

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**“Estratégias analíticas para a avaliação química de solos e
líquens da Antártica Marítima”**

Marcelo Braga Bueno Guerra*

Tese apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do título de
DOUTOR EM CIÊNCIAS, área de
concentração: QUÍMICA ANALÍTICA.

Orientador: Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho

Co-Orientador: Prof. Dr. Carlos Ernesto Gonçalves Reynaud Schaefer

***bolsista FAPESP**

São Carlos - SP

Agosto/2011

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

G934ea Guerra, Marcelo Braga Bueno.
Estratégias analíticas para a avaliação química de solos e
liquens da Antártica marítima / Marcelo Braga Bueno
Guerra. -- São Carlos : UFSCar, 2011.
132 f.

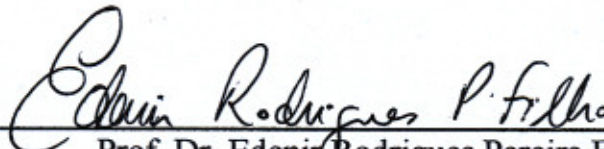
Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos,
2011.

1. Química analítica. 2. Antártica. 3. Solos. 4. Metais. 5.
Espectrometria. 6. Quimiometria. I. Título.

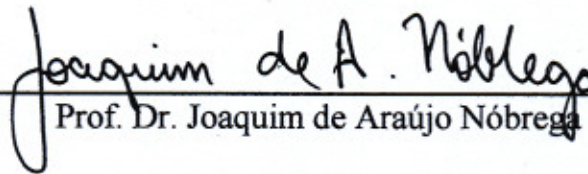
CDD: 543 (20^a)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Departamento de Química
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
Curso de Doutorado

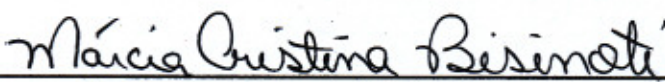
*Assinaturas dos membros da banca examinadora que avaliaram e aprovaram a defesa de tese de doutorado do candidato **Marcelo Braga Bueno Guerra**, realizada em 12 de agosto de 2011:*



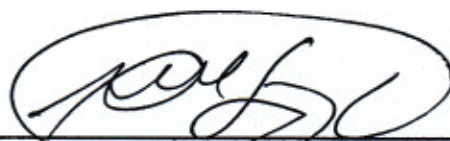
Prof. Dr. Edenír Rodrigues Pereira Filho



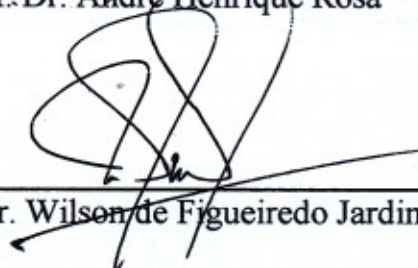
Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega



Profa. Dra. Márcia Cristina Bisinoti



Prof. Dr. André Henrique Rosa



Prof. Dr. Wilson de Figueiredo Jardim

Dedico esta tese aos meus pais, Maria da Conceição e Tarcísio pelo contínuo apoio e pelos exemplos de trabalho, dedicação e honestidade.

“Creio bastante na sorte e tenho constatado que quanto mais trabalho mais sorte tenho”

Thomas Jefferson

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida e saúde.

Agradeço ao Prof. Edenir pela amizade e pelos ensinamentos de organização para condução do trabalho.

Agradeço ao Prof. Carlos Schaefer pela amizade e pelas excelentes oportunidades concedidas desde o início da minha graduação.

Agradeço à Universidade Federal de São Carlos, principalmente ao Departamento de Química pela infra-estrutura disponibilizada e às funcionárias da secretaria da Pós-Graduação.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, projeto: 08/08260-3) pela concessão do apoio financeiro e aos órgãos de fomento CNPq e CAPES, assim como ao INCTAA e ao INCT da Criosfera.

Agradeço a todos os amigos do Grupo de Análise Instrumental Aplicada que através das reuniões semanais de grupo sempre promoveram boas discussões científicas.

Agradeço ao Prof. Dula pelos ensinamentos em LA-ICP-MS e pela ajuda nos trabalhos desenvolvidos em Amherst, MA, EUA.

Agradeço ao Prof. Pedro Fadini pela orientação durante a ausência do Prof. Edenir e pelas valiosas contribuições para o seminário geral.

Agradeço ao Prof. Joaquim pelas sugestões durante a execução deste trabalho.

Agradeço à Prof.^a Ana Rita por conceder que parte deste projeto fosse realizado na EMBRAPA Pecuária Sudeste.

Agradeço ao Kelber, Rodolfo e ao Rodrigo pelas discussões sobre química analítica e pelos trabalhos desenvolvidos em conjunto no laboratório.

Agradeço à Força Aérea Brasileira e à Marinha do Brasil pelo apoio logístico para a realização das coletas de solos e aos amigos das expedições realizadas à Antártica.

Agradeço ao Roberto e ao Ivan pela ajuda nas coletas das amostras de solos na Península Keller e Península Fildes.

Agradeço aos funcionários do CCDM pela ajuda nas análises no ICPOES.

Agradeço à Paula de Freitas Rosa pelo suporte nas análises dos solos.

Agradeço à Amanda, Natália e Luciana por usarem parte das amostras coletadas neste trabalho em seus projetos de mestrado e doutorado.

Agradeço à Lucimar e à Doraí pelo apoio no desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço à Silvéria pelas lições iniciais em TS-FF-AAS e à Amália pela ajuda nas determinações em GFAAS.

Agradeço à Carla e à Clarice pela ajuda na moagem criogênica das amostras de líquens e ao Adriano pela identificação das espécies.

Agradeço à Catarina pela amizade e ajuda no ICP-MS.

Agradeço ao Dr. Carlos Pérez pela ajuda nas análises por XRF e aos responsáveis pelo Laboratório Nacional de Luz Síncrotron pela disponibilidade de uso da linha de fluorescência de raios-X.

LISTA DE ABREVIATURAS

AAS	<i>Atomic Absorption Spectrometry</i>
ASMA	<i>Antarctic Specially Managed Area</i>
BCR	<i>Community Bureau of Reference</i>
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
COT	Carbono Orgânico Total
c.p.s	contagens por segundo
CTC	Capacidade de Troca Catiônica
DTPA	Ácido Dietilenotriaminopentaacético
EACF	Estação Antártica Comandante Ferraz
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetraacético
EDXRF	<i>Energy Dispersive X-Ray Fluorescence</i>
EPA (EUA)	<i>Environmental Protection Agency</i>
EPA (Tasmânia)	<i>Environmental Protection Authority</i>
FAAS	<i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>
GFAAS	<i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>
HCA	<i>Hierarchical Cluster Analysis</i>
ICP-MS	<i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>
ICPOES	<i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
LA-ICP-MS	<i>Laser Ablation - ICP-MS</i>
LOD	<i>Limit of Detection</i>
PARAFAC	<i>Parallel Factor Analysis</i>
PC	<i>Principal Components</i>
PCA	<i>Principal Component Analysis</i>
PES	Procedimento de Extração Sequencial
PFA	<i>Perfluoroalcoxy</i>
PIXE	<i>Proton Induced X-ray Emission</i>
PRESS	<i>Predict Error Sum of Squares</i>
RMSEP	<i>Root Mean Square Error of Prediction</i>
RSD	<i>Relative Standard Deviation</i>
SRM	<i>Standard Reference Material</i>

SR-XRF	<i>Synchrotron Radiation X-Ray Fluorescence</i>
STAT-FAAS	<i>Slotted Tube Atom Trap - FAAS</i>
TS-FF-AAS	<i>Thermospray Flame Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>
WRB	<i>World Reference Base for Soil Resources</i>
XRF	<i>X-Ray Fluorescence</i>

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.1	Descrição das principais estações de pesquisa na Antártica	4
TABELA 2.1	Descrição dos pontos de coleta	18
TABELA 3.1	Procedimento de extração sequencial	21
TABELA 4.1	Parâmetros analíticos de desempenho para os métodos empregados	30
TABELA 5.1	Fatores de enriquecimento para as amostras próximas da estação Ferraz usando Fe e Mn como elementos de referência	32
TABELA 6.1	Tabela comparativa com as concentrações de Cr, Ni e Pb em amostras de solos	36
TABELA 7.1	Fatores de enriquecimento para as amostras de solos coletadas ao redor da estação Artigas	43
TABELA 8.1	Fatores de enriquecimento para as amostras de solos coletadas ao redor da estação Bellingshausen	44
TABELA 9.1	Fatores de enriquecimento para as amostras de solos coletadas ao redor da estação Great Wall	44
TABELA 10.1	Fatores de enriquecimento para as amostras de solos coletadas ao redor das estações chilenas	45
TABELA 11.1	Concentração de metais na fração pseudototal das amostras ao redor da estação Artigas	46
TABELA 12.1	Concentração de metais na fração pseudototal das amostras ao redor da estação Bellingshausen	47
TABELA 13.1	Concentração de metais na fração pseudototal das amostras ao redor da estação Great Wall	48
TABELA 14.1	Concentração de metais na fração pseudototal das amostras ao redor das estações chilenas	49
TABELA 15.1	Consumo de óleo diesel das principais estações da Ilha Rei George e emissão de metais provenientes da queima	57
TABELA 1.2	Descrição dos pontos de coleta	64
TABELA 2.2	Fatores de enriquecimento usando o Zr como elemento de referência	73
TABELA 3.2	Tabela comparativa com as concentrações pseudototais de	

	Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn nas amostras de solos	77
TABELA 4.2	Porcentagem das frações mobilizável e móvel em relação às concentrações pseudototais de metais	79
TABELA 5.2	Matriz de correlação de Pearson usando os teores mobilizáveis (mo) e pseudototais (ps)	82
TABELA 6.2	Características físico-químicas das amostras de solos	83
TABELA 1.3	Variáveis avaliadas através do planejamento fatorial fracionário 2^{7-3}	85
TABELA 2.3	Planejamento fatorial fracionário 2^{7-3}	86
TABELA 3.3	Planejamento Doehlert	89
TABELA 4.3	Recuperação dos elementos estudados usando o material de referência certificado BCR 146R (Sewage Sludge from Industrial Origin)	90
TABELA 5.3	Comparação entre o método proposto e o método oficial	92
TABELA 1.4	Descrição das amostras coletadas	99
TABELA 2.4	Parâmetros instrumentais para o ICP-MS e LA-ICP-MS	101
TABELA 3.4	Matriz Doehlert para a otimização dos parâmetros do LA-ICP-MS	103
TABELA 4.4	Recuperações de Pb utilizando os materiais de referência certificados	106
TABELA 5.4	Comparação entre as estratégias de calibração	111
TABELA 6.4	Parâmetros de desempenho analítico para determinação de Pb por LA-ICP-MS	111

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1	Principais estações de pesquisa (1 a 38) na Antártica	3
FIGURA 2.1	Evolução do número de artigos publicados ao longo dos anos em revistas indexadas na base de dados Scopus relacionados a contaminação na Antártica	6
FIGURA 3.1	Mapa da Península Keller, Ilha Rei George, Antártica Marítima com a indicação dos pontos de coletas	17
FIGURA 4.1a	Gráfico de scores com todas as variáveis obtidas com a SR-XRF	26
FIGURA 4.1b	Gráfico de loadings com todas as variáveis obtidas com a SR-XRF	26
FIGURA 5.1a	Gráfico de scores obtido após seleção de variáveis (eliminação dos sinais de Ca, Fe, K e Ti da SR-XRF)	27
FIGURA 5.1b	Gráfico de loadings obtido após seleção de variáveis (eliminação dos sinais de Ca, Fe, K e Ti da SR-XRF)	27
FIGURA 6.1	Dendrograma da HCA	34
FIGURA 7.1	Gráfico de scores (a) e loadings (b) da PCA	35
FIGURA 8.1	Mapa da Península Fildes, com destaque para as estações e outros pontos onde foram feitas amostragens	38
FIGURA 9.1	Imagem de satélite da estação Artigas com os pontos de coletas em amarelo	39
FIGURA 10.1	Imagem de satélite da estação Bellingshausen com os pontos de coleta em amarelo	40
FIGURA 11.1	Imagem de satélite das estações Escudero e Eduardo Frei Montalva com os pontos de coleta em amarelo	41
FIGURA 12.1	Imagem de satélite com os pontos de coleta (destacados em amarelo) ao redor dos tanques de diesel da estação chinesa Great Wall	42
FIGURA 13.1	Gráfico de scores da PCA	50
FIGURA 14.1	Gráfico de loadings da PCA	50
FIGURA 15.1	Gráfico de scores da PCA	51
FIGURA 16.1	Gráfico de loadings da PCA	51

FIGURA 17.1	Distribuição dos elementos Cu, Mn e Zn nas frações (F1 a F4) do procedimento de extração sequencial	53
FIGURA 18.1	Gráfico de loadings da PARAFAC para o modo fração	54
FIGURA 19.1	Gráfico de scores da PCA	55
FIGURA 20.1	Gráfico de loadings da PCA	55
FIGURA 1.2	Mapa da Península Antártica, destacando a Baía Esperança	63
FIGURA 2.2	Sinais analíticos obtidos com a XRF para amostras selecionadas (HB8, HB5 e SRM San Joaquin Soil)	70
FIGURA 3.2	Gráfico de scores (Figuras a e c) e loadings (Figuras b e d) da Análise de Componentes Principais	72
FIGURA 1.3	Comparação entre o método proposto e o método oficial para extração de amostras de solos da Península Fildes	91
FIGURA 1.4	Mapa da Península Fildes, Ilha Rei George destacando os pontos de coleta	98
FIGURA 2.4	Sinais analíticos obtidos com o LA-ICP-MS após a análise da amostra P9 usando as condições otimizadas	105
FIGURA 3.4a	Concentrações de Pb nas amostras de líquens determinadas por ICP-MS	108
FIGURA 3.4b	Sinais analíticos de Pb usando ^{13}C como padrão interno	108
FIGURA 4.4	Distribuição espacial de Pb (dados semi-quantitativos) em seções transversais de talos de líquens de pontos controle e contaminados	115
FIGURA 4.4 (continuação)	Distribuição espacial de Pb (dados semi-quantitativos) em seções transversais de talos de líquens de pontos controle e contaminados	116
FIGURA 5.4	Perfil de distribuição de Pb (dados semi-quantitativos) ao longo da seção transversal dos talos de líquens de pontos controle e contaminados	117

RESUMO

ESTRATÉGIAS ANALÍTICAS PARA A AVALIAÇÃO QUÍMICA DE SOLOS E LIQUENS DA ANTÁRTICA MARÍTIMA

Autor: Marcelo Braga Bueno Guerra

Orientador: Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho

Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Ernesto Gonçalves Reynaud Schaefer

Esta tese de doutorado está centrada no estudo de amostras de solos e líquens provenientes da Antártica, coletadas em regiões submetidas a elevado impacto antrópico. Amostras de solos superficiais foram coletadas nas imediações de diversas estações de pesquisa da Antártica: estação brasileira (Comandante Ferraz), estação argentina (Esperanza), estações chilenas (Eduardo Frei Montalva e Escudero), estação chinesa (Great Wall), estação russa (Bellingshausen) e estação uruguaia (Artigas). Amostras de solos (referência) foram coletadas em locais pouco afetados por atividades humanas (distantes das estações). Amostras de líquens (*Usnea antarctica* e *Usnea aurantiaco-atra*) foram coletadas nas vizinhanças das estações chilenas e russa, assim como em um ponto controle distante pelo menos 0,5 km da estação mais próxima. A Fluorescência de raios-X foi utilizada como ferramenta analítica para a avaliação preliminar de contaminação por metais nas amostras de solos. Diversas soluções extratoras (água régia, procedimento de extração sequencial, DTPA e CaCl_2) foram usadas para acessar diferentes estoques de metais nas amostras de solos. Para a determinação dos elementos Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn nos extratos das amostras de solos, várias estratégias analíticas foram empregadas como a determinação sequencial rápida destes elementos empregando a FAAS no modo convencional, assim como a STAT-FAAS. O TS-FF-AAS foi avaliado para a determinação de Cd e Pb em extratos de solos usando DTPA como agente extrator. Devido à vasta quantidade de informação gerada pelas determinações analíticas das amostras de solos, algumas ferramentas quimiométricas foram empregadas como: HCA, PCA e PARAFAC. Fatores de enriquecimento foram calculados para verificar o grau de contaminação dos solos coletados no entorno das estações de pesquisa. Regiões próximas aos tanques de

óleo diesel das estações de pesquisa estudadas possuem sistematicamente elevadas concentrações de Cr e Pb, dentre os elementos investigados. As amostras de solos coletadas no entorno da estação Esperanza destacam-se como as mais intensamente contaminadas por todos os elementos potencialmente tóxicos determinados, exceto pelo Cr. Amostras de solos provenientes dos locais mais contaminados no entorno da estação Esperanza, exibem concentrações pseudototais médias de 46, 18993 e 4823 mg kg⁻¹ para Cd, Pb e Zn, respectivamente. O uso da FAAS e STAT-FAAS no modo sequencial rápido permitiu aliar alta frequência analítica e ganho em sensibilidade (STAT-FAAS) além de minimizar a geração de resíduos tóxicos e propiciar economia de reagentes. O uso das ferramentas quimiométricas foi uma estratégia importante que permitiu a visualização de agrupamentos de amostras e a avaliação conjunta das variáveis responsáveis por estes agrupamentos. Foi proposto um método mais simples e rápido para a determinação da fração pseudototal de metais nas amostras de solos. Neste método as amostras são extraídas com menor volume de água régia e por menor tempo (quando comparado com o método oficial) em tubos de centrífuga de 15 mL. A técnica LA-ICP-MS foi empregada para a determinação direta de Pb nas amostras de líquens assim como para construir bioimagens da distribuição deste elemento nos talos destes organismos simbiotes. As amostras de líquens coletadas nos pontos afetados pelas estações de pesquisa possuem concentrações de Pb mais elevadas ([Pb] = 8,71 mg kg⁻¹ para o ponto mais contaminado) quando comparadas com o ponto controle ([Pb] = 1,12 mg kg⁻¹). A técnica LA-ICP-MS mostrou-se como uma ferramenta viável para a determinação direta de Pb nas amostras de líquens, sobretudo ao se utilizar carbono como padrão interno. Além disso, essa técnica permitiu acessar o perfil de distribuição do Pb nas estruturas anatômicas dos líquens, mostrando que a região medular desses organismos é o local onde o elemento Pb se acumula preferencialmente.

ABSTRACT

ANALYTICAL STRATEGIES FOR THE CHEMICAL ANALYSIS OF SOILS AND LICHENS FROM MARITIME ANTARCTICA

Author: Marcelo Braga Bueno Guerra

Adviser: Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho

Co-adviser: Prof. Dr. Carlos Ernesto Gonçalves Reynaud Schaefer

The aim of this PhD thesis is the ample study of soil and lichen samples from Antarctica, collected in regions under strong anthropogenic impact. Surface soil samples were collected around several scientific stations: Brazilian (Comandante Ferraz), Argentinian (Esperanza), Chilean (Frei Montalva and Escudero), Chinese (Great Wall), Russian (Bellingshausen) and Uruguayan (Artigas). Control soil samples were also collected, for representing areas with low anthropic influence (far away from the local stations). Lichen samples (*Usnea antarctica* and *Usnea aurantiaco-atra*) were collected near the Chilean and Russian stations, as well as in a control point far 0.5 km from the nearest station. X-ray Fluorescence was used as an analytical tool for the preliminary evaluation on metal contamination in the soil samples. Several extraction solutions (aqua regia, sequential extraction procedure, DTPA and CaCl₂ solutions) were used to assess the amounts of metals in the soil samples. For Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb and Zn determination in the soil extracts, some analytical strategies were employed, such as fast sequential determination by FAAS in the conventional mode, as well as by using STAT-FAAS and TS-FF-AAS for evaluating Cd and Pb determination in DTPA soil extracts. The chemometric tools: HCA, PCA and PARAFAC were used for soil data treatment. Enrichment factors were calculated in order to infer about the degree of soil contamination. Soil samples collected around the stations diesel tanks were enriched with Cr and Pb. Soil samples from Esperanza station are the most contaminated ones, reaching 46, 18993 and 4823 mg kg⁻¹ for Cd, Pb and Zn, respectively, for the strongest contaminated sites. The use of Flame-AAS and STAT-FAAS in the fast sequential mode appears as a good way that combines higher analytical throughput and better sensitivity (STAT-FAAS). Besides that, minimization of toxic wastes generation and

economy of reagents are analytical advantages of this approach. The employment of chemometric tools are also an important strategy allowing the visualization of sample groupings and the variables related to them. A fast and simple method for pseudototal determination of metals in soil samples was developed. In this method, the samples were extracted with lower amount of aqua regia and in a reduced time (when compared with the official method) by using inexpensive centrifuge tubes. LA-ICP-MS was evaluated for direct determination of lead in the lichen samples and to access the distribution profile of this element in the organism structures. Lichen samples from heavily anthropogenic sites (near the stations) have the highest Pb concentrations ($[Pb] = 8.71 \text{ mg kg}^{-1}$ for the most contaminated sample and $[Pb] = 1.12 \text{ mg kg}^{-1}$ for the control point). LA-ICP-MS emerges as an adequate analytical method for direct Pb determination in lichen samples, notably when using carbon (naturally present in the samples) as internal standard. The medulla region of the lichen *thalli* is the main Pb bioaccumulating lichen region.

APRESENTAÇÃO

Esta tese de doutorado está dividida em 4 capítulos. No capítulo 1 são discutidos os resultados das determinações quantitativas dos elementos Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn em amostras de solos coletadas em pontos afetados por 6 estações de pesquisa na Antártica e em pontos controle, distantes das mesmas. Para atingir este propósito, algumas estratégias espectrométricas foram adotadas como: 1) determinação sequencial dos elementos Cu, Mn e Zn através da FAAS e 2) uso da STAT-FAAS e TS-FF-AAS a fim de atingir melhores limites de detecção para a determinação de Cd e Pb. Ferramentas quimiométricas como HCA, PARAFAC e PCA foram usadas para auxiliar na interpretação do elevado volume de dados gerado. No capítulo 2 são apresentados os resultados das análises químicas de solos coletados na Baía Esperança, nas proximidades da estação Argentina Esperanza. Tais solos são o testemunho de um incêndio que ocorreu na região em 1948 levando a uma grande dispersão de poluentes no ecossistema local. Estes solos são classificados como Tecnosolos, formados através de uma profunda alteração conduzida pela ação humana e este é o primeiro estudo científico a apontar esta classe de solos no continente Antártico. Visto que nos capítulos 1 e 2, o método empregado (oficial) para a extração dos metais nos solos (usando água régia) é moroso e gera grande volume de efluentes, no capítulo 3 foi proposto um método mais simples de extração. O método foi desenvolvido com o objetivo de tornar a extração com água régia mais rápida, simples e menos impactante ao meio ambiente (gerando menor volume de resíduos), seguindo desta forma os preceitos da Química Verde. No capítulo final da tese, são apresentados resultados obtidos com a análise de amostras de líquens (coletadas no entorno de várias estações de pesquisa na Antártica e em um ponto controle) utilizando-se LA-ICP-MS. Com o uso desta técnica analítica foi possível construir imagens de distribuição do elemento Pb nos talos dos líquens. Além disso, estratégias de calibração com e sem o uso do ^{13}C (naturalmente presente nas amostras) como padrão interno foram comparadas a fim de atingir melhores valores para os parâmetros exatidão e precisão.

SUMÁRIO

	Capítulo 1 – Técnicas espectroanalíticas e quimiométricas aplicadas à análise de solos da Antártica Marítima	1
1	Introdução geral	2
2	Objetivos	5
3	Levantamento bibliográfico preliminar – Panorama geral de publicações envolvendo poluição no ambiente Antártico	5
4	Revisão bibliográfica geral – Estudos envolvendo matrizes ambientais da Antártica	6
5	Análise de amostras de solos coletadas nas adjacências da Estação Brasileira Comandante Ferraz	16
5.1	Materiais e Métodos	16
5.1.1	Amostragem e preparo das amostras	16
5.1.2	Preparo das amostras para análises por SR-XRF	19
5.1.3	Análises das amostras usando a SR-XRF	19
5.1.4	Reagentes e soluções	20
5.1.5	Extração com água régia para a determinação de Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn	20
5.1.6	Uso do método de extração sequencial do BCR (<i>Community Bureau of Reference</i>) para a determinação de Cu, Mn e Zn	20
5.1.7	Extração com DTPA para a determinação de Cd e Pb	21
5.1.8	Determinação quantitativa dos metais por Espectrometria de Absorção Atômica	21
5.1.9	Análises complementares das amostras de solos: pH em água, carbono orgânico total e granulometria	23
5.1.10	Cálculo dos fatores de enriquecimento	23
6	Resultados e discussão	24
6.1	Análises preliminares com o uso da Fluorescência de Raios-X com radiação síncrotron	24
6.2	Recuperação dos elementos estudados	28
6.3	Uso de técnicas baseadas no “aprisionamento de átomos” e determinação sequencial rápida por FAAS para análises de extratos	

	de solos	28
6.4	Fatores de enriquecimento	31
6.5	Tratamento quimiométrico das análises químicas dos solos: concentrações de metais potencialmente tóxicos e características químicas	32
7	Análise das amostras de solos coletadas na Península Fildes	37
7.1	Coleta de amostras na Península Fildes	37
7.2	Preparo das amostras de solos coletadas e determinações químicas	42
7.3	Fatores de enriquecimento	43
7.4	Tratamento quimiométrico dos dados gerados com a determinação do teor pseudototal de Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn nas amostras de solos	46
7.5	Determinação de Cu, Mn e Zn nas frações do procedimento de extração sequencial BCR	51
8	Conclusões	57
	Capítulo 2 – Determinação de metais potencialmente tóxicos em Tecnosolos da Antártica Marítima	59
9	Objetivos	60
10	Revisão de literatura	60
10.1	Tecnossolos	60
10.2	Baía Esperança, Península Antártica	61
11	Amostragem e tratamento preliminares	62
12	Reagentes, soluções e material de referência certificado	65
13	Procedimentos experimentais	65
13.1	Caracterização química do solo	65
13.2	Análises por Fluorescência de Raios-X	66
13.3	Extração com água régia	66
13.4	Extração da fração móvel e mobilizável de metais	67
13.5	Determinação das concentrações dos metais por Espectrometria de Absorção Atômica	67
13.6	Cálculo dos fatores de enriquecimento	68
14	Resultados e discussão	68
14.1	Fluorescência de Raios-X	68
14.2	Fatores de enriquecimento	73

14.3	Teores pseudototais de Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn nas amostras de solos	74
14.4	Concentração de Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn nas frações móvel e mobilizável	78
15	Conclusões e perspectivas	83
	Capítulo 3 – Proposição de um método de extração para a determinação de metais em amostras de solos	84
16	Motivação e objetivos	85
17	Resultados e discussão	87
18	Conclusões	92
	Capítulo 4 – Potencialidades da LA-ICP-MS em estudos de biomonitoramento usando líquens da Antártica	93
19	Objetivos	94
20	Revisão Bibliográfica	94
20.1	Líquens como biomonitores de impactos ambientais	94
20.2	Princípios e aplicações recentes da LA-ICP-MS	96
21	Amostragem e tratamentos preliminares	97
22	Reagentes, soluções e materiais de referência	100
23	Instrumentação	100
24	Procedimento de digestão	101
25	Determinação de Pb nos digeridos por ICP-MS	102
26	Preparo das pastilhas para as análises por LA-ICP-MS	102
27	Resultados e discussão	103
27.1	Otimização dos parâmetros operacionais do LA-ICP-MS	103
27.2	Determinação de Pb nos digeridos dos materiais de referência	105
27.3	Resultados para os líquens: Concentração de Pb e intensidades usando o LA-ICP-MS	106
27.4	Estratégias de calibração usando o LA-ICP-MS	108
27.5	Distribuição de Pb em seções transversais de talos de líquens	112
28	Conclusões e perspectivas	118
29	Conclusões gerais	118
	Referências bibliográficas	119
	Anexos	129

Capítulo 1

**Técnicas espectroanalíticas e quimiométricas
aplicadas à análise de solos da Antártica Marítima**

1) Introdução Geral

A Antártica é reconhecida como a mais remota e hostil região do planeta e também, de maneira equivocada, como o último local ainda intocado pelo homem. Todavia, esse continente não está isolado das outras partes do mundo e tal como as demais regiões longínquas da Terra, é afetado por atividades antrópicas locais e globais.¹

O Continente Antártico foi inicialmente ocupado, no começo da década de 1820, por interesses preponderantemente comerciais, através da exploração da região por caçadores de focas e baleias. Todavia, o interesse científico tornou-se prioritário a partir da assinatura do Tratado da Antártica, em 1959, por 12 membros originais. Quando tal tratado entrou em vigor, em 1961, a Antártica tornou-se a principal região do planeta governada por uma lei de âmbito internacional.² Em 1991, foi feito um adendo ao tratado da Antártica, o Protocolo de Madri, o mais importante instrumento legal para a proteção do ecossistema da região.

Atualmente há 53 estações de pesquisa no território Antártico, sendo que no verão há cerca de 4000 pesquisadores nestas estações realizando diversas atividades de pesquisa.³ Na Figura 1.1 está representada a localização das principais estações de pesquisa, com destaque para a Ilha Rei George onde se concentram 9 bases científicas. Na Tabela 1.1 há algumas informações complementares à Figura 1.1.

Em 1975, o governo brasileiro tornou-se signatário do Tratado da Antártica e desde 1982 ocorrem expedições científicas brasileiras regulares ao continente Antártico. Em 1984 foram instalados os primeiros módulos da Estação Antártica Comandante Ferraz (EACF) na Baía do Almirantado, Ilha Rei George, Antártica Marítima.⁴

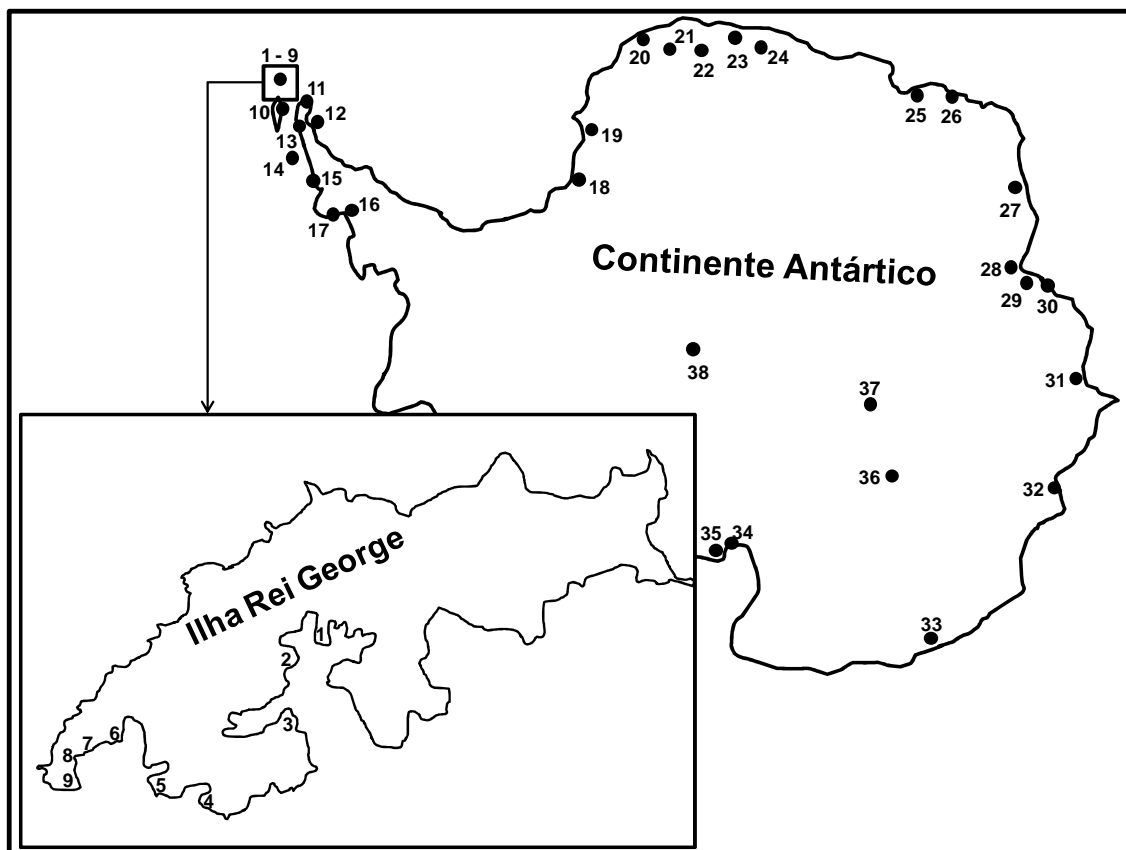


Figura 1.1 – Principais estações de pesquisa (1 a 38) na Antártica

De acordo com o estabelecido no Protocolo de Madri, a Baía do Almirantado (próxima às estações 1, 2 e 3 da Figura 1.1) é atualmente classificada como Área Antártica Especialmente Gerenciada (acrônimo do inglês, ASMA, *Antarctic Specially Managed Area*). Esta classificação implica em uma série de requerimentos relativos a avaliação de impactos ambientais causados por atividades científicas, turismo e outras atividades humanas.⁵

Os programas científicos instalados nas estações antárticas desenvolvem uma ampla gama de estudos ambientais objetivando a avaliação de contaminantes derivados de atividades antrópicas.⁶⁻¹¹ Solos e sedimentos são as principais matrizes ambientais utilizadas nesses estudos.

Tabela 1.1 – Descrição das principais estações de pesquisa na Antártica (Os números são correspondentes à Figura 1.1).

Estação	País	Ano instalação	Estação	País	Ano de instalação
1 - Comandante Ferraz	Brasil	1984	20 - Von Neumayer	Alemanha	1992
2 - Machu Picchu	Peru	1989	21 - Troll	Noruega	1990
3 - Henryk Arctowski	Polônia	1977	22 - Sanae	África do Sul	1962
4 – Jubany	Argentina	1953	23 - Maitri	Índia	1989
5 - King Sejong	Coréia do Sul	1988	24 - Novolazarevskaya	Rússia	1961
6 – Artigas	Uruguai	1984	25 - Syowa	Japão	1958
7 - Bellingshausen	Rússia	1968	26 - Molodezhnaya	Rússia	1962
8 - Presidente Eduardo Frei Montalva e Escudero	Chile	1969	27 - Mawson	Austrália	1954
9 - Great Wall	China	1985	28 - Zhongshan	China	1989
10 - Capitan Arturo Prat	Chile	1947	29 - Progress	Rússia	1988
11 - Esperanza	Argentina	1975	30 - Davis	Austrália	1957
12 - Marambio	Argentina	1969	31- Mirny	Rússia	1956
13 - General Bernardo O'Higgins	Chile	1948	32 - Casey	Austrália	1959
14 – Palmer	Estados Unidos	1968	33 - Dumont d'Urville	França	1956
15 - Vernadski	Ucrânia	1994	34 - Mcurdo	Estados Unidos	1956
16 - San Martin	Argentina	1951	35 - Scott Base	Nova Zelândia	1957
17 – Rothera	Reino Unido	1975	36 - Concordia	França e Itália	2005
18 - Belgrano II	Argentina	1979	37 - Vostok	Rússia	1957
19 - Halley	Reino Unido	1956	38 - Amundsen - Scott	Estados Unidos	1957

2) Objetivos

Este primeiro capítulo da tese de doutorado tem por objetivo a análise de amostras de solo coletadas na Antártica em locais com elevado aporte antrópico, nas proximidades de várias estações de pesquisa daquela localidade. Um ponto importante se refere à determinação sequencial rápida de elementos de relevância ambiental através de vários métodos baseados em absorção atômica como: FAAS (Acrônimo do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*), STAT-FAAS (Acrônimo do inglês *Slotted Tube Atom Trap-FAAS*) e TS-FF-AAS (Acrônimo do inglês *Thermospray Flame Furnace AAS*). As ferramentas quimiométricas PCA (Acrônimo do inglês *Principal Component Analysis*) e PARAFAC (Acrônimo do inglês *Parallel Factor Analysis*) foram utilizadas para permitir uma visualização conjunta dos dados gerados e possíveis agrupamentos de amostras. Para verificar quais elementos caracterizam a possível contaminação no local, foram calculados os fatores de enriquecimento utilizando-se Fe e Mn como elementos de referência. Este capítulo está dividido em duas partes principais: 1) Análises químicas das amostras de solos coletadas na Península Keller, Antártica Marítima; 2) Análises químicas das amostras de solos coletadas na Península Fildes, Antártica Marítima.

3) Levantamento bibliográfico preliminar – Panorama geral de publicações envolvendo poluição no ambiente Antártico

Inicialmente foi realizado um levantamento bibliográfico na base de dados Scopus acessando-se os seguintes parâmetros de busca: resumo, palavras-chave e título do artigo. Os seguintes termos de busca foram usados: “*Antarctic*” or “*Antarctica*” and “*pollution*” or “contamination”, com o objetivo de localizar os trabalhos que tratassem do tema contaminação no continente Antártico. Na Figura 2.1 estão os resultados para os artigos encontrados ao longo dos anos desde 1963 até o final de 2010. Pode-se perceber uma nítida tendência de aumento do número de artigos publicados, que pode ser reflexo do número crescente de estações instaladas no continente durante o período (vide Tabela 1.1), assim como a preocupação atual dos países com relação ao monitoramento ambiental. Encontraram-se 1361 publicações relativas a tal assunto, sendo que mais da metade das mesmas se concentram na última década. Foi realizado um refinamento inicial para esta pesquisa com os termos de busca: “*soil*” or “*sediment*”. Assim, o número

de publicações encontradas se reduziu para 603, configurando-se ainda em uma quantidade bastante expressiva.

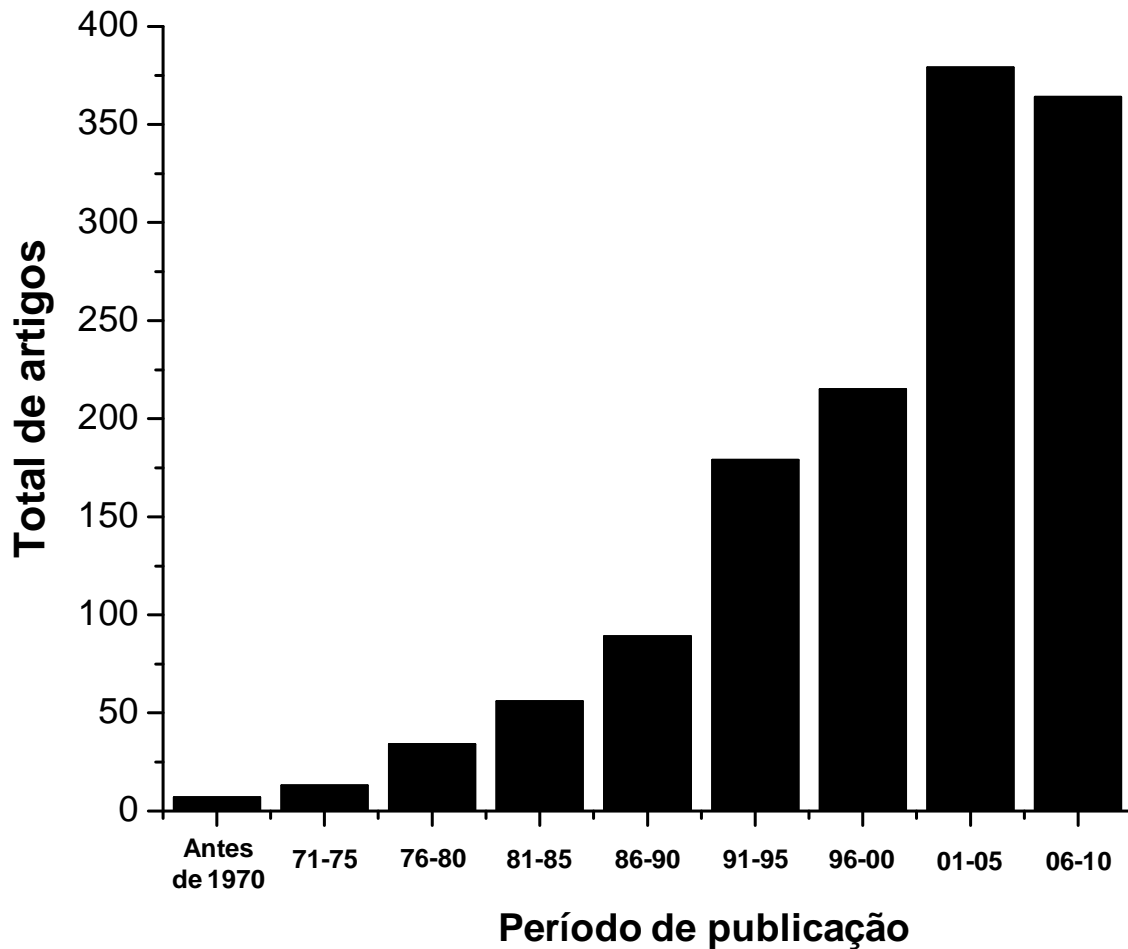


Figura 2.1 – Evolução do número de artigos publicados ao longo dos anos em revistas indexadas na base de dados Scopus relacionados a contaminação na Antártica

4) Revisão Bibliográfica Geral – Estudos envolvendo matrizes ambientais da Antártica

Conforme delineado na seção anterior, o número de publicações envolvendo contaminação na Antártica é bastante expressivo. Dessa forma, esta revisão bibliográfica focará principalmente artigos relevantes que relatam estudos de contaminação por metais em diversas localidades naquele continente.

