



Universidade do Porto

FEUP Faculdade de Engenharia

Departamento de Engenharia Química

Degradação do Benzo(a)Pireno em Matrizes Aquosas por Oxidação Química com Reagente de Fenton

Zélia Maria Maia Sousa Dias

(Licenciada em Engenharia Química - FEUP)

Dissertação submetida para satisfação parcial dos requisitos do grau de mestre em

Engenharia do Ambiente

(Ramo de Tratamento de Águas e Águas Residuais)

Dissertação realizada sob a supervisão de

Professora Doutora Arminda Alves

Professora Doutora Lúcia Santos

do Departamento de Engenharia Química

da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto

Porto, Março 2008

Agradecimentos

Às pessoas que trabalham no Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente e Energia (LEPAE) e no Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Engenharia Química da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto (DEQ-FEUP), pelos meios disponibilizados para a realização experimental deste trabalho.

À Carla Afonso e à Fátima Costa por todo o apoio, companheirismo e incentivo demonstrado para que meu trabalho na Segalab fosse assegurado, durante os meus períodos de ausência para realização deste trabalho.

A todas as pessoas que ajudaram a construir um bom ambiente de laboratório: Berta, Joana, Salomé e Elisabete.

À minha orientadora Professora Doutora Arminda Alves, bem como à Professora Doutora Lúcia Santos, que me proporcionaram todas as condições ao seu alcance para que pudesse concluir com êxito esta Tese de Mestrado.

À minha família, em especial à minha mãe, por me apoiarem e aconselharem durante todo o período de realização desta Tese, e sem os quais este trabalho teria sido impossível de realizar.

Ao meu namorado, Rui Andrade, por toda a compreensão, dedicação, e paciência demonstrada ao longo deste percurso.

Em especial à minha Avó a quem dedico esta Tese, pois sei que ficaria muito orgulhosa e feliz por ter concluído este trabalho.

Resumo

Os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos são considerados poluentes prioritários, devido às suas características tóxicas, cancerígenas e mutagénicas, tanto pela União Europeia (UE) como pela Agência de Protecção Ambiental (US - EPA). No entanto apenas 16 estão listados como compostos orgânicos prioritários, na qual o Benzo(a)Pireno (BaP) ocupa o 7º lugar. Portugal, a UE e a US - EPA têm vindo a impor limites legais para a descarga destes compostos nas diferentes matrizes ambientais (Ar, Água e Solo).

A sua origem no ambiente provem de fontes naturais (tais como combustão incompleta a temperatura elevada) e antropogénicas (tais como tráfego e produção de energia). Vários cientistas têm vindo a desenvolver processos para remover e/ou reduzir estes poluentes no ambiente.

Estão descritos na literatura processos de remoção de PAHs, em particular do BaP em diferentes matrizes ambientais, os quais podem ser, biodegradação, adsorção e tratamento físico químico tais como Processos de Oxidação Avançada.

Os processos de oxidação avançada podem ser considerados os mais apropriados para remover PAHs da água, no entanto alguns aspectos relacionados com a reactividade, mecanismo, cinética e produtos intermediários continuam pouco conhecidos.

O objectivo deste trabalho foi avaliar e otimizar a degradação do BaP com reagente Fenton (AOP).

Para tal foi necessário implementar e validar o método analítico para a quantificação do BaP. A quantificação do BaP foi feita em HPLC com detector de fluorescência (FID), pelo método do padrão externo com cinco padrões. Para avaliar a linearidade procedeu-se à representação gráfica da função ($\text{Área} = f(\text{concentração})$), juntamente com o cálculo e análise do coeficiente de correlação, da qual se obteve uma função linear na gama de concentrações 1 a 100 µg/L.

O limite de detecção obtido foi de 2,37 µg/L, a média da precisão intermédia variou entre 3,5 e 13,9% e a exactidão obtida pela média da percentagem de recuperação foi de 78,3%. Na ausência de resultados de ensaios interlaboratoriais procedeu-se à comparação do cálculo da estimativa da incerteza por dois conceitos (bottom-up/Eurochem and top-down modificado).

As experiências de degradação com reagente de Fenton foram realizadas numa instalação constituída por um reaktor de 260 ml e um banho termostatizado. Procedeu-se à optimização de quatro variáveis (pH, temperatura, concentração de Fe^{2+} e concentração de H_2O_2). Foi usada uma concentração inicial de BaP de 10 µg/L.

Os resultados da optimização obtidos foram: pH 3,5, temperatura 40 °C, concentração de ferro 3,75 mg/L e concentração de peróxido de hidrogénio de 50 mg/L.

Como oxidante químico, o reagente de Fenton mostrou ser um processo eficiente na degradação de 10 µg/L do BaP, verificou-se que 98,4% da concentração inicial do BaP era degradado ao fim de 15 minutos de reacção e ao fim de 40 minutos 99,2 %.

Os resultados obtidos neste trabalho mostraram que o reagente de Fenton, nas condições optimizadas pode ser aplicado no tratamento de BaP em matrizes aquosas com bons resultados de degradação. Este é um processo economicamente viável, de fácil implementação e eficiente.

Abstract

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons are considered priority pollutants, due to their toxicity, mutagenicity and carcinogenicity, by both European Union (EU) and the Agency of Environmental Protection (US - EPA). Although only 16 have been selected as organic priority pollutants, in the which Benzo(a)Pyrene (BaP) occupies the 7th place. There for Portugal, EU and US - EPA have been imposing legal limits for the waste water discharge and for their presence in drinking water.

Both natural (such as incomplete high temperature combustions) and antropogenic sources (such traffic or energy generation) account for their diffusion in the environment as a consequence of atmospheric transport, deposition and dispersion in the environment. Several scientists have been coming to develop processes of removing and/or to reduce these pollutants in different environmental samples (Air, Water and Soil).

PAHs and BaP removal processes for different environmental samples are described in the literature, this can include biodegradation, adsorption and physical-chemical such as advanced oxidation processes (AOP).

Advanced oxidation processes can be among the most appropriate technologies to remove PAHs from water, but some aspects related to reactivity, mechanism, kinetics and intermediates formed still remain unknown.

The aim of this work was to evaluated and finding optimum operating condition for the degradation of BaP with Fenton reagent (AOP).

Quantification of BaP was done by High Pressure Liquid chromatography (HPLC) with fluorescence detector (FID), by internal standard method using five concentrations level. The method showed a good linearity between 1 and 100 µg/L.

Detection limit of 2.37 µg/L, average intermediate precision of 3,5% and 13,9%, and average recovery of 78,3% were found. In the absence of available interlaboratory studies to

assess the reliability of the results, the uncertainty was calculated following two different approaches (bottom-up/Eurochem and modified top-down) and the results were compared.

Experiments with Fenton reagent were conducted in a cylindrical glass reactor with 260 mL, with the mixture being continuously stirred with a magnetic bar. Temperature was kept constant using a thermostatic bath. The effect of hydrogen peroxide concentration, iron concentration, pH and temperature has been investigated and optimized. The initial BaP concentration in aqueous samples was 10 µg/L.

The results of the optimization were: pH 3,5, temperature 40 °C, concentration of iron 3,75 mg/L and concentration of hydrogen peroxide 50 mg/L.

As a chemical oxidant, Fenton reagent was very efficient in the degradation of 10 µg/L BaP at optimum conditions; noticeably 98,4% of the initial BaP were degraded in 15 minutes and 99,2% until 40 minutes of reaction.

The results of this work indicate that Fenton reagent in the proposed conditions can be successfully applied to BaP contaminated aqueous samples. This process is economic, easy implementation and efficient.

Índice Geral

Resumo	i
Abstract	iii
Índice Geral	v
Índice de Tabelas	vii
Índice de Figuras	xii
Abreviaturas	xv

1. Introdução	1
1.1 Características Físico-Químicas do Benzo(a)Pireno	3
1.1.1. Presença do Benzo(a)Pireno no Meio Ambiente	5
1.1.2. Origem e Fontes Emissoras do Benzo(a)Pireno	8
1.1.3. Toxicidade do Benzo(a)Pireno	13
1.1.4. Efeitos do Benzo(a)Pireno na Saúde Pública	13
1.1.5. Legislação do Benzo(a)Pireno	17
1.2. Degradação do Benzo(a)Pireno	19
1.2.1. Degradação Biológica	19
1.2.2. Adsorção com Carvão Activado	28
1.2.3. Fotodegradação	29
1.2.4. Oxidação	30
1.2.5 Oxidação Avançada	33
1.2.5.1. Oxidação com Reagente de Fenton	39
1.2.6. Processos Combinados	54
1.2.6.1 Oxidação Química/Biodegradação	54

1.3. Metodologias Analíticas para Quantificação do Benzo(a)Pireno em Soluções Aquosas	57
2. Parte Experimental	63
2.1 Metodologia	63
2.2 Descrição do Método Analítico	63
2.3. Ensaio de Degradação com Reagente de Fenton	69
3. Resultados e Discussão	74
3.1. Validação do Método Analítico	74
3.1.1. Identificação do Benzo(a)Pireno	75
3.1.2. Linearidade e Limites de Detecção	79
3.1.3. Precisão do Método	81
3.1.4. Exactidão	82
3.1.5. Incerteza Global	84
3.2. Degradação do Benzo(a)Pireno com Reagente de Fenton	93
3.2.1. Optimização do pH	94
3.2.2. Optimização da Temperatura	95
3.2.3. Optimização da Concentração de Fe^{2+}	96
3.2.4. Optimização da Concentração de Peróxido de Hidrogénio	98
3.2.5. Degradação do Benzo(a)Pireno nas Condições Optimizadas	101
4. Conclusões e Sugestões para Trabalho Futuro	104
5. Bibliografia	107
Anexo A	125
Anexo B	127
Anexo C	135

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Propriedades Físico-Químicas do Benzo(a)Pireno (Faust, 1994; Santos, L., 2005).	4
Tabela 2 - Fontes de acumulação do BaP nos diferentes tipos de matrizes ambientais e possíveis processos naturais de degradação (US - EPA, 1995).	6
Tabela 3 - Concentrações do BaP encontradas em diferentes matrizes aquosas.	7
Tabela 4 - Principais fontes de produção do BaP.	9
Tabela 5 - Concentrações do BaP emitidas por diferentes tipos de fontes emissoras.	10
Tabela 6 - Padrões de qualidade de ar ambiental não obrigatórios para o BaP (Ravindra <i>et al.</i> , 2006).	11
Tabela 7 - Avaliação da emissão do BaP (ton/ano) na Europa no período de 1990 a 2001 (Ravindra <i>et al.</i> , 2006).	12
Tabela 8 - Concentração do BaP encontradas em alimentos.	14
Tabela 9 - Legislação aplicável ao BaP e PAHs.	18
Tabela 10 - Normas de Qualidade Ambiental (µg/L).	18
Tabela 11 - Lista de microrganismos que degradam PAHs (Cerniglia, 1992, 1997).	20
Tabela 12 - Metabólitos produzidos na degradação do BaP por diferentes bactérias (Mrozik <i>et al.</i> , 2002).	22
Tabela 13 - Degradação do Benzo(a)Pireno por bactérias (adaptado de Juhasz <i>et al.</i> , 2000).	23
Tabela 14 - Degradação do Benzo(a)Pireno por fungos (adaptado de Juhasz <i>et al.</i> , 2000).	25

Tabela 15 - Metabolitos produzidos da degradação do BaP por Fungos (adaptado de Cerniglia, C.E., 1997).	26
Tabela 16 - Biodegradação do BaP em solos.	28
Tabela 17 - Fracção residual de PAHs presente no solo com desvio padrão após tratamento com 160 mM de KMnO_4 ; factores de correlação linear da degradação (adaptado de Brown <i>et al.</i> , 2003).	31
Tabela 18 - Processos de Oxidação Avançada (adaptado de Metcalf & Eddy, 1991).	34
Tabela 19 - Contribuição da ozonização directa, fotólise e reacção com radicais no processo combinado O_3/UV para a oxidação do BaP (Ledakowicz <i>et al.</i> , 2001).	37
Tabela 20 - Dados experimentais, para oxidação de PAHs, por reagente de Fenton, presentes em solos, lamas e sedimentos (Flotron <i>et al.</i> , 2005).	48
Tabela 21 - Produtos encontrados ou identificados por GC/MS em amostras resultantes da oxidação de PAHs por reagente de Fenton (Beltrán <i>et al.</i> , 1997).	50
Tabela 22 - Comparação de diferentes processos de oxidação avançada relativamente ao reagente de Fenton na oxidação de PAHs em água (Beltrán <i>et al.</i> , 1997).	50
Tabela 23 - Degradação de PAHs por oxidação com reagente de Fenton em diferentes tipos de matrizes.	52
Tabela 24 - Vantagens e desvantagens dos vários processos de degradação aplicáveis à degradação do BaP.	56
Tabela 25 - Métodos analíticos, condições de funcionamento e resultados obtidos para análise de PAHs em matrizes aquosas.	58
Tabela 26 - Lista de Reagente usados na oxidação do BaP com Reagente de Fenton.	64
Tabela 27 - Preparação dos padrões do BaP em matriz aquosa a partir da solução mãe M_1 , para a realização da curva de calibração.	67

