.

Outro aspecto importante nos estudos ecotoxicológicos é a biomagnificação. Esse processo consiste em espécies potencialmente tóxicas introduzidas em organismos superiores na cadeia alimentar (VIDOTTI & ROLLEMBERG, 2000).

Os peixes podem ser citados como bioindicadores de ambientes aquáticos. No caso de peixes, a ingestão de alimentos e água é a rota principal de entrada de contaminantes nesses organismos. Animais filtradores como os mexilhões, filtram vários litros de água por hora, e conseqüentemente podem concentrar de 10 a 105 vezes vários contaminantes em seus tecidos, com relação à água do mar (CAMPOS et al., 2002).

Segundo o Vighi (1981), muitos organismos aquáticos, inclusive peixes, podem absorver e acumular altas concentrações de chumbo e em geral considera-se que este metal possui efeitos cumulativos em peixes.

Na literatura, encontramos um grande número de artigos para a determinação de Cr e Pb em diversas matrizes biológicas (peixes e plantas) utilizando técnicas eficientes como, FAAS, ETAAS, ICP-OES, inclusive, as técnicas eletroquímicas.

Um exemplo, é o estudo feito por Vilga et al., (2007) onde foram realizados estudos quantitativos sobre o teor de Pb, Cd, Cr, Zn e Cu em amostras de siris azuis do gênero *Callinectes sp.*, coletados ao longo do rio Cubatão, utilizando a Espectrometria de Absorção Atômica por Chama (FAAS). O único metal que apresentou concentração acima do estabelecido para qualquer tipo de alimento pela legislação brasileira foi o Cr, $0,68 \pm 0,43 \text{ mg L}^{-1}$ nas amostras.

Ramos (2005) investigou o nível de contaminação por Cd, Cr, Cu, Pb e Zn nos mangues em torno do Rio Cubatão no estado de São Paulo, utilizando como bioindicador a flora da região. A técnica utilizada foi a Espectrometria de Absorção Atômica por Chama (FAAS). Foi verificado um aumento da concentração de Cr e Cd, com quantidades tóxicas em virtude de atividades humanas próximas a este ecossistema.

NNAJI et al., (2007) analisou vísceras de peixes por Espectrometria de Absorção Atômica por Chama (FAAS) encontrando quantidades de Cr (0,18 a $0,70 \text{ mg L}^{-1}$) e Pb (0,15 a $1,50 \text{ mg L}^{-1}$). Esses valores são resultantes da descarga de efluentes industriais e resquícios da agricultura no corpo d'água natural.

Moluscos bivalves foram utilizados como bioindicadores por Guimarães et al., (2008) pois fornecem a biodisponibilidade desses elementos. Os moluscos bivalves foram analisados em espectrômetro de emissão óptica com fonte de plasma (ICP-OES). O valor do Pb encontrado nessas espécies foi de $4,53 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$, maior do que o permitido pela legislação brasileira ($2,00 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$).

3.4. Técnicas para determinar elementos-traço

A determinação de elementos-traço pode ser feita por diversas técnicas analíticas, com diferentes limites de detecção, faixa de trabalho e campo de aplicação e geralmente com alto custo.

A escolha do procedimento a ser empregado na análise depende do tipo de informação a ser obtida, bem como os recursos disponíveis. Neste trabalho será dado o enfoque para a voltametria que é uma das inúmeras abordagens possíveis.

O baixo custo e a sensibilidade elevada de métodos eletroquímicos chamam a atenção quanto à detecção e a quantificação de elementos-traço. Baixos limites de detecção (e às vezes até menores que os obtidos em espectrometria de absorção atômica com atomização

eletrotérmica - ETAAS) podem ser alcançados com a voltametria de redissolução (LI & XUE, 2001; KOROLEZUK, 2000; SHEMIRANI et al., 2005). Em particular a voltametria de redissolução catódica e anódica é uma excelente técnica analítica para a determinação de íons metálicos em níveis de partes por bilhão (ppb).

A voltametria compreende um grupo de métodos eletroanalíticos na qual a concentração da amostra é decorrente de uma medida da corrente em função de um potencial no eletrodo de trabalho. Define-se a voltametria como uma medida da relação corrente (A) e voltagem (V) de um eletrodo imerso em uma solução contendo espécies eletroativas (ALEIXO, 2003). Ela determina uma concentração de um elemento metálico através de um potencial durante a reação de transferência de elétrons.

A corrente resultante é chamada de corrente de difusão, essa corrente é obtida pela diferença entre a corrente residual e a corrente limite, e é representada por i_d . A relação entre a corrente de difusão (que é uma corrente do tipo faradaica, isto é, uma corrente produzida por uma reação eletródica) e a concentração da espécie eletroativa em solução é dada pela equação de Ilkovic:

$$I_d = 607 nD^{1/2} m^{2/3} t^{1/6} C \quad (2)$$

onde: i_d = corrente de difusão (μA); n = quantidade de matéria; m = velocidade da vazão de mercúrio através do capilar de vidro (mg s^{-1}); t = tempo de gota (s) e C = concentração em mmol L^{-1} .

Além da difusão, mais dois processos de transferência de massa entre a solução e a superfície do eletrodo podem ocorrer. Um desses processos é a migração de partículas carregadas em um campo elétrico. O outro é a convecção, um processo mecânico, que ocorre devido à movimentação da solução (usando-se um agitador magnético e uma barra magnética, por exemplo). O processo de migração em um campo elétrico é minimizado pela adição de um eletrólito inerte (eletrólito de suporte) à solução em uma concentração pelo menos 100 vezes maior do que a substância eletroativa. O processo de convecção é eliminado mantendo-se a solução em repouso, sem agitação. Assim, apenas o processo de difusão será responsável pelo transporte de massa, e a corrente medida, i_d , pode ser efetivamente expressa como corrente de difusão (ALEIXO, 2003).

Na voltametria atual utilizamos três eletrodos, o eletrodo de trabalho, que sofrerá a polarização, o eletrodo de referência e o auxiliar (Figura 04). O eletrodo auxiliar pode ser de

platina, ouro, carbono vítreo ou outros materiais. Ele foi introduzido na célula voltamétrica para assegurar o sistema potenciostático.

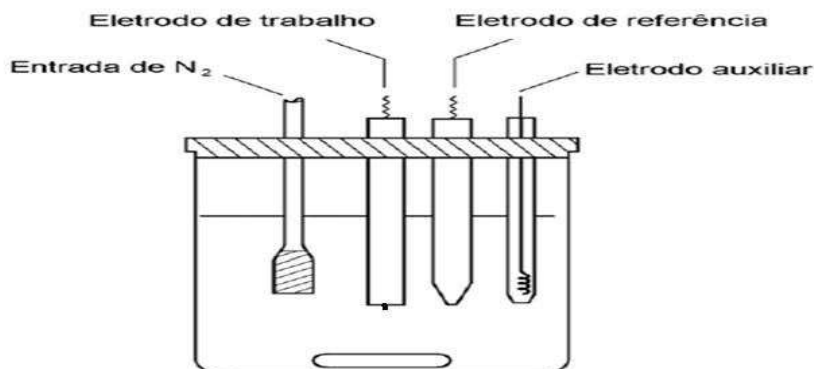


Figura 04: Representação esquemática mostrando os eletrodos em um recipiente polarográfico.

Nesta célula, os eletrodos são conectados a um amplificador operacional, que atuará quando for aplicada uma diferença de potencial entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência, fazendo com que a resistência do eletrodo de referência aumente e a do eletrodo auxiliar diminua (Figura 05). Assim a corrente passará entre o eletrodo de trabalho e o auxiliar, evitando que ocorram distúrbios (como eletrólise, por exemplo) no eletrodo de referência. Com este recurso o eletrodo de referência realizará o seu papel sem interferências, que é o de manter o seu potencial constante durante as medidas. Por isto pode-se usar além do eletrodo de trabalho e do auxiliar, um eletrodo de referência de dimensões pequenas, o que facilita o uso de recipientes polarográficos/voltamétricos de tamanho reduzido (WANG, 1994; BRETT, 1994).

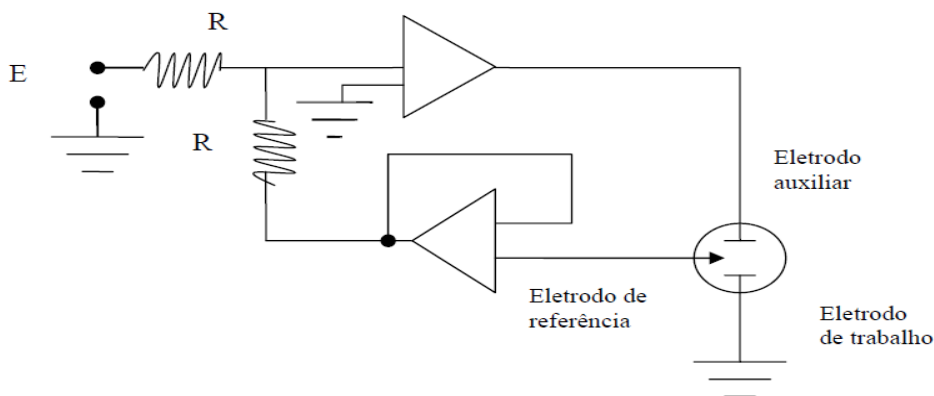


Figura 05: Esquema mostrando a célula conectada a um sistema potenciostático.

Dentro da voltametria, encontramos a voltametria cíclica, voltametria de pulsos e a voltametria linear.

A voltametria cíclica é um método de varredura de potencial onde é possível estudar os processos do eletrodo e obter informações qualitativas sobre as reações eletroquímicas. A técnica de varredura de potencial tem sido utilizada para diagnosticar mecanismos de reações eletroquímicas para a identificação de espécies presentes em soluções e para a análise semiquantitativa de velocidade de reações (WANG, 1994). A Figura 06 mostra o sinal de excitação e a corrente resultante quando usa-se a voltametria cíclica.

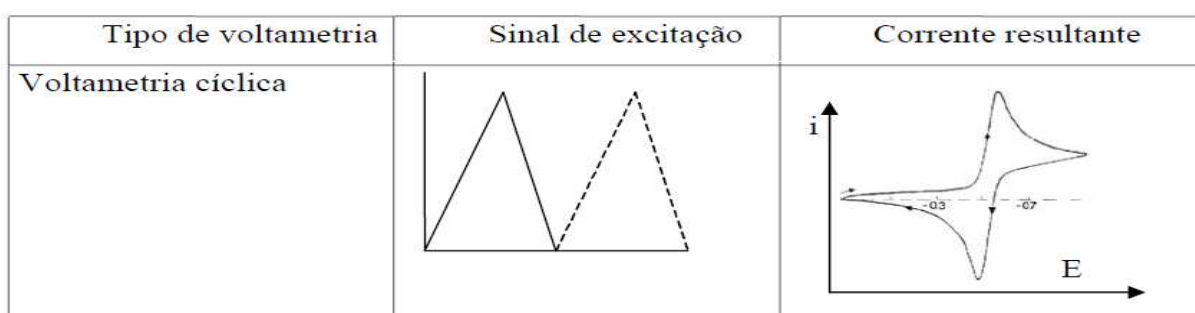


Figura 06: Sinal e voltamograma da corrente resultante na voltametria cíclica.

A curva de corrente versus potencial obtido é chamada de voltamograma. Denomina-se por polarografia as técnicas que fazem uso da gota de mercúrio como eletrodo de trabalho. O eletrodo de mercúrio pode ser usado tanto no modo gotejante tradicional (DME), no modo gotejante estático (SMDE), quanto no modo de gota pendente (HMDE). Nesse modo, a gota de mercúrio, depois de formada, permanece imóvel na ponta do capilar e no voltamograma é registrada o pico de redissolução em uma única gota. O eletrodo de mercúrio consiste de um fino fio capilar de vidro, cuja extremidade do capilar está conectada a um reservatório de mercúrio e outra imersa na solução a ser investigada (RAJESHWAR & IBANEZ, 1996).

Este tipo de eletrodo é muito vantajoso, pois a superfície do mesmo é renovada entre uma medida e outra, além de apresentar alta sobretensão de hidrogênio em potenciais negativos.

Quando utiliza-se a polarografia existe a necessidade de retirar o oxigênio atmosférico dissolvido nas soluções, pois o mesmo é eletroativo na região catódica. Isto por que a corrente de fundo produzida será alta e interfere na corrente produzida pela espécie eletroativa. Para a

remoção do oxigênio dissolvido na solução desaeira-se a mesma pela passagem de um gás inerte durante alguns minutos. Os gases mais usados para esse fim são o N₂, Ar, Ne e He. O Nitrogênio é o mais usado por ser mais barato e poder ser facilmente obtido com pureza alta em relação à presença do oxigênio. Quando isto não ocorre, podem ser usados frascos lavadores de gás intercalados entre o cilindro de N₂ e o recipiente polarográfico, contendo redutores que removerão o oxigênio, purificando assim o nitrogênio que será borbulhado na solução a ser polarografada (ALEIXO, 2003).

A voltametria de pulsos pode ser dividida em: pulso normal, voltametria de onda quadrada (SWV) e a voltametria de pulso diferencial (DPV). As formas mais comuns estão representados na Figura 07, bem como a forma de resposta da corrente resultante.

A voltametria de onda quadrada, a forma de onda consiste numa onda quadrada sobreposta numa escada, correspondendo a um ciclo completo de onda quadrada à duração de um degrau na forma de onda de escada. Há inúmeras vantagens, como por exemplo, maior velocidade de análise, menor consumo de espécies eletroativas em relação à polarografia de pulso diferencial. A amostragem da corrente corresponde à oxidação ou à redução das espécies eletroativas na superfície do eletrodo (WANG, 1994).

Tipo de voltametria	Sinal de excitação	Corrente resultante
varredura linear		
pulso diferencial		
onda quadrada		

Figura 07: Forma de aplicação do potencial para a varredura linear, pulso diferencial e voltametria de onda quadrada.

Na polarografia de pulso o potencial é aplicado periodicamente em pequenos intervalos de tempo no eletrodo de trabalho. A corrente resultante é medida em um tempo fixado (usualmente 40 ms) após a aplicação do pulso. A técnica foi desenvolvida para minimizar os efeitos da corrente capacitiva e assim diminuir o limite de detecção da medida voltamétrica. Portanto, a corrente capacitiva decai muito rapidamente para valores insignificantes.

Uma técnica com alta sensibilidade é a voltametria de pulso diferencial. Essa técnica é extremamente utilizada para medidas de traços de espécies orgânicas e inorgânicas. Será enfocada a técnica de pulso diferencial por ser a técnica utilizada neste trabalho.

3.4.1. Polarografia de pulso diferencial

Nas análises de traços, a polarografia de pulso diferencial é mais eficiente, pois nesta técnica, os pulsos de magnitude fixada sobrepostos sobre um potencial em uma rampa linear são aplicadas ao eletrodo de trabalho.

Os voltamogramas de pulso diferencial resultantes apresentam uma corrente de pico, cujas alturas são diretamente proporcionais à concentração do analito. Outros fatores que influenciam a quantificação é a seleção da amplitude de pulso e a velocidade de varredura do potencial que são parâmetros determinantes na sensibilidade e resolução da técnica.

As Figuras 08 e 09 mostram a representação esquemática da aplicação de potencial em função do tempo em polarografia de pulso diferencial e o voltamograma resultante do pulso diferencial, respectivamente. Na Figura 08 ocorre a sobreposição de pulsos periódicos combinando-se um pulso de saída com um sinal em degrau (SKOOG et al., 2002). A corrente é medida duas vezes, uma antes da aplicação do pulso (S_1) e outra ao final do pulso (S_2). A diferença das correntes é plotada versus o potencial aplicado, resultando o voltamograma (Figura 09) cuja área deste pico é diretamente proporcional à concentração do analito.

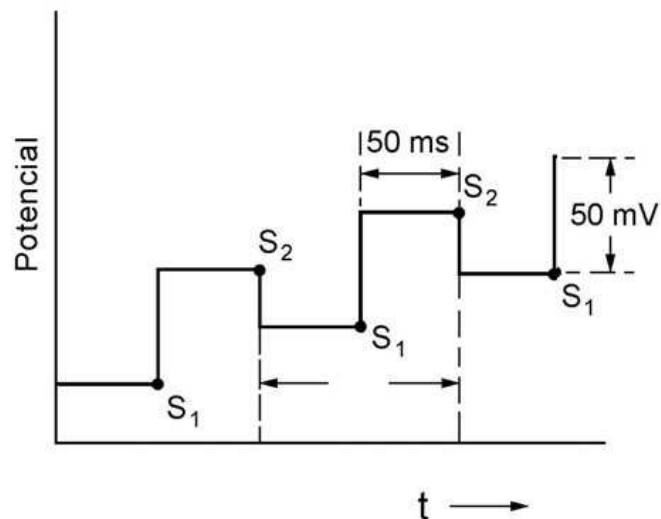


Figura 08: Esquema representativo da aplicação do potencial em função do tempo em polarografia de pulso diferencial.

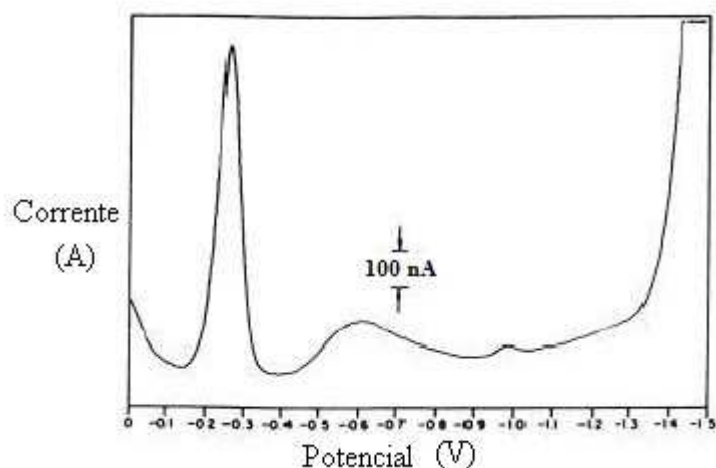


Figura 09: Voltamograma resultante de uma análise de pulso diferencial

O objetivo de se fazer duas leituras da corrente e se trabalhar com a diferença entre elas é fazer a correção da corrente capacitiva. À medida que se aplica o pulso, ocorre um acréscimo da contribuição da corrente capacitiva e da corrente faradaica, mas a corrente capacitiva diminui exponencialmente, enquanto que a corrente faradaica diminui linearmente, assim, escolhendo um tempo apropriado para se fazer a segunda leitura, faz-se a leitura da corrente total a um valor de corrente onde a contribuição da corrente capacitiva (não-faradaica) pode ser desconsiderada. Assim, desvinculando o valor da primeira leitura de corrente da segunda, obtém-se uma minimização da contribuição da corrente de fundo (WANG, 1994). Esta correção de correntes possibilitada pelo modo de pulso diferencial permite obter limites de detecção da ordem de 10^{-8} mol L⁻¹.

Em todas estas técnicas, como a corrente capacitiva é proporcional a $e^{-t/RC}$, onde t é o tempo, R a resistência da solução e C a capacitância da dupla camada, e a corrente faradaica é aproximadamente proporcional a $t^{-1/2}$, o decaimento da primeira, após a aplicação do pulso de potencial, é muito mais rápido que o da última. Assim, as medidas de corrente somente são realizadas após a contribuição da corrente capacitiva ter se minimizado. A Figura 10 apresenta as dependências das correntes faradaica e capacitiva com relação ao tempo e o ponto onde a medida de corrente é realizada, considerando-se as técnicas de pulso. Em todas estas técnicas, a corrente é medida em uma fração de tempo fixa chamada de período (τ) (SOUZA et al., 2003).

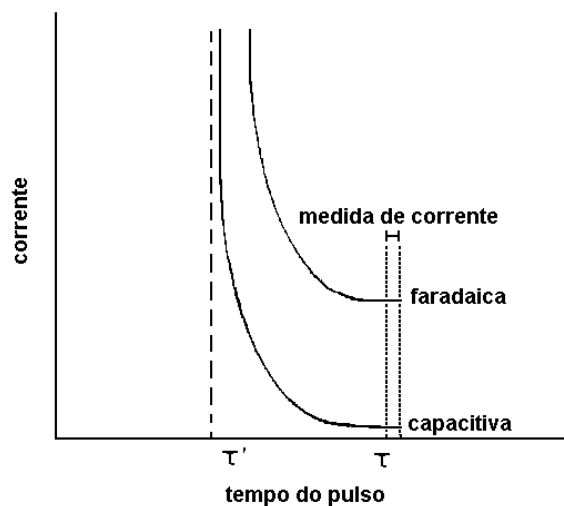


Figura 10: Variação da corrente faradaica e corrente capacitiva com o tempo, em técnicas de pulso.

3.4.2. Voltametria de Redissolução

Os modos de redissolução são os mais indicados na determinação de concentrações traço, devido a sua alta sensibilidade analítica. Nesse modo, o analito é quantificado através da varredura de potencial, após a aplicação do tempo de deposição do analito no eletrodo de mercúrio. Se na etapa de redissolução ocorre uma re-oxidação do analito é chamada de Voltametria de Redissolução Anódica (VRA), do inglês Anodic Stripping Voltammetry, e para este trabalho, foi empregada no uso da determinação do Pb e a Voltametria de Redissolução Catódica (VRC), do inglês Cathodic Stripping Voltammetry foi empregada para o Cr.

