

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA SUL-RIO-GRANDENSE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E
CIÊNCIAS AMBIENTAIS
MESTRADO EM ENGENHARIA E CIÊNCIAS AMBIENTAIS**

JÚLIA ARDUIM

**OTIMIZAÇÃO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE
HIDROCARBONETOS EM SEDIMENTOS LAGUNARES**

**Pelotas
2019**

JÚLIA ARDUIM

**OTIMIZAÇÃO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE
HIDROCARBONETOS EM SEDIMENTOS LAGUNARES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências Ambientais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense, como requisito para obtenção do Título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Pedro José Sanches Filho

**Pelotas
2019**

Ficha Catalográfica

A677o Arduim, Julia.

Otimização de metodologia para determinação de hidrocarbonetos em sedimentos lagunares./ por Julia Arduim. – 2019.

66 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Pedro José Sanches Filho.

Dissertação (mestrado) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências Ambientais, Mestrado em Engenharia e Ciências Ambientais, Pelotas, 2019.

1. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. 2. Química orgânica. 3. n-alcanos. 4. Ultrassom. I. Sanches Filho, Pedro José. II. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense – IFSul. III. Título.

CDD 547

Catálogo na publicação:

Bibliotecária Camila Quaresma Martins CRB 10/1790
Biblioteca IFSul - Câmpus Pelotas

JÚLIA ARDUIM

**OTIMIZAÇÃO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE
HIDROCARBONETOS EM SEDIMENTOS LAGUNARES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências Ambientais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense, como requisito para obtenção do Título de Mestre.

Dissertação defendida e aprovada em 29 de julho de 2019.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Pedro José Sanches Filho - Orientador
IFSul – Câmpus Pelotas

Prof. Dr. Charles Soares Huber
IFSul – Câmpus Pelotas

Prof^a. Dr^a. Nadja Dias da Costa
IFSul – Câmpus Pelotas

Prof^a. Dr^a. Laiza Canielas Krause
UNIT

RESUMO

Os hidrocarbonetos são listados como alguns dos principais contaminantes ambientais nos dias de hoje. Essas substâncias são formadas naturalmente ou através da combustão incompleta de matéria orgânica e são considerados indicadores geoquímicos em relação aos níveis e fontes de contaminação em ambientes hídricos. Por este motivo existem metodologias padronizadas para a determinação destes contaminantes em sedimentos e, entre as mais utilizadas, pode-se listar o método de extração por soxhlet e o método de extração sob ultrassom, padronizadas pela *United States Environmental Protection Agency* (USEPA), porém ambos os métodos de extração apresentam desvantagens em sua utilização. Neste estudo, foi desenvolvida uma metodologia para a extração, pré concentração e *clean up* de hidrocarbonetos presentes em sedimento, combinando etapas de extração por solvente sob ultrassom e em soxhlet, seguidas por fracionamento em coluna líquida preparativa e os extratos analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. Para otimização do método, utilizou-se um planejamento experimental 2^2 com ponto central avaliando os tempos de pré sonificação e extração com soxhlet. O método que apresentou os melhores resultados, combinou 15 minutos de ultrassom e 4 horas de soxhlet, com recuperações médias de 107,8% para HPAs deuterados e 116,4% para o hexadeceno, gerando uma redução de tempo e volume de solventes e um método reproduzível ($RSD\% < 20\%$), rápido e de baixo custo. Foram observadas linearidades para n-alcenos e HPAs de 0,982–0,995 e 0,991–0,999, respectivamente. Os limites de detecção para n-alcenos variaram de 0,02 a 0,28 mg kg⁻¹ e para HPAs de 0,004 a 0,067 µg kg⁻¹. A metodologia desenvolvida para análise de amostras foi aplicada a amostras da Lagoa Mirim, que é um dos principais corpos hídricos da região Sul do Brasil e possui grande importância para agricultura, indústria e pecuária. As concentrações de HPAs e n-alcenos encontrados, indicaram baixos níveis de contaminação a partir de fontes biogênicas, pirolíticas e petrogênicas.

Palavras-Chave: HPAs, n-alcenos, soxhlet, ultrassom, preparo de amostra.

ABSTRACT

Hydrocarbons are listed as some of the major environmental contaminants today, are formed naturally or through the incomplete combustion of organic matter and are considered geochemical indicators in relation to levels and sources of contamination in water environments. For this reason, there are standardized methodologies for the determination of these contaminants in sediments, among the most used, we can list the method of extraction by soxhlet and the method of extraction under ultrasound, standardized by the United States Environmental Protection Agency (USEPA), but the two methods of extraction have disadvantages in their use. In this study, a methodology was developed for the extraction, preconcentration and clean up of hydrocarbons present in sediment, combining solvent extraction steps under ultrasound and soxhlet, followed by preparative liquid column fractionation and the extracts analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry. For optimization, a 2² experimental design with central point evaluating the times of pre-sonification and soxhlet extraction was used. The method that presented the best results, combined 15 minutes of ultrasound and 4 hours of soxhlet, with average recoveries of 107.8% for deuterated PAHs (polycyclic aromatic hydrocarbons) and 116.4% for hexadecene, producing a reduction of time and volume of solvents, generating a reproducible method (RSD% < 20%), fast and inexpensive. Linearities were observed for n-alkanes and HPAs of 0.982-0.995 and 0.991-0.999, respectively. Limits of detection for n-alkanes ranged from 0.02 a 0.28 mg kg⁻¹ and for PAHs from 0.004 a 0.067 µg kg⁻¹. The methodology was applied to samples of Mirim Lagoon, which is one of the main water bodies in the southern region of Brazil and is of great importance for agriculture, industry and livestock. PAHs and n-alkane levels indicated low levels of contamination and sources of biogenic, pyrolytic and petrogenic origin.

Keywords: PAHs, AHs, n-alkanes, soxhlet, ultrasound, sample preparation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Exemplo de cromatogramas de hidrocarbonetos alifáticos de diferentes sedimentos (a)(b). A linha tracejada indica a presença de MCNR.....	4
Figura 2 – Exemplificação da estruturação química dos hidrocarbonetos n-alcenos, compostos por carbono e hidrogênio, cadeia linear e saturada.....	5
Figura 3 – Estrutura molecular dos 16 HPAs prioritários que constam na lista de indicadores de contaminação segundo a USEPA.....	7
Figura 4 – Crescimento e implosão de bolha em um líquido irradiado com Ultrassom.....	13
Figura 5 – Mapa representativo da Bacia Hidrográfica da Lagoa Mirim e da Lagoa Mirim.....	16

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Indicadores usados para determinar a origem dos n-alcenos em sedimentos.....	6
Tabela 2: Propriedades físico-químicas de 16 HPAs prioritários.....	8
Tabela 3: Principais razões diagnósticas com seus limites de identificação das fontes de HPAs.....	9
Tabela 4: Valores orientados de HPAs em sedimentos fornecidos pela NOAA, CEQG e pela resolução CONAMA 454/2012 em ng g ⁻¹	10

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ace - Acenafteno	IP – Indeno(1,2,3-c,d)Pireno
Acl - Acenaftileno	IPC - Índice de Preferência de Carbono
An - Antraceno	Kow - Coeficiente de partição octanol/água
BaA - Benzo(a)antraceno	LD – Limite de detecção
BaP - Benzo(a)pireno	LQ – Limite de quantificação
BbF - Benzo(b)fluoranteno	Naf - Naftaleno
BghiP - Benzo(ghi)perileno	ND – Não detectável
BkF - Benzo(k)fluoranteno	NOAA - <i>National Oceanic and Atmospheric Administration</i>
BPM/APM - Baixo peso molecular/alto peso molecular	MCNR - Mistura complexa não resolvida
BHPA/AHPA – Baixo peso molecular	MO – Matéria orgânica
HPA/alto peso molecular HPA	PEL – <i>Probable effects level</i>
CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente	PM - Peso molecular
Cri - Criseno	Pir - Pireno
D - Detectado	PV - Pressão do vapor
DahA - Dibenzo(a,h)antraceno	R ² - coeficiente de correlação linear
DCM - Diclorometano	RSD - Desvio padrão relativo
EU - <i>European Union</i>	RTA - Razão entre o material terrígeno e aquático
ER – Erro relativo	S - Solubilidade
ERL- <i>Effective range-low</i>	TEL – <i>threshold effects level</i>
ERM - <i>Effective range medium</i>	USASE – <i>Ultrasound Assisted Soxhlet Extraction</i> (Extração por soxhlet assistida por ultrassom)
Fen - Fenantreno	USEPA - <i>United States Environmental Protection Agency</i> (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos)
Fl - Fluoreno	ΣHPAs - Somatório de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
Flu - Fluoranteno	Σ n-alcanos – Somatório de hidrocarbonetos n-alcanos
GC/MS - Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas	
HAs – Hidrocarbonetos alifáticos	
HPAs - Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos	

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1 Hidrocarbonetos.....	3
2.1.1 Hidrocarbonetos Alifáticos.....	3
2.1.2 Hidrocarbonetos n-alcenos.....	5
2.1.3 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos.....	6
2.2 Sedimentos.....	11
2.3 Extração sob Ultrassom.....	12
2.4 Extração Soxhlet.....	14
2.5 Extração Soxhlet Assistida por Ultrassom.....	15
2.6 Área de Estudo.....	15
3 REFERÊNCIAS.....	18
4 PRODUÇÃO CIENTÍFICA OU TECNOLÓGICA.....	22
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	23

1 INTRODUÇÃO

Os hidrocarbonetos estão listados como alguns dos principais contaminantes ambientais atualmente, pois são gerados com facilidade e apresentam grande dispersão (HARTZELL *et al.*, 2018). Dentre eles, os hidrocarbonetos alifáticos (HAs), principalmente os n-alcenos, podem contribuir na identificação da origem da matéria orgânica em ambientes lagunares enquanto os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) apresentam toxicidade aos organismos devido às suas características carcinogênicas e mutagênicas. Uma vez no ambiente hídrico, estes compostos são facilmente adsorvidos ao material em suspensão, em função de suas propriedades hidrofóbicas, acumulando-se junto aos sedimentos de rios, lagos e áreas costeiras marinhas. Ocorrem normalmente em misturas complexas provenientes de fontes biogênicas, diagênicas, petrogênicas e pirolíticas. Sua constituição qualitativa e quantitativa pode apresentar informações sobre o nível de impacto em um ambiente hídrico bem como as possíveis fontes de contaminação (SANCHES FILHO *et al.*, 2017).

Para as análises de hidrocarbonetos em sedimento existem diversos métodos de extração, muitos deles já padronizados pela *United States Environmental Protection Agency* (USEPA). Dentre os mais utilizados, pode-se citar o método de extração por soxhlet (EPA 3540C) e o método de extração sob ultrassom (3550C) (USEPA, 1996; USEPA, 2007). Porém, os dois métodos de extração apresentam desvantagens em sua utilização. O método por soxhlet, exige, para uma extração bem-sucedida, de 12 a 36 horas de funcionamento, ainda necessitando de processos de *clean up*. A extração sob ultrassom ocorre em menor tempo, porém este método utiliza grandes volumes de solventes, o que expõe o analista a riscos de intoxicação pela evaporação do solvente, além de ser agressivo ao meio ambiente, tendo em vista os resíduos gerados a partir do processo de extração (CAVALCANTE *et al.*, 2008).

Atualmente, os equipamentos que combinam a extração soxhlet com banho ou sonda de ultrassom, vem ganhando notoriedade como métodos alternativos aos métodos oficiais, porém estes apresentam como desvantagens um alto investimento, alto custo de manutenção e pouca disponibilidade em laboratórios (LUQUE-GARCIA; DE CASTRO, 2004; DJENNI *et al.*, 2013). O objetivo deste estudo foi otimizar uma metodologia combinando etapas de pré sonificação e extração em

soxhlet, para determinação de hidrocarbonetos (HAs e HPAs) em amostras de sedimento da Lagoa Mirim utilizando equipamentos simples e disponíveis na maioria dos laboratórios, objetivando a redução do tempo de extração e do volume de solvente empregado no processo.

Os objetivos específicos necessários para atingir o objetivo geral foram:

- Otimizar o processo de extração de HPAs e n-alcanos (extração em soxhlet *versus* extrações assistidas por ultrassom);
- Otimizar a metodologia de análise de HPAs e n-alcanos por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas;
- Caracterizar o sedimento através de análises físico-químicas (granulometria, umidade, pH, matéria orgânica);
- Extrair e purificar HPAs e n-alcanos a partir das amostras de sedimentos;
- Identificar e quantificar HPAs e n-alcanos por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Hidrocarbonetos

Os hidrocarbonetos são compostos orgânicos que possuem átomos de hidrogênio e carbono em sua formação, podem apresentar ligações simples, duplas ou triplas e formam estruturas lineares, ramificadas ou cíclicas. Estes compostos estão presentes na matéria orgânica de origem animal e vegetal e representam grande parte da composição do petróleo e seus derivados, portanto podem ser introduzidos em corpos hídricos e, especialmente, em sedimentos oriundos de diversas fontes e processos (VIEIRA-CAMPOS, 2017).

Os tipos de hidrocarbonetos encontrados nos sedimentos e suas fontes são: os petrogênicos, que são caracterizados pela introdução direta do óleo bruto ou seus derivados; pirolíticos, que ocorrem através da combustão incompleta da matéria orgânica; os hidrocarbonetos biossintéticos são produzidos através de organismos marinhos e/ou terrestres, além destes, são conhecidos também, os hidrocarbonetos provenientes dos processos diagênicos, formados por diversos processos físico-químicos que atuam no sedimento modificando sua matéria orgânica (FRENA *et al.*, 2017; HASSAN *et al.*, 2018).

Devido ao potencial tóxico e a facilidade de formação observados em diversos hidrocarbonetos, sua análise é de extrema importância em programas de monitoramento de agências ambientais. Os hidrocarbonetos são divididos em dois grandes grupos: os hidrocarbonetos alifáticos e os hidrocarbonetos aromáticos (USEPA, 1993; USEPA, 1995).

2.1.1 Hidrocarbonetos Alifáticos

Os hidrocarbonetos alifáticos (HAs) constituem uma classe de compostos orgânicos de baixa toxicidade, pouco reativos, com baixa polaridade e que compõem 80% do petróleo. Podem apresentar ligações saturadas, insaturadas e ramificações, além de não possuírem anéis benzênicos. São divididos em 5 grupos: alcanos de cadeia linear (n-alcanos), alcenos que possuem ligações duplas entre dois átomos

de carbono, alcinos com ligações triplas, alcanos ramificados e alcanos cíclicos ou ciclo-alcanos. Os HAs que compõem produtos petrolíferos e que estão associados a contaminação crônica em um ambiente, possuem uma distribuição de carbonos ímpares e pares aproximadamente iguais e geralmente estão acompanhados de uma mistura complexa não resolvida (MCNR), formadas por hidrocarbonetos cíclicos e ramificados, que não podem ser separados durante a análise por cromatografia gasosa monodimensional resultando na elevação da linha base, como exemplificado na Figura 1 (KILLOPS e KILLOPS, 2005; ABBASIAN *et al.*, 2015).

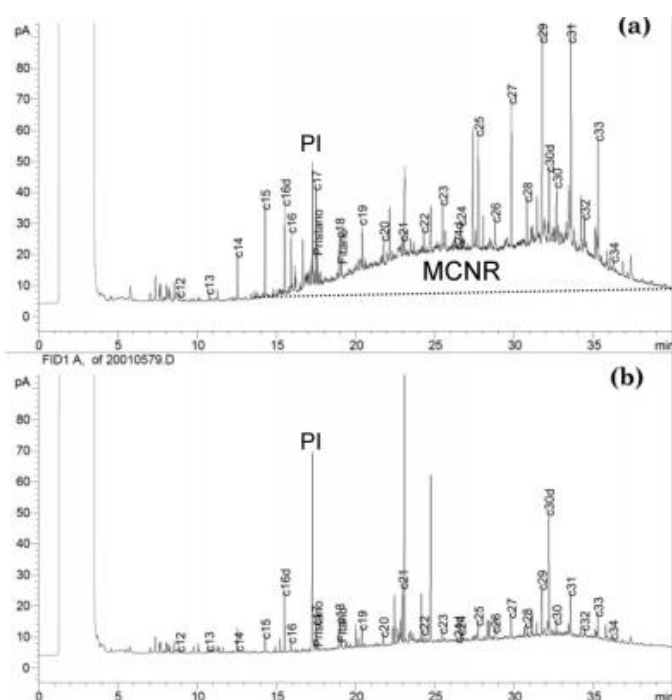


Figura 1: Exemplo de cromatogramas de hidrocarbonetos alifáticos de diferentes sedimentos (a)(b). A linha tracejada indica a presença de MCNR.

Fonte: Adaptado de Carreira *et al.* (2009).

2.1.2 Hidrocarbonetos n-alcanos

Os n-alcanos são uma família de hidrocarbonetos alifáticos com cadeia linear e saturada, composta por carbono e hidrogênio, como representado na Figura 2, são apolares e bastante estáveis, de modo que podem ser facilmente quantificados. Eles podem ser classificados através de seu peso molecular, em quatro grupos: alcanos gasosos, peso molecular baixo (C8-C16), peso molecular médio (C17-C28) e peso molecular alto (>C28). A volatilização destes compostos é inversamente proporcional

ao seu peso molecular, isto é, quanto maior o peso molecular, menor será sua volatilidade. (BET, 2010).

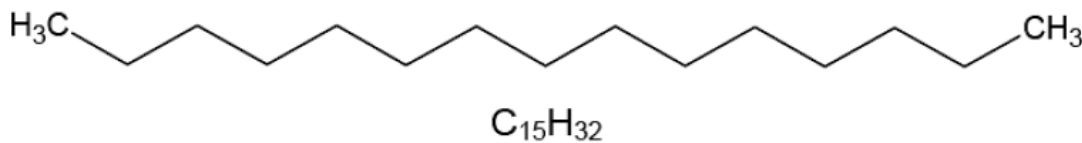


Figura 2: Exemplificação da estrutura química dos hidrocarbonetos n-alcenos, compostos por carbono e hidrogênio, cadeia linear e saturada.

Fonte: Bet, (2010).

A geração destes hidrocarbonetos provém de diversas fontes, entre elas as alóctones, que ocorrem principalmente através de plantas, fitoplânctons e organismos fotossintetizantes e as fontes autóctones que necessitam de organismos como zooplânctons e bactérias (SANCHES FILHO *et al.*, 2013).

Os n-alcenos são amplamente utilizados para a caracterização da matéria orgânica em diversos ecossistemas, de acordo com a fonte de geração destes hidrocarbonetos. Os n-alcenos de cadeia mais curta, com predominância de números ímpares de carbono, tais como C₁₅, C₁₇ e C₁₉ são indicadores de algas e macrófitas aquáticas, enquanto n-alcenos de cadeia longa com um número ímpar de carbonos (C₂₇-C₃₅) são os principais componentes de ceras epicuticulares de plantas terrestres (LIMA *et al.*, 2012; SANCHES FILHO *et al.*, 2013; FRENA *et al.*, 2017).

Devido à grande variedade de processos e fontes que originam estes compostos, pesquisas que envolveram a avaliação de n-alcenos usaram índices e razões para distinguir sua origem e avaliar seus impactos no meio ambiente, alguns destes índices estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Indicadores usados para determinar a origem dos n-alcenos em sedimentos.