Tabela 28 - Padrões usados na optimização da oxidação com reagente de Fenton.	67
Tabela 29 - Condições de operação usadas para a quantificação do BaP no HPLC/FLD.	68
Tabela 30 - Apresentação das condições a que foram realizadas as experiências para optimização do pH.	71
Tabela 31 - Apresentação das condições a que foram realizadas as experiências de optimização da temperatura.	71
Tabela 32 - Apresentação das condições a que foram realizadas as experiências de optimização da concentração de Fe^{2+} .	72
Tabela 33 - Apresentação das condições a que foram realizadas as experiências de optimização da concentração de H_2O_2 .	73
Tabela 34 - Apresentação das condições a que foram realizadas as experiências de degradação do BaP.	73
Tabela 35 - Resultados do tratamento estatístico à recta de calibração do BaP.	80
Tabela 36 - Resultados da precisão intermédia de 3 padrões em 5 dias diferentes, para o BaP.	82
Tabela 37 - Resultados de ensaios de recuperação do BaP, em 5 dias diferentes.	83
Tabela 38 – Resultados de recuperação restantes do padrão de 100 $\mu\text{g/L}$ preparado com a solução resultante da degradação com o reagente de Fenton.	84
Tabela 39 - Incertezas associadas à medição de volumes com balões volumétricos e micropipetas, usados na preparação da solução mães M_1 e dos padrões do BaP, incerteza da solução mãe M_1 .	86
Tabela 40 - Incerteza relativa associada às concentrações dos padrões do BaP.	87
Tabela 41 - Incerteza relativa associada à curva de calibração, na análise do BaP.	88

Tabela 42 - Incertezas relativas associadas à precisão, na análise do BaP.	89
Tabela 43 - Incerteza associada à exactidão, na análise do BaP.	89
Tabela 44 - Incerteza global associada à análise do BaP e respectivos componentes da incerteza.	90
Tabela 45 - Resultados da optimização dos parâmetros para reagente de Fenton, na degradação de 10 µg/L do BaP.	100
Tabela 46 - Resultados da % de degradação do BaP para concentração inicial de 10 µg/L, nas condições óptima mencionadas na Tabela 44.	101
Tabela A1 - Sumário dos estudos do efeito do BaP em animais usando diferentes vias de administração (ATSDR, 2001).	126
Tabela B1 - Dados da construção da carta de controlo do padrão de 10 µg/L.	128
Tabela B2 - Dados da construção da carta de controlo do padrão de 100 µg/L.	129
Tabela B3 - Resultados da calibração analítica do BaP.	130
Tabela B4 - Resultados de Precisão do método analítico.	130
Tabela B5 - Resultados dos ensaios de Recuperação do BaP, em 5 dias diferentes.	131
Tabela B6 - Resultados dos ensaios de Recuperação do BaP após reacção com reagente de Fenton, em 3 dias diferentes.	133
Tabela B7 - Parâmetros necessários para o estudo da linearidade da resposta do HPLC e para o cálculo de incerteza da calibração.	134
Tabela C1 - Resultados da degradação do BaP na optimização do pH.	138
Tabela C2 - Resultados da degradação do BaP na optimização da temperatura.	139

Tabela C3 - Resultados da degradação do BaP na otimização da concentração de Fe^{2+} .	141
Tabela C4 - Resultados da degradação do BaP na otimização da concentração de H_2O_2 .	143
Tabela C5 - Resultados da degradação de diferentes concentrações BaP nas condições ótimas.	145

Índice de Figuras

Figura 1 – Fórmula da estrutura molecular do BaP.	3
Figura 2 – Movimento global do BaP no meio ambiente (adaptado de Cohen <i>et al.</i> , 2001).	5
Figura 3 – Formação do Benzo(a)Pireno.	8
Figura 4 – Evolução das emissões do BaP na Europa no período de 1990 a 2005 (Ravindra <i>et al.</i> , 2006).	11
Figura 5 – Metabolismo de activação do BaP (IARC, 1983).	16
Figura 6 – Diferentes percursos do metabolismo microbiano usados por bactérias, fungos e mamíferos na degradação do BaP (Ladislão <i>et al.</i> , 2004).	20
Figura 7 – Degradação de sete PAHs no solo com Fe-EDTA catalisado com persulfato (adaptado de Nadim <i>et al.</i> , 2005).	33
Figura 8 – Mecanismos de produção de radicais hidroxilo.	36
Figura 9 – Reacção de oxidação de PAHs.	36
Figura 10 - Comparação dos processos de degradação O ₃ , UV e O ₃ /UV, na oxidação do BaP, CHR e FLU (adaptado de Ledakowicz <i>et al.</i> , 2001).	37
Figura 11 – Efeito da concentração de ião Ferro na oxidação do Fluoreno em água, com reagente de Fenton, para concentração inicial de Fluoreno de $5,2 \cdot 10^{-6}$ M (adaptado de Beltrán <i>et al.</i> , 1997).	43
Figura 12 – Efeito da concentração de peróxido de hidrogénio na oxidação do Fluoreno com reagente de Fenton, para uma concentração inicial de Fluoreno de $5,2 \cdot 10^{-6}$ M (adaptado de Beltrán <i>et al.</i> , 1997).	44

Figura 13 – Variação da remoção de Fluoreno, Fenantreno e Acenofeno com o tempo durante a oxidação com Reagente de Fenton, com concentrações iniciais de: Fluoreno: $5,2 \cdot 10^{-6}$ M; Fenantreno: $2,5 \cdot 10^{-6}$ M; Acenafeno: $1,5 \cdot 10^{-5}$ M (adaptado de Beltrán <i>et al.</i> , 1997).	44
Figura 14 – Perfil típico de pH durante a reacção de Fenton.	46
Figura 15 – Efeito do pH na remoção de Fluoreno ao longo do tempo de oxidação com reagente de Fenton, para uma concentração inicial de Fluoreno de $5,2 \cdot 10^{-6}$ M (adaptado de Beltrán <i>et al.</i> , 1997).	47
Figura 16 - Efeito da concentração do reagente de Fenton no comportamento do BaP nas condições apresentadas na Tabela 20 (Flotron <i>et al.</i> , 2005).	49
Figura 17 – Equipamento de HPLC-FLD usado na quantificação do BaP em matrizes aquosas.	64
Figura 18 – Coluna usada na quantificação do BaP em matrizes aquosas.	65
Figura 19 – Esquema da instalação experimental.	65
Figura 20 - Instalação usada para a oxidação do BaP pelo reagente de Fenton em matrizes aquosas.	66
Figura 21 – Cromatograma correspondente ao padrão do BaP de $10 \mu\text{g/L}$ usado na construção da curva de calibração.	75
Figura 22 – Cromatograma correspondente ao padrão do BaP de $20 \mu\text{g/L}$ após oxidação com reagente de Fenton (amostra retirada 2 minutos após início da reacção de degradação).	76
Figura 23 - Carta de controlo do padrão diário do BaP de $10 \mu\text{g/L}$.	77
Figura 24 - Carta de controlo do padrão diário do BaP de $100 \mu\text{g/L}$.	77
Figura 25 – Recta de calibração para a análise do BaP, (IC – Intervalo de Confiança).	79

Figura 26 – Incerteza Global em função da concentração do BaP.	90
Figura 27 – Comparação da incerteza combinada estimada segundo o método passo a passo e segundo Thompson para o BaP.	92
Figura 28 – Contribuição das incertezas individuais no resultado da incerteza global.	93
Figura 29 – Representação gráfica dos resultados de degradação do BaP com reagente de Fenton a diferentes pH, e $[\text{BaP}]_{\text{inicial}} = 10 \mu\text{g/L}$.	94
Figura 30 – Representação gráfica dos resultados de degradação do BaP com reagente de Fenton a diferentes temperaturas, e $[\text{BaP}]_{\text{inicial}} = 10 \mu\text{g/L}$.	95
Figura 31 – Representação gráfica dos resultados de degradação do BaP com reagente de Fenton a diferentes concentrações de Fe^{2+} , nas condições apresentadas na Tabela 31, e $[\text{BaP}]_{\text{inicial}} = 10 \mu\text{g/L}$.	97
Figura 32 – Representação gráfica dos resultados de degradação do BaP com reagente de Fenton a diferentes concentrações de Fe^{2+} , nas condições apresentadas na Tabela 31, e $[\text{BaP}]_{\text{inicial}} = 10 \mu\text{g/L}$.	97
Figura 33 – Representação gráfica dos resultados de degradação do BaP com reagente de Fenton a diferentes concentrações de H_2O_2 , nas condições apresentadas na Tabela 32, e $[\text{BaP}]_{\text{inicial}} = 10 \mu\text{g/L}$.	99
Figura 34 – Representação gráfica dos resultados de degradação do BaP com reagente de Fenton a diferentes concentrações de H_2O_2 , nas condições apresentadas na Tabela 32 e $[\text{BaP}]_{\text{inicial}} = 10 \mu\text{g/L}$.	99
Figura 35 – Representação gráfica dos ensaios com reagente de Fenton a diferentes concentrações do BaP, nas condições óptimas encontradas, $\text{pH}=3,5$; Temperatura= 40°C ; Concentração de $\text{Fe}^{2+}=3,75 \text{ mg/L}$; Concentração de $\text{H}_2\text{O}_2=50 \text{ mg/L}$.	102

Abreviaturas

$\bar{A}_{BaP}$	Área média do pico do Benzo(a)pireno
A_{BaP}	Área do pico do Benzo(a)Pireno
AOP	Processos de Oxidação Avançados
BaP	Benzo(a)Pireno
$[BaP]_{inicial}$	Concentração inicial do Benzo(a)Pireno
BbF	Benzo(b)fluoranteno
BOD	Carência Bioquímica de Oxigénio
CAS Number	<i>Chemical Abstracts Service - Registry Numbers</i>
CO ₂	Dióxido de Carbono
Conc.	Concentração
CQO	Carência Química de Oxigénio
CV _{BaP}	Coefficiente de Variação do Benzo(a)Pireno
ECD	Detector de Captura de electrões
EPA	<i>Environmental Protection Agency</i>
FID	Detector de ionização de chama
Fla	Fenantreno
FLD	Fluorescência
GC	Cromatografia Gasosa
GC/EI	Cromatografia Gasosa com impacto de electrões
GC/MS	Cromatografia Gasosa com Espectrometria de Massa.
H ₂ SO ₄	Ácido Sulfúrico
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Resolução
IC	Intervalo de Confiança

ICa	Intervalo de confiança da ordenada na origem
ICb	Intervalo de confiança do declive
IPCS	<i>International Programme on Chemical Safety</i>
K	<i>Kelvin</i>
K_{ow}	Coeficiente de partição octanol/água
LCII	Limite de Controlo Inferior Inferior
LCIS	Limite de Controlo Inferior Superior
LCSI	Limite de Controlo Superior Inferior
LCSS	Limite de Controlo Superior Superior
LD	Limite de detecção
LVI	<i>Large volume injection</i>
MA-HS-SPME	<i>Microwave Assisted HeadSpace Solid Phase MicroExtraction</i>
MASE	<i>Membrane assisted solvent extraction</i>
N	Número de padrões utilizados na recta de calibração
n	Número de repetições para cada concentração
ND	Não detectado
NQA	Normas de Qualidade Ambiental
PA	Poliacrilato
PAHs ou HPAs	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
PDMS	Polidimetilsiloxano
PDMS/DVB	Polidimetilsiloxano Divinilbenzeno
R²	Coeficiente de correlação
Sa	Desvio padrão associado à ordenada na origem
Sb	Desvio padrão associado ao declive
Sb/b	Coeficiente de variação do declive

S_{BaP}	Desvio padrão do BaP
SBSE	<i>Stir Bar Sorptive Extraction</i>
SFE	<i>Supercritical Fluid Extraction</i>
SPE	<i>Solid Phase Extraction</i>
SPME	<i>Solid Phase MicroExtraction</i>
S_{y/x}	Desvio padrão do ajuste linear
t	Valor da distribuição t de <i>student</i> (95%) para n-2
T_{amb}	Temperatura ambiente
TiO₂	Oxido de titânio
TOC	Carbono Orgânico Total
Tr	Tempo de Retenção (min)
u	Incerteza absoluta
U	Incerteza relativa
U₁	Incerteza associada à preparação dos padrões,
U₂	Incerteza associada à recta de calibração,
U₃	Incerteza associada à precisão,
U₄	Incerteza associada à exactidão,
US - EPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i>
UV	Radiação Ultra-Violeta
u_{x0}	Incerteza associada à calibração para a concentração x ₀ com a área y ₀
xi	Concentração de analito
$\bar{X}$	Concentração média do Benzo(a)Pireno.
$\bar{x}$	Média aritmética das concentrações de analito
$\hat{y}_i$	Área calculada pela recta de calibração para a concentração xi

$\bar{y}$	Média aritmética das áreas
y_i	Área correspondente à concentração x_i
λ_{Em}	Comprimento de onda de emissão
λ_{Exc}	Comprimento de onda de excitação

1. Introdução

Nos últimos anos tem-se vindo a verificar uma maior preocupação no controlo dos poluentes orgânicos pela comunidade científica, nomeadamente com os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (PAHs ou HPAs). Os PAHs são moléculas orgânicas muito estáveis, constituídas por 2 ou mais anéis aromáticos, são emitidos por fontes naturais e antropogénicas. As fontes antropogénicas representam o principal processo de produção destes compostos (Lee *et al.*, 1981).