Essencialmente a técnica de redissolução é constituída de duas etapas. A primeira etapa é de deposição (pré-concentração), que envolve o acúmulo eletrolítico do analito sobre o eletrodo. A segunda etapa ou etapa de redissolução (stripping) envolve a dissolução do depósito.

A etapa de deposição estabelecida sobre o eletrodo de trabalho é escolhida conforme a espécie a ser determinada.

O tempo de deposição da espécie de interesse no eletrodo de trabalho depende das concentrações do metal e tipicamente está numa faixa de 5 a 20 minutos (ALEIXO, 2003).

3.4.2.1. Voltametria de Redissolução anódica

Na voltametria de redissolução anódica a pré-concentração é feita por deposição catódica em potencial controlado. A espécie alcança a superfície do eletrodo por difusão onde é reduzida e concentrada, representada pela equação abaixo, para o caso de eletrodos de mercúrio.



Após a etapa de deposição o potencial é varrido em sentido anódico (positivo) na forma linear ou pulso diferencial. Durante a etapa de varredura, as espécies são reoxidadas, e a corrente desenvolvida é medida em forma de pico anódico. A corrente de pico resultante é proporcional à concentração da espécie na solução. Entretanto, vários parâmetros relativos à deposição e redissolução podem influenciar a resposta (RODRIGUES, 1998).

Para a determinação de metais traço por VRA o fluxo da redução do metal está relacionada à sua labilidade, pois espécies fortemente complexadas são inertes por voltametria. O fluxo da redução do analito depende da escala de tempo de difusão, que por sua vez pode depender do tamanho do eletrodo do trabalho (ALEIXO, 2003).

Na literatura existe uma variedade muito grande de trabalhos que utilizam a VRA na quantificação de metais traço em águas naturais e também no estudo da especiação de metais. Podemos exemplificar com o estudo que descreve a distribuição dos metais Zn, Cd, Pb e Cu por análise de especiação de águas superficiais. Esses metais foram determinados utilizando voltametria de redissolução anódica (ALONSO et al., 2005). Um trabalho que também utilizou a voltametria de redissolução anódica foi realizado por Sodré et al., na qual pesquisou sobre a especiação de Cu em águas superficiais e a influência dos fatores da urbanização.

3.4.2.2. Voltametria de Redissolução catódica

Juntamente com a voltametria de redissolução anódica, a voltametria de redissolução catódica vem sendo muito utilizada na determinação de metais em águas naturais. A técnica pode ser considerada como adsortiva, pois consiste na acumulação por adsorção da espécie de

interesse sobre a superfície do eletrodo e subsequente redissolução do material adsorvido por varredura catódica do potencial (BRETT, 1994).

3.4.3. Parâmetros importantes das técnicas eletroquímicas

A utilização de técnicas eletroquímicas para elementos-traço avançou significativamente nos últimos anos para diferentes matrizes, tais como biológica (ZHANG et al., 1993; CHIANG et al., 1989), alimentícia (BARBEIRA & STRADIOTTO, 1997; KOROLCZUK, 1999) e águas naturais (ALDRICH & van der BERG, 1998; COLLADO-SÁNCHEZ et al., 1996).

Inicialmente é necessário um estudo prévio das condições necessárias para a determinação da espécie metálica através das técnicas eletroquímicas. Os parâmetros que devem ser considerados relevantes para este estudo são o potencial de deposição, tempo de deposição, pH, a utilização ou não de um agente complexante.

A finalidade do potencial de deposição é proporcionar a deposição da espécie de interesse na superfície do eletrodo.

O tempo de deposição ou pré-concentração é selecionado de acordo com a espécie de interesse. Quanto maior o tempo de deposição maior a quantidade de analito disponível no eletrodo durante a etapa de redissolução. Entretanto, longos períodos de deposição podem resultar em interferentes devido à formação de compostos intermetálicos ou saturação da superfície da gota de mercúrio. A agitação da solução conduz não somente ao transporte por difusão, mas também por convecção, o que proporciona maior sensibilidade e precisão à técnica (BENTO, 2004).

Segundo Aleixo (2003), a pré-concentração faz com que a concentração do analito na gota de mercúrio seja muito maior que na solução, devido ao seu diminuto volume. Assim, obtém-se um sinal analítico maior, o que explica a grande sensibilidade do método. Além disso, a agitação constante durante essa etapa faz com que o transporte de massa por convecção mantenha a concentração da espécie eletroativa junto à superfície do eletrodo igual à do resto da solução, permitindo uma deposição maior do metal em um dado intervalo de tempo de deposição.

Para garantir uma concentração uniforme sobre o eletrodo, um período de repouso é empregado durante a etapa de deposição. Pois na deposição, a concentração do analito no

eletrodo assume distribuição parabólica, com maior concentração em direção à solução (ALEIXO, 2003). Geralmente o tempo de repouso é cerca de 10 s.

3.5. DTPA

Os compostos de coordenação (complexos) apresentam uma espécie central ligada a íons ou moléculas denominadas ligantes. A formação de um complexo é uma reação de ácido/base de Lewis, em que os ligantes são doadores de pares de elétrons e a espécie central é a receptora. Em alguns compostos de coordenação, um ligante ocupa mais de uma posição de coordenação, formando anéis de átomos cuja região central é ocupada pelo metal. Compostos possuindo tais estruturas cíclicas são denominadas quelatos. Os quelatos são mais estáveis que complexos monodentados e quanto maior o número de átomos doadores no agente quelante mais estável será o complexo (LEE, 1999; ATKINS & JONES, 2001).

Como já mencionado anteriormente, a determinação de Cr por voltametria catódica adsortiva catalítica (CCSV) é realizada na presença de complexantes orgânicos. O agente quelante empregado na maioria dos trabalhos científicos encontrados na literatura é o ácido dietilenotriaminopentacético - DTPA. A Figura 11 representa a estrutura molecular do quelante. Esse quelatizante tem grande variedade de aplicações em laboratórios de medicina, para o tratamento de doenças, em química sintética e nutrição mineral de plantas.

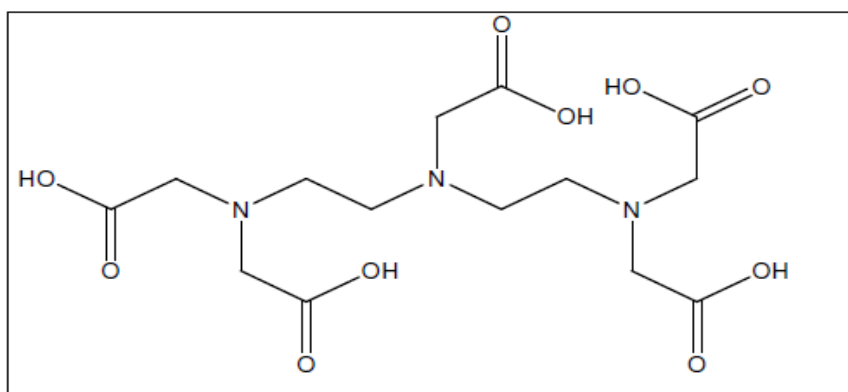


Figura 11: Estrutura da molécula do dietilenotriaminopentacético (DTPA) (SILVA, 2007).

O DTPA é um ligante octadentado, possuindo cinco grupos carboxílicos e três aminos, cujas constantes de dissociação ácida (pK) são 1,8; 2,7; 4,3; 8,5; 10,5 e, portanto, considerado um dos melhores agentes quelatizantes (BLAEDEL & MELOCHE, 1963).

O DTPA forma com o Cr complexo de estequiometria 1:1 bastante estável em eletrólito de acetato e nitrato de sódio. Na utilização de DTPA para a quantificação de Cr, a corrente de pico registrada na varredura voltamétrica ocorre devido a redução do complexo Cr(III)-H₂DTPA para Cr(II)-H₂DTPA seguida de uma rápida re-oxidação na presença de nitratos (NO₃⁻) (TORRANCE & GATFORD, 1987; BOUSSEMART et al., 1992; LI & XUE, 2001). No caso do Cr (VI), ocorre inicialmente a redução à Cr (III) em potenciais negativos seguido da complexação e adsorção do Cr (III)-H₂DTPA com posterior redução do mesmo durante a varredura catódica. A Figura 12 descrevem as reações propostas dos diferentes comportamentos eletroquímicos para Cr (VI) e Cr (III) na presença de DTPA (LI & XUE, 2001).

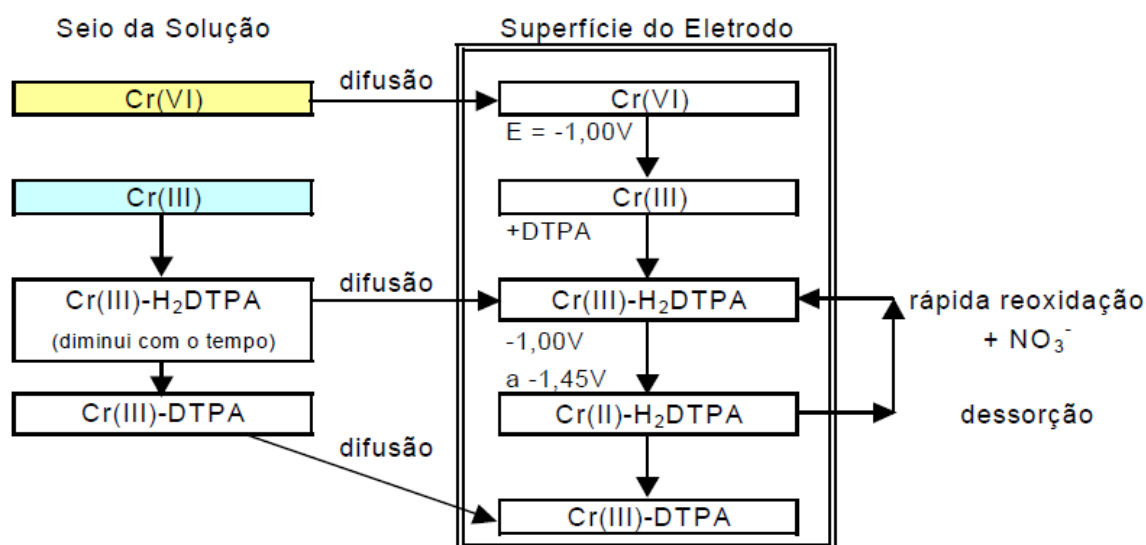


Figura 12: Reações propostas para descrever os diferentes comportamentos eletroquímicos para Cr (VI) e Cr (III) na presença de DTPA (LI & XUE, 2001).

Sabe-se que tanto o pH do meio como a presença de íons nitrato são importantes para um bom desempenho do eletrólito na determinação do Cr por voltametria. Para o eletrólito contendo acetato, o pH de trabalho recomendado na literatura é 6,2, uma vez que neste pH é favorecida a reação de complexação do Cr (III) com o DTPA (LI & XUE, 2001). No entanto, esta reação ocorre muito rapidamente somente com íons de Cr (III) provenientes da redução de Cr (VI).

Sendo assim, quando aplicado o potencial em torno de -900 mV, ocorre no eletrodo de mercúrio a redução do Cr (VI) em Cr (III). A corrente de pico é devida a redução do Cr (III)-

DTPA adsorvida sobre a superfície da gota de mercúrio para Cr (II)-DTPA e é aprimorado por um processo catalítico em presença de íons de nitrato devido a reoxidação química (LI & XUE, 2001).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Local de amostragem

O local de estudo para a avaliação da poluição ambiental foi um córrego (Figura 13) pertencente à Bacia do Rio das Pedras situado na Cidade de Guarapuava-PR em pontos próximos a descartes de efluentes de um curtume. Esse córrego vem sofrendo um processo contínuo de degradação ambiental, pois recebe efluente sem tratamento do curtume a mais de 30 anos. Essa degradação não afeta somente a qualidade do ambiente aquático, mas pode atingir toda cadeia alimentar que o envolve devido principalmente a toxicidade da espécie de Cr (VI). Ele está localizado à 1 Km do centro da cidade de Guarapuava. Sua nascente situa-se metros acima do curtume, sendo que seu curso percorre bairros carentes no meio urbano.



Fonte: GOOGLE EARTH

Figura 3: Mapa da cidade de Guarapuava-PR, com a ampliação do ponto de coleta (GOOGLE EARTH).

As amostras de peixes foram coletadas em tanques de criação próximos ao curtume e ao córrego. As plantas foram coletadas diretamente das margens do córrego e do tanque de peixes. A Figura 14 mostra uma imagem de satélite do local de amostragem com os vários pontos de coleta demarcados. Consiste de três tanques de peixes e do córrego localizados perto do descarte dos resíduos do curtume sem tratamento. As Figuras 15 (A) e (B) apresentam imagens da confluência entre o efluente do curtume e o córrego e a proximidade do córrego com o tanque de peixes, respectivamente.



Fonte: GOOGLE EARTH

Figura 4: Imagem aérea da região com a marcação dos pontos de coleta no córrego e no tanque de peixes.



Figura 5: Imagem (A) da confluência entre o descarte de efluente do curtume e o córrego e (B) proximidade entre o córrego e o tanque de peixes.

Para fins de padrão de controle para comparação com o local de estudo, foram coletadas amostras de locais teoricamente isentos de contaminação. As Figuras 16 (A) e (B) mostram, respectivamente, o Salto São Francisco situado na mesma cidade e um tanque de criação de peixes localizado na cidade de Pitanga-PR. As plantas foram coletadas no Salto São Francisco e os peixes no tanque. O Salto São Francisco é a maior queda d'água da região sul do Brasil, e uma das maiores do país. A queda está localizada numa região de tríplice fronteira entre os

municípios de Guarapuava, Prudentópolis e Turvo, no estado do Paraná, dentro da Área de Preservação Ambiental da Serra da Esperança.



Figura 6: (A) Salto São Francisco, Guarapuava-PR, (B) Tanque de peixes no município de Pitanga-Pr (área rural).

4.2. Características do ambiente de estudo

Pereira, et al., (2009) determinaram as características físico-químicas de amostras de águas coletadas em três pontos diferentes no ambiente de estudo. O primeiro ponto de coleta (Ponto 1) foi demarcado na confluência entre o descarte do efluente do curtume e o córrego, o segundo ponto (Ponto 2) em um tanque de peixes próximo ao curtume, o terceiro ponto (Ponto 3) aproximadamente a 200 m da confluência. A Tabela 03 apresenta os valores medidos no estudo em amostras coletadas no córrego e no tanque de peixes. A Tabela 04 apresenta as médias das quantidades de Cr encontrados no material particulado em suspensão, na água e nos sedimentos coletados nos mesmos pontos de coleta, isto é, na confluência entre o efluente e o córrego, no córrego (metros a frente do tanque) e no próprio tanque de peixes.

Tabela 3: Parâmetros físico-químicos medidos em amostras de águas (julho de 2007).

Parâmetros	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3
Demanda Bioquímica de oxigênio – DBO (mg L^{-1})	19,2	10,5	14,5
Demanda Química de oxigênio – DQO (mg L^{-1})	47,6	13,6	23,6
Oxigênio Dissolvido – OD (mg L^{-1})	5,7	6,4	7,0
pH	6,5	6,2	7,0
Temperatura da água ($^{\circ}\text{C}$)	15,9	17,7	15,7
Sólidos Suspensos Totais – SST (mg L^{-1})	28	3	48
Sólidos Dissolvidos Totais – SDT (mg L^{-1})	45,8	12,7	62
Cor (Hz)	22	11	45
Turbidez (NTU)	4	6,5	4,7
Mn ($\mu\text{g L}^{-1}$)	7	3	9

Tabela 4: Teores de Cr determinados em amostras de material particulado em suspensão (MPS), em amostras de água filtrada ($0,45 \mu\text{m}$) e em amostras de sedimentos.

Pontos de coleta	MPS ($\mu\text{g Cr}_{\text{total}} \text{g}^{-1}$)	Água ($\mu\text{g Cr}^{3+} \text{L}^{-1}$)	Sedimento ($\text{mg Cr}_{\text{total}} \text{Kg}^{-1}$)
Ponto 1	2076	36,4	1691
Ponto 2	2877	10,6	1473
Ponto 3	1580	10,3	873

O solo de Guarapuava sendo derivado do basalto e do tipo Latossolo bruno de textura argilosa, não tendo em sua composição o elemento Cr. Portanto, todo Cr detectado no sedimento não é de origem natural e sim antropogênica.

No Brasil ainda não existe nenhum órgão ambiental que regulamenta valores máximos permitidos de certas substâncias para sedimento, dificultando uma possível afirmação de contaminação. Porém o grau de contaminação dos sedimentos são classificados segundo os valores guias estabelecidos pelo Conselho Canadense do Ministério do Ambiente (CCME)

(U.S.EPA, 2001). Segundo este órgão internacional existem os valores de menores limites TEL (Nível Limiar de Efeito) que representam a concentração abaixo da qual raramente são esperados efeitos adversos para os organismos, e os maiores limites PEL (Nível Provável de Efeito) que representam a concentração acima da qual são frequentemente esperados efeitos adversos para os organismos. Para o elemento Cr os valores de TEL e PEL são respectivamente $37,3 \text{ mg kg}^{-1}$ e 90 mg kg^{-1} .

Avaliando as concentrações das amostras coletadas, PEREIRA, et al., (2007) verificou que os sedimentos apresentam-se contaminados. Essas concentrações podem ser explicadas pelo fato do sedimento receber durante mais de 30 anos o efluente do curtume. Outro fator considerável é que o sedimento é proveniente de um solo argiloso que tem como característica reter grandes quantidades de íons por troca iônica, sendo essas interações muito estáveis (CSIC, 2006).

4.3. Equipamentos e Materiais

Para a determinação de Cr e Pb em plantas e peixes utilizou-se um polarógrafo 757 Metrohm, com um sistema de três eletrodos. O eletrodo de referência utilizado foi Ag/AgCl com uma solução de KCl 3,0 mol/L; o eletrodo auxiliar foi um fio de platina e o eletrodo de trabalho, um eletrodo de mercúrio. Para correção do pH nas soluções utilizou-se um pHmetro digital Labmeter – modelo PH2 – PHf – 3B. Para as digestão das amostras utilizou-se chapa de aquecimento da Fisiton – modelo 753 A.

4.4. Reagentes

Os reagentes utilizados no trabalho foram de grau analítico. As soluções foram feitas com água ultra-pura (Human UP 900). As soluções dos metais, Cr (VI) e Pb (II), foram feitas através da diluição de solução padrão estoque 1000 mg L^{-1} (Biotec – Reagentes analíticos).

Para a digestão via úmida das amostras utilizou-se ácido nítrico P.A (Carlo Erba), peróxido de hidrogênio 30% (Merck) e permanganato de potássio $1,0 \text{ mg L}^{-1}$.

Para a determinação voltamétrica do Cr utilizou-se o agente complexante ácido dietilenotriaminopentacético (DTPA) $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, nitrato de sódio $2,5 \text{ mol L}^{-1}$ e acetato de sódio $0,2 \text{ mol L}^{-1}$. Para ajuste de pH do meio reacional acrescentou-se uma solução de

hidróxido de sódio $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ e o tampão pH 6,2 contendo uma solução de fosfato monobásico de potássio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e uma solução de hidróxido de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Para a quantificação do Pb utilizou-se o tampão de ácido acético/amônia em pH 4,6.

4.5. Limpeza dos materiais utilizados

Como esse trabalho envolveu o estudo de elementos-traço em amostras biológicas foram adotados protocolos baseados em técnicas limpas validados internacionalmente (EPA, 1996). Tais procedimentos visam diminuir possíveis contaminações durante todas as etapas de processamento das amostras, desde a amostragem até a análise final.

Todos os materiais utilizados nas análises foram previamente lavados com água corrente, detergente comercial e escova. Posteriormente, os frascos foram enxaguados exaustivamente com água corrente e três vezes com água destilada. Os frascos foram deixados imersos durante sete dias em banho de HNO_3 5% v/v. A próxima etapa consistiu em enxaguar os frascos com água ultra-pura por 3 vezes. Durante todo o processo de limpeza, os materiais não foram colocados diretamente na bancada e sim em bandejas limpas e o manuseio do material foi realizado com auxílio de luvas cirúrgicas sem talco e luvas de polietileno.

4.6. Coleta das amostras

As amostras foram coletadas, estocadas em embalagens plásticas e transportadas sob refrigeração até o laboratório. As plantas coletadas foram duas espécies distintas, briófitas e pteridófitas. Foram lavadas com água ultra-pura e a secagem foi realizada a temperatura ambiente por quinze dias. Os peixes coletados foram das espécies *Tilapia rendalli* (tilápia), *Ciprinus Carpio Linnaeus* (carpa) e *Bagre marinus* (bagre bandeira), pois eram as espécies presentes no tanque de peixes estudado. Antes de serem armazenados sob refrigeração foram pesados, medidos e dissecados, onde separou-se as partes que seriam analisadas: o fígado e a musculatura. As Figuras 17 e 18 apresentam fotos das espécies de peixes e plantas avaliadas, respectivamente.

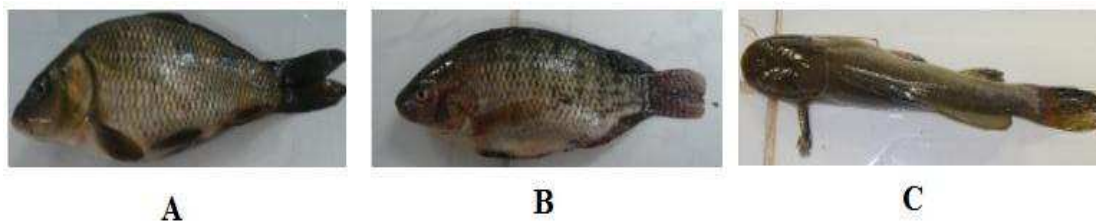


Figura 7: Amostras de peixes coletadas no tanque próximo ao curtume (A) Carpa, (B) Tilápia, (C) Bagre.