Índices	Fórmula	Limites	Referências
Índice de Preferência de Carbono	$\frac{\Sigma \text{concentração dos homólogos ímpares}}{\Sigma \text{concentração dos homólogos pares}}$	~ 1 origem petrogênica >4 origem biogênica	(LOURENÇO <i>et al.</i> , 2007)
Razão Material Terrígeno/Aquático	$\frac{C_{27} + C_{29} + C_{31}}{C_{15} + C_{17} + C_{19}}$	<RTA: introdução aquática >RTA: introdução terrestre	(BOURBONNIERE e MEYERS, 1996)
BPM/APM	$\frac{(C_{13} + C_{14} + C_{15} + C_{16} + C_{17} + C_{18} + C_{19} + C_{20})}{C_{21} + C_{22} + C_{23} + C_{24} + C_{25} + C_{26} + C_{27} + C_{28} + C_{29} + C_{30} + C_{31} + C_{32} + C_{33}}$	≤1, introdução biogênica >1, introdução petrogênica	(SOJINU <i>et al.</i> , 2012)
MCNR/Σn-alcenos	MCNR/ΣN-alcenos	<4 óleo recém introduzido >4 fonte petrogênica >10 contaminação crônica	(SILVA <i>et al.</i> , 2013)

Legenda: BPM/APM: baixo peso molecular/alto peso molecular; MCNR: mistura complexa não resolvida.

Fonte: Adaptado de Sojinu *et al.* (2012).

Além destes compostos, diversos hidrocarbonetos, como asfaltenos e os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, tem se apresentado cronicamente em ambientes aquáticos, devido à grande demanda de produtos e serviços que geram estes e outros contaminantes ambientais (LUZ *et al.*, 2010).

2.1.3 Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) compõem uma família de mais de 100 compostos orgânicos com um ou mais anéis benzênicos condensados e pode ser dividida em duas classes: compostos com baixo peso molecular (Naftaleno, Acenaftileno, Acenafteno, Fluoreno, Fenantreno, e Antraceno) e com alta

massa molecular (Fluoranteno, Pireno, Benzo(a)Antraceno, Criseno, Benzo(b)Fluoranteno, Benzo(k)Fluoranteno, Benzo(a)Pireno, Dibenzo(a,h)Antraceno, Benzo(g,h,i)Perileno, Indeno(1,2,3-cd)Pireno), apresentados na Figura 3 (PIETZSCH *et al.*, 2017).

Os HPAs apresentam um alto grau de toxicidade, carcinogenicidade, teratogenicidade e mutagenicidade, por esta razão, os 16 HPAs apresentados na Figura 3 são listados pela *European Union* (EU) e pela *United States Environmental Protection Agency* (USEPA) como contaminantes prioritários (SUN *et al.*, 2018; TU *et al.*, 2018).

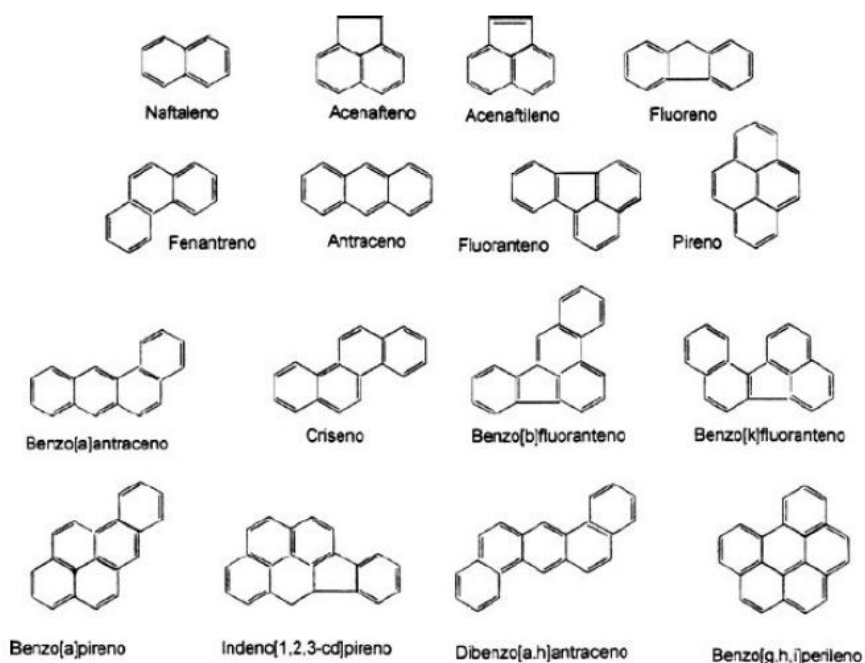


Figura 3: Estrutura molecular dos 16 HPAs prioritários que constam na lista de indicadores de contaminação segundo a USEPA.

Fonte: Pietzsch, (2017).

A hidrossolubilidade destes compostos está diretamente relacionada com sua massa molecular e sua forma estrutural, quanto maior a massa molecular menor será a hidrosolubilidade, possuem um elevado Kow (coeficiente de partição, octanol/água), são estáveis ambientalmente, bioacumuláveis e sua volatilidade diminui com o aumento de seu peso molecular, como visualizado na Tabela 2 (PIETZSCH *et al.*, 2017).

Tabela 2: Propriedades físico-químicas de 16 HPAs prioritários.

HPAs	Sigla	Número de anéis	PM (g.mol ⁻¹)	S (mg.L ⁻¹)	PV (Pa)	Log Kow
Naftaleno	Naf	2	128	31	10,4	3,37
Acenaftileno	Acl	3	150	16,1	0,9	4,00
Acenafteno	Ace	3	154	3,8	0,3	3,92
Fluoreno	Fl	3	166	1,9	0,09	4,18
Fenantreno	Fen	3	178	1,1	0,02	4,57
Antraceno	AN	3	178	0,045	0,001	4,54
Fluoranteno	Flu	4	202	0,26	0,00123	5,22
Pireno	Pir	4	202	0,132	0,0006	5,18
Benzo(a)antraceno	BaA	4	228	0,011	0,011	5,91
Criseno	Cri	4	228			5,86
Benzo(b)fluoranteno	BbF	5	252	0,0015	0,00015	5,80
Benzo(k)fluoranteno	BkF	5	252	0,0008	0,0008	6,00
Benzo(a)pireno	BaP	5	252	0,0038	0,0038	6,04
Benzo(g,h,i)perileno	IP	6	268	0,00026	0,00026	6,50
Dibenzo(a,h)antraceno	DahA	5	278	0,0006	0,0006	6,75
Indeno(1,2,3-cd)pireno	BghiP	6	278			

Legenda: PM: peso molecular; S: solubilidade; PV: pressão do vapor; Kow: coeficiente de partição octanol/água.

Fonte: Adaptado de Pietzsch, (2017).

Esses compostos podem ser resultantes de processos naturais como, erupções vulcânicas e incêndios espontâneos, além de serem formados a partir de atividades antrópicas, tais como, a combustão incompleta da matéria orgânica em altas temperaturas e material fóssil (fonte pirolítica); maturação de matéria orgânica (processo petrogênico) e produto de rápida degradação (processo de diagênese) (HASSAN *et al.*, 2018).

Para diferenciar os HPAs petrogênicos, biogênicos e diagênicos, estudos apresentam diversas proporções de isômeros baseados na relação de concentração dos HPAs, como apresentadas na Tabela 3 (RAMZI *et al.*, 2016; LIN *et al.*, 2018; TU *et al.*, 2018).

Tabela 3: Principais razões diagnósticas com seus limites de identificação das fontes de HPAs.

Razão	Limites	Classificação da fonte
Fen/An	>10 <10	Petrogênica Pirogênica
$An/An + Fen$	<0,1 >0,1	Petrogênica Pirogênica
Flu/Pir	>1 <1	Pirogênica Petrogênica
$Flu/Flu + Pir$	<0,4 0,4-0,5 >0,5	Petrogênica Combustão de combustíveis fósseis Combustão de carvão e madeira
$BaA/BaA + Cri$	0,2-0,35 <0,2 >0,35	Mistura de fonte Petrogênica Emissões veiculares
$IP/IP + BghiP$	<0,2 0,2-0,5 >0,5	Petrogênica Combustão de petróleo Combustão de madeira e carvão
$BaP/BghiP$	<0,6 >0,6	Emissões não-trânsito Emissões veiculares
$\Sigma BHPA/\Sigma AHPA$	<1 >1	Pirogênica Petrogênica

Fonte: Adaptado de Almeida, (2018).

Os HPAs são amplamente associados ao material particulado em fase sólida que se deposita em sedimentos. Uma alta afinidade dos HPAs às partículas de sedimentos pode resultar em uma lenta degradação e persistência a longo prazo. A concentração de HPAs presentes em sedimentos é influenciada pelo teor de matéria orgânica e tamanho de grãos que afetam a absorção desses poluentes na fase sólida (ALMEIDA *et al.*, 2018).

Diversos órgãos governamentais, tais como, USEPA, NOAA e CEQG publicaram diretrizes oficiais para contaminantes tóxicos baseadas em análises de sedimentos, os efeitos biológicos observados foram correlacionados com concentrações moderadas de determinados contaminantes e os limiares de toxicidade foram determinados, como apresentados na Tabela 4.

As principais diretrizes utilizadas para classificação de sedimentos superficiais de água doce, são: *Effective Range-Low* (ERL), que representa a concentração mínima acima da qual efeitos adversos começam a ser observados e *Effective*

Range Medium (ERM), faixa acima da qual os efeitos são geralmente ou sempre observados; *Threshold Effects Level* (TEL), que representa o limiar de concentração abaixo do qual não há risco potencial de efeitos adversos; *Probable Effects Level* (PEL), que representa o nível acima do qual se espera que os efeitos adversos ocorram frequentemente (YANCHESHMEH *et al.*, 2014).

Tabela 4: Valores orientados de HPAs em sedimentos fornecidos pela NOAA, CEQG e pela resolução CONAMA 454/2012 em ng g⁻¹.

HPAs	NOAA CEQG CONAMA 454/2012	
	NÍVEL 1 - TEL	NÍVEL 2 - PEL
Naf	34,6	391,0
Acl	5,8	128,0
Ace	6,7	88,9
Fl	21,2	144,0
Fen	41,9	515,0
AN	46,9	245,0
Flu	111,0	2355,0
Pir	53,0	875,0
BaA	31,7	385,0
Cri	57,1	862,0
BbF	-	-
BkF	-	-
BaP	31,9	782,0
IP	-	-
DahA	6,2	135,0
BghiP	-	-
ΣHPAs	979,8*	-

Legenda: TEL= Nível limite de efeito; PEL= Nível de efeito provável. *CONAMA 454/2012

Fonte: Adaptado de Almeida, (2018).

Estudos vêm sendo realizados considerando as características que facilitam a deposição dos HPAs em sedimentos e seus efeitos nocivos aos ecossistemas aquáticos. Na China, Xiang *et al.* (2018), analisaram e obtiveram resultados para concentração de HPAs em sedimento (67,29–196,99 ng g⁻¹), água-viva (273,79–407,82 ng L⁻¹) e corais (333,88–727,03 ng g⁻¹), confirmando a bioacumulação de HPAs em corais, além de apresentar potenciais perigos a todo ecossistema,

principalmente ao redor destes corais. Em Djibouti na África foram analisados HPAs em sedimentos por Ahmed *et al.* (2017), os resultados obtidos para concentração destes analitos variou entre 2,65 a 3760,11 ng g⁻¹, foi possível verificar uma mistura de fontes, tanto pirolíticas como petrogênicas e o ambiente foi caracterizado com uma contaminação moderada na maioria dos pontos amostrais. El Nemr *et al.* (2016) desenvolveram pesquisas no Egito, avaliando a concentração e fonte de n-alcanos e HPAs em mariscos. A concentração média de n-alcanos foi de 242,2 ng g⁻¹, com a predominância de fonte biogênica e a concentração de HPAs variou de 1,25 a 160,9 ng g⁻¹, de fontes petrogênicas e pirolíticas, caracterizando um ambiente com baixa contaminação.

No Brasil, o estudo de HPAs em sedimentos tem grande importância, pois este país apresenta uma grande variedade de corpos hídricos, que são necessários para seu crescimento econômico e cultural. Foram atualmente realizados trabalhos por Assunção *et al.* (2018), sobre n-alcanos e HPAs em sedimentos de Florianópolis, Santa Catarina, no sul do Brasil e Souza *et al.* (2018), analisaram HPAs em sedimentos do rio Poxim em Aracaju, Sergipe, no nordeste do Brasil, onde todos confirmam a presença e a baixa concentração destes contaminantes no sedimento de suas áreas de estudo.

2.2 Sedimentos

Os sedimentos, são formados a partir do intemperismo e erosão das rochas, fazem parte do ecossistema aquático e são elementos de extrema importância para a conexão entre os elementos bióticos e abióticos, além disso, a concentração de sedimentos suspensos em água desempenha um papel fundamental na qualidade dos corpos hídricos (YANG, *et al.*, 2018).

As partículas que compõem os sedimentos são uma mistura complexa de compostos, como argilas, quartzo, feldspatos, carbonatos, óxidos e hidróxidos de ferro e manganês, nestes sedimentos ocorrem diversos processos químicos, físicos e biológicos que provocam alterações físicas e/ou químicas. Por efeito destes processos, estes ambientes são reconhecidos como reservatórios, transportadores de nutrientes e hidrocarbonetos (PIRES, 2012; LIU *et al.*, 2016).

Os principais processos que controlam o destino dos hidrocarbonetos em meio aquático, são a oxidação fotoquímica, a volatilização, a biodegradação, a

sedimentação e a dissolução. Porém, a adsorção destes contaminantes em sedimentos é controlada pela interação de suas propriedades, tais como, os grupos funcionais anexados a molécula, a acidez ou alcalinidade do sedimento, o tamanho e forma dos compostos superficiais. Devido a afinidade entre suas propriedades, os sedimentos concentram um percentual significativo de matéria orgânica, sendo esta, uma das principais matrizes a qual hidrocarbonetos estão associados. Com isso, hidrocarbonetos de aportes pirogênicos, tendem a sedimentação, devido ao seu maior peso molecular, enquanto os hidrocarbonetos petrogênicos e biogênicos são mais facilmente degradados por microorganismos (PIETZCH, 2017).

Diversos estudos em sedimentos são realizados para avaliar a presença de contaminantes que estão relacionados ao teor de carbono e granulometria desta matriz, tais contaminantes como, metais, organoclorados, hidrocarbonetos alifáticos e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (AHMED *et al.*, 2017; ASSUNÇÃO *et al.*, 2017; QU *et al.*, 2018).

Gu *et al.* (2017), demonstraram que uma variação entre 2,8 - 4,8% no teor de carbono orgânico em sedimentos é suficiente para aumentar significativamente a sorção de HPAs nos sedimentos. O teor de carbono foi correlacionado diretamente com a concentração de HPAs total, antraceno, fenantreno, benzo(a)antraceno e pireno. Neste estudo, baseado nos resultados obtidos, sugeriu-se que a granulometria é um fator de menor influência para a concentração de HPAs.

Em oposição, Hassan *et al.* (2018), em seu estudo sobre HPAs em sedimentos superficiais em ambientes marinhos no Qatar, relata que grãos mais finos, aumentam a área superficial, detêm oxigênio, conservam a matéria orgânica e promovem a adsorção de HPAs. Contudo, afirma que o teor de carbono orgânico total é diretamente relacionado com a concentração de contaminantes lipofílicos em sedimentos marinhos.

A relação entre sedimento e contaminante ambiental tem sido comprovada há muitos anos e necessita de estudos contínuos para que se mantenha acompanhamento e monitoramento destes ambientes, com isso, foram desenvolvidas diversas metodologias de extração padronizadas pela USEPA, que são utilizadas para a análise de contaminantes em sedimentos.

2.3 Extração sob Ultrassom

A extração utilizando os banhos de ultrassom é frequentemente usada para análise de HPAs e n-alcanos em sedimento (BARBOSA *et al.*, 2016; GU *et al.*, 2017; LOURENÇO *et al.*, 2017; SOUZA *et al.*, 2018;). Além de ser uma etapa de extração já padronizada pela EPA 3550C, estudos realizados comprovam que o ultrassom pode ser utilizado como uma etapa de pré tratamento, antecedendo outro método de extração, como apresentado por Pan *et al.* (2013), que analisaram HPAs em solo utilizando o ultrassom como uma etapa de pré extração, juntamente com uma extração em fase sólida.

A eficiência deste método de extração está relacionada com o fenômeno de cavitação, que é a formação e o colapso de microbolhas que absorvem mais energia do ultrassom e implodem, como demonstra a Figura 4. Dentro destas bolhas há uma produção de altas temperaturas e pressão em torno de 5000°C e 1000 atm, respectivamente. Quando a cavitação ocorre em um solvente junto com uma amostra sólida, ocorre a produção de “microjatos” de solvente com alta velocidade ($v > 100\text{m/s}$) responsáveis pela extração e transferência dos analitos da amostra sólida para o solvente. (SUSLICK, 1989; LUQUE-GARCÍA *et al.*, 2003; CHUAH *et al.*, 2017).

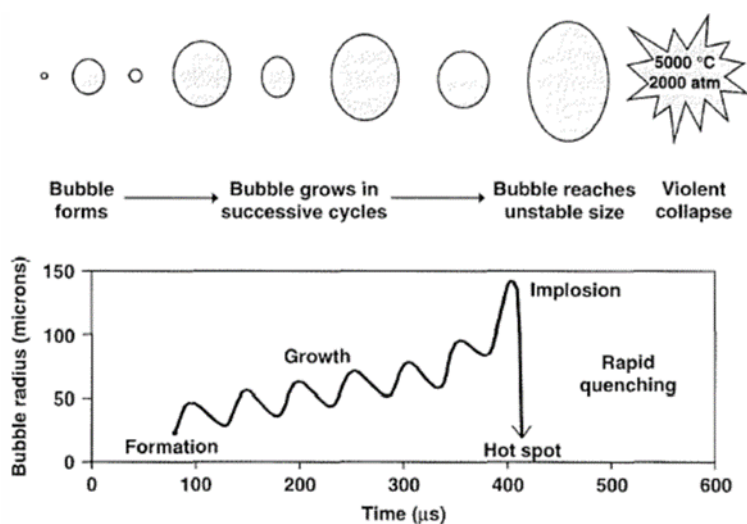


Figura 4: Crescimento e implosão de bolha em um líquido irradiado com ultrassom.

Fonte: Suslick, (1989).

Apesar deste método de extração ser comumente utilizado, apresenta algumas desvantagens que podem diminuir a exatidão e precisão experimental:

pouca uniformidade na distribuição da energia, declínio da potência com o tempo e o grande volume de solvente utilizado, em torno de 300 mL por extração. No entanto, apresenta vantagens como: a rapidez, pois a média de tempo gasto é de 1 hora e 30 minutos, a simplicidade no processamento da amostra e o baixo custo de operação (SUSLICK, 1989; LUQUE-GARCÍA *et al.*, 2003; CHUAH *et al.*, 2017).

2.4 Extração Soxhlet

A extração soxhlet funciona através do fenômeno de refluxo, onde a amostra é colocada em um cartucho de celulose dentro de um extrator soxhlet que durante o processo é gradualmente preenchido com solvente condensado que provém de um balão de destilação sob aquecimento. Quando o solvente atinge um nível de transbordamento, ocorre o processo de sifonagem, onde o sifão aspira todo o conteúdo do suporte do dedal e o transporta de volta ao balão de destilação. (LUQUE-GARCÍA e DE CASTRO, 2004).

Além desta extração ser padronizada pela EPA 3540C, diversos trabalhos ainda utilizam este método para as análises de contaminantes ambientais, como foi apresentado por Sanches Filho *et al.* (2017), que determinou os níveis de hidrocarbonetos alifáticos, totais de petróleo e n-alcanos, para o Canal São Gonçalo em Pelotas, Rio Grande do Sul e conclui que esses níveis são considerados altos em comparação com os parâmetros utilizados.

Utilizando este método, foram publicados estudos como o de Ramzi *et al.* (2017), que avaliou a presença, concentração e a origem de HPAs em sedimento no estuário de Cochin, Índia, que apresentou níveis moderados para HPAs de baixo peso molecular, sugerindo-se a contaminação por fonte petrogênica, e Luz *et al.* (2010), que utilizou a extração soxhlet para analisar estes mesmos HPAs em sedimentos na Lagoa dos Patos, Brasil, o qual obteve valores maiores para a concentração destes contaminantes de maior peso molecular e concluindo que a contaminação provém de fonte pirolítica.