Pode considerar-se como o início da química dos PAHs o isolamento do Benzo(a)Pireno (BaP) do carvão, em 1931 e, subsequentemente, a sua síntese no mesmo ano. A sua identificação como uma nova substância química, em 1933, permitiu demonstrar que o BaP é um forte agente cancerígeno em animais (Finlayson-Pitts *et al.*, 1997).

As primeiras provas dos riscos ocupacionais e ambientais dos PAHs foram obtidas em 1922 pela demonstração de que extractos orgânicos de fuligem eram cancerígenos em animais e também pela actividade cancerígena do extracto de material particulado ambiental. Posteriormente, a actividade biológica foi também observada em extractos de material particulado ambiental recolhido do "smog" fotoquímico de Los Angeles (Costa, 2001).

Em 1970 o BaP (e outros PAHs) foi caracterizado como um agente cancerígeno de distribuição mundial, em ambientes respiráveis, e como constituinte de aerossóis urbanos (Finlayson-Pitts *et al.*, 1997).

Ainda nos anos 70 foi reconhecido o excesso de efeitos cancerígenos dos extractos de partículas atmosféricas até então atribuído ao BaP e demonstrado que a actividade cancerígena não é somente devida a esta substância mas, também, à presença de outras substâncias orgânicas ainda desconhecidas. Estas estão presentes, também, no material orgânico policíclico de fontes de emissão primárias (Costa, 2001).

Também nos anos 70 foi introduzido um método muito sensível e eficaz para a determinação do efeito mutagénico de substâncias químicas, por meio de bactérias do género

Salmonella que ficaria conhecido como "Teste de Ames - *Salmonella*" em homenagem aos seus autores (Costa, 2001).

A partir desta época muita atenção tem sido dada à avaliação de PAHs em matrizes ambientais e biológicas.

Há mais de 100 compostos no grupo dos PAHs, mas somente 16 deles foram considerados pela Environmental Protection Agency (EPA) como compostos prioritários para monitorização ambiental. Sendo que Benzo(a)Pireno (BaP) ocupa o 7º lugar.

Este composto não é produzido industrialmente, mas resulta da combustão incompleta de combustíveis fósseis. O BaP é praticamente insolúvel em água e é um composto pró cancerígeno, isto é, a sua actividade tóxica depende da sua transformação metabólica específica. Devido à sua fraca biodegradabilidade surge a necessidade de estudar e desenvolver processos de degradação deste composto de forma a minimizar os riscos para a saúde pública, bem como para o ambiente.

Vários cientistas debruçaram-se sobre este assunto e estudaram processos de conversão deste composto essencialmente em solos e sedimentos. Os processos de oxidação estudados foram: oxidação química com ozono (Haaepa *et al.*, 2006), permanganato de potássio (Brown *et al.*, 2003), persulfato (Nadim *et al.*, 2005); biodegradação (Ye *et al.*, 1996) e alguns processos de oxidação avançada utilizando O₃/UV (Ledakowicz *et al.*, 2001), e Reagente de Fenton (Flotron *et al.*, 2005).

Neste trabalho foi proposto estudar a degradação do BaP com reagente de Fenton em matriz aquosa. Para atingir esse objectivo implementou-se a metodologia analítica e posteriormente procedeu-se à sua validação, incluindo a estimativa da incerteza. Foi necessário otimizar várias variáveis da qual dependem o reagente de Fenton, tal como pH, temperatura, concentração de ferro e concentração de peróxido de hidrogénio. Só após esta optimização é que foram realizados ensaios com várias concentrações de BaP.

1.1 Características Físico-Químicas do Benzo(a)Pireno

O Benzo(a)Pireno (BaP) é um PAH com 5 anéis aromáticos (Figura 1). É também conhecido por: 1,4-Benzo(a)Pireno, 3,4-Benzopireno, 3,4-Benzopireno, Benzopireno, 3,4-Benzo(a)Pireno, 6,7-Benzopireno, 4,5-Benzo(a)Pireno e Benzo[d,e,f]criseno, segundo Canadian Guidelines de 1997. A sua fórmula química é: $C_{20}H_{12}$.

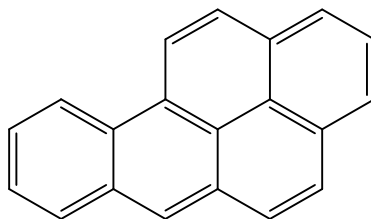


Figura 1 – Fórmula da estrutura molecular do BaP.

Este composto ocupa o 9º lugar na lista de compostos prioritários publicada pela EPA. A lista foi elaborada com base nas seguintes características:

- Existência de mais informação sobre estes compostos
- Suspeitos de serem mais nocivos do que os restantes
- Exibirem efeitos nocivos que são representativos de todos os outros
- Grande probabilidade de estarmos expostos a estes compostos

As características gerais do BaP são:

- Composto muito pouco volátil;
- Não tem odor;
- Normalmente aparece em conjunto com outros PAHs;
- É praticamente insolúvel em água, mas é solúvel em benzeno, tolueno, xileno e parcialmente solúvel em álcool e metanol (Faust, 1994);
- Pontos de fusão e ebulição elevados
- Baixas pressões de vapor
- Composto pró cancerígeno, isto é, a sua actividade tóxica depende da sua transformação metabólica específica.

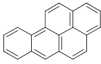
O BaP tende a fixar-se a partículas sólidas, devido às suas propriedades físico-químicas, assim sendo, é encontrado em maior concentração no solo e sedimentos, do que no ar ou água. As propriedades que mais contribuem para este facto são:

- Baixa solubilidade em água.
- Coeficientes de partição octanol/água (K_{ow}) elevados, o que faz com que estes compostos tenham grande afinidade lipofílica, o que indica que podem ser absorvidos por diversos tipos de tecidos biológicos.
- Coeficiente de partição carbono orgânico/água elevados, o que faz com que os PAHs em sistema aquoso tendam a concentrarem-se em sedimentos ou associados a matéria orgânica em suspensão (Netto *et al.*, 2000).

Estudos realizados laboratorialmente demonstraram que o tempo de meia vida está directamente relacionado com $\log K_{ow}$ e inversamente correlacionado com o $\log$ da solubilidade em água (US - EPA, 1995).

Na Tabela 1 estão apresentadas as propriedades físico-químicas do BaP.

Tabela 1 - Propriedades Físico-Químicas do Benzo(a)Pireno (Faust, 1994; Santos, L., 2006).

Propriedades Físico químicas do Benzo(a)Pireno	
Fórmula Molecular	$C_{20}H_{12}$
Estrutura Molecular	
CAS Number	50-32-8
Massa Molecular (g/mol)	252,3093
Temperatura de fusão (°C)	178.1
Temperatura de ebulição (°C)	496
Solubilidade na água a 25 °C ($\mu\text{g/L}$) ⁽¹⁾	3,8
Comprimento de onda de excitação λ_{Exc} (nm)	290-296
Comprimento de onda de emissão λ_{Em} (nm)	406-410
Pressão de vapor a 25 °C (KPa) ⁽¹⁾	$7,3 \cdot 10^{-10}$
Log K_{ow} ⁽¹⁾	6,50
Constante de Henry a 25 °C ($\text{kPa m}^3/\text{mol}$) ⁽¹⁾	$3,4 \cdot 10^{-5}$

⁽¹⁾ IPCS, 1998

1.1.1. Presença do Benzo(a)Pireno no Meio Ambiente

Na natureza, o BaP resulta de fenómenos naturais, como erupções vulcânicas e incêndios, e fenómenos antropogénicos, como o derramamento de petróleo, queima incompleta de combustíveis fósseis e resíduos sólidos industriais, sendo estes últimos os fenómenos com maior impacto ambiental. Tem sido identificado na água superficial, água da chuva, água subterrânea e água residual (EPA, 1991).

O movimento global do BaP pode ser resumido da seguinte maneira: O BaP libertado na atmosfera é sujeito a transporte de curto e longo alcance e é removido através da deposição em solos e sedimentos, água ou vegetação, como esquematizado na Figura 2.

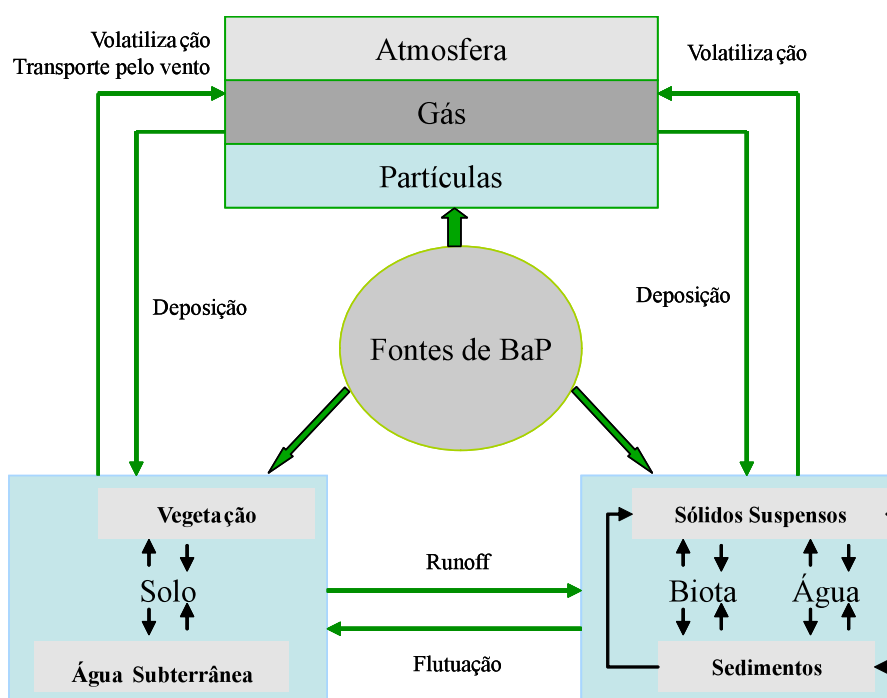


Figura 2 – Movimento global do BaP no meio ambiente (adaptado de Cohen *et al.*, 2001).

O BaP é persistente no meio ambiente, adsorve rapidamente ao solo e quando libertado na água adsorve fortemente aos sedimentos e/ou à matéria orgânica. É bioacumulável, especialmente nos organismos aquáticos (Luttrell *et al.*, 2007).

Devido às suas propriedades físico-químicas, o BaP tende a acumular-se no meio ambiente da forma apresentada na Tabela 2, à qual estão sujeitos a diferentes processos de degradação natural.

Tabela 2 - Fontes de acumulação do BaP nos diferentes tipos de matrizes ambientais e possíveis processos naturais de degradação (US - EPA, 1995).

Matriz	Acumulação	Degradação
Água superficial	➤ Partículas suspensas ➤ Organismos aquáticos	➤ Volatilização ➤ Fotoxidação ➤ Oxidação ➤ Biodegradação
Sedimentos	➤ Organismos aquáticos	➤ Biodegradação ➤ Fotoxidação
Solo	➤ Plantas ➤ Partículas	➤ Volatilização ➤ Oxidação ➤ Fotoxidação ➤ Biodegradação

Na Tabela 3 estão apresentadas as concentrações do BaP em diferentes matrizes aquosas e de diferentes zonas geográficas.