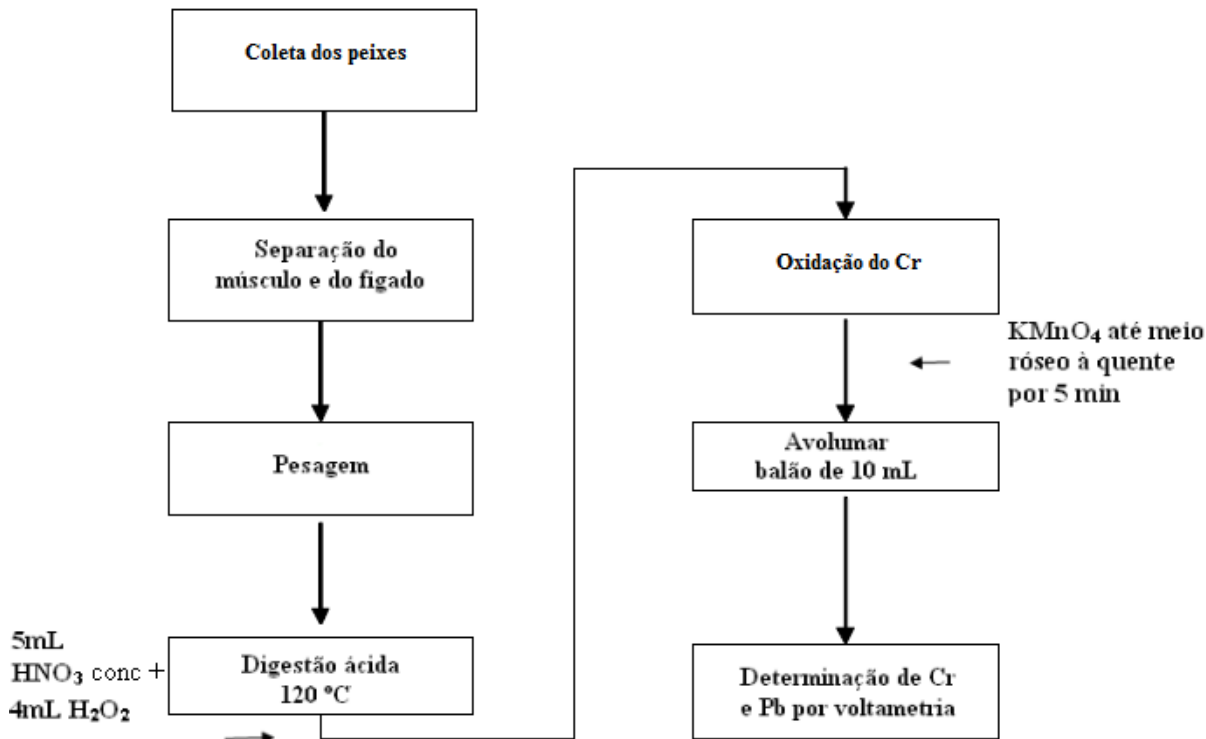
Figura 8: Amostras de pteridófitas (A) e briófitas (B) coletadas no tanque de peixes e no córrego.

De forma geral os peixes podem ser considerados onívoros me relação às suas preferências alimentares, tanto em condições naturais como em cultivo. No entanto, na maioria das vezes eles são mais eficientes no aproveitamento de um determinado tipo de alimento e por isso são classificados em diferentes grupos: 1) Herbívoros e frugívoros: fazem parte deste grupo, peixes que têm preferência por alimentos de origem vegetal, ricos em fibra e de baixo valor energético. Os herbívoros se alimentam de plantas e algas, os frugívoros de frutas e sementes. Ex.: carpa capim, tilápia rendali e piapara (herbívoros), pacu e tambaqui (frugívoros); 2) Planctófagos: fazem parte deste grupo peixes que têm preferência por plâncton (comunidade aquática constituída de algas unicelulares - fitoplâncton e por organismos animais - zooplâncton). Ex.: tilápia do Nilo, carpa prateada e carpa cabeça grande; 3) Iliófagos / Detritivos: fazem parte deste grupo peixes que se alimentam de organismos bentônicos (organismos que vivem no fundo do tanque). Ex.: carpa comum, piauçu, cascudos e curimbatá (SPERANDIO, 2001). Portanto, a carpa e a tilápia procuram

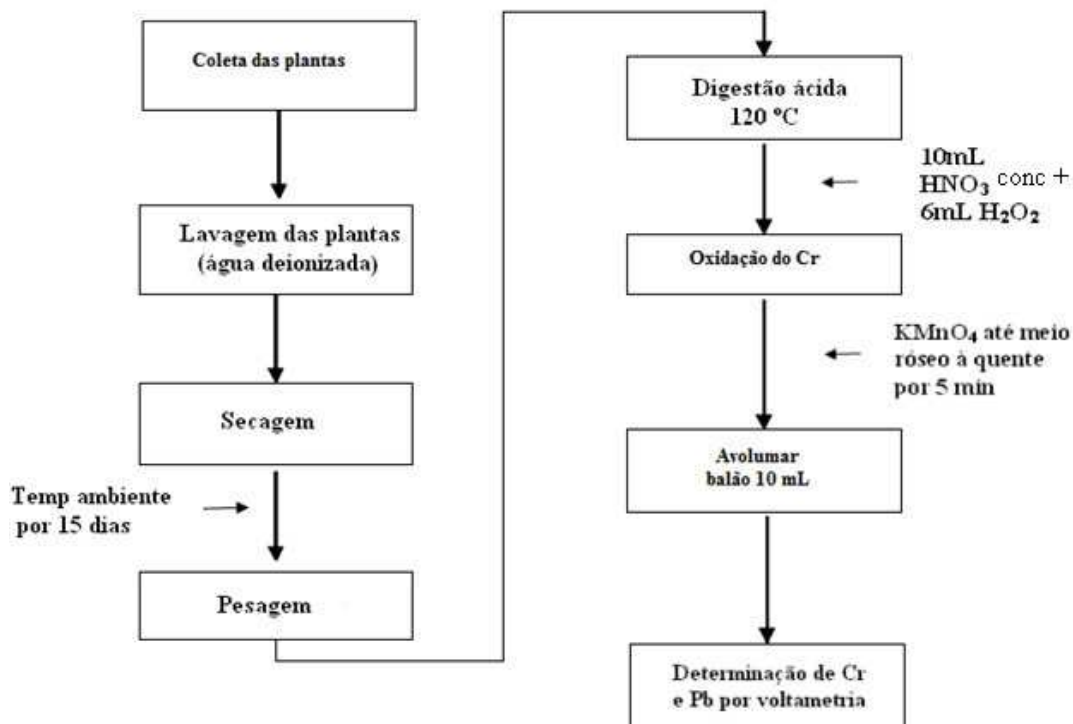
alimentar-se principalmente no fundo, procurando alimentos de origem vegetal ou animal e, se existir disponibilidade de alimento na superfície, também o consegue fazer com alguma facilidade.

4.7. Preparo das Amostras

As amostras foram preparadas para as análises por processo de digestão via úmida, que consiste na adição de ácidos com aquecimento para a eliminação da matéria orgânica. Os procedimentos estão descritos nos Fluxogramas 01 (peixes) e 02 (plantas). As quantidades de amostras utilizadas para as digestões foram de aproximadamente 0,1 g para plantas e fígado e 1,0 g para a musculatura dos peixes. Como as medidas voltamétricas são destinadas a determinação da espécie de Cr (VI), efetuou-se a oxidação do Cr nas amostras adicionando-se permanganato de potássio (KMnO_4) $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ após a digestão, ainda em aquecimento, até cor levemente rosa .



Fluxograma 01: Procedimento analítico para o preparo das amostras de peixe.



Fluxograma 02: Procedimento analítico para o preparo das amostras de plantas.

4.8. Quantificação do Chumbo

O procedimento analítico para a quantificação do chumbo, após a digestão da matéria orgânica das plantas e dos peixes, consistiu na adição de tampão ácido acético/amônia com água deionizada na cela polarográfica juntamente com a amostra digerida. Foi necessário otimizar o volume de tampão pois a amostra fica fortemente ácida após o procedimento de digestão. Para o estudo do volume ideal de tampão, uma concentração conhecida de Pb (1.0 mg L^{-1}) foi adicionado a cela de reação com diferentes volumes de tampão, entre 1 e 3 mL. A recuperação do Pb adicionado à cela foi determinada pelo método da adição de padrão. A Tabela 05 contém os parâmetros para a determinação do chumbo através da voltametria de redissolução anódica. O gás de purga utilizado para retirar o oxigênio presente no meio foi o nitrogênio.

Tabela 05: Parâmetros utilizados para as determinações voltamétricas do chumbo.

PARÂMETROS	Valores
Eletrodo de trabalho	HMDE
Tempo de purga	300 (s)
Tempo de deposição	60 (s)
Amplitude do pulso	-50 (mV)
Potencial inicial de varredura	-0,8 (V)
Potencial final de varredura	-1,0 (V)
Tempo de incremento de voltagem	0.2 (s)
Incremento de voltagem	- 6,0 (mV)
Taxa de varredura	30,0 (mV s ⁻¹)
Tempo de equilíbrio	10 (s)
Potencial de deposição	0,8 (V)

4.9. Quantificação do Crômio

Para a quantificação de crômio por voltametria, foi realizado um estudo de otimização do método analítico onde variou-se alguns parâmetros da técnica. Dentre eles, definiu-se o tempo de incremento de voltagem, a adição de um tampão e o tempo de deposição. Como a otimização e a validação do método analítico fazem parte dos objetivos do trabalho toda a discussão desses estudos estão dispostos nos resultados e discussão desse trabalho.

O procedimento para a quantificação do crômio foi realizado com a adição de 30 mL de solução tampão de fosfato monobásico de potássio 0,1 mol L⁻¹ com solução de hidróxido de sódio 0,1 mol L⁻¹, foi utilizado como eletrólito o nitrato de sódio 2,5 mol L⁻¹ e acetato de sódio 0,2 mol L⁻¹. O crômio não é eletroativo no sistema voltamétrico em estudo, foi necessário utilizar 2,5 mL de uma solução do quelante DTPA 0,05 mol L⁻¹ para complexar o crômio presente nas amostras. O pH do meio foi ajustado para aproximadamente 6,2 com solução de hidróxido de sódio 2,0 mol L⁻¹ e finalmente foi adicionado uma alíquota de amostra (geralmente 0,1 mL).

Os parâmetros para a quantificação do crômio através da voltametria de redissolução catódica estão descritos na Tabela 06. Vale ressaltar que a seqüência do procedimento de

determinação do crômio deve ser rigorosamente seguida, pois se o pH na cela for ajustado após a introdução da amostra o desvio padrão relativo entre triplicatas será elevado.

Tabela 06: Parâmetros utilizados para as determinações voltamétricas do crômio.

PARÂMETROS	Valores
Eletrodo de trabalho	HMDE
Tempo de purga	300 (s)
Tempo de deposição	60 (s)
Amplitude do pulso	-50 (mV)
Potencial inicial de varredura	-1,0 (V)
Potencial final de varredura	-1,45 (V)
Tempo de incremento de voltagem	0,3 (s)
Incremento de voltagem	-9,0 (mV)
Taxa de varredura	33,3 (mV s ⁻¹)
Tempo de equilíbrio	10 (s)
Potencial de deposição	- 1,0 (V)

4.10. Validação do método analítico para a determinação de Pb e Cr

Para garantir que um novo método analítico gere informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra, ele deve sofrer uma avaliação denominada validação. Alguns autores definem validação de métodos como sendo avaliação sistemática de um procedimento analítico para demonstrar que está sob as condições nas quais deve ser aplicado (WHO). E ainda, que a validação deve garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados (ANVISA, 2003).

Foi realizado o método de adição padrão nas amostras, para auxiliar a validação. O método de adição padrão também pode ser aplicado para os estudos de seletividade. Porém este método é utilizado quando não é possível obter a matriz isenta da substância de interesse (RIBANI et al., 2004).

O método de adição padrão consiste na adição de quantidades conhecidas da substância de interesse que está sendo analisada a quantidades conhecidas da amostra, antes do seu preparo.

Constrói-se uma curva analítica relacionando as quantidades da substância adicionada à amostra com as respectivas áreas obtidas. O ponto onde a reta corta o eixo das ordenadas corresponde à área do pico da substância que está sendo determinada, sem qualquer adição do padrão. A extrapolação da reta define, no eixo das abcissas, a concentração da substância na amostra analisada (BERG et al., 1988).

O método de adição padrão é trabalhoso, mas é especialmente importante quando a amostra é muito complexa, quando as interações com a matriz são significativas e quando houver dificuldade de encontrar um padrão interno adequado ou uma matriz isenta da substância de interesse (SNYDER et al., 1997).

A Figura 19 mostra a inter-relação entre o método de adição padrão, superposição de matriz e padronização externa. O comportamento paralelo entre as linhas de regressão mostra que o método tem seletividade. De forma geral, pode-se dizer que o método de padronização externa é realizado quando nenhum erro sistemático proveniente da matriz é suspeito, enquanto o método de superposição de matriz compensa o efeito da matriz e o método de adição padrão corrige o efeito da matriz e as mudanças da resposta do instrumento (RIBANI et al., 2004).

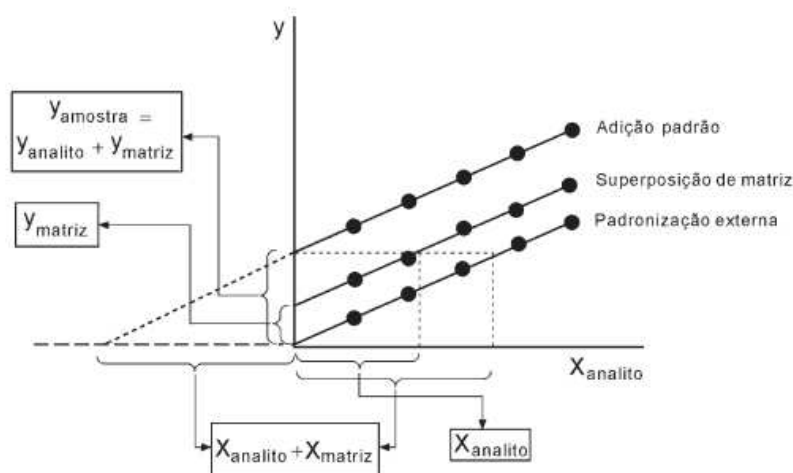


Figura 19: Inter-relação entre os diferentes métodos de construção da curva analítica.

A validação do método analítico foi realizada através da adição dos íons metálicos Cr e Pb nas amostras de plantas e peixes antes do processo de digestão ácida e posterior recuperação do metal. Foi adicionado $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ de Cr e Pb em cada amostra.

4.10.1. Limite de detecção

Os cálculos do limite de detecção para a técnica utilizada na determinação do Cr e do Pb foram realizados através do desvio de dez medidas consecutivas do branco. O desvio foi multiplicado por três e o resultado dividido pela inclinação da reta de uma curva de calibração.

4.11. Tratamento matemático e estatístico dos dados

A quimiometria faz uso de ferramentas estatísticas e matemáticas para melhor selecionar as condições de medição e converte os dados químicos obtidos em informações que são melhores interpretadas para a solução do problema.

Quando se avaliam grandes números de casos e de variáveis, principalmente em trabalhos de monitoramento e de avaliação ambiental, usa-se a análise estatística multivariada para auxiliar na interpretação, na organização dos dados deixando em evidência as informações que explicam a maior variação das observações. Um dos métodos mais utilizados é a Análise de Componentes Principais (ACP), que por sua vez, identifica as variáveis novas,

que surgem das combinações lineares das variáveis originais, possibilitando a visualização com algum tipo de geometria ou representação.

A ACP permite extrair, de um determinado conjunto de dados, informações relevantes para o seu entendimento. Este conjunto de dados é organizado na forma de uma matriz (dados bidimensionais), na qual as linhas podem ser amostras e as colunas variáveis. Neste sentido, com a ACP é possível efetuar uma simplificação, redução da dimensão original dos dados, modelamento, detecção de amostras anômalas (outliers), seleção de variáveis importantes em determinado sistema, classificação e previsão (WOLD et al., 1987).

As aplicações das Análises de Componentes Principais são diversas e abrangem diversos ramos do conhecimento, principalmente a química analítica. Na literatura são encontradas inúmeras aplicações para a ACP, entre as quais destaca-se o trabalho de DelValls et al., (1998), que determinaram as fontes de contaminação em sedimentos marinhos provenientes do Golfo de Cádiz.

Na interpretação dos dados obtidos com as análises dos peixes, as variáveis foram divididas em peso da amostra, comprimento dos peixes e concentração de Cr e Pb no fígado e na musculatura. Para as amostras de plantas utilizou-se as concentrações de Pb e Cr como variáveis.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Otimização do método analítico para a determinação do Cr

5.1.1. Estudo da adição de tampão.

Nesse trabalho, vários aspectos de aperfeiçoamento do método foram considerados em função da necessidade de se obter sinais com elevada sensibilidade analítica visto que o Cr apresenta-se em quantidades traço nas amostras analisadas. O primeiro parâmetro avaliado foi a ordem de adição dos reagentes. Primeiramente, na preparação da cela eletroquímica para o Cr, era acrescentado a amostra, o eletrólito contendo o agente complexante (DTPA) e só então o pH era ajustado com uma solução de hidróxido de sódio ($2,0 \text{ mol L}^{-1}$). Com a adição dos reagentes nessa ordem não era possível obter repetibilidade e reprodutibilidade nas medidas e nem a recuperação total do metal adicionado ($0,1 \text{ mg L}^{-1}$). Após a mudança na ordem da adição dos reagentes, isto é, com a adição da amostra por último, e o pH previamente ajustado com um tampão (6,2) foi possível quantificar o Cr com precisão.

Segundo a literatura (LI & XUE, 2001) o quelante precisa de pH em torno de 6,2 para complexar, como a amostra é decorrente de uma digestão ácida, a solução da cela eletroquímica fica com um pH extremamente baixo, em torno de 1,00. Ajustando-se primeiramente o pH na cela contendo os eletrólitos e o DTPA com uma solução tampão e somente após fazer a adição da alíquota de amostra foi possível obter resultados com exatidão.

As Figuras 20 e 21 mostram os voltamogramas e as curvas de adição padrão com a adição da amostra antes do ajuste do pH (A), e após o ajuste do pH com o tampão (B). Analisando-se os gráficos verificou-se que somente com o tampão foi possível uma recuperação acima de 100% do íon metálico adicionado na amostra, pois $0,109 \text{ mg L}^{-1}$ de Cr foi recuperado na medida, enquanto que apenas 10 % ($0,014 \text{ mg L}^{-1}$) foi detectado quando o tampão não foi utilizado.

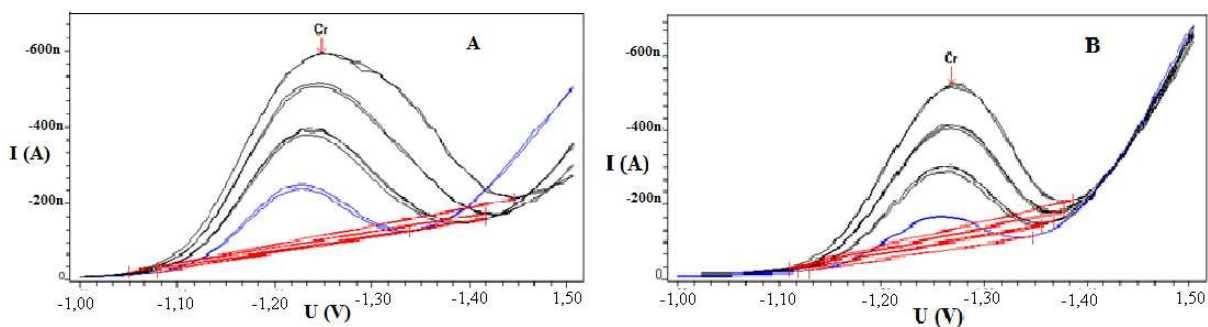


Figura 20: Voltamogramas para Cr sem a utilização de tampão (A) e com o tampão (B).