Devido ao seu grande potencial extrator, a metodologia utilizando o soxhlet é usada tanto para a análise de contaminantes ambientais em diversas amostras sólidas e para a extração de diversos produtos e é fácil reprodutibilidade, contudo

possui a desvantagem do tempo que varia de 12 a 36 horas (DJENNI *et al.*, 2013; MUBARAK *et al.*, 2015).

2.5 Extração Soxhlet Assistida por Ultrassom

Com o intuito de reduzir o tempo da extração por soxhlet, sem a degradação da amostra, foi desenvolvido uma metodologia não padronizada, que possui etapas de pré extração utilizando o ultrassom juntamente com a extração por soxhlet. A Extração por soxhlet assistida por ultrassom (USASE – *Ultrassound Assisted Soxhlet Extraction*), já foi utilizada em estudos como o de Luque-Garcia e De Castro (2004), que avaliaram a extração total de gordura de sementes oleaginosas, por um equipamento que foi desenvolvido pelos autores, onde um extrator soxhlet fica localizado em um banho de termostato, através do qual a energia do ultrassom é aplicado por meio de uma sonda ultrassônica. Este mesmo estudo apresentou resultados que comprovam a eficiência da USASE, para análises qualitativas e quantitativas.

Outro equipamento proposto para a extração utilizando o USASE, foi desenvolvido por Djenni *et al.* (2013), para a análise de óleos alimentares, onde foi proposta uma modificação no sistema soxhlet pela inserção de uma sonda ultrassônica diretamente na câmara de extração. Este, também apresentou resultados satisfatórios quando comparados com a extração soxhlet convencional.

Porém ambos equipamentos desenvolvidos pelos autores, necessitam de um alto investimento e são mais complexos em suas operações. Considerando estes fatores, o presente trabalho se dedicou a realizar as análises utilizando pré etapas de extração sob sonificação seguidos por extração soxhlet, utilizando equipamentos e vidrarias que são comuns e de baixo custo.

2.6 Área de Estudo

A bacia hidrográfica da Lagoa Mirim, representada na Figura 5, está localizada entre os paralelos 31°30' e 34°30'S e entre os meridianos 52° e 56°O, correspondendo a largura média de 45 km e superfície de aproximadamente 62.250 km², dos quais 29.250 km² (47%) em território brasileiro e 33.000 km² (53%) em território uruguaio, por esta razão constitui uma bacia transfronteiriça onde prevalece

o regime de águas compartilhadas, pode ser subdividida em bacias hidrográficas de menor aporte, das quais três delas estão localizadas no Rio Grande do Sul. A bacia do São Gonçalo (9.147 km²) da qual o Rio Piratini é o principal afluente, a bacia do Arroio Grande (4.080 km²), e a bacia do Litoral (6.416 Km²), na qual está compreendido o Banhado do Taim, a Lagoa Mangueira e outras lagoas litorâneas menores (MACHADO, 2012).

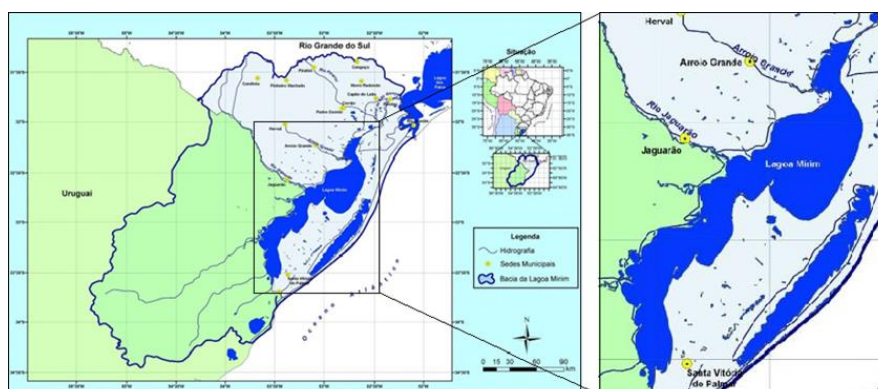


Figura 5: Mapa representativo da Bacia Hidrográfica da Lagoa Mirim e da Lagoa Mirim.

Fonte: Adaptado de Machado, (2012).

O clima desta região, segundo classificação de Köppen, é subtropical de verão úmido e quente, possui precipitação pluvial média anual de 1.450 mm e temperaturas médias dos meses mais quentes superiores a 22 °C e dos mais frios inferiores a 18 °C (TORMAM *et al.*, 2017).

A Lagoa Mirim é o segundo corpo de água principal da bacia hidrográfica e apresenta uma área aproximada de 3.749 Km², e 185 km de comprimento, largura média de 20 km, as profundidades em mais de 95% da área da lagoa variaram entre 1 e 5 metros, as precipitações variam entre 2 e 3 metros e o volume da lagoa é de aproximadamente 12,4 bilhões de m³ (KOTZIAN e MARQUES, 2004; STEINKE e SAITO, 2010).

A Lagoa dos Patos é o maior ambiente lacustre do Brasil e está ligada à Lagoa Mirim formando o maior sistema lagunar da América do Sul. A conexão entre os dois sistemas ocorre através de um canal natural de 76 km², chamado Canal São Gonçalo que possui uma vazão afluente média de 787 m³ s⁻¹, esse fluxo é controlado através de uma barragem, localizada a três quilômetros da cidade de Pelotas e possui um sistema de comportas com o objetivo de impedir as intrusões

salinas por jusante do sistema, vindas do oceano em períodos de baixa pluviosidade (VIEIRA e RANGEL, 1988; KOTZIAN e MARQUES, 2004).

A rede hidrográfica afluyente à Lagoa Mirim foi definida por Vieira e Rangel (1988) e Kotzian e Marques (2004) e é composta em território uruguaio pelos seguintes corpos de água: os rios Pelotas, Cebollati, Taquari e parte do Jaguarão e os arroios São Miguel, São Luiz e Sarandi Grande. Em território brasileiro é composta pela margem oriental os arroios Curral dos Arroios, Caturrita, Tio Bento, Capivaras, Del Rey e Curtume e pela margem ocidental parte do rio Jaguarão e os arroios Juncal, dos Arrombados, Silvestre Pinto, Bretanha, Canhada Grande, Canhada, Chasqueiro e das Palmas.

Oliveira *et al.* (2015), apresentaram os principais usos das águas da Lagoa Mirim, dos quais consiste nas extrações diretas para a irrigação das lavouras de arroz podendo atingir $400 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, tanto em território brasileiro como uruguaio e, também, como fonte de água potável para as populações que a circundam.

Em um estudo realizado por Santos *et al.* (2003), foi caracterizado os sedimentos em diversos pontos desta lagoa, os quais apresentaram uma mistura com larga predominância de quartzo, teores menores de feldspatos alcalinos e entre os argilo-minerais predominaram a esmectila e illita, além disso, a bacia foi caracterizada como homogênea e constituída por rochas graníticas pré-cambrianas e sedimentos cenozoicos areno-argilosos, além de possuir sedimentos inorgânicos.

A bacia da Lagoa Mirim, suas lagoas e o complexo de áreas úmidas em seu entorno, possuem importância ecológica e econômica ligadas à agricultura, à indústria e à pecuária, devido ao seu volume de águas, clima adequado e larga extensão, tanto para o estado do Rio Grande do Sul, quanto para o Uruguai (OLIVEIRA *et al.*, 2015).

3 REFERÊNCIAS

- ABBASIAN, Firouz et al. A comprehensive review of aliphatic hydrocarbon biodegradation by bacteria. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 176, n. 3, p. 670-699, 2015.
- AHMED, Moussa Mahdi et al. Levels and sources of heavy metals and PAHs in sediment of Djibouti-city (Republic of Djibouti). **Marine pollution bulletin**, v. 120, n. 1-2, p. 340-346, 2017.
- ALMEIDA, Marcos de. **Distribuição e origem de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em sedimentos superficiais da zona interna real do estuário do rio Paraguaçu**, Bahia. 2018.
- ASSUNÇÃO, Máira Algarve et al. Aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments collected from mangroves with different levels of urbanization in southern Brazil. **Marine pollution bulletin**, v. 119, n. 1, p. 439-445, 2017.
- BARBOSA, José Carlos S. et al. Seasonal distribution of aliphatic hydrocarbons in the VazaBarris estuarine system, Sergipe, Brazil. **Marine pollution bulletin**, v. 104, n. 1-2, p. 343-346, 2016.
- BET, Rafael. **Origem e destino da matéria orgânica sedimentar na região de desembocadura do Complexo Estuarino de Paranaguá-Paraná/Brasil utilizando marcadores orgânicos geoquímicos**, 2010.
- BOURBONNIERE, Richard A.; MEYERS, Philip A. Sedimentary geolipid records of historical changes in the watersheds and productivities of Lakes Ontario and Erie. **Limnology and Oceanography**, v. 41, n. 2, p. 352-359, 1996.
- CARREIRA, R. S. et al. Hidrocarbonetos e esteróis como indicadores de fontes e destino de matéria orgânica em sedimentos da Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro. **Quim. Nova**, v. 32, n. 7, p. 1805-1811, 2009.
- CAVALCANTE, Rivelino M. et al. Técnicas de extrações e procedimentos de clean-up para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) em sedimentos da costa do Ceará. **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1371-1377, 2008.
- CHUAH, Lai Fatt et al. A review of cleaner intensification technologies in biodiesel production. **Journal of cleaner production**, v. 146, p. 181-193, 2017.
- DJENNI, Zoubida et al. Sono-S Soxhlet: In situ ultrasound-assisted extraction of foodproducts. **Food analytical methods**, v. 6, n. 4, p. 1229-1233, 2013.
- EL NEMR, Ahmed et al. Distribution and sources of n-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons in shellfish of the Egyptian Red Sea coast. **The Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 42, n. 2, p. 121-131, 2016.
- FRENA, Morgana et al. Distribution and sources of aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of Itajaí-Açu estuarine system in Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, n. 4, p. 603-614, 2017.
- GU, Yang-Guang; LI, Hua-Bing; LU, Hui-Bin. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface sediments from the largest deep plateau lake in China: Occurrence, sources and biological risk. **Ecological engineering**, v. 101, p. 179-184, 2017.
- HASSAN, Mustafa H. et al. Baseline concentrations and distributions of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in surface sediments from the Qatar marine environment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 126, p. 58-62, 2018.

HARTZELL, Sharon E. et al. Evaluating porewater polycyclic aromatic hydrocarbon–related toxicity at a contaminated sediment site using a spiked field-sediment approach. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 37, n. 3, p. 893-902, 2018.

KILLOPS, Stephen D.; KILLOPS, Vanessa J. **Introduction to organic geochemistry**. John Wiley & Sons, 2013.

KOTZIAN, H. B.; MARQUES, D. M. Lagoa Mirim e a convenção Ramsar: um modelo para ação transfronteiriças. **REGA** – v. 1, n. 2, p. 101-111, jul./dez. 2004.

LIMA, Manoel B. et al. Distribution and sources of aliphatic hydrocarbons in surface sediments of Sergipe River estuarine system. **Marine pollution bulletin**, v. 64, n. 8, p. 1721-1725, 2012.

LIN, Faxiang et al. Distribution characteristics, sources, and ecological risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from the Qinhuangdao coastal wetland, China. **Marine pollution bulletin**, v. 127, p. 788-793, 2018.

LIU, Menglin, et al. Ecological Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Surface Sediments from the Upper Reach of Huaihe River. **Journal Polycyclic Aromatic Compounds**, v. 36 (5), p. 817-833, 2016.

LOURENÇO, Rafael André. **Aplicação de marcadores orgânicos moleculares em estudos oceanográficos e paleoceanográficos: Estudo de caso na margem continental superior do sudeste do Brasil**. 2007. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

LOURENÇO, Rafael André et al. Distribution and evolution of sterols and aliphatic hydrocarbons in dated marine sediment cores from the Cabo Frio upwelling region, SW Atlantic, Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 24, p. 19888-19901, 2017.

LUQUE-GARCIA, J. L.; DE MO, MD Luque. Ultrasound: a powerful tool for leaching. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, n. 1, p. 41-47, 2003.

LUQUE-GARCIA, J. L.; DE CASTRO, MD Luque. Ultrasound-assisted soxhlet extraction: an expeditive approach for solid sample treatment: application to the extraction of total fat from oleaginous seeds. **Journal of Chromatography A**, v. 1034, n. 1-2, p. 237-242, 2004.

LUZ, Luiza Placidina et al. Evaluation of surface sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in colony Z3 - (Patos Lagoon, Brazil). **Microchemical Journal**, v. 96, n. 1, p. 161-166, 2010.

MACHADO, Jeniffer Bianchi. **Análise da governança das águas da bacia hidrográfica da Lagoa Mirim, extremo sul do Brasil**. 2012. Dissertação de Mestrado.

MUBARAK, M.; SHAIJA, A.; SUCHITHRA, T. V. A review on the extraction of lipid from microalgae for biodiesel production. **Algal Research**, v. 7, p. 117-123, 2015.

OLIVEIRA, Heline Alves de et al. **Processos hidrológicos e hidrodinâmicos da Lagoa Mirim**. 2015.

PAN, Di et al. Ultrasonic assisted extraction combined with titanium-plate based solid phase extraction for the analysis of PAHs in soil samples by HPLC-FLD. **Talanta**, v. 108, p. 117-122, 2013.

PIETZSCH, Raphael et al. **Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em sedimentos recentes da Baía de Guaratuba-PR**. 2017.

PIRES, Bruna Amorim. **Optimização de um Método Analítico para a Determinação de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) em Sedimentos Estuarinos**. 2012.

QU, Chengkai et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediments of the Gulfs of Naples and Salerno, Southern Italy: Status, sources and ecological risk. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 161, p. 156-163, 2018.

RAMZI, A. et al. Dynamics of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface sediments of Cochin estuary, India. **Marine pollution bulletin**, v. 114, n. 2, p. 1081-1087, 2017.

SANCHES FILHO, Pedro José et al. Studies of n-alkanes in the sediments of colony Z3 (Pelotas-RS-Brazil). **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**, v. 17, n. 1, p. 27-33, 2013.

SANCHES FILHO, Pedro J. et al. Determination of hydrocarbons transported by urban runoff in sediments of São Gonçalo Channel (Pelotas-RS, Brazil). **Marine pollution bulletin**, v. 114, n. 2, p. 1088-1095, 2017.

SANTOS, Isaac Rodrigues et al. Metais pesados em sedimentos superficiais da Lagoa Mirim, fronteira Brasil-Uruguai. **Geochimica brasiliensis**, v. 17, n. 1, 2003.

SILVA, Thais R. et al. Evaluation of anthropogenic inputs of hydrocarbons in sediment cores from a tropical Brazilian estuarine system. **Microchemical Journal**, v. 109, p. 178-188, 2013.

SOJINU, Samuel O. et al. Assessing anthropogenic contamination in surface sediments of Niger Delta, Nigeria with fecal sterols and n-alkanes as indicators. **Science of the Total Environment**, v. 441, p. 89-96, 2012.

SOUZA, Michel RR et al. Concentration, distribution and source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in Poxim River sediments, Brazil. **Marine pollution bulletin**, v. 127, p. 478-483, 2018.

STEINKE, Valdir A.; SAITO Carlos H.. Avaliação geoambiental do território brasileiro nas Bacias Hidrográficas Transfronteiriças. **Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional**, Taubaté v. 6, n. 1, jan.-abr. 2010.

SUN, Runxia et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments and marine organisms: Implications of anthropogenic effects on the coastal environment. **Science of the Total Environment**, v. 640, p. 264-272, 2018.

SUSLICK, Kenneth S. The chemical effects of ultrasound. **Scientific American**, v. 260, n. 2, p. 80-86, 1989.

TORMAM, Mylena Feitosa et al. Variabilidade sazonal da qualidade da água na Lagoa Mirim, RS, Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia e Sustentabilidade**, v. 4, n. 2, p. 54-59, 2017

TU, Y. T. et al. Source identification and ecological impact evaluation of PAHs in urban river sediments: A case study in Taiwan. **Chemosphere**, v. 194, p. 666-674, 2018.

USEPA. **Method Detection Limit (MDL). EPA 40 CFR (7-1-02) Part 136 Appendix B. U. S.** Environmental Protection Agency, Washington, D. C. 1993.

USEPA. **Risk Assessment Handbook: Human Health Evaluation.** Manual Nº 2001-4. Washington, D. C. 1995.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. **Method 3540C- Soxhlet Extraction, US Environmental Protection Agency**, Washington, DC. 1996.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. **Method 3550C-Ultrasonic Extraction, US Environmental Protection Agency**, Washington, DC. 2007.

VIEIRA-CAMPOS, Amanda Alves. **Histórico do aporte de hidrocarbonetos em um perfil sedimentar da Bacia do Pina**, Recife-PE. 2017. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

VIEIRA, E. F. E RANGEL, S. **Planície Costeira do Rio Grande do Sul – Geografia, Física, Vegetação e Dinâmica Sócio-Demográfica**. Porto Alegre, Ed. Sagra, 1988.

XIANG, Nan et al. Occurrence and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in seawater, sediments and corals from Hainan Island, China. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 152, p. 8-15, 2018.

YANCHESHMEH. R.A.; BAKHTIARI, A.R.; MORTAZAVI, S.; SAVABIEASFAHANI, M. Sediment PAH: Contrasting levels in the Caspian Sea and Anzali Wetland. **Marine Pollution Bulletin**, v. 84, p. 391 – 400, 2014.

YANG, H. F. et al. Human impacts on sediment in the Yangtze River: A review and new perspectives. **Global and planetary change**, v. 162, p. 8-17, 2018.

4 PRODUÇÃO CIENTÍFICA OU TECNOLÓGICA:

Trabalhos completos publicados em anais de congressos

ARDUIM, J.; AMARAL, M. A.; SILVA, K. M.; SANCHES FILHO, P. J.. Determinação de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos em Sedimentos da Praia do Pontal, Arroio Grande, RS. *In*: 7º Seminário de Inovação e Tecnologia (INOVTEC) do IFSul, 2018, Sapucaia do Sul. **Livro de Resumos.**

Apresentação de Trabalho

ARDUIM, J.; AMARAL, M. A.; SILVA, K. M.; SANCHES FILHO, P. J.. **Determinação de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos em Sedimentos da Praia do Pontal, Arroio Grande, RS.** Apresentado em: 7º Seminário de Inovação e Tecnologia (INOVTEC) do IFSul, Sapucaia do Sul.

Eventos

Participação em eventos, congressos, exposições e feiras

7º Seminário de Inovação e Tecnologia (INOVTEC) do IFSul. (Seminário).

XVII Congresso Latino Americano de Cromatografia. 2019. (Congresso).