Tabela 3 – Concentrações do BaP encontradas em diferentes matrizes aquosas.

Localização	Matriz	Origem	Concentração do BaP	Bibliografia
China (Tianjin)	Águas superficiais	Rio	41-390 ng/L	Cao <i>et al.</i> , 2005
	Águas tratadas	Rio	2-12 ng/L	
China (Hangzhou)	Águas superficiais	Rio <i>Qiantang</i>	ND-10,10 mg/L	Zhu <i>et al.</i> , 2004
		Canal Hangzhou	ND-6,640 mg/L	
		Rio Inland	ND-6,686 mg/L	
		Lago West	ND-10,22 mg/L	
Alemanha	Águas superficiais	Rio Danúbio	<10 ng/L	Manoli <i>et al.</i> , 1999
Alemanha		Rio <i>Abach</i>	10-40 ng/L	
Alemanha		Rio Elba	1,9-16 ng/L	
Reino Unido		Rio Tamisa	130-350 ng/L	
Reino Unido		Rio <i>Severn</i>	1,5-12,5 ng/L	
Reino Unido		Rio <i>Trent</i>	51-504 ng/L	
Grécia		Estuário do Rio <i>Aliákomon</i>	0,86 ng/L	
Grécia		Estuário do Rio <i>Loudias</i>	0,73 ng/L	
Mar báltico	Água do mar	Água Mar (profundidade 10-25 m)	10,64-115,20 pg/L	
Mar báltico	Água do mar	Água Mar (profundidade 70-415 m)	5,00-71,36 pg/L	
Grécia	Água do mar	Golfo <i>Thermaikos</i>	10-44 ng/L	Zhou <i>et al.</i> , 2003
Estados Unidos	Água do mar	Baia <i>Chesapeake</i>	0,16-0,48 ng/L	
	Água subterrânea		0,2-6,9 ng/L	
Estados Unidos	Água superficial		0,1-800 ng/L	
			2-50 ng/L	
Dinamarca (Horsholm)	Água de consumo humano		0,04 ng/L	
Finlândia (Helsinquia)	Água de consumo humano		0,05 ng/L	
Dinamarca (Copenhaga)	Água de consumo humano		0,05 ng/L	Fernandes <i>et al.</i> , 1997
Noruega (Oslo)	Água de consumo humano		0,29 ng/L	
Daya Bay, China	Águas superficiais	Marina de aquacultura	13-4799 ng/L	Manoli <i>et al.</i> , 2000
França	Águas superficiais	Rio Sena	0,3- 0,7 ng/L	
Norte da Grécia	Águas superficiais		0,6-1,7 ng/L	Countway <i>et al.</i> , 2003
Norte da Grécia	Água da chuva		1,3-4,4 ng/L	
Estados Unidos	Águas superficiais	Estuário do Rio York	0,09-4,94 ng/L	

1.1.2. Origem e Fontes Emissoras do Benzo(a)Pireno

O BaP é muitas vezes resultado das descargas realizadas pelas refinarias e incineração, devido à combustão incompleta e à queima descontrolada. A queima de combustíveis como petróleo e seus derivados, carvão, madeira, entre outros; também produzem BaP e muitos outros poluentes atmosféricos (Figura 3).

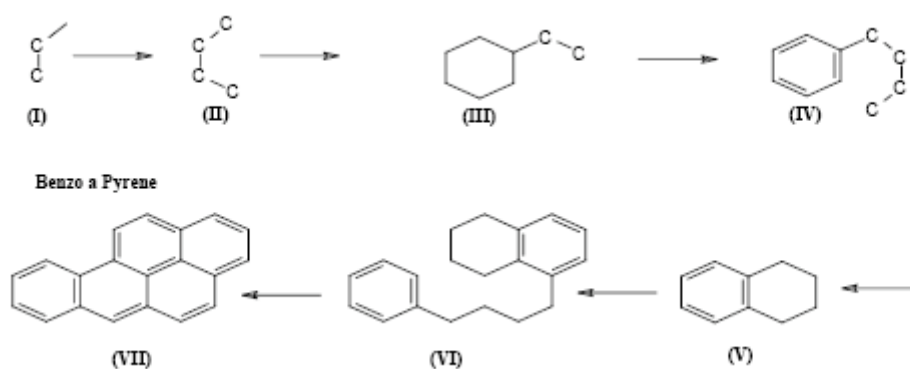


Figura 3 – Formação do Benzo(a)Pireno.

O BaP também é oriundo de fontes tecnológicas tais como o motor de combustão interna, como o principal emissor destas substâncias para o ambiente, e a geração de energia eléctrica (Netto *et al.*, 2000).

As emissões provocadas pelo tráfego têm uma grande importância, devido à complexidade e quantidade cada vez maior de compostos lançados para atmosfera. O material particulado emitido por veículos a diesel, por exemplo, é constituído principalmente por carbono elementar que actua como superfície de condensação do BaP e de outros compostos aromáticos. Na Tabela 4, estão apresentadas as principais fontes de produção do BaP e na Tabela 5 apresenta-se a concentração do BaP emitida por diferentes fontes.

Tabela 4 – Principais fontes de produção do BaP.

Categoria	Referências
Fontes estacionárias	
Indústria de ferro	Yang <i>et al.</i> , 1998
Fontes móveis	
Emissão de veículos a diesel	Yang <i>et al.</i> , 1998; Kulkarni e Venkataraman, 2000; Ho <i>et al.</i> , 2002; Caricchia <i>et al.</i> , 1999
Emissão de veículos a gasolina	Yang <i>et al.</i> , 1998; Kulkarni e Venkataraman, 2000; Ho <i>et al.</i> , 2002; Caricchia <i>et al.</i> , 1999, Omar <i>et al.</i> , 2002
Partículas sólidas perto da estrada (<i>roadside</i>)	Omar <i>et al.</i> , 2002
Fontes de combustão	
Fontes de combustão	Park <i>et al.</i> , 2002
Queima industrial de petróleo	Yang <i>et al.</i> , 1998; Kulkarni e Venkataraman, 2000
Fontes caseiras	
Queima de madeira	Kulkarni e Venkataraman, 2000
Queima de incenso	Li e Ro, 2000
Óleo de cozinha	Kulkarni e Venkataraman, 2000

Tabela 5 – Concentrações do BaP emitidas por diferentes tipos de fontes emissoras.

Fontes Emissoras	Concentração do BaP	Bibliografia
Automóveis		
Toyota/Hilux	20,99 µg/Kg	Abrantes <i>et al.</i> , 2004
Ásia/Topic	16,315 µg/Kg	
Mercedes Benz Sprinter F310D	ND	
Mercedes Benz Sprinter	1,22 µg/Kg	
Produção energia por combustível fóssil	0,02 mg/Kg carvão queimado	IPCS, 1998; Ravindra <i>et al.</i> , 2006
Incineradores	0,1 ton/ano (Alemanha)	
Produção de alumínio	0,001 ton/ano (Alemanha)	
Cinzas e fuligem de unidades residenciais	0,11 Kg/ton alumínio	
Lenha de vidoeiro	304.1 mg/Kg	Kakareka <i>et al.</i> , 2005
Lenha de pinheiro	174,7 mg/Kg	
Desperdícios de madeira	190,4 mg/Kg	
Turfa	28,6 mg/Kg	
Desperdícios domésticos	138,7 mg/Kg	
Cigarros Kentucky	7,9 ng/cigarro	Gmeiner <i>et al.</i> , 1997
Emissões de combustão		
Vidoeiro húmido	1,3 µg/m³	Kakareka <i>et al.</i> , 2005
Vidoeiro Seco	109,6 µg/m³	
Desperdícios de madeira	130,4 µg/m³	
Turfa	ND	

Alguns países já adoptaram valores de referência para o BaP no ar, mesmo sem existir legislação (Tabela 6). Na Figura 4 e Tabela 7, pretende-se mostrar a evolução da produção do BaP em diferentes países da Europa ao longo dos anos. Relativamente a Portugal verificou-se um aumento de emissão do BaP entre os anos 1993 e 1996 tendo-se mantido constante e igual a 1.64 ton/ano até 2001.

Tabela 6 - Padrões de qualidade de ar ambiental não obrigatórios para o BaP (Ravindra *et al.*, 2006).

País	Valor Limite (ng/m ³) ^{yy}	Valor Guia (média anual) (ng/m ³)
Austrália	...	1,0
Bélgica	1,0	0,5
Croácia	2,0	0,1
Alemanha	...	10
Índia**	...	5
Holanda	1,0	0,5
França	0,7	0,1
Itália	1,0	...
Suécia	...	0,1
Reino Unido	...	0,25
WHO	...	1,0
EU*	6,0	...
EU	...	1,0 ^y

* a ser conhecido em 2010

** reduzindo 1 ng/m³ todos os anos desde 2005 até 2010 para chegar a 1 ng/m³ em 2010

^y valor para a quantidade total existente na fracção de PM₁₀

^{yy} Valor limite não deve ser excedido e deve-se evitar exceder o valor guia.

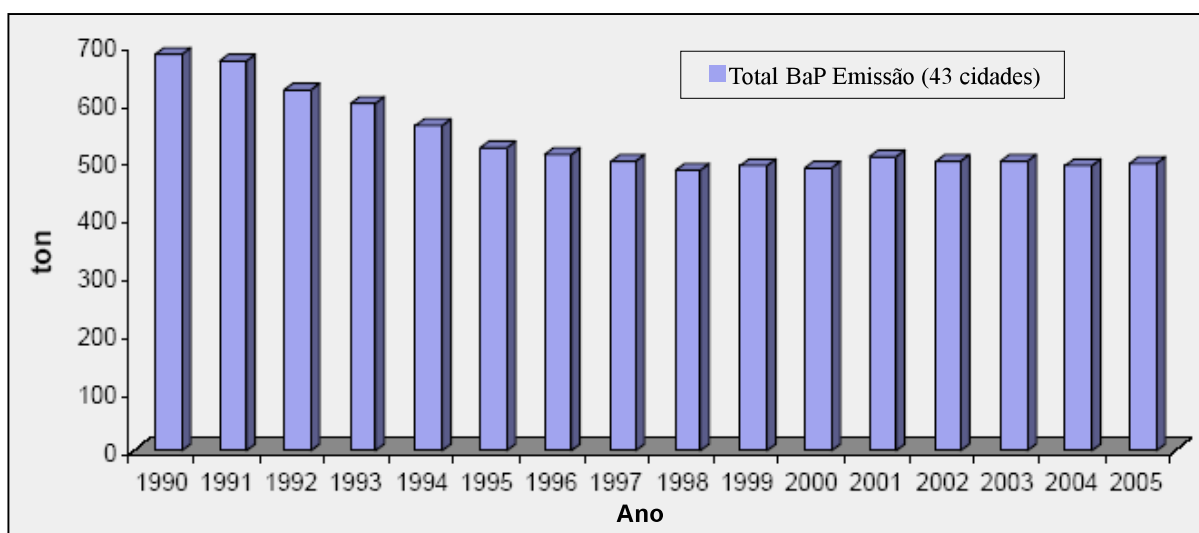
**Figura 4** – Evolução das emissões do BaP na Europa no período de 1990 a 2005 (Ravindra *et al.*, 2006).

Tabela 7 – Avaliação da emissão do BaP (ton/ano) na Europa no período de 1990 a 2001 (Ravindra *et al.*, 2006).