Townsend e Snape (2002)¹² analisaram amostras de sedimento marinho nas adjacências da estação australiana Casey e encontraram evidências de contaminação por Pb. Os autores confirmaram a contaminação pelo elemento com o

uso da razão isotópica entre as espécies: $^{208}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$, $^{207}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$, $^{206}\text{Pb}/^{204}\text{Pb}$ e $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$, pois houve uma diferenciação entre essas razões para pontos próximos e distantes da estação, além das concentrações totais do elemento serem maiores nos pontos mais impactados. O uso das razões isotópicas para espécies de Pb permite identificar a fonte e a idade do minério de Pb de onde se originou o elemento. Há vários outros trabalhos na literatura relacionados a esta estação de pesquisa da Austrália. Um local de grande preocupação ambiental nas imediações desta estação é o “*Thala Valley*”, ponto onde foram depositados rejeitos oriundos da estação antiga entre os anos de 1969 – 1986.¹³ Cunningham et al. (2005)¹⁴ estudaram a viabilidade de utilizar comunidades de diatomáceas da Baía Brown (uma enseada contaminada adjacente ao *Thala Valley*) como espécies indicadoras de contaminação ambiental. Esses autores avaliaram a correlação da concentração de vários metais em amostras de sedimento da referida baía e a concentração dos mesmos nas amostras de diatomáceas coletadas. A conclusão do estudo foi de que a concentração dos metais nos sedimentos e nas diatomáceas estão correlacionadas, principalmente para Cu, Fe, Pb e Sn. Essa constatação é importante para estudos futuros de monitoramento ambiental, particularmente quando se objetiva identificar mudanças no ecossistema após a remoção de uma possível fonte de contaminação. Outro estudo conduzido na mesma baía por Stark et al. (2005)¹⁵, teve como objetivo a determinação de metais potencialmente tóxicos (comumente referidos como metais pesados) e hidrocarbonetos em sedimentos coletados em pontos gradativamente distantes da fonte de contaminação. Os resultados evidenciaram um gradiente de concentração de contaminantes, no entanto encontraram alguns pontos com concentrações anômalas (“*hot spots*”) e elevadas das espécies químicas investigadas. Neste trabalho também foi explorado o uso de análise multivariada para verificar a correlação de algumas variáveis com a biota. As melhores correlações encontradas com a biota foram para os metais Cd, Cu, Fe e Sn, assim como a granulometria e a profundidade das amostras coletadas.

Em um trabalho de biomonitoramento ambiental, Palmer et al. (2006)¹⁶ usaram uma anfípoda, a *Paramoera walkeri*, como uma espécie sentinela de contaminação ambiental. Tal espécie é adequada para este objetivo devido à sua disponibilidade na área, à facilidade de captura, além de que há vários estudos na literatura tratando das suas características químicas e biológicas. A área em estudo

foi a Baía Brown e dois outros pontos de referência. O material biológico foi mineralizado com ácido nítrico e os metais foram determinados com ICP-MS (Acrônimo do inglês, *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*) dotado de setor magnético. Dentre os metais investigados, a concentração de Cu obteve boa correlação com a massa do espécime analisado, indicando bioacumulação do elemento. O trabalho traz resultados de concentração de vários metais que poderão ser úteis para estudos futuros de monitoramento ambiental nas imediações desta estação australiana.

Dentro desta mesma linha de investigação com o uso de espécies biomonitoras, Runcie e Riddle (2004)¹⁷, utilizaram macroalgas como organismos alvo. As macroalgas são utilizadas em outros trabalhos com este fim, já que as mesmas se fixam sob um substrato e acumulam metais ao longo do tempo. Neste estudo, os autores coletaram várias espécies de algas no entorno da estação Casey (incluindo a Baía Brown) e determinaram a concentração de metais no talo destes organismos. Dentre os objetivos específicos do trabalho, figuravam a obtenção de concentrações basais de metais neste tipo de organismo para a região, além da comparação da concentração de metais de macroalgas amostradas em sítio contaminado (a Baía Brown) e em locais de referência. No entanto, em tal estudo, há inúmeras variáveis importantes e intrinsecamente ligadas ao processo de absorção de metais, já que a variabilidade observada entre as espécies será influenciada pela disponibilidade do elemento no meio. Além disso, a concentração final no tecido está relacionada com fatores, tais como: salinidade, radiação solar, movimento das correntes, condições redox dos sedimentos, além de características peculiares de cada espécie. Com os resultados encontrados foi possível mostrar que as concentrações de elementos terras raras nas amostras próximas à Baía Brown estavam mais elevadas do que nas demais localidades. Esses elementos estão associados à atividade humana devido ao seu uso crescente em componentes eletrônicos e aplicações tecnológicas além de serem usados na indústria do petróleo como catalisadores.¹⁸ No caso específico deste trabalho, a principal fonte de elementos terras raras está na exposição das algas a partículas de silicato. Uma conclusão definitiva ficou comprometida devido às diferentes condições de radiação solar sob as quais as amostras estavam sujeitas no local das coletas, o que afeta a taxa de assimilação de metais pelas algas. Outro estudo com macroalgas, de Runcie

et al. (2009)¹⁹, ainda nas adjacências da mesma estação australiana, denominada Casey, avaliou as razões isotópicas de Pb na macroalga marinha *Iridaea cordata* coletadas em 4 regiões diferentes. Uma constatação importante do trabalho foi de que ao analisar talos de macroalgas de várias idades percebeu-se que a fonte de contaminação estava praticamente constante ao longo do tempo de vida do talo amostrado. Os resultados apontaram para um grande potencial de utilidade da espécie estudada como indicador de fonte de contaminação ambiental até mesmo para concentrações baixas do elemento e com variações pequenas entre os pontos amostrais. Além disso, os autores concluíram que a coleta de mais espécimes desta macroalga ao longo dos anos, na Baía Brown, poderá ser uma importante ferramenta para o biomonitoramento da região. Isso é corroborado pelo fato de que tem havido esforços nos últimos 5 anos para remediação da área, assim é esperado que as concentrações dos elementos derivados de aportes antrópicos diminuam ao longo dos anos.

Para a remediação de áreas contaminadas, Woinarski et al. (2003)²⁰ propuseram o uso de uma zeólita natural, a clinoptilolita, como uma barreira química atuando na remoção de espécies metálicas dissolvidas. Nesse trabalho foi testada esta zeólita para remoção de Cu^{2+} em temperaturas de 2 e 22 °C, havendo um significativo decréscimo na cinética de adsorção da espécie metálica em função da redução da temperatura. Outro parâmetro investigado que influenciou negativamente a adsorção foi a composição da matriz estudada, água do mar a 1% v v⁻¹, devido à presença de cátions competidores, principalmente o Ca^{2+} , possivelmente porque possui tamanho similar ao Cu^{2+} . Este parâmetro é de grande importância para o estudo, já que grande parte dos locais impactados na Antártica localiza-se em áreas costeiras. No entanto, por se tratar de um estudo preliminar, os autores não chegaram às condições ótimas que permitiriam o uso da zeólita para recuperação de áreas de clima frio contaminadas por metais.

Sun e Xie (2001)²¹ estudaram testemunhos de sedimento de lago afetados pela ornitogênese de pinguim na Ilha Ardley, próximo à Península Fildes, Antártica Marítima. Coletaram testemunhos com idade de 3000 anos (datação com ¹⁴C) e determinaram Pb. Os autores constataram teores mais elevados do elemento principalmente relativos aos últimos 200 anos, relacionado à Revolução Industrial e, mais especificamente nos últimos 50 anos, devido às atividades antrópicas na

Antártica como a presença das estações de pesquisa na Península Fildes, já que há 9 estações de pesquisa permanentes na Ilha Rei George, onde está localizada tal Península (ver Figura 1.1). Em 2008 os mesmos autores (XIE e SUN, 2008)²², estudaram testemunhos de sedimento na mesma Península. Os autores encontraram informações importantes relativas à deposição de As. Dois testemunhos de sedimento foram comparados com relação ao teor de As, um afetado por pinguins (com 1800 anos) e outro não afetado pela ornitogênese, com 3654 anos. O sedimento afetado pela avifauna apresentou concentrações de As cerca de duas vezes maiores, em média. No perfil controle não houve variação significativa na concentração do elemento durante os anos, já no perfil afetado ocorreu variação no conteúdo de As ao longo dos anos, relacionado ao número de aves que habitavam a região na época. Desta forma, sedimentos afetados pela avifauna são bons indicadores para avaliar deposições históricas de elementos derivados de atividade antrópica no ambiente Antártico.

Olech et al. (1998)²³ coletaram amostras de líquens nas proximidades de várias estações de pesquisa nas ilhas Rei George e Livingston, onde estão localizadas as estações dos seguintes países: Polônia, Brasil, Rússia, Chile e Espanha. Os líquens foram escolhidos como organismos biomonitores, pois permitem identificar locais potencialmente contaminados pela deposição atmosférica de contaminantes. Esses organismos acumulam substâncias voláteis diretamente do ar sem nenhum mecanismo de filtração natural. As determinações dos elementos de interesse foram realizadas por uma técnica multielementar, a emissão de raios-X induzida por próton (PIXE, *Proton Induced X-ray Emission*). Conforme esperado, as concentrações de Pb para as amostras localizadas no entorno das estações eram mais elevadas comparando-se com os pontos de referência, principalmente nas vizinhanças da estrada que conduz ao aeroporto.

Yin et al. (2008)²⁴ avaliaram a possibilidade de utilização de excrementos de animais como potenciais biomonitores de poluição por metais potencialmente tóxicos em ambientes marítimos. Para que se utilize um biomonitor é necessário que o mesmo seja de fácil amostragem e que possua boa correlação com a mudança da qualidade do ambiente. Vários organismos têm sido usados como biomonitores: plantas, algas, líquens e musgos, além de tecidos e órgãos de animais como: ossos, fígado, rins e penas. Todavia, o uso de organismos vivos

como biomonitores encontra resistência por parte de organizações governamentais de proteção da vida selvagem. Dessa forma, os autores do trabalho coletaram amostras de vários ambientes distintos: as estações chinesas na Antártica, Great Wall e Zhongshan, uma estação chinesa no Ártico, além de pontos de menor latitude localizados em ilhas na China. Os autores observaram correlações significativas entre as concentrações de alguns metais presentes nos excrementos e a poluição atmosférica por esses metais. Assim, os excrementos de animais marinhos podem ser utilizados como eficientes biomonitores pela facilidade de amostragem e pelo fato do seu uso não causar dano aos organismos.

A determinação de valores basais de contaminantes em diversas matrizes biológicas da Antártica tem sido realizada por vários pesquisadores. Nessa linha de pesquisas, Ahn et al. (1996)²⁵ determinaram a concentração de metais em tecidos do molusco *Laternula elliptica*. Esse organismo foi selecionado porque moluscos bivalves são capazes de acumular altas concentrações de metais sem que haja grande dano aparente às funções vitais dos mesmos. Dessa forma, 9 metais foram determinados em alguns tecidos deste animal, assim como nos sedimentos nos quais os animais habitavam para verificar os *backgrounds* geoquímicos locais. A amostragem foi realizada na Baía Maxwell, na Ilha Rei George. Para a maior parte dos metais investigados, a concentração no rim foi maior do que nos demais tecidos. As concentrações de Cd nos rins estavam correlacionadas com os elementos Zn, Pb e Mn, denotando um possível mecanismo de destoxificação do animal. Dessa forma, os autores concluíram que o organismo utilizado é um bom biomonitor de contaminação por metais potencialmente tóxicos em longo prazo.

Sedimentos e solos da região afetada pela estação brasileira Comandante Ferraz também já foram alvo de estudos por Santos et al. (2005)¹⁰. Nesse trabalho, os autores coletaram 14 amostras de solos no terraço marinho onde está localizada a Estação Ferraz e 32 amostras de sedimento. A concentração total e biodisponível de 16 elementos foram avaliadas nessas amostras. Foi utilizada a Análise por Componentes Principais (PCA, *Principal Component Analysis*)²⁶ para o tratamento dos dados gerados e observou-se a formação de 3 grupos distintos: sedimentos impactados, sedimentos controle e solos de Ferraz. Os sedimentos de Ferraz foram caracterizados por alta concentração de metais e alto teor de matéria orgânica. Os sedimentos controle tiveram características intermediárias, enquanto

que os solos foram caracterizados por alta disponibilidade de metais e baixo teor de matéria orgânica. A pequena área de sedimentos contaminados e a baixa biodisponibilidade de metais pode sugerir que os valores encontrados não afetaram os organismos marinhos bentônicos que habitavam aquela região. Santos et al. (2006)²⁷ analisaram as mesmas amostras de solo e sedimento do trabalho anterior¹⁰ além de amostras de organismos marinhos da região com relação às concentrações de Hg, Fe e Zn. Uma grande diversidade de amostras de organismos biológicos foi coletada, como: briófitas, líquens, gramíneas, algas, moluscos, crustáceos e peixes, além de penas de aves e casca de ovos, como também pêlos de focas. As amostras de solo coletadas ao redor da Estação Ferraz, assim como os sedimentos das suas adjacências possuem concentrações similares dos elementos determinados, todavia as amostras de solos possuem menores teores de matéria orgânica. Os resultados para os materiais biológicos mostraram que as amostras de mesmo nível trófico ou de mesmo grupo taxonômico possuem composição química semelhante. Os crustáceos, peixes e o molusco bivalve coletado, a *Nacella concina*, apresentaram concentrações elevadas de Zn (entre 50,2 e 99,1 mg kg⁻¹). De maneira geral, as concentrações de Hg encontradas foram baixas, o que já era esperado devido às contribuições pequenas do ambiente, além da baixa disponibilidade do elemento na região, pelo fato da formação do sulfeto insolúvel nas condições anóxicas do sedimento. Foi encontrada uma evidência de biomagnificação do Hg no ambiente pelo fato de que a concentração desse elemento é maior para as amostras relacionadas ao nível trófico mais elevado, sobretudo para as amostras de penas de aves e dos pêlos dos mamíferos. A concentração de Hg nas penas do animal está relacionada à sua concentração no corpo, já que os grupos sulfidríla da queratina ligam-se fortemente aos átomos de Hg, aumentando a sua concentração nas penas. Os líquens, gramíneas e penas de aves foram considerados os melhores compartimentos biológicos para propósitos de monitoramento ambiental da área estudada. Isso foi concluído a partir de algumas características dessas amostras como: grande distribuição geográfica, possibilidade de detectar poluição atmosférica (no caso dos líquens), grande disponibilidade de coleta ao longo de todo o ano, a amostragem não leva a impacto ambiental, abundância na região e as amostras são de tamanho adequado para análises.

Giordano et al. (1999)²⁸ analisaram amostras de sedimento coletados na Baía de Terra Nova, no Mar de Ross. Foram analisados vários elementos-traço além de Al, Fe e matéria orgânica. Os sedimentos continham altas concentrações de Cr, Fe, Mn, Ni e Zn, que são elementos provenientes das rochas vulcânicas da região. Áreas sujeitas a elevado grau de contaminação estavam relacionadas com elevados teores de metais potencialmente tóxicos. A análise granulométrica das amostras revelou que as mesmas possuíam conteúdo de argila pouco significativo. Dessa forma, cátions de elementos potencialmente tóxicos não se ligam às estruturas dos argilominerais nesta matriz analisada, mas ao invés disso podem ocorrer ligações mais fracas nas superfícies dos grãos de areia e silte. De maneira geral, a conclusão do trabalho foi de que as concentrações encontradas para os metais não atingem níveis alarmantes (concentrações médias de 2,04; < 0,8; 0,26; 20; 359; 6,31; 20,7; 2,12; 42,3; 56100; 16400 mg kg⁻¹ para Be, Bi, Cd, Cr, Mn, Ni, Pb, Sn, Zn, Al e Fe, respectivamente), alcançando concentrações que são comparáveis aos de sedimentos de regiões remotas e sem impacto antrópico evidente.

Um grupo de pesquisadores realizou um estudo na estação argentina Marambio (CHAPARRO et al., 2007)⁹ objetivando verificar o grau de contaminação dos solos de seu entorno por metais potencialmente tóxicos. Essa estação iniciou suas atividades na região em 1969 e até o final da década de 1990 não havia um programa para gerenciamento dos resíduos gerados, o que levou a uma série de efeitos adversos resultando em alterações dos parâmetros físicos e biológicos do seu entorno. Dessa forma, esse estudo teve o objetivo principal de verificar o grau de contaminação dos solos e gerar valores de referência para estudos futuros na região. Foram realizadas algumas medidas de parâmetros magnéticos *in situ* (susceptibilidade magnética e magnetização remanescente) e foram investigadas as correlações existentes entre as variáveis magnéticas com relação às concentrações de alguns metais. Os resultados evidenciaram moderadas correlações entre os parâmetros magnéticos e as concentrações de alguns metais, permitindo o uso dessas propriedades físicas para o monitoramento da presença de metais. Com relação aos metais, elevadas concentrações de Pb e Zn foram encontradas. Esses elementos podem ter sido incorporados às matrizes analisadas através do tráfego de veículos, queima de combustíveis para a geração de energia, assim como por meio da deposição de resíduos sólidos, tintas e materiais de construção.

Webster et al. (2003)²⁹ realizaram a coleta de várias amostras ambientais nas adjacências da estação neozelandesa Vanda, em 1997. As coletas compreenderam amostras de solos, sedimentos, filme microbiano, águas superficiais e subterrâneas. A estação Vanda foi instalada na região dos “*Dry Valleys*” em 1968 e esteve em operação até 1993. No verão de 1993-94 esta estação foi removida devido a um aumento nos níveis dos lagos da região, ameaçando a inundação da mesma. Dessa forma, os objetivos do trabalho foram: identificar e quantificar contaminantes em amostras superficiais de solos onde a estação estava instalada; identificar potenciais rotas de contaminantes para o lago Vanda e avaliar efeitos ambientais adversos neste ambiente aquático. As conclusões do trabalho foram que após a remoção da estação Vanda, contaminação química residual ainda existe na região na forma de discretos derrames de combustível e metais traço, além de elevadas concentrações de fosfato em um local que era utilizado para o escoamento de águas residuárias. Não foram constatadas evidências de contaminação da água nas vizinhanças do lago Vanda. Outro estudo realizado por neozelandeses na Antártica (EVANS et. al, 2000)³⁰, capturaram peixes da espécie *T. bernacchii* em dois pontos da Ilha Ross, um nas proximidades da estação americana Mcmurdo (Baía *Winter Quarters*) e em outro ponto nas proximidades do Cabo Royds, um local relativamente livre de impactos humanos. Vários parâmetros biológicos foram avaliados nos órgãos dos animais coletados, assim como as concentrações dos metais Cu, Cd, Ni e Zn foram determinados no fígado dos mesmos. Foram constatadas várias anomalias biológicas nos peixes coletados na baía contaminada, que incluía necrose e inflamação nos fígados dos mesmos, sendo tais patologias menos frequentes nos peixes coletados na baía sem intervenção humana. Com relação aos níveis dos metais investigados, as concentrações de Cu, Cd e Zn foram similares nos fígados dos animais, no entanto concentrações elevadas de Ni foram encontradas para os animais da baía *Winter Quarters*, todavia os teores encontrados não foram elevados o bastante para afetar as funções hepáticas do animal.

Negri et al. (2006)³¹ avaliaram a concentração de vários compostos orgânicos (hidrocarbonetos, bifenilas policloradas e hidrocarbonetos poliaromáticos) além dos elementos traço: As, Cd, Cu, Hg, Pb e Zn em sedimentos próximos da estação neozelandesa Scott Base. Outros dois pontos amostrados foram próximos da estação Mcmurdo, assim como em um ponto menos impactado. Nesse trabalho

também foram determinadas as concentrações dos mesmos elementos traço no molusco *Laternulla elliptica*, assim como em 3 espécies comuns de esponja. As concentrações dos elementos no molusco foram elevadas quando comparadas com a do sedimento. O fator de bioconcentração para o Cd ($[Cd]$ no molusco/ $[Cd]$ no sedimento) foi superior a 100, o maior entre todos os elementos traço. Com relação às esponjas, as concentrações dos elementos foram comparáveis com a do sedimento, exceto pelo Cd. Os sedimentos próximos da estação Scott Base possuem concentrações das espécies analisadas que são similares aos pontos controle, exceto para os hidrocarbonetos totais, mostrando assim o impacto na região. Todavia, os sedimentos de McMurdo apresentaram concentração de algumas das espécies investigadas até uma ordem de grandeza maior do que nas demais regiões.

Crockett (1998)⁸, em um trabalho pioneiro, determinou os valores basais para vários elementos potencialmente tóxicos em amostras de solos das imediações da estação americana McMurdo. Cabe ressaltar que essa estação é a maior estação científica antártica e abriga cerca de 1200 pessoas a cada ano. Foram coletadas amostras de dois tipos distintos de solos (solo vermelho e cinzento) e dois procedimentos de preparo de amostras foram executados: digestão total e a extração com ácido forte à quente proposta pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, a EPA (Acrônimo do inglês, *Environmental Protection Agency*). Os resultados permitiram mostrar que há diferenças significativas entre as composições dos dois tipos de solos estudados e as concentrações de metais nos solos foram similares às concentrações desses elementos na rocha matriz. De maneira geral, a quantidade de metais extraída com o procedimento da EPA representou apenas uma pequena fração da concentração total do metal na amostra, variando de 58% de eficiência de extração para o Ni no solo cinzento e de apenas 2% para o Cr no solo vermelho.

5) Análises de amostras de solos coletadas nas adjacências da estação brasileira Comandante Ferraz

5.1 – Materiais e Métodos

5.1.1 – Amostragem e preparo das amostras

A coleta das amostras de solos foi feita entre Dezembro de 2007 e Fevereiro de 2008. As amostras foram coletadas em 15 diferentes pontos amostrais (totalizando 49 amostras) localizados na Ilha Rei George, Baía do Almirantado, Antártica Marítima. A Figura 3.1 e a Tabela 2.1 fornecem informações adicionais sobre os pontos de coleta (P#).

A amostragem foi feita em até 60 cm de profundidade para os pontos de coleta distantes (mais de 150 m) da Estação Ferraz. O procedimento de coleta foi realizado amostrando-se uma porção representativa dos solos (cerca de 2 kg) a cada 10 cm de profundidade no perfil (pontos distantes da estação) ou a cada 20 cm de profundidade (pontos nas proximidades da estação).

Nos pontos de coleta ao redor da Estação Ferraz (vide pontos P1 a P8, Figura 3.1), as amostras de solos foram coletadas em pontos próximos dos tanques de óleo diesel e do heliponto (mais detalhes na Figura 3.1 e Tabela 2.1).

As amostras foram estocadas em recipientes de plástico até o processamento das mesmas no laboratório do Departamento de Química da UFSCar.

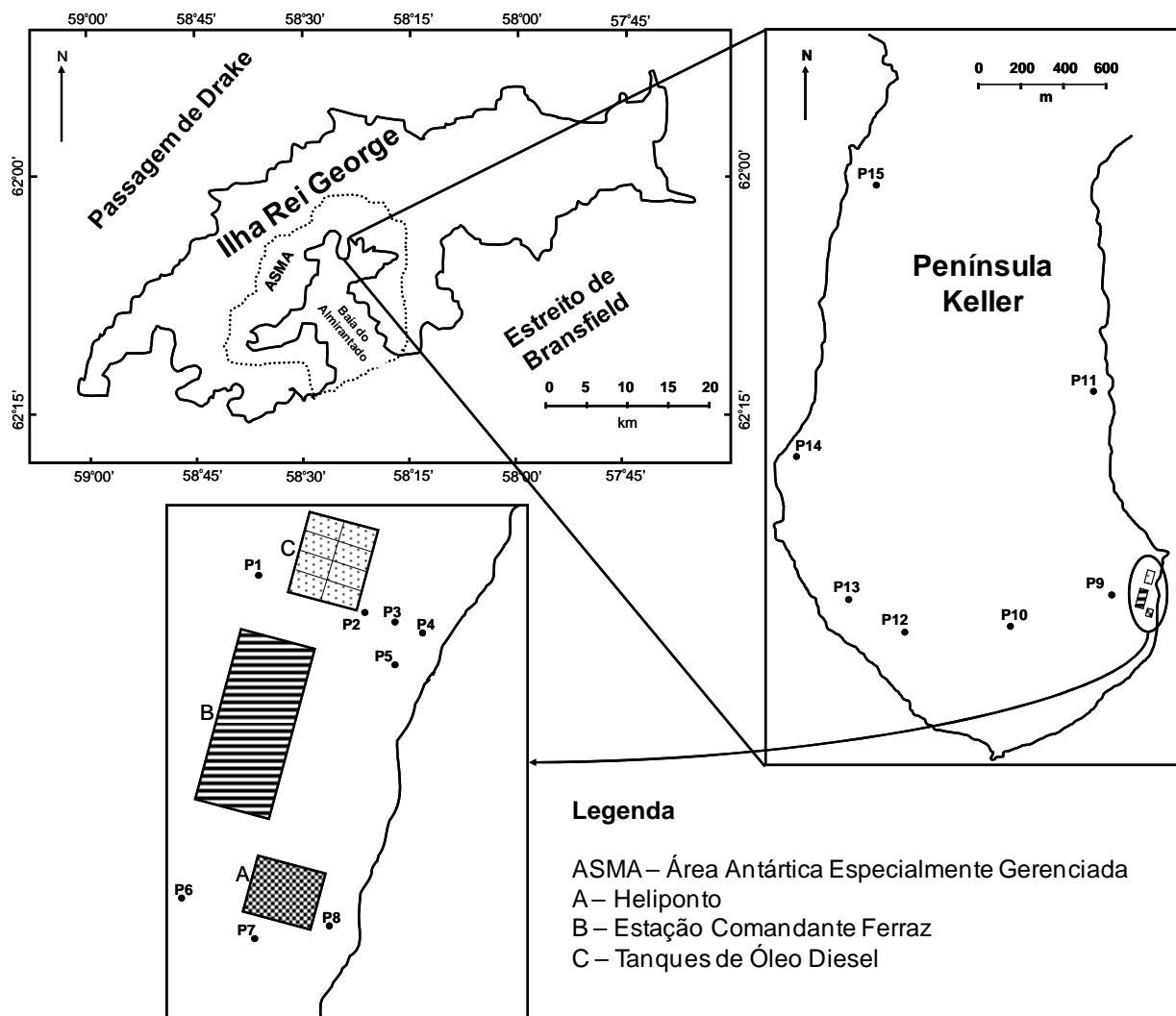


Figura 3.1 – Mapa da Península Keller, Ilha Rei George, Antártica Marítima com a indicação dos pontos de coletas

Tabela 2.1 – Descrição dos pontos de coleta

Pontos (vide Figura 3.1)	Número de amostras coletadas	Profundidade Máxima (cm)	Identificação das amostras selecionadas para as demais análises	Observações de campo
P1	01	40	1	Ponto controle
P2	02	40	2A e 2B	Abaixo dos tanques de óleo
P3	02	40	3A e 3B	Afetado pelos tanques de óleo
P4	02	40	4A e 4B	Afetado pelos tanques de óleo
P5	02	40	5A e 5B	Afetado pelos tanques de óleo
P6	01	40	6	Ponto controle
P7	02	40	7A e 7B	Afetado pelo heliponto
P8	02	40	8A e 8B	Entrada da garagem dos botes
P9	05	50	9A e 9B	Ponto não- impactado
P10	03	30	10A e 10B	Ponto não- impactado
P11	06	55	11A e 11B	Ponto não- impactado
P12	05	45	12A e 12B	Ponto não- impactado
P13	06	60	13A e 13B	Ponto não- impactado
P14	04	40	14A e 14B	Ponto não- impactado
P15	06	60	15A e 15B	Ponto não- impactado

A – amostra superficial (0 – 20 cm nos pontos próximos da estação e 0 – 10 cm nos pontos distantes)

B – amostra profunda (20 – 40 cm nos pontos próximos da estação e 10 – 20 cm nos pontos distantes)

5.1.2 – Preparo das amostras para análises por SR-XRF

As amostras de solos foram secas em estufa a 60 °C, peneiradas (< 2 mm), moídas com um moinho de facas (A11 basic, IKA®, EUA) e, novamente peneiradas (< 212 µm) sendo em seguida secas até massa constante a 60 °C.

As amostras moídas, secas e peneiradas foram prensadas a 7 ton cm⁻² por 30 s para a obtenção de lâminas delgadas (espessura aproximada de 1 mm) as quais foram fixadas em suportes de alumínio.

5.1.3 – Análise das amostras usando a SR-XRF

As análises das amostras de solos foram feitas utilizando-se a técnica de fluorescência de Raios-X (XRF, *X-Ray Fluorescence*) utilizando como fonte de excitação a radiação síncrotron (SR-XRF). Tais análises foram realizadas no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS) localizado em Campinas, São Paulo.

As condições de medida foram as seguintes: diâmetro do feixe (200 µm), um ponto irradiado por amostra, tempo de irradiação de 200 s por ponto, além do uso de um filtro de Fe entre a amostra e o feixe com a espessura de 6 mm. Esse filtro de Fe foi utilizado para minimizar a saturação do detector pelo sinal de fluorescência do Fe presente nas amostras de solos. Cabe ressaltar que tal elemento, Fe, está presente em concentrações elevadas nas amostras de solos. Os cálculos da PCA foram realizados com o auxílio do programa Pirouette 4.0 (Infometrix, Bothell, EUA). Pelo uso da PCA, os dados brutos são projetados em dimensões menores, para facilitar a interpretação dos mesmos. Essas novas dimensões são denominadas Componentes Principais (PC, *Principal Components*) sendo separadas em 2 matrizes denominadas scores e loadings. Tais matrizes trazem informações sobre as amostras (*scores*) e sobre as variáveis (*loadings*) e devem ser analisadas em conjunto. Essas análises preliminares foram realizadas para todas as amostras antes da realização das análises quantitativas. Algumas amostras foram aleatoriamente selecionadas e analisadas em duplicata.

5.1.4 – Reagentes e soluções

Todos os reagentes foram de grau analítico e ácidos (HCl e HNO₃) obtidos em sistema *sub-boiling* (Marconi, Piracicaba, Brasil) foram usados para o preparo da solução de água régia. Água deionizada foi utilizada para o preparo de todas as demais soluções.

Todos os frascos e vidrarias foram limpos com detergente, enxaguados exaustivamente com água destilada e descontaminados pela imersão em banho de HNO₃ (10 % v/v) por 12 h. Soluções estoque dos metais (1000 mg L⁻¹) foram usadas para o preparo de todas as soluções padrão.

5.1.5 – Extração com água régia para a determinação de Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn.

Uma extração com água régia foi aplicada ao invés da digestão total, já que a mesma permite acessar o conteúdo máximo de elementos realmente disponíveis para as plantas.³² A extração foi conduzida de acordo com a norma alemã, DIN 38414-S7³³, a qual está detalhadamente descrita no anexo 1. No procedimento de extração utilizou-se amostras de solos previamente moídas e peneiradas (300 mg), em triplicata e adicionou-se 3 mL de água régia (HCl : HNO₃, 3:1, v v⁻¹). Uma etapa de pré-digestão foi conduzida a temperatura ambiente, em repouso durante 12 h. A seguir, os tubos foram transferidos para um bloco digestor (Solab, Piracicaba, Brasil) e uma etapa de aquecimento a 120 °C foi realizada por 3 h em refluxo. Finalmente, os extratos foram transferidos para tubos previamente descontaminados e o volume final foi ajustado para 10 mL com água deionizada.

5.1.6 – Uso do método de extração sequencial do BCR (*Community Bureau of Reference*) para a determinação de Cu, Mn e Zn

O procedimento de extração sequencial (PES) foi realizado conforme descrito por Scancar et. al (2000)³⁴, ligeiramente modificado. Informações detalhadas de tal procedimento empregado podem ser encontradas na Tabela 3.1. Pesou-se 0,5000 g de solo em triplicata em tubos de centrifuga de 15 mL. A seguir adicionou-se 10 mL de CH₃COOH (0,11 mol L⁻¹, pH = 2,8). Colocou-se a mistura para agitar em um agitador de bancada (Barnsteady, Iowa, EUA) por 10 h. A segunda etapa do procedimento de extração foi realizada com 10 mL de NH₂OH·HCl (0,5 mol L⁻¹, pH = 1,5), e a terceira etapa com 1 mL de H₂O₂ (30% v/v, pH = 2) e 9

mL de $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ (1 mol L^{-1} , $\text{pH} = 2$). As etapas 1, 2 e 3 do PES foram conduzidas sob agitação nas mesmas condições por 10 h. Na última etapa foi conduzida uma extração com água régia no resíduo da terceira etapa. Após cada fase da extração o sobrenadante foi separado por centrifugação e transferido para frascos descontaminados.

Tabela 3.1 – Procedimento de extração sequencial (Scancar et. al (2000)³⁴)

Descrição da fração	Agente extrator	Tempo de extração
F1) Solúvel em ácido	10 mL de CH_3COOH ($0,11 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 2,8$)	10 h
F2) Reduzível	10 mL $\text{NH}_2\text{OH.HCl}$ ($0,5 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 1,5$)	10 h
F3) Oxidável	0,5 mL H_2O_2 (30% v/v, $\text{pH} = 2$), aquecimento a $85 \text{ }^\circ\text{C}$ por 1 h, adição de mais 0,5 mL de H_2O_2 (30% v/v) e aquecimento por 1 h a $85 \text{ }^\circ\text{C}$, adição de 9 mL de $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ (1 mol L^{-1} , $\text{pH} = 2$)	1 h, 1 h, 10 h
F4) Residual	5 mL de água régia (HCl/HNO_3 , 3:1 v/v)	30 min

5.1.7 – Extração com DTPA para a determinação de Cd e Pb

A solução extratora (de DTPA) foi preparada usando-se $0,005 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido dietilenotriaminopentaacético, $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de CaCl_2 , tamponado em $\text{pH} = 7,30$ com o uso de trietanolamina.³⁵ Um grama das amostras de solos foram pesadas em triplicata e adicionou-se 5,0 mL de solução extratora. A seguir, agitou-se o sistema por 2 h em um agitador de bancada. O sobrenadante foi transferido para frascos de polietileno previamente descontaminados.

5.1.8 – Determinação quantitativa dos metais por Espectrometria de Absorção Atômica

As extrações com água régia, DTPA e a extração sequencial foram realizadas para as amostras de solos mais superficiais de todos os pontos amostrais (15 pontos de coleta), totalizando 28 amostras de solos. Neste caso, todas as

amostras coletadas ao redor da Estação Ferraz foram analisadas (14 amostras) e para as amostras coletadas distantes da estação, apenas aquelas até a profundidade de 20 cm foram usadas para essas extrações anteriormente mencionadas (mais 14 amostras).

As determinações quantitativas dos elementos Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn foram feitas nos extratos obtidos com tais procedimentos (água régia, DTPA e extração sequencial) através de 3 diferentes métodos baseados em absorção atômica: FAAS, STAT-FAAS e TS-FF-AAS. Os arranjos que permitem um ganho em sensibilidade com relação à FAAS convencional, ou seja, STAT-FAAS e TS-FF-AAS foram empregados para a determinação quantitativa de Cd e Pb (elementos que apresentaram as menores concentrações). Todas as determinações foram realizadas usando-se um espectrômetro de absorção atômica (AA240FS; Varian, Mulgrave, Austrália) equipado com uma lâmpada de deutério para correção da radiação de fundo. A quantificação dos elementos Cu, Mn, Ni e Zn nos extratos de água régia e da extração sequencial foi realizada com o FAAS operando-se no modo sequencial rápido. Os sinais analíticos destes elementos foram monitorados nos comprimentos de onda de 324,7, 279,5, 232,0 e 213,9 nm, respectivamente, usando-se chama de ar-acetileno. A determinação de Cr por FAAS (357,9 nm) nos extratos de água régia foi realizada separadamente, pois foi necessário o uso da chama de acetileno-óxido nitroso para a sua detecção nesta matriz. Isso se deve à maior temperatura alcançada pela chama de acetileno-óxido nitroso, o que permite a dissociação de compostos refratários que podem aprisionar o elemento Cr. Os elementos Cd (228,8 nm) e Pb (283,3 nm) foram determinados nos extratos de DTPA usando-se a TS-FF-AAS. Nesse caso, um tubo de níquel (10 cm de comprimento) foi posicionado sobre a chama de ar-acetileno com o objetivo de aumentar a densidade de átomos no estado fundamental no caminho ótico. Neste arranjo, a introdução de amostras é realizada usando-se um capilar cerâmico (0,5 mm de diâmetro interno) promovendo-se completa introdução da amostra.³⁶⁻³⁷ O arranjo da TS-FF-AAS foi montado conforme proposto por Miranda et al. (2009)³⁸ com ligeiras modificações propostas por Souza et al. (2009).³⁹ Uma importante modificação proposta por estes autores foi o uso de uma solução carregadora composta pela mistura entre EDTA 0,5 % m/v e Triton X-100 0,1 % v/v para minimizar a ocorrência de entupimento do capilar cerâmico de introdução de amostras.

O STAT-FAAS foi usado para a determinação de Cd e Pb nos extratos de água régia. Tal sistema, proposto por Watling et al. (1977)⁴⁰ é uma técnica de “aprisionamento de átomos”, que proporciona uma melhoria na sensibilidade da FAAS convencional pelo aumento da densidade de átomos no estado fundamental no caminho ótico, do mesmo modo que na TS-FF-AAS.⁴¹ Todavia, na STAT-FAAS não se observa ganho de sensibilidade relacionado a introdução de amostras, porque o mesmo é operado *via* nebulização pneumática do FAAS. Nesse sistema, um tubo de Ni (com 10 cm de comprimento) é posicionado sobre a chama de ar-acetileno. Esse tubo apresenta uma fenda de 5 cm na parte inferior, que permite a entrada parcial dos gases de combustão.

5.1.9 – Análises complementares das amostras de solos: pH em água, carbono orgânico total e granulometria

Para a medida do pH, 10 g de amostras de solos (tamanho de partícula < 2 mm) foram transferidas para tubos de centrífuga de 50 mL e 20 mL de água deionizada foram adicionados.⁴² O sistema foi agitado por 30 min em um agitador horizontal. Em seguida, o pH (pHmetro, PHTEK, PHS-3B) foi medido no sobrenadante após a sedimentação das partículas de solos. O teor de carbono orgânico total foi estimado através do método Walkley & Black.⁴³ A granulometria foi determinada conforme descrito pela EMBRAPA.⁴⁴ Os resultados obtidos com a determinação do pH, COT e granulometria das amostras selecionadas são apresentados no anexo 2.

Todos os dados obtidos com as extrações químicas e análises complementares foram tratados com o uso da HCA (Acrônimo do inglês *Hierarchical Cluster Analysis*) e da PCA utilizando-se o programa computacional Pirouette 4.0. No anexo 2 podem ser visualizados todos os resultados obtidos para as amostras selecionadas.