Trabalho aceito por periódico:

ANEXO 1: OTIMIZAÇÃO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE HIDROCARBONETOS EM SEDIMENTOS LAGUNARES

Trabalho a ser encaminhado para periódico:

ANEXO 2: AVALIAÇÃO DE N-ALCANOS EM SEDIMENTOS SUPERFICIAIS DA LAGOA MIRIM (RS, BRASIL)

ANEXO 1

OTIMIZAÇÃO DE METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE HIDROCARBONETOS EM SEDIMENTOS LAGUNARES

RESUMO

Os hidrocarbonetos são listados como alguns dos principais contaminantes ambientais nos dias de hoje e são considerados indicadores geoquímicos em relação aos níveis e fontes de contaminação em ambientes hídricos. Por este motivo existem metodologias padronizadas para a determinação destes contaminantes em sedimentos, entre as mais utilizadas, podemos listar o método de extração por soxhlet e o método de extração sob ultrassom, porém os dois métodos de extração apresentam desvantagens em sua utilização. Neste estudo, foi desenvolvida uma metodologia para a extração, pré concentração e *clean up* de hidrocarbonetos presentes em sedimento, combinando etapas de extração por solvente sob ultrassom e em soxhlet, seguidas por fracionamento em coluna líquida preparativa e os extratos analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. Para otimização utilizou-se um planejamento experimental 2^2 com ponto central avaliando os tempos de pré sonificação e extração soxhlet. O método que apresentou os melhores resultados, combinou 15 minutos de ultrassom e 4 horas de soxhlet, com recuperações médias de 107,8% para HPAs deuterados e 116,4% para o hexadeceno, produzindo uma redução de tempo e volume de solventes, gerando um método reprodutível (RSD% < 20%), rápido e de baixo custo. Os limites de detecção para n-alcanos variaram de 0,02 a 0,28 mg kg⁻¹ e para HPAs de 0,004 a 0,067 µg kg⁻¹. A metodologia foi aplicada a amostras da Praia do Pontal, que faz parte da Lagoa Mirim, que é um dos principais corpos hídricos da região Sul do Brasil e possui grande importância para agricultura, indústria e pecuária. Os níveis de HPAs e n-alcanos indicaram baixos níveis de contaminação e fontes de origem biogênica e pirolítica.

Palavras-Chave: HPAs, n-alcanos, soxhlet, ultrassom, preparo de amostra.

OPTIMIZATION OF METHODOLOGY FOR THE ANALYSIS OF HYDROCARBONS IN LAGUNAR SEDIMENTS

ABSTRACT

Hydrocarbons are listed as some of the major environmental contaminants today and are considered geochemical indicators in relation to levels and sources of contamination in water environments. For this reason, there are standardized methodologies for the determination of these contaminants in sediments, among the most used, we can list the method of extraction by soxhlet and the method of extraction under ultrasound, but the two methods of extraction have disadvantages in their use. In this study, a methodology was developed for the extraction, preconcentration and clean up of hydrocarbons present in sediment, combining solvent extraction steps under ultrasound and soxhlet, followed by preparative liquid column fractionation and the extracts analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry. For optimization, a 2² experimental design with central point evaluating the times of pre-sonification and soxhlet extraction was used. The method that presented the best results, combined 15 minutes of ultrasound and 4 hours of soxhlet, with average recoveries of 107.8% for deuterated PAHs (hydrocarbons polycyclic aromatic) and 116.4% for hexadecene, producing a reduction of time and volume of solvents, generating a reproducible method (RSD% <20%), fast and inexpensive. Detection limits for n-alkanes ranged from 0.02 to 0.28 mg kg⁻¹ and for PAHs from 0.004 to 0.067 µg kg⁻¹. The methodology was applied to samples of Pontal Beach, which is part of Mirim Lagoon, which is one of the main water bodies in the southern region of Brazil and is of great importance for agriculture, industry and livestock. PAHs and n-alkane levels indicated low levels of contamination and sources of biogenic and pyrolytic origin.

Keywords: PAHs, AHs, n-alkanes, soxhlet, ultrasound, sample preparation

INTRODUÇÃO

Os hidrocarbonetos estão listados dentre os principais contaminantes ambientais nos dias de hoje, pois são gerados com facilidade e apresentam uma grande dispersão. Dentro desta função destacam-se os hidrocarbonetos alifáticos (HAs) e os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) (HARTZELL et al., 2018).

Uma vez no ambiente hídrico, estes compostos são facilmente adsorvidos ao material em suspensão, em função de suas propriedades hidrofóbicas, acumulando-se junto aos sedimentos de rios, lagos e áreas costeiras marinhas. Ocorrem normalmente em misturas complexas provenientes de fontes biogênicas, diagênicas, petrogênicas e pirolíticas. Sua constituição qualitativa e quantitativa pode apresentar informações sobre o nível de impacto em um ambiente hídrico bem como as possíveis fontes de contaminação (SANCHES FILHO et al., 2017).

Para a determinação de hidrocarbonetos em amostras ambientais são necessários métodos de extração, pré concentração e clean up, adequando estes analitos ao método de determinação, como a cromatografia gasosa (BET, 2010). Muitos destes métodos foram padronizados pela *United States Environmental Protection Agency* (USEPA), pois a extração é considerada uma etapa crítica na determinação de hidrocarbonetos nestes tipos de amostras, uma vez que estes contaminantes hidrofóbicos frequentemente estão fortemente ligados a outros componentes presentes nestas matrizes ambientais. Como técnicas oficiais, podemos citar o método de extração por solvente em soxhlet (EPA 3540C) e extração sob ultrassom (EPA 3550C), porém ambos apresentam desvantagens em sua utilização, o método por soxhlet exige, para uma extração bem-sucedida, de 12 a 36 horas de funcionamento, ainda necessitando de processos de clean-up. A extração sob ultrassom ocorre em menor tempo, porém este método utiliza grandes volumes de solvente, o que expõe o analista a intoxicações pelos períodos de evaporação, tem um custo elevado e é agressivo ao meio ambiente, tendo em vista os resíduos gerados a partir desta extração (USEPA, 1996; USEPA, 2007; Cavalcante et al., 2008).

Atualmente tem chamado atenção como métodos alternativos aos métodos oficiais, a extração por fluído supercrítico, extração acelerada por solvente e extração assistida por micro-ondas (PENA et al., 2008), bem como equipamentos que combinam a extração soxhlet com banho ou sonda de ultrassom, porém todas metodologias apresentam desvantagens como alto investimento, alto custo de manutenção e pouca disponibilidade em laboratórios (LUQUE-GARCIA E DE CASTRO, 2004; DJENNI et al, 2013).

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi otimizar uma metodologia combinando etapas de pré sonificação e extração em soxhlet, para determinação de hidrocarbonetos (HAs e HPAs) em amostras de sedimento utilizando equipamentos simples, baratos e disponíveis na maioria dos laboratórios, reduzindo tempo de extração e volume de solvente.

MATERIAIS E MÉTODOS

OTIMIZAÇÃO DA METODOLOGIA

Para a otimização de metodologia foi realizado o delineamento composto central (DCC) onde foram avaliadas duas variáveis independentes: tempo de ultrassom e tempo de soxhlet em relação ao efeito simultâneo nas variáveis dependentes: recuperação de hexadeceno e HPAs deuterados através de um planejamento fatorial completo 2^2 com quatro pontos centrais, totalizando oito experimentos, apresentados na Tabela 1. A análise estatística dos efeitos foi realizada através do programa *Statistica 7.1* (STATSOFT, EUA), utilizando um intervalo de confiança de 90 % (TEÓFILO e FERREIRA, 2006).

Tabela 1. Variáveis e níveis no planejamento experimental completo (2^2).

Fatores	Níveis		
	-1	0	+1
Tempo de ultrassom (minutos)	15	30	45
Tempo de soxhlet (horas)	4	6	8

Foram mantidos constantes o volume, a constituição do solvente extrator (100 mL 1:1 hexano/acetona) e a massa da amostra úmida de 20 g. As etapas de pré sonificação foram desenvolvidas em banho ultrassônico (USC 4800A Unique, frequência 40 KHZ), em temperatura ambiente, em seguida, a amostra e o solvente foram transferidos para soxhlet.

Para o estudo de recuperação, uma amostra do sedimento coletada na Praia do Pontal (Lagoa Mirim, RS, Brasil) foi fortificada com $200 \mu\text{g kg}^{-1}$ (nível alto) de HPAs deuterados (acenafteno – D10, fenantreno - D10 , criseno - D12 e perileno – D12) e 250mg kg^{-1} (nível alto) de Hexadeceno (1 – hexadeceno), ambas preparadas em diclorometano (DCM) a partir da diluição dos padrões adquiridos da Supelco (Bellefonte , PA , EUA). O método de extração otimizado foi aplicado a amostras do mesmo ponto, em níveis inferiores de fortificação: $250 \mu\text{g kg}^{-1}$ para hexadeceno e de $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ para HPAs. Todos os experimentos foram realizados em triplicata para estudo da precisão do método expresso através do desvio padrão relativo em % (RSD%).

FRACIONAMENTO EM COLUNA CROMATOGRÁFICA LÍQUIDA PREPARATIVA

Os extratos obtidos foram fracionados em uma coluna de vidro (21 x 1,1 cm d.i. e reservatório de 8 x 3,1 cm d.i.) empacotada com 1 g de Na_2SO_4 anidro ativado, agulhas de cobre, 3,2 g de sílica gel 5% desativada, 1,8 g de alumina 2% desativada e 1 g de Na_2SO_4 anidro. Os extratos dispersos em 0,5 g de sílica foram adicionados no topo de uma coluna. A sequência de solventes para a eluição foi de 20 mL de hexano, que gerou a fração F1 (HAs), 20 mL de uma mistura de DCM/hexano (1:5, v/v) e 20 mL de uma mistura de DCM/hexano que gerou a fração F2 (HPAs) (UNEP, 1992). Os solventes e reagentes utilizados nesta metodologia foram adquiridos da Merck AS Chemical Industries.

CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Uma alíquota de 1 μ L de cada extrato (em triplicata) foi automaticamente injetada (AOC-20i Shimadzu), em um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas GC/MS-QP2010 Ultra equipada com um sistema de aquisição de dados GC Solution Shimadzu.

Para a análise de HPAs o programa de temperatura foi otimizado com uma solução padrão de 4 mg L⁻¹ contendo os 16 HPAs listados como prioritários pela USEPA, adquiridos da Supelco (Bellefonte, PA, EUA) e a mistura dos 4 HPAs deuterados, inicialmente injetados em modo SCAN e Splitless para a otimização das janelas de tempo e definição dos íons a serem monitorados, ficando definida as condições expressas na Tabela 2.

Para a determinação de n-alcanos o programa de temperatura foi ajustado a partir de uma solução 5 mg L⁻¹, em DCM composta por n-alcanos de C8-C40 obtidos a partir da diluição dos padrões de C8-C20 e C21 a C40 adquiridas da Sigma Aldrich (Steinheim, Suíça).

Tabela 2. Condições cromatográficas para a análise em GC/MS.

Parâmetro	Especificação
Coluna	RTx-5ms coluna (30m x 0,25 mm d.i. x 0,25 μ m espessura de filme (J & W Scientific, Folsom, CA, USA)
Modo de Injeção	Splitless
Temperatura do injetor	280 °C
Temperatura da interface	200 °C
Ionização	Eletron-Impacto (EI) em 70 eV
Gás de transporte/fluxo	Hélio (1,0 mL min ⁻¹)
Temperatura do forno (F2 - HPAs)	Temperatura inicial 60 °C (5min) 8 °C min ⁻¹ , 200°C, (0min), 5 °C min 300 °C (15 min).
Temperatura do forno (F1 - n alcanos)	Temperatura inicial 60 °C (10min) 5 °C min ⁻¹ , 200 °C, (5min), 10 °C min 300 °C (35 min).
Janelas e Íons Monitorados (modo SIM)	Janela 1: 5-18 minutos, m/z: 128, 136; Janela 2: 18-36 minutos, m/z: 152, 154, 164, 166, 178, 202, 228, 240,
HPAs	Janela 3: 33-55 minutos, m/z: 252, 264, 276, 278;

Todos os procedimentos foram acompanhados com análise de brancos, para avaliar possíveis interferências de contaminantes do ambiente laboratorial bem como reagentes.

Afim de verificar o desempenho dos métodos cromatográficos, a linearidade foi estudada a partir coeficiente de correlação (r^2) gerados a partir das curvas de calibração de 0,5-5 mg L⁻¹ para n-alcanos e 20-200 μ g L⁻¹ para HPAs como sugerido pela EPA 5035A, (2002).

A precisão dos métodos cromatográficos foi desenvolvida repetindo 11 vezes a análise do padrão de 50 μ g L⁻¹ para HPAs e do padrão de 4 mg L⁻¹ para n-alcanos. As exatidões foram analisadas por meio do erro relativo em relação aos mesmos padrões.

O limite de detecção (LD) foi calculado utilizando-se três vezes o desvio padrão do sinal do branco, enquanto que o limite de quantificação (LQ) foi calculado dez vezes o desvio padrão do sinal do branco,

ambos divididos pelo coeficiente angular. Para o cálculo do LD e LQ do método considerou-se uma massa de 20 g de amostra com uma recuperação de 100% de cada analito.

Com o objetivo de identificar a origem dos HPAs e diferenciar as fontes petrogênica e fonte pirolítica, foram calculadas as razões diagnósticas para as amostras de sedimento. As relações Fen/Ant, Ant/(Ant+Fen), Flu/(Flu + Pir), Flu/Pir estão associadas a entradas pirogênicas ou petrogênicas. A razão Flu/(Flu+Pir) é um indicador de combustão de combustíveis fósseis, de grama, madeira ou carvão (HASSAN et al., 2018).

Para n-alcanos o índice de preferência de carbono (IPC) é um meio numérico de representar a predominância ímpar/par em hidrocarbonetos alifáticos em uma faixa particular de carbono (ASSUNÇÃO et al., 2018) e pode ser calculada da seguinte forma:

$$IPC = \frac{1}{2} \left[\frac{C25+C27+C29+C31+C33}{C24+C26+C28+C30+C32} \right] + \left[\frac{C25+C27+C29+C31+C33}{C26+C28+C30+C32+C34} \right]$$

A razão terrestre/aquática (RTA) é a relação entre as concentrações de n-alcanos de cadeia longa (nC27 + nC29 + nC31) sobre os n-alcanos de cadeia curta (nC15 + nC17 + nC19) e avalia a prevalência de fontes aquáticas ou terrestres. Além destes resultados, as MCNR foram determinadas através de um fator de resposta médio, calculado a partir dos padrões de n-alcanos. A razão MCNR/ Σ n-alcanos indica uma contaminação por combustível residual crônica ou recente (TOLOSA et al, 2004).

AMOSTRAGEM E CARACTERIZAÇÃO PRELIMINAR

Para aplicação da metodologia otimizada à amostras reais, foram utilizados os sedimentos superficiais (0-5 cm) da Praia do Pontal, (Lagoa Mirim- latitudes 32°09' e 33°37' e longitudes 52°35' e 53°59'), coletados em três pontos (Agosto de 2018) com uma draga de aço inoxidável do tipo "Van Veen", como descrito por Mozeto, (2004). A amostra utilizada para a otimização de metodologia foi coletada no ponto 2. A Figura 1 apresenta os pontos de coleta, bem como as geo-referencias determinadas pelo GPS (GARMIN- ETREX 10).



Figura 1. Localização geográfica dos pontos de amostragem na Praia do Pontal, RS, Brasil.

P1: 32°19'54"S 52°49'14"W; P2: 32°19'59"S 52°49'13"W; P3: 32°20'05"S 52° 49'13"W

Fonte: Adaptado de Oliveira, et al. (2015).

O material coletado foi retirado e armazenado em potes de vidro previamente descontaminados. Após a coleta as amostras foram devidamente transportadas e armazenadas a 4 °C. Parte das amostras foi reservada para determinação de umidade, matéria orgânica, granulometria e pH. Todas análises físico-químicas foram realizadas em triplicata.

A determinação da matéria orgânica no sedimento foi realizada por perdas de voláteis, a uma temperatura de 550 °C, por um período de 4 horas (APHA, 2005). A análise granulométrica foi realizada pelo método descrito por Suguio (1973) que consiste em peneirar o sedimento utilizando a escala de Wertworth, por tamanhos dos grãos: grão (2 mm), areia muito grossa (1 mm), areia grossa (500 µm), areia média (250 µm), areia fina (125 µm), areia muito fina (63 µm), fundo (< 63 µm).

A umidade foi avaliada com cerca de 10 g de amostra em estufa com temperatura a 105 °C, durante 24 horas (APHA, 2005).

O pH do sedimento foi determinado em suspensão utilizando a proporção 1:2 (sedimento/água do mesmo ponto) como empregada por Yoon et al. (2006).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

OTIMIZAÇÃO DE METODOLOGIA

Neste estudo foram avaliados os efeitos das variáveis: tempo de ultrassom (x_1) e tempo de soxhlet (x_2), na recuperação de hexadeceno e HPAs deuterados em sedimentos previamente fortificados, esses resultados estão apresentados na Tabela 3, no qual a recuperação está expressa em porcentagem.

Tabela 3. Variáveis e recuperação de hexadeceno e HPAs para o planejamento fatorial completo 2^2 .

Ensaio	Tempo de Ultrassom (min)	Tempo de Soxhlet (h)	Hexadeceno (%)	HPAs Deuterados (%)
1	-1 (15)	-1 (4)	116,4	107,8
2	1 (45)	1 (8)	45,1	24,4
3	-1 (15)	1 (8)	53,7	40,2
4	1 (45)	-1 (4)	133,4	56,5
5	0 (30)	0 (6)	120,3	77,8
6	0 (30)	0 (6)	115,3	69,5
7	0 (30)	0 (6)	108,6	71,2
8	0 (30)	0 (6)	113,1	70,1

Os resultados de recuperação dos experimentos 1 a 4 corresponde a médias de duas extrações.

A análise estatística mostrou que o tipo de extração influenciou significativamente na recuperação tanto do hexadeceno quanto dos HPAs deuterados, conforme mostra a Tabela 4, onde é possível observar que apenas a variável tempo de ultrassom, para o resultado de recuperação do hexadeceno, não foi significativa com valor de $p > 0,10$, no entanto, o tempo de soxhlet apresentou um efeito negativo, ou seja, o menor tempo estudado resultou em uma maior recuperação de hexadeceno, assim como a interação entre o tempo de ultrassom e o tempo de soxhlet. Para a recuperação dos HPAs deuterados, todas as

variáveis foram significativas para o intervalo de confiança de 90 %. Tanto o tempo de ultrassom, quanto o tempo de soxhlet apresentaram efeitos negativos, ou seja, o menor tempo utilizado aumentou a recuperação destes compostos.

Tabela 4. Efeitos e coeficientes para as diferentes extrações.

	Hexadeceno			HPAs Deuterados		
	Efeito	Desvio Padrão	Significância (p)	Efeito	Desvio Padrão	Significância (p)
Média	101,010	1,6976	0,000010	64,626	1,3805	0,000021
Ultrassom (minutos)	4,190	4,8016	0,447093	-33,590	3,9047	0,003303
Soxhlet (horas)	-75,510	4,8016	0,000559	-49,870	3,9047	0,001036
Ultrassom <i>versus</i> Soxhlet	-12,810	4,8016	0,075830	17,770	3,9047	0,019880

ρ = nível de significância de 90 %

Os coeficientes de regressão, apresentados na Tabela 5, mostram um modelo possível de validar, em função das variáveis estudadas, por meio da análise de variância, onde se observou que estes foram preditivos e significativos.

Tabela 5. Coeficientes de regressão para as variáveis significativas para recuperação de hexadeceno e HPAs deuterados.

	Hexadeceno			HPAs deuterados		
	Coef. Reg.	Desvio padrão	Signif. (p)	Coef. Reg.	Desvio padrão	Signif. (p)
Média	101,010	1,6976	0,000010	64,626	1,3805	0,000021
Ultrassom (minutos)				-16,795	1,9523	0,003303
Soxhlet (horas)	-37,755	2,4008	0,000559	-24,935	1,9523	0,001036
Ultrassom <i>versus</i> Soxhlet	-6,405	2,4008	0,075830	8,885	1,9523	0,019880

ρ = nível de significância de 90 %

É possível pelos coeficientes de regressão gerar os modelos, apresentados nas equações 1 e 2, que prediz a resposta das variáveis: hexadeceno (Y_1) e HPAs deuterados (Y_2) em função das variáveis tempo de ultrassom e soxhlet.

$$Y_1 = 101,010 - 37,755x_2 - 6,405x_1x_2 \quad \text{equação 1}$$

$$Y_2 = 64,626 - 16,795x_1 - 24,935x_2 + 8,885x_1x_2 \quad \text{equação 2}$$

Onde: x_1 = nível de ultrassom e x_2 = nível de soxhlet

Os resultados preditivos e significativos são comprovados a partir do teste F, no qual o F calculado foi maior que o F tabelado para as duas variáveis estudadas, hexadeceno e HPAs deuterados, estes valores estão apresentados na Tabela 6.