País	Emissão BaP (ton/ano)					
	1990	1993	1996	1999	2000	2001
Albania	0,11	0,18	0,22	0,22	0,22	0,22
Arménia	0,24	0,25	0,27	0,27	0,27	0,27
Aústria	5,25	3,12	3,27	2,62	2,45	2,67
Azerbaijão	1,19	1,66	2,02	2,06	2,06	2,06
Belgica	61,05	30,3	11,62	17,08	18,9	18,46
Bosnia	8,81	6,24	4,52	4,52	4,52	4,52
Bulgária	7,57	7,05	6,71	6,71	6,71	6,71
Croácia	4,38	3,54	2,7	2,3	2,63	2,63
Chipre	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015
República Checa	18,67	16,02	14,26	14,26	14,26	14,26
Dinamarca	1,65	2,03	2,09	1,85	2,38	2,75
Estónia	2,91	2,91	2,91	2,91	2,91	2,07
Finlândia	4,41	4,4	4,44	4,45	4,25	4,57
França	92,85	91,17	84,4	80,26	78,34	80,09
Georgia	1,59	7,47	11,38	11,38	11,38	11,38
Alemanha	33,6	32,16	31,68	31,68	31,68	31,68
Grécia	5,69	4,01	2,89	2,89	2,89	2,89
Hungria	10,56	6,46	5,06	4,37	4,45	4,44
Islândia	0,51	0,51	0,51	0,51	0,51	0,51
Irlanda	1,77	1,45	1,24	1,24	1,24	1,24
Itália	26,78	30,27	29,63	34,78	34,77	35,27
Cazaquistão	8,92	6,79	5,37	5,37	5,37	5,37
Latvia	1,86	2,32	4,74	6,85	6,85	6,85
Lituania	19,23	19,23	19,23	12,01	9,19	23,52
Luxemburgo	0,03	0,03	0,02	0	0	0
Monaco	0,002	0,003	0,003	0,004	0,004	0,004
Holanda	4,74	3,27	2,29	2,29	2,29	2,29
Noruega	4,63	4,45	4,58	4,16	4,35	4,76
Polónia	46,17	73,43	65,22	51,01	48,3	46,78
Portugal	1,5	1,58	1,64	1,64	1,64	1,64
Moldova	1,73	0,92	1,01	1,22	1,22	1,22
Roménia	27,9	22,55	18,98	18,98	18,98	18,98
Rússia	18,26	15,29	15,02	15,32	15,43	15,89
Servia e Montenegro	21,91	15,51	11,24	11,24	11,24	11,24
Eslovaquia	14,82	9,67	6,44	5,68	6,06	5,92
Eslovénia	4,7	3,33	2,41	2,41	2,41	2,41
Espanha	94,39	91,28	78,92	75,77	83,37	84,79
Suécia	10,72	8,26	7,76	11,07	6,6	7,83
Suiça	2,36	1,94	1,65	1,65	1,65	1,65
Macedónia	3,71	2,63	1,9	1,9	1,9	1,9
Ucrânia	27,48	20,17	15,7	16,1	16,1	16,1
Inglaterra	67,2	33,79	12,96	8,62	6,69	7,21
Total de emissões de BaP	672	588	499	480	476	495

1.1.3. Toxicidade do Benzo(a)Pireno

A toxicidade das substâncias químicas é definida como a capacidade que a substância tem para provocar efeitos biológicos adversos, dependendo do tempo e do grau de exposição.

O BaP é conhecido como irritante para o sistema respiratório. Sendo um constituinte do fumo de tabaco quando expostos a este podem surgir sintomas como: tosse, corrimento nasal e expectoração, bem como dificuldades respiratórias, vertigens e náuseas (Luttrell *et al.*, 2007).

Estudos realizados com animais expostos a uma determinada concentração do BaP, durante um intervalo curto de tempo, levam a crer que possa causar danos na hemoglobina, levando à anemia e supressão do sistema imunitário dos humanos (Luttrell *et al.*, 2007).

Este composto é também irritante para a pele, susceptível de provocar alergias e para além disso pode provocar alteração de cor. A exposição à luz solar pode aumentar os efeitos na pele (Luttrell *et al.*, 2007).

O Benzo(a)Pireno é um composto suspeito de provocar cancro nos humanos. No entanto inúmeros estudos realizados com várias espécies de animais mostraram que este composto provoca cancro por qualquer via que seja administrado. Estudos epidemiológicos têm vindo a mostrar uma clara associação entre exposição de misturas de PAHs contendo BaP e o aumento de risco de cancro pulmonar e outros tumores em humanos (Luttrell *et al.*, 2007).

1.1.4. Efeitos do Benzo(a)Pireno na Saúde Pública

A contaminação de rios, mares, florestas, e também da atmosfera, pode causar danos irreparáveis à natureza e à saúde humana. A acção maléfica dos PAHs sobre os organismos vivos pode ser exercida directamente e, principalmente, através dos seus derivados, muitos deles ainda desconhecidos.

Os efeitos dos PAHs, nomeadamente do BaP, sobre a saúde humana estão directamente associados ao mecanismo de contaminação que ocorre principalmente através da inalação de aerossóis atmosféricos.

A exposição humana (e de outros animais) ao BaP ocorre por diferentes vias. As mais importantes são a inalação de ar poluído e a ingestão de alimentos ou de água contaminada. No caso dos seres humanos, outros modos importantes de exposição ao BaP são o hábito de fumar, a inalação (passiva) do fumo do tabaco e a exposição ocupacional em actividades e processos envolvendo a produção ou o manuseamento de matérias-primas que contenham este composto (IPCS, 1998).

O BaP já foi detectado em alimentos brutos (Tabela 7) e processados. A presença do BaP em alimentos brutos de origem vegetal deve-se principalmente à deposição atmosférica. Animais aquáticos, como mexilhões e ostras que tendem a acumular BaP (e outros PAHs) podem, eventualmente, representar outra forma de transporte destes compostos aos seres humanos e a outros animais (Guillén *et al.*, 1994). Em alimentos processados, a presença do BaP (e outros PAHs) está associada ao alimento *in natura* ou ainda a alguma etapa de processamento, como é o caso da defumação ou fritura dos alimentos (Guillén *et al.*, 1994).

Tabela 8 – Concentrações do BaP encontradas em alimentos.

Tabela 6 - Concentrações do BaP encontradas em alimentos.		
Alimentos	Concentração do BaP µg/Kg	Bibliografia
Legumes		
Alface área Urbana	0,15	Camargo <i>et al.</i> , 2003
Alface área Rural	ND	
Repolho área Urbana	0,20	
Repolho área Rural	0,07	
Tomates área Urbana	0,12	
Tomates área Rural	0,08	
Fruta		
Maçã	ND-0,14	Camargo <i>et al.</i> , 2003
Pêra	ND-0,14	
Uva	ND	

Os efeitos da exposição ao BaP dependem: da dose, do tempo de exposição e da via (inalação, exposição, contacto dérmico e ocular), da interacção com outros PAHs e das condições físicas do organismo.

Em virtude das suas propriedades físico-químicas e da grande distribuição ambiental, o risco de contaminação humana por esta substância é significativo. De facto, devido ao seu carácter lipofílico, o BaP pode ser absorvido pela pele, por ingestão ou por inalação, sendo rapidamente distribuído pelo organismo. A quantidade absorvida por inalação varia de acordo com o grau de contaminação atmosférico, que está directamente relacionado com a urbanização, tráfego de veículos (principalmente motores diesel) e com o tipo de industrialização da área. Em ambientes fechados, o fumo do tabaco e as fontes de aquecimento podem contribuir para o aumento dos níveis ambientais do BaP (Netto *et al.*, 2000).

A absorção dérmica é bastante importante em algumas actividades industriais, podendo ser responsável até 90% da quantidade absorvida pelo organismo. Os alimentos são considerados outra importante fonte de exposição humana, tanto devido à formação do BaP durante o cozimento, quanto devido à deposição atmosférica sobre grãos, vegetais e frutas (Netto *et al.*, 2000).

A elevada taxa de mortalidade (cerca de 6,5 milhões de pessoas morrem de cancro anualmente) e o facto dos tratamentos para estas doenças serem dispendiosos, demorados e normalmente trazerem muito sofrimento aos doentes, expõem claramente os potenciais benefícios que o conhecimento, a avaliação e o controle da exposição humana as substâncias que possuam actividade cancerígena/mutagénica podem trazer, particularmente quando se sabe que a grande maioria dos cancros resulta de interacções genéticas e ambientais, sendo as causas externas (ambientais), em conjunto com factores de susceptibilidade adquirida, as mais importantes. No caso do BaP isto é feito geralmente através da monitorização dos níveis ambientais desta substância, do conhecimento das suas vias de penetração no organismo, do seu metabolismo, bem como da avaliação precoce dos seus efeitos biológicos. Estes compostos são capaz de reagir directamente, ou após sofrerem transformações metabólicas, com o ADN (Figura 5), tornando-se potenciais cancerígenos e eficientes mutagénicos (Netto *et al.*, 2000).

A seriedade dos efeitos que a exposição ao BaP pode ter sobre o organismo humano, fez com que fosse dedicada especial atenção ao desenvolvimento de metodologias analíticas hábeis para identificação e determinação de bio indicadores da concentração absorvida da concentração presente nos sítios de acção biológica críticos, assim como de quaisquer efeitos precoces. Em todos os casos, a variabilidade da composição das misturas, a complexidade das amostras e as baixas concentrações que, em geral, foram observadas, exigiram a utilização de métodos analíticos altamente selectivos e de elevada sensibilidade. A exposição humana ao BaP dá-se principalmente através da contaminação ambiental (Netto *et al.*, 2000).

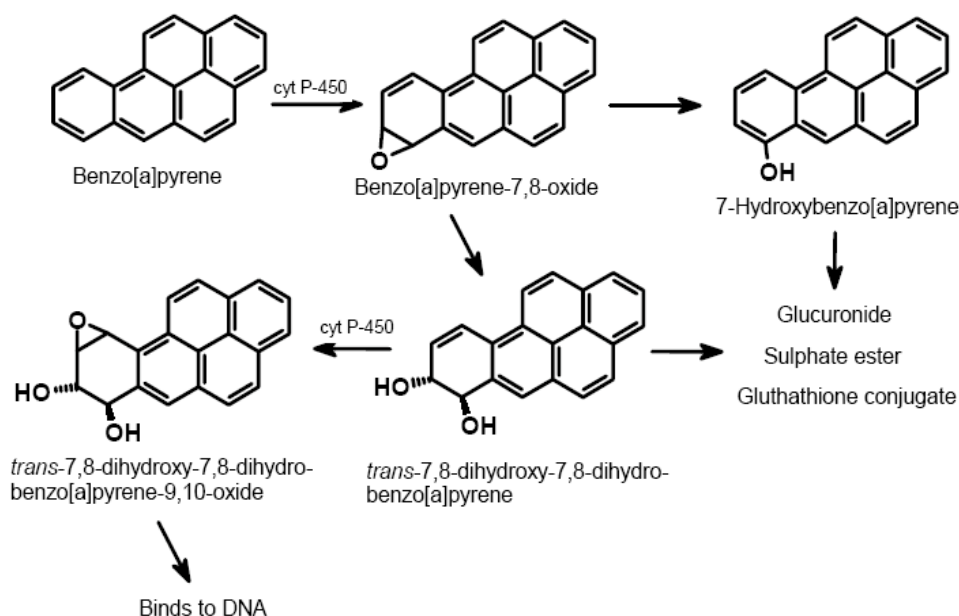


Figura 5 – Metabolismo de activação do BaP (IARC, 1983).

No Anexo A, Tabela A1, encontram-se compilados vários estudos realizados com animais, nos quais foi administrado BaP, com a finalidade de observar os efeitos provocados.

1.1.5. Legislação do Benzo(a)Pireno

Devido às propriedades cancerígenas e mutagénicas que este composto pode apresentar, há necessidade de um controlo regular nos alimentos e em várias matrizes ambientais, incluindo ar, água e solos.

Nas águas para consumo humano o Decreto de Lei nº 236/98 de 1 de Agosto, estabeleceu que a soma das concentrações de seis Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos presentes nas águas superficiais não pode exceder o valor de 1,0 µg/L. Os seis PAHs definidos no Decreto de Lei são: o Fluoranteno, Benzo(b)fluoranteno, Benzo(k)fluoranteno, Benzo(a)Pireno, Benzo(g,h,i)perileno e o Indeno(1,2,3-cd)pireno. No entanto, um valor mais apertado vem no Jornal Oficial da Comunidade Europeia, directiva 98/83/CE do Conselho de 3 de Novembro de 1998 relativa à qualidade de água destinada ao abastecimento, o qual foi transposto para o Direito Nacional através do Decreto de Lei nº 243/01 de 5 de Setembro, e entrou em vigor em 2003. Segundo este decreto, a soma das concentrações de 4 PAHs (Benzo(b)fluoranteno, Benzo(k)fluoranteno, Benzo(g,h,i)perileno e o Indeno(1,2,3-cd)pireno), não pode exceder o valor de 0,10 µg/L. Este mesmo decreto define um valor paramétrico de 0,01 µg/L para Benzo(a)Pireno. A revogar o Decreto Lei nº 243/2001 está o Decreto Lei 306/2007 que mantém os mesmos valores paramétricos para o BaP.

Relativamente às águas residuais o Decreto de Lei nº 236/98 de 1 de Agosto estabeleceu que a soma das concentrações de seis Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos presentes nestas águas não pode exceder o valor de 100 µg/L.

A Administração da Saúde e Segurança Ocupacional (OSHA) tem por limite 0,2 mg/m³ de PAHs no ar, enquanto que na água varia entre 4-24 ng/L (Lattuada, S. J., 2005).