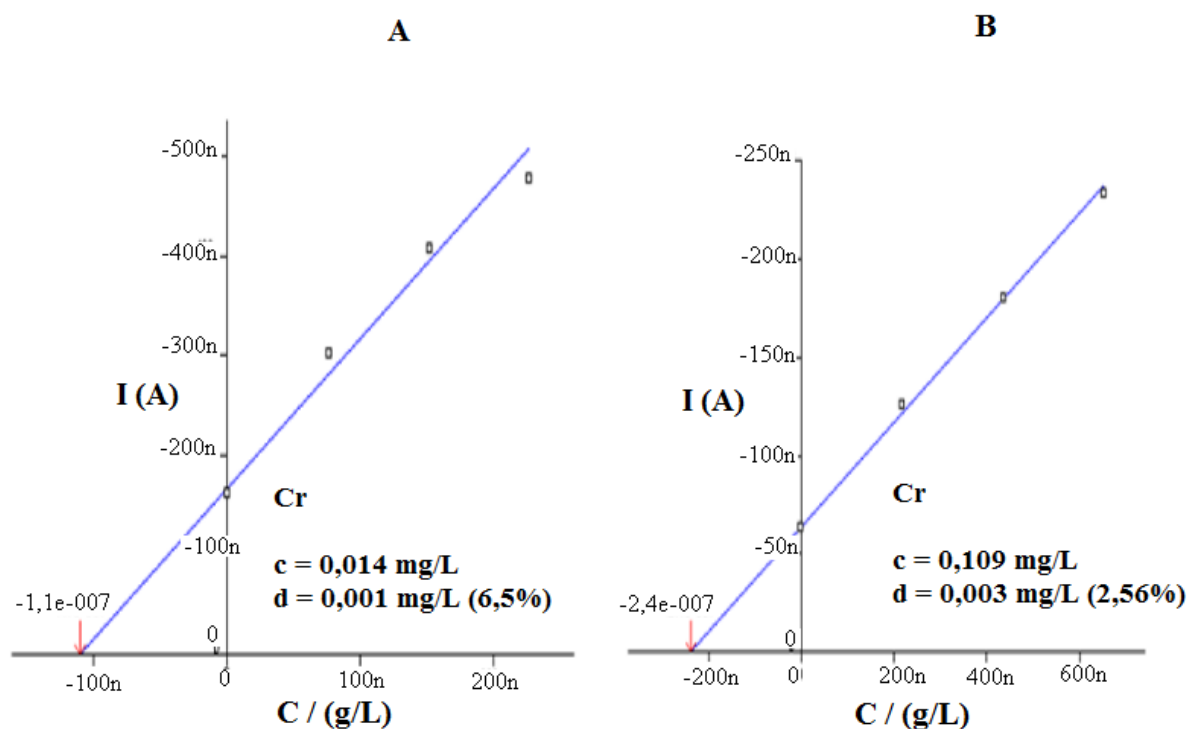


Figura 21: Curvas de adição padrão para o Cr sem tampão (A) e com a adição de tampão (B).

5.1.2. Estudo do tempo de purga.

Um outro estudo realizado neste trabalho foi o tempo necessário para a remoção de oxigênio na cela de reação.

Korolczuk (2000) determinou Cr por voltametria usando DTPA, nitrato, ácido Morpholinoethanesulfonic (MES) e seu sal de sódio para a estabilização do pH. Korolczuk concluiu que a medida de crômio pode ser efetuada na presença de oxigênio dissolvido sem

diminuição da sensibilidade das medições, e com isso eliminar o tempo de purga diminuindo o tempo total da análise e o consumo de gás.

Neste trabalho, a Figura 22 mostra os resultados obtidos com a variação do tempo de purga no processo. Foram testados três tempos de purga, 5s, 150s, e 300s. Os parâmetros utilizados foram: potencial de deposição (E_{dep}): -1,00 V ; tempo de deposição (t_{dep}): 60s; pH: 6,18; altura do pulso: -50 mV, 33,33 mVs^{-1} e concentração de Cr(VI): $5,62 \times 10^{-4} mg L^{-1}$. Nos tempos 5 s e 150 s não houve diferenças entre a altura de corrente e o perfil dos voltamogramas. Entretanto, com o tempo de 300 s obteve-se maior pico de corrente, favorecendo a sensibilidade analítica. Embora a altura de corrente não tenha sido muito significativa entre os tempos de 5 s e 300 s, preferiu-se realizar a purga a 300 s para garantir a sensibilidade analítica visto que os teores dos íons de interesse encontram-se em concentrações traço.

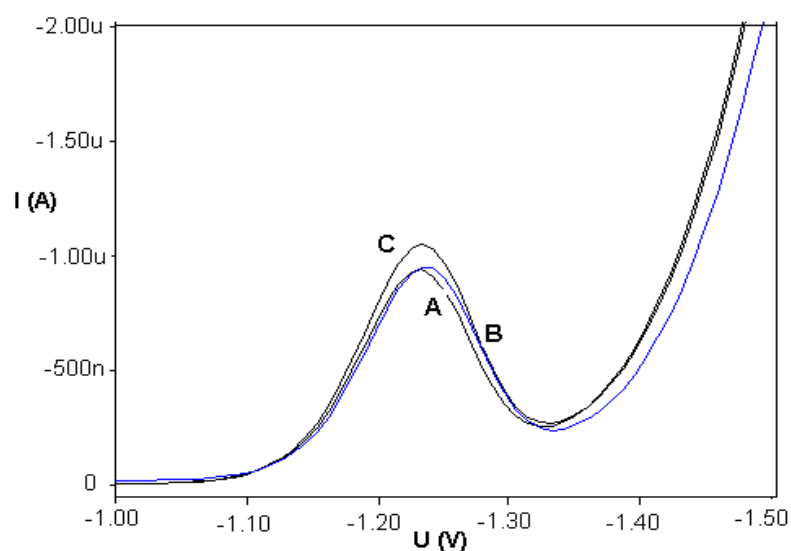


Figura 22: Voltamograma do estudo do tempo de purga. Curvas: (A): 5 s. (B) 150 s e (C) 300 s.

5.1.3. Estudo do pH

Sabe-se que tanto o pH do meio como a presença de íons nitrato são importantes para um bom desempenho do eletrólito na determinação de Cr por voltametria. Para o eletrólito contendo acetato, que é o caso deste trabalho, o pH de trabalho recomendado na literatura é em torno de 6,2 (LI & XUE, 2001).

Esse estudo manteve os demais parâmetros variando-se o pH em: 5,48; 5,80; 6,18 e 6,57. A Figura 23 demonstra a variação do pH com o sinal analítico obtido, através da intensidade da corrente. Para comparação, a Figura 24 demonstra o trabalho de SANCHEZ, (2003), que realizou esse estudo da variação do pH com a intensidade da corrente por VRC. Neste trabalho, os valores do pH testados estavam na faixa 5.5 - 7.5 e obteve o maior sinal da corrente no pH 6.2 para a determinação do Cr. Analisando os resultados confirmou-se a necessidade e a importância de manter o pH fixo em 6,2.

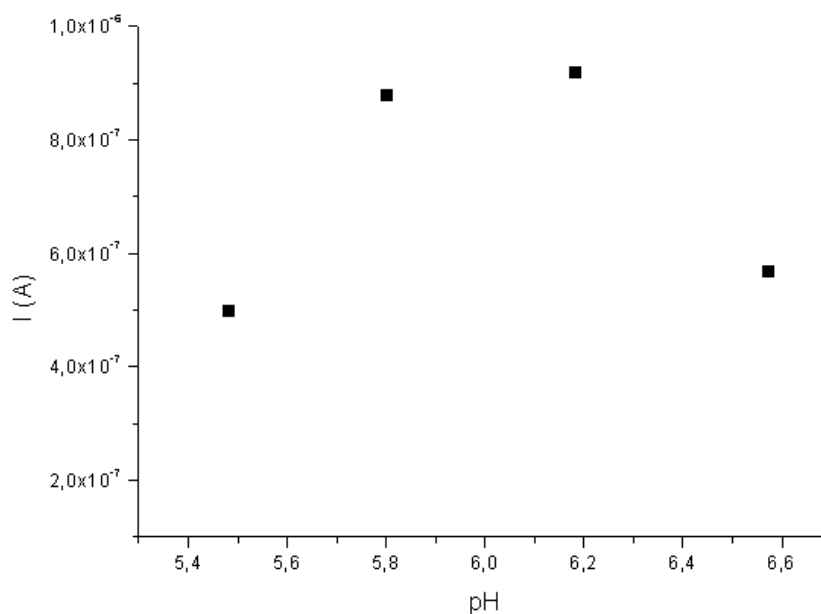


Figura 23: Estudo da variação do pH para a determinação de Cr (VI) por VRC.

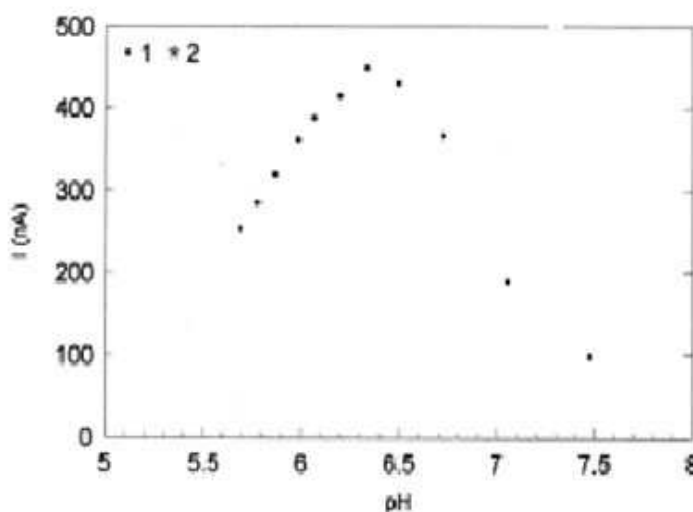


Figura 24: Estudo da intensidade da corrente variando o pH para a determinação de Cr por VRC (SANCHEZ, 2003).

5.1.4. Estudo do tempo de deposição e concentração de Cr.

Notou-se que quando elevados teores de Cr ou tempos mais prolongados de deposição eram utilizados na medida eletroquímica ocorria um deslocamento da corrente de pico, assim, a curva de adição de padrão perdia a linearidade. Com isso, realizou-se um estudo de efeito do tempo de deposição e da concentração de Cr em relação a esse deslocamento, para avaliar qual era o comportamento. A Figura 25 (A, B, C e D) apresenta os resultados obtidos com este estudo utilizando concentrações de Cr que variaram de 0,003 mg L⁻¹ a 0,01 mg L⁻¹ em diferentes tempos de deposição (0 s à 210 s). Na Figura 25 A, B e C houve um deslocamento da corrente de pico. Já na Figura 25 D com um tempo de deposição de 60 s e o deslocamento da corrente de pico apresentou-se bem acentuado. Esse estudo revelou que quando se estuda quantidades menores de analito é possível trabalhar com tempos de deposição maiores, assim, será menor o efeito das correntes interferentes.

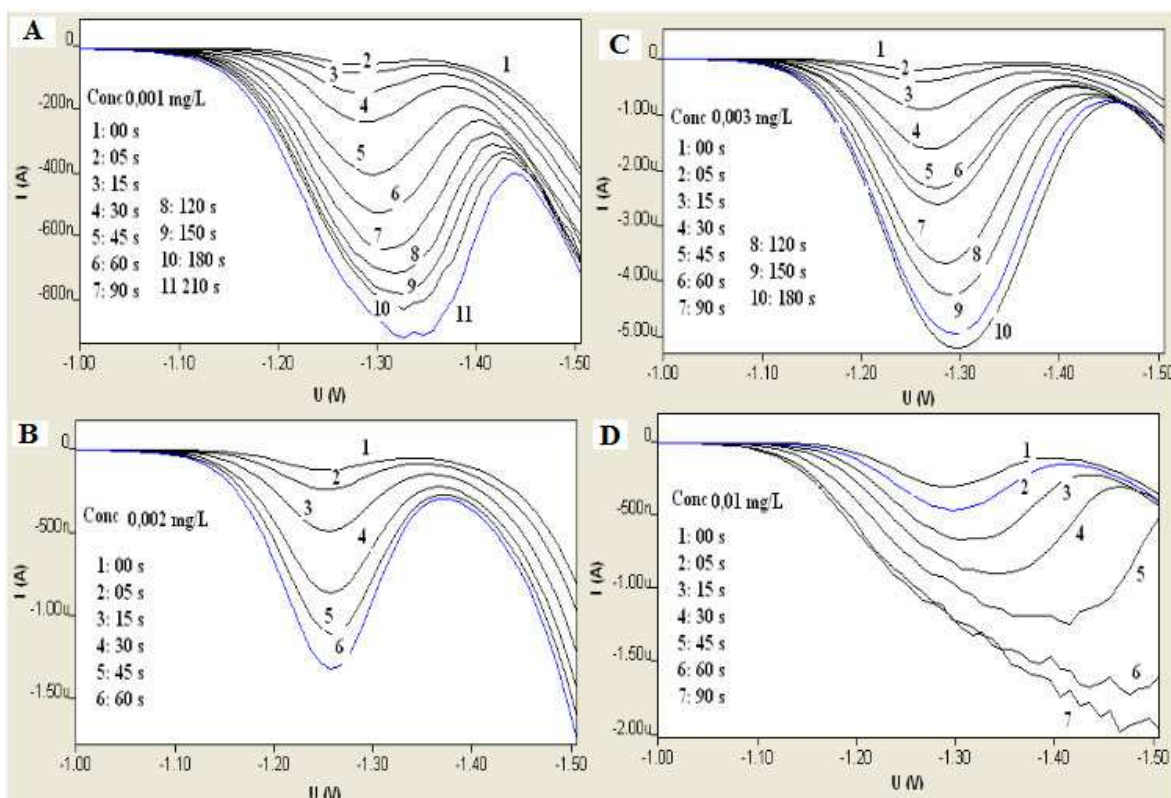


Figura 9: Estudo da saturação da gota de mercúrio e deslocamento da corrente de pico em relação à concentração de Cr e ao tempo de deposição do complexo formado.

Ainda com o estudo do tempo de deposição, avaliou-se o mesmo, na medida voltamétrica do Cr utilizando amostras contendo as mesmas concentrações do elemento, diferenciando-se apenas o tempo de deposição na gota.

A etapa de pré-concentração consiste de uma eletrodeposição num potencial constante e controlado da espécie eletroativa sobre o eletrodo de trabalho. A variação do tempo da etapa de pré-concentração pode variar conforme a concentração da amostra.

Desta forma, um maior tempo de deposição poderá ser aplicado em uma determinação quando a concentração de Cr em uma amostra for extremamente baixa. A concentração de Cr nas amostras foi de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ nos tempos de deposição de 5 s e 30 s. Os voltamogramas da Figura 26 apresentam os resultados obtidos com este estudo. Verificou-se que mesmo com o menor tempo de deposição a concentração de $0,1 \text{ mg Cr L}^{-1}$ determinada foi exatamente igual a obtida no tempo de deposição de 30 s. Mas, quanto maior o tempo de deposição aplicado ao sistema voltamétrico maior será a sensibilidade analítica obtida.

Tempos muito longos devem ser evitados, pois podem produzir sinais fora da região de proporcionalidade entre a corrente e a concentração. Quando necessário, pode-se aumentar o volume das amostras.

A Figura 27 apresenta as curvas de adição padrão de Cr para cada tempo de deposição avaliado. Os valores de Cr quantificados neste estudo foram de $0,10 \text{ mg L}^{-1}$ para o tempo de 5 s e $0,11 \text{ mg L}^{-1}$ para o tempo de deposição de 30 s.

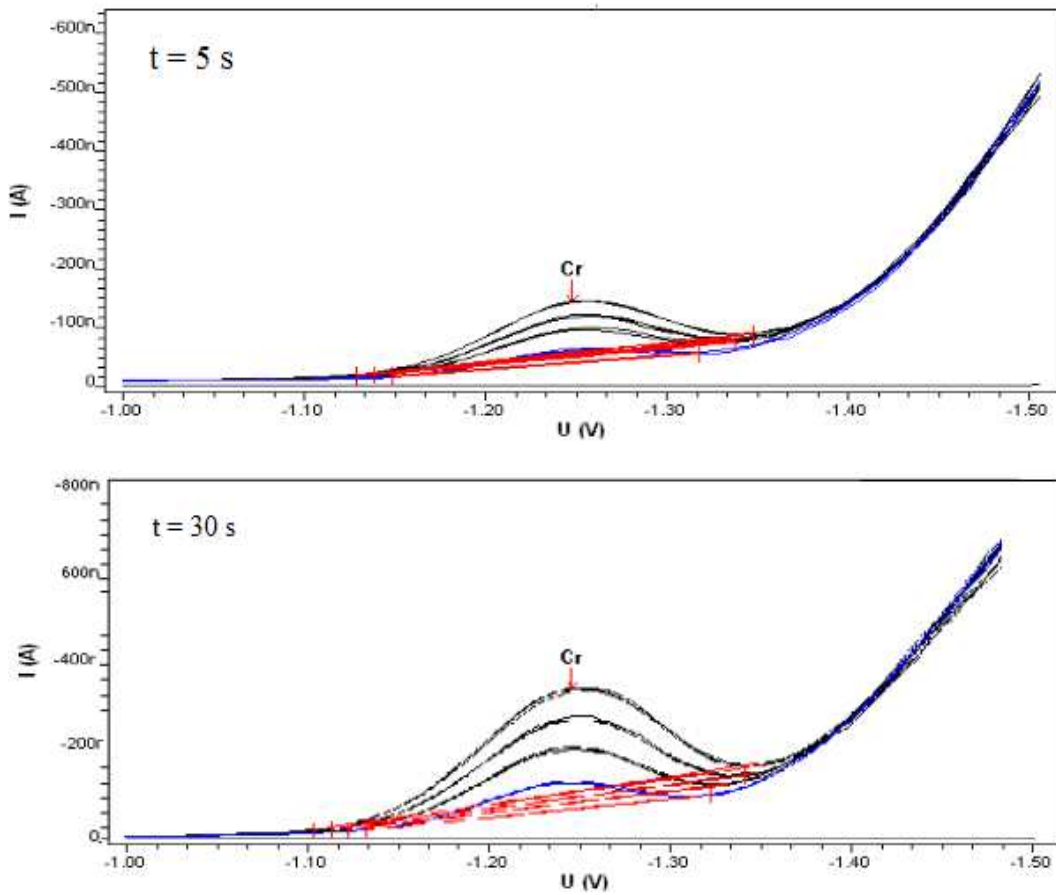


Figura 10: Voltamogramas obtidos com o estudo do tempo de deposição do Cr (0,1 mg/L) em 5 e 30 s.

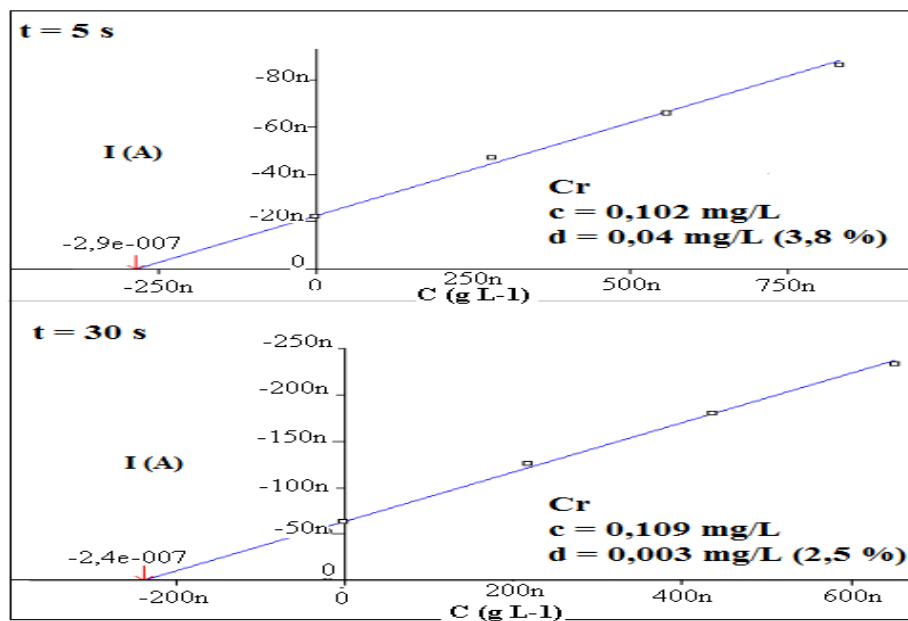


Figura 11: Curvas de adição de padrão para Cr (0,1 mg L⁻¹) em 5 e 30 s.

5.1.5. Estudo do tempo de incremento de voltagem.

Neste estudo foi avaliado o tempo de incremento de voltagem (voltage step time). A Figura 28 (A, B, C e D) mostra o estudo com quatro valores de tempo de incremento de voltagem, utilizando os tempos 0,1 s, 0,4 s, 0,6 s e 0,8 s, respectivamente. Verificou-se que o melhor tempo foi de 0,4 s (Figura 28-B), pois o voltamograma registrou ótima reprodutibilidade e sensibilidade entre as triplicatas. O desvio padrão entre triplicatas foi o menor (3,0 %) no tempo de 0,4 s. Variando-se a tempo de incremento de voltagem é possível controlar a velocidade de varredura. Em tempos de incrementos menores a velocidade de varredura aumenta e tempos de incremento maiores a velocidade de varredura diminui. Se as etapas de potencial forem muito longas elas até mesmo poderão “pular” o pico. Nesse caso, haveria, portanto uma perda na resolução.