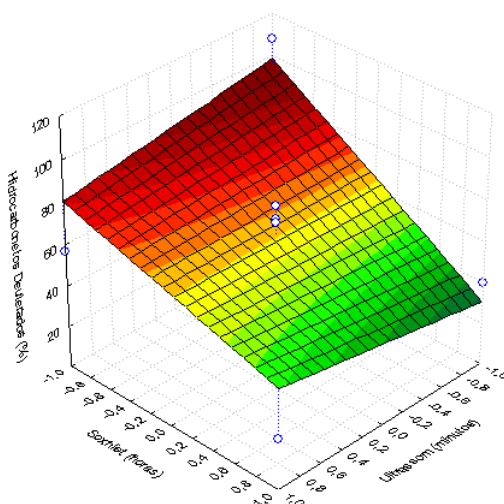
Tabela 6. Dados de ANOVA para o planejamento experimental 2².

Hexadeceno						
Fonte de variação	Soma quadrática	Grau de liberdade	Média quadrática	Teste F	F _{calc} /F _{tab}	R ²
Regressão	5865,856	2	2932,928	9,026	2,39	78,31
Resíduo	1624,63	5	324,926			
Falta de ajuste	1555,462					
Erro puro	69,168					
Total	7490,486	7				

HPAs Deuterados						
Fonte de variação	Soma quadrática	Grau de liberdade	Média quadrática	Teste F	F _{calc} /F _{tab}	R ²
Regressão	2802,79	2	1401,395	4,349	1,15	63,5
Resíduo	1611,075	5	322,215			
Falta de ajuste	1565,333					
Erro puro	45,742					
Total	4413,865	7				

F_{cal}: F calculado; F_{tab}: F tabelado_{2, 5; 0,10} = 3,78; R²: % de variação explicada.

Assim, a partir dos modelos, equações 1 e 2, é possível gerar a superfície de resposta para a variável HPAs deuterados, a qual, apresentou todas as variáveis significativas, (Figura 2).

**Figura 2.** Superfície de resposta e curva de contorno para a recuperação dos HPAs deuterados.

A Figura 2 ilustra que a maior recuperação de HPAs deuterados ocorre quando é utilizado um menor tempo de ultrassom quanto de soxhlet, ou seja, quando é utilizado 15 minutos de ultrassom ou 4 horas de soxhlet (ensaio 1).

Considerando os ensaios 2 e 4, onde o tempo de ultrassom permanece fixo em 45 minutos, observa-se uma redução nas recuperações tanto para os HPAs quanto para o hexadeceno, com o aumento de 4 para 8 horas em extração por soxhlet, o que pode indicar perdas de hidrocarbonetos mais voláteis durante as etapas de refluxo, tendo em vista que os analitos estão sob aquecimento, tal comportamento é confirmado quando observa-se os resultados dos ensaios 1 e 3, porém com um menor tempo de pré sonificação.

Os valores de recuperação no ponto central, foram satisfatórios para o hexadeceno e apresentaram uma leve redução para os HPAs deuterados, mesmo assim dentro de uma faixa aceitável. De acordo com as normas da União Européia (UE) regulamento 836/2011, valores de recuperação entre 50 - 120% são aceitáveis (COMMISSION REGULATION, 2011).

A repetição, em triplicata, do experimento 1 com amostras em níveis inferiores de fortificação geraram recuperações médias de 63,1% \pm 12,3% para HPAs deuterados e 67,0% \pm 8,9% para o hexadeceno. O valores continuam em acordo com as exigências da UE com precisões aceitáveis expressas através do desvio padrão relativo (%) inferiores a 20%, segundo Brito et al. (2003).

Sun et al. (2018) apresentou recuperações para HPAs deuterados de 74% \pm 9%, e 95% \pm 6% utilizando extração sob ultrassom (EPA 3550C) para seus estudos. Qu et al. (2018), usando a metodologia por soxhlet (EPA 3540C), encontrou valores de recuperações para HPAs deuterados que variaram de 67,4% a 96,2%, os quais equivalentes aos resultados obtidos neste trabalho. O mesmo se aplica para as recuperações de hexadeceno, pois Lourenço et al. (2017) utilizando ultrassom, encontrou valores entre 65% a 105% e Bet. (2010), utilizando a extração por soxhlet, apresentou resultados que variam de 61,6% a 98,0%, assim percebe-se que a metodologia otimizada em acordo com os métodos tradicionalmente usados e com o recomendado pela UE 836/2011.

FIGURAS DE MÉRITO PARA OS MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

As figuras de mérito para os métodos cromatográficos propostos para análise de hidrocarbonetos estão apresentadas na Tabela 7. Os coeficientes de correlação obtidos tanto para HPAs quanto para os n-alcanos foram superiores a 0,98, situaram-se acima do preconizado (>0,9) como adequado na validação de métodos pelo INMETRO. Os métodos apresentaram exatidão e precisão aceitáveis para a maioria dos analitos, com ER% entre 0,1 e 2,2% e RSDs entre 4,8 a 18,1% para HPAs e ER% entre -0,1 a 10,5% e RSD% e 0,1 a 9,8% para n alcanos. Os HPAs foram avaliados na faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$ que admite RSD até 20% enquanto os n-alcanos foram avaliados na faixa de mg L^{-1} admitindo RSDs na ordem de 5%, apenas os n-alcanos superiores a C37 apresentaram RSDs superiores a este limite (INMETRO, 2003).

Tabela 7. Figuras de mérito para método cromatográfico para análise de HPAs e n-alcenos.

Nº/pico	HPAs	r ²	a	b	ER%	RSD%	LD µg L ⁻¹	LQ µg L ⁻¹	LD µg kg ⁻¹	LQ µg kg ⁻¹
1	Naftaleno	0,996	1732,6	9292,9	0,2	4,8	0,1	0,2	0,004	0,014
2	Acenaftileno	0,999	947,4	6846,1	0,3	7,1	0,1	0,3	0,007	0,023
3	Acenafteno	0,998	1099,6	6846,1	2,5	12,1	0,1	0,3	0,007	0,022
4	Fluoreno	0,995	478,6	3122,9	0,6	5,6	0,2	0,7	0,014	0,047
5	Fenantreno	0,997	428,9	4672,1	0,1	7,1	0,2	0,6	0,014	0,046
6	Antraceno	0,999	349,5	3949,0	0,3	6,5	0,2	0,8	0,017	0,057
7	Fluoranteno	0,999	438,8	5428,4	0,4	7,9	0,2	0,6	0,013	0,045
8	Pireno	0,999	526,4	5227,3	0,2	12,9	0,2	0,5	0,011	0,037
9	Benzo(a)Antraceno	0,999	254,7	3232,9	0,1	18,1	0,3	1,0	0,021	0,069
10	Criseno	0,999	269,9	3367,9	0,6	10,7	0,3	0,9	0,02	0,065
11	Benzo(k)Fluoranteno	0,998	222,7	2042,5	0,8	14,6	0,5	1,6	0,035	0,117
12	Benzo(b)Fluoranteno	0,996	266,8	2486,2	1,4	13,8	0,4	1,4	0,029	0,098
13	Benzo(a)Pireno	0,998	175,0	2959,6	0,9	10,9	0,6	2,1	0,045	0,149
14	Benzo(g,h,i)Perileno	0,995	121,2	866,6	1,3	14,3	0,8	2,5	0,054	0,18
15	Dibenzo(a,h)Antraceno	0,997	97,5	225,3	1,2	15,0	0,9	3,1	0,067	0,224
16	Indeno(1,2,3-cd)Pireno	0,991	129,9	1047,5	2,2	14,0	0,6	1,9	0,041	0,136
	N-alcenos						LD mg L ⁻¹	LQ mg L ⁻¹	LD mg kg ⁻¹	LQ mg kg ⁻¹
C9	Nonano	0,982	398093	-17619	10,5	3,3	0,9	3,1	0,02	0,06
C10	Decano	0,984	270819	-96537	7,7	1,8	1,4	4,6	0,03	0,09
C11	Undecano	0,988	219751	-79230	4,1	0,1	1,7	5,7	0,03	0,11
C12	Dodecano	0,987	213123	-94489	2,3	0,9	1,8	5,8	0,04	0,12
C13	Tridecano	0,994	203842	-97901	1,0	1,2	1,8	6,1	0,04	0,12
C14	Tetradecano	0,990	180282	-74533	1,9	0,8	2,1	6,9	0,04	0,14
C15	Pentadecano	0,995	184178	-65309	3,0	1,4	2,0	6,8	0,04	0,14
C16	Hexadecano	0,987	187840	-86901	4,0	0,8	2,0	6,6	0,04	0,13
C17	Heptadecano	0,990	193218	-89607	4,2	1,8	1,9	6,4	0,04	0,13
C18	Octadecano	0,991	207847	-84859	3,5	1,6	1,8	6,0	0,04	0,12
C19	Nonadecano	0,989	192507	-96954	1,6	1,6	1,9	6,5	0,04	0,13
C20	Eicosano	0,989	187075	-92973	1,9	0,9	2,0	6,7	0,04	0,13
C21	Heneicosano	0,986	223906	-11896	2,3	1,3	1,7	5,6	0,03	0,11
C22	Docosano	0,989	211339	-10568	-0,1	1,9	1,8	5,9	0,04	0,12
C23	Tricosano	0,989	211433	-11888	2,5	0,3	1,8	5,9	0,04	0,12
C24	Tetracosano	0,992	213815	-12287	-1,0	1,3	1,7	5,8	0,03	0,12
C25	Pentacosano	0,992	214914	-11796	4,2	1,3	1,7	5,8	0,03	0,12
C26	Hexacosano	0,993	211536	-10227	2,7	0,3	1,8	5,9	0,04	0,12
C27	Heptacosano	0,987	207241	-12348	3,6	1,0	1,8	6,0	0,04	0,12
C28	Octacosano	0,994	197110	-95354	-0,3	1,5	1,9	6,3	0,04	0,13
C29	Nonacosano	0,991	166925	-85408	3,5	1,1	2,2	7,5	0,04	0,15
C30	Triacotano	0,991	142747	-80628	0,5	0,4	2,6	8,7	0,05	0,17
C31	Untriacontano	0,995	122103	-68544	1,5	2,0	3,1	10,2	0,06	0,20
C32	Dotriacontano	0,994	91946	-34973	-0,2	1,5	4,1	13,6	0,08	0,27
C33	Tritriacontano	0,990	77413	-18877	-2,4	1,4	4,8	16,1	0,10	0,32
C34	Tetatriacontano	0,988	80438	-41219	-4,4	0,1	4,6	15,5	0,09	0,31
C35	Pentatriacontano	0,991	50538	29179	5,8	2,3	7,4	24,7	0,15	0,49
C36	Hexatriacontano	0,988	28342	11990	8,2	4,2	13,2	44,0	0,26	0,88
C37	Heptatriacontano	0,986	26822	-13840	-5,6	7,9	13,9	46,5	0,28	0,93
C38	Octatriacontano	0,994	147462	-26411	5,7	9,2	2,5	8,5	0,05	0,17
C39	Nonatriacontano	0,990	95343	-16030	7,4	13,2	3,9	13,1	0,08	0,26
C40	Tetatriacontano	0,989	91214	-15015	3,5	9,8	4,1	13,7	0,08	0,27

Y= aX+b= a: coeficiente angular; b: coeficiente linear; r²: coeficiente correlação linear; ER: erro relativo; RSD: desvio padrão relativo; LD: limite de detecção; LQ: limite de quantificação;

Os limites de detecção para análise de HPAs variaram de 0,004 a 0,067 $\mu\text{g kg}^{-1}$, em uma faixa mais baixa que os obtidos por Luz et al. (2010), que apresentou variações de LDs de 0,11 a 0,93 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Os LQs variaram entre 0,014 a 0,224 $\mu\text{g kg}^{-1}$, em acordo com outros estudos, como Souza et al. (2018), que determinaram um valor médio de 0,2 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

Em pesquisa realizada por Sanches et al. (2013), na determinação de n-alcenos em sedimento lagunares (Colônia Z3, Lagoa dos Patos/RS/Brasil), foram obtidos resultados para LD e LQ entre 0,2 a 3,8 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e 0,4 a 5,1 $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente, tais concentrações são maiores quando comparadas com os dados encontrados neste estudo (Tabela 7), que apresenta uma variação de 0,02 a 0,28 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para LD e 0,06 a 0,93 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para LQ.

O coeficiente angular (a), reflete a sensibilidade do método analítico, tanto para os HPAs quanto n-alcenos e observou-se uma queda na sensibilidade com o aumento do peso molecular. Este comportamento pode estar relacionado com a redução do fator de resposta (Figura 3a, 3b, 3c), que também prejudica a exatidão e precisão dos métodos.

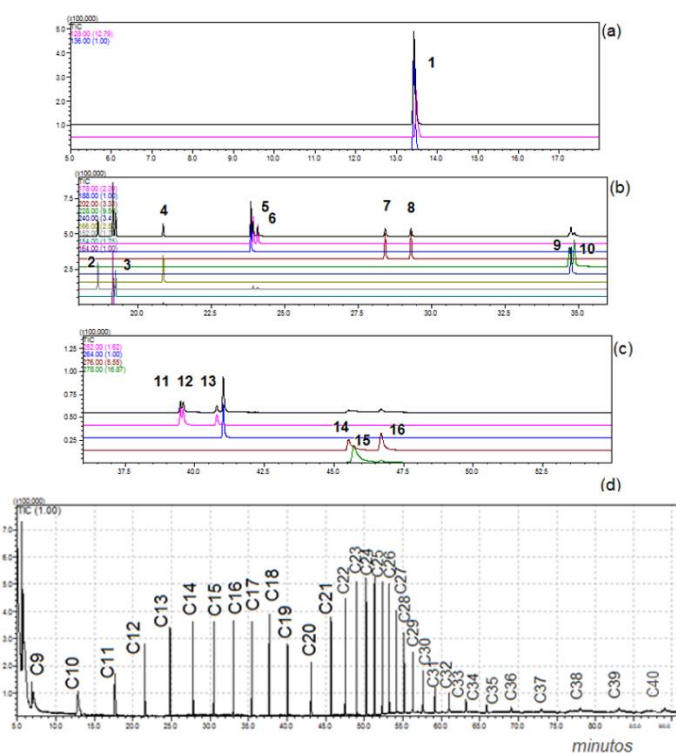


Figura 3. Cromatogramas apresentando as janelas de tempo de retenção para os 16 HPAs prioritários. Janela 1 (a); Janela 2 (b); Janela 3 (c); padrão de n-alcenos, utilizado para otimização de metodologia e demonstrando a perda de sensibilidade analítica pelos picos de C9, C10 e C35 a C40 (d).

Para os HPAs os maiores erros relativos e maiores RSD foram encontrado para compostos com peso molecular acima de 228 u, já para os n-alcenos os maiores erros relativos e maiores RSD foram determinados para os compostos de menor e maior cadeia carbônica, como observado para o nonano, decano, hexatriacontano e nonatriacontano, este comportamento pode ser explicado pela redução e assimetria dos picos C9 e C10 para n-alcenos e 14, 15 e 16 para HPAs como observado na Figura 3c e 3d.

CARACTERIZAÇÃO PRELIMINAR

A Tabela 9, apresenta os resultados de matéria orgânica (MO), pH e umidade para as três amostras analisadas. Nesse estudo foi possível verificar a baixa concentração de matéria orgânica no sedimento, entre 0,5 a 1,7%, valores que foram similares aos resultados obtidos por Santos et al. (2003), que obteve 0,21 a 2,4% de matéria orgânica em sedimentos da lagoa mirim, o que mostra um padrão de baixas concentrações de MO nos sedimentos da região, indicando sedimentos inorgânicos.

Os sedimentos possuem uma granulometria homogênea, com predominância de grãos com 0,125 e 0,63 mm. As amostras P2 e P3 tiveram uma porcentagem de, respectivamente, 58,0% e 56,9% de grãos com diâmetro de 0,125 mm, já a amostra P1 apresentou 62,0% de sua composição 0,63 mm, conferindo para as amostras, as características de areia fina e muito fina, de acordo com a escala Wertworth.

Tabela 9. Caracterização preliminar de sedimento: análise de matéria orgânica (% \pm RSD%), pH, umidade (% \pm RSD%).

Ponto	Matéria Orgânica	pH	Umidade
P1	0,8 \pm 15,6	6,9	24,8 \pm 2,1
P2	0,5 \pm 23,3	7,2	25,3 \pm 1,6
P3	1,7 \pm 1,9	6,4	27,4 \pm 1,6

RSD: desvio padrão relativo;

Entre as amostras houve baixa variação nos níveis de umidade, que foi de 24,8% a 27,4%, já os resultados de pH mantiveram-se na zona do neutro, entre 6,5 a 7, esses resultados são similares aos obtidos por Santos et al. (2003), que encontrou um valor médio para pH dos sedimentos da lagoa mirim de 6,81.

Os pontos P1 e P3 possuíram uma menor granulometria e apresentaram índices de mais elevados quando comparados com a amostra P2. Estes dados são de extrema importância uma vez que estes parâmetros influenciam na sorção dos hidrocarbonetos na matriz (GU et al., 2017).

APLICAÇÃO DA METODOLOGIA PARA AMOSTRAS DE SEDIMENTO

A Tabela 10, apresenta os níveis de HPAS encontrados nas amostras analisadas bem como as razões diagnósticas. Pode-se verificar a presença de HPAs nos três pontos amostrais, predominando compostos de 3 a 4 anéis. O Σ HPAs total, variou entre 1,5 $\mu\text{g kg}^{-1} \pm 9,2\%$ a 2,3 $\mu\text{g Kg}^{-1} \pm 4,4\%$, segundo Mostafa et al. (2009), Σ HPAs < 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$, indicam ambiente pouco impactado. Nenhum dos analitos apresentou valores acima dos níveis de efeito limiar (TEL) e a metodologia otimizada apresentou coeficientes de variação inferiores a 20% em acordo com os que foram encontradas por Xiang et al. (2018) em sedimento, água viva e corais feito que obteve resultados entre 6 a 22%.

Tabela 10. Níveis de HPAs ($\mu\text{g kg}^{-1} \pm \text{RSD}\%$ em base seca) em sedimento da Praia do Pontal, Arroio Grande, RS.

HPAs	P1	P2	P3	TEL $\mu\text{g kg}^{-1}$	PEL $\mu\text{g kg}^{-1}$
Naftaleno	nd	nd	Nd	34,6	391,0
Acenaftileno	nd	nd	Nd	5,9	128,0
Acenafteno	nd	nd	Nd	6,7	88,9
Fluoreno	$0,6 \pm 2,7$	nd	$1,2 \pm 3,9$	21,2	144,0
Fenantreno	$0,6 \pm 12,3$	$0,5 \pm 4,3$	$0,5 \pm 8,6$	41,9	515,0
Antraceno	$0,4 \pm 17,3$	$0,1 \pm 15,4$	$0,3 \pm 11,4$	46,9	245,0
Fluoranteno	nd	$0,2 \pm 0,2$	$0,4 \pm 12,0$	111,0	2355,0
Pireno	$0,1 \pm 0,4$	$0,2 \pm 0,2$	$0,23 \pm 14,7$	53,0	875,0
Benzo(a)Antraceno	$0,12 \pm 12,8$	$0,4 \pm 12,0$	Nd	31,7	385,0
Criseno	nd	$0,1 \pm 5,9$	Nd	57,1	862,0
Benzo(k)Fluoranteno	nd	nd	Nd	-	-
Benzo(b)Fluoranteno	nd	nd	Nd	-	-
Benzo(a)Pireno	nd	nd	Nd	31,9	782,0
Benzo(g,h,i)Perileno	nd	nd	Nd	-	-
Dibenzo(a,h)Antraceno	nd	nd	Nd	6,2	135,0
Indeno(1,2,3-c,d)Pireno	nd	nd	Nd	-	-
Total	$1,8 \pm 4,9$	$1,5 \pm 9,2$	$2,3 \pm 4,4$	979,8*	-
Fen/Ant	1,4	5,4	2,3		
Ant/(Ant+Fen)	0,4	0,2	0,3		
Flu/Pir	-	0,9	1,1		
Flu/(Flu+Pir)	-	0,5	0,5		

TEL= Nível limite de efeito; PEL= Nível de efeito provável. *CONAMA 454/2012

Os resultados para as razões diagnósticas Fen/Ant, Ant/(Ant+Fen), Flu/(Flu + Pir) e Flu/Pir foram associadas a entradas pirogênicas. Os valores obtidos para Flu/(Flu+Pir) $> 0,4$ e $< 0,5$ são indicadores de combustão de combustíveis fósseis, enquanto Flu/(Flu+Pir) $> 0,5$ são de combustão de grama, madeira ou carvão (HASSAN et al., 2018).