Na Tabela 9 e 10 estão compilados os valores de referência para os PAHs e BaP em vigor, para água.

Tabela 9 – Legislação aplicável ao BaP e PAHs.

Matriz	Legislação	PAH	Limite
Águas Residuais	DL 236/98	BaP + 5PAHs	100 µg/L
	DL 236/98	BaP + 5PAHs	1,0 µg/L
	DL 243/01	4 PAHs	0,10 µg/L
Águas de consumo		Benzo(a)Pireno.	0,01 µg/L
	DL306/2007	Benzo(a)Pireno	0,01 µg/L
	WHO - Guidelines for Drinking water quality.	Benzo(a)Pireno.	0,7 µg/L

A Proposta de Directiva do Parlamento Europeu e do Conselho relativa a normas de qualidade ambiental no domínio da política da água e que altera a Directiva 2000/60/CE. A directiva estabelece Normas de Qualidade Ambiental (NQA) diferenciando as Águas de Superfície Interiores (ASI) (rios e lagos) e Outras Águas de Superfície (OAS) (transitórias, costeiras e territoriais). São estabelecidos dois tipos de NQA: concentrações Médias Anuais (MA) e Concentrações Máximas Admissíveis (CMA); a primeira para a protecção contra efeitos crónicos e a longo prazo e a outra para os efeitos a curto prazo, directos, agudos e ecotóxicos, respectivamente (Tabela 10).

No grupo de substâncias prioritárias todas as (NQA) terão de ser observadas, para os “Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos” (PAHs) ou seja, devem ser cumpridas a NQA para o Benzo(a)Pireno, a NQA para a soma do Benzo(b)fluoranteno e do Benzo(k)fluoranteno e a NQA para a soma do Benzo(g,h,i)perileno e do Indeno(1,2,3-cd)pireno.

Tabela 10 – Normas de Qualidade Ambiental (µg/L).

Nome da substância	CAS	Águas superfície interiores		Outras águas de superfície	
		MA	CMA	MA	CMA
Benzo(a)Pireno	50-32-8	0,05	0,1	0,05	0,1
PAHs	Não aplicável	Não aplicável	Não aplicável	Não aplicável	Não aplicável
Benzo(b)fluoranteno	205-99-2	Σ=0,03	Não aplicável	Σ=0,03	Não aplicável
Benzo(k)fluoranteno	207-08-9				
Benzo(g,h,i)perileno	191-24-2	Σ=0,002	Não aplicável	Σ=0,002	Não aplicável
Indeno(1,2,3-cd)pireno	193-39-5				

1.2. Degradação do Benzo(a)Pireno

No meio ambiente o BaP é degradado por processos de biodegradação, fotoxidação, oxidação química e oxidação avançada. O tempo necessário para que estes processos ocorram pode variar entre horas a anos, dependendo do seu estado físico e do material ao qual está adsorvido.

Por motivos de segurança pública e ambiental é necessário acelerar os processos naturais de degradação. Muitos estudos têm vindo a ser realizados com o objectivo de reduzir a concentração deste composto nas diferentes matrizes ambientais (ar, água, solos e sedimentos).

1.2.1. Degradação Biológica

A degradação biológica faz uso do potencial metabólico dos microrganismos, que pode envolver a utilização de culturas puras ou por bioestimulação de microrganismos indígenas presentes no solo e/ou nas águas contaminadas.

Os factores que afectam o crescimento microbiano são:

- Temperatura
- pH
- Substâncias tóxicas

Através do enriquecimento de culturas, podem isolar-se microrganismos ou consórcios de microrganismos capazes de degradar PAHs e ao mesmo tempo competir com os microrganismos tolerantes aos poluentes.

Se não existirem microrganismos indígenas capazes de degradarem os poluentes, ou se existirem em baixo número, pode ser necessário adicionar microrganismos activos e adequados ao poluente a degradar. A aplicação da degradação biológica pode por isso envolver o uso de bactérias ou consórcios de bactérias disponíveis comercialmente e capazes de degradar o BaP.

Existe um elevado número de microrganismos que têm sido estudados para degradar BaP (Bhatt *et al.*, 2002; Dean-Ross *et al.*, 2002; Canet *et al.*, 1999). Na Tabela 11 estão listados alguns desses microrganismos.

Tabela 11 – Lista de microrganismos que degradam PAHs (Cerniglia, 1992, 1997).

PAH	Microrganismos
Benzo(a)Pireno	Bactéria: <i>Beijerinckia sp.</i>, <i>Mycobacterium sp.</i>, <i>Pseudomonas</i> NCIB 9816, <i>Sphingomonas paucimobilis</i> Fungos: <i>Chrysosporium pannorum</i>, <i>Cunninghamella elegans</i>, <i>Phanerochaete chrysosporium</i>, <i>Stropharia coronilla</i>

A degradação do BaP pode ocorrer por diferentes percursos metabólicos e organismos (Figura 6), tais como bactérias, mamíferos e fungos (Ladislão *et al.*, 2004).

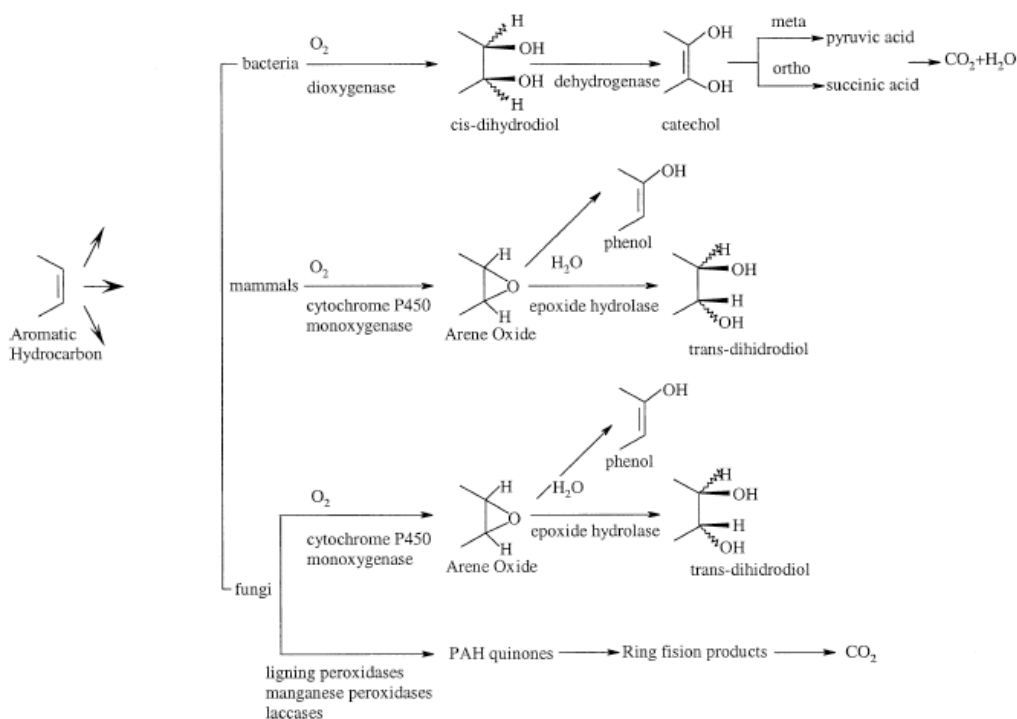


Figura 6 – Diferentes percursos do metabolismo microbiano usados por bactérias, fungos e mamíferos na degradação do BaP (Ladislão *et al.*, 2004).

Degradação por Bactérias

As bactérias oxidam inicialmente os PAHs, incorporando ambos os átomos de oxigénio molecular no núcleo do PAH originando a cis-dihidrodiol (dioxigenase) (Ladislão *et al.*, 2004).

A oxidação inicial do anel é geralmente a etapa limitante do processo. A cis-dihidrodiol é posteriormente rearomatizada pela acção da enzima cis-dihidrodiol dihidrogenase originando derivados dihidroxilados. Uma oxidação mais completa do cis-dihidrodiol leva à formação de catecol, que são substratos para outras dioxigenases que levam à quebra enzimática do anel aromático. O catecol pode ser oxidado por dois mecanismos. O mecanismo *orto*, que envolve a quebra das ligações entre átomos de carbono de dois grupos hidroxilos; e o mecanismo *meta*, que envolve a quebra de ligação entre o átomo de carbono com grupo hidroxilo e o carbono adjacente com grupo hidroxilo (Ladislão *et al.*, 2004).

Os produtos da quebra do anel serão: ácidos succínico, fumárico, pirúvico, acético e aldeídos, os quais são utilizados pelos microrganismos para síntese de constituintes celulares e energia. Um subproduto destas reacções é CO₂ e H₂O (Ladislão *et al.*, 2004).

O Benzo(a)Pireno possui uma estrutura complexa, assim sendo as bactérias metabolizam este composto em múltiplos locais para dar origem a isómeros cis-dihidrodióis (Van Herwijnen *et al.*, 2003; Juhasz *et al.*, 2000; Kanaly *et al.*, 2000).

Na Tabela 12, estão apresentados os metabolitos produzidos na degradação do BaP por *Mycobacterium sp.* RJGII-135 e *Beijernickia strain* B836.

Tabela 12 – Metabolitos produzidos na degradação do BaP por diferentes bactérias (Mrozik *et al.*, 2002).

Composto	Bactéria	Metabolitos
Benzo(a)Pireno	<i>Mycobacterium</i> sp. RJGII-135 <i>Beijernickia</i> strain B836	<i>Cis-4,5-BaPdihidrodiol</i>
		<i>Cis-9,10-BaPdihidrodiol</i>
		<i>Cis-7,8- BaPdihidrodiol</i>
		<i>4,5-criseno-dicarboxilico ácido</i>
		<i>Cis-4-(7-hidroxipireno-8-il)-2-oxobut-3-anoico ácido</i>
		<i>Cis-4-(hidroxipireno-7-il)-2-oxobut-3-anoico ácido</i>
		<i>7,8-dihidro-pireno-7-carboxilico ácido</i> <i>7,8-dihidro-pireno-8-carboxilico ácido</i>

Na Tabela 13, estão compilados vários estudos realizados com BaP em experiências com culturas líquidas, da qual se constatou que as bactérias degradam BaP quando crescem na presença de uma fonte de carbono alternativa.

Ye *et al.*, em 1996, observaram uma diminuição da concentração do BaP na incubação com *Sphingomonas paucinobilis* strain EPA505. Foi observada uma diminuição de 5% na concentração do BaP após 168 horas de incubação, na presença de Fluoranteno. No entanto quando são adicionadas leveduras de cerveja ao meio, Schneider *et al.*, em 1996a, observaram uma diminuição da concentração do BaP de 40%, usando *Mycobacterium* sp na presença de Fluoranteno e num período de apenas 16 horas.

O BaP tem sido degradado por outras bactérias incluindo *Rhodococcus* sp. strain UW1, *Burkholderia cepacia*, *Mycobacterium*, *S. maltophilia*, bem como por culturas mistas contendo, *Pseudomonas* e *Flavobacterium*, (Walter *et al.*, 1991; Juhasz *et al.*, 1997; Schneider *et al.*, 1996; Stanley *et al.*, 1999; Trzesicka-Mlynarz e Ward, 1995).

Gibson *et al.*, em 1975, mostraram que *Beijernickia* strain B836, após crescimento em succinato, na presença de bifenilo, oxidou o BaP a uma mistura de dihidrodiols. *Mycobacterium* strain RJGII-135, também forma dihidrodiols (Schneider *et al.*, 1996), que foram os mesmos que os obtidos inicialmente com *Beijernickia* strain B-836.

Tabela 13 – Degradação do Benzo(a)Pireno por bactérias (adaptado de Juhasz *et al.*, 2000).