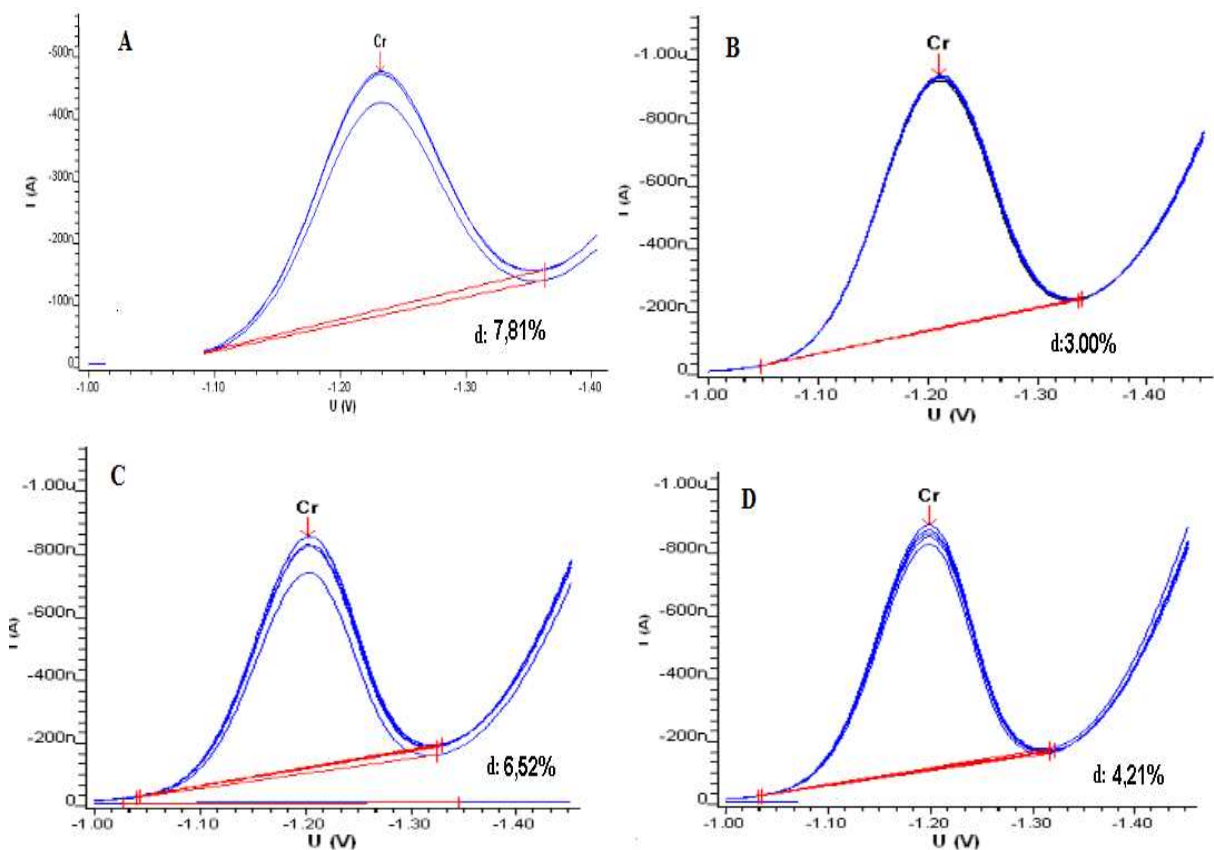


Figura 28: Voltamogramas do estudo do tempo de incremento de voltagem para 0,1 s (A), 0,4 s (B), 0,6 s (C) e 0,8 s (D).

5.1.6. Estudo da velocidade de varredura

Foi realizado o estudo da influência da velocidade de varredura na corrente de pico variando a velocidade de 1,00 para 6,50 mV s^{-1} (Figura 29). Verificou-se que, a diminuição da mesma altera drasticamente os valores de densidade de corrente. A velocidade de 3,00 mV s^{-1} foi a que apresentou o maior sinal de pico, aliando esta vantagem com o menor tempo de aquisição dos dados. Assim, escolheu-se esta velocidade para se proceder este trabalho. Os demais parâmetros utilizados para esse estudo foram: potencial de deposição (E_{dep}): -1,00 V ; tempo de deposição (t_{dep}): 60 s; pH: 6,18; altura do pulso: -50 mV. Concentração de Cr (VI): $5,62 \times 10^{-4} \text{mg L}^{-1}$.

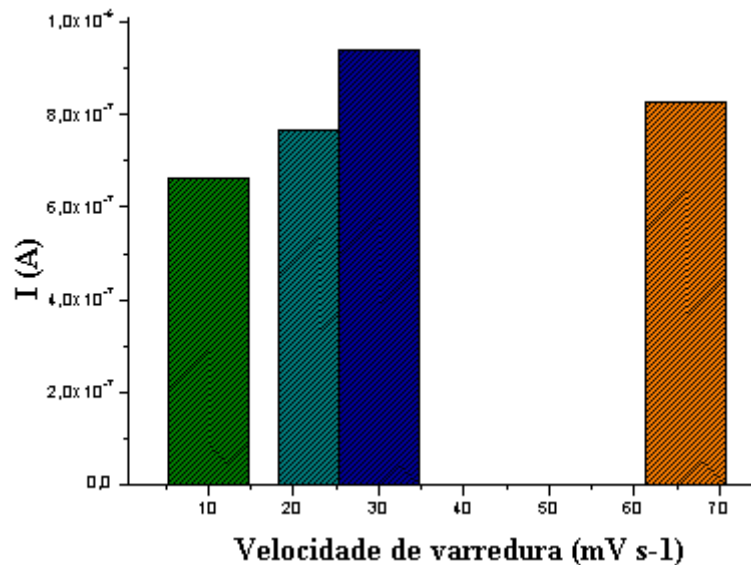


Figura 29: Variação da velocidade de varredura com o sinal analítico.

5.2. Otimização do método analítico para a determinação do Pb.

Na otimização do método analítico para a quantificação de Pb foram realizados estudos sobre o volume ideal de solução tampão necessário para a recuperação do metal. Este estudo foi feito variando-se os volumes da solução tampão ($\text{CH}_3\text{COOH}/\text{NH}_3$ pH: 4,6) e de água utilizados na cela voltamétrica para $1,0 \text{mg Pb L}^{-1}$. O volume total de água e tampão contido na cela foi sempre o mesmo (10 mL). A Figura 30 apresenta os resultados obtidos

com o estudo sendo que a melhor recuperação de Pb (105%) foi encontrada com a adição de 3,0 mL de tampão e 7,0 mL de água deionizada.

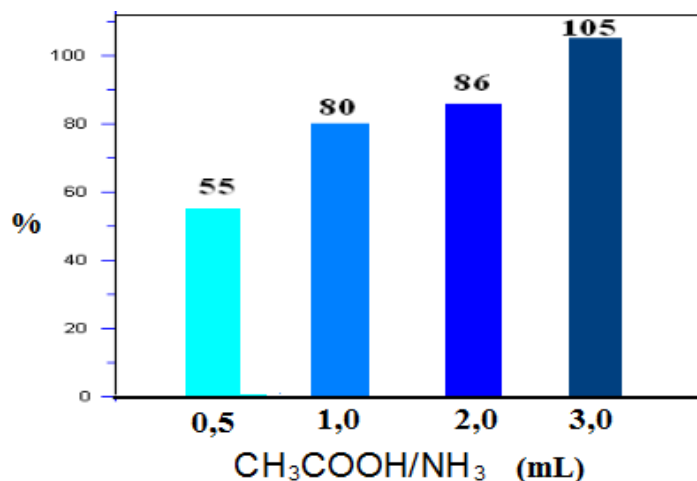


Figura 30: Estudo do volume de tampão CH₃COOH/NH₃ e recuperação do Pb na medida voltamétrica por VRA.

5.3 Validação dos métodos analíticos

A validação dos métodos analíticos foi realizada através da quantificação dos íons metálicos em amostras previamente dopadas, isto é, amostras que receberam a adição de uma concentração conhecida dos íons metálicos antes do procedimento de digestão. A validação da determinação de Cr e Pb foi realizada nas amostras de peixes (fígado e músculo) e plantas. Além das amostras dopadas, preparou-se um “branco”, que consiste em uma solução contendo todos os reagentes necessários para a digestão menos a amostra de estudo.

5.3.1. Estudo de adição e recuperação de Pb nas plantas

A validação do método analítico para o Pb, foi realizada com a adição de 1,0 mg L⁻¹ de Pb em uma amostra do local isento de contaminação antes da digestão ácida. Este estudo de recuperação foi realizado para verificar se durante o processo de digestão da amostra o íon metálico não seria perdido por volatilização, pois o mesmo é volátil em baixas temperaturas.

A Figura 31 mostra o voltamograma e a curva de adição de padrão para este estudo em amostras de plantas.

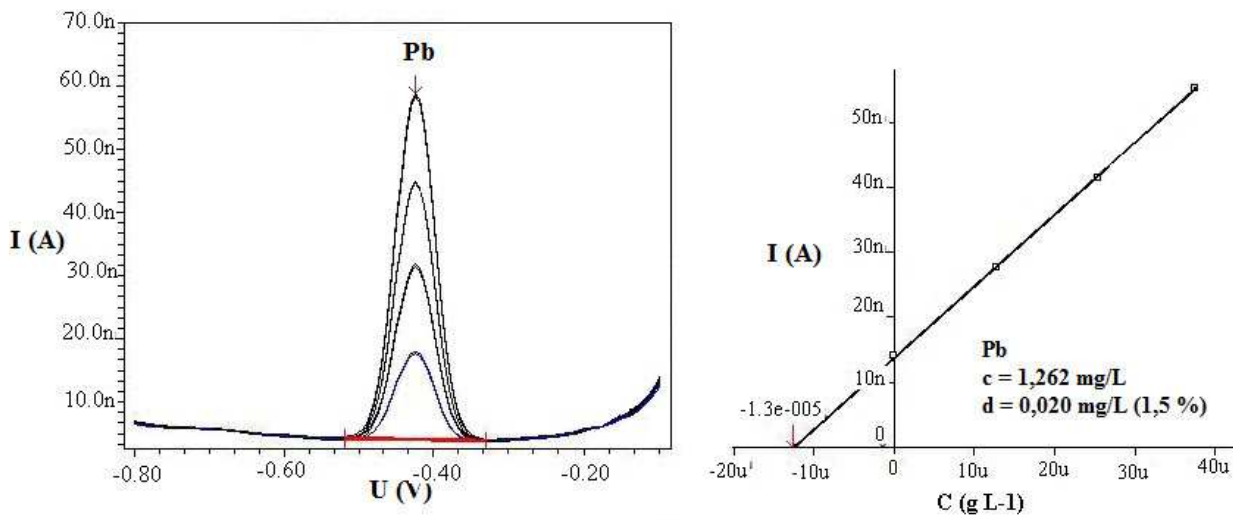


Figura 31: Voltamograma e curva de adição de padrão para recuperação de Pb adicionado em amostras de planta do Salto São Francisco.

Uma medida de branco, todos os reagentes usados na digestão ácida menos a amostra de planta, foi quantificado para desconsiderar a contaminação proveniente dos reagentes utilizados. A Figura 32 representa o voltamograma e a curva de adição dessa medida.

Uma amostra da mesma planta também foi quantificada sem fazer o processo de dopagem, a fim de conhecer o teor original de Pb na mesma. A Figura 33 representa essa medida.

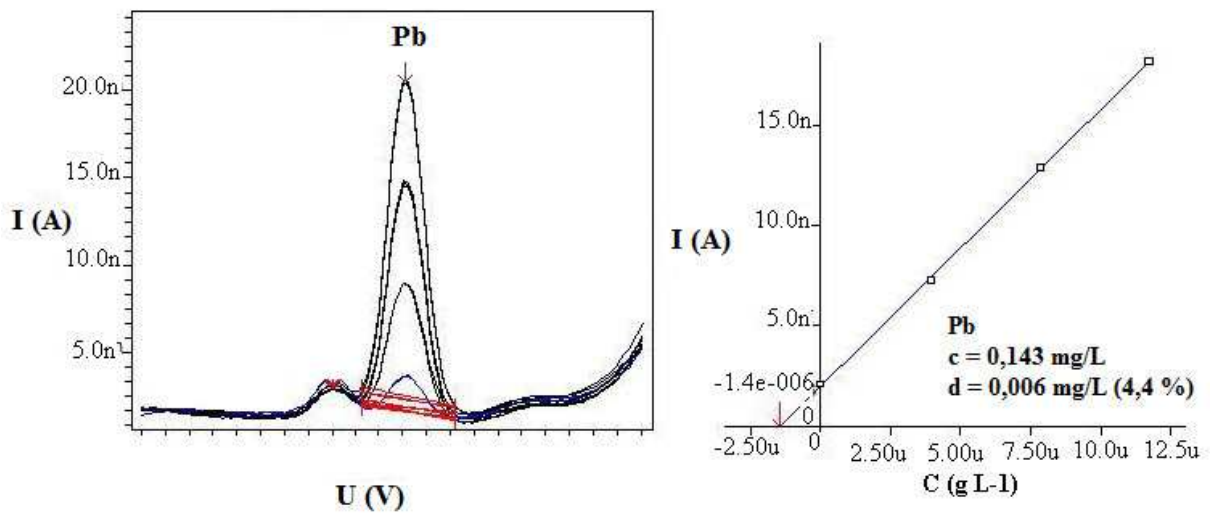


Figura 32: Voltamograma e curva de adição da quantificação de Pb no branco digerido.

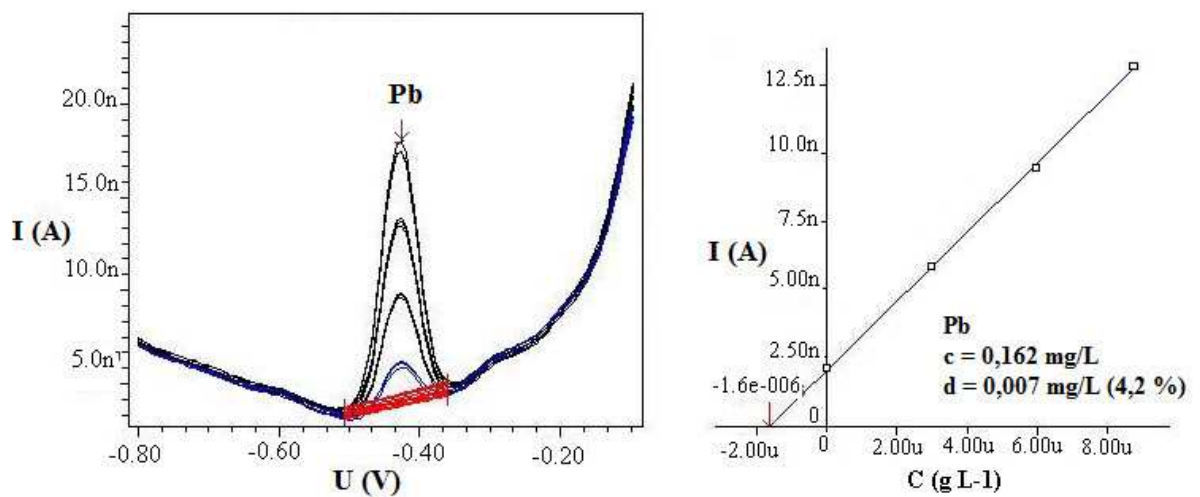


Figura 33: Voltamograma e curva de quantificação do Pb em amostra de planta (coletada no Salto São Francisco).

O resultado deste estudo apresentado na Tabela 07 mostra que 109,00% do Pb adicionado na amostra foi recuperado após a digestão ácida, provando que o método foi eficiente e o elemento não foi perdido durante o procedimento de digestão via úmida com aquecimento. O valor de Pb obtido no branco foi praticamente o mesmo da amostra do Salto, indicando que o ambiente está isento de contaminação antrópica.

Tabela 07: Estudo da adição e recuperação de Pb em plantas por voltametria.

Matriz	Pb (mgL ⁻¹)
Pb branco	< L.D
Pb determinado na amostra	0,02
Pb adicionado na amostra	1,00
Pb determinado na amostra dopada	1,12
Recuperação	109,00%

5.3.2. Estudo de adição e recuperação de Pb em peixes

Para as amostras de peixe, a concentração do metal adicionado no músculo e no fígado foi de 0,10 mg L⁻¹. O voltamograma e a curva de adição de padrão para as amostras do músculo do peixe sem dopagem de Pb estão apresentados na Figura 34. Os sinais de Pb no branco ficaram abaixo do limite de detecção da técnica. A Figura 35 representa o voltamograma e a curva de adição para a recuperação do Pb adicionado na amostra de músculo. As Figuras 36 e 37, respectivamente, mostram o voltamograma e a curva de adição de Pb em amostras de fígado no estudo de recuperação.

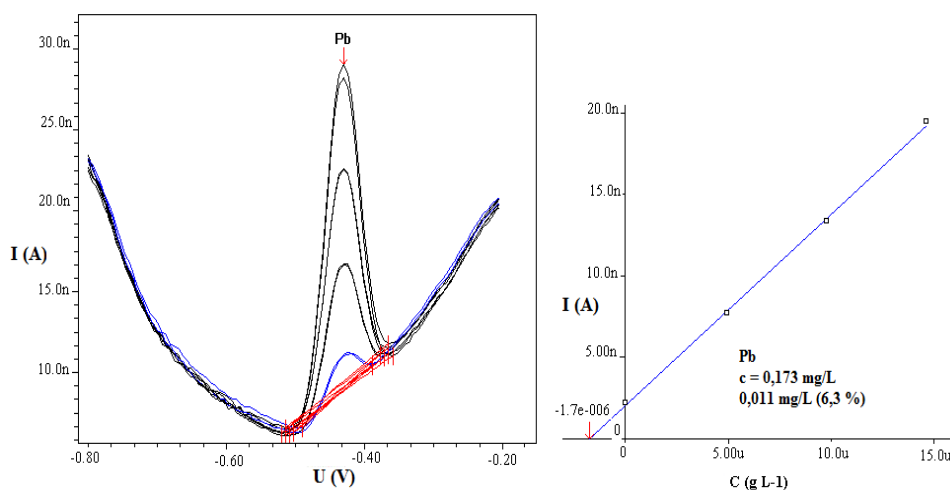


Figura 34: Voltamograma e curva de adição de padrão para quantificação de Pb em amostras de músculo de peixe.

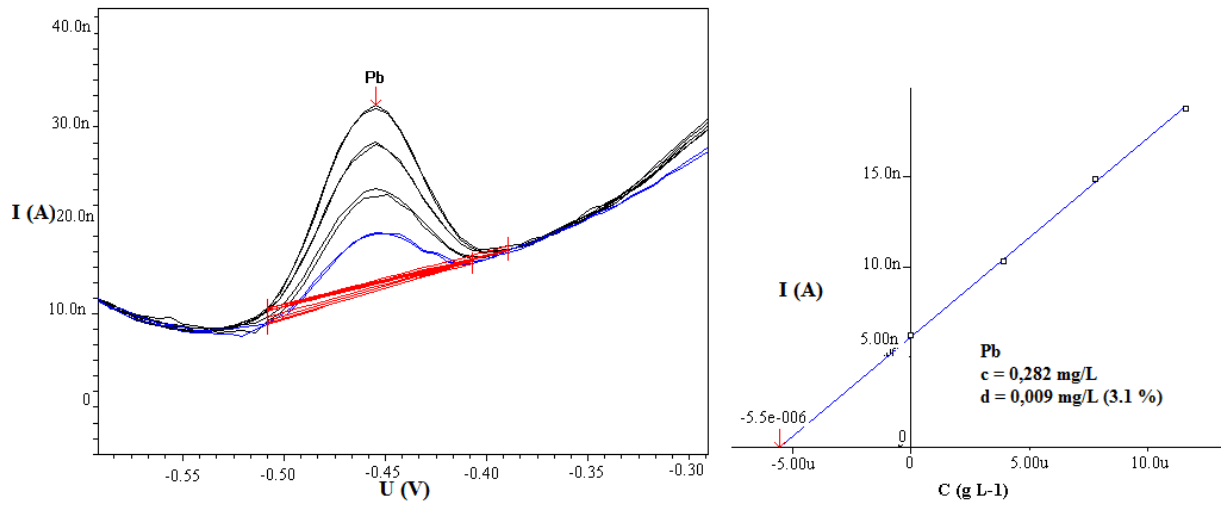


Figura 35: Voltamograma e curva de adiao para recuperaao do Pb adicionado no msculo ($0,1 \text{ mg L}^{-1}$).

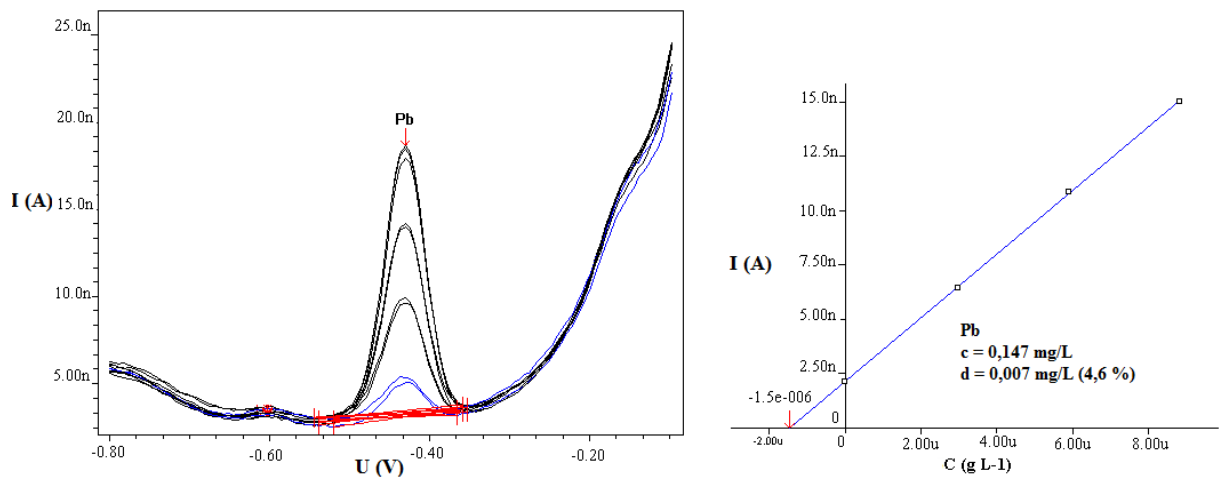


Figura 36: Voltamograma e curva de adiao para quantificaao de Pb em amostra de fgado.