5.1.10 – Cálculo dos fatores de enriquecimento

Fatores de enriquecimento (FE) foram calculados com o objetivo de verificar o grau de contaminação por deposição de metais pesados nos solos estudados. O cálculo dos fatores de enriquecimento (FE) foi feito de acordo com Loska et al. (2004)⁴⁵:

$$FE = \frac{\frac{c_n(\text{amostra})}{c_{ref}(\text{amostra})}}{\frac{B_n(\text{basal})}{B_{ref}(\text{basal})}}$$

Onde c_n (amostra) é a concentração do elemento estudado no ponto em estudo, c_{ref} (amostra) é a concentração do elemento de referência no ponto em estudo, B_n (basal) é a concentração do elemento em estudo no ambiente de referência e B_{ref} (basal) é a concentração do elemento de referência no ambiente de referência. Elementos de referência devem ser caracterizados por baixa variabilidade de ocorrência (LOSKA et. al., 2004).⁴⁵ Muitos elementos são comumente empregados como referência, tais como: Al, Ca, Fe, Mn, Ti e V (Loska et. al., (2004)⁴⁵; Sutherland, (2000)⁴⁶). Sutherland (2000)⁴⁶ propôs um sistema preliminar de classificação para avaliar o grau de poluição a partir do cálculo dos FE. Tal sistema está baseado em 5 classes:

- 1 – FE < 2 – Poluição mínima ou níveis basais do elemento estudado
- 2 – FE entre 2 e 5 – Poluição moderada
- 3 – FE entre 5 e 20 – Poluição significativa
- 4 – FE entre 20 e 40 – Poluição muito intensa
- 5 – FE > 40 – Extremamente poluído

Para o cálculo dos fatores de enriquecimento, os teores basais tanto dos elementos de referência adotados quanto dos elementos em estudo foram reportados como a média da concentração destes elementos para amostras coletadas distantes da estação caracterizadas com mínimo impacto antrópico (pontos P9 a P15 na Figura 3.1 e Tabela 2.1). Os elementos Fe e Mn foram utilizados como elementos de referência para permitir uma comparação entre os resultados obtidos com ambos.

6) Resultados e discussão

6.1 – Análises preliminares com o uso da Fluorescência de Raios-X com radiação síncrotron

Todos os dados obtidos com o uso da Fluorescência de Raios-X foram organizados em uma matriz contendo 90 linhas (número de amostras) e 2048 colunas (intensidade de energia variando de 0 a 25 keV). A matriz foi centrada na

média e a PCA foi aplicada à mesma. Os gráficos de *scores* e *loadings* da PCA são mostrados nas Figuras 4.1a e 4.1b.

A análise por meio da PCA permitiu a identificação de pontos contrastantes, notadamente devido ao teor de Fe. Sinais menos intensos de Fe estavam consistentemente relacionados com os solos do terraço marinho, onde está localizada a Estação Ferraz.

Uma nova PCA foi calculada eliminando-se os elementos com os sinais mais intensos (Ca, Fe, K e Ti). A mesma tendência de agrupamento entre as amostras dos pontos coletados foi observada antes e após a eliminação dos sinais de fluorescência (vide Figuras 4.1a e 5.1a).

As amostras oriundas dos pontos mais afetados pelos tanques de óleo estão associadas com a presença de Cr (Figura 5.1b). As amostras distantes da estação foram caracterizadas por elevados teores de V e Cu. Elevadas concentrações de Cu podem estar relacionadas com a presença natural do mineral calcopirita (mineral de Cu) nas rochas vulcânicas da área.⁴⁷

O elemento vanádio está associado com contaminação por petróleo⁴⁸, embora elevadas concentrações de vanádio tenham sido observadas em solos distantes da estação. Tal comportamento pode ser explicado pela afinidade geoquímica deste elemento por óxidos de Fe⁴⁹, especialmente porque as amostras de solos distantes de Ferraz possuem intensos sinais de fluorescência de Fe (vide Figura 4.1b).

Embora o elemento Zn esteja associado à deposição atmosférica proveniente da queima de diesel⁵⁰, neste estudo não há uma clara evidência de elevadas concentrações desse elemento nos solos do entorno de Ferraz (vide Figura 5.1b).

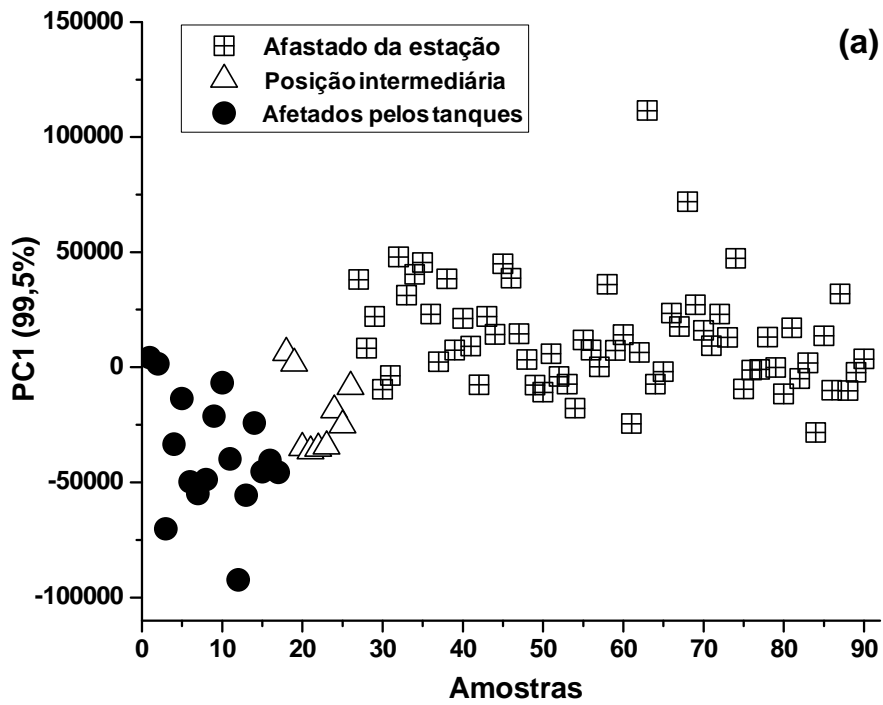


Figura 4.1a – Gráfico de scores com todas as variáveis obtidas com a SR-XRF

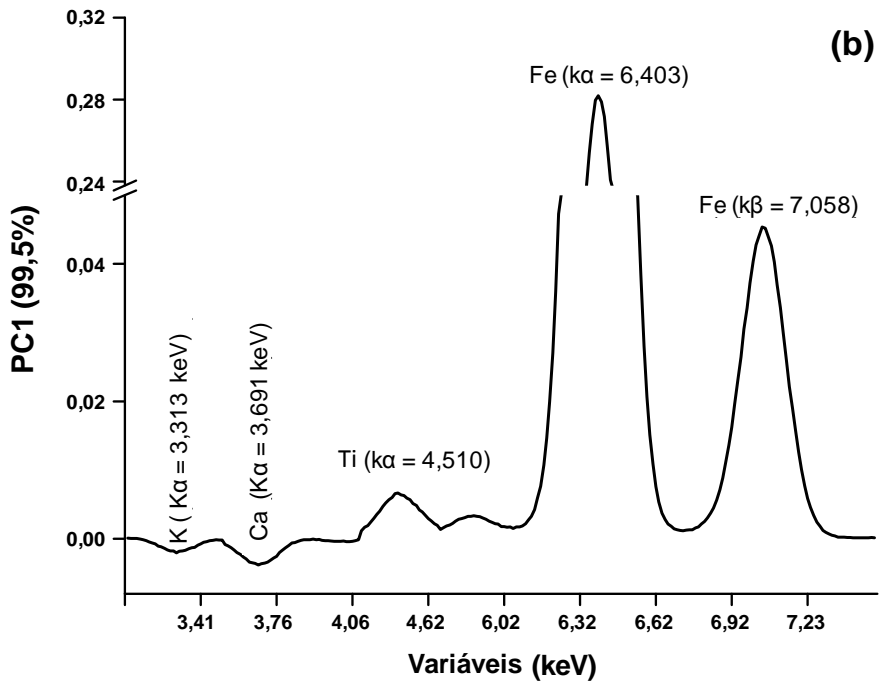


Figura 4.1b – Gráfico de loadings com todas as variáveis obtidas com a SR-XRF

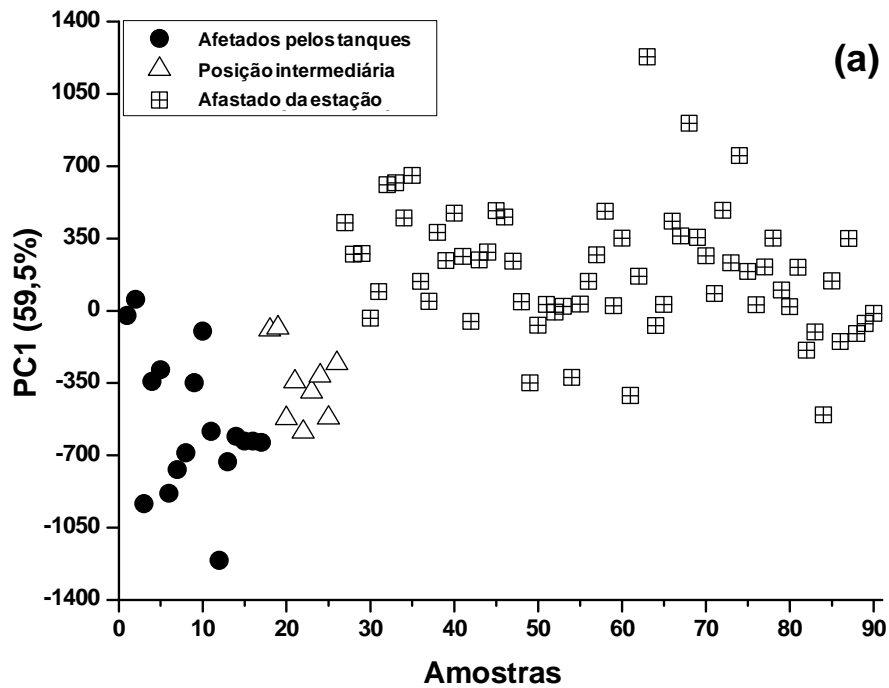


Figura 5.1a – Gráfico de scores obtido após seleção de variáveis (eliminação dos sinais de Ca, Fe, K e Ti da SR-XRF)

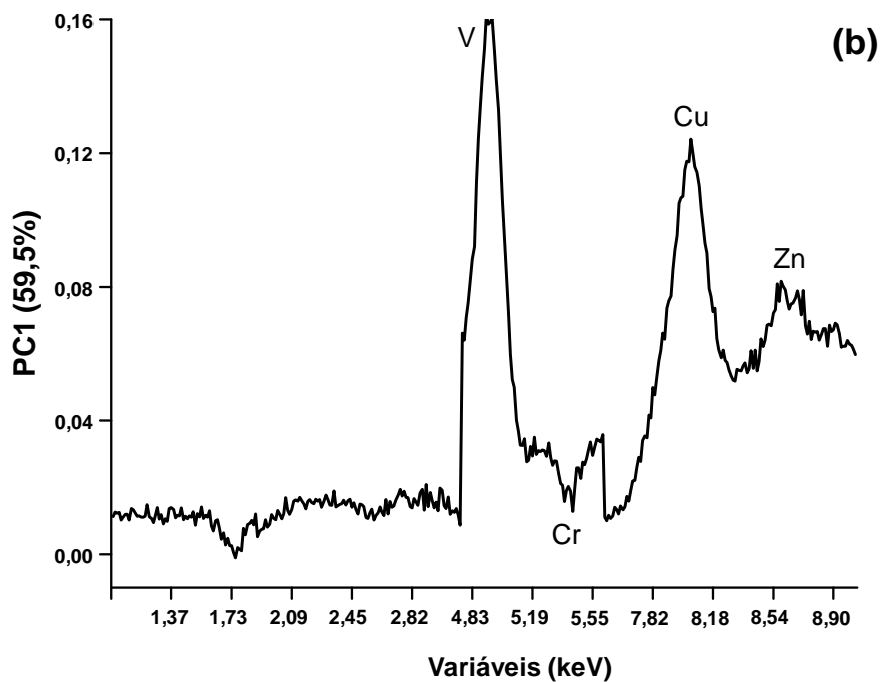


Figura 5.1b – Gráfico de loadings obtido após seleção de variáveis (eliminação dos sinais de Ca, Fe, K e Ti da SR-XRF)

Claridge et al. (1995)⁵¹ estudaram solos contaminados por atividade antrópica nas vizinhanças da estação Americana Mcmurdo e foram encontradas evidências de contaminação por metais potencialmente tóxicos, como Cu, Pb e Zn,

embora os teores observados não representassem uma ameaça ao ambiente estudado.

O elemento Cr tem sido associado com contaminação por petróleo⁵² e os solos coletados nas vizinhanças dos tanques de diesel estão seriamente contaminados por derrames acidentais de diesel. A deposição de Cr também está associada com tintas usadas para a proteção dos tanques de óleo diesel.⁹

Espécies de Cr podem ser adsorvidas por constituintes dos solos, evitando a lixiviação desse elemento para o lençol freático ou minimizando a absorção do mesmo pelos organismos, reduzindo assim a sua biodisponibilidade no ambiente. Tais componentes dos solos podem ser minerais de argila ou ácidos húmicos presentes na matéria orgânica dos solos que são reconhecidos por formarem compostos estáveis com o Cr (III).⁵³ Nesse aspecto, é importante destacar que os solos da Antártica usualmente possuem reduzidos teores de argila (geralmente variando entre 1 – 5 % m/m) e de matéria orgânica.⁵¹ Santos et al. (2006)²⁷ determinaram algumas características químicas dos solos do terraço marinho onde está localizada a Estação Ferraz e encontraram teores médios de matéria orgânica da ordem de 2,60 % m/m.

6.2 – Recuperação dos elementos estudados

Com o objetivo de verificar a exatidão da extração e quantificação de metais, um material de referência certificado, BCR 146 R (lodo de esgoto de origem industrial) foi usado. As recuperações dos elementos Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn foram satisfatórias (entre 89 e 102 %).

Apesar da reconhecida baixa reprodutibilidade inerente aos procedimentos de extração sequencial⁵⁴, a soma das concentrações dos elementos nas frações foram concordantes com a concentração pseudototal dos elementos com recuperações de 96 ± 6 ; 97 ± 11 e 87 ± 16 % para Cu, Mn e Zn, respectivamente.

6.3 – Uso de técnicas baseadas no “aprisionamento de átomos” e determinação sequencial rápida por FAAS para análises de extratos de solos.

A espectrometria de absorção atômica com aerosol térmico em forno tubular na chama (TS-FF-AAS) foi empregada para a determinação de Cd e Pb nas

soluções obtidas com as extrações usando DTPA. A TS-FF-AAS apresentou adequada sensibilidade para a quantificação desses elementos. Nesse caso, o uso de um carregador composto por uma mistura contendo EDTA 0,5 % m/v e Triton X-100 a 0,1 %v/v foi usado para prevenir a obstrução do capilar cerâmico de introdução de amostras. Não foi possível determinar Cd e Pb através do modo sequencial rápido do equipamento. Este arranjo requer a introdução contínua da amostra sem o uso de um carregador e, desta forma ocorre entupimento frequente do capilar cerâmico.

Além disso, os extratos de água régia não puderam ser determinados diretamente por TS-FF-AAS nem mesmo no modo monoelementar, pois elevados sinais de fundo foram registrados. Esse comportamento ocorreu devido às elevadas concentrações de sais de cloreto dentro do atomizador e as espécies moleculares formadas a partir dos mesmos podem gerar intensos sinais de fundo³⁸, sobretudo devido à baixa temperatura dentro do tubo atomizador de Ni, cerca de 1000 °C. Dessa forma, com o objetivo de alcançar elevada frequência analítica e adequada sensibilidade para as determinações de Cd e Pb, utilizou-se o STAT-FAAS combinado com a determinação sequencial rápida dos elementos nos extratos de água régia. Na Tabela 4.1 são mostrados os parâmetros analíticos de desempenho dos métodos empregados.

Tabela 4.1 – Parâmetros analíticos de desempenho para os métodos empregados

Elementos	Tipo de chama	Método	Frequência analítica máxima teórica (determinações por hora)	LOD* ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Cd e Pb	Ar-Acetileno	FS-FAAS	386	3,6 e 86
Cd e Pb	Ar-Acetileno	STAT-FAAS	386	0,7 e 31
Cd e Pb	Ar-Acetileno	TS-FF-AAS	109	0,3 e 8,8
Cu e Ni	Ar-Acetileno	FS-FAAS	363	8,5 e 27
Mn e Zn	Ar-Acetileno	FS-FAAS	379	9,9 e 2,6
Cr	Acetileno-N ₂ O	FAAS	257	60

* LOD – limite de detecção calculado de acordo com a IUPAC ($3\sigma_{\text{branco}}$ /inclinação, n = 10).

Grupos de dois elementos foram formados para a determinação por FAAS no modo sequencial: 1) Mn e Zn e 2) Cu e Ni. Tais grupos foram formados com base no mesmo fator de diluição requerido para a determinação de ambos os elementos por FAAS. Na Tabela 4.1 pode ser visualizada uma comparação entre as técnicas FAAS, STAT-FAAS e TS-FF-AAS no modo de determinação sequencial rápido.

Para o cálculo da frequência analítica máxima teórica, os seguintes parâmetros foram usados: 1 s de tempo de atraso para as medidas; 3 s de tempo de integração por elemento e 33 nm s^{-1} como velocidade de varredura do sistema ótico do equipamento. Além disso, foi feita a consideração de que em análises de rotina pode-se usar um amostrador automático que dispende cerca de 10 s para introdução de cada amostra.

O STAT-FAAS no modo sequencial torna-se uma estratégia interessante para a determinação sequencial rápida de Cd e Pb, porque o mesmo combina alta frequência analítica (a mesma observada para o FS-FAAS) e limites de detecção com valores intermediários entre o FAAS convencional e a TS-FF-AAS.

O pior desempenho da TS-FF-AAS no modo sequencial, com relação à frequência analítica para determinação de Cd e Pb, se deve ao tempo de espera necessário para a estabilização do sinal (60 s) antes do início das medidas.

6.4 – Fatores de enriquecimento

A Tabela 5.1 mostra os fatores de enriquecimento para as amostras coletadas ao redor da Estação Ferraz, adotando o Fe e o Mn como elementos de referência.

De maneira geral, os elementos de referência selecionados levaram a resultados similares e a correlação entre ambos (vide o cálculo do fator de enriquecimento para o Mn usando o Fe como elemento de referência na Tabela 5.1) está próxima de 1 para todos os pontos investigados. Essa constatação é uma boa indicação da pequena variação na concentração relativa de ambos os elementos de referência nas amostras estudadas. Conforme o esperado, os pontos impactados pelos tanques de óleo, 2A até 5B, são os caracterizados pelos maiores FE (entre 0,2 a 22), principalmente para Cr, Ni e Pb. Por outro lado, os pontos controle ao redor da estação foram caracterizados pelos menores FE, no intervalo de 0,6 a 3, o que reflete poluição mínima ou moderada. Para os pontos impactados pelos tanques de

óleo, especialmente para os pontos mais próximos (2, 3 e 4), foram observados os mais elevados FE, nos intervalos de 0,6 – 20; 0,4 – 9 e 2 – 22, para Cr, Ni e Pb, respectivamente. Dessa forma, o grau de contaminação dos solos estudados está melhor determinado pelos elementos Cr, Ni e Pb, dentre os elementos estudados, pelo fato das amostras possuírem os maiores FE para esses metais.

Tabela 5.1 – Fatores de enriquecimento para as amostras próximas da Estação Ferraz usando Fe e Mn como elementos de referência

Amostra	Elemento referência: Fe							Elemento referência: Mn						
	Cd	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn	Cd	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn	
1	3	1	1	1	1	1	0,9	3	1	1	1	1	0,8	
2A	0,3	8	0,4	0,6	1	11	1	0,5	14	0,6	3	20	2	
2B	0,3	8	0,4	0,4	4	2	1	0,9	20	1	9	5	3	
3A	2	6	0,5	0,7	2	10	3	4	10	0,7	2	15	4	
3B	3	0,6	0,6	0,8	0,4	17	1	4	0,7	0,8	0,4	22	1	
4A	3	5	0,7	1	5	12	1	3	4	0,7	5	12	1	
4B	2	0,8	0,9	1	0,6	3	1	1	0,7	0,7	0,5	3	1	
5A	0,2	5	0,8	1	4	1	0,9	0,2	5	0,8	3	1	0,9	
5B	0,2	6	1	1	2	2	1	0,2	5	0,9	2	2	1	
6	3	1	1	1	0,9	2	1	2	1	1	0,6	1	0,7	
7A	2	2	0,8	1	3	3	0,9	1	1	0,6	3	2	0,7	
7B	2	1	0,9	1	0,8	1	0,9	1	1	0,6	0,8	1	0,8	
8A	0,2	1	0,9	1	3	2	1	0,1	0,9	0,8	2	1	0,9	
8B	0,2	1	0,9	1	4	2	1	0,1	1	0,8	3	2	0,8	

6.5 – Tratamento quimiométrico das análises químicas dos solos: concentrações de metais potencialmente tóxicos e características químicas

Para o uso da HCA, os dados foram organizados em uma matriz com 28 linhas (número de amostras) e 29 colunas (variáveis investigadas, expressas como a média de 3 replicatas). As variáveis investigadas foram: concentrações pseudototais dos elementos: Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn; concentrações biodisponíveis de Cd e Pb (extraídos com solução extratora de DTPA); percentagem de cada elemento nas frações do Procedimento de Extração Sequencial (PES);

soma das três frações iniciais do PES, relacionado à fração lábil de Cu, Mn e Zn; e as características físicas dos solos: pH, COT e granulometria, incluindo as porcentagens de areia, silte e argila, totalizando 29 variáveis.

Os dados foram autoescalados e para a construção do dendrograma, a distância Euclidiana e o modo incremental foram usados.

Os resultados para a HCA são mostrados na Figura 6.1. O dendrograma permite verificar as diferenças entre as amostras de solos coletadas ao redor da estação (especialmente aquelas impactadas pelos tanques de óleo) e as amostras coletadas em pontos distantes de Ferraz. Isto pode ser confirmado pela formação de dois grupos distintos de amostras relacionados aos locais de amostragem.

As amostras provenientes dos pontos controle ao redor da Estação Ferraz (pontos 1 e 6, vide Figura 3.1 e Tabela 2.1) possuem características químicas similares daquelas coletadas nos pontos distantes de Ferraz, como pode ser constatado pela posição dos mesmos no dendrograma (vide Figura 6.1).

Esses resultados apresentados com o uso da HCA confirmam as análises prévias realizadas com a combinação entre a SR-XRF e a PCA, na qual também torna-se evidente a diferenciação das amostras destes pontos de coleta.

Para o tratamento quimiométrico com o uso da PCA, algumas variáveis foram eliminadas para facilitar a interpretação dos dados. Do mesmo modo que para a HCA, foi realizada a soma das frações 1, 2 e 3 do PES para cada elemento (Cu, Mn e Zn). Todos os dados foram então organizados em uma matriz com 28 linhas (número de amostras) e 17 colunas (relacionadas às variáveis). A matriz foi autoescalada para dar a mesma importância para todas as variáveis e a PCA foi aplicada à mesma usando-se o programa computacional Pirouette 4.0.

Os scores e loadings da PCA são mostrados nas Figuras 7.1a e 7.1b. Uma clara separação foi observada entre os pontos amostrais (Figura 7.1a, gráfico de scores) e as variáveis relacionadas a este comportamento podem ser visualizadas na Figura 7.1b. Os pontos diretamente impactados pelos tanques de óleo diesel apresentaram maiores concentrações de Cr, Ni e Pb. Essa observação pode ser confirmada pelos dados apresentados na Tabela 6.1. Com relação ao Pb, pode-se constatar que o mesmo tem concentrações nos pontos próximos dos tanques de óleo cerca de 5 vezes superiores quando comparado com os pontos distantes da estação. Todavia, a amostra com maior concentração de Pb possui teor

inferior ao valor guia para qualidade do solo, mas superior ao valor de prevenção do CONAMA n° 420/2009.⁵⁵

A concentração de Cr das amostras dos pontos mais impactados alcançam mais de 300 mg kg⁻¹, concentração maior que o valor guia para a qualidade de solos. Finalmente, pode-se observar que as concentrações de Ni em alguns pontos amostrais excedem o valor de prevenção da CONAMA n° 420/2009.

A Tabela 6.1 mostra uma comparação entre as concentrações de Cr, Ni e Pb nas amostras de solos deste trabalho e de algumas publicações selecionadas.

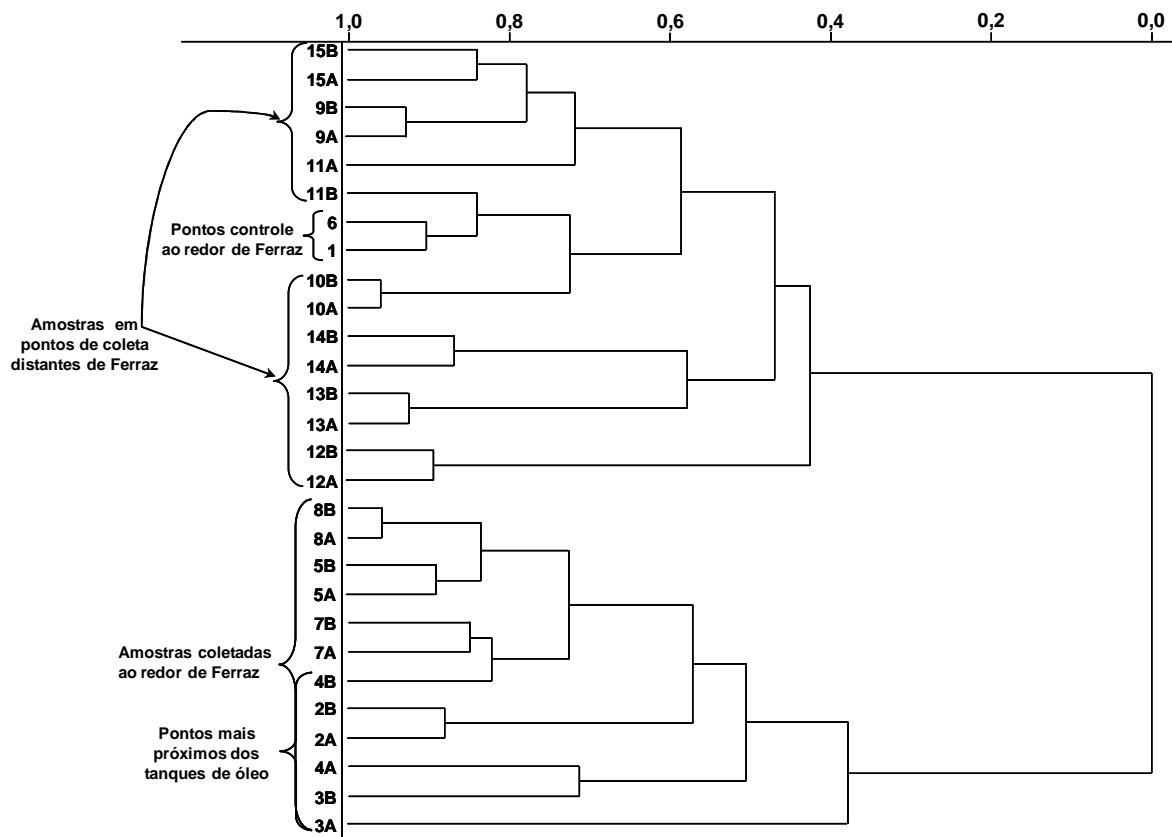


Figura 6.1 – Dendrograma da HCA

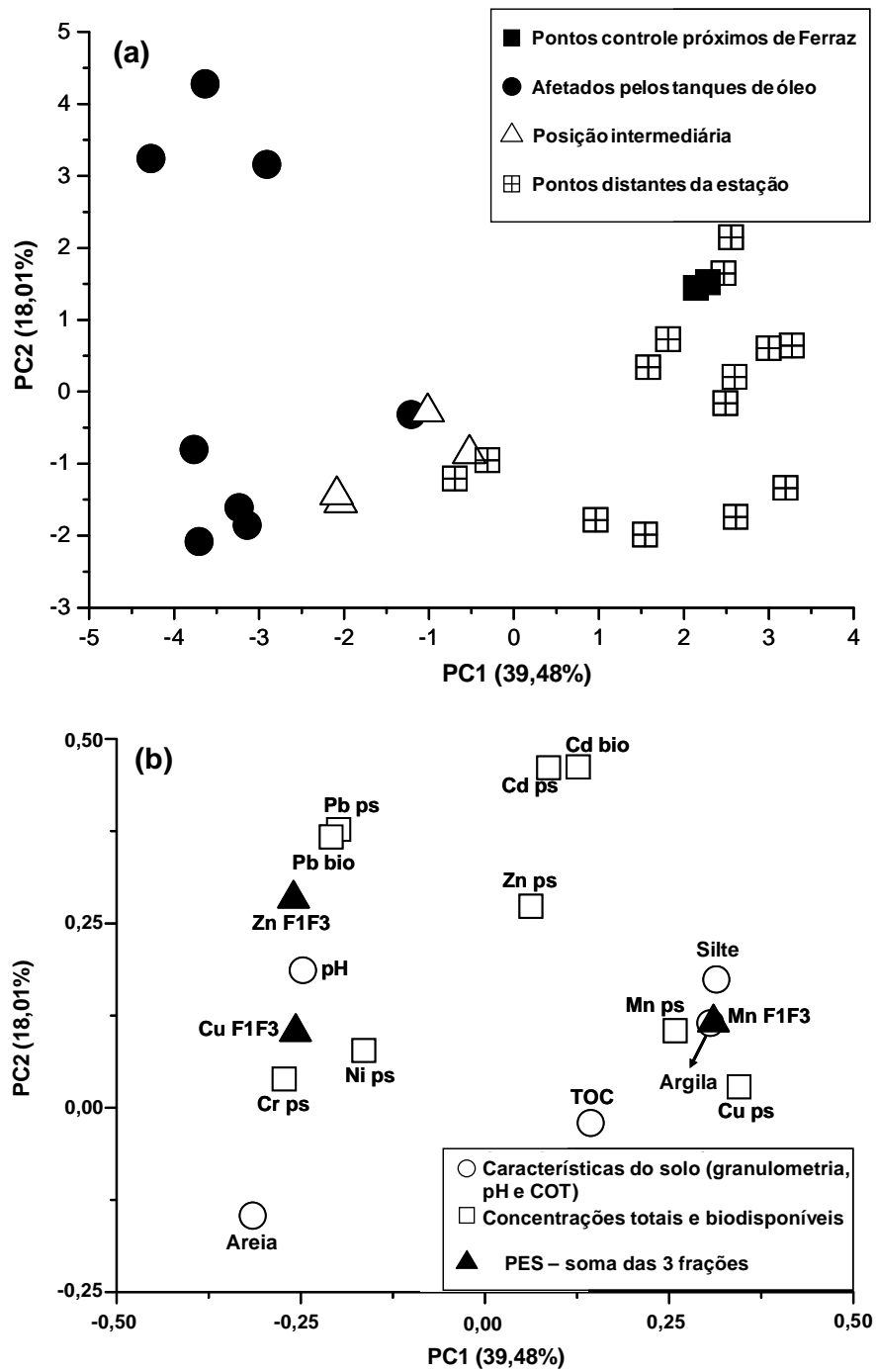


Figura 7.1 – Gráficos de scores (a) e loadings (b) da PCA

Tabela 6.1 – Tabela comparativa com as concentrações de Cr, Ni e Pb em amostras de solos

Local / Amostra	Referência	Cr (mg/kg)		
		Intervalo	Média / mediana	
Solos próximos dos tanques de óleo de Ferraz	Este trabalho	31,2 – 300,1	190,3/90,5	
Solos distantes da estação Ferraz	Este trabalho	15,4 – 272,3	68,3/36,9	
Solos próximos da estação Ferraz	Santos et al. (2005) ¹⁰	Não disponível	40	
Solos urbanos de Shanghai	Shi et al. (2008) ⁵⁶	25,5 – 233,3	107,9	
Solos rurais do Vietnã	Thuy et al. (2000) ⁵⁷	80,8 – 116,7	98,5	
Solos urbanos do Vietnã	Thuy et al. (2000) ⁵⁷	23,2 – 174,5	92,2	
Estação Marambio	Chaparro et al. (2007) ⁹	Não disponível	22	
Estação Mcurdo (solo cinzento)	Crockett (1998) ⁸	95 – 249	172	
Estação Mcurdo (solo vermelho)	Crockett (1998) ⁸	154 – 480	317	
Valor guia	DEFRA (2002) ⁵⁸	200		
Valor de prevenção	CONAMA (2009) ⁵⁵	75		
Local / Amostra	Ni (mg/kg)		Pb (mg/kg)	
	Intervalo	Média / mediana	Intervalo	Média / mediana
Solos próximos dos tanques de óleo de Ferraz	2,6 – 36,1	12,3/9,4	7,6 – 105	38,2/11,5
Solos distantes da estação Ferraz	4,2 – 16,8	8,5/8,0	5,65 – 9,05	7,45/7,41
Solos próximos da estação Ferraz	Não disponível	5,1	Não disponível	11,5
Solos urbanos de Shanghai	4,95 – 65,7	31,14	13,7 – 192	70,7
Solos rurais do Vietnã	11,0 – 31,5	21,6	0,8 – 3,2	1,9
Solos urbanos do Vietnã	9,4 – 67,9	22,6	0,4 – 20,1	3,6
Estação Marambio	Não disponível	5,1	Não disponível	10,2
Estação Mcurdo (solo cinzento)	77 – 119	98	1,0 – 10,6	5,8
Estação Mcurdo (solo vermelho)	137 – 215	176	3,7 – 6,3	5,0
Valor guia	75		450	
Valor de prevenção	30		72	

Algumas características inerentes a amostras de solos como granulometria, pH e COT são importantes variáveis relacionadas com a discriminação entre os pontos amostrais.

Para as amostras de solos coletadas ao redor da Estação Ferraz, as variáveis granulometria e COT, em particular, estão fortemente relacionadas com a maiores concentrações biodisponíveis de Pb e às maiores concentrações de Cu e Zn na fração lábil do PES, ou seja o somatório das 3 primeiras frações (vide CuF1F3 e ZnF1F3 na Figura 7.1b, gráfico de loadings). Isso pode ser confirmado pelo baixo teor de argila (média de 4,75 % m/m) e baixos valores de COT (média de 0,38 % m/m) das amostras de solos coletadas nas redondezas dos tanques de óleo de Ferraz. Por outro lado, as amostras de solos coletadas distantes da estação Ferraz apresentam teor de argila cerca de 5 vezes maiores (22,3 % m/m em média) e cerca do dobro do teor de COT (0,74 % m/m em média).

A matéria orgânica do solo desempenha um papel importante em química do solo, ligando-se aos cátions dos metais, reduzindo desta forma a biodisponibilidade dos mesmos.⁵⁹ Simas et. al. (2006)⁶⁰ estudaram algumas amostras de solos coletadas na Península Keller e encontraram minerais de argila do grupo das esmectitas, uma classe de argilas com relativa capacidade de troca catiônica.

Estudos mais recentes têm sugerido o uso de argilas como barreiras químicas em aterros devido às fortes interações destes componentes dos solos com os cátions dos metais presentes nos lixiviados.⁶¹⁻⁶²

7) Análise das amostras de solos coletadas na Península Fildes

7.1 – Coleta de amostras na Península Fildes

Na península Fildes concentram-se 5 estações de pesquisa onde foram realizadas coletas de amostras de solos. As seguintes estações de pesquisa tiveram pontos amostrais nas suas imediações: Estação Artigas (Uruguai), Estação Bellingshausen (Rússia), Estações Presidente Eduardo Frei Montalva e Estação Escudero (ambas do Chile), Estação Great Wall (China). Na Figura 8.1 podem ser visualizadas as referidas estações de pesquisa na Península Fildes.

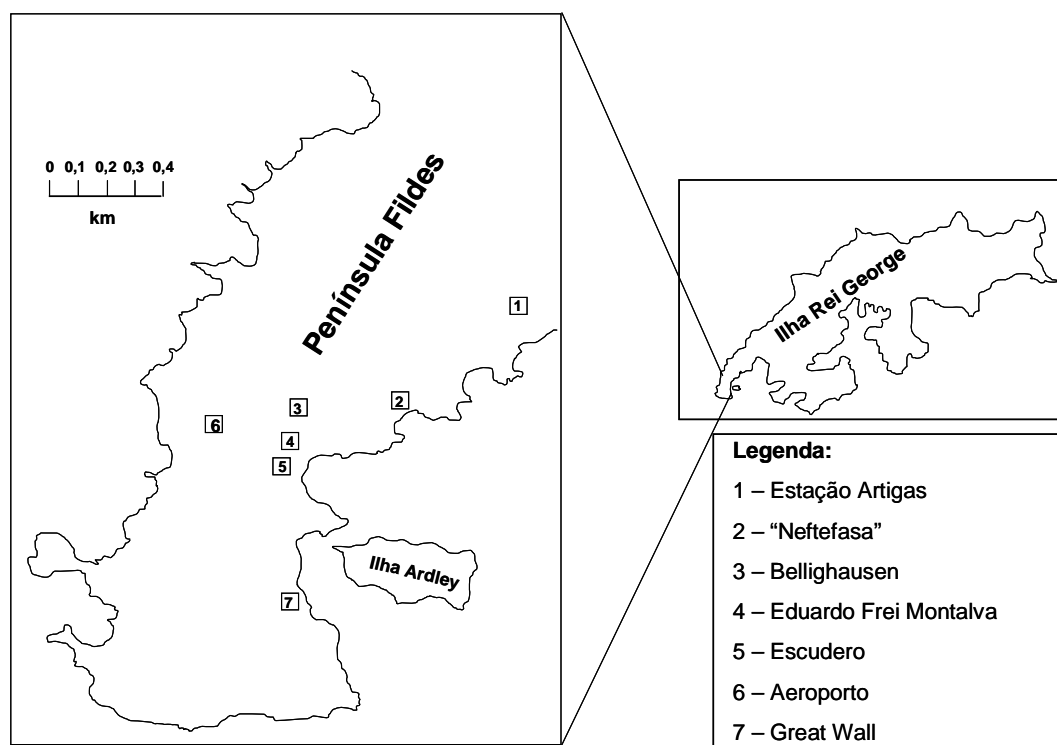


Figura 8.1 – Mapa da Península Fildes, com destaque para as estações e outros pontos onde foram feitas as amostragens.

É importante salientar que todos os pontos amostrados foram georeferenciados e a seguir, há uma descrição sucinta de cada um deles e algumas características dos mesmos:

- Estação Uruguaia Artigas (Ponto 1 na Figura 8.1):

No entorno dessa estação de pesquisa (Figuras 8.1 e 9.1) foram coletadas 12 amostras de solos em 6 pontos amostrais. Coletaram-se amostras em 3 pontos impactados no entorno dos tanques de diesel (ART 2, ART 3 e ART 4 na Figura 9.1). Vale lembrar que esta estação é a única da Península Fildes que possui barreira para contenção de possíveis derramamentos de diesel no entorno dos tanques. Por esse motivo, coletou-se 1 ponto amostral após a barreira de contenção para verificar a eficácia da mesma (ART 5). O outro ponto foi coletado no centro da região afetada pela estação. E, finalmente, coletou-se um perfil afastado por cerca de 50 m da estação, mas no mesmo terraço marinho com a finalidade de ser um ponto controle.



Figura 9.1 – Imagem de satélite da estação Artigas com os pontos de coletas em amarelo

- Estação Russa Bellingshausen (Ponto 3 na Figura 8.1):

Nas imediações da estação russa (Figura 10.1) foram coletadas 12 amostras de solos, sendo metade das mesmas ao redor dos tanques de diesel, em 3 pontos amostrais. Coletaram-se 2 amostras na região central afetada pela estação, e mais 2 amostras foram coletadas próximas a um depósito. O último ponto de coleta compreendeu um sítio pretérito de deposição de resíduos metálicos, o qual já sofreu um processo de retirada dos resíduos superficialmente. No entanto, no momento da coleta percebeu-se grande quantidade de detritos dentro do perfil do solo.



Figura 10.1 – Imagem de satélite da estação Bellingshausen com os pontos de coleta em amarelo

- Estações Chilenas Escudero e Presidente Eduardo Frei (Pontos 4 e 5 na Figura 8.1):

Como estas duas estações são vizinhas (Figuras 8.1 e 11.1), coletou-se amostras entre as mesmas, compreendendo 1 ponto amostral abaixo dos tanques e 2 pontos a jusante dos mesmos. Coletaram-se em um ponto entre as duas estações e o último ponto de coleta privilegiou uma região afetada pelo incinerador de ambas as estações.