Bactéria	Substrato de crescimento	Concentração inicial do BaP	% remoção	CO ₂ produzido	Tempo de incubação	Referência
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	Fluoranteno		5		168 h	Ye <i>et al.</i> , 1996
	Fluoranteno+levedura de cerveja	10 mg/L	40		16 h	
<i>Mycobacterium sp.</i> RJGII-135	Naftaleno+ Glucose	10 mg/L	31,5	28%	48 h	Schneider <i>et al.</i> , 1996
	Leveduras de cerveja+peptona+goma	0,4 mg/L	40		32 dias	
<i>Beijernickia strain B836</i>	<i>Succinate biphenyl</i>	75 mg/L			48 h	Gibson <i>et al.</i> , 1975
Cultura Mista (<i>P. putida</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Flavobacterium sp.</i>)	Leveduras de cerveja+Fluoranteno	10 mg/L	19		12 h	Trzesicka-Mlynarz and Ward, 1995
<i>Bacterium</i> Marinho	Peptona, leveduras de cerveja, goma	500 µg/L	25		2 semanas	Heitkamp and Cerniglia, 1988
<i>Pseudomonas saccharophila</i> P15	Fenantreno	10 mM		20-30%	48 h	Chen and Aiken, 1999
<i>Burkholderia cepacia</i>	Pireno	50 mg/L	1,4-6,2		56 dias	Juhash <i>et al.</i> , 1997
<i>Burkholderia cepacia</i>	Pireno	50 mg/L	20-30		63 dias	Juhash <i>et al.</i> , 1996, 1997
<i>Rhodococcus sp</i> UW1	Pireno	250 mg/L	11		2 semanas	Walter <i>et al.</i> , 1991
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Pireno	50 mg/L		0,12%	70 dias	Juhash, 1997
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Pireno	50 mg/L		32%	56 dias	Stanley <i>et al.</i> , 1999
<i>Pseudomonas species</i> , <i>Agrobacterium</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Burkholderia</i> , <i>Sphingomonas</i>	Fenantreno			3-37%	24 h	Aitken <i>et al.</i> , 1998

Degradação por Fungos

Um grupo diverso de fungos lenhínicos e não-lenhínicos também mostraram capacidade para oxidar PAHs (Tabela 14). Destes, alguns mostraram a capacidade de transformar BaP em metabolitos polares após crescimento com fontes alternativas de carbono, no entanto apenas um número muito reduzido consegue mineralizar BaP.

Diversos autores observaram remoções do BaP de 90-99%, após incubação com *P. chrysosporium*, *Pycnoporus cinnabarinus*, *Trametes versicolor*, *Bjerkandera* sp. strain BOS55 e *Nematoloma frowardii* (Sanglard *et al.*, 1986; Rama *et al.*, 1998, Majcherczyk *et al.*, 1998, Kottermann *et al.*, 1998; e Sack *et al.*, 1997b).

Alternativamente, a oxidação do BaP pode ser catalizada por diferentes mecanismos enzimáticos envolvendo peroxidases e lacases extracelulares (Launen *et al.*, 1995; Majcherczyk *et al.*, 1998). Por exemplo as quinonas 1,6, 3,6 e/ou 6,12 de BaP têm sido detectadas como metabolitos polares resultantes da actividade de *P. chrysosporium*, *C. elegans*, *A. ochraceus*, *T. versicolor* e *P. cinnabarinus* (Haemmerli *et al.*, 1986; Cerniglia and Gibson, 1980a; Datta and Samanta, 1988; Majcherczyk *et al.*, 1998; Rama *et al.*, 1998). A acumulação de metabolitos do BaP após transformação por fungos revela alguma preocupação, uma vez que os fungos monoxidases podem oxidar o BaP a epóxidos e dihidrodíols, que são potenciais compostos cancerígenos (Tabela 15).

Tabela 14 – Degradação do Benzo(a)Pireno por fungos (adaptado de Juhasz *et al.*, 2000).

Fungos	Substrato de crescimento	Quantidade/Concentração inicial do BaP	% remoção	CO ₂ produzido	Tempo de incubação	Referência
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Glucose	150 nmol	99	14,60%	168 h	Sanglard <i>et al.</i> , 1986
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Glucose+álcool	50 nmol	44-60		2 h	Haemmerli <i>et al.</i> , 1986
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Glucose	1,25 nmol		116,8 pmol	30 dias	Bumpus <i>et al.</i> , 1985
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Glicerol	76 µg/L		3%	24 dias	Baeclay <i>et al.</i> , 1995
<i>Cunninghamella elegans</i>	<i>Sabouraud dextrose broth</i>	53,1 µmol	18,4		96 h	Cerniglia e Gibson, 1980a
<i>Cunninghamella elegans</i>	<i>Sabouraud dextrose broth</i>	53,1 µmol			48 h	Cerniglia e Gibson, 1980b
<i>Cunninghamella elegans</i>	<i>Sabouraud dextrose broth</i>	53,1 µmol			24 h	Cerniglia e Gibson, 1980c
<i>Pleurotus ostreatus</i>				0,19%	11 dias	Bazalel <i>et al.</i> , 1996
<i>Pleurotus sp. Florida</i>	Palha de trigo	5-125 mg/Kg		39%	15 semanas	Wolter <i>et al.</i> , 1997
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Sacarose + licor de milho	80 µmol			16-18 h	Ghosh <i>et al.</i> , 1983
<i>Aspergillus ochraceus</i>		0,4 mmol			48 h	Datta and Samanta, 1988
<i>Trametes versicolor</i>	Glucose	20 mg/L			24 h	Collins <i>et al.</i> , 1996
<i>Trametes versicolor</i>	1-hidroxibenzotriazol	25 mmol	90		72 h	Majcherczyk <i>et al.</i> , 1998
<i>Pycnoporus cinnabarinus</i>		0,1 mmol	95		24 h	Rama <i>et al.</i> , 1998
<i>Bjerkandera sp. Strain BOS55</i>	Extracto de Malte + Glucose	10 mg/L	83		28 dias	Field <i>et al.</i> , 1992
<i>Bjerkandera sp. Strain BOS55</i>	Glucose	50 mg/L	47-98		3 - 4 dias	Kottermann <i>et al.</i> , 1998

h - horas

Tabela 15 – Metabolitos produzidos da degradação do BaP por Fungos (adaptado de Cerniglia, C.E., 1997).

Composto	Referência	Metabolitos
BaP	Cerniglia e Gibson, 1979. Cerniglia e Gibson, 1980a, b	<i>Benzo(a)pyrene trans-4,5-dihydrodiol</i> <i>Benzo(a)pyrene trans-7,8-dihydrodiol</i> <i>Benzo(a)pyrene trans-9,10-dihydrodiol</i> <i>Benzo(a)pyrene-1,6-quinone</i> <i>Benzo(a)pyrene-3,6-quinone</i> <i>Benzo(a)pyrene-6,12-quinone</i> <i>3-Hydroxybenzo(a)pyrene</i> <i>9-Hydroxybenzo(a)pyrene</i> <i>7b,8a,9a,10b-tetrahydrobenzo(a)pyrene,</i> <i>7b,8a,9a,10b-tetrahydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo(a)pyrene,</i> <i>Benzo(a)pyrene 7,8-dihydrodiol-9,10-epoxide,</i> <i>Glucuronide and Sulfate conjugates of hydroxylated intermediates</i>

Na Tabela 16, apresentam-se alguns estudos de biodegradação com fungos em solos, dos quais se constata que a maior percentagem de degradação do BaP (74 %) foi obtida com *White rot fungus Bjerkandera sp.* Strain BOS55 (Kotterman *et al.*, em 1998).

Para além das bactérias e dos fungos também as algas podem degradar BaP. São poucos os estudos que relatam a degradação do BaP por algas, porém, Lindquist e Warshawsky em 1985 e Warshawsky *et al.*, em 1988, demonstraram a oxidação do BaP por algas verdes *Selastrium capricornutum*. Da degradação do BaP resultou cis-4,5, 7,8, 9,10 e 11,12-BaP-dihidrodiols.

Tabela 16 – Biodegradação do BaP em solos.

Tipo de Matriz	Tipo Microrganismos	PAHs	Condições usadas	Eficiências	Bibliografia
Solo	Fungos	Naftaleno e Benzo(a)Pireno	---	---	Cerniglia, 1992
	Fungos – <i>White rot</i>	Naftaleno e Benzo(a)Pireno	---	---	Cerniglia, 1984
	Fungo – <i>Corioloyses gallica</i> (lacase)	Grande variedade de PAHs: acenaftaleno, fenantreno, antraceno, Benzo(a)Pireno, bifenileno, 2-metilantraceno	---	---	Pickart <i>et al.</i> , 1999
	White rot fungus <i>Bjerkandera sp.</i> Strain BOS55	Benzo(a)Pireno	Culturas puras e condições laboratoriais	74%	Kotterman <i>et al.</i> , 1998
Solo com creosote	Fungo - <i>Pleuroteus ostreatus</i>	5 anéis	7 semanas	48%	Eggen, 1999
Solo	Fungo não lenhinolitico – <i>Penicillium janthinelum</i> VUO10, 201	Criseno, benzo[a]antraceno, dibenzo[a,h]antraceno e Benzo(a)Pireno	Inoculação com co- culturas de bactérias e fungos	----	Boonchan <i>et al.</i> , 2000

1.2.2. Adsorção com Carvão Activado

Nas duas últimas décadas têm-se desenvolvido muitos estudos sobre a distribuição dos poluentes no meio ambiente, em particular na água, solos e sedimentos. Nos modelos de equilíbrio desenvolvidos estima-se que a adsorção de contaminantes orgânicos se fizesse, por simplificação, através de uma isotérmica linear e reversível. No entanto, esta simplificação mostrou-se inadequada quando se considera a ocorrência de dessorção.

Os poluentes orgânicos possuem propriedades físicas e químicas distintas, com variados graus de hidrofobicidade, muitos deles são resistentes à dessorção, outros têm uma dessorção extremamente lenta, podendo levar meses ou anos até dessorverem do solo e dos sedimentos.

Os processos de dessorção dos contaminantes orgânicos são caracterizados normalmente por duas fases distintas, uma com uma rápida velocidade de dessorção e outra posterior de baixa velocidade de dessorção, sugerindo a possibilidade de haver uma fracção de soluto irremediavelmente ligada ao solo ou ao sedimento.

O carvão activado é definido como sendo um material poroso com grande área superficial capaz de adsorver substâncias. As matérias-primas mais comuns na produção do carvão activado são:

- Carvão betuminoso
- Ossos
- Casca de coco
- Turfa
- Casca de noz
- Resíduos de petróleo
- Açúcar
- Madeira
- Carço de azeitona
- Carço de pêssego

A utilização de carvão activado como adsorvente de poluentes orgânicos e inorgânicos presentes em águas é muito eficiente, devido às suas excelentes propriedades, nomeadamente, a elevada área superficial, estrutura porosa, elevada capacidade de adsorção e a natureza química da sua superfície.

A adsorção tem sido uma poderosa técnica no tratamento e purificação de gases e líquidos (efluentes domésticos e industriais). No entanto têm sido usados para eliminação de poluentes orgânicos sistemas de tratamento complexos e dispendiosos.

Zhou *et al.*, em 2005, realizaram testes de incineração de resíduos sólidos urbanos em leito fluidizado e adsorção com carvão activado para PAHs, e concluíram que os PAHs, em particular os de 5 anéis (BaP) podiam ser eficientemente removidos da corrente gasosa, atingindo eficiências da ordem dos 91%.

1.2.3. Fotodegradação

A Fotodegradação é a transformação química de um composto em compostos mais pequenos, provocada pela absorção de luz (visível, ultravioleta ou infravermelho). Os processos fotoquímicos de degradação têm como princípio a adição de energia aos compostos químicos na forma de radiação. Alguns tratamentos são facilitados quando expostos à luz solar (Ferrarese *et al.*, 2007).

No entanto existe uma série de limitações para o uso deste tratamento:

- A primeira delas é que os compostos orgânicos a serem eliminados absorvem a luz em competição com outros compostos presentes na água a tratar.
- A segunda é que os compostos orgânicos geram uma grande variedade de reacções fotoquímicas que podem produzir produtos mais difíceis ainda de degradar.
- E por fim, nem toda a radiação emitida pela fonte de radiação é totalmente aproveitada, apenas a radiação absorvida e apenas uma parte dela produz alterações químicas, o que quer dizer que algumas reacções de fotodegradação têm cinéticas de degradação muito lentas.

Para acelerar o processo, outros oxidantes como peróxido de hidrogénio e/ou ozono, sais metálicos ou semicondutores como TiO_2 podem ser adicionados dando origem aos chamados Processos de Oxidação Avançados (AOP) (Ferrarese *et al.*, 2007).

1.2.4. Oxidação

A oxidação geralmente utiliza um agente oxidante como o ozono (O_3), peróxido de hidrogénio (H_2O_2), permanganato (KMnO_4^-), dióxido de cloro (ClO_2), cloro (Cl_2) entre outros.

O ozono e o peróxido de hidrogénio são os oxidantes mais utilizados. O ozono é utilizado no tratamento quer de águas quer de solos, o peróxido de hidrogénio é capaz de oxidar compostos orgânicos, sendo os produtos finais da oxidação CO_2 e H_2O (Kulik *et al.*, 2006).