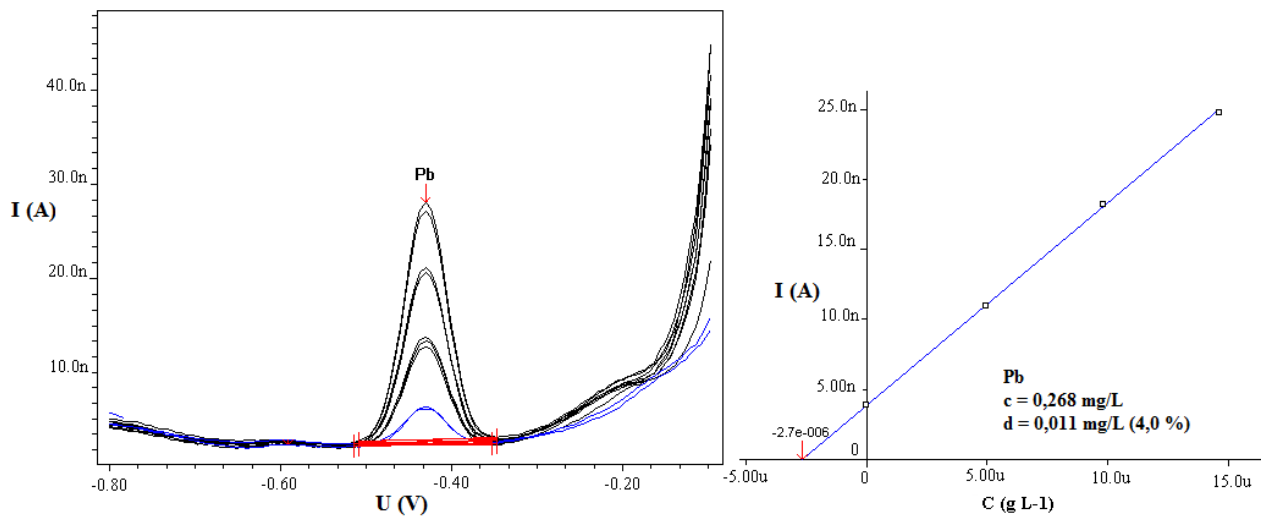


Figura 37: Voltamograma e curva de adiao para recuperaao do Pb adicionado na amostra de fgado (0,1 mg L⁻¹).

Os resultados deste estudo de recuperaao, apresentado na Tabela 08, mostram que nas amostras dos peixes a recuperaao do Pb foi de 103,00 % para o msculo e 108,00 % para o fgado. Portanto, com a recuperaao do metal apcs a digestao ácida foi possvel validar o mtdodo, pois o mesmo se mostrou eficiente apcs a digestao.

Tabela 08: Estudo da adiao e recuperaao de 0,10 mgL⁻¹ de Pb em peixes por voltametria.

Matriz	msculo (mg L⁻¹)	fgado (mg L⁻¹)
Pb determinado na amostra	0,17	0,15
Pb adicionado na amostra	0,10	0,10
Pb determinado na amostra dopada	0,28	0,27
Recuperaao	103,00%	108,00%

5.3.3. Estudo de adição e recuperação de Cr em plantas do Salto São Francisco.

A validação do método analítico para o Cr foi realizada com a adição de padrão do íon metálico Cr (VI) $1,00 \text{ mg L}^{-1}$ antes do processo de digestão das amostras. A Figura 38 mostra o voltamograma e a curva de adição de padrão para o branco utilizado na determinação de Cr nas plantas. As Figuras 39 e 40 mostram o voltamograma e a curva de adição para amostras de plantas dopada e sem dopagem com o padrão de Cr (VI). A Tabela 09 apresenta os resultados de recuperação de Cr em amostras de plantas. Atingiu-se uma recuperação de 94,00% de Cr nas plantas através do método de VRC. Portanto, o método foi eficaz para análise.

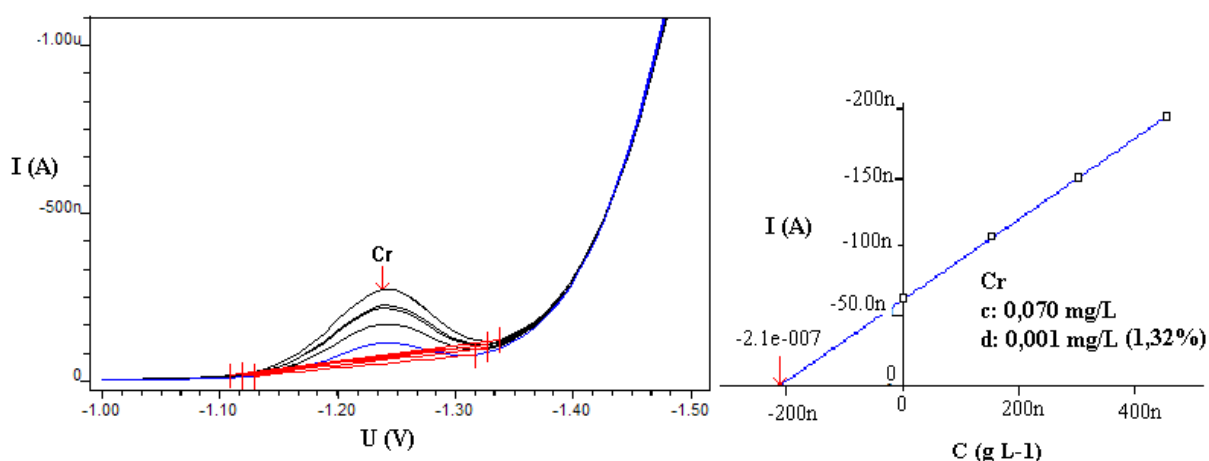


Figura 38: Voltamograma e curva de adição para a quantificação de Cr no branco.

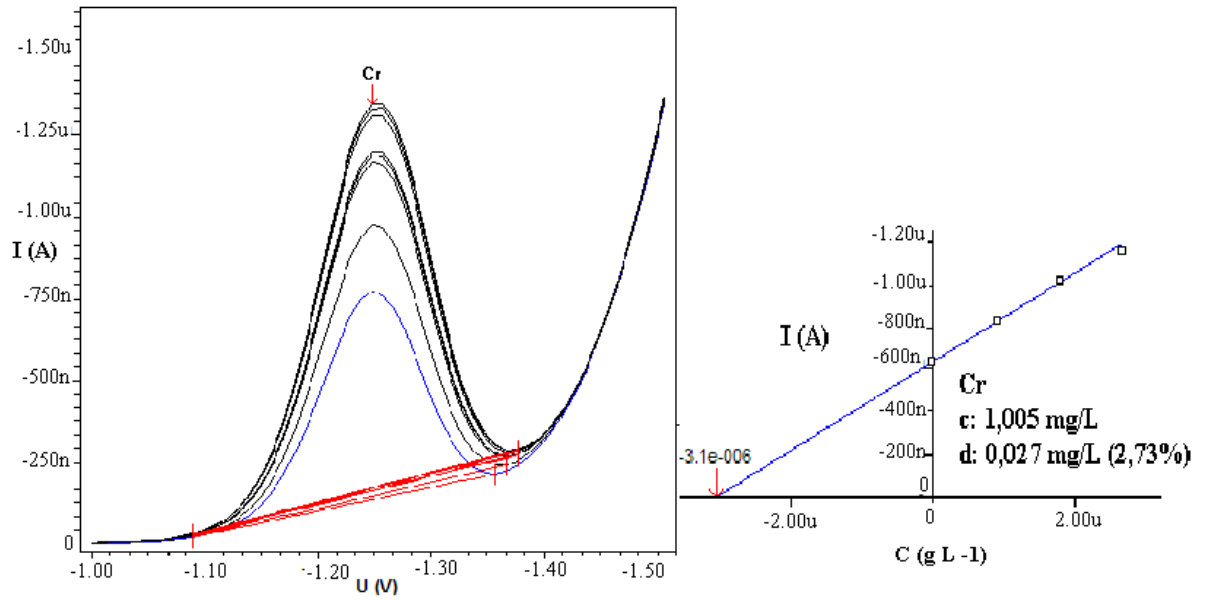


Figura 39: Voltamograma e curva de adiao para a recuperaao de Cr (VI) 1,0 mg L⁻¹ nas plantas.

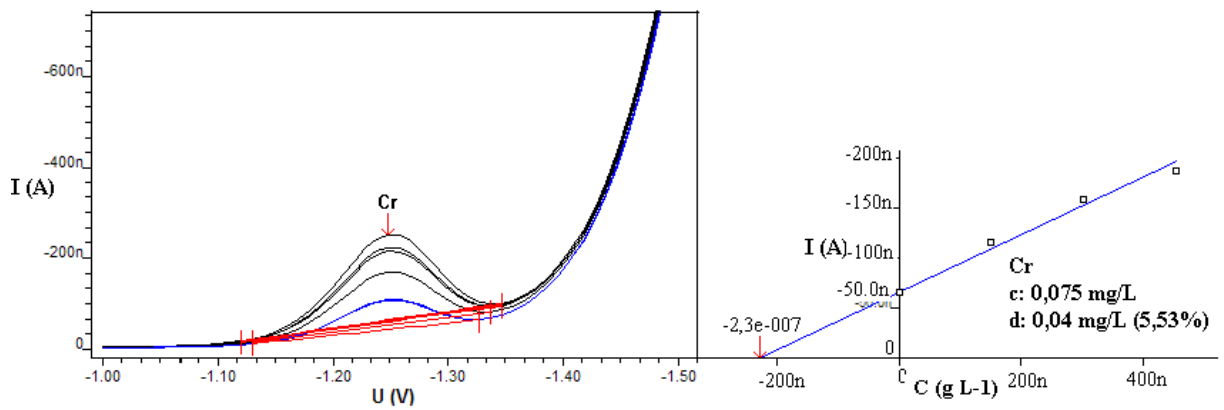


Figura 40: Voltamograma e curva de adiao para quantificaao de Cr (VI) nas plantas.

Tabela 09: Estudo da adição e recuperação de Cr em plantas por voltametria.

Matriz	mg L ⁻¹
Cr determinado na amostra	0,07
Cr adicionado na amostra	1,00
Cr determinado na amostra dopada	1,00
Recuperação	94,00%

5.3.4. Estudo de adição e recuperação de Cr em peixes

Também foi feito o estudo de recuperação de crômio em amostras de peixes. A Figura 41 mostra o voltamograma e curva de adição de padrão para a quantificação do Cr no “branco digerido”. No peixe foi realizada a adição de padrão do Cr (VI) 0,1 mg L⁻¹, antes da digestão ácida. As Figuras 42 e 43 apresentam os resultados deste estudo.

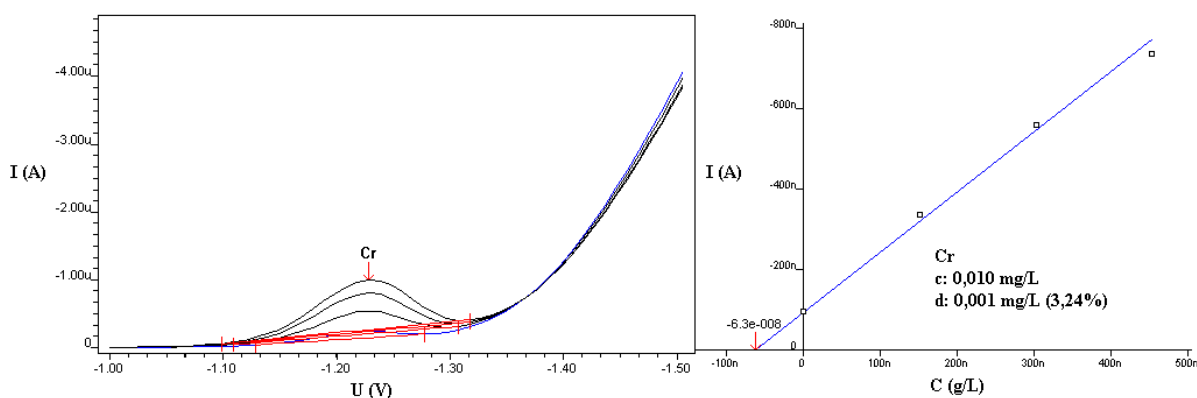


Figura 41: Voltamograma e curva de adição para quantificação de Cr no branco digerido.

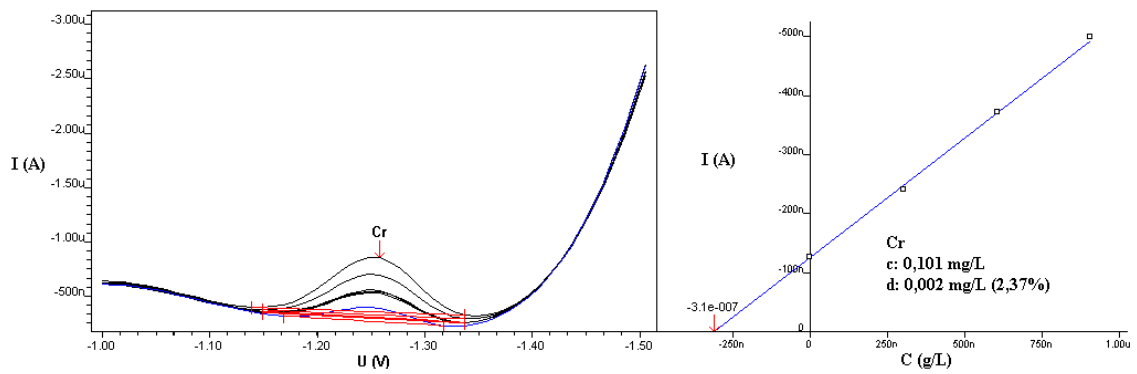


Figura 42: Voltamograma e curva de adição da medida de recuperação do Cr adicionado no fígado.

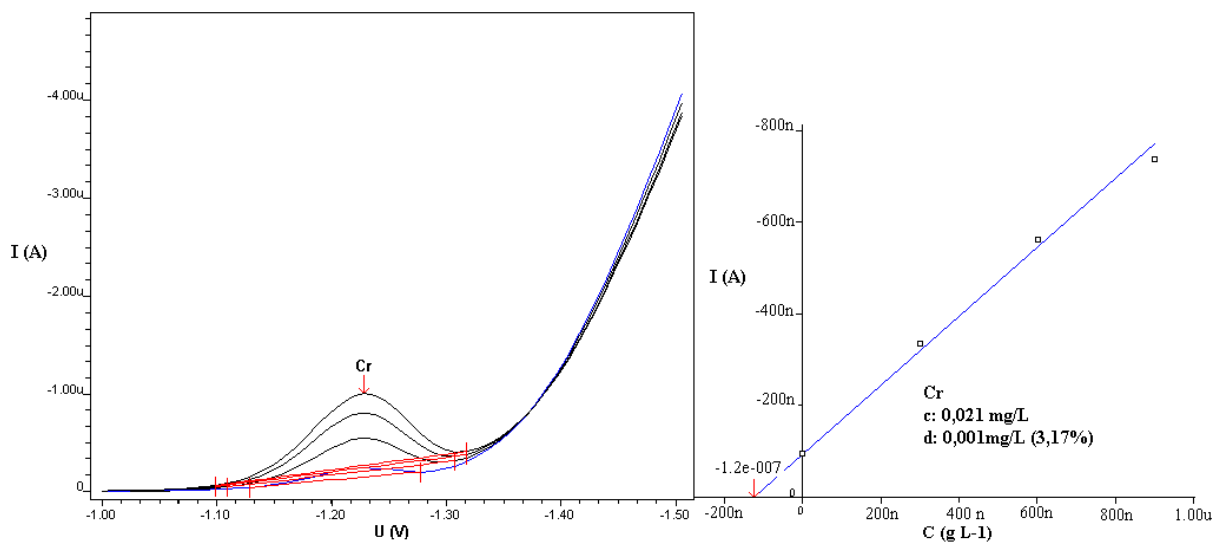


Figura 43: Voltamograma e curva de adição para quantificação de Cr em amostra de fígado.

O mesmo procedimento foi realizado com uma porção de músculo da mesma amostra. A Figuras 44 e 45 apresentam o voltamograma e a curva de adição para amostras de músculo de peixe dopada e sem a dopagem de Cr (VI) $0,1 \text{ mg L}^{-1}$.

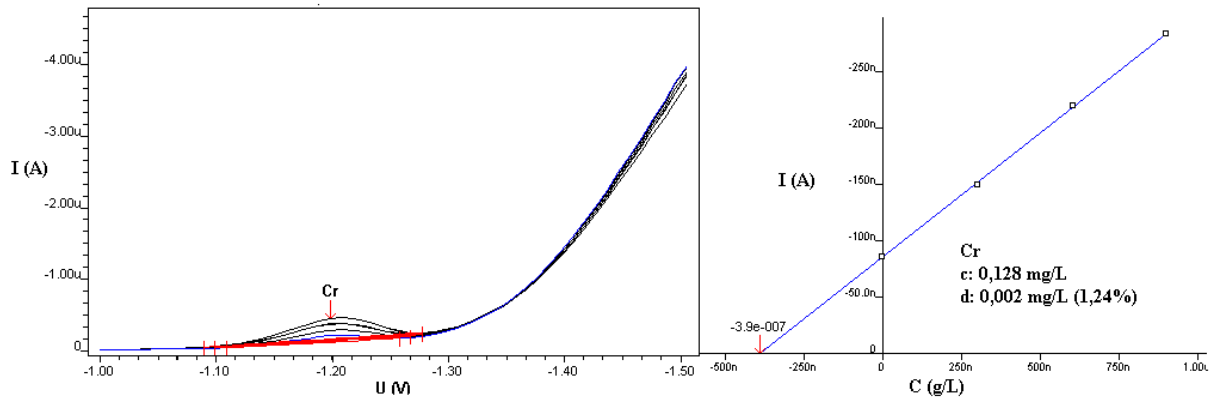


Figura 44: Voltamograma e curva de adição para recuperação do Cr adicionado no músculo ($0,1 \text{ mg L}^{-1}$).

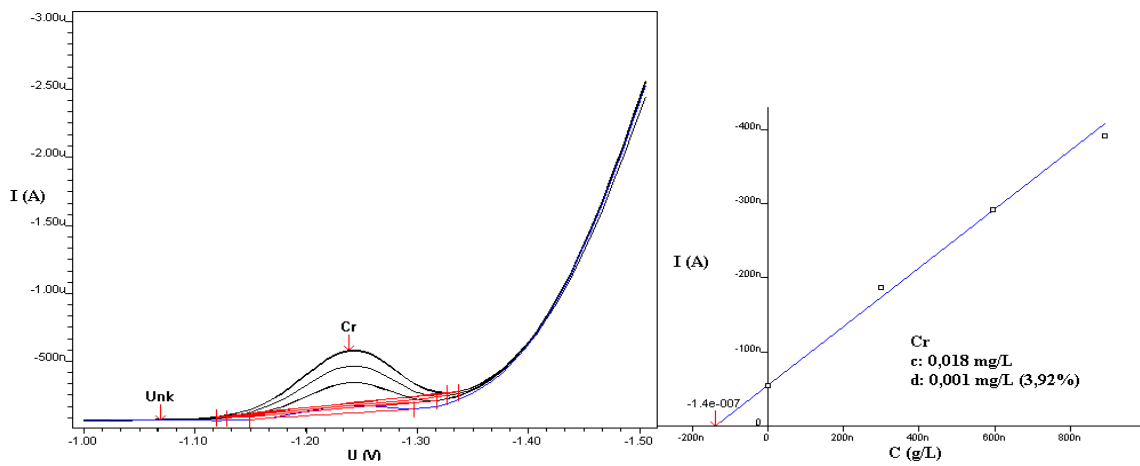


Figura 45: Voltamograma e curva de adição para quantificação do Cr no músculo.

O resultado deste estudo apresentado na Tabela 10 mostra que 83,00 % do Cr (VI) adicionado na amostra de fígado e 109,00 % do Cr (VI) adicionado no músculo do peixe foram recuperados após a digestão ácida .

Tabela 10: Estudo da adição e recuperação de Cr em peixes por voltametria.

Matriz	Músculo (mg L⁻¹)	Fígado (mg L⁻¹)
Cr na amostra	0,01	0,02
Cr adicionado na amostra	0,10	0,10
Cr determinado na amostra dopada	0,12	0,10
Recuperação	109,00%	83,00%

5.4. Quantificação de Cr e Pb em plantas e peixes.

Após a otimização e validação dos métodos analíticos propostos partiu-se para a quantificação de Pb e Cr em amostras reais. Muitos alimentos apresentam Cr em baixas concentrações. Entre os alimentos mais ricos em Cr estão os peixes, lagosta e o frango. No Brasil, o limite máximo de Cr e Pb permitido por lei para alimentos está regulamentado desde 1965 por meio do Decreto Lei 55.871/65 e pelo Ministério da Saúde (Portaria 685-980) e são apresentadas na Tabela 11. São valores relativamente baixos devido ao alto grau de toxicidade desses elementos (BRASIL, 1998). Resíduos industriais contendo alta concentração de íons metálicos como o crômio e chumbo, possuem potencial tóxico. Como estes metais são bioacumulativos, há uma crescente exigência por parte da sociedade e de órgãos públicos no sentido de diminuir este tipo de contaminação a índices toleráveis pelos organismos (CARNIZELLO et al.,2008).