A Tabela 11 apresenta os resultados para n-alcanos e os índices usados para determinar a origem dos n-alcanos no ambiente. De forma geral, foram encontrados n-alcanos entre C14 e C33 em todas as amostras acompanhados de mistura complexa não resolvida (MCNR), o Σ n-alcanos variaram de $11,0 \text{ mg kg}^{-1} \pm 9,5\%$ (P2), a $16,6 \text{ mg kg}^{-1} \pm 4,0\%$ (P1). Estes resultados estão em acordo com as características físico químicas (matéria orgânica e granulometria) destes pontos. Neste estudo, as concentrações obtidas para n-alcanos estão abaixo dos resultados que foram encontrados na Colônia Z3 em Pelotas por Sanches Filho et al. (2013) que apresentou valores de $62,0 \mu\text{g kg}^{-1} \pm 19,4\%$ a $261,1 \mu\text{g g}^{-1} \pm 15,0\%$ e dos valores apresentados em diversos sedimentos obtidos na Ilha de Florianópolis por Assunção et al. (2017), que variaram de $18,0 \mu\text{g g}^{-1} \pm 3,2\%$ a $55,6 \mu\text{g g}^{-1} \pm 3,7\%$, estes resultados confirmam que ambos ecossistemas estão sob intensa influência antropogênica, devido à proximidade de grandes cidades, diferente do que ocorre na área de estudo deste trabalho que está localizada em uma zona rural no Sul do Brasil.

O desvio padrão relativo expresso em porcentagem que variou de 0,03 a 18,8%, podem ser comparados com o estudo de hidrocarbonetos em sedimento, feito por Assunção et al. (2017), que obteve resultados entre 1,2 -11,1%, com isto conclui-se que a precisão do método foi considerada aceitável.

Tabela 11. Níveis de n-alcenos ($\text{mg kg}^{-1} \pm \text{RSD\%}$ em base seca) em sedimento da Praia do Pontal, Arroio Grande,RS.

N-alcenos	P1	P2	P3
Nonano	nd	nd	nd
Decano	nd	nd	nd
Undecano	nd	nd	nd
Dodecano	nd	nd	nd
Tridecano	nd	nd	nd
Tetradecano	0,7 ± 0,8	0,3±1,7	0,7 ± 4,4
Pentadecano	0,7 ± 0,4	0,3±1,6	0,9 ± 8,7
Hexadecano	2.0 ± 0,5	0,2±0,6	1,8 ± 1,9
Heptadecano	1,0 ± 1,0	0,8±7,2	0,8 ± 18,5
Octadecano	1,3 ± 0,7	0,5±7,0	1,2 ± 3,7
Nonadecano	0,8 ± 0,7	0,6±3,0	0,8 ± 15,3
Eicosano	1,1 ± 0,4	0,7±2,6	1,2 ± 8,4
Heneicosano	0,6 ± 0,6	0,4±9,4	0,5 ± 16,0
Docosano	0,8 ± 0,3	0,7±11,3	0,7 ± 15,7
Tricosano	0,7 ± 0,03	0,6±18,2	0,5 ± 14,2
Tetracosano	0,7 ± 0,1	0,6±14,4	0,6 ± 16,9
Pentacosano	0,7 ± 0,6	0,5±8,3	0,5 ± 14,1
Hexacosano	0,7 ± 0,6	0,8±14,7	0,7 ± 14,4
Heptacosano	0,7 ± 0,1	0,6±13,1	0,7 ± 16,1
Octacosano	0,8 ± 0,1	0,7±14,4	0,6 ± 17,5
Nonacosano	0,8 ± 0,9	0,6±7,9	0,7 ± 18,8
Triacotano	0,5 ± 0,7	0,5±5,3	0,5 ± 15,5
Untriacotano	0,7 ± 0,03	0,2±9,9	0,6 ± 16,7
Dotriacotano	0,6 ± 0,8	0,5±11,0	0,6 ± 16,3
Tritriacotano	0,6 ± 0,6	0,4±10,8	0,5 ± 18,9
Tetratriacotano	nd	0,4±8,1	nd
Pentatriacotano	nd	d	nd
Hexatriacotano	nd	nd	nd
Heptatriacotano	nd	nd	nd
Octatriacotano	nd	nd	nd
Nonatriacotano	nd	nd	nd
Total	16,6 ± 4,0	11,0 ± 9,5	14,8 ± 11,1
IPC	1,8±0,9	1,5±0,8	1,8±0,9
RTA	0,8±0,4	1,2±0,6	0,8±0,4
MCNR	64,9±12,4	76,6±12,6	49,3±14,6
MCNR/ Σ n-alcenos	3,9±1,9	7,0±3,5	3,4±1,7

IPC: Índice Preferencial de Carbono; RTA: Razão Terrígeno Aquática; MCNR: Mistura Complexa não Resolvida.

Embora o Σ n-alcenos indicam ambiente pouco impacto, a presença majoritária dos compostos C16, C18 e C20, indicam o aporte de resíduos de combustíveis fósseis. A razão MCNR/ Σ n-alcenos que variou de

3,23 a 4,48, confirma uma contaminação recente por derramamento de óleos e combustíveis, principalmente no P1 e P3, Tabela 11 (TOLOSA et al., 2004; SANCHES FILHO et al., 2013).

Neste estudo, os valores, do IPC foram menores que 2 (faixa de 1,8 a 1,5), os quais indicam insumos petrogênicos. A razão terrestre/aquática (RTA) apresentou valores que variaram de 1,2 a 0,8 (Tabela 11), indicando fontes aquáticas e terrígenas aos sedimentos (ASSUNÇÃO et al., 2017).

CONCLUSÃO

A metodologia otimizada para a determinação de hidrocarbonetos, através da combinação de etapas de pré sonificação juntamente com extração soxhlet, utilizando equipamentos disponíveis na maioria dos laboratórios de análise de contaminantes ambientais, apresentou-se satisfatória com resultados obtidos para limites de detecção, quantificação, precisão, exatidão e recuperação recomendados pelos órgãos ambientais. O procedimento resultou na redução do tempo de extração de 16 horas para 4 horas e 15 minutos e reduziu o volume de solventes utilizados de 300 mL para 100 mL, quando comparados aos métodos oficiais EPA 3550C e EPA 3540C. A aplicação da metodologia nas amostras de sedimento da Praia do Pontal, demonstrou um ambiente pouco impactado, porém foi possível determinar as fontes de hidrocarbonetos relacionadas as atividades antrópicas. Desta forma, a metodologia otimizada constituiu em uma alternativa simples e eficiente, a ser utilizada em laboratórios para a caracterização e monitoramento destes contaminantes em sedimentos lagunares.

REFERÊNCIAS

APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. Washington, DC, USA, 2005.

ASSUNÇÃO, M. A.; FRENA, M.; SANTOS, A. P. S.; MADUREIRA, L. A. S.. Aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments collected from mangroves with different levels of urbanization in southern Brazil. **Marine pollution bulletin**, v. 119, n. 1, p. 439-445, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.03.071>

BET, R. **Origem e destino da matéria orgânica sedimentar na região de desembocadura do Complexo Estuarino de Paranaguá-Paraná/Brasil utilizando marcadores orgânicos geoquímicos**. Monografia (Faculdade de Oceanografia) - Universidade Federal do Paraná, Pontal do Paraná, 2010.

BRITO, N. M.; JUNIOR, O. P. D. A.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 129-146, 2003. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/pes.v13i0>

CAVALCANTE, R. M.; LIMA, D. M.; CORREIA, L. M.; NASCIMENTO, R. F.; SILVEIRA, E. R.; FREIRE, G. S.; VIANA, R. B.. Técnicas de extrações e procedimentos de clean-up para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) em sedimentos da costa do Ceará. **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1371-1377, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422008000600019>

COMMISSION REGULATION (EU) No. 836/2011 amending Regulation (EC) No. 333/2007 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of lead, cadmium, mercury, inorganic tin, 3-MCPD and benzo(a)pyrene in foodstuffs.

DJENNI, Z.; PINGRET, D.; MASON, T. J.; CHEMAT, F.. Sono–Soxhlet: In situ ultrasound-assisted extraction of food products. **Food analytical methods**, v. 6, n. 4, p. 1229-1233, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12161-012-9531-2>

GU, Y. G.; LI, H. B.; LU, H. B.. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface sediments from the largest deep plateau lake in China: Occurrence, sources and biological risk. **Ecological engineering**, v. 101, p. 179-184, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.02.007>

HARTZELL, S. E.; UNGER, M. A.; VADAS, G. G.; YONKOS, L. T.. Evaluating porewater polycyclic aromatic hydrocarbon-related toxicity at a contaminated sediment site using a spiked field-sediment approach. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 37, n. 3, p. 893-902, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/etc.4023>

HASSAN, H. M.; CASTILLO, A. B.; YIGITERHAN, O.; ELOBAID, E. A.; AL-OBAIDLY, A.; AL-ANSARI, E.; OBBARD, J. P.. Baseline concentrations and distributions of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in surface sediments from the Qatar marine environment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 126, p. 58–62, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.10.093>

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL (INMETRO); Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos, DOQ-CGCRE-008, 2003

LOURENÇO, R. A.; MARTINS, C. C.; TANIGUCHI, S.; MAHIQUES, M. M.; MONTONE, R. C.; MAGALHÃES, C. A.; BÍCEGO, M. C.. Distribution and evolution of sterols and aliphatic hydrocarbons in dated marine sediment cores from the Cabo Frio upwelling region, SW Atlantic, Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 24, p. 19888-19901, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9657-2>

LUQUE-GARCIA, J. L.; DE CASTRO, M. L.. Ultrasound-assisted soxhlet extraction: an expeditive approach for solid sample treatment: application to the extraction of total fat from oleaginous seeds. **Journal of Chromatography A**, v. 1034, n. 1-2, p. 237-242, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.02.020>

LUZ, L. P.; SANCHES FILHO, P. J.; DE SOUSA, E. E. H.; KERSTNER, T.; CARAMÃO, E. B.. Evaluation of surface sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in colony Z3—(Patos Lagoon, Brazil). **Microchemical Journal**, v. 96, n. 1, p. 161-166, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2010.03.003>

MOSTAFA, A. R.; WADE, T. L.; SWEET, S. T.; AL-ALIMI, A. K. A.; BARAKAT, A. O.. Distribution and characteristics of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediments of Hadhramout coastal area, Gulf of Aden, Yemen. **Journal of Marine Systems**, v. 78, n. 1, p. 1-8, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2009.02.002>

MOZETO, A. A. Sedimentos e particulados lacustres: amostragens e análises biogeoquímicas. **Amostragem em Limnologia**. São Carlos: RiMa, 2004, p. 295-320.

OLIVEIRA, H. A. D.; FERNANDES, E. H. L.; MÖLLER JUNIOR, O. O.; COLLARES, G. L.. Processos hidrológicos e hidrodinâmicos da Lagoa Mirim. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 20, n. 1, p. 34-45, 2015. DOI: [10.21168/rbrh.v20n1.p34-45](https://doi.org/10.21168/rbrh.v20n1.p34-45)

PENA, M. T.; CASAIS, M. C.; MEJUTO, M. C.; CELA, R.. Development of a matrix solid-phase dispersion method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludge samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 626, n. 2, p. 155-165, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.07.053>

QU, C.; LI, J.; ALBANESE, S.; LIMA, A.; WANG, M.; SACCHI, M.; DE VIVO, B.. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediments of the Gulfs of Naples and Salerno, Southern Italy: Status, sources and ecological risk. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 161, p. 156-163, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.05.077>

SANCHES FILHO, P. J.; LUZ, L. P. D.; BETEMPS, G. R.; SILVA, M. D. R. G. D.; CARAMÃO, E. B.. Studies of n-alkanes in the sediments of colony Z3 (Pelotas-RS-Brazil). **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**, v. 17, n. 1, p. 27-33, 2013. DOI: [10.14210/bjast](https://doi.org/10.14210/bjast)

SANCHES FILHO, P. J.; BÖHM, E. M.; BÖHM, G. M.; MONTENEGRO, G. O.; SILVEIRA, L. A.; BETEMPS, G. R.. Determination of hydrocarbons transported by urban runoff in sediments of São Gonçalo Channel (Pelotas–RS, Brazil). **Marine pollution bulletin**, v. 114, n. 2, p. 1088-1095, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.10.024>

SANTOS, I. R.; BAISCH, P.; DE LIMA, G. T. N. P.; DA SILVA-FILHO, E. V.. Metais pesados em sedimentos superficiais da Lagoa Mirim, fronteira Brasil-Uruguai. **Geochimica brasiliensis**, v. 17, n. 1, 2003. DOI: <https://doi.org/10.21715/gb.v17i1.196>

SOUZA, M. R.; SANTOS, E.; SUZARTE, J. S.; CARMO, L. O.; FRENA, M.; DAMASCENO, F. C.; ALEXANDRE, M. R.. Concentration, distribution and source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in Poxim River sediments, Brazil. **Marine pollution bulletin**, v. 127, p. 478-483, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.12.045>

SUGUIO, K.. Introdução à sedimentologia. 1a Edição. Editora Edgard Blücher/EDUSP, São Paulo, p. 317, 1973.

SUN, R.; SUN, Y.; LI, Q. X.; ZHENG, X.; LUO, X.; MAI, B.. Polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments and marine organisms: Implications of anthropogenic effects on the coastal environment. **Science of the Total Environment**, v. 640, p. 264–272, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.320>

TEÓFILO, Reinaldo F.; Ferreira, M.. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 338-350, 2006.

TOLOSA I.; MORA, S.; SHEIKHOLESAMI, M. R.; VILLENEUVE, J. P.; BARTOCCI, J.; CATTINI, C.. Aliphatic and aromatic hydrocarbons in coastal Caspian Sea sediments. **Marine Pollution Bulletin**, v.48, p. 44–60, 2004. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(03\)00255-8](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(03)00255-8)

UNEP - United Nations Environment Programme. **Determination of petroleum hydrocarbons in sediments**. References Methods for Marine Pollution studies. 1992.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. **Method 3540C- Soxhlet Extraction**, US Environmental Protection Agency, Washington, DC. 1996.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. **Method 5035A-Closed-System Purge-And-Trap and Extraction for Volatile Organics in Soil and Waste Samples**, US Environmental Protection Agency, Washington, DC. 2002.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. **Method 3550C-Ultrasonic Extraction**, US Environmental Protection Agency, Washington, DC. 2007.

XIANG, N.; JIANG, C.; YANG, T.; LI, P.; WANG, H.; XIE, Y.; DIAO, X.. Occurrence and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in seawater, sediments and corals from Hainan Island, China. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 152, p. 8-15, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.01.006>

YOON, J.; CAO, X.; ZHOU, Q.; MA, L. Q.. Accumulation of Pb, Cu, and Zn in native plants growing on a contaminated Florida site. **Science of the total environment**, v. 368, n. 2-3, p. 456-464, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.01.01>

ANEXO 2

AVALIAÇÃO DE N-ALCANOS EM SEDIMENTOS SUPERFICIAIS DA LAGOA MIRIM (RS, BRAZIL)

Resumo

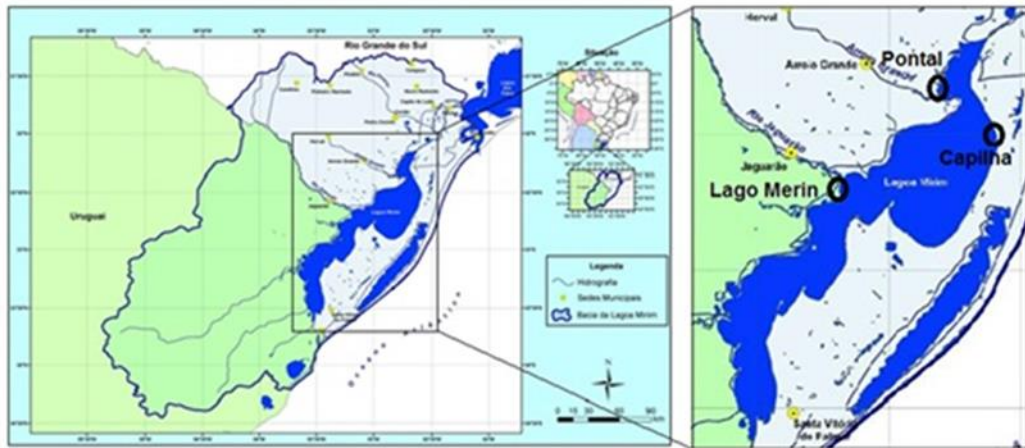
Neste trabalho foi realizada a determinação de hidrocarbonetos (n-alcenos) nos sedimentos da Lagoa Mirim, localizada no sul do Brasil. A metodologia reuniu etapas de pré sonificação, extração soxhlet e determinação por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. Foram avaliados 10 pontos amostrais, onde o Σ n-alcenos variou entre $10,9 \mu\text{g kg}^{-1} \pm 9,5\%$ a $47,6 \mu\text{g kg}^{-1} \pm 17,5\%$. Os índices: preferencial de carbono, razão terrígeno/aquática e MCNR/ Σ n-alcenos indicaram origens petrogênicas e biogênicas (aquática e terrestre). A presença de n-alcenos pares, menores que C20, ratificam a entrada de hidrocarbonetos derivados de petróleo. No geral, as concentrações de n-alcenos deste trabalho, foram relativamente baixas, compatíveis com o ambiente.

Palavras-Chave: contaminação, HAs, sedimentos, GC MS

A Lagoa Mirim é considerada o segundo maior corpo hídrico com características lacustres do Brasil e apresenta área superficial de aproximadamente 3.749 km^2 , a qual um terço está em território uruguaio e dois terços em território brasileiro. O principal uso de suas águas consiste nas extrações diretas para a irrigação das lavouras de arroz e como fonte de água potável para as populações que a circundam (OLIVEIRA et al., 2015; TORMAM et al., 2017).

Os hidrocarbonetos estão listados dentre os principais contaminantes nos dias de hoje, pois são gerados com facilidade e apresentam grande dispersão (HARTZELL et al., 2018). Entre estes, os hidrocarbonetos alifáticos (HAs), principalmente os n-alcenos, podem ajudar na identificação da origem da matéria orgânica e nível de impacto causado no ambiente marinho (SANCHES FILHO et al., 2017). Uma vez no ambiente hídrico, estes compostos são facilmente adsorvidos ao material em suspensão, em função de suas propriedades hidrofóbicas, acumulando-se junto aos sedimentos de rios, lagos e áreas costeiras marinhas, fazendo com que estes se tornem um importante reservatório para estudo de contaminantes ambientais (LIN et al., 2018).