Figura 11.1 – Imagem de satélite das estações Escudero e Eduardo Frei Montalva com os pontos de coleta em amarelo

- Estação Chinesa Great Wall (Ponto 7 na Figura 8.1):

A amostragem na estação chinesa (Figuras 8.1 e 12.1) privilegiou os pontos ao redor dos tanques de diesel (compreendendo 4 pontos amostrais) e 1 ponto foi amostrado em uma região com deposição recente de resíduos de construção civil.



Figura 12.1 – Imagem de satélite com os pontos de coleta (destacados em amarelo) ao redor dos tanques de diesel da estação chinesa Great Wall

7.2 – Preparo das amostras de solos coletadas e determinações químicas

As amostras de solos foram coletadas no entorno das estações de pesquisa da Península Fildes e nos pontos controle. As coletas foram realizadas em fevereiro de 2009 e coletou-se amostras de solos em profundidades de 0 – 10 e 10 – 20 cm utilizando-se sacos plásticos para acondicionamento das mesmas. Após serem conduzidas ao laboratório, as amostras foram secas a 60 ± 1 °C em estufa (marca Qualxtron), submetidas a peneiramento em malha de 2 mm, moídas em moinho de facas (A11 basic, IKA[®], EUA) e peneiradas em malha de 212 µm.

7.3 – Fatores de enriquecimento

As Tabelas 7.1, 8.1, 9.1 e 10.1 a seguir mostram os fatores de enriquecimento para as amostras coletadas ao redor das estações de pesquisa da Península Fildes, adotando o Fe como elemento de referência. Não foram calculados os fatores de enriquecimento para o Cd, já que na maior parte das amostras, a concentração deste elemento ficou abaixo do limite de detecção do método empregado.

Tabela 7.1 – Fatores de enriquecimento para as amostras de solos coletadas ao redor da estação Artigas

Amostra	Profundidade	Cu	Cr	Mn	Ni	Pb	Zn
ART1	1A	0,7	1,1	0,8	1,6	0,7	0,8
	1B	0,7	2,1	0,9	2,0	1,0	0,8
ART2	2A	1,0	9,3	0,9	1,5	2,1	0,9
	2B	0,9	2,0	0,9	1,6	1,3	0,9
ART3	3A	1,2	1,0	0,9	0,9	2,6	0,9
	3B	0,9	5,3	0,9	0,9	1,1	1,1
ART4	4A	0,9	0,8	1,1	1,4	0,9	0,9
	4B	1,0	6,7	0,9	1,4	0,8	1,0
ART5	5A	0,9	1,7	1,8	1,8	1,2	0,9
	5B	0,9	1,9	0,9	2,2	0,7	0,8
ART6	6A	0,8	1,5	0,8	0,8	1,6	0,8
	6B	1,0	9,5	0,9	1,9	1,1	0,9

A – 0-10 cm

B – 10-20 cm

Tabela 8.1 – Fatores de enriquecimento para as amostras de solos coletadas ao redor da estação Bellingshausen

Amostra	Profundidade	Cu	Cr	Mn	Ni	Pb	Zn
BEL1	1A	1,0	3,1	0,9	2,2	1,8	1,7
	1B	1,1	2,7	0,9	2,6	2,4	1,3
BEL2	2A	0,9	5,7	0,8	4,0	1,5	1,0
	2B	0,9	3,9	0,8	4,5	5,5	1,1
BEL3	3A	1,0	3,5	0,9	2,9	3,7	1,4
	3B	0,9	2,6	0,9	2,9	2,3	1,2
BEL4	4A	1,0	2,7	0,9	2,0	2,3	1,3
	4B	0,9	2,4	0,7	2,0	1,7	1,3
BEL5	5A	1,1	4,6	0,7	2,1	15,3	1,9
	5B	1,0	2,8	0,8	2,2	5,5	1,4
BEL6	6A	0,9	2,2	0,8	2,1	1,8	1,0
	6B	1,0	2,6	0,8	2,3	1,4	1,0

A – 0-10 cm

B – 10-20 cm

Tabela 9.1 – Fatores de enriquecimento para as amostras de solos coletadas ao redor da estação Great Wall

Amostra	Profundidade	Cu	Cr	Mn	Ni	Pb	Zn
GRW1	1A	1,1	6,7	0,9	1,5	43,2	2,1
	1B	1,4	3,3	1,0	1,8	7,6	1,1
GRW2	2A	0,9	7,8	0,7	2,4	39	3,2
	2B	1,0	4,5	0,7	1,9	26,7	1,7
GRW3	3A	1,2	3,2	0,8	1,7	9,9	1,5
	3B	1,2	2,5	0,8	2,2	3,3	0,9
GRW4	4A	1,3	14,2	2,1	2,6	98,9	20,5
	4B	1,0	2,9	1,0	2,1	4,5	1,4
GRW5	5A	2,5	6,6	1,0	5,2	9,4	7,8
	5B	1,6	4,1	1,1	3,4	1,7	2,1

A – 0-10 cm

B – 10-20 cm

Tabela 10.1 – Fatores de enriquecimento para as amostras de solos coletadas ao redor das estações chilenas

Amostra	Profundidade	Cu	Cr	Mn	Ni	Pb	Zn
ESC1	1A	1,1	7,8	0,7	1,6	37,2	1,9
	1B	0,8	4,8	0,6	1,6	31,2	1,0
ESC2	2A	1,4	38,8	0,6	2,6	33,1	4,2
	2B	2,1	6,6	0,6	1,9	43,0	6,5
ESC3	3A	2,8	24,6	0,6	2,2	42,3	3,7
	3B	2,1	5,0	0,6	1,8	29,5	3,3
ESC4	4A	1,8	3,4	0,9	1,6	21,6	2,7
	4B	2,0	2,1	1,1	1,4	5,4	1,3
ESC5	5A	1,5	2,4	1,0	1,3	6,1	2,1
	5B	1,5	2,2	1,0	1,5	5,7	1,7

A – 0-10 cm

B – 10-20 cm

Através do cálculo dos fatores de enriquecimento foi possível mostrar que as amostras de solo coletadas no entorno da estação Artigas não apresentaram anomalias com relação aos elementos investigados, exceto para o Cr, já que todos os fatores de enriquecimento dos demais elementos (vide Tabela 7.1) estão abaixo de 3, qualificando tais regiões como sendo de níveis basais dos elementos ou de poluição mínima. Foi observado um significativo enriquecimento do elemento Cr para o ponto 2 (afetado pelos tanques) na profundidade mais superficial. Para as amostras coletadas ao redor da estação russa Bellingshausen, o elemento que mais chama a atenção com relação aos fatores de enriquecimento é o Pb. Especificamente para o ponto 5 (vide Tabela 8.1), que também é um ponto afetado pelos tanques de diesel dessa estação, observa-se um fator de enriquecimento de 15,3 para esse elemento, qualificando tal ponto como significativamente enriquecido por Pb. As demais estações, as chilenas e a chinesa são as que apresentaram solos em seu entorno com os maiores fatores de enriquecimento, especialmente para os elementos Cr, Pb e Zn. Para a estação Great Wall, observam-se pontos intensamente contaminados por Pb (vide amostras 1A e 4A, na Tabela 9.1) e com contaminação significativa por Cr e Zn (vide amostra 4A, na Tabela 9.1). E para as estações chilenas, observa-se uma intensa contaminação por Pb (pontos 2 e 3, vide Tabela 10.1) e um significativo enriquecimento por Cr (amostras 2A e 3A, vide

Tabela 10.1). Cabe mencionar que todos os pontos amostrais com valores anômalos dos elementos investigados estão nas proximidades dos tanques de óleo diesel das estações de pesquisa.

7.4 – Tratamento quimiométrico dos dados gerados com a determinação do teor pseudototal de Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn nas amostras de solos

Nas Tabelas 11.1, 12.1, 13.1 e 14.1 a seguir estão apresentados os resultados dos teores pseudototais dos elementos Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn determinados nas amostras de solos do entorno das estações de pesquisa da Península Fildes.

Tabela 11.1 – Concentração de metais na fração pseudototal das amostras ao redor da estação Artigas

Amostra	Cu (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Cr (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Ni (mg/kg)	Pb (mg/kg)	Zn (mg/kg)
ART 1A	38,2 ± 0,7	< LOD	6,2 ± 0,6	543 ± 8	5,6 ± 0,1	2,72 ± 0,02	34,8 ± 0,7
ART 1B	32,9 ± 0,6	< LOD	10 ± 1	505 ± 3	5,8 ± 0,2	3 ± 1	30,3 ± 0,5
ART 2A	77,5 ± 0,7	< LOD	80 ± 1	860 ± 21	7,6 ± 0,2	12,3 ± 0,6	74 ± 15
ART 2B	70 ± 3	< LOD	15 ± 3	820 ± 57	7,7 ± 0,4	7,2 ± 0,7	56 ± 2
ART 3A	90 ± 2	< LOD	8,7 ± 0,8	820 ± 34	4,68 ± 0,07	14,8 ± 0,4	62 ± 7
ART 3B	99,7 ± 0,8	< LOD	41,7 ± 0,9	820 ± 14	4,11 ± 0,05	6,0 ± 0,8	64,3 ± 0,5
ART 4A	68 ± 1	< LOD	6 ± 1	839 ± 33	5,3 ± 0,2	5,3 ± 0,2	60 ± 1
ART 4B	72 ± 2	< LOD	53 ± 4	831 ± 20	6,7 ± 0,4	4,4 ± 0,4	59 ± 1
ART 5A	64 ± 1	< LOD	13 ± 3	805 ± 20	8,7 ± 0,2	6,2 ± 0,9	61 ± 1
ART 5B	71 ± 2	< LOD	16 ± 1	878 ± 8	11,0 ± 0,3	4,3 ± 0,5	53 ± 1
ART 6A	50 ± 1	< LOD	10 ± 1	587 ± 11	3,3 ± 0,1	7,9 ± 0,9	84 ± 3
ART 6B	69 ± 2	< LOD	74 ± 6	805 ± 29	8,8 ± 0,4	5,7 ± 0,9	52 ± 3

A – 0-10 cm

B – 10-20 cm

Cd (LOD = 0,02 mg kg⁻¹ utilizando-se o STAT-FAAS)

Tabela 12.1 – Concentração de metais na fração pseudototal das amostras ao redor da estação Bellingshausen

Amostra	Cu (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Cr (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Ni (mg/kg)	Pb (mg/kg)	Zn (mg/kg)
BEL 1A	74 ± 5	< LOD	25,7 ± 0,7	890 ± 119	11 ± 1	10,4 ± 0,8	106 ± 6
BEL 1B	95 ± 4	< LOD	25 ± 1	1003 ± 37	14,43 ± 0,09	15,4 ± 0,7	93 ± 3
BEL 2A	73 ± 1	< LOD	50,4 ± 0,9	852 ± 15	21,6 ± 0,4	9,0 ± 0,3	69 ± 2
BEL 2B	77 ± 2	< LOD	36 ± 4	796 ± 38	25,0 ± 0,4	34 ± 2	74 ± 2
BEL 3A	76 ± 8	< LOD	28 ± 3	885 ± 6	14,4 ± 0,2	21 ± 1	88 ± 3
BEL 3B	67 ± 5	< LOD	21 ± 2	823 ± 55	14,5 ± 0,2	13 ± 1	75 ± 4
BEL 4A	72 ± 5	< LOD	22,1 ± 0,5	830 ± 4	9,8 ± 0,2	13 ± 1	85 ± 2
BEL 4B	69,9 ± 0,9	< LOD	20 ± 4	725 ± 10	10,4 ± 0,5	9,9 ± 0,5	85 ± 2
BEL 5A	82 ± 15	< LOD	39 ± 1	730 ± 63	11,1 ± 0,4	90 ± 4	126 ± 4
BEL 5B	74,1 ± 0,8	< LOD	24,0 ± 0,7	791 ± 10	11,6 ± 0,5	32,3 ± 0,8	93 ± 2
BEL 6A	72 ± 1	< LOD	19 ± 2	848 ± 12	11,2 ± 0,1	11 ± 1	70,9 ± 0,9
BEL 6B	76 ± 3	< LOD	23 ± 3	835 ± 23	12,02 ± 0,08	8,1 ± 0,9	67 ± 3

A – 0-10 cm

B – 10-20 cm

Cd (LOD = 0,02 mg kg⁻¹ utilizando-se o STAT-FAAS)

Tabela 13.1 – Concentração de metais na fração pseudototal das amostras ao redor da estação Great Wall

Amostra	Cu (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Cr (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Ni (mg/kg)	Pb (mg/kg)	Zn (mg/kg)
GRW 1A	114 ± 2	0,38 ± 0,03	79 ± 5	1164 ± 4	10,3 ± 0,1	345 ± 23	191 ± 4
GRW 1B	119 ± 8	< LOD	31,6 ± 0,8	1087 ± 73	10,7 ± 0,2	50 ± 6	79 ± 4
GRW 2A	75,3 ± 0,6	0,32 ± 0,02	77 ± 2	780 ± 17	14,5 ± 0,2	263 ± 16	245 ± 4
GRW 2B	78 ± 2	< LOD	40,3 ± 0,4	726 ± 7	10 ± 2	163 ± 5	114 ± 3
GRW 3A	77 ± 1	< LOD	24 ± 3	673 ± 9	7,6 ± 0,2	50 ± 4	85 ± 1
GRW 3B	60,7 ± 0,3	< LOD	14,8 ± 0,7	545 ± 15	7,8 ± 0,2	13 ± 5	39,8 ± 0,5
GRW 4A	93 ± 2	0,47 ± 0,04	110 ± 4	1870 ± 12	12,4 ± 0,2	524 ± 40	1224 ± 59
GRW 4B	94 ± 3	< LOD	28 ± 2	1108 ± 32	12,9 ± 0,3	30,4 ± 0,2	104 ± 3
GRW 5A	172 ± 14	3,9 ± 0,2	49 ± 2	874 ± 44	23,8 ± 0,8	48 ± 7	454 ± 35
GRW 5B	98 ± 5	0,97 ± 0,07	28 ± 2	845 ± 48	14,3 ± 0,8	8 ± 1	112 ± 6

A – 0-10 cm

B – 10-20 cm

Cd (LOD = 0,02 mg kg⁻¹ utilizando-se o STAT-FAAS)

Tabela 14.1 – Concentração de metais na fração pseudototal das amostras ao redor das estações chilenas

Amostra	Cu (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Cr (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Ni (mg/kg)	Pb (mg/kg)	Zn (mg/kg)
ESC 1A	94 ± 3	< LOD	75 ± 1	813 ± 53	9,3 ± 0,2	246 ± 8	139 ± 4
ESC 1B	86 ± 1	< LOD	56 ± 1	815 ± 22	10,9 ± 0,4	245 ± 6	84 ± 1
ESC 2A	123 ± 6	0,43 ± 0,04	390 ± 5	744 ± 20	16,0 ± 0,1	227 ± 15	323 ± 5
ESC 2B	188 ± 32	< LOD	65 ± 6	678 ± 14	11,5 ± 0,2	290 ± 10	496 ± 7
ESC 3A	281 ± 44	0,50 ± 0,02	272 ± 1	721 ± 17	14,8 ± 0,2	319 ± 12	310 ± 16
ESC 3B	161 ± 17	< LOD	43 ± 4	585 ± 31	9,2 ± 0,5	175 ± 5	221 ± 11
ESC 4A	152 ± 21	0,411 ± 0,003	33 ± 2	970 ± 14	9,3 ± 0,2	142 ± 4	198 ± 2
ESC 4B	178 ± 5	< LOD	21 ± 3	1259 ± 37	8,7 ± 0,3	37 ± 3	100 ± 5
ESC 5A	129 ± 2	0,15 ± 0,01	22,6 ± 0,9	1118 ± 14	7,6 ± 0,2	40 ± 3	155 ± 6
ESC 5B	134 ± 9	< LOD	21,8 ± 0,6	1123 ± 11	9,0 ± 0,4	38 ± 4	128 ± 2

A – 0-10 cm

B – 10-20 cm

Cd (LOD = 0,02 mg kg⁻¹ utilizando-se o STAT-FAAS)

Com o objetivo de possibilitar uma visualização conjunta dos dados gerados pela determinação dos elementos nas amostras, além de verificar possíveis agrupamentos de amostras e elementos que possam caracterizar esses agrupamentos, foi utilizada a ferramenta quimiométrica PCA. As Figuras 13.1 e 14.1, a seguir trazem os gráficos de scores e loadings da PCA quando todos os dados referentes às concentrações de Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn para as amostras de solos distantes (5 amostras) e as amostras ao redor das estações (44 amostras) foram tratadas com essa ferramenta quimiométrica utilizando-se o programa computacional Pirouette 4.0 e o pré-processamento utilizado foi o autoescalamento.

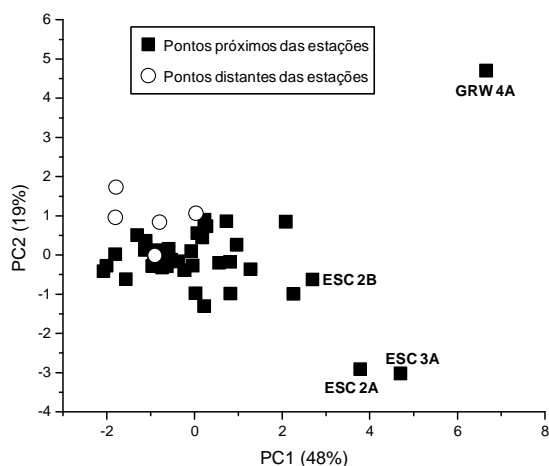


Figura 13.1 – Gráfico de scores da PCA

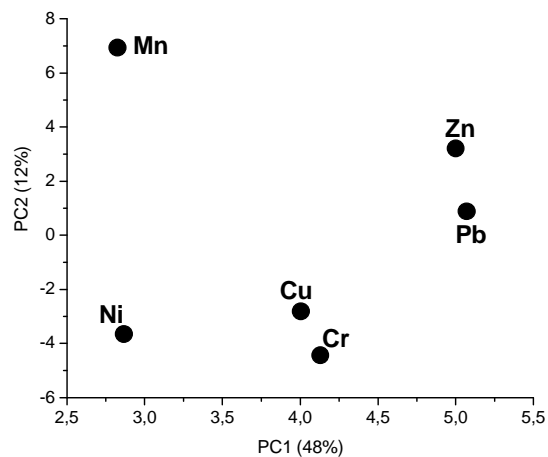


Figura 14.1 – Gráfico de loadings da PCA

Pela análise do gráfico de scores da PCA (Figura 13.1), pode-se perceber uma clara diferenciação entre os pontos amostrais com relação à concentração dos metais investigados. Analisando-se o gráfico de loadings (Figura 14.1) pode-se verificar quais foram os metais responsáveis por tal diferenciação entre as amostras dos pontos coletados no entorno das estações e dos pontos distantes das mesmas. Verificou-se que as amostras distantes das estações possuem concentrações mais elevadas de Mn enquanto que as demais amostras possuem concentrações mais elevadas dos elementos Cr, Cu, Ni, Pb e Zn. E, especialmente para as amostras ESC 2A, ESC 2B e ESC 3A (amostras coletadas no entorno das estações chilenas) e para a GRW 4A (amostra superficial coletada no entorno da estação chinesa) observaram-se as maiores concentrações, notadamente para os elementos Cr, Pb e Zn (vide Figura 14.1). Essas constatações podem ser confirmadas pela verificação das concentrações destes elementos nas amostras indicadas nas Tabelas 13.1 e 14.1. As amostras ESC 2A, ESC 2B e ESC 3A (vide Tabela 14.1) são realmente as que possuem maiores concentrações de Cr, Pb e Zn, em média igual a 242; 279 e 377 mg kg⁻¹, ultrapassando os valores orientadores do CONAMA n° 420/2009 para esses elementos que são 75, 72 e 300 mg kg⁻¹, respectivamente. Com relação à amostra GRW 4A, as concentrações de Cr, Pb e Zn (vide Tabela 13.1) são as mais elevadas dentre todas as amostras analisadas ao redor da estação chinesa, atingindo valores da ordem de 110; 524 e 1224 mg kg⁻¹, respectivamente. Tais concentrações também ultrapassam ao que é preconizado pela CONAMA n° 420/2009 como valores orientadores para qualidade do solo. Os resultados para os solos de cada estação também foram tratados separadamente com o uso da PCA

para investigar se haviam diferenças marcantes com relação às concentrações dos elementos nas diferentes profundidades amostradas. A única estação em que se observaram diferenças significativas nas concentrações dos elementos com relação à profundidade foi a estação chinesa Great Wall. Desta forma, os gráficos de scores e loadings da PCA para estas amostras são mostrados nas Figuras 15.1 e 16.1.

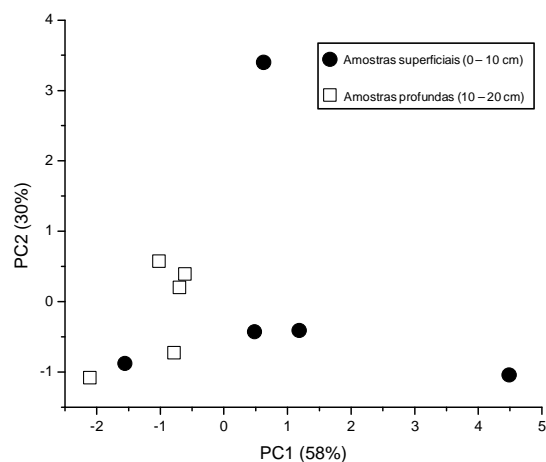


Figura 15.1 – Gráfico de scores da PCA

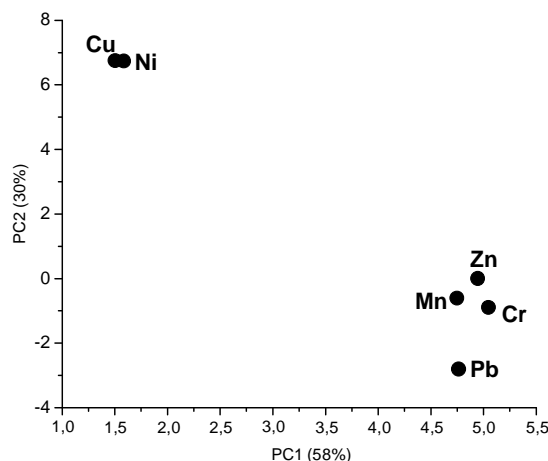


Figura 16.1 – Gráfico de loadings da PCA

Pela análise do gráfico de scores da PCA (Figura 15.1) para as amostras coletadas no entorno da estação chinesa, pode-se perceber uma tendência de agrupamento com relação às profundidades de amostragem. Verificando-se o gráfico de loadings (Figura 16.1), percebe-se que as amostras mais superficiais de solo do entorno da estação chinesa possuem concentrações mais elevadas de Cr, Mn, Pb e Zn. Tal constatação pode ser confirmada pelos dados apresentados na Tabela 13.1 com as concentrações dos elementos investigados para as amostras de solos de Great Wall. Para as amostras mais superficiais as concentrações médias destes elementos atingiram os valores: 68; 1073; 246 e 440 e para as amostras coletadas em maior profundidade, os valores médios foram: 29; 862; 53 e 90 mg kg⁻¹; para Cr, Mn, Pb e Zn, respectivamente.

7.5 – Determinação de Cu, Mn e Zn nas frações do procedimento de extração sequencial BCR

Foi realizado um procedimento de extração sequencial, conforme detalhado na seção 5.1.6 utilizando o procedimento descrito por Scancar et. al (2000)³⁴. Duas ferramentas quimiométricas foram utilizadas para o tratamento dos

dados gerados com a extração sequencial das amostras coletadas. Essa extração sequencial foi feita para as amostras superficiais coletadas no entorno das estações da Península Fildes, totalizando 20 amostras e para as 5 amostras coletadas em pontos distantes das estações. Na Figura 16.1 pode-se visualizar a distribuição dos elementos investigados nas várias etapas do fracionamento químico empregado.

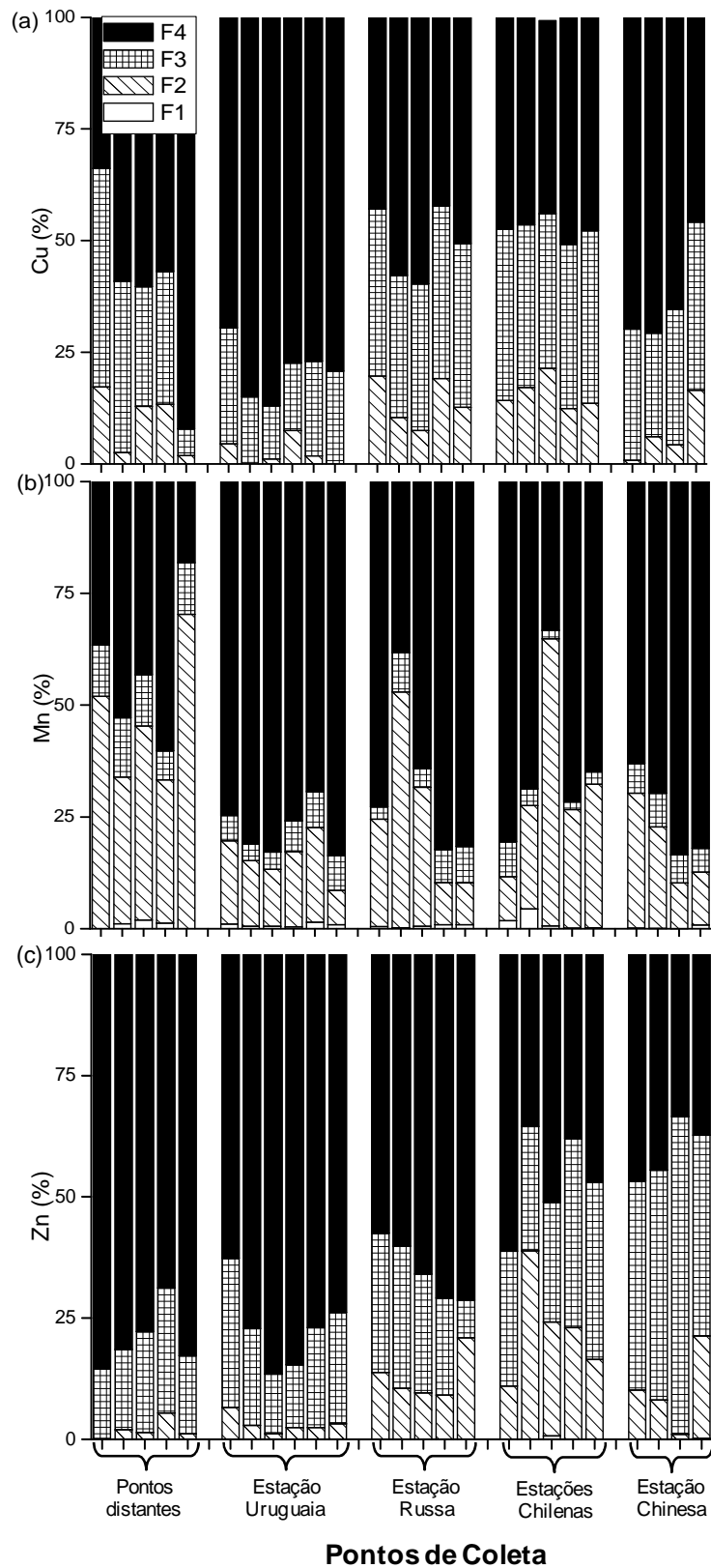


Figura 17.1 – Distribuição dos elementos Cu, Mn e Zn nas frações (F1 a F4) do procedimento de extração sequencial

A primeira ferramenta quimiométrica utilizada foi a PARAFAC (Acrônimo do inglês, *Parallel Factor Analysis*)⁶³⁻⁶⁴, na qual um arranjo tridimensional foi estabelecido. Os modos (eixos) deste arranjo foram os seguintes: Identificação da amostra, Frações estudadas (F1, F2, F3 e F4) e Porcentagem de elementos extraídos em cada fração. A informação mais relevante observada foi referente ao modo fração (ver detalhes na Figura 18.1).

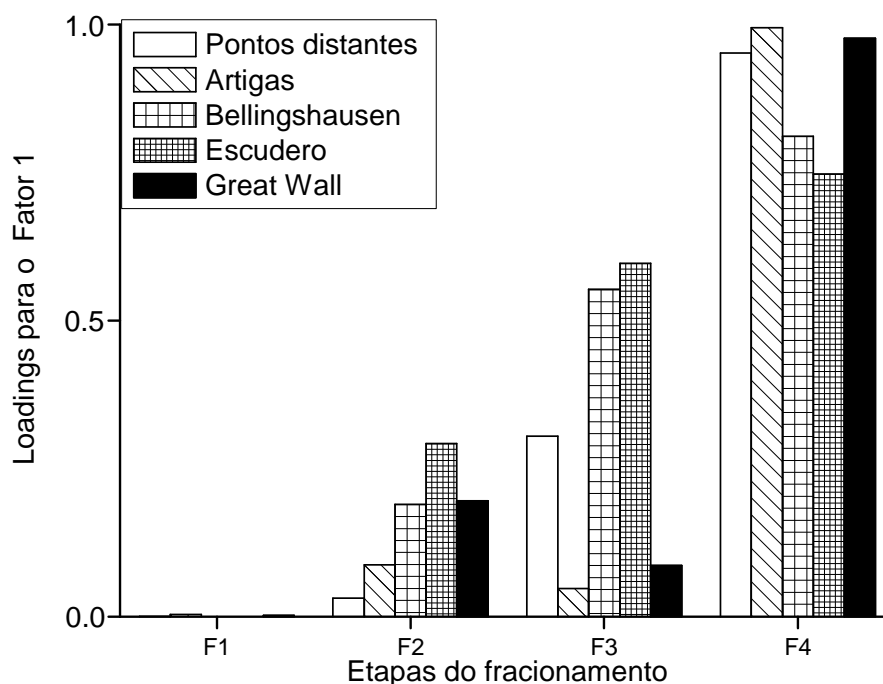


Figura 18.1 – Gráfico de loadings da PARAFAC para o modo fração

A principal conclusão que pode ser estabelecida a partir da análise do gráfico de loadings da PARAFAC é a de que há uma grande diferenciação entre a distribuição dos elementos determinados nas amostras na fração 2 (F2) do procedimento de extração. Tal fração representa um estoque de elementos com elevada mobilidade e potencial biodisponibilidade (Fração 2, vide Figura 18.1). Essa tendência se observa principalmente para as amostras das estações de pesquisa com maior aporte antrópico, conforme mostrado na seção anterior para os cálculos dos fatores de enriquecimento. Para os solos coletados próximos da estação Escudero, por exemplo, uma elevada porcentagem de metais foi extraída na fração 2 (ver coluna mais alta na Figura 18.1). Quando a fração 4 é observada para esta mesma estação, observa-se que a quantidade de metais obtidos nesta fração é a menor. Com o uso da PCA, outras importantes constatações puderam ser feitas com

relação aos pontos amostrais. Nas Figuras 19.1 e 20.1 podem ser visualizados os gráficos de scores e loadings da PCA.

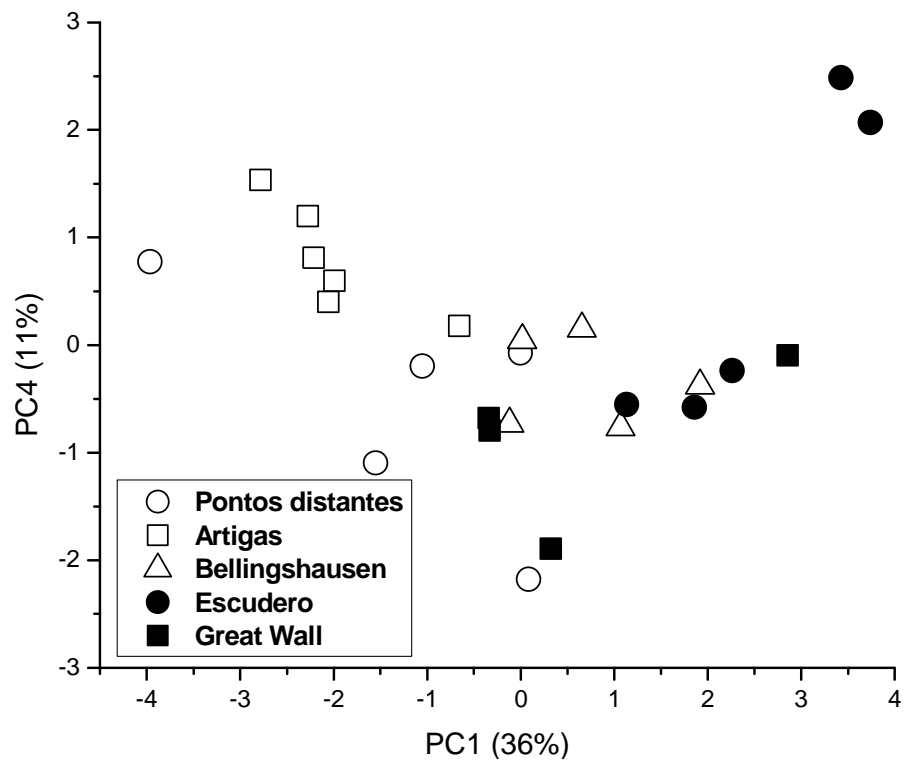


Figura 19.1 – Gráfico de scores da PCA

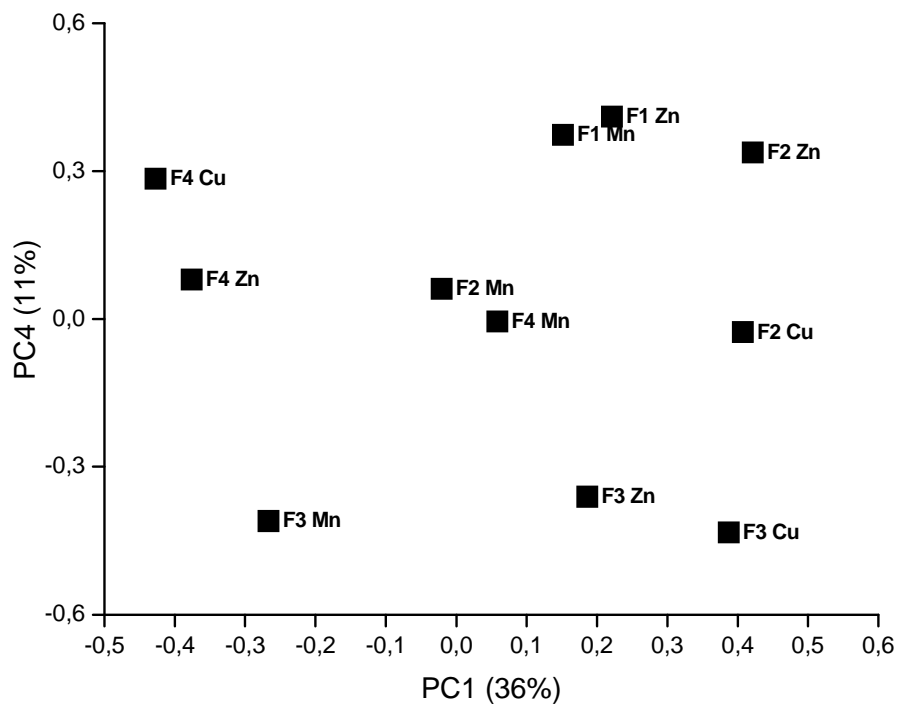


Figura 20.1 – Gráfico de loadings da PCA

Pela análise do gráfico de scores da PCA pode-se observar uma clara diferenciação entre as amostras coletadas ao redor das estações de pesquisa mais impactadas (Bellingshausen, Escudero e Great Wall) e dos pontos distantes das estações e da estação de pesquisa menos impactada (Artigas). Tal separação ocorreu porque as amostras mais impactadas apresentaram concentrações mais elevadas dos elementos Cu e Zn nas frações mais lábeis (F1, F2 e F3) do procedimento de extração sequencial (vide gráfico de loadings, Figura 20.1). Em contrapartida, é importante mencionar que a tendência oposta foi observada para as amostras de solos coletadas nos pontos controle e nos arredores da estação menos impactada (Artigas). Para estes pontos amostrais (vide os círculos e quadrados brancos na Figura 19.1, gráfico de scores) é notória a maior porcentagem dos elementos Cu e Zn na fração residual (F4) do PES (vide Figura 20.1, gráfico de loadings), o que está em concordância com o que se espera para tais pontos menos impactados. A fração residual (F4) do procedimento de extração sequencial contém principalmente minerais primários e secundários que aprisionam elementos traço dentro de suas estruturas cristalinas. Esses metais não são passíveis de serem liberados para o ambiente sob as condições normais vigentes na natureza.⁶⁵

A queima de combustíveis fósseis pelas estações de pesquisa na Península Fildes é uma fonte importante de aporte de metais (principalmente Cu, Pb e Zn) para o ambiente. Cabe destacar que nesta região há 4 estações de pesquisa próximas (Frei Montalva e Escudero, Great Wall, Bellingshausen e Artigas, vide Fig. 8.1) as quais queimam cerca de 1,65 milhão de litros de diesel anualmente.⁶⁶ Os metais emitidos para o ambiente na forma de aerossol podem se depositar na neve, que recobre a região durante a maior parte do ano e serem lixiviados para as cotas topográficas mais baixas durante o degelo no verão. Na tabela 15.1 há informações detalhadas a respeito do consumo de diesel das principais estações de pesquisa da Ilha Rei George e uma estimativa da emissão de Cu, Pb e Zn (reportados em kg/ano) devido à queima deste combustível. Pode-se observar que o montante de emissão destes metais para o ambiente, considerando as estações Frei Montalva e Escudero, Great Wall, Bellingshausen e Artigas atinge valores elevados, da ordem de 3,30; 8,25 e 1,75 kg/ano para Pb, Zn e Cu, respectivamente.

Tabela 15.1 – Consumo de óleo diesel das principais estações da Ilha Rei George e emissão de metais provenientes da queima⁶⁶

Estação	Consumo de combustível	Pb	Zn	Cu
	L/ano		kg/ano	
Jubany	240.000	0,48	1,20	0,24
Bellingshausen	250.000	0,50	1,25	0,25
Frei	1.000.000	2,00	5,00	1,00
Ferraz	320.000	0,64	1,60	0,32
Great Wall	250.000	0,50	1,25	0,25
Arctowski	100.000	0,20	0,50	0,10
Artigas	150.000	0,30	0,75	0,15
King Sejong	273.000	0,55	1,40	0,27
Total	2.583.000	5,20	12,90	2,60

8) Conclusões

- ✓ A determinação sequencial de Cd e Pb através da TS-FF-AAS no modo sequencial foi impossibilitada devido a elevados sinais de fundo, assim como o entupimento frequente do capilar de introdução de amostras. A STAT-FAAS no modo sequencial mostrou-se uma estratégia que permite melhorar o limite de detecção para Cd e Pb em FAAS além de atingir excelentes frequências analíticas, minimizando o gasto de reagentes e geração de resíduos.
- ✓ A ferramenta quimiométrica PCA mostrou-se adequada para possibilitar a diferenciação entre os pontos amostrais próximos das estações de pesquisa e os pontos distantes das mesmas. O uso da PCA e da PARAFAC para a análise conjunta dos dados gerados pela extração sequencial confirmou que as estações da Península Fildes mais impactadas são as estações chilenas e a estação chinesa. A associação entre a PCA e a SR-XRF permitiu a realização de uma análise exploratória dos solos estudados, fornecendo informações confiáveis para o monitoramento ambiental da região em estudo. A informação obtida com a união dessas ferramentas analíticas foi confirmada pelas determinações quantitativas com o uso das técnicas espectroanalíticas FAAS e STAT-FAAS. O uso das técnicas de “aprisionamento de átomos” (STAT-FAAS e TS-FF-AAS) permitiu alcançar melhores limites de detecção

para a determinação de Cd e Pb em relação à espectrometria de absorção atômica em chama convencional.

- ✓ O cálculo dos fatores de enriquecimento foi importante para a identificação dos elementos que caracterizam as fontes de contaminação do local. Os principais elementos com elevados fatores de enriquecimento foram Cr, Pb e Zn. A identificação de pontos com elevado impacto antrópico na Antártica, sobretudo nas proximidades dos tanques de óleo diesel das estações de pesquisa, configura-se uma informação importante para o monitoramento ambiental das áreas estudadas.
- ✓ Embora os pontos mais impactados contenham teores anômalos de Cr, Ni e Pb, as concentrações dos mesmos não excedem os valores guia para qualidade dos solos, exceto para o Cr.