Tabela 11: Concentrações máximas de Cr e Pb permitido pela legislação brasileira.

Metal	Legislação Brasileira (µg g⁻¹)
Cr total	0,10
Pb	2,0

Os limites de detecção estabelecidos para esses procedimentos analíticos foram de 0,01 µg L⁻¹ para o Pb e de 0,03 µg L⁻¹ para o Cr.

Foram coletadas oito plantas, incluindo uma do ambiente não poluído. A Tabela 12 mostra as quantidades de Pb e Cr obtidos nas análises das plantas. Notou-se que os valores encontrados para as espécies pteridófitas encontram-se acima dos valores normalmente

encontrados em literatura específica para plantas ($2,5 \mu\text{g g}^{-1}$ de Pb) (WHO, 1996). A planta B apresentou a maior concentração de Pb, enquanto as plantas E e G apresentaram maiores quantidades de Cr, comprovando que essas amostras são as que possuem maior contaminação. A amostra H, referente ao Salto São Francisco apresentou o menor teor por tratar-se de um local isento de contaminação.

Tabela 12: Determinação de Pb e Cr em plantas por voltametria.

Planta	Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Cr ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Pteridófito A	$4,81 \pm 0,10$	$0,71 \pm 0,01$
Pteridófito B	$24,20 \pm 0,40$	$3,06 \pm 0,27$
Pteridófito C	$8,94 \pm 0,30$	$1,43 \pm 0,26$
Briófito D	$8,72 \pm 0,77$	$1,74 \pm 0,23$
Briófito E	$4,33 \pm 0,89$	$24,07 \pm 0,25$
Briófito F	$6,93 \pm 0,14$	$1,97 \pm 0,03$
Briófito G	$6,44 \pm 0,11$	$22,29 \pm 2,23$
Briófito H	$2,04 \pm 0,09$	< LD

LD = limite de detecção.

Após todas as determinações de Pb e Cr nas plantas coletadas nos compartimentos estudados, foi realizada uma comparação dos resultados obtidos com os demonstrados pela literatura. A Tabela 13 apresenta os valores para comparação.

Tabela 13: Comparação dos resultados obtidos neste trabalho com informações citadas em literatura específica.

Amostra	Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Cr ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Referência
Plantas (Briófitas e pteridófitas)	2,04 a 24,20	< LD a 24,07	Este trabalho
Plantas (macrófitas)	-	0,23 – 23,9	REIMER & DUTHIE, 1993
Plantas (Populus Alba)	21,00	-	DOMÍNGUEZ et al., 2008
Plantas (Phragmites australis)	-	10,00 - 40,00	BRAGATO et al., 2009
Plantas (macrófitas)	2,82 - 19,80	1,34 - 4,38	MAZEJ & GERM, 2009
Plantas (Myriophyllum spicatum/ Ruppia marítima)	3,12	-	STAVROS et al., 2008

Comparando-se os valores obtidos neste trabalho com os valores encontrados na literatura de ambientes contaminados, as plantas estudadas, em geral, apresentam um caráter acumulador de metais.

Para as amostras de peixes analisadas, a Tabela 14 apresenta os resultados obtidos. Foram avaliadas 13 amostras, sendo distribuídas da seguinte maneira: sete peixes da espécie tilápia, cinco carpas e um peixe da espécie bagre. Foi verificado que os teores de Cr e Pb estão mais concentrados nos tecidos do fígado do que no músculo, estes resultados estão de acordo com a literatura, pois este órgão apresenta um poder acumulativo maior. As amostras Tilápia 6 e 7 e a Carpa 4 e 5 foram coletadas de um ambiente não contaminado em uma área rural do município de Pitanga-PR.

Verificando os resultados obtidos com a quantificação, o peixe que apresentou maior concentração de Cr no fígado foi a Carpa 3 ($15,902 \mu\text{g g}^{-1}$) e para o Pb, foi a Tilápia 1 ($34,30 \mu\text{g g}^{-1}$). Nos músculos, o Cr foi de $1,30 \mu\text{g g}^{-1}$ na Tilápia 4 e o Pb foi de $2,56 \mu\text{g g}^{-1}$ na Carpa 3. Notou-se que os valores determinados de Cr nos peixes encontram-se acima dos valores

permitidos ($1,00 \mu\text{g Cr}_{\text{total}} \text{g}^{-1}$) nas amostras Tilápia 3, Tilápia 4 (para o músculo), Tilápia 1, Tilápia 3, Tilápia 4, Tilápia 5, Carpa 3 e Bagre (fígado).

Para o Pb as amostras que apresentaram-se acima da legislação foram a Tilápia 1, Carpa 1 e Carpa 3 para a porção da musculatura e as amostras de Tilápia (1, 2, 3, 4 e 5), Bagre e Carpas (1, 2 e 3) para o fígado.

Tabela 14: Determinação de Cr e Pb em amostras de peixes por voltametria ($\mu\text{g g}^{-1}$).

Amostra	Massa (g)	Comp. (cm)	Cr Músculo	Cr Fígado	Pb Músculo	Pb Fígado
Tilápia 01	348,19	13,45	$0,79 \pm 0,01$	$1,84 \pm 0,50$	$2,17 \pm 0,03$	$34,30 \pm 1,90$
Tilápia 02	333,50	14,02	$0,33 \pm 0,01$	$0,89 \pm 0,13$	$1,51 \pm 0,30$	$8,75 \pm 0,55$
Tilápia 03	138,95	19,50	$1,12 \pm 0,07$	$1,86 \pm 0,11$	$1,00 \pm 0,20$	$10,01 \pm 0,40$
Tilápia 04	64,00	16,20	$1,30 \pm 0,16$	$2,21 \pm 0,18$	$1,91 \pm 0,12$	$4,08 \pm 0,06$
Tilápia 05	60,00	16,80	$0,22 \pm 0,05$	$3,49 \pm 0,40$	$0,35 \pm 0,02$	$2,32 \pm 0,10$
Tilápia 06	160,00	20,00	< LD	< LD	$0,04 \pm 0,03$	$0,76 \pm 0,05$
Tilápia 07	138,00	24,00	$0,05 \pm 0,04$	$0,54 \pm 0,03$	$0,33 \pm 0,03$	$1,00 \pm 0,04$
Carpa 01	60,00	16,80	$0,10 \pm 0,02$	$0,45 \pm 0,19$	$2,09 \pm 0,10$	$6,51 \pm 0,90$
Carpa 02	142,00	22,90	$0,18 \pm 0,01$	$0,98 \pm 0,03$	$1,25 \pm 0,10$	$7,81 \pm 0,20$
Carpa 03	122,83	20,00	$0,16 \pm 0,03$	$15,90 \pm 0,30$	$2,56 \pm 0,10$	$5,18 \pm 0,70$
Carpa 04	248,00	25,00	< LD	< LD	< LD	$0,84 \pm 0,04$
Carpa 05	236,00	24,00	$0,03 \pm 0,03$	$0,32 \pm 0,06$	$0,36 \pm 0,07$	$1,35 \pm 0,04$
Bagre	50,00	18,30	$0,57 \pm 0,09$	$1,35 \pm 0,20$	$1,67 \pm 0,07$	$5,55 \pm 0,08$

LD = limite de detecção.

Foi realizado um estudo na Represa da Billings (ROCHA, 1985) em São Paulo para evidenciar as concentrações de poluentes considerados críticos para o pescado, destinado a alimentação, enfatizando a qualidade sanitária da água e a contaminação dos peixes. Com base nos dados foi mostrado o perigo potencial que representa o consumo do pescado proveniente da Billings. As concentrações de metais analisados na Represa foram efetuadas através de determinações em espectrômetro de absorção atômica. A variação na quantificação de cromo total foi de $< 0,18$ a $98,2 \text{ mg g}^{-1}$ nas vísceras e de $< 0,10$ a $0,54 \text{ mg g}^{-1}$ na musculatura. O valor mais elevado registrado foi nas vísceras de *Tilapia rendalli*, que

ultrapassou cerca de mil vezes o limite de $0,1 \text{ mg g}^{-1}$ estabelecido para "outros alimentos", pela legislação nacional. No presente trabalho, conforme Tabela 14, algumas amostras do músculo de tilápia ultrapassaram os valores encontrados na Represa da Billings.

Na Tabela 15, os intervalos de concentrações (em $\mu\text{g g}^{-1}$) de Cr e Pb obtidos neste trabalho para as amostras de peixes são comparados com os resultados divulgados na literatura para amostras similares. Embora exista certa variação com relação aos níveis de metais pesados entre os diferentes organismos aquáticos listados na Tabela 15, pode-se observar que, de uma maneira geral, os resultados deste trabalho estão em razoável acordo com a maioria dos dados divulgados por outros pesquisadores.

Tabela 15: Comparação dos resultados obtidos neste trabalho com informações citadas em literatura específica.

Amostra	Pb ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Cr ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Referência
Músculo	2,54 a 0,04	1,30 a 0,03	Este trabalho
Fígado	34,3 a 0,76	15,9 a 0,32	
Músculo	< 0,05 a 0,55	< 0,01 a 2,60	VASQUEZ & VIRENDER, 2001
Músculo	0,30 a 0,61	-	KUZNETSOVA et al., 2002
pele	0,16–0,08		
brânquias	0,19 a 1,2		
Brânquias	0,40 a 0,53	0,42 a 0,49	DIMARI & HATI, 2009
estômago	0,35 a 0,40	0,20 a 0,23	
intestino	0,12 a 0,31	0,15 a 0,19	
fígado	0,32 a 0,40	0,19 a 0,26	
Músculo	2,05 a 2,98	1,02 a 1,65	BEGUM, 2009
brânquias	2,67 a 7,3	2,25 a 6,91	
rim	6,22 a 8,97	2,24 a 2,85	
fígado	7,1 a 9,45	2,45 a 3,65	
Músculo	0,20 a 5,81	0,11 a 0,42	ANDREJI et al., 2005
Peixe	0,53	0,38	ASHVAF, 2006
Peixe	1,45 a 2,82	-	WILLIAMS et al., 2007
Brânquias, fígado, rim e músculo	1400 a 2000	0,79 a 1,08	VINODHINI & NARAYANAN, 2008
Músculo	1,03	1,28	YILMAZ, 2003
pele	4,78	10,90	
gônadas	8,41	10,60	
Peixe	2,8	1,6	MENDIL & ULUOZLU, 2007

5.5. Estudo quimiométrico

A análise dos componentes principais (ACP) foi aplicada aos dados experimentais auto-escalados dos teores de íons metálicos quantificados nos bioindicadores para verificar as possíveis semelhanças e diferenças entre as amostras e sua correlação entre as variáveis. O estudo quimiométrico foi dividido em duas partes, a primeira envolveu a análise de componentes principais dos resultados obtidos com as plantas e a segunda análise fez-se orientada aos resultados obtidos com as amostras de fígado e músculo.

A Figura 46 representa a ACP para as amostras de plantas, a componente principal 1 explicou 59,54% e a componente principal 2 40,46%, totalizando 100% da amostragem. Na Figura 46 (A) o eixo positivo de x é referente à variável Pb e o eixo negativo de x para a variável Cr. Observou-se, portanto, que as amostras que possuem maior concentração de Pb agruparam-se no quadrante positivo de x e y, e os maiores teores de Cr no quadrante negativo de x e positivo de y. As plantas B, E e G apresentaram os maiores valores de Cr e Pb, pois estão situadas no quadrante positivo do fator 2 (Figura 46 B). As demais plantas estão localizadas no quadrante negativo de y (fator 2). Como previsto, a planta B.H (planta do Salto São Francisco), foi a que mais se distanciou das amostras contaminadas.

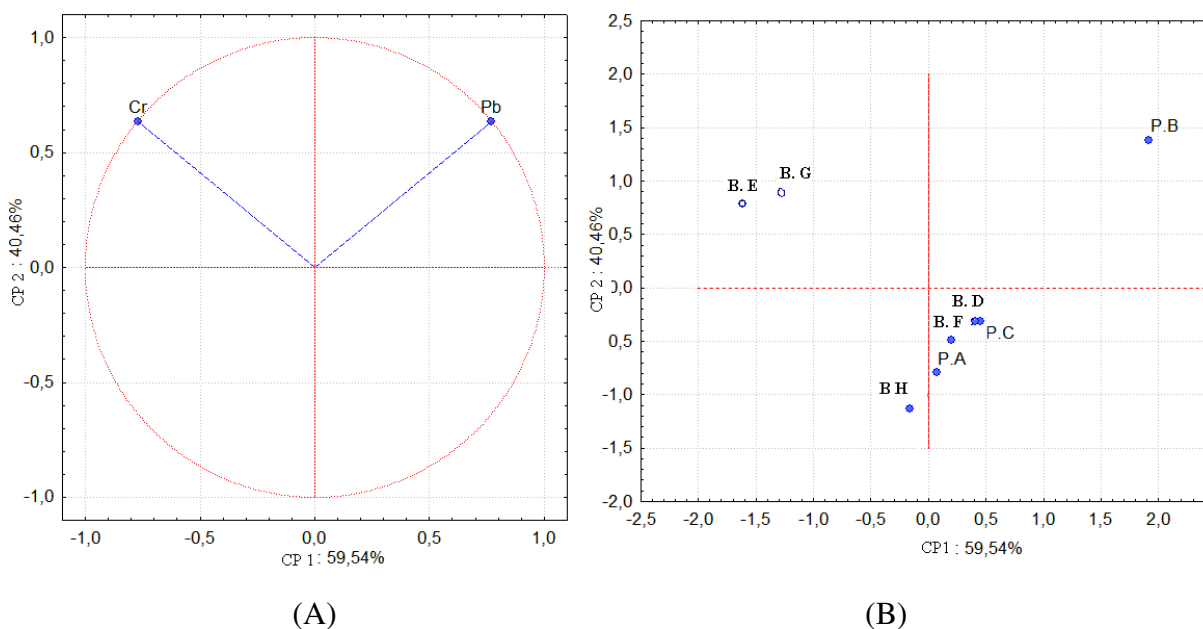


Figura 46: Escores (A) e Pesos (B) da primeira e segunda componentes principais para as amostras das plantas briófitas (BD, BE, BF, BG, BH) e pterodófitas (PA, PB e PC).

Para as amostras de fígado e de musculatura dos peixes analisados, também foi construído uma ACP. A Figura 47 ilustra os pesos da 1ª e 2ª componentes em relação às variáveis. A primeira componente principal mostra que a variável comprimento está inversamente correlacionada com as demais variáveis (Fig. 47 A), enquanto que a segunda componente principal correlaciona diretamente a massa das amostras com o teor de Pb no fígado (Fig. 47 B) e inversamente com o comprimento e as demais concentrações. A Figura 48 representa os escores (A) e os pesos (B) da 1ª e 2ª componentes principais para as amostras dos peixes. Na Figura 48 (A) a CP 1 explicou 44,01% e a CP 2 24,81%, totalizando 68,82% da amostragem. O eixo positivo de x (pela a CP 1) é referente à variável comprimento dos peixes e o eixo negativo de x para as demais variáveis. Observou-se, portanto, que as amostras que possuem maior concentração de Cr, tanto no músculo como no fígado e o Pb no músculo estão no eixo negativo de x, mostrando que a concentração é inversamente proporcional ao comprimento dos peixes. Segundo LIANG et al., (1999), o acúmulo é inversamente proporcional ao tamanho do peixe. A energia metabólica é o fator determinante do acúmulo ao comprimento do animal correlacionada à velocidade de seqüestração e eliminação. Portanto, peixes menores apresentariam uma velocidade de absorção maior dos metais e se concentrariam nas vísceras. Apenas a variável Pb no fígado localizou-se no mesmo quadrante que a variável da massa das amostras (eixo negativo de x e positivo de y) indicando que quanto maior a massa de fígado maior o acúmulo de Pb.

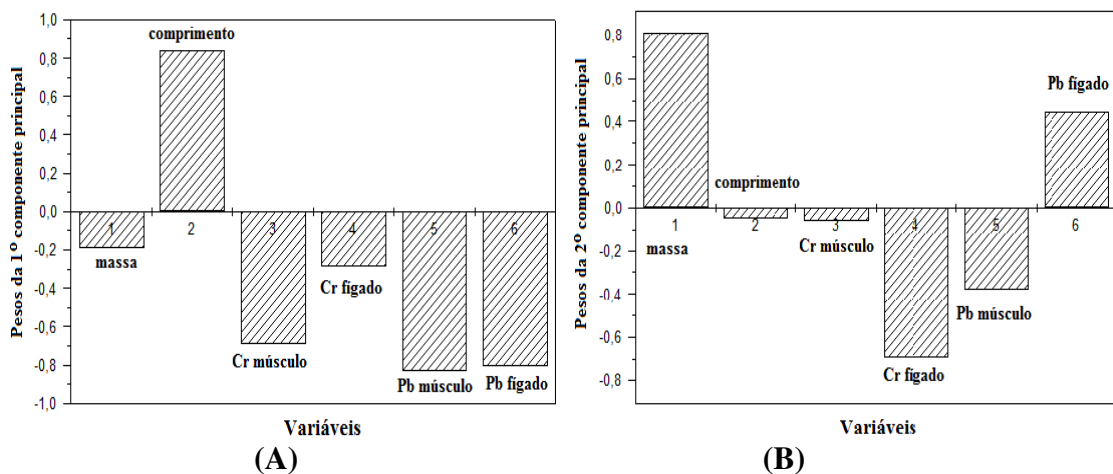


Figura 47: Pesos da primeira (A) e segunda (B) componentes principais nas amostras de peixes.

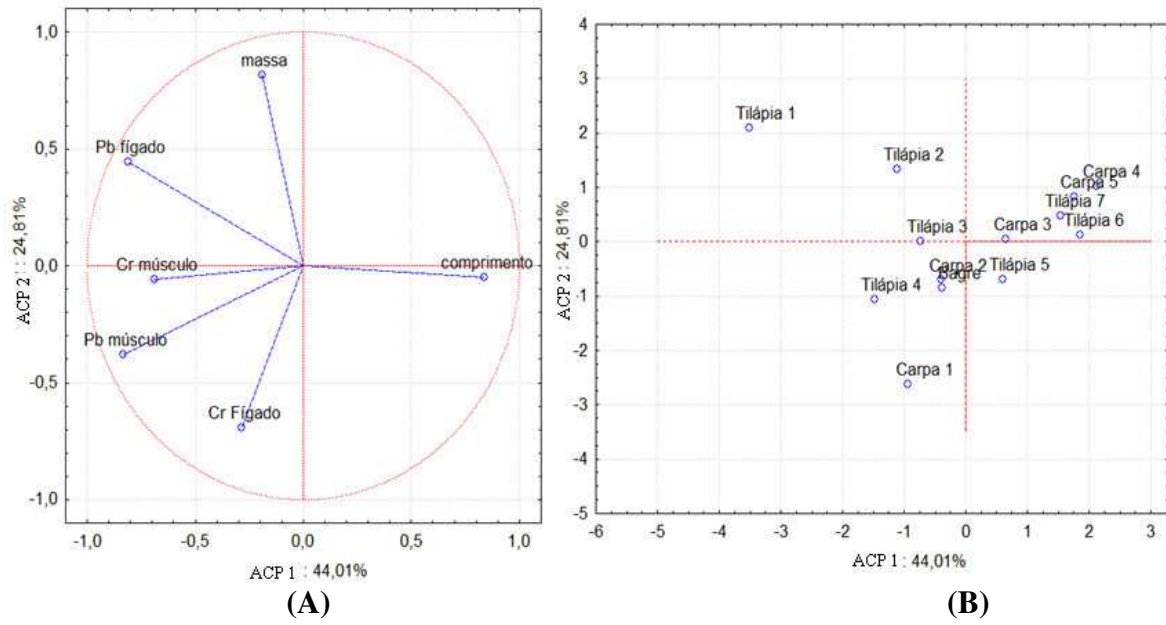


Figura 48: Escores (A) e Pesos (B) da primeira e segunda componentes principais para as amostras de peixes.

6. CONCLUSÕES

Com os experimentos realizados para a otimização do método de preparo das amostras e dos parâmetros analíticos avaliados, como o tempo de deposição, tempo de incremento da voltagem, tempo de purga, estudo da velocidade de varredura e estudo do pH de reação, foi possível quantificar Cr em todas as amostras de interesse. De todos os parâmetros avaliados na determinação de Cr nos bioindicadores, verificou-se que o fator mais importante e crucial para a obtenção de uma boa repetibilidade de sinais e recuperação do íon metálico nas amostras foi a ordem da adição dos reagentes na cela voltamétrica. O pH reacional deve ser controlado desde o início do processo das medidas voltamétricas. Com relação as medidas de Pb, a adição de tampão na cela voltamétrica se faz necessária devido a elevada acidez das amostras analisadas.

Com os métodos otimizados, os mesmos mostraram-se eficientes através da adição e recuperação dos íons metálicos em amostras reais. Com isso foi possível realizar as quantificações dos metais nas amostras biológicas e avaliar os ambientes aquáticos para detecção de fontes de poluição antrópicas através da análise dos bioindicadores.

O estudo forneceu informações sobre as concentrações de metais pesados em peixes e plantas de diferentes espécies. Com base na amostras coletadas, e reconhecendo a limitação do tamanho das amostras, as concentrações de metais, encontrada em algumas amostras de músculos comestíveis, de fígado e das plantas, estão acima do limite legal. No entanto, os fígados de peixes nem sempre são consumidos pela população. A determinação de íons metálicos em peixes e plantas, pode representar bons biomonitores de metais presentes no ambiente circundante.