Com o objetivo de determinar os níveis de hidrocarbonetos em sedimentos da Lagoa Mirim, dez amostras de sedimento superficial (0-5 cm), foram coletados usando uma draga de aço, van veen, em agosto/2018, nos locais georreferenciados na Figura 1. As amostras foram mantidas em um frasco esterelizado, armazenado a $4 \text{ }^\circ\text{C}$. Foram determinados, pH (1:2 sedimento/água do mesmo ponto) (APHA, 2005), matéria orgânica (MO) (combustão de $550 \text{ }^\circ\text{C}$, por 4 horas) (APHA, 2005) e granulometria, pela escala de wentworth (SUGUIO, 1973).



A exata posição dos pontos amostrais foi definido através do GPS (Garmin & trex 10, precisão de ± 15 m)



1: 32°19'54" S
52°49'14" W;
2: 32°19'59" S
52°49'13" W;
3: 32°20'05" S
52° 49'13" W

Praia do Pontal

Balneário e reserva ecológica, com águas doces e rasas, nos meses de verão uma população flutuante.



4: 32°29'15" S
52°36'12" W
5: 32°29'34" S
52°35'48" W
6: 32°29'46" S
52°35'38" W
7: 32°30'05" S
52°35'32" W
8: 32°30'30" S
52°35'24" W

Capilha de Rio Grande

Uma pequena aldeia à margem leste da Lagoa Mirim, pertence ao distrito do Taim, na cidade de Rio Grande, praias com águas rasas e arenosas.



9: 32°24'55" S
53°15'24" W
10: 32°44'40" S
53°15'16" W

Lago Merim

O balneário localiza-se a 20 km de Rio Branco (cidade uruguaia) que faz fronteira com Jaguarão (cidade brasileira).

Figura 1. Localização Geográfica da Lagoa Mirim e dos locais de amostragem de sedimento.

A Tabela 1 apresenta as características físico-químicas destes sedimentos. A MO variou entre $0,05 \pm 13,7\%$ (P5) e $1,7 \pm 1,9\%$ (P3), indicando baixas concentrações de MO e sedimentos inorgânicos. A análise de granulometria mostrou um sedimento homogêneo, com a maioria dos grãos $\leq 0,125$ mm, caracterizando-se em uma areia fina e facilitando a adsorção dos HAs nesta matriz.

Tabela 1. Caracterização preliminar do sedimento da Lagoa Mirim. MO (% \pm RSD%). Granulometria (mm).

Parâmetro	Pontal					Capilha			Lago Merim	
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
MO	0,8 \pm 15,6	0,5 \pm 23,3	1,7 \pm 1,9	0,1 \pm 7,0	0,05 \pm 13,7	0,1 \pm 8,0	0,2 \pm 5,9	0,2 \pm 4,8	0,3 \pm 13,9	0,2 \pm 14,6
Umidade	24,8 \pm 2,1	25,3 \pm 1,6	27,4 \pm 1,6	19,9 \pm 4,8	17,6 \pm 0,8	16,5 \pm 3,5	22,8 \pm 0,4	21,6 \pm 6,3	19,8 \pm 0,7	20,7 \pm 3,9
pH	6,9	7,2	6,4	7	7,2	6,8	7	7	6,6	6,64
>0,125	4,0 \pm 8,1	5,0 \pm 15,0	3,5 \pm 11,9	7,7 \pm 4,7	1,7 \pm 12,5	12,5 \pm 8,1	6,4 \pm 14,2	0,6 \pm 4,1	82,1 \pm 2,1	74,1 \pm 13,9
$\leq 0,125$	96,0 \pm 0,3	95,0 \pm 0,8	96,5 \pm 0,4	92,3 \pm 3,9	98,3 \pm 0,2	87,5 \pm 8,3	93,6 \pm 9,9	99,4 \pm 0,0	17,9 \pm 9,6	25,9 \pm 9,7

A extração dos analitos foi realizada conforme metodologia otimizada em trabalhos anteriores (ARDUIM et al., 2019). Para avaliar o desempenho da extração, a amostra de sedimento foi fortificada com 250 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de uma solução de Hexadeceno (1 – hexadeceno), adquirida a partir de Supelco (Bellefonte, PA, EUA).

Amostras de sedimento (± 20 g) juntamente com 100 mL de uma mistura de hexano/acetona (1:1 v/v) foram sonificadas por 15 min (USC 4800A Unique, frequência 40 KHZ), a temperatura ambiente. Em seguida foram filtradas e transferidas para o processo de extração por soxhlet (4h). O extrato obtido foi fracionado por cromatografia líquida preparativa em coluna, contendo 1 g de Na_2SO_4 anidro ativado, agulhas de cobre, 3,2 g de sílica gel 5% desativada, 1,8 g de alumina 2% desativada e 1 g de Na_2SO_4 anidro, utilizando 20 mL de hexano para a eluição dos HAs. (UNEP, 1992).

Para análise cromatográfica uma alíquota de 1 μL de cada extrato (em triplicata) foi automaticamente injetada (AOC-20i Shimadzu), em um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas GC/MS-QP2010 Ultra, equipado com um sistema de aquisição de dados GC Solution Shimadzu. Os padrões cromatográficos para análise de n-alcenos (C8 - C20 e C21 - C40), foram adquiridos a partir da Sigma Aldrich (Bellefonte, PA, USA) e a solução padrão foi obtida pela diluição de um padrão de 5 mg L^{-1} em diclorometano. As condições cromatográficas estão expressas na Tabela 2.

Tabela 2. Condições cromatográficas para a análise em GC/MS.

Parâmetro	Especificação
Coluna	RTx-5ms coluna (30m x 0,25 mm d.i. x 0,25 μm espessura de filme (J & W Scientific, Folsom, CA, USA)
Modo de Injeção	Splitless
Temperatura do injetor	280 °C
Temperatura da interface	200 °C
Ionização	Eletron-Impacto (EI) em 70 eV
Gás de transporte/fluxo	Hélio (1,0 mL min^{-1})
Temperatura do forno	Temperatura inicial 60 °C (10min) 5 °C min^{-1} , 200 °C, (5min), 10 °C min^{-1} 300 °C (35 min)

O controle analítico foi assegurado através da linearidade que foi estudada a partir dos coeficientes de correlação (r^2) gerados a partir da curva de calibração na faixa de 0,5 - 5 mg L^{-1} , que apresentaram valores $> 0,98$. A precisão do método cromatográfico foi desenvolvida repetindo 11 vezes a análise do padrão de 4 mg L^{-1} para n-alcenos. O método é considerado preciso, para maioria dos analitos, apresentando valores entre 0,1 e 9,8% para RSD%, por serem avaliados na faixa de mg L^{-1} admite-se RSD na ordem de 5% e apenas os n-alcenos superiores a C37 apresentaram valores superiores a este limite (INMETRO, 2003). O limite de detecção (LD) foi calculado utilizando-se três vezes o desvio padrão do sinal do branco, enquanto que o limite de quantificação (LQ) foi calculado dez vezes o desvio padrão do sinal do branco, ambos divididos pelo coeficiente angular e seus resultados variaram de 0,02 a 0,28 e 0,06 a 0,93 mg kg^{-1} , respectivamente, considerando uma massa de 20 g com 100% de recuperação.

Para o cálculo de recuperação, o resultado médio obtido foi de $67,0\% \pm 8,9\%$ para hexadeceno, este valor está em acordo com o recomendado pela União Europeia, que admite valores para recuperação de 50 a 120% (COMMISSION REGULATION, 2011) e com a *Environmental Protection Agency* (USEPA) que sugere valores de recuperação na faixa de 70 a 130%, com um desvio padrão relativo máximo de 30% (SILVA et al., 2013).

A concentração, os índices e razões usados para determinar a origem dos n-alcenos no ambiente são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Concentrações de n-alcenos ($\text{mg kg}^{-1} \pm \text{RSD}\%$) em sedimentos da Lagoa Mirim.

n-alcenos	LD	LQ	Pontal					Capilha			Lago Merim	
			P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
C9	0,02	0,06	nd	nd	nd	nd	nd	nd	0,8 ± 6,9	nd	nd	nd
C10	0,03	0,09	nd	nd	nd	0,4 ± 6,1	nd	nd	0,1 ± 10,0	nd	nd	nd
C11	0,03	0,11	nd	nd	nd	1,0 ± 2,3	nd	nd	3,9 ± 19,9	nd	nd	nd
C12	0,04	0,12	nd	nd	nd	5,0 ± 13,8	0,8 ± 8,9	2,8 ± 1,9	0,9 ± 11,8	0,8 ± 14,7	nd	nd
C13	0,04	0,12	nd	nd	nd	1,4 ± 18,7	0,7 ± 7,5	0,9 ± 1,9	0,8 ± 13,1	0,7 ± 16,7	nd	nd
C14	0,04	0,14	0,7 ± 0,8	0,3 ± 1,7	0,7 ± 4,4	4,1 ± 12,2	2,6 ± 7,6	4,5 ± 3,4	2,0 ± 19,1	0,9 ± 17,9	nd	1,5 ± 0,1
C15	0,04	0,14	0,9 ± 0,4	0,3 ± 1,6	0,8 ± 8,7	0,4 ± 2,2	0,5 ± 2,2	0,3 ± 17,3	0,8 ± 6,5	0,7 ± 16,0	nd	1,6 ± 0,3
C16	0,04	0,13	1,9 ± 0,5	0,2 ± 0,6	1,8 ± 1,9	4,2 ± 16,7	2,7 ± 9,2	4,4 ± 6,1	6,2 ± 6,2	3,7 ± 18,9	3,7 ± 5,1	4,0 ± 0,8
C17	0,04	0,13	1,0 ± 1,0	0,8 ± 7,2	0,9 ± 18,5	0,5 ± 16,9	0,4 ± 8,3	0,5 ± 2,0	0,9 ± 9,4	0,8 ± 18,9	2,6 ± 2,7	1,2 ± 0,3
C18	0,04	0,12	1,3 ± 0,7	0,5 ± 7,0	1,2 ± 3,7	1,9 ± 9,7	1,1 ± 15,1	1,2 ± 31,0	3,1 ± 15,7	2,0 ± 15,6	3,0 ± 3,3	2,2 ± 0,7
C19	0,04	0,13	0,8 ± 0,7	0,6 ± 3,0	0,8 ± 15,3	0,5 ± 16,6	0,5 ± 13,3	0,4 ± 16,8	1,0 ± 24,4	1,3 ± 8,9	2,6 ± 3,0	1,4 ± 0,2
C20	0,04	0,13	1,1 ± 0,4	0,7 ± 2,6	1,2 ± 8,4	1,2 ± 13,7	1,3 ± 5,1	1,0 ± 4,6	2,7 ± 15,9	2,1 ± 5,7	3,0 ± 3,8	2,0 ± 1,5
C21	0,03	0,11	0,6 ± 0,6	0,4 ± 9,4	0,5 ± 16,0	0,3 ± 5,8	0,4 ± 3,2	0,4 ± 2,3	0,8 ± 8,8	1,0 ± 8,9	2,3 ± 2,4	1,0 ± 1,5
C22	0,04	0,12	0,8 ± 0,3	0,7 ± 11,3	0,7 ± 15,7	0,7 ± 5,2	1,0 ± 12,6	0,6 ± 3,7	1,6 ± 11,3	1,9 ± 15,9	2,5 ± 3,2	1,7 ± 0,7
C23	0,04	0,12	0,7 ± 0,03	0,6 ± 18,2	0,5 ± 14,2	0,5 ± 11,8	0,6 ± 3,8	0,4 ± 10,8	1,0 ± 4,7	1,4 ± 3,4	2,7 ± 3,2	1,6 ± 0,7
C24	0,03	0,12	0,7 ± 0,1	0,5 ± 14,4	0,6 ± 16,9	0,9 ± 7,6	1,1 ± 10,9	0,5 ± 1,1	1,4 ± 19,1	1,7 ± 14,8	2,6 ± 2,7	2,1 ± 1,4
C25	0,03	0,12	0,7 ± 0,6	0,5 ± 8,3	0,5 ± 14,1	0,4 ± 13,2	0,7 ± 7,7	0,4 ± 9,3	1,0 ± 18,4	1,7 ± 15,8	2,3 ± 2,5	2,1 ± 0,8
C26	0,04	0,12	0,7 ± 0,6	0,8 ± 14,7	0,7 ± 14,4	0,7 ± 7,7	0,8 ± 17,1	0,6 ± 7,1	1,6 ± 10,3	1,4 ± 6,4	2,8 ± 3,3	2,9 ± 1,0
C27	0,04	0,12	0,7 ± 0,1	0,6 ± 13,1	0,7 ± 16,1	0,5 ± 1,7	0,7 ± 3,8	0,4 ± 3,5	1,2 ± 3,9	1,6 ± 17,8	2,6 ± 2,9	2,2 ± 1,4
C28	0,04	0,13	0,8 ± 0,1	0,7 ± 14,4	0,6 ± 17,5	0,5 ± 3,8	0,6 ± 19,6	0,5 ± 1,9	1,2 ± 9,0	1,2 ± 19,4	2,8 ± 3,4	2,3 ± 1,5
C29	0,04	0,15	0,8 ± 0,9	0,6 ± 7,9	0,7 ± 18,8	0,5 ± 4,7	0,5 ± 19,9	0,6 ± 2,6	1,5 ± 15,2	1,2 ± 18,3	2,8 ± 2,7	2,0 ± 1,5
C30	0,05	0,17	0,5 ± 0,7	0,4 ± 5,3	0,5 ± 15,5	0,5 ± 13,4	0,6 ± 10,8	0,4 ± 5,7	0,9 ± 4,9	1,0 ± 9,3	2,4 ± 1,5	1,6 ± 1,1
C31	0,06	0,20	0,7 ± 0,03	0,2 ± 9,9	0,6 ± 16,8	0,3 ± 9,9	0,6 ± 0,6	0,5 ± 3,2	1,2 ± 10,2	1,6 ± 11,1	2,6 ± 2,6	1,3 ± 0,5
C32	0,06	0,20	0,6 ± 0,8	0,5 ± 11,0	0,6 ± 16,3	0,3 ± 9,9	0,6 ± 0,7	0,4 ± 6,4	1,0 ± 9,5	1,2 ± 2,6	3,0 ± 2,4	1,3 ± 0,3
C33	0,10	0,32	0,6 ± 0,6	0,4 ± 10,8	0,5 ± 18,9	d	0,4 ± 0,02	0,3 ± 7,7	0,9 ± 0,9	1,0 ± 11,5	nd	nd
C34	0,09	0,31	nd	0,4 ± 8,1	nd	d	0,3 ± 1,9	0,3 ± 9,8	0,8 ± 5,5	nd	nd	nd

Continuação da Tabela 3

C35	0,15	0,49	nd	d	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C36	0,26	0,88	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C37	0,28	0,93	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C38	0,05	0,17	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C39	0,08	0,26	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C40	0,08	0,27	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Total	-	-	16,6 ± 4,0	10,9 ± 9,5	14,8 ± 11,1	22,9 ± 15,6	22,2 ± 1,0	24,0 ± 10,2	32,0 ± 7,0	30,8 ± 10,2	46,3 ± 19,4	47,6 ± 17,5	
IPC	-	-	1,8 ± 0,9	1,5 ± 0,8	1,8 ± 0,9	1,3 ± 0,6	1,4 ± 0,7	1,5 ± 0,7	1,5 ± 0,7	2,0 ± 1,0	1,4 ± 0,7	1,4 ± 0,7	
RTA	-	-	0,8 ± 0,4	1,2 ± 0,6	0,8 ± 0,4	1,0 ± 0,5	1,3 ± 0,6	1,1 ± 0,5	1,4 ± 0,7	1,6 ± 0,8	1,1 ± 0,5	1,4 ± 0,7	
MCNR	-	-	64,9 ± 12,4	76,6 ± 12,6	49,3 ± 14,6	9,3 ± 4,6	3,9 ± 5,9	8,1 ± 2,0	12,8 ± 6,4	12,3 ± 6,2	25,7 ± 12,8	46,2 ± 13,1	
MCNR/ Σ n- alcanos	-	-	3,9 ± 2,0	7,0 ± 3,5	3,4 ± 1,7	0,4 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,6 ± 0,3	1,1 ± 0,5	

IPC: Índice Preferencial de Carbono= $1/2[C_{25}+C_{27}+C_{29}+C_{31}+C_{33}]/[C_{24}+C_{26}+C_{28}+C_{30}+C_{32}]$; RTA: Razão Terrígeno Aquática= $[C_{27}+C_{29}+C_{31}]/[C_{15}+C_{17}+C_{19}]$; MCNR: Mistura complexa não resolvida; LD: limite de detecção (mg kg^{-1}); d: detectado; nd: não detectado.

Foram encontrados, de forma geral, n-alcenos entre C14 e C33 e o Σ n-alcenos variou de $2,2 \text{ mg kg}^{-1} \pm 9,5\%$ (P2), a $47,6 \pm 17,5\%$ (P10). Estes resultados estão de acordo com os valores encontrados no sistema estuarino do rio Sergipe, Brasil [valores entre $9,9 \mu\text{g g}^{-1} - 30,8 \mu\text{g g}^{-1}$ (LIMA et al., 2012)], Ilha de Florianópolis, Brasil, com valores entre $1,19 \mu\text{g g}^{-1} - 45,60 \mu\text{g g}^{-1}$ (ASSUNÇÃO et al., 2018)] e maiores que os resultados apresentados no sistema estuarino em Vaza Barris, Sergipe, Brasil [valores entre $0,19 \mu\text{g g}^{-1} - 8,5 \mu\text{g g}^{-1}$ (BARBOSA et al., 2016)]. Pode-se perceber, que o somatório de n-alcenos aumenta para os pontos P9 e P10, este comportamento está relacionado a proximidade destes pontos a intensa atividade antropogênica. O mesmo efeito acontece para os resultados de P4 para P8 na Praia da Capilha.

O Σ n-alcenos indica um ambiente pouco impactado, de acordo com Volkman et al. (1980), que apresenta um limite de 500 mg kg^{-1} para um sedimento ser considerado contaminado. A presença majoritária dos compostos C16, C18 e C20, indicam o aporte de resíduos de combustíveis fósseis.

Na tabela 3 é apresentado o índice de preferência de carbono (IPC), que representa a predominância ímpar/par em hidrocarbonetos alifáticos, para insumos petrogênicos os limites estão ~ 1 , e para entradas biogênicas ~ 4 (WANG et al., 2015). De modo geral, os valores para o IPC, neste trabalho encontraram-se na faixa de 1,3 a 2,3, indicando fontes mistas para matéria orgânica com forte colaboração petrogênica. O que está em acordo com a razão MCNR/ Σ n-alcenos que variou de $0,2 \pm 0,1\%$ a $7,0 \pm 3,5\%$, confirmando uma contaminação recente por derramamento de óleos e combustíveis, principalmente no P1 e P3 (TOLOSA et al., 2004; SANCHES FILHO et al., 2013). Porém estes valores < 10 , indicam uma poluição diluída pelo insumo natural, mostrando uma importante biodegradação dos insumos relacionados ao petróleo (SILVA et al., 2013).

A RTA caracteriza as fontes biogênicas como, terrestre ou aquática, sendo tipicamente > 1 para entrada terrestre e < 1 para aquática (LIMA et al., 2012). As amostras P1, P3 e P4 apresentaram maiores concentrações para n-alcenos C17 e C15 para o cálculo da RTA, enquanto que para os demais, os Cmax foram, C27 e C29, típico das plantas terrestres. Este comportamento está de acordo quando o cálculo é realizado, apresentando valores de 0,8 a 1,6 indicando insumos terrígenos aos sedimentos, e insumos aquáticos para as amostras P1, P3 e P4 (Tabela 3).

Os níveis e distribuição de hidrocarbonetos nos sedimentos superficiais da Lagoa Mirim permitiram caracterizar a MO de origem petrogênica e biogênica. De forma geral, as baixas concentrações de MO e n-alcenos, indicaram sedimentos não contaminados. Estes dados servirão de base para o monitoramento da Lagoa Mirim em estudos futuros, dado a importância deste ambiente hídrico para a região Sul do Brasil e para o mundo.