Capítulo 2

Determinação de metais potencialmente tóxicos em Tecnosolos da Antártica Marítima

9) Objetivos

Os objetivos deste capítulo são a apresentação dos resultados obtidos com as análises de solos altamente impactados nas imediações da estação Argentina Esperanza, na Baía Esperança, Península Antártica. A hipótese a ser testada é a de que a deposição de poluentes ao longo do tempo na área em estudo impactou a região em um grau ainda não descrito em território antártico. A área estudada representa um dos mais antigos sítios de contaminação antrópica em solo antártico.

10) Revisão de literatura

10.1 – Tecnosolos

O processo de formação dos solos é lento, podendo requerer até vários milhões de anos para que se promova uma clara diferenciação de horizontes. A influência humana pode acelerar o processo e, dessa forma, configura-se como um novo fator de formação dos solos.⁶⁷ Baseando-se nesta constatação, a versão mais recente da WRB (Acrônimo do inglês, *World Reference Base for Soil Resources*)⁶⁸, de 2006, sugeriu uma classificação apropriada para solos profundamente impactados por atividades humanas. Essa nova classe, denominada Tecnosolos compreende solos caracterizados pela presença de artefatos (materiais produzidos ou extraídos do ambiente pela ação do homem) ou que foram selados pela adição de um material com propriedades distintas da rocha matriz. Essa classificação engloba solos provenientes de locais de deposição de rejeitos (aterros sanitários, lodos, rejeitos de mineração, cinzas, etc), pavimentos juntamente com suas camadas de materiais inconsolidados, solos com geomembranas e solos construídos com materiais sintéticos. Esses solos estão localizados principalmente em áreas urbanas e industriais. Essa nova classificação surge do reconhecimento da importância dos solos de áreas urbanas no que se refere ao mapeamento de tais regiões. Concomitantemente, tem se percebido uma forte tendência de proposição de novos usos para antigas áreas industriais. Desta forma, tal classificação propicia a atribuição de nomes únicos e reprodutíveis, facilitando o estudo de solos de regiões afetadas por atividades antrópicas.⁶⁹

Por se tratar de uma nomenclatura recente na literatura, ainda é bastante incipiente o número de trabalhos que se dedicam ao estudo de

Tecnossolos. Yao et. al (2009)⁷⁰ realizaram um experimento de colunas de lixiviação para avaliar a mobilidade de metais de tecnossolos compostos por lodos de esgoto. Os autores constataram concentrações maiores de todos os metais potencialmente tóxicos nos lixiviados de tecnossolos contendo lodo de esgoto de fonte anaeróbica. Em 80% das amostras investigadas, o elemento Ni ultrapassou o limite estabelecido pela União Européia para qualidade de águas potáveis. Hartley et al. (2008)⁷¹ investigaram a potencialidade do uso de indicadores biológicos para a avaliação ambiental de tecnossolos em diferentes estágios de remediação em 10 regiões urbanas do nordeste da Inglaterra. Nesse estudo, 10 indicadores biológicos foram avaliados com o intuito de fornecer uma medida do grau de atividade biológica dos solos estudados. A aplicação conjunta de todos os ensaios levou a resultados contraditórios, possibilitando uma diferenciação mais convincente apenas dos pontos mais extremos. Dessa forma, a proposição de um indicador biológico que possa ser universalmente aplicado ainda requer profundos avanços tecnológicos.⁷¹

10.2 – Baía Esperança, Península Antártica

A presença humana na Baía Esperança, Península Antártica, data de antes de 1903, quando J. Gunnar Andersson, um membro de uma expedição sueca com destino ao Pólo Sul (1901 – 1904) conduziu as primeiras explorações e mapeamento da região.

Ruínas bem preservadas das primeiras construções do grupo sueco podem ser vistas na entrada da Baía Esperança. O Reino Unido estabeleceu a chamada Base *D* na Baía Esperança, como parte da Operação “Tabarin”. A estação inglesa permaneceu em operação até 1945, sendo transferida para o Uruguai em 1997. Em 1951, a Argentina também instalou uma estação militar na região sendo operada até os dias de hoje. Na mesma região e situado cerca de 300 m ao nordeste da base uruguaia estão localizados os resquícios da base inglesa (*Trinity House*) que foi completamente destruída por um incêndio em 1948. Esse incêndio levou a uma dispersão massiva de resíduos na região.⁷²

A população de aves nidificadoras é bem estudada na Baía Esperança e uma grande colônia de pinguins Adélie (*Pygoscelis adeliae*), totalizando cerca de 125 mil pares está presente no local próximo das ruínas de Trinity House.⁷³ Características físicas e químicas dos solos do local, tais como a presença de

horizontes fosfatados, bem como algumas características peculiares do local (desenvolvimento de vegetação e presença de horizontes orgânicos espessos) indicam forte influência ornitogênica (Simas et al. (2007)⁷⁴; Tatur (1989)⁷⁵). Outras aves nidificadoras presentes na região incluem pinguins gentoo (*Pygoscelis papua*) skua marrom (*Catharacta loennbergi*), andorinha-do-mar (*Sterna vittata*), petréis (*Oceanites oceanicus*), gaivotas (*Larus dominicanus*), dentre outros. Na Baía Esperança, a colônia de pinguins parece ter sido maior anteriormente ao assentamento humano, formando-se os chamados solos ornitogênicos.⁷⁵

11) Amostragem e tratamento preliminares

A Figura 1.2 mostra a Península Antártica destacando a Baía Esperança onde está localizada a estação Argentina Esperanza e o lago Boeckella.

Perfis de solo em pontos com intenso impacto antrópico foram coletados nas proximidades da estação Esperanza, dentro das ruínas de “Trinity House”, a qual foi completamente destruída por um incêndio. Esse acidente levou a uma grande dispersão de materiais na área, tais como madeira semi-carbonizada, concreto, tijolos, ligas metálicas e carvão. Esses materiais foram aleatoriamente depositados em profundidades de 5 cm até cerca de 30-40 cm.

Foram coletadas 8 amostras de solo superficiais (0 - 10 cm). As características dos pontos de coleta estão detalhadamente descritas na Tabela 1.2. As amostras de solos foram secas em estufa a 60 °C até atingirem peso constante, a seguir peneiraram-se as mesmas em malha de 212 µm e, finalmente foram estocadas em frascos de polietileno descontaminados.

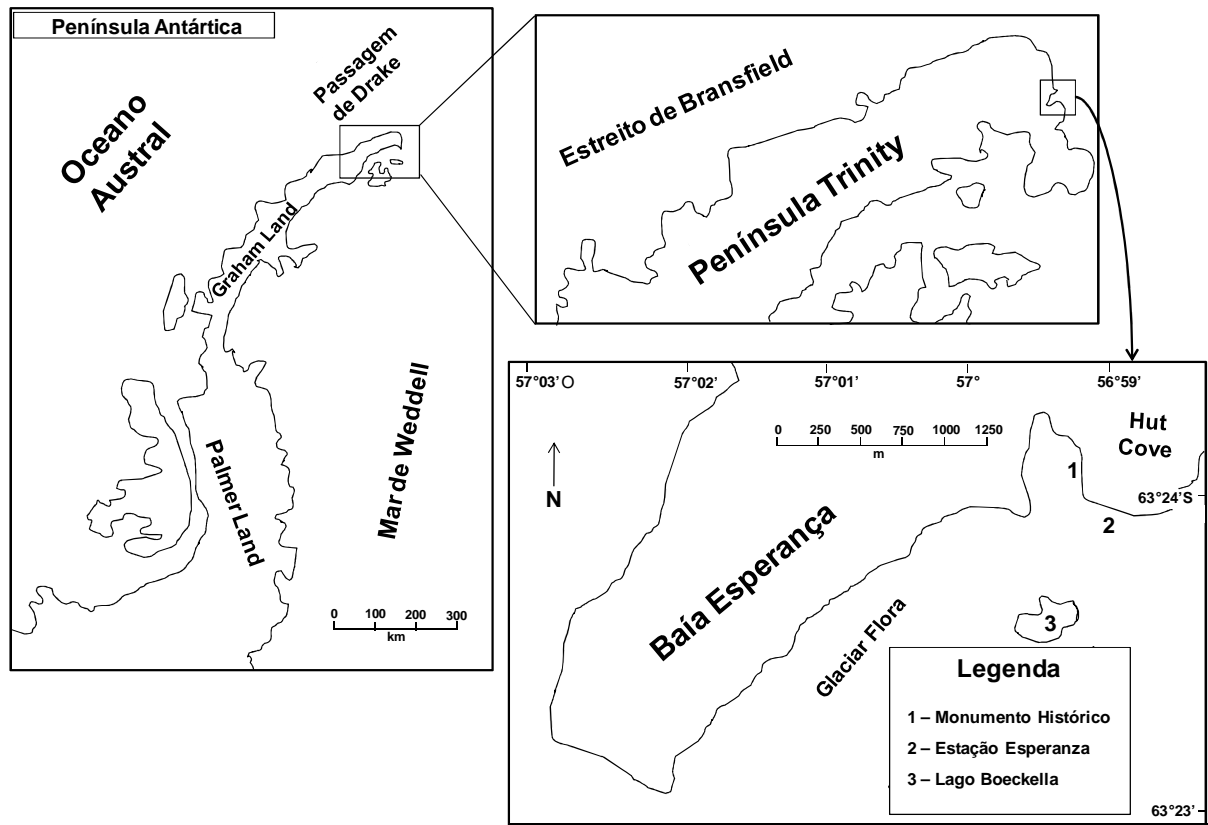


Figura 1.2 – Mapa da Península Antártica, destacando a Baía Esperança

Tabela 1.2 – Descrição dos pontos de coleta

Identificação	Local	Coordenadas	Altitude (m)	Observações
HB1	Entrada da Baía	63°23'44.08" S / 56°59'49.15" O	5	Contaminação por óleo diesel
HB2	Atrás da entrada da estação	63°23'43.37" S / 56°59'52.01" O	7	Presença de escombros e óleo
HB3	Próximo a uma pilha de resíduos	63°23'58.52" S / 56°59'32.73" O	17	Presença de resíduos no perfil do solo
HB4	Próximo do gerador	63°23'52.88" S / 56°59'52.46" O	21	Possível, mas não aparente contaminação
HB5	Distante 50 m do gerador	63°23'53.05" S / 56°59'52.13" O	24	Possível, mas não aparente contaminação
HB6	Dentro das Ruínas de Trinity House (RTH)	63°23'56.55" S / 56°59'33.97" O	23	Contaminação por resíduos
HB7	RTH, próximo do motor	63°23'56.10" S / 56°59'32.35" O	16	Presença de ligas metálicas e carvão
HB8	RTH, próximo das construções	63°23'56.45" S / 56°59'33.10" O	19	Presença de resíduos de construção e carvão

12) Reagentes, soluções e material de referência certificado

Todos os reagentes empregados neste trabalho foram de grau analítico.

- Ácido sulfúrico concentrado p.a.
- Dicromato de potássio p.a.
- Ácido fosfórico p.a.
- Difenilamina p.a.
- Sulfato Ferroso Amoniacal p.a.
- Cloreto de cálcio p.a.
- Cloreto de bário p.a
- Soluções padrões dos elementos Al, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb e Zn (1000 mg L^{-1}). Marca: Spex Certiprep, Metuchen, NJ, EUA.
- Ácido clorídrico p.a.
- Ácido nítrico p.a.
- Ácido dietilenotriaminopentaacético p.a. (DTPA)
- Trietanolamina p.a.
- Material de referência certificado de lodo de esgoto de origem industrial (BCR 146R)

Água deionizada ($18 \text{ } \Omega\text{M cm}$ de resistividade) obtida em um sistema Millipore (Bedford, MA, EUA) foi utilizada para o preparo de todas as soluções. Ácidos concentrados (HCl e HNO_3) obtidos em sistema sub-boiling foram utilizados nas extrações com água régia. Todos os frascos e vidrarias utilizados foram lavados com detergente, exaustivamente enxaguados com água destilada, sendo imersos por, no mínimo 12 h, em HNO_3 10 % v v⁻¹ e, finalmente, foram enxaguados com água deionizada. Soluções para as curvas analíticas dos elementos investigados foram preparadas a partir de diluições sucessivas das soluções estoque de 1000 mg L^{-1} .

13) Procedimentos experimentais

13.1 – Caracterização química do solo

As amostras foram caracterizadas de acordo com 3 parâmetros: pH, carbono orgânico total (COT) e capacidade de troca catiônica (CTC). As

determinações do pH e do COT foram conduzidas conforme procedimento descrito no capítulo 1. A capacidade de troca catiônica foi determinada após a extração de 0,5 g de solo, em triplicata, com 10 mL de BaCl_2 0,1 mol L⁻¹.⁴² Após agitação por 2 h, o sobrenadante foi separado por centrifugação. Quantificou-se os elementos Al, Ca, Fe, K, Mg, Mn e Na nos extratos por ICPOES (Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado) com visão axial (Vista AX, Varian, Mulgrave, Austrália). As condições operacionais utilizadas estão descritas no Anexo 3.

13.2 – Análises por Fluorescência de Raios-X

Uma caracterização química inicial das amostras de solo foi feita com o auxílio da Fluorescência de Raios-X. As amostras previamente moídas foram prensadas na forma de pastilhas com uma prensa pneumática utilizando 7 ton cm⁻² por 30 s. O material de referência certificado San Joaquin Soil (NIST 2709), foi também preparado para análises por Fluorescência de Raios-X usando o mesmo procedimento acima descrito. As concentrações totais de alguns elementos neste material de referência são: Cu (34,6 mg kg⁻¹); Mn (538 mg kg⁻¹); Pb (18,9 mg kg⁻¹) e Zn (106 mg kg⁻¹). As análises por Fluorescência de Raios-X foram feitas no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron localizado na cidade de Campinas usando-se as mesmas condições experimentais descritas no capítulo 1.

Com o objetivo de propiciar uma melhor interpretação e visualização dos dados, os espectros obtidos com a Fluorescência de Raios-X foram analisados utilizando a PCA.

13.3 – Extração com água régia

Extração com água régia foi aplicada para determinar a fração pseudototal de Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn em todas as amostras de solo. O método de extração foi feito de acordo com a norma alemã (DIN 1983)³³ conforme já descrito no capítulo 1. Para avaliar a exatidão do método, um material de referência certificado, Lodo de esgoto de origem industrial (BCR 146R) foi preparado do mesmo modo que as amostras de solos.

13.4 – Extração da fração móvel e mobilizável de metais

Embora o conteúdo pseudototal de metais seja um bom indicador do grau de contaminação dos solos, o mesmo não fornece informação suficiente acerca do real impacto ambiental que possíveis elevados teores de metais podem acarretar. Isso pode ser constatado pela baixa correlação estatística observada entre esta fração de metais nos solos e a concentração dos mesmos em tecidos foliares.

Dessa forma, com o objetivo de avaliar os níveis de metais que podem ser potencialmente acumulados por organismos, a fração móvel de metais foi determinada. Tal fração foi acessada pelo uso de uma solução salina não-tamponada a qual desloca a fração de metais que possui elevada correlação com a porção extraída pelas plantas. Tal estratégia vem sendo considerada uma adequada maneira de reproduzir condições de chuva e alagamento.⁷⁶

A fração mobilizável pode ser determinada pelo uso de um agente complexante o qual é indicado para acessar o estoque de metais potencialmente disponibilizável. Agentes complexantes como EDTA (ácido etilenodiaminotetraacético) e DTPA (ácido dietilenotriaminopentaacético) são capazes de extrair elementos ligados a complexos orgânicos e organometálicos assim como a compostos inorgânicos.⁷⁶ Tais frações de metais, especialmente a móvel, é uma boa estimativa da concentração de metais na solução do solo.⁷⁷ Dessa forma, uma extração com solução de DTPA foi conduzida para acessar a fração mobilizável de metais. Essa extração foi conduzida conforme descrito no capítulo 1.

A fração móvel foi acessada após a extração com uma solução de CaCl_2 0,01 mol L^{-1} .⁴² Um grama das amostras, em triplicata, foi pesado em tubos de centrífuga e 10 mL da solução de CaCl_2 foram adicionados. A extração foi conduzida em um agitador horizontal por 3 h. O sobrenadante foi separado por centrifugação e transferido para tubos de polietileno previamente descontaminados.

13.5 – Determinação das concentrações dos metais por espectrometria de absorção atômica

A determinação quantitativa de Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn nos extratos obtidos com água régia, DTPA e CaCl_2 foi realizada usando FAAS e STAT-FAAS como descrito no capítulo 1.

13.6 – Cálculo dos fatores de enriquecimento

Fatores de enriquecimento (FE) foram calculados com o objetivo de verificar o grau de contaminação por deposição de metais pesados nos solos estudados. Neste cálculo, é necessária a seleção de um elemento referência que possua duas características: seja conservativo e não relacionado com possíveis aportes antrópicos. Neste caso, Zr foi selecionado e determinado por Fluorescência de Raios-X. Os elementos Fe e Mn não foram selecionados como elementos de referência neste caso devido à deposição de ligas metálicas nas regiões em estudo, podendo levar a valores de fatores de enriquecimentos subestimados. A equação utilizada para o cálculo do FE foi a seguinte:

$$FE = \frac{\frac{c_n(\text{amostra})}{B_n(\text{crosta})}}{\frac{c_{ref}(\text{amostra})}{B_{ref}(\text{crosta})}}$$

Onde c_n (amostra) é a concentração do elemento em análise na amostra, c_{ref} (amostra) é a concentração do elemento de referência na amostra, B_n (crosta) é a concentração média na crosta terrestre do elemento em estudo e B_{ref} (crosta) é a concentração média do elemento de referência na crosta terrestre. O elemento de referência escolhido foi o Zr e as concentrações médias na crosta de todos os elementos investigados foram acessados no trabalho de Yaroshevsky (2006).⁷⁸

14) Resultados e discussão

14.1 – Fluorescência de Raios-X

Os sinais de XRF de algumas amostras selecionadas são mostrados na Figura 2.2. Todos os espectros foram mostrados na mesma escala para facilitar a comparação visual. Em análises por XRF, a concentração de um dado elemento é proporcional à intensidade do sinal analítico, assim este tipo de análise facilita a discriminação rápida das amostras. Por exemplo, a amostra HB5, coletada a 50 m de distância do gerador (veja detalhes na Tabela 1.2) possui sinais intensos correspondentes aos elementos Cu, Pb (ambos relacionados a $L\alpha$ e $L\beta$) e Zn quando comparados com a amostra certificada. Intensos sinais de Cu, Pb e Zn também foram detectados para a amostra HB8 pela análise por XRF. Embora a

comparação direta de intensidades de sinais possa causar erros de julgamento, devido aos diferentes efeitos de matriz nos vários tipos de amostras, tal estratégia representa uma boa indicação qualitativa do grau de contaminação do solo por metais. Pode-se verificar, por exemplo que ambas amostras de solos selecionadas (HB5 e HB8, vide Figura 2.2) possuem sinais mais intensos dos elementos Cu, Pb e Zn quando comparadas com a amostra certificada de solo (NIST 2709, San Joaquin Soil).

Os sinais de Cd não foram identificados, já que as linhas típicas de XRF para este elemento são 23,170 ($k\alpha$) e 26,091 ($k\beta$).

Todavia, a análise comparativa visual dos espectros de XRF é uma operação morosa e o uso de ferramentas quimiométricas como a PCA pode ser útil a fim de adquirir respostas mais rápidas e permitir uma análise exploratória mais global.

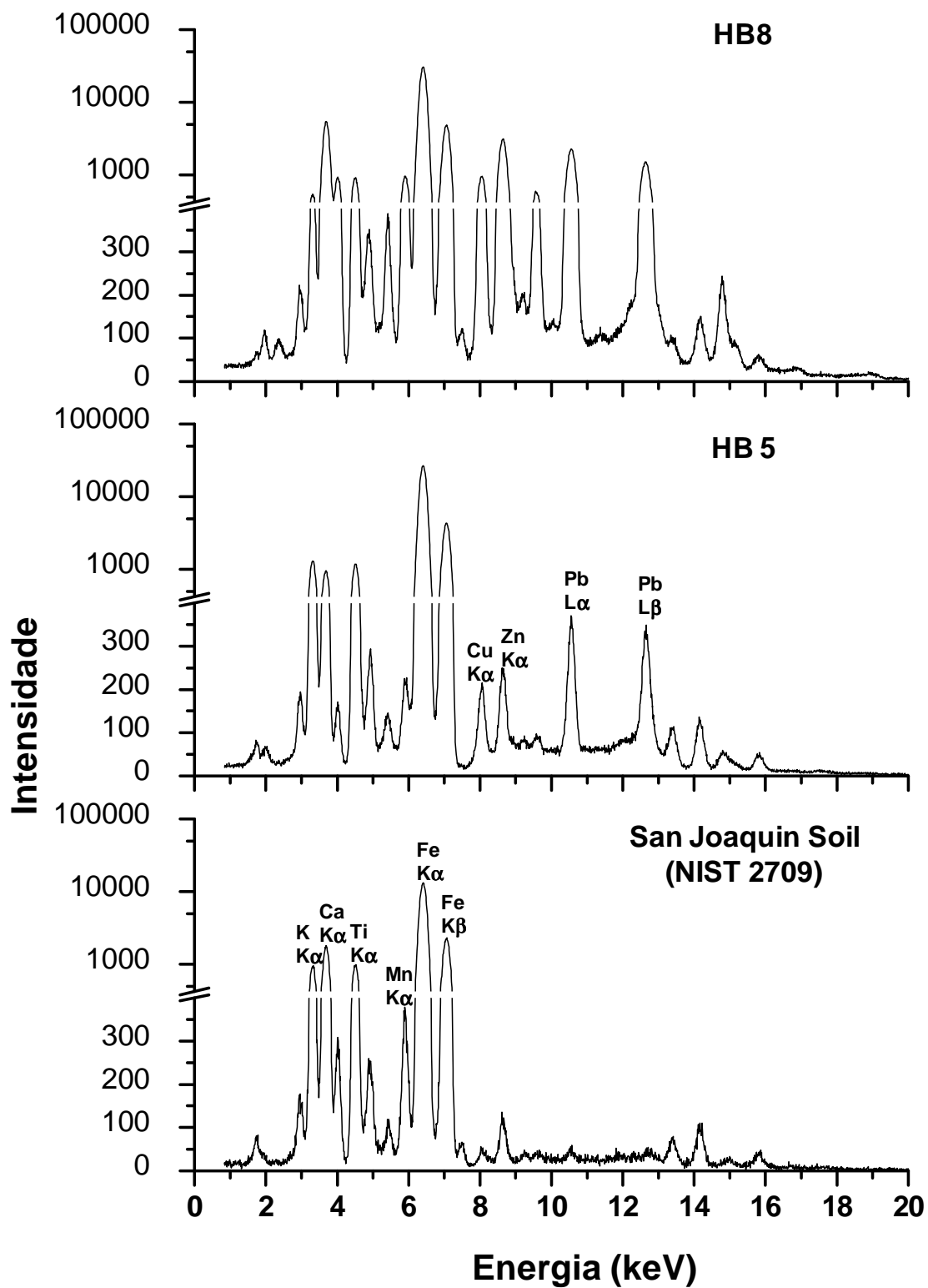


Figura 2.2 – Sinais analíticos obtidos com a XRF para amostras selecionadas (HB8, HB5 e SRM San Joaquin Soil)

Dessa forma, todos os dados do espectro de XRF foram organizados em uma matriz de 8 linhas (relativos a 8 espectros médios de 3 varreduras por amostra) e 2048 colunas correspondentes às variáveis (intensidade de energia de 0,8 a 21,1 keV). Tal matriz foi centrada na média e a PCA foi aplicada à mesma. Os scores e loadings da PCA são mostrados nas Figuras 3.2a e 3.2b, respectivamente. Utilizando-se a PCA com o espectro completo da XRF pode-se perceber diferenças marcantes na composição química dos solos estudados, sobretudo no que se refere ao conteúdo de Fe (vide gráfico de *loadings*, Figura 3.2b).

Os valores de *loadings* para o Fe são positivos e elevados para a primeira componente principal (vide Figura 3.2b) e as amostras localizadas na parte positiva do gráfico de scores (vide Figura 3.2a) estão relacionadas com este elemento. Nesta PCA, somente os macroatomos puderam ser visualizados (principalmente Ca e Fe) não sendo possível observar a influência dos demais elementos. Neste caso, outra PCA foi calculada excluindo-se desta vez os sinais dos elementos Ca, Fe, K e Ti. Os gráficos de *scores* e *loadings* para essa nova PCA são mostrados nas Figuras 3.2c e 3.2d, respectivamente. Desta maneira, uma clara separação pode ser obtida para os pontos amostrais, na qual as amostras HB7 e HB8 (valores positivos para a PC1, vide Figura 3.2c) estão relacionadas com sinais intensos de Pb e Zn (valores positivos na PC1, Figura 3.2d). Essa observação está de acordo com as informações descritas na Tabela 1.2, que descreve tais amostras como potencialmente contaminadas com ligas metálicas, resíduos de construção civil e carvão.

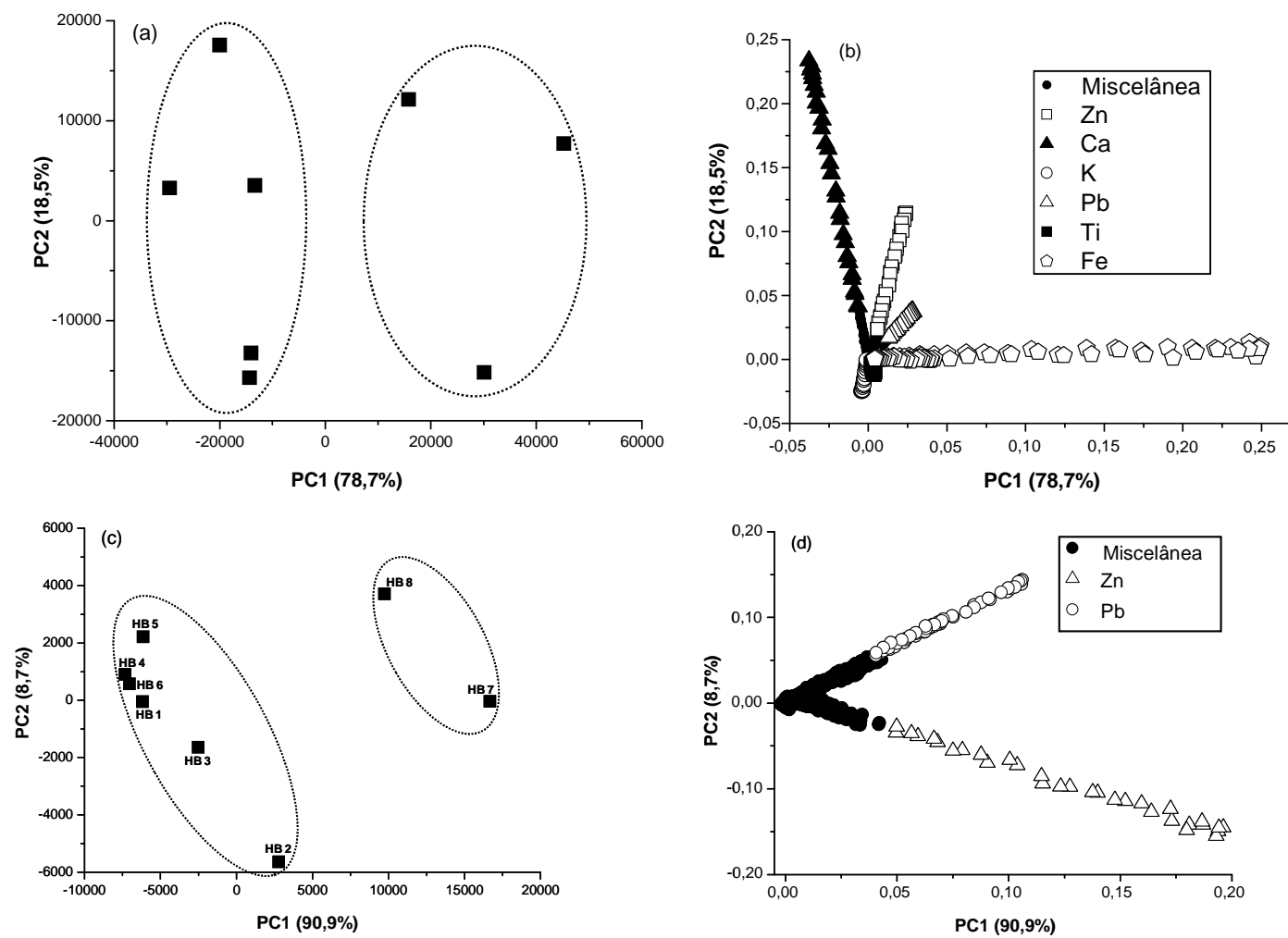


Figura 3.2 – Gráficos de *scores* (Figuras a e c) e *loadings* (Figuras b e d) da Análise de Componentes Principais.

14.2 – Fatores de enriquecimento

Na Tabela 2.2 podem ser visualizados os fatores de enriquecimento para as amostras coletadas. Como previamente observado pelas análises realizadas com a XRF e a PCA (vide Figuras 3.2c e 3.2d), os pontos de coleta com o perfil mais acentuado de contaminação são o HB7 e HB8. Essas amostras possuem FE para o Pb entre 672 a 768 (média de 720). Esse valor é 18 vezes mais elevado do que a última classe de grau de poluição proposto por Sutherland (2000)⁴⁶. Os valores de FE para o Cd são também elevados para ambos os pontos amostrais (média de 212), qualificando os mesmos como extremamente poluídos (classe 5) conforme proposto por Sutherland (2000).⁴⁶

Da mesma forma para o Pb, a análise por XRF combinada com a PCA foi uma boa ferramenta analítica para detectar teores anômalos de Zn, já que tal elemento possui elevados valores de FE (média de 35) indicando um perfil de contaminação intenso por este elemento (classe 4, Sutherland 2000⁴⁶).

Além disso, os FE para o Cu (FE médio = 25) merecem destaque para os pontos HB7 e HB8 sendo relacionado como uma significativa poluição (Sutherland 2000⁴⁶). De uma maneira geral, é interessante notar os valores similares de FE entre estes pontos acima mencionados (HB7 e HB8) para os elementos Cd, Cu, Ni, Pb e Zn (vide Tabela 2.2), o que fornece uma evidência de que são provenientes da mesma fonte de poluição e possuem uma similar carga de poluentes.

Tabela 2.2 – Fatores de enriquecimento usando o Zr como elemento de referência

Amostra	Cd	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn
HB1	nc*	0,2	1	0,1	0,1	4	3
HB2	59	2,9	4	0,3	1,6	29	45
HB3	18	0,4	7	0,2	0,2	11	11
HB4	nc*	0,5	2	0,1	0,1	11	1
HB5	nc*	0,6	2	0,1	0,1	11	1
HB6	nc*	0,3	3	0,1	0,2	5	2
HB7	211	0,6	26	1,8	3,4	672	36
HB8	213	0,8	25	1,7	3,0	768	34

*não calculado – concentração do elemento abaixo do limite de detecção

Para o ponto HB2, foram observados elevados valores de FE para o Cd, Pb e Zn (59, 29 e 45, respectivamente) e verificando o gráfico de scores da PCA (vide Figura 3.2c), pode-se observar que esta amostra está localizada em uma posição intermediária entre os pontos menos contaminados (HB1, HB3, HB4, HB5, HB6) e os mais contaminados (HB7 e HB8).

Os pontos em estudo remanescentes (HB1, HB3, HB4, HB5 e HB6) possuem baixos valores de FE para os elementos Cd, Cu, Pb e Zn quando comparado com os demais, embora o ponto HB3 possua um significativo enriquecimento por Cd (FE = 18). Por outro lado, não foram observadas evidências de contaminação por Cr, Mn e Ni devido aos seus baixos valores de FE, (de 0,2 a 2,9; 0,1 a 1,8; 0,1 a 3,4 para Cr, Mn e Ni, respectivamente) indicando poluição mínima ou moderada (Sutherland 2000⁴⁶).

Há algumas fontes de erro que podem afetar o uso do fator de enriquecimento (Reimann e Caritat 2000⁷⁹), tais como: variabilidade de composição da crosta terrestre além de diferenciados processos de formação do solo que podem concentrar metais do material de origem para o solo. Todavia, em solos pouco intemperizados da Antártica, em áreas de similares características geoquímicas, os resultados provenientes dos cálculos dos FE fornecem uma importante informação adicional para inferir a respeito do grau de contaminação da área em estudo.

14.3 – Teores pseudototais de Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn nas amostras de solos

A exatidão do procedimento de extração pseudototal foi verificada pelo uso do material de referência certificado BCR 146R (Lodo de esgoto de origem industrial). As recuperações dos elementos Cd, Cr, Cu, Ni, Mn, Pb e Zn ficaram entre 89 a 102 % quando comparado com as concentrações certificadas.

A Tabela 3.2 mostra as concentrações pseudototais dos elementos investigados. Consistentemente com os resultados da XRF juntamente com a PCA e com os valores de FE, os pontos HB7 e HB8 possuem as maiores concentrações de metais, especialmente para Cd, Pb e Zn. As concentrações pseudototais médias para os pontos HB7 e HB8 são 46, 18993 e 4823 mg kg⁻¹ para Cd, Pb and Zn, respectivamente. Por outro lado, para os demais pontos amostrais, as

concentrações pseudototais médias para estes elementos são 2,0; 233 e 999 mg kg⁻¹, respectivamente.

De maneira geral, as concentrações pseudototais de metais, como Cd, Cu, Ni, Pb e Zn, especialmente para os pontos mais impactados, estão acima dos limites máximos recomendados pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA n° 420 2009).⁵⁵ Além disso, levando-se em consideração os valores de prevenção preconizados pelo CONAMA n° 420 (2009)⁵⁵, os teores pseudototais de Cd, Cu, Ni, Pb e Zn são 36, 35, 26, 270 e 87 vezes, respectivamente, mais elevados do que tal índice. Esse valor de prevenção está relacionado com a concentração de uma substância acima da qual podem ocorrer mudanças prejudiciais à qualidade do solo e das águas subterrâneas.

Medidas de monitoramento da qualidade da água do lago Boeckella devem ser tomadas devido à proximidade do mesmo com os solos contaminados (vide detalhes na Figura 1.2). As águas deste reservatório são bombeadas para consumo na estação Argentina Esperanza e pelos teores de metais potencialmente tóxicos encontrados no solo, podem ocorrer lixiviação dos mesmos e alcançar o aquífero subterrâneo.

É importante mencionar que não pode ser negligenciada a deposição de metais potencialmente tóxicos provenientes de excrementos da fauna que habita a região, principalmente de aves. Pérez (1998)⁸⁰ ao estudar solos fortemente impactados por gaivotas (*Yellow-legged*) nas Ilhas Cies (Galícia, nordeste da Espanha) encontraram um perfil de deposição de Cd, Cr e Zn bem correlacionado com a densidade dessas espécies de aves na região. Todavia, a mesma constatação não pôde ser observada para o Pb que possui outra fonte majoritária não relacionada com os excrementos de gaivotas. Do mesmo modo, Headley (1996)⁸¹ ao analisar perfis de solos turfosos no Ártico, identificaram uma marcante tendência de incremento na concentração de metais (especialmente para Cu, Pb e Zn) nos perfis mais superficiais e nas proximidades dos ninhos de aves marítimas.

Nesse estudo, os solos analisados apresentaram deposição de excrementos de pinguins, sobretudo provindo de colônias dessas aves. As concentrações de metais (Cd, Hg e Pb) no conteúdo estomacal, penas e fezes do pinguim de Adélia (*Pygoscelis adeliae*) já foram objeto de estudo de Ancora et al. (2002)⁸² e, nesse caso, os autores mostraram que as concentrações desses metais

variaram de $5,5 \text{ mg kg}^{-1}$ para Cd (em fezes) para menos do que $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ para Pb. Desta forma, pode-se assumir que o perfil de contaminação pelos elementos em estudo nos solos estudados está sistematicamente correlacionado com aportes antrópicos (vide os pontos mais impactados, HB7 e HB8, nas Tabelas 1.2 e 3.2), já que as concentrações de Cd e Pb nestes pontos alcançaram os valores de 47 e 19000 mg kg^{-1} , respectivamente.

Tabela 3.2 – Tabela comparativa com as concentrações pseudototais de Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn nas amostras de solos

Amostra	Cd (mg kg ⁻¹)	Cr (mg kg ⁻¹)	Cu (mg kg ⁻¹)	Mn (mg kg ⁻¹)	Ni (mg kg ⁻¹)	Pb (mg kg ⁻¹)	Zn (mg kg ⁻¹)
HB1	< LOD (0,04)	34 ± 1	105 ± 2	195 ± 10	10,3 ± 0,2	129 ± 9	405 ± 13
HB2	7,2 ± 2,5	225 ± 7	159 ± 13	326 ± 10	89 ± 7	438 ± 21	3484 ± 60
HB3	4,1 ± 0,4	60 ± 3	580 ± 37	315 ± 8	17,6 ± 0,7	295 ± 14	1555 ± 56
HB4	< LOD (0,04)	46 ± 1	104 ± 5	128 ± 8	5,0 ± 0,1	184 ± 8	134 ± 3
HB5	< LOD (0,04)	74 ± 2	150 ± 6	73 ± 2	4,2 ± 0,1	250 ± 7	151 ± 5
HB6	< LOD (0,04)	35 ± 1	195 ± 27	202 ± 10	12,6 ± 0,9	103 ± 4	263 ± 14
HB7	47 ± 11	90 ± 2	2082 ± 114	3198 ± 82	336 ± 37	18606 ± 28	5225 ± 213
HB8	44 ± 12	99 ± 2	1836 ± 62	2661 ± 80	278 ± 28	19381 ± 120	4422 ± 145
Pilha de rejeitos de uma mina ^a	148,8	indisponível	2019	indisponível	<LOD	20412	38076
Solos da cidade de Shanghai ^b	3,66	233,26	151,7	indisponível	65,70	192,4	1025
Local de deposição de rejeitos na Antártica ^c	indisponível	833	2620	1560	450	7190	9010
Solos próximos de um local de reciclagem de resíduos eletrônicos ^d	12,5	40,5	1641,3	indisponível	68,6	2374,1	518,7
Fundição de Chumbo e Zinco ^e	600	1800	1700	8300	600	15000	27000
Valor de Prevenção ^f	1,3	75	60	indisponível	30	72	300
Grau de contaminação do solo (nível 1) ^g	3	50	100	500	60	300	200
Grau de contaminação do solo (nível 2) ^g	40	500	2000	5000	600	1200	14000
Grau de contaminação do solo (nível 3) ^g	400	5000	7500	25000	3000	3000	50000

^a Concentrações máximas reportadas (Boularbah et al. 2006)⁸³

^b Concentrações máximas reportadas (Shi et al. 2008)⁵⁶

^c Concentrações máximas reportadas (Stark et al. 2008)¹¹

^d Concentrações máximas reportadas (Tang et al. 2010)⁸⁴

^e Concentrações máximas reportadas (Stafilov et al. 2010)⁸⁵

^f CONAMA n° 420, 2009⁵⁵

^g Concentrações máximas permitidas (Agência de Proteção Ambiental da Tasmânia, 2009)⁸⁶

Stark et. al (2008)¹¹ ao procederem estudos de avaliação e remediação ambiental em pontos onde ocorreram deposições de rejeitos, nas vizinhanças da estação Australiana Casey, relataram elevadas concentrações de metais nesta localidade. Utilizando a técnica de EDXRF (Acrônimo do inglês, *Energy Dispersive X-Ray Fluorescence*), os autores observaram uma significativa contaminação por metais, notadamente Cu, Cr, Mn, Ni, Pb e Zn. As concentrações totais para tais elementos em estudo alcançaram até 2620; 833; 1560; 450; 7190 e 9010 mg kg⁻¹, respectivamente. Neste estudo, foram utilizados os valores de referência da Agência Ambiental da Tasmânia, EPA (acrônimo do inglês, *Environmental Protection Authority*).⁸⁶ Mais detalhes sobre os níveis estabelecidos pela Agência de Proteção Ambiental da Tasmânia podem ser visualizados na Tabela 3.2. Tais níveis de classificação dos solos são baseados nos seus teores totais de metais. Nesta classificação, se o teor de apenas um elemento for maior do que o nível crítico estabelecido para uma classe, os solos serão classificados no nível imediatamente superior.

Baseando-se na EPA da Tasmânia⁸⁶, os solos estudados provenientes dos pontos HB7 e HB8 deverão ser classificados no maior nível de poluição (nível 4), pelo fato de que a concentração de Pb nos mesmos é maior do que o limite relativo à classe 3, ou seja 3000 mg kg⁻¹ (vide Tabela 3.2). Tal classificação implica que os solos destas áreas não podem ser aceitos diretamente para a disposição final sem que sejam submetidos a um tratamento de descontaminação.