Comparando-se as amostras de peixes e plantas do ambiente isento de contaminação antropogênica com as do ambiente avaliado, concluiu-se que os bioindicadores estão com concentrações de Cr e Pb muito acima do nível basal natural, indicando que o córrego e o tanque de peixes, previamente avaliados como contaminado por Pereira et al., estão poluídos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR); Case Studies in Environmental Medicine - Lead Toxicity, Public Health Service – US Department of Health and Human Services: Atlanta, 1992.

AKSOY, A.; ÖZTÜRKM, A. Nerium oleander L. as a biomonitor of lead and other heavy metal pollution in Mediterranean environmen. Sci. Total Environ. 205 p.145-150, 1997.

ALDRICH, A. P.; van der BERG, C. M. G. Determination of iron and its redox speciation in seawater using catalytic cathodic stripping voltammetry. Electroanal. V.10. p. 369-373, 1998.

ALEIXO, M. Luiz, Voltametria: conceitos e técnicas. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química S.P. C.P. 6154, 2003 Disponível em: <http://www.chemkeys.com>. Acesso em 13/05/2007.

ALONSO, E.; SANTOS, A.; CALLEJÓN, M. JIMÉNEZ, J. C. Speciation as a screening tool for the determination of heavy metal surface water pollution in the Guadiamar river basin. Chemosphere, 56:561-570, 2004.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária; Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003.

ANDREJI, J.; STRÁNAI, I.; MASSANYI, P.; VALENT, M. Concentration of selected metals in muscle of various fish species. Journal of environmental science and health Part A.v.40, n.4, p.899-912, 2005.

ANJOS, V., E. Especificação de cobre e arsênio no complexo estuarino da Baía de Paranaguá. 2006. p.175. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal do Paraná. Curitiba, PR.

ASHVAF, W. Levels of selected heavy metals in Tuna fish. *The Arabian Journal for Science and Engineering*, v. 31, n.1A, 2006.

ATKINS, P.; JONES, L. *Princípios de química: questionando a vida moderna e o meio ambiente*. Porto Alegre: Bookman, 912p. 2001.

BARBEIRA, P. J. S.; STRADIOTTO, N. R. Simultaneous determination of trace amounts of zinc, lead and copper in rum by anodic stripping voltammetry. *Talanta*. v.44. p. 185-188. 1997.

BEGUM, A.; HARIKRISHNA, S.; KHAN I.; Analysis of Heavy metals in Water, Sediments and Fish samples of Madivala Lakes of Bangalore, Karnataka. *International Journal of ChemTech Research*. v.1, n.2, p 245-249, 2009.

BENITE, A.M.C.; MACHADO, S.P.; BARREIRA, E.J. Uma visão da química bioinorgânica medicinal. *Química Nova*, v.30, n.8, p.2062-2067, 2007.

BENTO, F. R. Utilização de técnicas eletroquímicas para a determinação de Cu, Cr e As em madeira de eucalipto preservada com produtos hidrossolúveis. 2004. p.135. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Paraná. Curitiba, PR.

BERG, R. G.; MURTA, A. L. M.; KUGLER, W.; O método das adições padrões aplicado à análise cromatográfica quantitativa de fenóis em águas residuais. *Química Nova*. v.11. n.3 p.288-290, 1988.

BLAEDEL, W.J.; MELOCHE, V. W.; *Elementary quantitative analysis*. 2ed. New York. Harper e How. 964p. 1963.

BOUSSEMART, M.; van der BERG, C. M. G.; GHADDAF, M. The determination of the chromium speciation in sea water using catalytic cathodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta* v. 262. p. 103-115, 1992.

BRAGATO, C.; SCHIAVON, M.; POLESE, R.; ERTANI, A.; PITTARELLO, M.; MALAGOLI, M. Seasonal variations of Cu, Zn, Ni and Cr concentration in *Phragmites australis* (Cav.) Trin ex steudel in a constructed wetland of North Italy. *Desalination* 246 P.35–44, 2009.

BRASIL, Portaria nº. 685/98. Aprova o Regulamento Técnico: “Princípios Gerais para o Estabelecimento de Níveis Máximos de Contaminantes Químicos em Alimentos” Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=90>>. Acesso em: março 2003.

BRETT, C. M. A.; BRETT, A. M. O.; SERRANO, S. H. P.; *J.Electroanal. Chem.*, 366, 225, 1994.

CAMPOS, M. L.; BENDO, A.; VIEL, F. C. Métodos de baixo custo para purificação de reagentes e controle da contaminação para a determinação de metais traços em águas naturais. *Química Nova*, v. 25 n.5, p. 808-813, 2002.

CARNIZELLO, P. A. et al., Síntese do nanocomposto takovita-sílica e sua utilização como adsorvente de íons crômio e chumbo de efluentes industriais. 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química – SBQ.

CEHN. Children’s Environmental Health Network. Training Manual on Pediatric Environmental Health: Putting in into Practice. National Multidisciplinary Project, 1999. Disponível em <http://www.cehn.org/trainingmanual/manual-form.html>. Acesso em 20/07/2007.

CHIANG, L.; JAMES, B. D.; MAGEE, R.J.; Adsorptive stripping voltammetry of some trace-elements in biological samples: nickel, arsenic, aluminum and selenium. *Microchim. Acta*. v.2. p.149-156, 1989.

COLLADO-SÁNCHEZ, C.; PENA-PÉREZ, J.; GELADO-CABALERRO, M. D.; HERRERA-MELIAN, J. A.; HERNANDEZ-BRITO, J.J.; Rapid determination of copper,

lead and cadmium in unpurged seawater by adsorptive stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*. v.320. p.19-30, 1996.

COSTA, J. R., A., Padronização de metodologias para o uso de biomarcadores de contaminação ambiental em traíra (*Hoplias malabaricus*, Erythrinidae). □- Alad, metalotioneína e vitelogenina. 2006. P.132. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) Universidade Federal do Paraná. Curitiba, PR.

DALMAN,O; Bulut,V.N; DEGIRMENCIOGLU, I; TUFEKÇI, M. Preconcentration of Trace Elements on Amberlite XAD-4 Resin Functionalised with 1,2-bis(o-aminophenylthio) Ethane and Their Determination by FAAS in Environmental Samples. *Turk J Chem.*, 31, p.631-646, 2007.

DELVALLS T.A.; FORJA J.M.; GONZÁLEZ-MAZO, E.; GÓMEZ-PARRA, A.; Blasco J. *Trends Anal. Chem.* 1998, 17, 181.

DENILSON, R.; SILBERGELD, E. Risk of municipal solid waste incineration an environmental prespective. *Risk Analysis*. V.8, n.3, p. 343-355, 1998.

DIMARI, G.; HATI, S. S. AInteraction profile for As, Cd, Cr and Pb in tissues of fishes (*Tilapia gallier*, *Clarias lazera* and *Heterotis niloticus*). *Scientific Research and Essay*. v.4 n 9, p. 894-899, 2009.

DOMÍNGUEZ, M. T.; MARANÓN, T.; MURILLO, J. M.; SCHULIN, R.; BRETT, R.H.; Trace element accumulation in woody plants of the Guadamar Valley, SW Spain: A large-scale phytomanagement case study. *Environmental Pollution*, v.152, p.50-59, 2008.

DOMÍNGUEZ, O., ARCOS, M. J. Simultaneous determination of chromium (VI) and chromium (III) at trace levels by adsorptive stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*. v 470 p. 241-252. 2002.

ESSER, H. O. A review of the correlation between physicochemical properties and bioaccumulation. *Pesticide Sciences*, v.17, p. 265-276. 1986.

ESTEVEES, F. A. Fundamentos de Limnologia. In: ESTEVEES, F. A. Elementos-traço. 2. ed. Rio de Janeiro: Interciência, p. 285-299, 1998.

FERREIRA, M. E. et al. Micronutrientes e elementos tóxicos na agricultura. Jaboticabal: CNPq/FaPESP/POTAFOS, 2001.

GONÇALVES, E .P. R.; SOARES, H. M. V. M.; BOAVENTURA, R. A. R., MACHADO, A. A. S. C. Seasonal variations of heavy metals in sediments and aquatic mosses from the Cávado river basin (Portugal). *The Science of The Total Environment*. v.142, p.143-156, 1994.

GOOGLE EARTH. Disponível em :<<http://earth.google.com/intl/pt/>> Acesso em: 25/08/2008.

GUIMARÃES, V.; SÍGOLO, J. B. Detecção de contaminantes em espécie bioindicadora (*Corbicula flumínea*) – Rio Ribeira de Iguape – SP. *Química Nova*. v.31. n.7 p.1696-1698, 2008.

HARRIS, D.C. *Análise Química Quantitativa*. LTC, 876p. 2005.

INSTITUTO DE CATALISIS Y PETROLEOQUIMICA (ICP) DEL CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS (CSIC). Catalizadores para La protección Ambiental. Disponível em: <<http://www.icp.csic.es/cyted/Monografias/MonografiasTeneria/capituloI.pdf>>. Acesso em: 10 out. 2006.

KABATA- PENDIAS, A.; PENDIA, H. Trace elements in soils and plants BocaRaton. CRC Puss, Inc. p.51-68, 1984.

KERBUY, G. B. *Fisiologia vegetal*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

KOROLCZUK, M. Voltammetric determination of Cr(VI) in natural water in the presence of bipyridine following its deposition to the metallic state. *Electroanal.* v.11. p. 1218-1221. 1999.

KOROLEZUK, M. How faster and cheaper to determine chromium by adsorptive cathodic stripping voltammetry in the presence of DTPA and nitrate. *Fresenius J. Anal. Chem.* 367:761. 2000.

KUZNETSOVA, A.I.; ZARUBINA, O. V.; LEONOVA, G. A. Comparison Of Zn, Cu, Pb, Ni, Cr, Sn, Mo Concentrations In Tissues Of Fish (Roach And Perch) From Lake Baikal And Bratsk Reservoir, Russia. *Environmental Geochemistry and Health* v.24 p. 205–213, 2002.

LARINI, L. L.; J.S. SALGADO, P.E.T. Metais. In: LARINI, L. *Toxicologia*. Sao Paulo: Manole Ltda, p.130-131, 1993.

LEE, J.D. *Química Inorgânica Não Tão Concisa*. São Paulo. E: Blücher, 527p. 1999.

LEEUWEN, H. P.; TOWN, R. M.; BUFFLE, J.; CLEVEN, R. F. M. J.; DAVISON, W.; PUY J.; van RIEMSDIJK, W. H.; SIGG, L. Dynamic speciation analysis and bioavailability of metals in aquatic systems, *Environmental Science & Technology*, v.39(22) p.8545-8556, 2005.

LI, Y, XUE, H. Determination of Cr III and Cr VI species in natural waters by catalytic cathodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, v.448, p.121-134, 2001.

LIANG, Y.; CHEWNG R. Y. H.; WONG, M. H. Reclamation of wastewater for polyculture of freshwater fish: bioaculation of trace metals in fish wat. *Res.* v. 33, n. 11, p. 2690-2700, 1999.

MARAGNO, A. L. F. C.; POVINELLI, J. Solubilização de cromo presente em matrizes confeccionadas como lodo de curtume e cimento. In: 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, João Pessoa, 2001.

MAZEJ, Z.; GERM, M. Trace element accumulation and distribution in four aquatic macrophytes. *Chemosphere* v.74 p.642–647, 2009.

MENDIL, D.; ULUOZLU D. Özgür. Determination of trace metal levels in sediment and five fish species from lakes in Tokat, Turkey. *Food Chemistry*. v. 1, n.2, p.739-745, 2007.

MOREIRA, F.; MOREIRA, J. C. A IMPORTÂNCIA DA ANÁLISE DE ESPECIAÇÃO DO CHUMBO EM PLASMA PARA A AVALIAÇÃO DOS RISCOS À SAÚDE. *Química Nova*, v. 27, n.2, p.251-260, 2004

NIMIS, P. L.; FUMAGALLI F.; BIZZOTTO A., CODOGNO M.; SKERT N. Bryophytes as indicators of trace metal pollution in the River Brenta (NE Italy). *The Science of The Total Environment*. v. 286, p.233-242, 2002.

NNAJI, J. C.; UZAIRU, A. HARRISON, G. E. S.; BALARALE, M. L. Evaluation of cadmium, chromium, copper, lead and Zinc concentrations in the fish head/viscera of *Oreochromis niloticus* and *synodontis schall* of River Galma, Zaria, Nigeria. *Electronic journal of Environmental, Agricultural and food Chemistry*. v.6 (10), p.2420-242, 2007.

OHWEILER, O. A.; *Química Inorgânica*, Ed. Blucher: São Paulo, v.1, 1971.

PAQUIN, P.R.; SANTORE, R.C.; WU, K.B.; KAVVADAS, C. D.; DI TORO, D.M. The biotic ligand model : a model of the acute toxicity of metals to aquatic life. *Environmental Science & Policy*, v.3, p.175-182, 2000.

PEREIRA, C. D.; TECHY, J. G.; QUINÁIA, S. P.; GANZAROLLI, M. E.; On-line preconcentration system employing C18-bonded sílica Minicolumn for chromium (III) and

chromium (VI) speciation by flame atomic absorption spectrometry . Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy. V.53. n.6. p.275-281, 2009.

PEREIRA, C.D., QUINÁIA, S.P. Estudo do coeficiente de distribuição do Cr em águas naturais. *Ambiência*, V. 3, nº 1, Jan./Abr. 2007.

PRESTES; E. C., QUINÁIA, S. P., GRASSI, M. T. Estimativa da carga dos metais Cu, Cd e Pb para a Bacia do Rio Bacacheri, em Curitiba (PR), a partir da drenagem urbana. In: 1º Simpósio de Recursos Hídricos do Sul - I Simpósio de Águas da AUGM, 2005.

PEREIRA, C. J.; DA SILVA, A.C.; PEREIRA, J.L.; BRUNE, W. Contaminação por crômio de águas de rios proveniente de curtumes em Minas Gerais. *Química Nova*, v.22, n.1, p.47-52, jan/fev, 1999.

QUINÁIA, S.P. Atomização eletrotérmica de crômio em forno de grafite: um estudo crítico de fatores determinantes do desempenho analítico.1999. 98p. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos,SP.

RAJESHWAR, K.; IBANEZ, J. *Environmental Electrochemistry*. San Diego, California. Academia Press, 1996.

RAMOS, M. G. M. Determinação dos teores de metais pesados em plantas típicas dos mangues do Rio Cubatão, SP. 2005. p. 39. Dissertação (Mestrado em Saúde Coletiva) Universidade Católica de Santos. Santos, SP.

REIMER, P.; DUTHIE, H. C. Concentrations of zinc and chromium in aquatic macrophytes from the sudbury and muskoka regions of Ontario, Canada. *Environmental Pollution*, v. 79,p. 261-265, 1993.

REMIÃO, F. FACULDADE DE FARMACIA DA UNIVERSIDADE DO PORTO. Toxicologia – Monografias. Disponível em:

<<http://www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0405/cromio/Toxicologia.htm>>. Acesso em: 12/03/2009.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H. JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Química Nova*, v. 27. n.5. p. 771-780, 2004.

ROCHA, A.A. et al. Produtos de Pesca e Contaminantes Químicos na Água da Represa Billings, São Paulo. (Brasil). *Ver. Saúde Públ. SP* 19 p.401-410, 1985.

RODRIGUES, L. N.C. Análise de Cefaclor em formulações farmacêuticas e urina humana através de polarografia de pulso diferencial e voltametria de redissolução catódica. 1998. p.160. Dissertação de Mestrado (Instituto de Química de Araraquara – Universidade Estadual Paulista) Araraquara, SP.

SARYAN, L. A.; ZENZ, C.; *Occupational Medicine*, 3rd ed., Mosby – Year Book: St. Louis, cap. 38, 1994.

MISIEGO, A. S.; CARRA, R. M. G. M.; CARRACEDO, P. A.; TORRE, M. E. M. Determination of Cr (in small quantities) by adsorptive stripping voltammetry: a comparative study of square wave versus differential pulse. *Anal Bional. Chem.* v.376 p. 1119-1125, 2003.

SEGURA, M. Susana. Impacto Ambiental na Área do Aterro Sanitário e Incinerador de Resíduos Sólidos de Ribeirão Preto, SP: Avaliação dos níveis de metais pesados. 2002. p.131. Tese de Doutorado - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP.

SHEMIRANI, F., RAJABI, M., ASGHARI, A., MILANI-HOSSEINI, M. R. Simultaneous Determination of Traces of Cadmium and Zinc by Adsorptive Stripping Voltammetry. *Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy*, v. 50, n. 4, 2005.

SILVA V. L. Determinação estrutural de complexos Cd, Cu, Pb e Zn-DTPA: MS, infravermelho, RMN13C e investigação teórica (DFT). 2007. 53p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Lavras, MG.

SILVA, S. C. Ecotoxicologia do cromo e seus compostos. Série Cadernos de Referência Ambiental, v.05. p.100. Salvador, Bahia, 2001.

SKOOG, A. D.; HOLLER, F.J.; NIEMAN, T. A.; Princípios de Análise Instrumental. 5ed., Porto Alegre, Bookman, 2002.

SODRÉ, F. F.; ZAMORA-PERALTA, P. G.; GRASSI, M. T. Digestão fotoquímica, assistida por microondas, de águas naturais: aplicação em estudos de partição e especiação do cobre. Química Nova, v.27 p.695-700, 2004.

SOUZA, D. MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: Aspectos teóricos. Química Nova, v.26, n.1 p.81-89, 2003.

SNYDER, L. R. ; KIRKLAND, J. J.; GLAJCH, J. L.; Practical HPLC Method Development, 2a ed., Wiley: New York, 1997.

SPERANDIO, M. Luciane. Manejo nutricional e alimentar para peixes em tanques – redes. Associação Brasileira de Piscicultores e Pesqueiros – ABRAPPESQ, 2001. Disponível em: <http://www.abrappesq.com.br/material3.htm>. Acesso em 25/09/09.

STAVROS, H. W.; BONDE, R. K.; FAIR, P. A. Concentrations of trace elements in blood and skin of Florida manatees (*Trichechus manatus latirostris*). Marine Pollution Bulletin. v. 56 p.1215–123, 2008.

Supra Regional ASSAY – Service. Disponível em: http://www.sas-centre.org/assays/trace_metals/lead. Acesso em 18/08/2009.

TORRANCE, K.; GATFORD, C. Determination of soluble chromium in simulated PWR coolant by differential-pulse adsorptive stripping voltammetry. *Talanta*. v. 34 p. 939-944, 1987.

TSALEV, D. L.; ZAPRIANOV, Z. K. Atomic absorption spectrometry in occupational and environmental health practice. Boca Raton: CRC Press, v.1 p.117-121, 1983.

U.S.EPA, Method 1669, sampling ambient water for determination of trace metals at EPA. Water quality Criteria level. Office of Science and Technology Eng. And. Analysis. Division Washington, D.C.1996.

U.S.EPA. Methods for Collection, Storage and Manipulation of Sediments for Chemical and Toxicological Analyses: Technical Manual. EPA 823-B-01-002. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, DC. 2001.

VASQUEZ G. Felipe; VIRENDER K. Sharma. Metals In Fish Tissue From The Laguna De Pom-Atasta Of Campeche, Mexico. *Texas Journal of Science*, The, 2001.

VIDOTTI, E. C.; ROLLEMBERG, M. C. Algas: da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e a química analítica. *Química Nova*, v. 27, n.1, p. 139-145, 2004.

VIGHI, M. Lead uptake and release in a experimental trophic chain. *Ecotoxicology and environmental safety*. v.5, p.177-93. 1981.

VINODHINI, R.; NARAYANAN, M. Bioaccumulation of heavy metals in organs of fresh water fish *Cyprinus carpio* (Common carp). *Int. J. Environ. Sci. Tech.*, v.5 n.2. p.179-182, 2008.

VIRGA, R.H. P.; GERALDO, L. P.; SANTOS, F. H. Avaliação de contaminação por metais pesados em amostras de siris azuis. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* v.27(4). p. 787-792, out.-dez. 2007.

WANG. J. *Anal. Electrochem*. VCH publishers: New York, 1994.

WEN, B.; SHAN, X.; LIAN, J. Separation of Cr(III) and Cr(VI) in river and reservoir with 8-hydroxyquinoline immobilized polyacrylonitrile fiber for determination by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Talanta*, v.56, p.681-687, 2002.

WHO. World Health Organization. Trace Elements in human nutrition and Health. Geneva. 1996.

WILLIAMS, A.B.; AYEJUYO, O.O.; ADEKOYA. Trends in trace metal burdens in sediment, fish species and filtered water of Igbede River, Lagos, Nigeria. *Journal of Applied Sciences*, v.7 n.13 p.1821-1823, 2007.

WOLD, S.; ESBENSEN, K. GELADI, K. Principal Component Analysis. *Chemometr. Intell. Lab. v.2 p.37*, 1987.

YILMAZ, B. Ayse. Levels of heavy metals (Fe, Cu, Ni, Cr, Pb, and Zn) in tissue of Mugil cephalus and Trachurus mediterraneus from Iskenderun Bay, Turkey. *Environmental Research*. v. 92, n.3, p.277-281, 2003.

ZHANG, Z.Q.; CHEN, S. Z.; LIN, H. L.; ZHANG, H. Simultaneous determination of copper, nickel, lead, cobalt and cadmium by adsorptive voltammetry. *Analytica Chimica Acta*. v.272. p. 227-232, 1993.