REFERENCIAS

- APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. Washington, DC, USA, 2005.
- ASSUNÇÃO, M. A.; FRENA, M.; SANTOS, A. P. S.; MADUREIRA, L. A. S.. Aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments collected from mangroves with different levels of urbanization in southern Brazil. **Marine pollution bulletin**, v. 119, n. 1, p. 439-445, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.03.071>
- BARBOSA, J. C. S.; SANTOS, L. G.; SANT'ANNA, M. V.; SOUZA, M. R.; DAMASCENO, F. C.; ALEXANDRE, M. R.. Seasonal distribution of aliphatic hydrocarbons in the Vaza Barris estuarine system, Sergipe, Brazil. **Marine pollution bulletin**, v. 104, n. 1-2, p. 343-346, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.01.037>
- COMMISSION REGULATION (EU) **laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of lead, cadmium, mercury, inorganic tin, 3-MCPD and benzo(a)pyrene in foodstuffs** amending Regulation (EC) No. 333/2007. No. 836/2011.
- HARTZELL, S. E.; UNGER, M. A.; VADAS, G. G.; YONKOS, L. T.. Evaluating porewater polycyclic aromatic hydrocarbon-related toxicity at a contaminated sediment site using a spiked field-sediment approach. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 37, n. 3, p. 893-902, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/etc.4023>
- INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL (INMETRO); **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos**, DOQ-CGCRE-008, 2003.
- LIMA, M. B.; FEITOSA, E. A.; EMÍDIO, E. S.; DÓREA, H. S.; ALEXANDRE, M. R.. Distribution and sources of aliphatic hydrocarbons in surface sediments of Sergipe River estuarine system. **Marine pollution bulletin**, v. 64, n. 8, p. 1721-1725, 2012.
- LIN, F.; HAN, B.; DING, Y.; LI, Q.; GAO, W.; ZHENG, L.. Distribution characteristics, sources, and ecological risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from the Qinhuangdao coastal wetland, China. **Marine pollution bulletin**, v. 127, p. 788-793, 2018.
- OLIVEIRA, H. A. D.; FERNANDES, E. H. L.; MÖLLER JUNIOR, O. O.; COLLARES, G. L.. Processos hidrológicos e hidrodinâmicos da Lagoa Mirim. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 20, n. 1, p. 34-45, 2015. DOI: [10.21168/rbrh.v20n1.p34-45](https://doi.org/10.21168/rbrh.v20n1.p34-45)
- SANCHES FILHO, P. J.; LUZ, L. P. D.; BETEMPS, G. R.; SILVA, M. D. R. G. D.; CARAMÃO, E. B.. Studies of n-alkanes in the sediments of colony Z3 (Pelotas-RS-Brazil). **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**, v. 17, n. 1, p. 27-33, 2013. DOI: [10.14210/bjast](https://doi.org/10.14210/bjast)
- SANCHES FILHO, P. J.; BÖHM, E. M.; BÖHM, G. M.; MONTENEGRO, G. O.; SILVEIRA, L. A.; BETEMPS, G. R.. Determination of hydrocarbons transported by urban runoff in sediments of São Gonçalo Channel (Pelotas-RS, Brazil). **Marine pollution bulletin**, v. 114, n. 2, p. 1088-1095, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.10.024>
- SILVA, T.R.; LOPES, S.R.P.; SPÖRL, G.; KNOPPERS, B.A.; AZEVEDO, D.A.. Evaluation of anthropogenic inputs of hydrocarbons in sediment cores from a tropical Brazilian estuarine system. **Microchem. J**, v. 109, p. 178-188, 2013.
- SUGUIO, K.. **Introdução à sedimentologia**. 1a Edição. Editora Edgard Blücher/EDUSP, São Paulo, p. 317, 1973
- TOLOSA I.: MORA, S.; SHEIKHOESLAMI, M. R.; VILLENEUVE, J. P.; BARTOCCI, J.; CATTINI, C.. Aliphatic and aromatic hydrocarbons in coastal Caspian Sea sediments. **Marine Pollution Bulletin**, v.48, p. 44-60, 2004. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(03\)00255-8](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(03)00255-8)
- TORMAM, M. F.; BORK, C. K.; GUEDES, H. A. S.; MANZKE, J.; FERRÃO, A. L.. Variabilidade sazonal da qualidade da água na Lagoa Mirim, RS, Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia e Sustentabilidade**, v. 4, n. 2, p. 54-59, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.15210/rbes.v4i2.12245>
- UNEP - United Nations Environment Programme. Determination of petroleum hydrocarbons in sediments. **References Methods for Marine Pollution studies**. 1992.

VOLKMAN J.K.; JOHNS, R. B.; GILLAN F. T.; PERRY, G. J.. Microbial lipids of an intertidal sediments. I – Fatty acids and hydrocarbons. **Geochimica et Cosmochimica Acta**,v 44,p 1133-1143,1980. DOI:[https://doi.org/10.1016/0016-7037\(80\)90067-8](https://doi.org/10.1016/0016-7037(80)90067-8)

WANG, M.; WANG, C.; HU, X.; ZHANG, H.; HE, S.; LV, S.. Distributions and sources of petroleum, aliphatic hydrocarbons and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface sediments from Bohai Bay and its adjacent river, China. **Marine pollution bulletin**, v. 90, n. 1-2, p. 88-94, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.11.017>

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir das figuras de mérito obtidas para o método otimizado (erro relativo, coeficiente de correlação e desvio padrão relativo) pode-se concluir que a metodologia é exata e precisa. Obteve-se limites de detecção sensíveis e seletivos, visto que, os compostos em sua maioria apresentaram boa separação, o que fornece segurança na determinação dos mesmos. Além disso, os resultados para o estudo de recuperação de hexadeceno e HPAs deuterados está de acordo com às recomendações da União Europeia e do INMETRO.

O uso do delineamento composto central mostrou-se eficiente para avaliar as interações do tempo de extração sob ultrassom e soxhlet, com a recuperação de hexadeceno e HPAs deuterados, reduzindo o número de experimentos. O tempo de soxhlet e a interação entre o tempo de ultrassom e o tempo de soxhlet, apresentaram efeitos negativos na extração, sendo assim, a maior recuperação de HPAs deuterados e hexadeceno ocorreu quando foi utilizado um menor tempo de ultrassom e soxhlet.

Comparando com os métodos oficiais EPA 3550C e EPA 3540C o procedimento resultou na redução do tempo de extração em soxhlet de 36 para 4 horas e reduziu o volume de solventes utilizados no ultrassom, de 300 para 100 mL, mantendo-se um método simples e utilizando os mesmos equipamentos.

Por meio da caracterização físico-química foi possível verificar a homogeneidade e a baixa concentração de MO no sedimento, o que dificulta a absorção dos hidrocarbonetos nesta matriz, por outro lado, a granulometria está relacionada diretamente com a adsorção dos hidrocarbonetos no sedimento, pois este é composto por areia fina e muito fina, conferindo-lhe maior área superficial.

A aplicação da metodologia nas amostras de sedimento da Lagoa Mirim, permitiu diagnosticar um ambiente pouco impactado, devido os baixos níveis de HPAs e n-alcanos encontrados, porém através da avaliação dos aportes naturais e antrópicos, inferiu-se sobre a origem da matéria orgânica e identificou-se os compostos presentes. De forma geral, a região recebe fontes mistas para matéria orgânica e as razões diagnósticas envolvendo n-alcanos, sugerem uma forte contribuição de material petrogênico, assim como os HPAs, na Praia do Pontal, que estão relacionados à combustão (tanto de biomassa vegetal quanto de combustíveis fósseis).

Desta forma, a metodologia otimizada constituiu-se como uma alternativa simples e eficiente, a ser utilizada em laboratórios para a caracterização e monitoramento destes contaminantes em sedimentos lagunares.

Normas da Revista RICA para o Artigo Apresentado no Anexo I

ESTRUTURA

Seção Artigos

Na seção Artigos serão publicados artigos originais ou de revisão. Artigos originais são aqueles que apresentam temas e abordagem originais, enquanto artigos de revisão são aqueles que melhoram ou atualizam significativamente as informações de trabalhos anteriormente publicados. A estrutura do artigo, entre 10 e 20 laudas¹, deve conter os elementos pré-textuais, os textuais no formato IRMRDC (Introdução, Revisão, Metodologia, Resultados, Discussão e Conclusões) para trabalhos com resultados de campo, ou IMD_TC (Introdução, Metodologia, Discussão Teórica e Conclusões) para pesquisas de revisão teórica sem resultados de campo, e ainda os elementos pós-textuais, como segue:

Elementos pré-textuais: título, subtítulo (se houver), nome e biografia dos autores (apenas no sistema, pois na fase de submissão, devem ser excluídos do arquivo em Word ou Open Office), resumo, palavras-chave (3 a 5), tradução para o inglês do título, subtítulo, resumo (abstract) e palavras-chave (keywords);

Elementos textuais (IRMRDC) para pesquisas com resultado de campo:

Introdução: contextualização histórica, fundamentação e delimitação do assunto, objetivos e justificativas;

Revisão teórica: parte opcional que deverá ser concisa e clara e pode ser dividida em subseções ou capítulos;

Metodologia (ou materiais e métodos): elaborada de forma que permita a replicabilidade da pesquisa;

Resultados: preferencialmente usando figuras, gráficos, tabelas, quadros, claros e legíveis, para proporcionar posterior discussão e comparação com outras pesquisas;

Discussão: explicação ou comparação dos resultados, no mesmo trabalho ou com outras pesquisas semelhantes;

Conclusões: opinião ou reflexão pessoal sobre o assunto, bem como proposituras de cunho científico.

O manuscrito deve ser iniciado com o Título, que deve ser conciso e informativo, com no máximo 15 palavras, todo em maiúsculas, negrito e centralizado. Os subtítulos incluídos no texto devem ser em maiúsculas, não numerados e alinhados à esquerda. Não deverão ser colocados os dados dos autores para preservar o sigilo da avaliação por pares cegas.

Logo após o Título, inserir o Resumo, que deve ter caráter informativo, apresentando as idéias mais importantes do trabalho, escrito em espaçamento simples, em um único parágrafo que deverá ter entre 200 e 400 palavras. Incluir, ao final, de 03 (três) até 05 (cinco) Palavras-chave. Na continuidade, o autor deverá traduzir para a língua inglesa o Título, o Resumo e as Palavras-chave, nomeando a tradução para o inglês de Abstract e Keywords, respectivamente.

Nas Referências, as obras/autores devem ter sido citadas no texto do trabalho e devem obedecer as dispostas no final deste documento, que foram constituídas com base nas orientações da ABNT, bem como as orientações no final deste documento. Trata-se de uma listagem dos livros, artigos e outros elementos de autores efetivamente utilizados e referenciados ao longo do artigo. Não podem existir referências sem as devidas citações, e vice-versa.

FORMATAÇÃO

O manuscrito deve ser editado em Microsoft Word ou Open Office, sendo formatado em tamanho A4 (210 x 297 mm), texto na cor preta e fonte Calibri, tamanho 11 para o texto e tamanho 10 para citações longas, legendas de figuras, tabelas e referências, com ilustrações em escala cinza. Todas as margens do manuscrito (superior, inferior, esquerda e direita) devem ter 2,0 cm.

Os resumos, em qualquer uma das seções, deverão manter espaçamento simples em um único parágrafo e alinhamento justificado. Conteúdo e legendas de tabelas, quadros e figuras devem estar em Calibri, tamanho 9.

Os manuscritos deverão ter espaçamento entre linhas de 1,5, contendo espaçamento entre parágrafos, e estes, em alinhamento justificado e com recuo especial da primeira linha de 1,25. As notas de rodapé, as legendas de ilustrações e tabelas, e as citações textuais longas devem ser formatadas em espaço simples de entrelinhas.

As ilustrações que compreendem tabelas, gráficos, desenhos, mapas e fotografias, lâminas, plantas, organogramas, fluxogramas, esquemas ou outros elementos autônomos devem aparecer sempre que possível na própria folha onde está inserido o texto a que se refere.

CITAÇÕES

Citações são informações extraídas de outra fonte, e podem ser classificadas em: citação direta (quando é feita a partir de uma transcrição literal, ou seja, palavra por palavra, de trecho do texto do autor da obra consultada); citação indireta (quando são inseridas de forma não-litera, ou seja, ideias pertencentes ao autor ou a diversos autores); citação de citação (é aquela citação, direta ou indireta, de uma obra original a que não se teve acesso, mas que se teve conhecimento por citação existente em outra obra, desta vez com acesso efetivo).

REFERÊNCIAS

Entende-se por referências bibliográficas o conjunto de elementos que permitem a identificação, no todo ou em parte, de documentos impressos ou registrados em diversos tipos de materiais. As referências bibliográficas são uma lista de fontes consultadas e citadas ao longo do corpo do trabalho, estas devem ser listadas em ordem alfabética de autor, alinhadas a esquerda, em tamanho 10, espaço simples entre linhas, e duplo entre as referências. Em nossa plataforma, e conseqüentemente em todos os periódicos da mesma, as referências seguem as orientações da ABNT.

ATENÇÃO: as obras que tiverem registro internacional do tipo DOI da CrossRef devem ter obrigatoriamente ao final o número de registro, como segue no exemplo abaixo:

SILVA, C. E.; PINTO, J. B.; GOMES, L. J.. Ecoturismo na Floresta Nacional do Ibura como potencial fomento de sociedades sustentáveis. Revista Nordestina de Ecoturismo, Aracaju, v.1, n.1, p.10-22, 2008. DOI: <http://doi.org/10.6008/ESS1983-8344.2008.001.0001>

ATENÇÃO: O “et al.” só pode ser utilizado nas CITAÇÕES e não nas REFERÊNCIAS, onde deve constar obrigatoriamente o nome de todos os autores.

De forma genérica as referências devem ter os seguintes elementos: autor (quem?); título (o que?); edição; local de publicação (onde?); editora; e data de publicação da obra (quando?). Seguem orientações específicas para listagem de referências de alguns tipos mais usuais de obras consultadas:

- a) periódicos (artigos de revistas científicas)

ARAÚJO, P. C.; CRUZ, J. B.; WOLF, S. M.; RIBEIRO, T. V. A. R.. Empreendedorismo e educação empreendedora: confrontação entre a teoria e a prática. Revista de Ciência da Administração, Florianópolis, v.8, n.15, p.45-67, 2006.

TAYRA, F.; RIBEIRO, H.. Modelos de indicadores de sustentabilidade: síntese e avaliação crítica das principais experiências. Saúde e Sociedade, São Paulo, v.15, n.1, p.84-95, 2006.

SILVA, C. E.; PINTO, J. B.; GOMES, L. J.. Ecoturismo na Floresta Nacional do Ibura como potencial fomento de sociedades sustentáveis. Revista Nordestina de Ecoturismo, Aracaju, v.1, n.1, p.10-22, 2008.

b) livros

MARCONI, M. A.; LAKATOS, E. M.. Técnicas de pesquisa: planejamento e execução de pesquisas, amostragens e técnicas de pesquisas, elaboração, análise e interpretação de dados. 6 ed. São Paulo: Atlas, 2007.

KAPLAN, R. S.; NORTON, D. P.. A estratégia em ação: balanced scorecard. 26 ed. Rio de Janeiro: Elseiver, 1997.

QUIROGA, R.. Indicadores de sostenibilidad ambiental y de desarrollo sostenible: estado del arte y perspectivas. Santiago do Chile: CEPAL, 2001.

SEGNESTAM, L.; WINOGRAD, M.; FARROW, A.. Desarrollo de indicadores: lecciones aprendidas de América Central. Washington: CIAT-BM-PNUMA, 2000.

c) capítulos de livro

BOO, E.. O planejamento ecoturístico para áreas protegidas. In: LINDBERG, K.; HAWKINS, D. E.. Ecoturismo: um guia para planejamento e gestão. São Paulo: Senac São Paulo, 1999. p.65-80.

PEDRINI, A. G.. A educação ambiental no ecoturismo brasileiro: passado e futuro. In: SEABRA, G.. Turismo de base local: identidade cultural e desenvolvimento regional. João Pessoa: EDUEPB, 2007. p.30-56.

d) anais de eventos

SILVA, C. E.. Ecoturismo no Horto Florestal do Ibura como potencial fomento de sociedades sustentáveis. In: ENCONTRO PARANAENSE DE EDUCAÇÃO AMBIENTAL, 9. Anais. Guarapuava: Unicentro, 2006.

PAIVA JÚNIOR, F. G.; CORDEIRO, A. T.. Empreendedorismo e o espírito empreendedor: uma análise da evolução dos estudos na produção acadêmica brasileira. In: ENCONTRO ANUAL DA ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS PROGRAMAS DE PÓSGRADUAÇÃO EM ADMINISTRAÇÃO, 27. Anais. Salvador: UFBA, 2002.

e) revistas de notícias

NILIPOUR, A. H.; BUTCHER, G. D.. Manejo de broilers: las primeras 24 horas. Industria Avicola, Mount Morris, v.46, n.11, p.34-37, nov. 1999.

f) teses, dissertações e monografias

CARVALHO, F.. Práticas de planejamento estratégico e sua aplicação em organizações do terceiro setor. Dissertação (Mestrado em Administração) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

BETTIOL JÚNIOR, A.. Formação e destinação do resultado em entidades do terceiro setor: um estudo de caso. Tese (Doutorado em Ciências Contábeis) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

g) leis ou normas jurídicas

BRASIL. Lei n.11428 de 22 de dezembro de 2006. Dispõe sobre a utilização e proteção da vegetação nativa do bioma Mata Atlântica, e dá outras providências. Brasília: DOU, 2006.

SERGIPE. Decreto n.13713 de 14 de junho de 1993. Institui a criação da Área de Proteção Ambiental Morro do Urubu. Aracaju: DOE, 1993.

h) documentos governamentais ou empresariais

BRASIL. Diretrizes e prioridades do plano de ação para implementação da Política Nacional da Biodiversidade. Brasília: MMA, 2006.

PETROBRAS. Indicadores de desenvolvimento sustentável: campos de petróleo e gás 2008. Rio de Janeiro: CENPES, 2009.

MMA; MEC. Coletivos jovens de meio ambiente: manual orientador. Brasília: Dreams, 2005.

Normas da Revista Marine Pollution Bulletin para o Artigo Apresentado no Anexo 2

Types of paper

Research Reports; Shorter Research Notes; Baseline Records of Contamination Levels; Viewpoint Articles; Letters to the Editor; Focus Articles (short reviews of 1500 words); Reviews.

NEW SUBMISSIONS

Submission to this journal proceeds totally online and you will be guided stepwise through the creation and uploading of your files. The system automatically converts your files to a single PDF file, which is used in the peer-review process.

As part of the Your Paper Your Way service, you may choose to submit your manuscript as a single file to be used in the refereeing process. This can be a PDF file or a Word document, in any format or lay-out that can be used by referees to evaluate your manuscript. It should contain high enough quality figures for refereeing. If you prefer to do so, you may still provide all or some of the source files at the initial submission. Please note that individual figure files larger than 10 MB must be uploaded separately.

References

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the article number or pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct.

Formatting requirements

There are no strict formatting requirements but all manuscripts must contain the essential elements needed to convey your manuscript, for example Abstract, Keywords, Introduction, Materials and Methods, Results, Conclusions, Artwork and Tables with Captions.

If your article includes any Videos and/or other Supplementary material, this should be included in your initial submission for peer review purposes.

Divide the article into clearly defined sections.

Abstract

Abstracts should not exceed 150 words.

Keywords

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, "and", "of"). Where relevant these should include the main species concerned, the geographical area and the contaminant. Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Please note that the instructions related to Abstract and Graphical abstract still apply to all new submissions.