14.4 – Concentração de Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn nas frações móvel e mobilizável

As concentrações dos metais investigados nas frações móvel e mobilizável foram agrupadas para cada ponto amostral e as percentagens dessas frações com relação ao teor pseudototal dos metais Cd, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn foram calculadas (vide Tabela 4.2).

Tabela 4.2 – Porcentagem das frações mobilizável e móvel em relação às concentrações pseudototais de metais

Amostra	Elemento (%)										
	Cu		Mn		Ni		Pb		Zn		Cd
	mobilizável	Móvel	mobilizável	móvel	mobilizável	mobilizável	móvel	mobilizável	móvel	mobilizável	
HB1	15,51	Nc	3,09	0,65	nc	nc	nc	4,36	0,08	nc	
HB2	13,99	1,23	3,91	0,45	3,19	5,25	nc	13,21	0,11	6,77	
HB3	6,08	0,60	2,99	0,87	5,63	2,48	nc	5,40	0,26	11,13	
HB4	24,43	1,01	2,99	0,48	nc	0,00	nc	4,58	nc	nc	
HB5	20,82	0,58	2,29	1,32	nc	3,12	nc	3,69	1,28	nc	
HB6	15,18	0,55	2,78	2,24	9,67	nc	nc	3,79	1,95	nc	
HB7	6,50	0,11	0,17	nc	0,50	9,77	0,02	5,77	0,03	4,08	
HB8	5,95	0,09	0,19	nc	0,56	10,81	0,01	5,48	0,02	4,62	

nc – não calculado - concentração do elemento abaixo do limite de detecção do método

Obs.: Para as frações não mostradas, as concentrações ficaram abaixo do LOD.

O elemento Cr não foi apresentado porque as concentrações em ambas as frações para este elemento estavam abaixo do limite de detecção do método analítico empregado. Além disso, Cr foi o único elemento entre todos os determinados neste estudo que não apresentou concentrações anômalas (vide Tabela 3.2). As concentrações mobilizáveis de metais foram sempre maiores do que as móveis para todos os elementos, devido às características complexantes do DTPA.

Com relação às concentrações mobilizáveis dos metais, um alerta importante pode ser enunciado, já que uma elevada concentração de Pb está presente nesta fração alcançando 1817 mg kg^{-1} (para a amostra HB7, o que corresponde a 9,77 % da concentração pseudototal) e 2094 mg kg^{-1} (para a amostra HB8, o que corresponde a 10,81 % da concentração pseudototal), (vide Tabelas 3.2 e 4.2).

Uma matriz de correlação de Pearson (Tabela 5.2) foi calculada usando as concentrações pseudototais e mobilizáveis dos elementos. Elevadas correlações foram obtidas entre as concentrações pseudototais e mobilizáveis de metais para diversos elementos, mostrando uma adequada seletividade do extrator (DTPA). Todavia, a informação mais importante obtida com tal matriz foi a elevada correlação obtida entre os teores pseudototais dos elementos Cd, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn, o que pode mais uma vez indicar a mesma fonte de poluição para os mesmos.

Os resultados relativos à determinação da fração mobilizável permitem sugerir a seguinte ordem aparente de mobilidade de metais determinados neste estudo: Cu (14 % em média) >> Cd (6,7 %) > Pb (6,3 %) > Zn (5,8 %) > Ni (4,0 %) > Mn (2,3 %) >> Cr (< 1,5 %). Valores similares foram obtidos por Papafilippaki et al. (2007)⁸⁷ para solos agrícolas (Cu > Pb > Zn > Cr), assim como por Andreu e Gimeno-García (1999)⁸⁸, analisando solos de cultura de arroz em áreas alagadas (Cu > Cd > Pb >> Zn > Ni > Co). Conforme discutido por esses autores, os resultados indicaram um risco potencial para os organismos vivos devido à potencial toxicidade dos elementos Cd e Pb. Essa ordem de mobilidade é dependente de uma série de reações químicas e interações eletrostáticas entre os minerais de argila e a matéria orgânica do solo com os metais e para um melhor entendimento desse fenômeno é importante o conhecimento a respeito de algumas características do

solo, como: teor de argila, pH, capacidade de troca catiônica (CTC), conteúdo de matéria orgânica, entre outras.

Na Tabela 6.2 podem ser visualizadas as características físico-químicas das amostras de solos. Em relação ao pH, não foram observadas diferenças significativas entre as amostras (valor médio de $6,1 \pm 0,3$). Todavia, uma elevada correlação linear foi observada entre as variáveis CTC e TOC ($r = 0,98$) para os pontos HB2, HB4, HB5, HB7 e HB8. Por outro lado, quando todos os pontos estudados são incluídos, tal correlação é consideravelmente depreciada ($r = 0,33$). Isso pode ser devido ao fato de que os pontos HB1, HB3 e HB6 foram afetados pela deposição de materiais orgânicos (tais como óleo e resíduos sólidos), os quais ainda não passaram por processos de humificação no solo. Dessa forma, tais materiais orgânicos depositados contribuem para o incremento do conteúdo de COT, mas não possuem apreciável CTC, como se observa para a matéria orgânica do solo. Para estes pontos amostrais com boa correlação linear entre CTC e TOC (HB2, HB4, HB5, HB7 e HB8) foram observadas correlações lineares negativas entre tais variáveis e os teores móveis de Cu (exceto para o ponto HB2), Mn e Zn (vide Tabelas 4.2 e 6.2).

Com relação à fração móvel de Cu, Pb e Zn (vide Tabela 7.2), para os pontos HB7 e HB8, os valores obtidos (concentração nos extratos) indicaram uma concentração elevada desses elementos em uma fração prontamente biodisponível. Para as demais amostras, as concentrações ficaram abaixo do LOD para todos os analitos.

Tabela 5.2 – Matriz de correlação de Pearson usando os teores mobilizáveis (mo) e pseudototais (ps)

	Cd mo	Ni mo	Pb mo	Cu mo	Mn mo	Zn mo	Cd ps	Ni ps	Pb ps	Cu ps	Mn ps	Zn ps	Cr ps
Cd mo	1	0,39	0,97	0,96	0,02	0,61	0,99	0,98	0,98	0,98	0,98	0,92	0,27
Ni mo	-	1	0,26	0,23	0,72	0,95	0,36	0,49	0,26	0,24	0,30	0,69	0,93
Pb mo	-	-	1	0,96	-0,18	0,46	0,98	0,95	0,99	0,97	0,98	0,83	0,12
Cu mo	-	-	-	1	-0,19	0,44	0,98	0,95	0,98	0,99	0,99	0,83	0,08
Mn mo	-	-	-	-	1	0,65	-0,07	0,03	-0,18	-0,11	-0,12	0,33	0,67
Zn mo	-	-	-	-	-	1	0,57	0,68	0,47	0,47	0,51	0,86	0,90
Cd ps	-	-	-	-	-	-	1	0,99	0,99	0,98	0,99	0,90	0,22
Ni ps	-	-	-	-	-	-	-	1	0,96	0,95	0,98	0,94	0,34
Pb ps	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,98	0,99	0,84	0,13
Cu ps	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,99	0,85	0,09
Mn ps	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,87	0,14
Zn ps	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,58
Cr ps	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1

Tabela 6.2 – Características físico-químicas das amostras de solos

Variável/Amostra	HB1	HB2	HB3	HB4	HB5	HB6	HB7	HB8
pH em CaCl ₂	6,14	5,95	6,05	6,21	5,90	6,83	5,70	6,07
COT (g/kg)	141	32	98	42	21	41	50	55
CTC (mmol _c /kg)	15,63	12,95	13,87	16,57	5,80	6,83	18,65	20,71

15) Conclusões e perspectivas

Neste capítulo, mostrou-se o elevado grau de contaminação de solos nas vizinhanças da Estação Esperanza, Baía Esperança, Península Antártica. A contaminação por metais potencialmente tóxicos foi confirmada por duas técnicas analíticas, XRF e FAAS. Além disso, os resultados dos FE indicaram que o perfil de contaminação da área pode ser explicado principalmente pela deposição de Cd, Pb e Zn, dentre os metais investigados. Devido à reconhecida fragilidade dos organismos da Antártica e a relativa simplicidade de sua cadeia trófica, estes resultados são de elevada preocupação ambiental.

Medidas urgentes deverão ser tomadas para o tratamento e disposição final dos solos contaminados nos pontos estudados na Baía Esperança, especialmente devido às elevadas concentrações de Cd e Pb, elementos potencialmente tóxicos. Ambas as frações, mobilizáveis e móveis desses elementos indicam grave perfil de contaminação.

Capítulo 3

**Proposição de um método de extração para a
determinação de metais em amostras de solos**

16) Motivação e objetivos

Durante a execução dos experimentos desta tese de doutorado foi vislumbrada a possibilidade de propor um método de extração de metais do solo mais rápido do que aquele apresentado nos capítulos anteriores. Desta forma, esta parte experimental envolveu a proposição de um método de extração de solo que aliasse alta frequência analítica, economia de reagentes e simplicidade de execução. Neste estudo, utilizaram-se tubos de centrifuga de 15 mL como frasco reacional e um banho ultrasônico com aquecimento. Neste banho é possível posicionar simultaneamente 50 frascos reacionais. Inicialmente, 7 variáveis foram estudadas, através de um planejamento fatorial fracionário do tipo 2^{7-3} , para efetuar uma triagem das variáveis mais importantes a serem futuramente investigadas com maior detalhamento. As variáveis avaliadas são mostradas na Tabela 1.3.

Tabela 1.3 – Variáveis avaliadas através do planejamento fatorial fracionário 2^{7-3}

Variáveis	Nível alto (+1)	Nível baixo (-1)
V1 (tipo de solo)	Arenoso	Argiloso
V2 (tempo de aquecimento)	60 min	15 min
V3 (temperatura)	85 °C	Temperatura ambiente
V4 (tempo de pré-digestão)	16 h	4 h
V5 (volume de mistura ácida)	3,0 mL	1,0 mL
V6 (ultra-som)	Ligado	Desligado
V7 (proporção HCl:HNO ₃)	3:1 (água régia)	1:3 (água régia invertida)

Neste planejamento fatorial fracionário, a resposta monitorada foi a porcentagem de recuperação dos elementos Cr, Cu, Mn e Zn comparando-se os resultados obtidos com o procedimento de extração da norma alemã DIN 38414³³. O planejamento fatorial fracionário executado contou com um total de 16 experimentos e as variáveis foram estudadas em dois níveis. A Tabela 2.3 mostra os experimentos

e as variáveis 5, 6 e 7 foram obtidas como sendo a interação das variáveis 123, 134 e 1234, respectivamente.

Tabela 2.3 – Planejamento Fatorial Fracionário 2^{7-3}

Exp.	V1	V2	V3	V4	V5 (123)	V6 (134)	V7 (1234)
1	-	-	-	-	-	-	+
2	+	-	-	-	+	+	-
3	-	+	-	-	+	-	-
4	+	+	-	-	-	+	+
5	-	-	+	-	+	+	-
6	+	-	+	-	-	-	+
7	-	+	+	-	-	+	+
8	+	+	+	-	+	-	-
9	-	-	-	+	-	+	-
10	+	-	-	+	+	-	+
11	-	+	-	+	+	+	+
12	+	+	-	+	-	-	-
13	-	-	+	+	+	-	+
14	+	-	+	+	-	+	-
15	-	+	+	+	-	-	-
16	+	+	+	+	+	+	+

17) Resultados e discussão

Avaliando-se os contrastes obtidos com o planejamento adotado, pôde-se perceber que:

- Para o elemento Cu, todos os contrastes ficaram abaixo de 6%. Isso significa que pelo menos 94% do Cu pode ser extraído utilizando qualquer uma das condições experimentais mencionadas na Tabela 1.3. Além disso, esse comportamento pode ser atribuído à maior facilidade de lixiviação desse elemento na matriz investigada. Dessa forma, para uma adequada recuperação deste elemento pode-se utilizar os níveis mais baixos (condições menos drásticas, com menor consumo de reagentes e tempo) das variáveis em estudo tanto para o solo arenoso como para o argiloso.
- Para o Mn, duas variáveis mostraram-se significativas, o tipo de solo (arenoso ou argiloso) assim como a temperatura de extração empregada.
- Para o Zn, além do tipo de solo e da temperatura, observou-se que a mistura ácida empregada (proporção de HCl:HNO₃) foi importante para a extração.
- Na extração do Cr, a única variável que se mostrou significativa foi o tipo de solo.

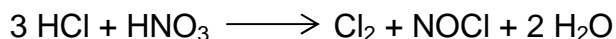
Dessa forma, foi realizado em sequência um planejamento do tipo Doehlert (Ferreira et al., (2004)⁸⁹) para cada tipo de solo com o objetivo de alcançar condições ótimas de extração (100% de recuperação em relação à norma DIN 38414³³). As variáveis investigadas foram a proporção de HCl:HNO₃, a temperatura de extração e o tempo de pré-digestão. Embora o tempo de pré-digestão não tenha se mostrado uma variável que afetasse significativamente os resultados através do planejamento fracionário preliminar efetuado, esta variável foi estudada nesta etapa em níveis mais baixos com o objetivo de reduzir o tempo total de extração. Neste planejamento Doehlert, alguns parâmetros foram fixados como:

- Massa de amostra de solo: 0,3000 g
- Volume de mistura ácida: 1,5 mL.
- Tempo de aquecimento: 15 min
- Ultra-som: desligado
- Uso de agitação ocasional das amostras a cada 1 h com o uso do vórtex, após a adição da mistura ácida.

A Tabela 3.3 traz informações detalhadas a respeito do planejamento Doehlert. Esse planejamento tem como vantagens o uso de reduzido número de experimentos e a possibilidade de investigação das variáveis mais importantes em um maior número de níveis.⁸⁹ Com o uso do planejamento Doehlert foram identificadas condições de compromisso que possibilitassem a extração adequada dos analitos. Assim, as condições finais otimizadas foram as seguintes:

- Massa de amostra: 0,3000 g
- Volume de mistura ácida: 1,5 mL
- Mistura ácida: Água régia (HCl:HNO₃ = 3:1 v v⁻¹)
- Tempo de pré-digestão: 9h
- Temperatura de extração: 75 °C
- Tempo de extração: 15 min

Pôde-se perceber que o tipo de mistura ácida contribui significativamente para a obtenção de adequadas recuperações dos analitos. Isso pode ser explicado pela formação do cloreto de nitrosilo (NOCl), uma espécie química com elevado caráter oxidante que se forma de acordo com a reação química abaixo:



Assim, a água régia devido ao seu elevado caráter oxidante, é um reagente adequado para extração de metais em solos. As condições otimizadas foram empregadas para a extração da amostra certificada BCR 146R – *Sewage Sludge from Industrial Origin* e os elementos Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn foram quantificados no extrato obtido por FAAS. Na Tabela 4.3 são mostrados os percentuais de recuperação para os elementos investigados nesta amostra certificada ao se utilizar o método otimizado.

Tabela 3.3 – Planejamento Doehlert

Exp.	Pré-digestão (h)		Proporção HCl:HNO ₃				Temperatura (°C)	
	Norm*.	Real	Norm.	XHCl**	XHNO ₃ ***	Soma	Norm.	Real
1	0	5	0	0,50	0,50	1,00	0	50
2	1	9	0	0,50	0,50	1,00	0	50
3	0,5	7	0,866	0,80	0,20	1,00	0	50
4	0,5	7	0,289	0,60	0,40	1,00	0,817	75
5	-1	1	0	0,50	0,50	1,00	0	50
6	-0,5	3	-0,866	0,20	0,80	1,00	0	50
7	-0,5	3	-0,289	0,40	0,60	1,00	-0,817	Amb.
8	0,5	7	-0,866	0,20	0,80	1,00	0	50
9	0,5	7	-0,289	0,40	0,60	1,00	-0,817	Amb.
10	-0,5	3	0,866	0,80	0,20	1,00	0	50
11	0	5	0,577	0,70	0,30	1,00	-0,817	Amb.
12	-0,5	3	0,289	0,60	0,40	1,00	0,817	75
13	0	5	-0,577	0,30	0,70	1,00	0,817	75

*Norm.= Valor normalizado

**XHCl = Fração molar do ácido clorídrico e

***XHNO₃ = Fração molar do ácido nítrico.

Tabela 4.3 – Recuperação dos elementos estudados usando o material de referência certificado BCR 146R (*Sewage Sludge from Industrial Origin*)

Elemento	Valor certificado (mg kg⁻¹)	Determinado (n=3) (mg kg⁻¹)	Recuperação (%)
Cd	18,4 ± 0,4	17,1 ± 0,1	93
Cr	174 ± 7	166 ± 5	96
Cu	831 ± 16	759 ± 9	91
Mn	298 ± 9	248 ± 7	83
Ni	65 ± 3	56 ± 4	86
Pb	583 ± 17	528 ± 7	90
Zn	3040 ± 60	2711 ± 9	89

Pela análise dos resultados encontrados para a recuperação dos analitos, pode-se concluir que o procedimento de extração proposto é adequado já que possibilita recuperações na faixa de 83 a 96%. Além disso, na Tabela 5.3, há uma comparação entre o procedimento de extração proposto e o método oficial da norma alemã, DIN 38414³³.

Finalmente, a fim de permitir uma comparação entre o método proposto e o método oficial, 25 amostras de solos superficiais coletadas na Península Fildes (detalhadamente descritas no Capítulo 1) foram selecionadas. A análise granulométrica dessas amostras revelou que os teores de argila e areia das mesmas estavam compreendidos entre 1,1 a 24,8 % e 33,8 a 91,9 %, respectivamente. Isso indica uma grande variabilidade na composição destas matrizes. Essas amostras foram submetidas à extração com água régia pelo método proposto e os resultados para os elementos Cu, Cr, Mn, Ni, Pb e Zn foram comparados plotando-se os resultados para estes elementos com ambos métodos. Essas informações podem ser visualizadas na Figura 1.3. Ao se comparar os resultados fornecidos por ambos os métodos pode-se concluir que a extração com água régia pelo método proposto é um adequado procedimento analítico para a determinação desses elementos em amostras de solos. Isso pode ser constatado pela elevada correlação entre os resultados de ambas metodologias, exibindo fatores de correlação linear entre 0,92 e 0,97.

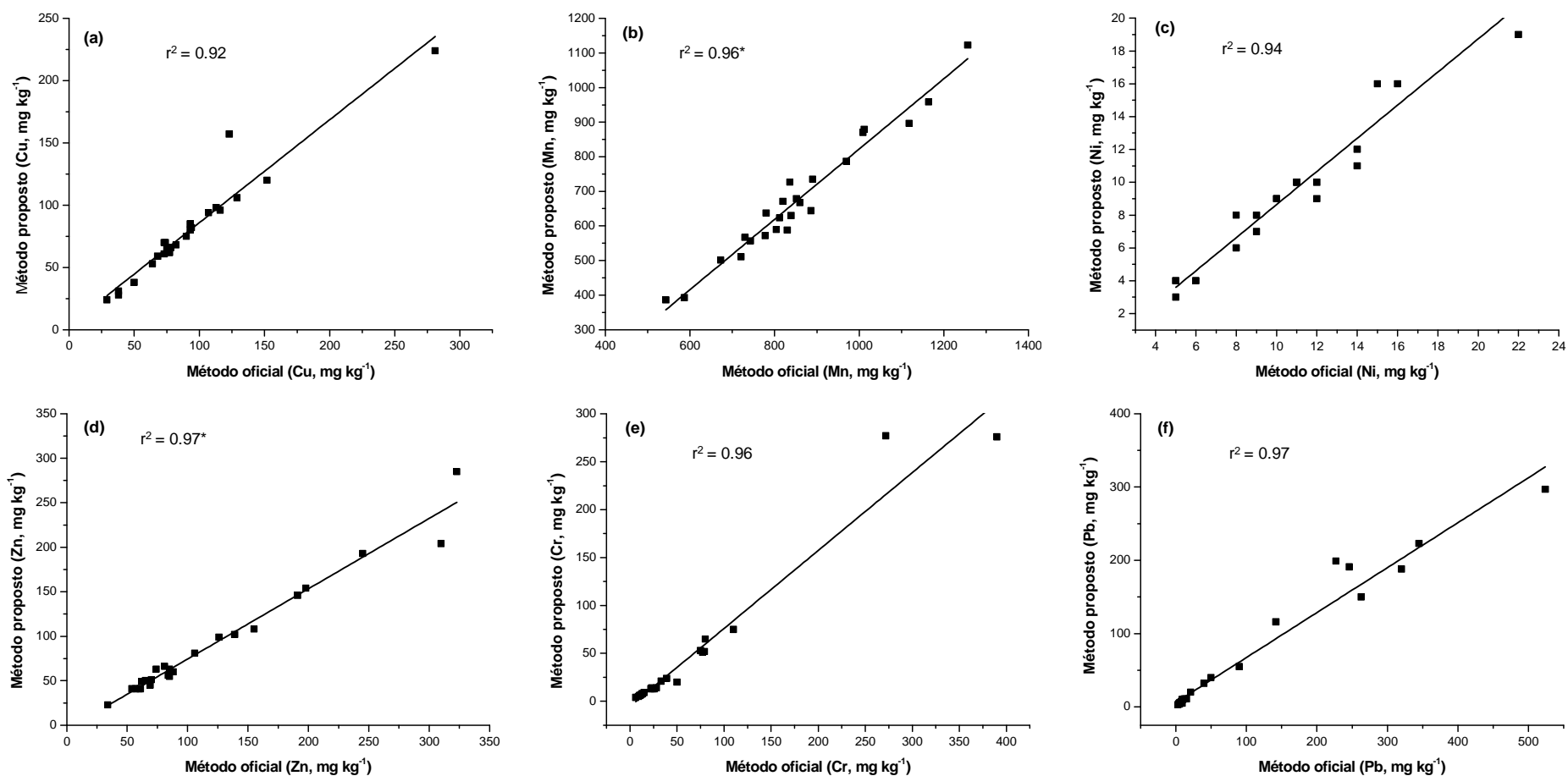


Figura 1.3 – Comparação entre o método proposto e o método oficial para extração de amostras de solos da Península Fildes (coeficientes de correlação linear marcados com asterisco indicam conjunto de dados em que houve a eliminação de 1 amostra anômala).

Tabela 5.3 – Comparação entre o método proposto e o método oficial

Condição experimental	Método proposto	Método oficial
Mistura ácida	Água régia	Água régia
Razão solo:ácido	1:5	1:9
Tempo de pré-digestão (h)	9	16
Temperatura de extração (°C)	75	130
Tempo de aquecimento	15 min	2 h

Dessa forma, comparando-se o procedimento de extração proposto com o procedimento oficial, pode-se verificar uma série de vantagens, como:

- Reduzido volume de ácido utilizado, minimizando gastos de reagentes e geração de resíduos;
- Menor tempo e temperatura de extração, o que contribui para o aumento da frequência analítica, e minimização de contaminação e perda de elementos voláteis;
- Utilização de um aparato mais simples e de baixo custo quando comparado com o bloco digestor e sistemas de digestão com micro-ondas de cavidade.
- Diminuição no consumo de energia e no tempo total de análise.

18) Conclusões

O uso dos planejamentos fatorial do tipo fracionário e o Doehlert possibilitou encontrar condições ótimas de extração de solos com água régia. O procedimento proposto levou a uma metodologia que possibilita a economia de reagentes e de tempo de análise, assim como uma maior simplificação do procedimento de execução.

Capítulo 4

Potencialidades da LA-ICP-MS em estudos de biomonitoramento usando líquens da Antártica

19) Objetivos

São objetivos deste capítulo final da tese a apresentação dos resultados utilizando-se a técnica LA-ICP-MS (Acrônimo do inglês, *Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*) para a determinação direta de Pb em amostras de líquens coletadas na Antártica. A capacidade da técnica em permitir o acesso à distribuição espacial de Pb no talo dos líquens foi avaliada. Na otimização das condições experimentais, foi utilizado um planejamento Doehlert para se alcançar condições ótimas de análise com número reduzido de experimentos. Carbono (naturalmente presente nas amostras) foi avaliado como padrão interno com o objetivo de propiciar melhor precisão e exatidão. Uma sucinta revisão bibliográfica foi inserida no sentido de discutir os seguintes tópicos: 1) Líquens como biomonitorios ambientais; 2) Princípios e aplicações recentes da LA-ICP-MS.

20) Revisão Bibliográfica

20.1 – Líquens como biomonitorios de impactos ambientais

Líquens são organismos formados pela simbiose entre um fotobionte (alga) e um micobionte (fungo). Nessa relação ecológica, a alga é responsável pela fotossíntese, enquanto o fungo fornece água e minerais que absorve do ambiente.⁹⁰ Os líquens têm sido utilizados em estudos ambientais há vários anos.⁹¹ Algumas características desse simbionte permitem qualificá-lo como um adequado bioindicador, as quais podem ser citadas^{90, 92}:

- Imobilidade: sendo representativo da área onde foi coletado.
- São organismos perenes podendo ser coletados ao longo de todo o ano.
- Facilidade de coleta além de resistir às condições de armazenagem e manipulação no laboratório.
- Apresenta um elevado fator de enriquecimento com relação ao contaminante em estudo, permitindo a análise direta sem a necessidade de etapas de pré-concentração.
- Apresenta ampla distribuição geográfica. Esta é uma importante característica já que permite a confecção de mapas relacionados com a biodiversidade de líquens assim como concernentes à deposição de poluentes específicos.

- São relativamente longevos. Permanecendo expostos aos efeitos nocivos dos contaminantes por um grande período. Desta forma, permitem acessar aos estados crônicos de eliminação de um contaminante.
- Acumula o poluente sem que seja morto pelos níveis com os quais entra em contato.

Essa última característica está relacionada a alguns mecanismos que tais organismos apresentam para suportar elevados teores de espécies químicas tóxicas em seus tecidos. Em se tratando de metais potencialmente tóxicos, tais mecanismos de destoxificação se manifestam no sentido de complexar espécies metálicas tornando-as inativas dentro das células do simbionte. Alguns metabólitos de líquens apresentam vários sítios ativos que podem se ligar aos cátions dos metais potencialmente tóxicos. Tais reações de destoxificação que ocorrem nas paredes externas do micobionte e do ficobionte configuram-se como as principais estratégias de defesa de líquens contra o excesso de metais. Espécies químicas que desempenham este papel nos líquens podem apresentar ânions fosfato, além de grupamentos amino, hidroxila, tiol e carboxila em suas estruturas.⁹³ Com tal artifício de destoxificação química, os líquens são capazes de acumular teores extremamente elevados de metais, podendo atingir níveis de % m m⁻¹ para o elemento Cu⁹⁴⁻⁹⁶ em ambientes altamente contaminados por este elemento.

Além de contribuírem para o diagnóstico ambiental de áreas nas quais os líquens estão naturalmente presentes, vários pesquisadores têm utilizado a técnica de transplante^{23, 97-98}. Nessa técnica, os líquens são coletados em regiões com níveis baixos dos contaminantes em estudo e transferidos para regiões potencialmente contaminadas. Com o uso desta técnica, pode-se acessar fontes poluidoras e realizar estudos de biomonitoramento ambiental de forma mais eficaz.

20.2 – Princípios e aplicações recentes da LA-ICP-MS

Embora a elevada capacidade de absorção de metais, conforme discutido no item anterior, a concentração típica de Pb em amostras de líquens está em níveis traço. Dessa forma, técnicas analíticas bastante sensíveis, como GFAAS (acrônimo do inglês, *Graphite Furnace AAS*) ou ICP-MS (acrônimo do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*) tem sido comumente empregadas para a determinação desse elemento nesta amostra.⁹⁹⁻¹⁰⁴ Todavia, nas determinações por GFAAS e ICP-MS as amostras sólidas devem ser quantitativamente convertidas na forma líquida para serem introduzidas nos instrumentos. Para se atingir este objetivo, procedimentos de preparo de amostras utilizando ácidos fortes e concentrados (HNO_3 e HClO_4) e H_2O_2 são frequentemente empregados. Essa operação pode gerar rejeitos tóxicos e aumentar o tempo total de análise, podendo também contaminar as amostras durante o manuseio das mesmas.

Um método adequado que proporciona uma maior agilidade nas determinações analíticas, permitindo a determinação elementar direta na matriz é o acoplamento entre uma fonte de ablação por laser com o espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado. Tal acoplamento sob o nome da técnica de LA-ICP-MS (acrônimo do inglês, *Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*) tem recebido crescente interesse pela comunidade científica. Nesse sistema, um laser de alta energia é focalizado na amostra sólida removendo partículas, átomos e íons da superfície. A ablação é conduzida em uma câmara sob baixa pressão especialmente designada para tal fim. O aerossol da amostra é direcionado para a tocha do ICP-MS através do fluxo de um gás inerte. Uma vez introduzido o aerossol da amostra na fonte de plasma de alta temperatura, os fenômenos de vaporização, atomização e ionização ocorrem sequencialmente. Os íons relacionados aos analitos de interesse são separados pelo analisador de massas em função de suas razões massa/carga.¹⁰⁵

Um fenômeno que pode ocorrer durante as análises por LA-ICP-MS e que influencia negativamente para a exatidão das respostas analíticas é o chamado fracionamento. Nesse processo, o sinal gerado pelo ICP-MS não representa adequadamente a composição da amostra. Tal fenômeno pode ocorrer durante a ablação, transporte do aerossol ou durante a atomização e ionização na tocha do

ICP-MS. Muitos estudos demonstraram que os vários parâmetros relacionados ao laser (como energia, duração do pulso, diâmetro do feixe etc) desempenham um papel conjunto na ocorrência e na intensidade do fracionamento.¹⁰⁵

Várias linhas de pesquisa têm utilizado o LA-ICP-MS como ferramenta analítica, como: proteômica¹⁰⁶⁻¹⁰⁸, forense¹⁰⁹⁻¹¹¹, ambiental¹¹²⁻¹¹⁴, geologia¹¹⁵⁻¹¹⁷, arqueologia¹¹⁸⁻¹²⁰, além de diversas aplicações biológicas e em análises clínicas¹²¹⁻¹²³, entre outras. Vários diferentes tipos de amostras são usados nestes estudos incluindo solos, sedimentos, rochas, anéis de crescimento de árvores, cabelo, dentes, ossos, plantas, vidros etc. Até o momento há somente um artigo publicado¹²⁴ explorando a versatilidade desta técnica para análise de líquens. Nesse trabalho demonstrou-se que o LA-ICP-MS é um método adequado para a determinação das razões isotópicas de Pb em amostras de turfa e de líquens com propósitos de biomonitoramento e para permitir uma rápida triagem das amostras. No entanto, neste estudo não foram reportadas as concentrações totais de Pb nas amostras analisadas.

21) Amostragem e tratamentos preliminares

Na Figura 1.4 estão representados os pontos de coleta na Península Fildes, Ilha Rei George, localizada no Arquipélago das Ilhas Shetland do Sul, Antártica Marítima. Foram coletadas 8 amostras de líquens (de P2 a P9) em pontos localizados nas proximidades das estações de pesquisa, assim como um ponto controle localizado cerca de 0,5 km de distância da estação mais próxima. Esta coleta foi realizada em fevereiro de 2009. Na Tabela 1.4 há informações detalhadas a respeito dos pontos de coleta e das amostras.

As amostras de líquens dos pontos selecionados foram coletadas usando uma lâmina de aço inox, a seguir foram armazenadas em sacos de papel e em potes plásticos para serem enviadas ao laboratório. O processamento preliminar das amostras compreendeu uma etapa de secagem a 60 °C por 48 h, moagem preliminar com um moinho de facas para reduzir o tamanho de partícula para finalmente proceder à moagem criogênica. A moagem em moinho criogênico (Marconi, Piracicaba-SP) foi realizada com 3 etapas de moagem durante 2 min intercaladas por 3 etapas de congelamento no mesmo período de tempo.

Um espécime de líquen de cada ponto amostral foi mantido intacto para ser diretamente analisado por LA-ICP-MS. As amostras moídas foram armazenadas em potes de polietileno previamente descontaminados.

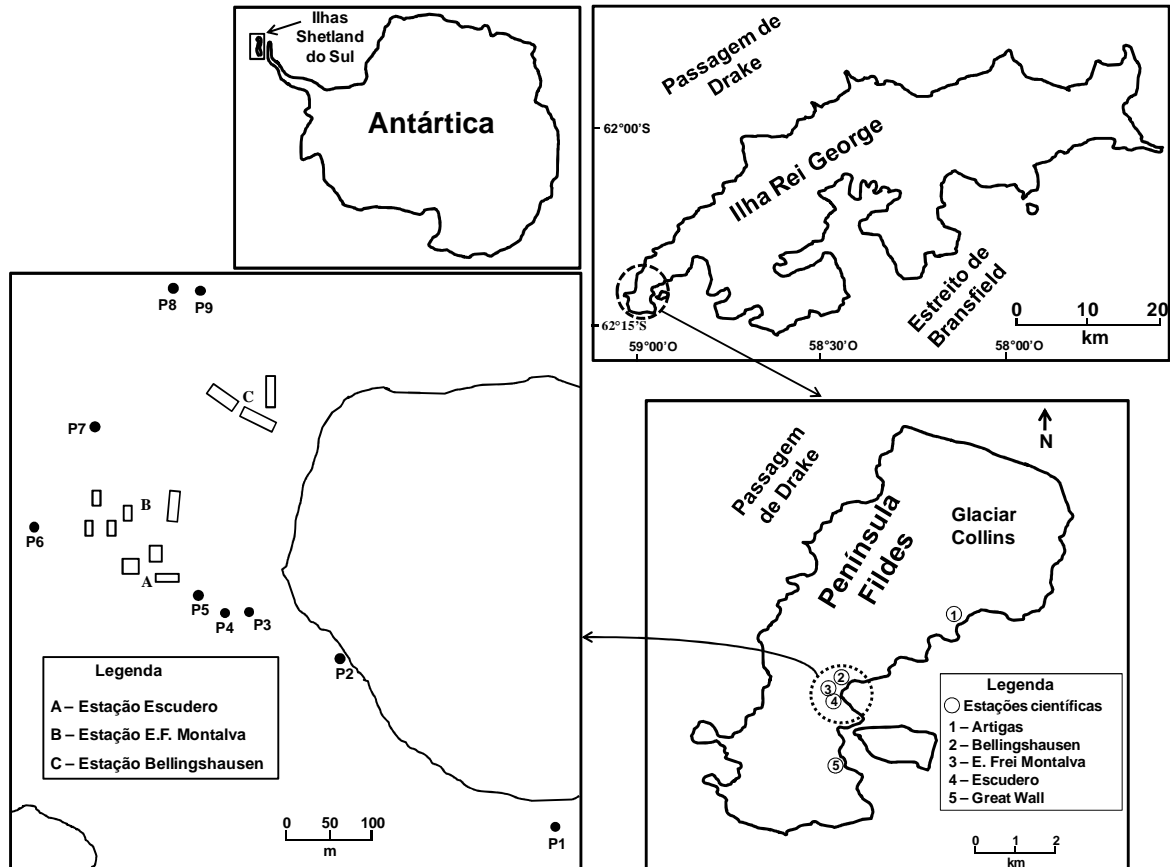


Figura 1.4 – Mapa da Península Fildes, Ilha Rei George destacando os pontos de coleta

Tabela 1.4 – Descrição das amostras coletadas

Amostra	Coordenadas Geográficas	Espécies	Observações
P1	62° 12' 15.88" S / 58° 57' 20.23" O	<i>Usnea aurantiaco-atra</i> (Jacq.) Bory.	Ponto controle, distante das estações
P2	62° 12' 8.87" S / 58° 57' 33.48" O	<i>Usnea aurantiaco-atra</i> (Jacq.) Bory	Posição intermediária
P3	62° 12' 6.76" S / 58° 57' 40.82" O	<i>Usnea aurantiaco-atra</i> (Jacq.) Bory	Ao redor da estação Escudero
P4	62° 12' 6.80" S / 58° 57' 42.90" O	<i>Usnea aurantiaco-atra</i> (Jacq.) Bory	Ao redor da estação Escudero
P5	62° 12' 5.99" S / 58° 57' 45.06" O	<i>Usnea aurantiaco-atra</i> (Jacq.) Bory	Ponto mais próximo da estação Escudero
P6	62° 12' 2.49" S / 58° 57' 59.23" O	<i>Usnea antarctica</i> Du Rietz e <i>Usnea aurantiaco-atra</i> (Jacq.) Bory	Ao redor da estação Escudero
P7	62° 11' 56.73" S / 58° 57' 52.70" O	<i>Usnea aurantiaco-atra</i> (Jacq.) Bory	Entre as estações Escudero e Bellingshausen
P8	62° 11' 47.47" S / 58° 57' 42.27" O	<i>Usnea aurantiaco-atra</i> (Jacq.) Bory	Ao redor da estação Bellingshausen
P9	62° 11' 47.54" S / 58° 57' 39.37" O	<i>Usnea aurantiaco-atra</i> (Jacq.) Bory	Ao redor da estação Bellingshausen

22) Reagentes, soluções e materiais de referência

Todos os reagentes empregados neste trabalho foram de grau analítico.

- Solução estoque de Pb (1000 mg L⁻¹). Marca: Spex Certiprep, Metuchen, NJ, EUA;
- Solução estoque de Bi (1000 mg L⁻¹). Marca: Spex Certiprep;
- Ácido nítrico concentrado ultra-puro. Marca: ARISTAR[®] ULTRA, VWR International, Chester, PA, EUA;
- Peróxido de hidrogênio 30% v/v p.a. Marca: Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ, EUA;
- Solução aglutinante (Chemplex, Palm City, FL, EUA);
- Amostra certificada de folhas de faia (Beech leaves, SRM 100, BCR, Geel, Bélgica);
- Amostra certificada de folhas de macieira (Apple leaves, SRM 1515, NIST, Gaithersburg, MD, EUA);

Água deionizada (resistividade maior que 18 ΩM.cm) obtida em um sistema Millipore (Bedford, MA, EUA) foi utilizada para o preparo de todas as soluções.

Todas as vidrarias e frascos de polipropileno utilizados nos experimentos foram lavados com detergente, enxaguados exaustivamente com água destilada sendo em seguida imersos por 12 h em HNO₃ 50 % v v⁻¹. A seguir, os materiais foram enxaguados com água deionizada e secos a temperatura ambiente em uma capela de fluxo laminar.

Uma curva analítica de Pb (de 0,1 a 100 µg L⁻¹) foi preparada em meio de HNO₃ 1 % v v⁻¹. Os pontos da curva foram preparados após diluições sucessivas da solução estoque de Pb (1000 mg L⁻¹, Spex Certiprep, Metuchen, NJ, EUA). Uma solução de Bi (20 µg L⁻¹) foi preparada para ser utilizado como padrão interno nas determinações de Pb por ICP-MS. Essa solução foi preparada após diluição da solução estoque de Bi (1000 mg L⁻¹, Spex Certiprep).

23) Instrumentação

Os experimentos com o LA-ICP-MS foram conduzidos em um sistema de ablação por laser Nd:YAG deep UV 213 nm (New Wave Research, Fremont, CA,

EUA) acoplado a um ICP-MS quadrupolar PE-Elan 6000a (Perkin Elmer Instruments, Shelton, CT, EUA). As condições experimentais detalhadas estão descritas na Tabela 2.4.

O gás inerte utilizado para o transporte do aerosol da câmara de ablação até o ICP-MS foi uma mistura de hélio e argônio (50 : 50% v/v) em um fluxo de 1,0 L min⁻¹.

Tabela 2.4 – Parâmetros instrumentais para o ICP-MS e LA-ICP-MS

Parâmetros instrumentais do LA-ICP-MS (New Wave NWR 213 nm Laser)		
Parâmetros	Bioimagem dos talos	Pastilhas
Tempo de “warm-up” (s)	40	40
Energia do laser (%)	80	60
Taxa de repetição (Hz)	10	10
Diâmetro do feixe (µm)	10	150
Velocidade de varredura (µm s ⁻¹)	10	150
Energia transmitida (mJ)	0,035	1,3
Fluência (J cm ⁻²)	44,5	7,2
Parâmetros instrumentais do ICP-MS (PE Elan, 6000a)		
Parâmetros	LA-ICP-MS	Nebulização pneumática
Potência de radio-frequência (W)	1000	1000
Tensão das lentes (V)	5,5	5,5
Fluxo de argônio - nebulização (L min ⁻¹)	0,5	0,85
Fluxo de argônio - auxiliar (L min ⁻¹)	1,2	1,2
Fluxo de argônio – gás do plasma (L min ⁻¹)	15	15
Tempo de aquisição do sinal (ms)	100	100
Isótopos monitorados (m/z)	²⁰⁸ Pb ⁺ , ²⁰⁷ Pb ⁺ , ²⁰⁶ Pb ⁺ , ¹³ C ⁺	²⁰⁹ Bi ⁺ , ²⁰⁸ Pb ⁺

24) Procedimento de digestão

Amostras de líquens moídas (n = 3) foram pesadas usando balança analítica (100 mg) em tubos de digestão de perfluoralcóxi (PFA). Em seguida, 5,0 mL de HNO₃ concentrado foram adicionados. Uma rampa de aquecimento de 3 °C/min foi conduzida em bloco digestor (Environmental Express, Charleston, SC, EUA) até que se atingisse a temperatura de 150 °C. Os tubos foram mantidos nesta temperatura, em refluxo (utilizando um aparato de PFA), durante 30 min. As amostras foram retiradas do bloco e resfriadas até atingirem a temperatura

ambiente. A seguir, 2,0 mL de H₂O₂ 30 % v/v foram adicionados. A digestão foi finalizada sob aquecimento a 150 °C sob refluxo por mais 60 min. Os digeridos foram transferidos quantitativamente para frascos de polipropileno previamente descontaminados e o volume final foi ajustado para 15 mL.

Dois materiais de referência certificados, folhas de faia (Beech leaves, SRM 100, BCR, Geel, Bélgica) e folhas de macieira (Apple leaves, SRM 1515, NIST, Gaithersburg, MD, EUA) foram digeridos utilizando-se o mesmo procedimento empregado para as amostras de líquens para verificar a exatidão do método.

25) Determinação de Pb nos digeridos por ICP-MS

Para a determinação de Pb nas amostras digeridas, um ICP-MS quadrupolar foi utilizado com as condições operacionais mostradas na Tabela 2.4. Bismuto (20 µg L⁻¹) foi adicionado em linha para ser utilizado como padrão interno. Os isótopos ²⁰⁸Pb⁺ e ²⁰⁹Bi⁺ foram monitorados. Plotou-se a concentração de Pb dos pontos da curva analítica pela razão da intensidade de ²⁰⁸Pb⁺ pela intensidade do ²⁰⁹Bi⁺. Fatores de correlação linear melhores que 0,999 foram obtidos usando a faixa de concentração de Pb de 0,1 a 100 µg L⁻¹.

26) Preparo das pastilhas para as análises por LA-ICP-MS

A 0,3 g de material vegetal moído (líquens e materiais de referência certificados) foram adicionadas 18 gotas da solução aglutinante (Chemplex, Palm City, FL, EUA). A seguir, o solvente presente na solução (cloreto de metileno) foi volatilizado deixando a amostra à temperatura ambiente em uma capela de exaustão durante 15 min. Utilizou-se um almofariz de ágata para promover a homogeneização entre a amostra e o aglutinante. Finalmente, aproximadamente 0,2 g de amostra foram prensados para a preparação das pastilhas em uma prensa pneumática utilizando-se 12 ton cm⁻² durante 30 s.

27) Resultados e discussão

27.1 – Otimização dos parâmetros operacionais do LA-ICP-MS

Um planejamento Doehlert^{89, 125} foi aplicado para a otimização das condições operacionais do LA-ICP-MS. As seguintes variáveis foram investigadas em diferentes números de níveis: diâmetro do feixe (de 3 a 250 μm), energia (de 20 a 80%) e taxa de repetição (de 1 a 10 Hz) como pode ser observado na Tabela 3.4.

Tabela 3.4 – Matriz Doehlert para a otimização dos parâmetros do LA-ICP-MS

Exp.	Diâmetro do feixe (μm)	Energia (%)	Taxa de repetição (Hz)	Intensidade (RSD, %)		
				²⁰⁸ Pb	²⁰⁷ Pb	²⁰⁶ Pb
1A	100	50	5	18269 (19)	7749 (17)	8588 (22)
1B	100	50	5	17932 (19)	7030 (7)	8720 (19)
1C	100	50	5	15949 (12)	6113 (13)	7620 (10)
2	250	50	5	24839 (5)	10285 (4)	11695 (6)
3	150	80	5	39155 (14)	16789 (18)	16753 (15)
4*	150	60	10	50345 (1)	20439 (6)	23480 (3)
5	3	50	5	251 (22)	106 (30)	122 (26)
6	50	20	5	646 (21)	268 (17)	317 (15)
7	50	40	1	756 (9)	307 (44)	351 (52)
8	150	20	5	1751 (15)	855 (35)	830 (3)
9	150	40	1	2922 (9)	1194 (9)	1398 (23)
10	50	80	5	22150 (8)	9605 (7)	10816 (5)
11	100	70	1	4564 (27)	1665 (23)	2034 (19)
12	50	60	10	20374 (20)	8733 (21)	9978 (23)
13	100	30	10	10534 (15)	4386 (18)	4782 (17)

*Condições com melhor resultado

Os experimentos foram realizados aleatoriamente usando a pastilha previamente preparada da amostra certificada BCR 100 (Beech leaves) a qual possui $[Pb] = 16 \text{ mg kg}^{-1}$.

Para cada experimento da matriz Doehlert, uma linha de $1000 \mu\text{m}$ foi marcada na pastilha sendo a velocidade de varredura do laser igual ao valor de diâmetro do feixe relativo ao experimento. Os sinais dos isótopos de Pb foram monitorados ($^{208}\text{Pb}^+$, $^{207}\text{Pb}^+$, and $^{206}\text{Pb}^+$). Todos os experimentos foram conduzidos em triplicata e os desvios padrão relativos (RSD) foram calculados.

As condições experimentais que levaram aos melhores resultados em termos de sensibilidade (relacionada ao maior sinal analítico) e ao mesmo tempo à melhor repetibilidade (menores valores de RSD) foram aquelas do experimento 4. Assim, para os experimentos subsequentes, com as amostras no formato de pastilhas, as seguintes condições foram empregadas: diâmetro do feixe ($150 \mu\text{m}$), energia (60%) e taxa de repetição (10Hz).

Na Figura 2.4 são mostrados sinais típicos obtidos após a varredura de uma linha de $1000 \mu\text{m}$ na pastilha da amostra P9 utilizando as condições otimizadas.

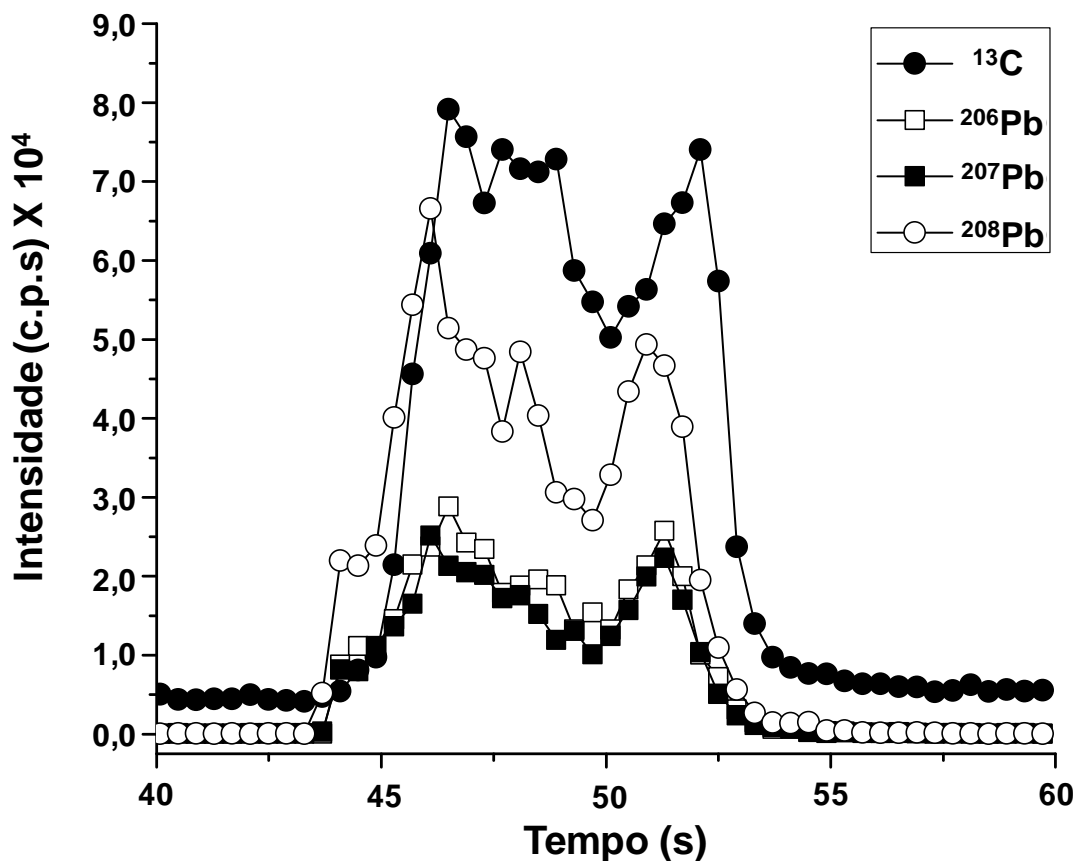


Figura 2.4 – Sinais analíticos obtidos com o LA-ICP-MS após a análise da amostra P9 usando as condições otimizadas

27.2 – Determinação de Pb nos digeridos dos materiais de referência

Com o objetivo de comprovar a exatidão do procedimento de digestão e de determinação de Pb por ICP-MS, dois materiais de referência certificados foram usados (Beech leaves, BCR100 e Apple leaves, NIST 1515). Excelentes recuperações foram obtidas para ambos os materiais de referência, conforme pode ser observado na Tabela 4.4.

Tabela 4.4 – Recuperações de Pb utilizando os materiais de referência certificados

Materiais de referência certificados	Valor certificado [Pb] (mg kg ⁻¹)	Determinado [Pb] (mg kg ⁻¹) n= 3	Recuperação (%)
NIST SRM 1515 (Folhas de macieira)	0,470 ± 0,024	0,461 ± 0,017	98 ± 4
BCR 100 (Folhas de faia)	16*	15,4 ± 0,8	96 ± 5

*valor informativo

27.3 – Resultados para os líquens: Concentração de Pb e intensidades usando o LA-ICP-MS

Uma vez obtida uma adequada exatidão para o procedimento de digestão e determinação de Pb, o mesmo procedimento foi empregado para as análises das amostras de líquens.

Na Figura 3.4a são apresentados os resultados obtidos para todas as amostras coletadas. Conforme esperado, a concentração de Pb nas amostras de líquens do ponto controle (P1, n = 3) é menor do que para as amostras afetadas pelas estações de pesquisa (de P2 a P9). A maior diferença está justamente entre a amostra do ponto controle ([Pb] = 1,12 ± 0,05 mg kg⁻¹) e a amostra coletada no ponto mais próximo da Estação Escudero (veja Figuras 1.4 e 3.4a, P5, [Pb] = 8,71 ± 0,08 mg kg⁻¹).

Esses resultados estão em concordância com os dados apresentados por Osyczka et al. (2007)¹²⁶ Neste estudo, os autores determinaram a concentração de Pb, entre outros elementos, em amostras de líquens *Usnea antarctica* e *Usnea aurantiaco-atra* coletadas ao redor de várias estações de pesquisa da Ilha Rei George, Antártica Marítima. O teor de Pb das amostras em que tal elemento foi detectado, variou de 1 mg kg⁻¹ (amostras próximas da estação polonesa H. Arctowski) até 6 mg kg⁻¹ (amostras coletadas nas redondezas da estação Bellingshausen). Cerca de 10 anos antes da publicação deste artigo, Olech et al. (1998)²³, determinaram a concentração de Pb em amostras de líquens coletadas em regiões da Antártica Marítima. Nesse estudo, líquens coletados em pontos não-impactados da Antártica foram transplantados para regiões de elevado impacto

antrópico (próximo a potenciais fontes de emissão de poluentes) nas proximidades da estação polonesa Henrik Arctowski. Após 6 meses de exposição, as concentrações de Pb atingiram cerca de 160 mg kg^{-1} em amostras com teores basais do elemento de $3,2 \text{ mg kg}^{-1}$ e que foram expostas nas proximidades do gerador de eletricidade. Dessa forma, com tais resultados contundentes de emissão de Pb, os autores apontaram a necessidade de monitoramento contínuo da emissão de poluentes através de análises de líquens da Antártica.

Na Figura 3.4b podem ser visualizadas as razões entre os sinais dos isótopos de Pb em relação à intensidade do ^{13}C obtido com LA-ICP-MS nas condições otimizadas. Foram observados os mesmos perfis de intensidade dos sinais dos isótopos de Pb obtidos com o LA-ICP-MS com relação às concentrações totais do elemento para as amostras em estudo (veja Figuras 3.4a e 3.4b).

As amostras de líquens do ponto controle (vide Figuras 1.4 e 3.4a) possuem as menores concentrações de Pb (vide Figuras 3.4a) e também os menores sinais analíticos para este elemento obtidos com o LA-ICP-MS (vide Figuras 3.4b). Do mesmo modo, as amostras mais contaminadas (provenientes dos pontos P3 e P5, vide Figuras 3.4a) são aquelas que apresentaram os maiores sinais analíticos para o Pb (vide Figuras 3.4b). Através desta clara demonstração visual, pode-se propor a técnica de LA-ICP-MS como uma adequada ferramenta para se estimar o teor total de Pb em amostras de líquen.

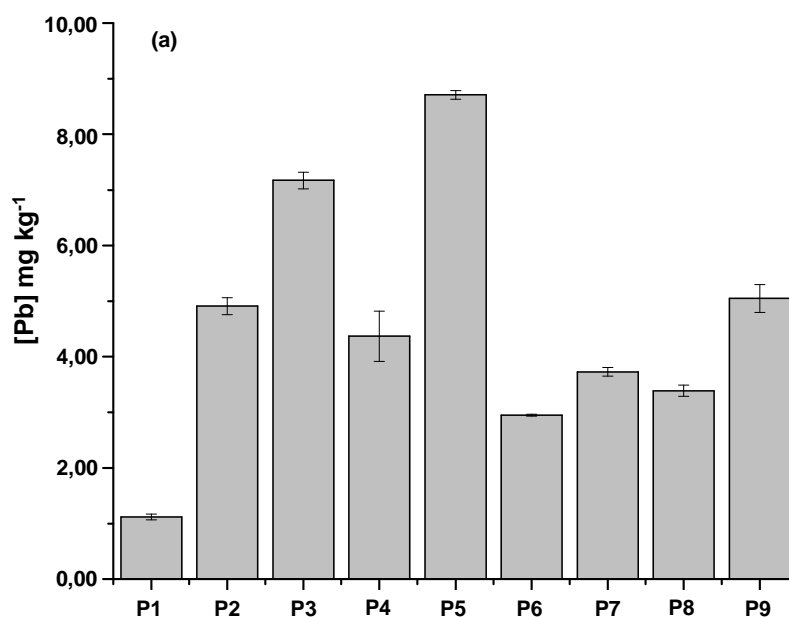


Figura 3.4a – Concentrações de Pb nas amostras de líquens determinadas por ICP-MS

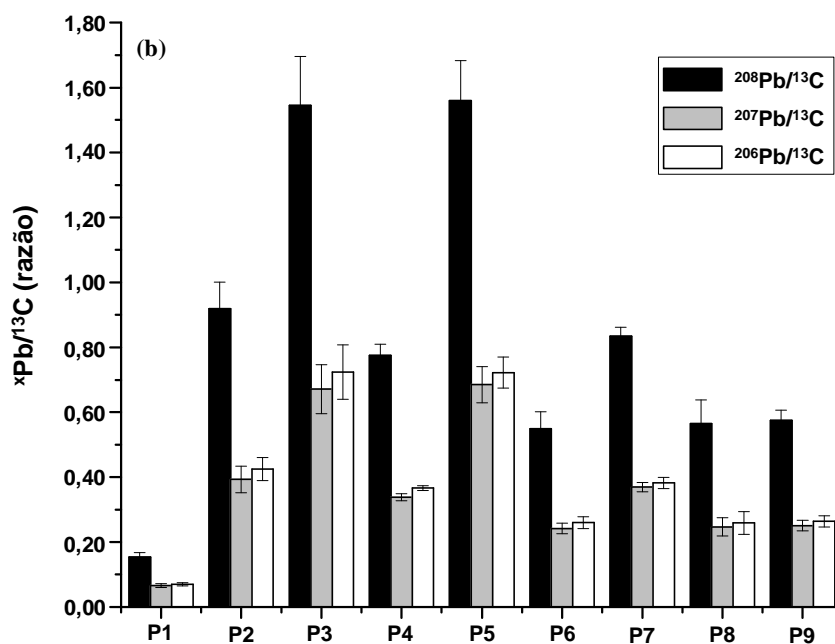


Figura 3.4b – Sinais analíticos de Pb usando ¹³C como padrão interno

27.4 – Estratégias de calibração usando o LA-ICP-MS

Com o objetivo de avaliar a aplicabilidade do LA-ICP-MS como técnica analítica para a determinação direta de Pb, alguns parâmetros estatísticos foram calculados. Fatores de correlação linear, PRESS (Acrônimo do inglês: *Predict Error*

Sum of Squares) e RMSEP (Acrônimo do inglês: *Root Mean Square Error of Prediction*)¹²⁷ foram calculados após a utilização de duas estratégias distintas de calibração. As diferentes estratégias foram realizadas usando ¹³C como padrão interno ou somente o sinal analítico dos isótopos de Pb plotado *versus* as concentrações do elemento nas amostras de líquens. Insatisfatórios fatores de correlação linear (r^2) foram obtidos usando somente os sinais dos isótopos de Pb ao serem plotados *versus* as concentrações (vide Tabela 5.4). Tal fato pode ser explicado por flutuações do sinal analítico que normalmente ocorrem ao longo do tempo, assim como devido a efeitos de transporte que ocorrem aleatoriamente. Por outro lado, os parâmetros estatísticos investigados (vide Tabela 5.4) apontaram para a adoção do ¹³C como um adequado padrão interno para a determinação de Pb em líquens (r^2 da ordem de 0,9).

A padronização interna é uma estratégia analítica usada com o objetivo de corrigir alterações ocorridas durante a aquisição do sinal analítico, assim como devido às variações na amostragem e efeitos de transporte na condução do aerosol da câmara de ablação até a tocha do ICP-MS. O ¹³C preenche os principais requisitos de um bom candidato a padrão interno, os quais são: deve estar na mesma concentração em todas as amostras (isto é naturalmente observado visto que o conteúdo de carbono nas amostras de líquens é aproximadamente o mesmo e o aglutinante, que possui um composto orgânico em sua composição, é adicionado na mesma quantidade em todas as amostras); deve corrigir flutuações ocorridas durante a aquisição do sinal analítico, então o padrão interno deve apresentar características similares com o analito em estudo [tal fato pode ser observado pelos perfis parecidos dos sinais do ¹³C e dos isótopos de Pb (vide Figura 2.4)]; e, finalmente, o seu uso deve resultar em melhor exatidão (conforme pode ser observado pelos menores valores de PRESS e RMSEP), além de melhor repetibilidade [conforme constatado pelos menores valores de RSD obtidos (vide Tabela 6.4)].

Os parâmetros analíticos de desempenho do método estão apresentados na Tabela 6.4. Os limites de detecção (LOD) para a determinação de Pb em amostras de líquens estão em valores extremamente baixos (3 $\mu\text{g kg}^{-1}$ usando o isótopo ²⁰⁸Pb). Não foram observadas diferenças significativas nos valores dos LOD para ambas as estratégias de calibração (^xPb e ^xPb/¹³C).

Esses limites de detecção estão na faixa típica de valores obtidos para análises de matrizes sólidas por LA-ICP-MS (de 0,1 a 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$).¹²⁸ A frequência analítica máxima teórica foi obtida desconsiderando-se o tempo necessário para a troca de amostras na câmara de ablação. Tal câmara é capaz de acomodar cerca de 20 pastilhas de amostras ao mesmo tempo e o tempo necessário para evacuar o sistema e ajustar a vazão do gás inerte é de aproximadamente 15 min. Antes de iniciar as análises, o usuário pode marcar todas as linhas para serem amostradas nas pastilhas e armazenar no programa computacional do equipamento para economizar ainda mais tempo. Em uma aplicação de rotina, o método proposto permite a análise de cerca de 80 amostras diariamente, o que é um ótimo número para o LA-ICP-MS devido ao mínimo pré-tratamento requerido.

Tabela 5.4 – Comparação entre as estratégias de calibração

Estratégias de calibração	Fator de correlação linear (r^2)	PRESS	RMSEP
[Pb] versus ^{208}Pb (intensidade)	0,7815	16,73	1,36
[Pb] versus ^{207}Pb (intensidade)	0,7856	16,33	1,35
[Pb] versus ^{206}Pb (intensidade)	0,7771	17,17	1,38
[Pb] versus $^{208}\text{Pb}/^{13}\text{C}$	0,9132	5,66	0,79
[Pb] versus $^{207}\text{Pb}/^{13}\text{C}$	0,9141	5,59	0,79
[Pb] versus $^{206}\text{Pb}/^{13}\text{C}$	0,9102	5,88	0,81

PRESS – Prediction Errors Sum of Squares; RMSEP – Root Mean Square Error of Prediction

Tabela 6.4 – Parâmetros de desempenho analítico para determinação de Pb por LA-ICP-MS

Parâmetros	^{208}Pb	$^{208}\text{Pb}/^{13}\text{C}$	^{207}Pb	$^{207}\text{Pb}/^{13}\text{C}$	^{206}Pb	$^{206}\text{Pb}/^{13}\text{C}$
^a Limite de detecção ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	3,00	3,32	18,96	16,74	12,06	12,39
^b Repetibilidade	12,38	7,9	12,35	7,68	11,94	7,43
Frequência analítica máxima teórica (determinações por hora)	60					

^aLOD – limite de detecção de acordo com a IUPAC ($3\sigma_{\text{blank}}$ /inclinação, $n = 10$); ^bR.S.D.(%) – média do desvio padrão relativo de 9 amostras de líquens analisadas ($n = 45$ medidas, 5 por amostra).

27.5 – Distribuição de Pb em seções transversais de talos de líquens

Dois talos de líquens com diâmetros similares dos pontos mais distintos (P1 e P5, vide Figura 3.4a) foram aleatoriamente selecionados e seccionados com o auxílio de uma lâmina de aço inoxidável.

Com o objetivo de acessar o perfil de distribuição de Pb ao longo dos talos de líquens, as amostras previamente seccionadas foram utilizadas. Áreas de amostragem nos talos de líquens foram marcadas com uma ferramenta apropriada do programa computacional do equipamento. Tais áreas de amostragem foram selecionadas no sentido de abranger todas as estruturas anatômicas dos organismos: “outer cortex”, “medulla” e “central cord” (vide Figuras 4.4a e 4.4c). Tais regiões de amostragem foram selecionadas com as seguintes dimensões: 310 x 360 μm (para o talo da amostra P1, vide Figura 4.4a) e 250 x 320 μm (para o talo da amostra P5, vide Figura 4.4c). Antes de se proceder à amostragem da região selecionada, foi realizada uma ablação prévia com condições brandas, com o objetivo de eliminar possíveis interferentes adicionados à superfície do material durante a manipulação da amostra. Dessa forma, as condições operacionais do laser foram as seguintes: energia (40%), diâmetro do feixe (10 μm), taxa de repetição (10 Hz), velocidade de varredura (10 $\mu\text{m s}^{-1}$) e profundidade de amostragem (5 μm). Posteriormente, condições otimizadas foram usadas na mesma área (80 % de energia, 10 Hz de taxa de repetição e 10 μm de diâmetro de feixe) e os sinais de ^{208}Pb e ^{13}C foram monitorados pelo programa computacional do ICP-MS. Tais condições foram estabelecidas para adquirir boa resolução espacial e sinais analíticos satisfatórios a fim de permitir a construção da bioimagem da distribuição de Pb nas amostras. A pastilha da amostra certificada de folhas de faia (Beech leaves, BCR 100) foi utilizada e três linhas de 1000 μm foram marcadas a fim de se proceder a uma amostragem nas mesmas condições operacionais do procedimento com os talos de líquens. Os sinais dos isótopos ^{208}Pb e ^{13}C foram monitorados pelo programa computacional do ICP-MS. Os sinais analíticos armazenados (c.p.s, contagens por segundo) em função do tempo de análise (s) foram transferidos para uma planilha do Microsoft Excel[®] (Microsoft, Richland, WA, EUA). Os sinais analíticos foram convertidos para concentração pelo uso de uma regra de três simples sabendo-se que a [Pb] da amostra certificada é de 16 mg kg⁻¹. Com o uso de tal estratégia, dados semi-quantitativos foram obtidos. Finalmente, as

bioimagens de distribuição de Pb nos talos foram construídas utilizando-se o programa computacional Origin Pro8 (Northampton, MA, EUA). As bioimagens (vide Figuras 4.4b e 4.4d) demonstraram claramente uma maior concentração de Pb na região medular dos talos de líquens. Além disso, também é evidente a maior concentração de Pb na *medulla* dos líquens do ponto contaminado (de 0,06 a 21 mg/kg) quando comparado com o ponto controle (de 0,003 (LOD) a 3 mg/kg). Desta forma, o elemento Pb possui uma afinidade maior pela região da *medulla* que compreende a estrutura anatômica entre o *outer cortex* e o rígido *central cord*. A porção medular é o local onde a camada de alga e fungo coexistem no líquen.¹²⁹ Está bem documentado na literatura a alta tolerância exibida por líquens contra elevadas concentrações de elementos potencialmente tóxicos, conforme anteriormente discutido.¹³⁰ Alguns metabólitos secundários produzidos por tais organismos como oxalatos, fosfatos orgânicos, ácidos liquênicos e pigmentos de melanina são capazes de formar complexos estáveis com metais.¹³⁰⁻¹³³ Tais reações de complexação ocorrem exatamente onde os organismos simbiotes se localizam no líquen, ou seja, na sua porção medular.

A capacidade da técnica LA-ICP-MS em gerar imagens de distribuição de elementos tem sido amplamente explorada em várias amostras como: plantas¹³⁴⁻¹³⁷, tecidos animais^{122,138-139} além de diversos outros tipos de amostras.¹⁴⁰⁻¹⁴¹ Todavia, este é o primeiro estudo em que se utilizou a LA-ICP-MS para a construção de bioimagens de amostras de líquens.

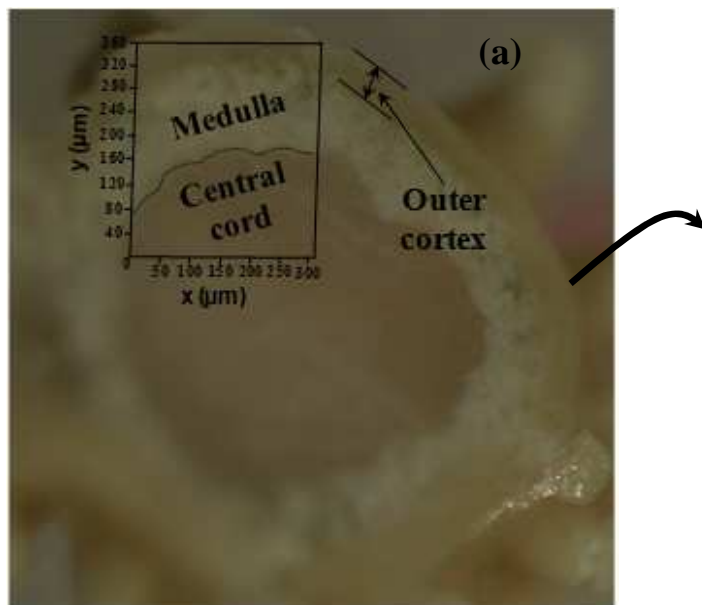
Um método alternativo para permitir a rápida discriminação entre amostras de líquens controle e contaminadas foi também avaliado. Para tal objetivo, um talo de líquen de cada um dos diferentes pontos de coleta (P1 e P5) foi selecionado e em cada um dos mesmos foram marcadas três linhas de aproximadamente 700 µm ao longo de toda a seção transversal do material (vide Figuras 5.4a e 5.4b). Para a amostragem nestas áreas selecionadas, os parâmetros operacionais do LA-ICP-MS foram os mesmos utilizados para a construção das bioimagens, conforme anteriormente descrito. Os dados semi-quantitativos gerados com tal procedimento estão mostrados no gráfico da Figura 5.4c. Esta é também uma demonstração inequívoca dos maiores teores de Pb sistematicamente presentes na região da *medulla* dos líquens. Além disso, com esta estratégia, torna-se mais fácil discernir entre amostras controle e potencialmente contaminadas pelo elemento

em estudo. Tal método configura-se como uma ferramenta adequada para o diagnóstico expedito da concentração de Pb em líquens com praticamente nenhum preparo de amostra e mínima quantidade requerida da mesma.

Amostras de Líquens

Seção transversal de talo de líquen do ponto controle

(P1)



Perfil de distribuição de Pb

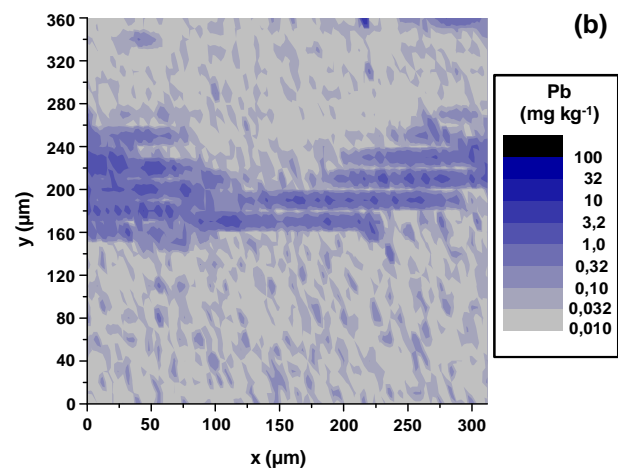


Figura 4.4 – Distribuição espacial de Pb (dados semi-quantitativos) em seções transversais de talos de líquens de pontos controle e contaminados

Seção transversal de talo de líquen do ponto
contaminado (P5)

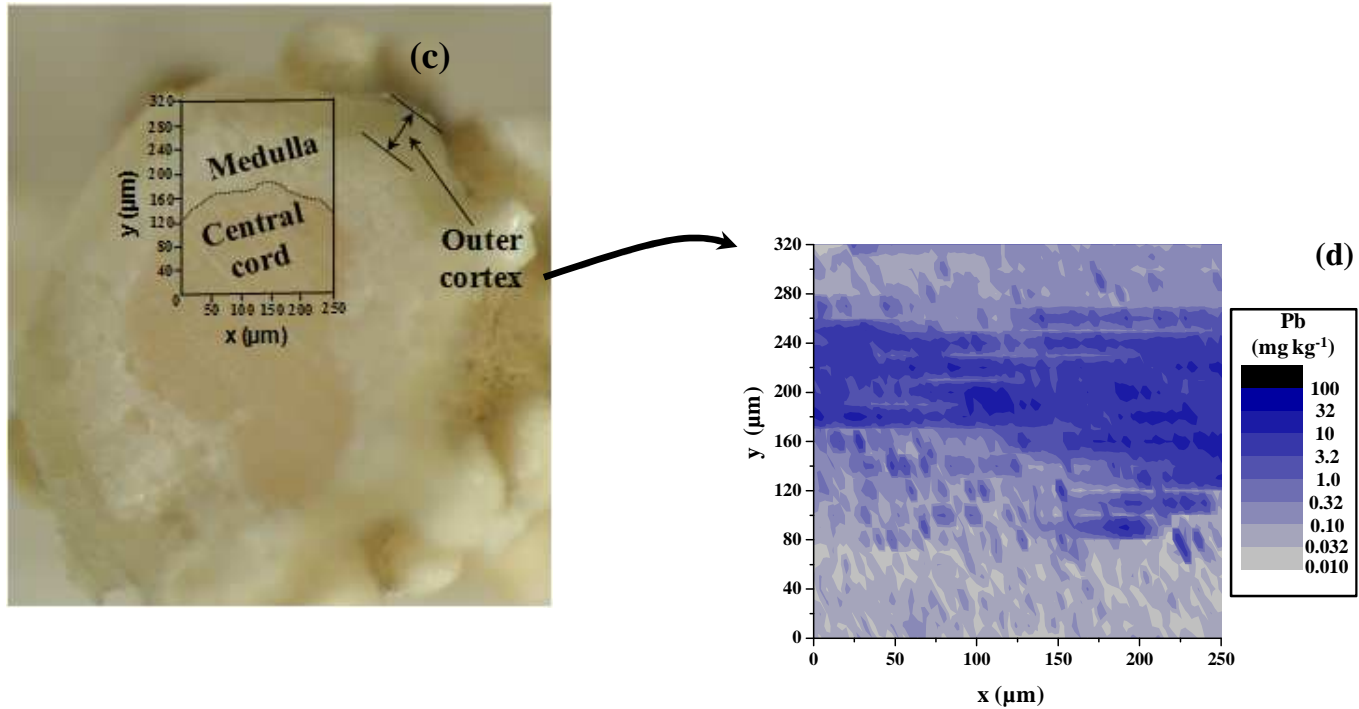


Figura 4.4 (continuação) – Distribuição espacial de Pb (dados semi-quantitativos) em seções transversais de talos de líquens de pontos controle e contaminados

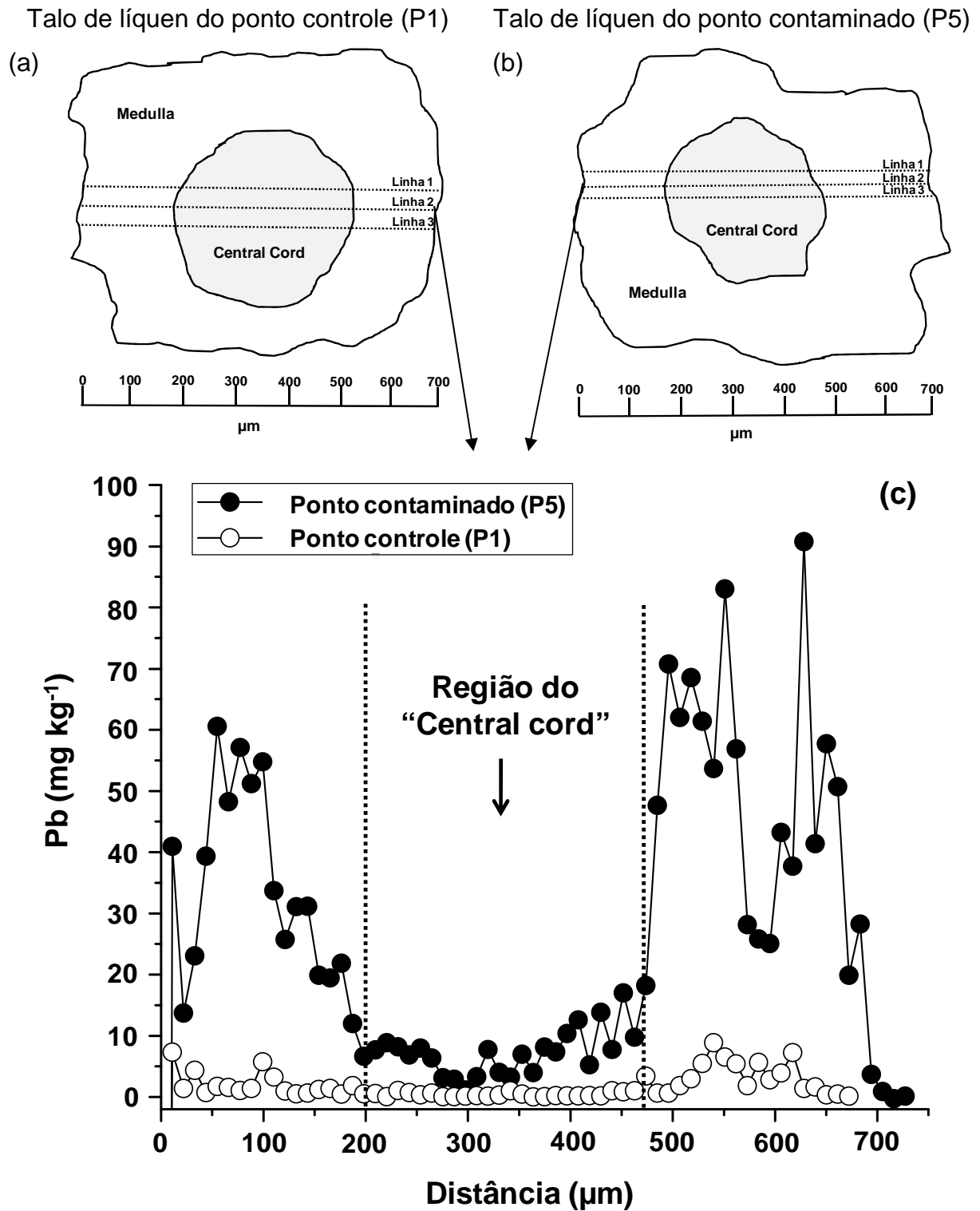


Figura 5.4 – Perfil de distribuição de Pb (dados semi-quantitativos) ao longo da seção transversal dos talos de líquens de pontos controle e contaminados

28) Conclusões e perspectivas

Foram observadas diferenças significativas nas concentrações de Pb nas amostras de líquen do ponto controle ($1,12 \pm 0,05 \text{ mg kg}^{-1}$) e nos pontos impactados ($5,03 \pm 0,57 \text{ mg kg}^{-1}$ em média), o que permite qualificar tais organismos como bons biomonitores.

Possíveis fontes de contaminação de Pb na área em estudo podem ser devido à queima de combustíveis fósseis e de resíduos sólidos, assim como partículas finas de solo contaminado por este elemento em suspensão no ar.

O uso da LA-ICP-MS se apresenta como uma potencial ferramenta analítica para estimar o teor de Pb em amostras de líquens. A mínima quantidade de amostra requerida (poucos μg), a elevada frequência analítica (cerca de 80 amostras diariamente) além da minimização da geração de rejeitos tóxicos são significativas vantagens analíticas do método proposto.

A porção medular dos talos de líquens é a principal região do organismo na qual o Pb proveniente da atmosfera se acumula. Dessa forma, pode-se concluir que esta é a melhor estrutura para ser selecionada e analisada por LA-ICP-MS em estudos de monitoramento ambiental usando líquens como biomonitores. O método proposto se configura como uma nova estratégia analítica em estudos de biomonitoramento ambiental usando líquens.

29) Conclusões gerais

As estações de pesquisa da Ilha Rei George (Artigas, Bellingshausen, Escudero, Ferraz, Frei e Great Wall) além da estação Esperanza (na Baía Esperança) impactam o ambiente do seu entorno pela deposição de metais potencialmente tóxicos, notadamente Cr, Pb e Zn. As fontes de contaminação estão relacionadas ao uso de tintas anti-corrosivas (Cr) e devido à queima de óleo diesel (Pb e Zn). Para a identificação de locais potencialmente contaminados no entorno destas estações, o biomonitoramento ambiental utilizando-se líquens é uma estratégia importante, sobretudo quando se utiliza a técnica LA-ICP-MS requerendo quantidades mínimas de amostra e gerando menor volume de resíduos tóxicos. Além disso, o método proposto para a extração de metais em solos com água régia também se configura em uma contribuição analítica no sentido de gerar menos efluentes e produzir dados de forma mais rápida e simples.

Referências Bibliográficas

1. BARGAGLI, R. "Environmental contamination in Antarctic ecosystems". *Sci Total Environ.* **400**(1-3): 212, 2008.
2. DINGWALL, P.R., *Antarctica in the environmental era.* 1998, Wellington, New Zealand: Department of Conservation.
3. TIN, T.; FLEMING, Z.L.; HUGHES, K.A.; AINLEY, D.G.; CONVEY, P.; MORENO, C.A.; PFEIFFER, S.; SCOTT, J. & SNAPE, I. "Impacts of local human activities on the Antarctic environment". *Antarct Sci.* **21**(1): 3, 2009.
4. SIMAS, F.N.B., *Solos da Baía do Almirantado, Antártica Marítima: Gênese, Mineralogia, Classificação e Biogeoquímica*, in *Departamento de Solos.* 2006, Universidade Federal de Viçosa: Viçosa. p. 153.
5. SCHAEFER, C.E.G.R., DIAS, L.E., ALBUQUERQUE, M.A., FRANCELINO, M.R., COSTA, L.M., RIBEIRO JR., E.S., *Monitoramento Ambiental e Avaliação dos Impactos nos Ecossistemas Terrestres da Antártica Marítima: Princípios e Aplicação* in *Ecossistemas Costeiros e Monitoramento Ambiental da Antártica Marítima. Baía do Almirantado, Ilha Rei George*, SCHAEFER C.E., FRANCELINO M.R., SIMAS F.N.B., ALBUQUERQUE-FILHO M.R., Editor. 2004, NEPUT: Viçosa.
6. SCOLLER, R.C.; SNAPE, I.; STARK, J.S. & GORE, D.B. "Evaluation of geochemical methods for discrimination of metal contamination in Antarctic marine sediments: A case study from Casey Station". *Chemosphere.* **65**(2): 294, 2006.
7. SHEPPARD, D.S.; CLARIDGE, G.G.C. & CAMPBELL, I.B. "Metal contamination of soils at Scott Base, Antarctica". *Appl Geochem.* **15**(4): 513, 2000.
8. CROCKETT, A.B. "Background levels of metals in soils, McMurdo Station, Antarctica". *Environ Monit Assess.* **50**(3): 289, 1998.
9. CHAPARRO, M.A.E.; NUNEZ, H.; LIRIO, J.M.; GOGORZA, C.S.G. & SINITO, A.M. "Magnetic screening and heavy metal pollution studies in soils from Marambio Station, Antarctica". *Antarct Sci.* **19**(3): 379, 2007.
10. SANTOS, I.R.; SILVA, E.V.; SCHAEFER, C.E.G.R.; ALBUQUERQUE, M.R. & CAMPOS, L.S. "Heavy metal contamination in coastal sediments and soils near the Brazilian Antarctic Station, King George Island". *Mar Pollut Bull.* **50**(2): 185, 2005.
11. STARK, S.C.; SNAPE, I.; GRAHAM, N.J.; BRENNAN, J.C. & GORE, D.B. "Assessment of metal contamination using X-ray fluorescence spectrometry and the toxicity characteristic leaching procedure (TCLP) during remediation of a waste disposal site in Antarctica". *J Environ Monitor.* **10**(1): 60, 2008.
12. TOWNSEND, A.T. & SNAPE, I. "The use of Pb isotope ratios determined by magnetic sector ICP-MS for tracing Pb pollution in marine sediments near Casey Station, East Antarctica". *J Anal Atom Spectrom.* **17**(8): 922, 2002.
13. CUNNINGHAM, L.; STARK, J.S.; SNAPE, I.; MCMINN, A. & RIDDLE, M.J. "Effects of metal and petroleum hydrocarbon contamination on benthic diatom communities near Casey Station, Antarctica: An experimental approach". *J Phycol.* **39**(3): 490, 2003.
14. CUNNINGHAM, L.; RAYMOND, B.; SNAPE, I. & RIDDLE, M.J. "Benthic diatom communities as indicators of anthropogenic metal contamination at Casey Station, Antarctica". *J Paleolimnol.* **33**(4): 499, 2005.

15. STARK, J.S.; SNAPE, I.; RIDDLE, M.J. & STARK, S.C. "Constraints on spatial variability in soft-sediment communities affected by contamination from an Antarctic waste disposal site". *Mar Pollut Bull.* **50**(3): 276, 2005.
16. PALMER, A.S.; SNAPE, I.; STARK, J.S.; JOHNSTONE, G.J. & TOWNSEND, A.T. "Baseline metal concentrations in *Paramoera walkeri* from East Antarctica". *Mar Pollut Bull.* **52**(11): 1441, 2006.
17. RUNCIE, J.W. & RIDDLE, M.J. "Metal concentrations in macroalgae from East Antarctica". *Mar Pollut Bull.* **49**(11-12): 1114, 2004.
18. FEDELE, L.; PLANT, J.A.; DE VIVO, B. & LIMA, A. "The rare earth element distribution over Europe: geogenic and anthropogenic sources". *Geochem-Explor Env A.* **8**: 3, 2008.
19. RUNCIE, J.W.; TOWNSEND, A.T. & SEEN, A.J. "The application of lead isotope ratios in the Antarctic macroalga *Iridaea cordata* as a contaminant monitoring tool". *Mar Pollut Bull.* **58**(7): 961, 2009.
20. WOINARSKI, A.Z.; SNAPE, I.; STEVENS, G.W. & STARK, S.C. "The effects of cold temperature on copper ion exchange by natural zeolite for use in a permeable reactive barrier in Antarctica". *Cold Reg Sci Technol.* **37**(2): 159, 2003.
21. SUN, L. & XIE, Z. "Changes in lead concentration in Antarctic penguin droppings during the past 3,000 years". *Environ Geol.* **40**(10): 1205, 2001.
22. XIE, Z. & SUN, L. "A 1,800-year record of arsenic concentration in the penguin dropping sediment, Antarctic". *Environ Geol.* **55**(5): 1055, 2008.
23. OLECH, M.; KWIATEK, W.M. & DUTKIEWICZ, E.M. "Lead pollution in the Antarctic region". *X-Ray Spectrom.* **27**(4): 232, 1998.
24. YIN, X.; XIA, L.; SUN, L.; LUO, H. & WANG, Y. "Animal excrement: A potential biomonitor of heavy metal contamination in the marine environment". *Sci Total Environ.* **399**(1-3): 179, 2008.
25. AHN, I.Y.; LEE, S.H.; KIM, K.T.; SHIM, J.H. & KIM, D.Y. "Baseline heavy metal concentrations in the Antarctic clam, *Laternula elliptica* in Maxwell Bay, King George Island, Antarctica". *Mar Pollut Bull.* **32**(8-9): 592, 1996.
26. OTTO, M., *Chemometrics*. Second ed. 2007, Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. 328.
27. DOS SANTOS, I.R.; SILVA, E.V.; SCHAEFER, C.; SELLA, S.M.; SILVA, C.A.; GOMES, V.; PASSOS, M.J.D.A.C.R. & NGAN, P.V. "Baseline mercury and zinc concentrations in terrestrial and coastal organisms of Admiralty Bay, Antarctica". *Environ Pollut.* **140**(2): 304, 2006.
28. GIORDANO, R.; LOMBARDI, G.; CIARALLI, L.; BECCALONI, E.; SEPE, A.; CIPROTTI, M. & COSTANTINI, S. "Major and trace elements in sediments from Terra Nova Bay, Antarctica". *Sci Total Environ.* **227**(1): 29, 1999.
29. WEBSTER, J.; WEBSTER, K.; NELSON, P. & WATERHOUSE, E. "The behaviour of residual contaminants at a former station site, Antarctica". *Environ Pollut.* **123**(2): 163, 2003.
30. EVANS, C.W.; HILLS, J.M. & DICKSON, J.M.J. "Heavy metal pollution in Antarctica: a molecular ecotoxicological approach to exposure assessment". *J Fish Biol.* **57**: 8, 2000.
31. NEGRI, A.; BURNS, K.; BOYLE, S.; BRINKMAN, D. & WEBSTER, N. "Contamination in sediments, bivalves and sponges of McMurdo Sound, Antarctica". *Environ Pollut.* **143**(3): 456, 2006.
32. CHEN, M. & MA, L.Q. "Comparison of three aqua regia digestion methods for twenty Florida soils". *Soil Sci Soc Am J.* **65**(2): 491, 2001.

33. *German standard methods for the examination of water, waste water and sludge, sludge and sediment (Group S), Digestion using aqua regia for the subsequent determination of the acid-soluble portion of metals (S7)*. in *DIN 38 414 Part 7*. 1983.
34. ŠČANČAR, J.; MILAČIČ, R.; STRAŽAR, M. & BURICA, O. "Total metal concentrations and partitioning of Cd, Cr, Cu, Fe, Ni and Zn in sewage sludge". *Sci Total Environ.* **250**(1-3): 9, 2000.
35. LINDSAY, W.L. & NORVELL, W.A. "Development of a DTPA Soil Test for Zinc, Iron, Manganese, and Copper". *Soil Sci Soc Am J.* **42**(3): 421, 1978.
36. GÁSPÁR, A. & BERNDT, H. "Thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) - a simple method for trace element determination with microsamples in the µg/L concentration range". *Spectrochim Acta B.* **55**(6): 587, 2000.
37. PEREIRA-FILHO, E.R.; BERNDT, H. & ARRUDA, M.A.Z. "Simultaneous sample digestion and determination of Cd, Cu and Pb in biological samples using thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) with slurry sample introduction". *J Anal Atom Spectrom.* **17**(10): 1308, 2002.
38. MIRANDA, K.; BUENO, M.I.M.S. & PEREIRA, E.R. "Relevant information of concomitants obtained from background signal using thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) and chemometric tools". *J Anal Atom Spectrom.* **24**(3): 304, 2009.
39. SOUZA, S.N.P.; FADINI, P.S. & PEREIRA-FILHO, E.R. "Cd and Pb determination: Evaluation of sediments from Jundiá and Piraí streams and sludge from a wastewater treatment plant". *Quim Nova.* **32**(9): 2367, 2009.
40. WATLING, R.J. "Use of a Slotted Quartz Tube for Analysis of Trace-Metals in Fresh-Water". *Water SA.* **3**(4): 218, 1977.
41. MATUSIEWICZ, H. "Atom trapping and in situ preconcentration techniques for flame atomic absorption spectrometry". *Spectrochim Acta B.* **52**(12): 1711, 1997.
42. CARTER, M.R.; GREGORICH, E.G. , *Soil Sampling and Methods of Analysis*. 2007, Boca Raton, Florida, USA: CRC Press.
43. VAN RAIJ, B.; ANDRADE, J.C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. , *Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais*. 2001, Campinas, São Paulo, Brasil: Instituto Agronômico de Campinas.
44. EMBRAPA, *Manual de métodos de análise de solo*. 1997, Rio de Janeiro, Brasil: Centro Nacional de Pesquisa de Solos.
45. LOSKA, K.; WIECHULA, D. & KORUS, I. "Metal contamination of farming soils affected by industry". *Environ Int.* **30**(2): 159, 2004.
46. SUTHERLAND, R.A. "Bed sediment-associated trace metals in an urban stream, Oahu, Hawaii". *Environ Geol.* **39**(6): 611, 2000.
47. RIBEIRO, A.P.; FIGUEIRA, R.C.L.; MARTINS, C.C.; SILVA, C.R.A.; FRANÇA, E.J.; BÍCEGO, M.C.; MAHIQUES, M.M. & MONTONE, R.C. "Arsenic and trace metal contents in sediment profiles from the Admiralty Bay, King George Island, Antarctica". *Mar Pollut Bull.* **62**(1): 192, 2011.
48. AMORIM, F.A.C.; WELZ, B.; COSTA, A.C.S.; LEPRIC, F.G.; VALE, M.G.R. & FERREIRA, S.L.C. "Determination of vanadium in petroleum and petroleum products using atomic spectrometric techniques". *Talanta.* **72**(2): 349, 2007.
49. POLEDNIOK, J. & BUHL, F. "Speciation of vanadium in soil". *Talanta.* **59**(1): 1, 2003.

50. YANG, H.; ROSE, N.L.; BOYLE, J.F. & BATTARBEE, R.W. "Storage and distribution of trace metals and spheroidal carbonaceous particles (SCPs) from atmospheric deposition in the catchment peats of Lochnagar, Scotland". *Environ Pollut.* **115**(2): 231, 2001.
51. CLARIDGE, G.G.; CAMPBELL, I.B.; POWELL, H.K.; AMIN, Z.H. & BALKS, M.R. "Heavy Metal Contamination in Some Soils of the McMurdo Sound Region, Antarctica". *Antarct Sci.* **7**(1): 9, 1995.
52. CACCIA, V.G.; MILLERO, F.J. & PALANQUES, A. "The distribution of trace metals in Florida Bay sediments". *Mar Pollut Bull.* **46**(11): 1420, 2003.
53. KOTÁŠ, J. & STASICKA, Z. "Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation". *Environ Pollut.* **107**(3): 263, 2000.
54. ANJU, M. & BANERJEE, D.K. "Comparison of two sequential extraction procedures for heavy metal partitioning in mine tailings". *Chemosphere.* **78**(11): 1393, 2010.
55. MMA, *Resolução CONAMA 420/2009 - "Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas."* 2009: Brasília-DF. p. 81
56. SHI, G.; CHEN, Z.; XU, S.; ZHANG, J.; WANG, L.; BI, C. & TENG, J. "Potentially toxic metal contamination of urban soils and roadside dust in Shanghai, China". *Environ Pollut.* **156**(2): 251, 2008.
57. THUY, H.T.T.; TOBSCHALL, H.J. & AN, P.V. "Distribution of heavy metals in urban soils - a case study of Danang-Hoian Area (Vietnam)". *Environ Geol.* **39**(6): 603, 2000.
58. DEFRA, *Department for Environment, Food and Rural Affairs and Environment Agency. Soil Guideline Values for Cadmium, Chromium, Nickel and Lead Contamination.* 2002: Almondsbury, Bristol.
59. DU LAING, G.; RINKLEBE, J.; VANDECASTEELE, B.; MEERS, E. & TACK, F.M.G. "Trace metal behaviour in estuarine and riverine floodplain soils and sediments: A review". *Sci Total Environ.* **407**(13): 3972, 2009.
60. SIMAS, F.N.B.; SCHAEFER, C.E.G.R.; MELO, V.F.; GUERRA, M.B.B.; SAUNDERS, M. & GILKES, R.J. "Clay-sized minerals in permafrost-affected soils (Cryosols) from King George Island, Antarctica". *Clay Clay Miner.* **54**(6): 721, 2006.
61. CUEVAS, J.; LEGUEY, S.; GARRALÓN, A.; RASTRERO, M.R.; PROCOPIO, J.R.; SEVILLA, M.T.; JIMÉNEZ, N.S.; ABAD, R.R. & GARRIDO, A. "Behavior of kaolinite and illite-based clays as landfill barriers". *Appl Clay Sci.* **42**(3-4): 497, 2009.
62. DU, Y.J. & HAYASHI, S. "A study on sorption properties of Cd²⁺ on Ariake clay for evaluating its potential use as a landfill barrier material". *Appl Clay Sci.* **32**(1-2): 14, 2006.
63. GEMPERLINE, P., *Practical Guide to Chemometrics.* Second ed. 2006, Boca Raton, FL: Taylor & Francis 541.
64. BRO, R. "PARAFAC. Tutorial and applications". *Chemometr Intell Lab.* **38**(2): 149, 1997.
65. TESSIER, A.; CAMPBELL, P.G.C. & BISSON, M. "Sequential Extraction Procedure for the Speciation of Particulate Trace Metals". *Anal Chem.* **51**(7): 844, 1979.

66. MISHRA, V.K.; KIM, K.H.; HONG, S. & LEE, K. "Aerosol composition and its sources at the King Sejong Station, Antarctic Peninsula". *Atmos Environ.* **38**(24): 4069, 2004.
67. SCALENGHE, R. & FERRARIS, S. "The First Forty Years of a Technosol". *Pedosphere.* **19**(1): 40, 2009.
68. WRB, *World Reference Base for Soil Resources 2006. A framework for international classification, correlation and communication.* 2006: Rome.
69. ROSSITER, D.G. "Classification of urban and industrial soils in the World Reference Base for Soil Resources". *J Soil Sediment.* **7**(2): 96, 2007.
70. YAO, F.X.; MACÍAS, F.; VIRGEL, S.; BLANCO, F.; JIANG, X. & ARBESTAIN, M.C. "Chemical changes in heavy metals in the leachates from Technosols". *Chemosphere.* **77**(1): 29, 2009.
71. HARTLEY, W.; UFFINDELL, L.; PLUMB, A.; RAWLINSON, H.A.; PUTWAIN, P. & DICKINSON, N.M. "Assessing biological indicators for remediated anthropogenic urban soils". *Sci Total Environ.* **405**(1-3): 358, 2008.
72. HATTERSLEY-SMITH, M.A.G., *The history of place-names in the British Antarctic Territory in British Antarctic Survey, Scientific Reports.* 1991.
73. WOEHLE, E.J. & PONCET, S. *The distribution and abundance of Antarctic and Subantarctic penguins,* SUBCOMMITTEE, Scientific Committee on Antarctic Research, Editor. 1993: Cambridge.
74. SIMAS, F.N.B.; SCHAEFER, C.E.G.R.; MELO, V.F.; ALBUQUERQUE-FILHO, M.R.; MICHEL, R.F.M.; PEREIRA, V.V.; GOMES, M.R.M. & DA COSTA, L.M. "Ornithogenic cryosols from Maritime Antarctica: Phosphatization as a soil forming process". *Geoderma.* **138**(3-4): 191, 2007.
75. TATUR, A. "Ornithogenic soils of the Maritime Antarctic". *Pol Polar Res.* **4**: 481, 1989.
76. RAO, C.R.M.; SAHUQUILLO, A. & SANCHEZ, J.F.L. "A review of the different methods applied in environmental geochemistry for single and sequential extraction of trace elements in soils and related materials". *Water Air Soil Poll.* **189**(1-4): 291, 2008.
77. GUPTA, S.K.; VOLLMER, M.K. & KREBS, R. "The importance of mobile, mobilisable and pseudo total heavy metal fractions in soil for three-level risk assessment and risk management". *Sci Total Environ.* **178**(1-3): 11, 1996.
78. YAROSHEVSKY, A.A. "Abundances of chemical elements in the Earth's crust". *Geochem Int.* **44**(1): 48, 2006.
79. REIMANN, C. & DE CARITAT, P. "Intrinsic flaws of element enrichment factors (EFs) in environmental geochemistry". *Environ Sci Technol.* **34**(24): 5084, 2000.
80. PÉREZ, X.L.O. "Effects of nesting yellow-legged gulls (*Larus cachinnans* Pallas) on the heavy metal content of soils in the Cies islands (Galicia, north-west Spain)". *Mar Pollut Bull.* **36**(4): 267, 1998.
81. HEADLEY, A.D. "Heavy metal concentrations in peat profiles from the high Arctic". *Sci Total Environ.* **177**: 105, 1996.
82. ANCORA, S.; VOLPI, V.; OLMASTRONI, S.; FOCARDI, S. & LEONZIO, C. "Assumption and elimination of trace elements in Adélie penguins from Antarctica: a preliminary study". *Mar Environ Res.* **54**(3-5): 341, 2002.
83. BOULARBAH, A.; SCHWARTZ, C.; BITTON, G. & MOREL, J.L. "Heavy metal contamination from mining sites in South Morocco: 1. Use of a biotest to assess metal toxicity of tailings and soils". *Chemosphere.* **63**(5): 802, 2006.

84. TANG, X.; SHEN, C.; SHI, D.; CHEEMA, S.A.; KHAN, M.I.; ZHANG, C. & CHEN, Y. "Heavy metal and persistent organic compound contamination in soil from Wenling: An emerging e-waste recycling city in Taizhou area, China". *J Hazard Mater.* **173**(1-3): 653, 2010.
85. STAFILOV, T.; ŠAJN, R.; PANČEVSKI, Z.; BOEV, B.; FRONTASYEVA, M.V. & STRELKOVA, L.P. "Heavy metal contamination of topsoils around a lead and zinc smelter in the Republic of Macedonia". *J Hazard Mater.* **175**(1-3): 896, 2010.
86. EPA, *Environmental Protection Authority. Classification and management of contaminated soils for disposal in Information Bulletin 105.* 2009: Hobart, Tasmânia, Austrália.
87. PAPAFILIPPAKI, A.; GASPARATOS, D.; HAIDOUTI, C. & STAVROULAKIS, G. "Total and bioavailable forms of Cu, Zn, Pb and Cr in agricultural soils: A study from the hydrological basin of Keritis, Chania, Greece". *Global Nest J.* **9**(3): 201, 2007.
88. ANDREU, V. & GIMENO-GARCÍA, E. "Evolution of heavy metals in marsh areas under rice farming". *Environ Pollut.* **104**(2): 271, 1999.
89. FERREIRA, S.L.C.; DOS SANTOS, W.N.L.; QUINTELLA, C.M.; NETO, B.B. & BOSQUE-SENDRA, J.M. "Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry - review". *Talanta.* **63**(4): 1061, 2004.
90. CONTI, M.E. & CECCHETTI, G. "Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment - a review". *Environ Pollut.* **114**(3): 471, 2001.
91. HAWKSWORTH, D.L. "Lichens as Litmus for Air Pollution - Historical Review". *Int J Environ Stud.* **1**(4): 28, 1971.
92. HAWKSWORTH, D. L.; ITURRIAGA, T. & CRESPO, A. "Líquenes como bioindicadores inmediatos de contaminación y cambios medio-ambientales en los trópicos". *Rev. Iberoam. Micol.* **22**: 71, 2005.
93. BAČKOR, M. & LOPPI, S. "Interactions of lichens with heavy metals". *Biol Plantarum.* **53**(2): 214, 2009.
94. PURVIS, O.W. "The Occurrence of Copper Oxalate in Lichens Growing on Copper Sulphide-Bearing Rocks in Scandinavia". *Lichenologist.* **16**: 197, 1984.
95. PURVIS, O.W.; BENNETT, J.P. & SPRATT, J. "Copper localization, elemental content, and thallus colour in the copper hyperaccumulator lichen *Lecanora sierrae* from California". *Lichenologist.* **43**: 165, 2011.
96. PAWLIK-SKOWROŃSKA, B.; PURVIS, O.W.; PIRSZEL, J. & SKOWROŃSKI, T. "Cellular mechanisms of Cu-tolerance in the epilithic lichen *Lecanora polytropa* growing at a copper mine". *Lichenologist.* **38**: 267, 2006.
97. GODINHO, R.M.; FREITAS, M.C. & WOLTERBEEK, H.T. "Assessment of lichen vitality during a transplantation experiment to a polluted site". *J Atmos Chem.* **49**(1-3): 355, 2004.
98. GONZALEZ, C.M. & PIGNATA, M.L. "Chemical response of transplanted lichen *Canomaculina pilosa* to different emission sources of air pollutants". *Environ Pollut.* **110**(2): 235, 2000.
99. MENDIL, D.; ÇELIK, F.; TUZEN, M. & SOYLAK, M. "Assessment of trace metal levels in some moss and lichen samples collected from near the motorway in Turkey". *J Hazard Mater.* **166**(2-3): 1344, 2009.
100. CONTI, M.E., TUDINO, M., STRIPEIKIS, J., CECCHETTI, G. "Heavy metal accumulation in the lichen *Evernia prunastri* transplanted at urban, rural and industrial sites in central Italy". *J Atmos Chem.* **49**: 83, 2004.

101. SCERBO, R.; RISTORI, T.; POSSENTI, L.; LAMPUGNANI, L.; BARALE, R. & BARGHIGIANI, C. "Lichen (*Xanthoria parietina*) biomonitoring of trace element contamination and air quality assessment in Pisa Province (Tuscany, Italy)". *Sci Total Environ.* **286**(1-3): 27, 2002.
102. NG, O.H.; TAN, B.C. & OBBARD, J.P. "Lichens as bioindicators of atmospheric heavy metal pollution in Singapore". *Environ Monit Assess.* **123**(1-3): 63, 2005.
103. PINO, A.; ALIMONTI, A.; BOTRÈ, F.; MINOIA, C.; BOCCA, B. & CONTI, M.E. "Determination of twenty-five elements in lichens by sector field inductively coupled plasma mass spectrometry and microwave-assisted acid digestion". *Rapid Commun Mass Sp.* **21**(12): 1900, 2007.
104. DI LELLA, L.A.; FRATI, L.; LOPPI, S.; PROTANO, G. & RICCOBONO, F. "Lichens as biomonitors of uranium and other trace elements in an area of Kosovo heavily shelled with depleted uranium rounds". *Atmos Environ.* **37**(38): 5445, 2003.
105. HATTENDORF, B.; LATKOCZY, C. & GÜNTHER, D. "Laser ablation-ICPMS.". *Anal Chem.* **75**(15): 341a, 2003.
106. BETTMER, J.; BAYÓN, M.M.; ENCINAR, J.R.; SÁNCHEZ, M.L.F.; DE LA CAMPA, M.D.F. & MEDEL, A.S. "The emerging role of ICP-MS in proteomic analysis". *J Proteomics.* **72**(6): 989, 2009.
107. HERAS, I.L.; PALOMO, M. & MADRID, Y. "Selenoproteins: the key factor in selenium essentiality. State of the art analytical techniques for selenoprotein studies". *Anal Bioanal Chem.* **400**(6): 1717, 2011.
108. JIMÉNEZ, M.S.; RODRIGUEZ, L.; GOMEZ, M.T. & CASTILLO, J.R. "Metal-protein binding losses in proteomic studies by PAGE-LA-ICP-MS". *Talanta.* **81**(1-2): 241, 2010.
109. CASTRO, W.; HOOGEWERFF, J.; LATKOCZY, C. & ALMIRALL, J.R. "Application of laser ablation (LA-ICP-SF-MS) for the elemental analysis of bone and teeth samples for discrimination purposes". *Forensic Sci Int.* **195**(1-3): 17, 2010.
110. BERENDS-MONTERO, S.; WIARDA, W.; DE JOODE, P. & VAN DER PEIJL, G. "Forensic analysis of float glass using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS): validation of a method". *J Anal Atom Spectrom.* **21**(11): 1185, 2006.
111. ARROYO, L.; TREJOS, T.; HOSICK, T.; MACHEMER, S.; ALMIRALL, J.R. & GARDINALI, P.R. "Analysis of Soils and Sediments by Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (LA-ICP-MS): An Innovative Tool for Environmental Forensics". *Environ Forensics.* **11**(4): 315, 2010.
112. DURRANT, S.F. & WARD, N.I. "Recent biological and environmental applications of laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS)". *J Anal Atom Spectrom.* **20**(9): 821, 2005.
113. ARROYO, L.; TREJOS, T.; GARDINALI, P.R. & ALMIRALL, J.R. "Optimization and validation of a Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry method for the routine analysis of soils and sediments". *Spectrochim Acta B.* **64**(1): 16, 2009.
114. BROWN, R.J.C.; JARVIS, K.E.; DISCH, B.A.; GODDARD, S.L. & BROWN, A.S. "Spatial inhomogeneity of metals in particulate matter on ambient air filters determined by LA-ICP-MS and comparison with acid digestion ICP-MS". *J Environ Monitor.* **11**(11): 2022, 2009.

115. CAMPBELL, I.H.; BALLARD, J.R.; PALIN, J.M.; ALLEN, C. & FAUNES, A. "U-Pb zircon geochronology of granitic rocks from the Chuquicamata-El Abra porphyry copper belt of northern Chile: Excimer laser ablation ICP-MS analysis". *Econ Geol.* **101**(7): 1327, 2006.
116. NEHRING, F.; JACOB, D.E.; BARTH, M.G. & FOLEY, S.F. "Laser-ablation ICP-MS analysis of siliceous rock glasses fused on an iridium strip heater using MgO dilution". *Microchim Acta.* **160**(1-2): 153, 2008.
117. LIU, Y.; HU, Z.; GAO, S.; GÜNTHER, D.; XU, J.; GAO, C. & CHEN, H. "In situ analysis of major and trace elements of anhydrous minerals by LA-ICP-MS without applying an internal standard". *Chem Geol.* **257**(1-2): 34, 2008.
118. GIUSSANI, B.; MONTICELLI, D. & RAMPAZZI, L. "Role of laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry in cultural heritage research: A review". *Anal Chim Acta.* **635**(1): 6, 2009.
119. BARTKUS, L.; AMARASIRIWARDENA, D.; ARRIAZA, B.; BELLIS, D. & YAÑEZ, J. "Exploring lead exposure in ancient Chilean mummies using a single strand of hair by laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry (LA-ICP-MS)". *Microchem J.* **98**(2): 267, 2011.
120. BYRNE, S.; AMARASIRIWARDENA, D.; BANDAK, B.; BARTKUS, L.; KANE, J.; JONES, J.; YAÑEZ, J.; ARRIAZA, B. & CORNEJO, L. "Were Chinchorros exposed to arsenic? Arsenic determination in Chinchorro mummies' hair by laser ablation inductively coupled plasma-mass spectrometry (LA-ICP-MS)". *Microchem J.* **94**(1): 28, 2010.
121. WAENTIG, L.; JAKUBOWSKI, N. & ROOS, P.H. "Multi-parametric analysis of cytochrome P450 expression in rat liver microsomes by LA-ICP-MS". *J Anal Atom Spectrom.* **26**(2): 310, 2011.
122. KANG, D.; AMARASIRIWARDENA, D. & GOODMAN, A.H. "Application of laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry (LA-ICP-MS) to investigate trace metal spatial distributions in human tooth enamel and dentine growth layers and pulp". *Anal Bioanal Chem.* **378**(6): 1608, 2004.
123. KUMTABTIM, U.; SIRIPINYANOND, A.; AURAY-BLAIS, C.; NTWARI, A. & BECKER, J.S. *Int J Mass Spectrom.* **in press**, 2011.
124. KYLANDER, M.E.; WEISS, D.J.; JEFFRIES, T.E.; KOBER, B.; DOLGOPOLOVA, A.; GARCIA-SANCHEZ, R. & COLES, B.J. "A rapid and reliable method for Pb isotopic analysis of peat and lichens by laser ablation-quadrupole-inductively coupled plasma-mass spectrometry for biomonitoring and sample screening". *Anal Chim Acta.* **582**(1): 116, 2007.
125. DOEHLERT, D.H. "Uniform Shell Designs". *Roy Stat Soc C-App.* **19**(3): 231, 1970.
126. OSYCZKA, P.; DUTKIEWICZ, E.M. & OLECH, M. "Trace elements concentrations in selected moss and lichen species collected within Antarctic research stations". *Pol J Ecol.* **55**(1): 39, 2007.
127. TEÓFILO, R.F. & FERREIRA, M.M.C. "Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial". *Química Nova.* **29**(2): 338, 2006.
128. BECKER, J.S. "Applications of inductively coupled plasma mass spectrometry and laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry in materials science". *Spectrochim Acta B.* **57**(12): 1805, 2002.
129. VALLADARES, F. & SANCHO, L.G. "Medullary Structure of the Umbilicariaceae". *Lichenologist.* **27**: 189, 1995.

130. PURVIS, O.W. & PAWLIK-SKOWORONSKA, B., *Chapter 12 Lichens and metals*, in *British Mycological Society Symposia Series*. 2008.
131. INGÓLFSDÓLTTIR, K. "Usnic acid". *Phytochemistry*. **61**: 729, 2002.
132. HAUCK, M.; JÜRGENS, S.R.; WILLENBRUCH, K.; HUNECK, S. & LEUSCHNER, C. "Dissociation and metal-binding characteristics of yellow lichen substances suggest a relationship with site preferences of lichens". *Ann Bot-London*. **103**(1): 13, 2009.
133. HAUCK, M.; JÜRGENS, S.R. & LEUSCHNER, C. "Effect of amino acid moieties on metal binding in pulvinic acid derivatives and ecological implications for lichens producing these compounds". *Bryologist*. **113**(1): 1, 2010.
134. KAISER, J.; GALIOVÁ, M.; NOVOTNÝ, K.; ČERVENKA, R.; REALE, L.; NOVOTNÝ, J.; LIŠKA, M.; SAMEK, O.; KANICKÝ, V.; HRDLIČKA, A.; STEJSKAL, K.; ADAM, V. & KIZEK, R. "Mapping of lead, magnesium and copper accumulation in plant tissues by laser-induced breakdown spectroscopy and laser-ablation inductively coupled plasma mass spectrometry". *Spectrochim Acta B*. **64**(1): 67, 2009.
135. BECKER, J.S.; DIETRICH, R.C.; MATUSCH, A.; POZEBON, D. & DRESSLER, V.L. "Quantitative images of metals in plant tissues measured by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry". *Spectrochim Acta B*. **63**(11): 1248, 2008.
136. WU, B.; ZORIY, M.; CHEN, Y. & BECKER, J.S. "Imaging of nutrient elements in the leaves of *Elsholtzia splendens* by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS)". *Talanta*. **78**(1): 132, 2009.
137. MORADI, A.B.; SWOBODA, S.; ROBINSON, B.; PROHASKA, T.; KAESTNER, A.; OSWALD, S.E.; WENZEL, W.W. & SCHULIN, R. "Mapping of nickel in root cross-sections of the hyperaccumulator plant *Berkheya coddii* using laser ablation ICP-MS". *Environ Exp Bot*. **69**(1): 24, 2010.
138. BECKER, J.S.; ZORIY, M.; MATUSCH, A.; WU, B.; SALBER, D.; PALM, C. & BECKER, J.S. "Bioimaging of Metals by Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (LA-ICP-MS)". *Mass Spectrom Rev*. **29**(1): 156, 2010.
139. SANTOS, M.C.; WAGNER, M.; WU, B.; SCHEIDER, J.; OEHLMANN, J.; CADORE, S. & BECKER, J.S. "Biomonitoring of metal contamination in a marine prosobranch snail (*Nassarius reticulatus*) by imaging laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS)". *Talanta*. **80**(2): 428, 2009.
140. WOODHEAD, J.D.; HELLSTROM, J.; HERGT, J.M.; GREIG, A. & MAAS, R. "Isotopic and elemental imaging of geological materials by laser ablation inductively coupled plasma-mass spectrometry". *Geostand Geoanal Res*. **31**(4): 331, 2007.
141. ZORIY, M.V.; MAYER, D. & BECKER, J.S. "Metal Imaging on Surface of Micro- and Nanoelectronic Devices by Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry and Possibility to Measure at Nanometer Range". *J Am Soc Mass Spectr*. **20**(5): 883, 2009.

ANEXOS

Anexo 1 – *German standard methods for the examination of water, wastewater and sludge, sludge and sediment (Group S), Digestion using aqua regia for the subsequent determination of the acid-soluble portion of metals (S7). in DIN 38 414 Part 7*

- Weigh approximately 3 g of material in a round bottom flask. (The material should be dried for 30 min at 105 °C and, following cooling in a desiccator, weighed to the nearest 0.01 g.)
- Add a little bidistilled water to obtain a slurry. Then mix with 21 mL of HCl (mass density 1.19) and 7 mL of HNO₃ (mass density 1.40).
- Add 10 mL of HNO₃ (0.5 mol L⁻¹) to the absorption vessel, connect the vessel to the reflux condenser and place both on top of the reaction flask.
- Allow to stand at room temperature for several hours (at least 12 h).
- Heat until boiling and continue to boil gently under reflux for 2 h. (The condensation zone should not rise above the lower third of the reflux condenser.)
- Allow to cool slowly to room temperature.
- Pass the content of the absorption vessel through the condenser tube into the reaction vessel, rinse both with HNO₃ (0.5 mol L⁻¹) and collect the HNO₃ in the reaction vessel.
- Transfer the content of the reaction vessel quantitatively to a 100 mL graduated flask. Rinse the reaction vessel with HNO₃ (0.5 mol L⁻¹) and transfer as well. Fill the graduated flask with bidistilled water up to the mark, close with stopper and shake.
- After the undissolved content has settled, the supernatant solution shall be used for the final determination of the elements.
- If the undissolved components settle too slowly or unsatisfactorily, then centrifuge or filter through a membrane filter with a pore size of 0.45 µm after filling the graduated flask up to the mark.

The reagents used should be of best purity. If necessary their purity should be checked by performing a blank test. Glassware should be thoroughly cleaned before use with hot HNO₃ (0.5 mol L⁻¹) and then rinsed with bidistilled water.

Anexo 2 – Resultados das amostras da Península Keller

Amostra	pH	Areia	Silte	Argila	COT	Cd	Cr	Cu	Mn	Ni	Pb	Zn	Cd	Pb	Cu	Mn	Zn	Cu	Mn	Zn	Cu	Mn	Zn
		% m m ⁻¹			g kg ⁻¹	Pseudototal (mg kg ⁻¹)							Bio* (mg kg ⁻¹)			F1 do PES (%)			F2 do PES (%)			F3 do PES (%)	
1	6,99	35	32	33	3,1	0,10	81	99	891	7,8	8,4	69	0,03	0,59	0	1	0	12	67	3	28	13	25
2A	6,94	86	6	8	1,6	0,00	216	14	204	5,2	34	43	0,01	6,1	0	8	0	7	16	15	52	16	24
2B	7,10	87	5	8	1,9	0,00	175	12	112	9,8	5	31	0,00	1,3	0	7	1	15	8	12	47	17	22
3A	7,21	89	6	4	2,8	0,07	300	35	421	9	52	174	0,02	9,3	0	6	10	20	14	52	38	11	11
3B	7,14	90	7	2	3,4	0,10	31	51	572	2,6	105	83	0,04	14	0	2	0	16	10	17	34	9	19
4A	7,01	80	10	9	9,3	0,09	263	61	756	36	78	91	0,03	27	0	4	0	18	20	18	38	11	22
4B	6,77	87	9	4	7,5	0,05	40	61	736	3,8	16	71	0,02	2,4	0	6	0	19	18	10	39	12	18
5A	6,71	98	1	1	0,9	0,00	229	57	643	22	7,6	56	0,01	0,89	0	2	0	21	9	9	34	9	16
5B	7,21	96	3	2	2,9	0,00	267	63	623	10	7,9	63	0,01	1,3	0	1	0	16	5	12	43	9	16
6	6,76	43	29	28	7,2	0,10	77	105	971	5,7	10	68	0,03	0,69	0	0	0	14	53	3	33	13	23
7A	6,75	86	10	4	6,4	0,05	100	66	980	25	16	72	0,02	0,7	0	2	0	18	41	5	35	10	16
7B	6,82	85	7	8	5,0	0,06	77	77	886	6	9,4	71	0,01	0,55	0	1	0	26	48	5	29	6	13
8A	7,07	94	3	3	2,0	0,00	52	67	776	16,8	8,9	71	0,01	1,0	0	1	0	18	14	6	35	7	14
8B	7,13	89	4	7	2,1	0,00	63	65	767	21	13	63	0,01	1,7	0	2	0	16	15	6	37	8	14
9A	6,16	44	25	31	4,0	0,12	54	95	945	8,9	8,2	91	0,04	0,04	5	14	1	16	43	4	26	10	11
9B	6,45	44	34	22	3,4	0,12	49	101	969	8,7	8,8	87	0,05	0,41	5	12	1	17	47	3	25	9	10
10A	6,39	48	26	26	5,9	0,08	31	113	1116	7,4	7,4	100	0,02	0,04	0	5	1	10	63	5	19	9	11
10B	6,30	40	31	29	6,4	0,09	29	105	1088	6,3	7,4	94	0,02	0,04	0	5	1	11	63	5	18	10	10
11A	5,92	60	20	20	13,4	0,00	42	104	931	8,1	6	92	0,03	0,04	4	39	1	9	39	3	30	9	12
11B	6,60	37	33	30	3,3	0,00	24	123	934	7,8	6,8	82	0,02	0,04	0	3	0	17	70	3	29	12	21
12A	5,34	93	5	1	17,2	0,00	32	88	959	5,7	8,3	104	0,01	0,4	0	10	0	0	35	2	17	21	8
12B	6,46	92	3	4	12,3	0,00	25	89	949	4,5	8,4	96	0,01	0,46	0	6	0	0	39	2	17	20	9
13A	4,91	50	22	28	6,1	0,00	15	132	539	5,5	6,7	83	0,01	0,04	3	8	0	6	27	2	19	9	8
13B	4,95	34	35	31	3,6	0,00	19	134	544	4,2	7,5	78	0,01	0,04	3	8	1	7	30	2	19	9	8
14A	6,30	57	20	23	7,8	0,00	261	42	707	13	5,9	81	0,01	0,59	7	6	2	4	4	2	41	9	9
14B	5,85	54	23	23	3,3	0,00	272	57	836	17	5,7	86	0,01	0,4	12	12	2	9	8	2	37	9	8
15A	6,45	50	29	21	10,9	0,00	57	84	893	12	8,3	85	0,04	0,63	4	17	1	7	23	2	42	10	11
15B	6,81	46	31	23	6,6	0,09	43	116	918	9,8	9,1	79	0,02	0,57	5	14	0	16	31	3	35	10	11

*Teores biodisponíveis – obtidos após extração com DTPA

Anexo 3 – Condições operacionais do ICPOES para a determinação da CTC

Parâmetros instrumentais	Condições operacionais
Rádio-frequência (MHz)	40
Diâmetro interno da tocha (mm)	2,3
Câmara de nebulização	Sturman-masters
Tipo de Nebulizador	Ranhura em “V”
Potência de rádio-frequência (kW)	1,20
Tempo de integração do sinal (s)	1,0
Vazão do gás do plasma (L min ⁻¹)	15,0
Vazão do gás auxiliar (L min ⁻¹)	1,50
Vazão do gás de nebulização (L min ⁻¹)	0,75
Vazão da amostra (mL min ⁻¹)	1,3