Permanganato

O Permanganato (MnO_4^-) é um agente oxidante com um potencial de redução de 1,7 V. Tem-se mostrado um oxidante eficiente na remediação de muitos hidrocarbonetos de petróleo e tem sido largamente aplicado para tratamentos *in situ* e *ex situ* (Ferrarese *et al.*, 2007).

Em sistema aquoso, os sais de permanganato geram iões de permanganato (MnO_4^-), que sofrem a reacção de decomposição apresentada na equação 1.



Quer o permanganato de potássio (KMnO_4) quer o permanganato de sódio (NaMnO_4), podem ser usados em aplicações ambientais, com resultados semelhantes. Apesar do potencial de oxidação padrão relativamente baixo, os sais de permanganato são considerados agentes oxidantes fortes, capazes de quebrar moléculas orgânicas, que contêm ligações duplas carbono-carbono, grupos aldeídos ou grupos hidroxilo (Ferrarese *et al.*, 2007).

Os compostos que podem ser oxidados com permanganato incluem: alcenos, aromáticos, PAHs, fenóis, pesticidas e ácidos orgânicos. O pH óptimo de oxidação situa-se entre os 7 e 8.

Devido à abundância de Mn na crosta terrestre e à existência natural de MnO_2 no solo, a introdução de KMnO_4 no solo, bem como a produção da oxidação com MnO_2 , não será um problema ambiental. Comparado ao H_2O_2 , o KMnO_4 é tão eficiente ou mesmo mais eficiente na oxidação de compostos orgânicos. Além disso o KMnO_4 é mais estável e mais fácil de manusear. Uma das desvantagens será a redução da permeabilidade, devido à possível formação de partículas de MnO_2 (Yin *et al.*, 1999).

Brown *et al.*, em 2003, realizaram um estudo em solo contaminado com seis PAHs, (Antraceno 167 mg/kg, Benzo(a)pireno 63 mg/kg, Criseno 65 mg/kg, Fenantreno 64 mg/kg, Fluoranteno 164 mg/kg e Pireno 204 mg/kg), no sentido de estudar a viabilidade do uso do permanganato como método de redução da concentração desses contaminantes. Os resultados desse estudo demonstraram uma redução da concentração de PAHs no solo.

A maior redução da concentração de PAHs no solo verificou-se para o Benzo(a)Pireno, Pireno, Fenantreno e Antraceno com 72.1, 64.2, 53.2 e 53.8% respectivamente, em 30 minutos de reacção de oxidação com uma concentração de 160 mM de KMnO_4 (Tabela 17). Nas mesmas condições as reduções mínimas obtidas foram registadas para o Fluoranteno e para o Criseno (13.4 e 7.8 % respectivamente).

Tabela 17 – Fracção residual de PAHs presente no solo (e desvio padrão respectivo) após tratamento com 160 mM de KMnO_4 ; factores de correlação linear da degradação (adaptado de Brown *et al.*, 2003).

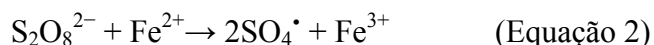
(adaptado de Brown <i>et al.</i> , 2005).					
PAH	Fracção residual de PAH no solo (%)				Correlação linear da degradação
	Tempo (min)				
	0	10	20	30	
Antraceno	100,0 (±15,8)	69,0 (±2,3)	53,8 (±3,4)	46,2 (±2,6)	0,96
Benzo(a)Pireno	100,0 (±16,4)	64,1 (±6,0)	39,6 (±2,9)	27,9 (±3,2)	0,98
Criseno	100,0 (±14,1)	97,4 (±9,2)	95,6 (±6,7)	92,2 (±14,4)	0,99
Fluoranteno	100,0 (±7,7)	91,8 (±2,5)	90,4 (±8,9)	86,6 (±3,9)	0,95
Fenantreno	100,0 (±8,7)	77,4 (±2,2)	61,1 (±5,7)	43,8 (±2,1)	1,00
Pireno	100,0 (±8,6)	75,9 (±1,4)	68,6 (±6,5)	35,8 (±2,0)	0,97

Persulfato

O agente oxidante mais recentemente usado em aplicações ambientais é o persulfato. O persulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$) é o composto mais usado uma vez que a baixa solubilidade do persulfato de potássio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) limita a sua aplicação como agente oxidante.

Os sais de persulfato dissociam-se dando origem a iões persulfato ($\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$), que apesar do seu potencial normal de oxidação ser 2,0 V, é cineticamente lento na destruição da maior parte de compostos orgânicos.

A adição de um metal como catalizador da reacção (por exemplo ferro), pode activar o ião persulfato a produzir um oxidante mais forte, radical livre de sulfato ($\text{SO}_4^\bullet$), segundo a equação 2.



A aplicação de persulfato na oxidação de PAHs está actualmente muito pouco explorada. Nadim *et al.*, em 2005 verificaram que a oxidação com persulfato em meio aquoso efectivamente degradava os 16 PAHs incluídos na lista de compostos prioritários da EPA. Em todos os ensaios realizados com persulfato de sódio (5 g/L) a diferentes temperaturas de reacção (30, 40 e 50 °C), constataram uma redução de PAHs abaixo do limite de detecção do instrumento (1 mg/L). Os ensaios realizados à temperatura ambiente (20 °C) também mostraram uma degradação eficiente de PAHs o que nos leva a dizer que a reacção de oxidação não depende da temperatura.

Numa segunda experiência, efectuaram testes com Fe^{2+} /EDTA catalizada com persulfato, os resultados mostraram-se promissores no que diz respeito à extensão da degradação dos PAHs. Isto porque a existência de Fe^{2+} /EDTA na oxidação com persulfato acelera o consumo de iões persulfato. Este processo mostrou a capacidade de degradar 75 a 100% de Fenantreno, Pireno, Fluoranteno, Benzo(a)antraceno, Benzo(a)pireno, Criseno e Benzo(a)fluoranteno nas amostras de solo (Figura 7).

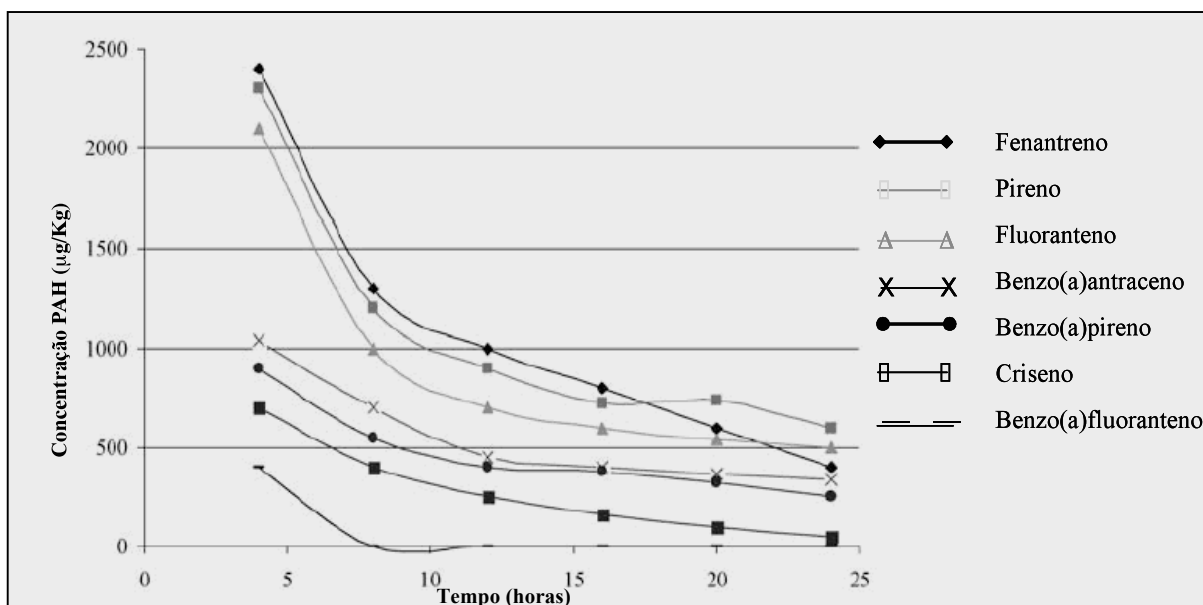


Figura 7 – Degradação de sete PAHs no solo com Fe^{2+} /EDTA catalisado com persulfato, (adaptado de Nadim *et al.*, 2005).

1.2.5 Oxidação Avançada

Devido aos riscos que o BaP representa para a saúde pública, várias metodologias para descontaminação das matrizes ambientais têm sido desenvolvidas. Os Processos de Oxidação Avançada (AOP) têm-se evidenciado pela sua elevada capacidade de destruição do BaP, que se processam através de uma série de reacções químicas e não apenas na transferência de fase, mas também pelas suas aplicabilidades em grande número de matrizes ambientais.

Os Processos de Oxidação Avançada baseiam-se na formação de radicais hidroxilo ($\text{HO}^\bullet$), altamente oxidantes e capaz de reagir com praticamente todas as classes de compostos orgânicos e inorgânicos podendo levar à formação de intermediários mais biodegradáveis e por vezes à mineralização total dos poluentes (Schrank *et al.*, 2005).

Normalmente estas reacções necessitam de um ou mais catalizadores para aumentar a velocidade da reacção, o que pode ser, desde um ajuste de pH a um catião metálico (Fe, Mn, TiO_2).

A oxidação avançada aplica-se geralmente em situações em que os compostos orgânicos são: não biodegradáveis, tóxicos ou que inibem o crescimento de microrganismos.

A grande vantagem destes processos reside no facto de serem destrutivos, isto é, os compostos são degradados através de uma série de reacções química, levando à formação de intermediários mais biodegradáveis e muitas vezes à mineralização total, em que os produtos finais do tratamento são CO_2 , H_2O , ácidos e sais inorgânicos. Na Tabela 18 estão apresentados vários tipos de Processos de Oxidação Avançada.

O custo destes processos restringe muitas vezes a sua utilização, por isso são muito utilizados os métodos de degradação combinados, onde se efectua a oxidação para diminuir a toxicidade do poluente e posteriormente a bioremediação. Desta forma diminui-se a inibição dos microrganismos (Higarasshi *et al.*, 2000).

Tabela 18 - Processos de Oxidação Avançada (adaptado de Metcalf & Eddy, 1991).

Processos de Oxidação Avançada	
Processos com Ozono	Processos sem Ozono
O_3 a pH elevado	$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{UV}$
$\text{O}_3 + \text{UV}$	$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{UV} + \text{sais de ferro}$
$\text{O}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$	Ultra-sons
$\text{O}_3 + \text{UV} + \text{H}_2\text{O}_2$	Foto-catálise ($\text{UV} + \text{TiO}_2$)
$\text{O}_3 + \text{TiO}_2$	$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+}$ (Reagente de Fenton)
$\text{O}_3 + \text{TiO}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$	
$\text{O}_3 + \text{Ultra-sons}$	

Comparando com outras tecnologias de oxidação *in situ* a ozonização oferece as seguintes vantagens (Yin *et al.*, 1999):

- É muito mais fácil introduzir ozono numa zona de contaminação do que um oxidante aquoso.
- Não é necessária a volatilização da carga química.
- Na oxidação *in situ* provavelmente será mais rápido que a biodegradação ou processos de arejamento, reduzindo o tempo e custo de tratamento.

O ozono é muito reactivo e corrosivo para os materiais, por isso deve ser produzido no local. Este reage rapidamente no subsolo e não se espalha muito para além do ponto de descarga.

O uso de ozono é uma boa alternativa na remoção de PAHs, pois devido à sua estrutura molecular, estes reagem rapidamente com o ozono. Um parâmetro a controlar será o pH, que tem grande influência na oxidação química dos PAHs com este oxidante. A velocidade de desaparecimento dos PAHs diminui com o aumento de pH, sugerindo-se que a ozonização directa é a principal reacção da decomposição de PAHs (Haapea *et al.*, 2006).

Neste tipo de reacção são necessárias 2 moléculas de ozono para oxidar uma molécula de PAH, mas os produtos intermediários podem consumir muito mais ozono. Actualmente existem também combinações com luz UV.

Oxidação com Ozono e UV

O processo de ozonização tradicional pode não ser efectivo na oxidação de certos poluentes, que reagem lentamente. Para estes casos, a taxa de oxidação pode ser aumentada com a adição de catalisadores, um segundo oxidante, e/ou radiação ultravioleta e outros.

Este processo pode desenvolver três caminhos para remoção de compostos orgânicos (Figura 8 e 9):

- Fotólise directa,
- Ozonização directa
- Oxidação por radical.

Os radicais hidroxilo resultam da decomposição do ozono, devido á fotólise e reacções com o anião hidróxido (Hoigne *et al.*, 1998).

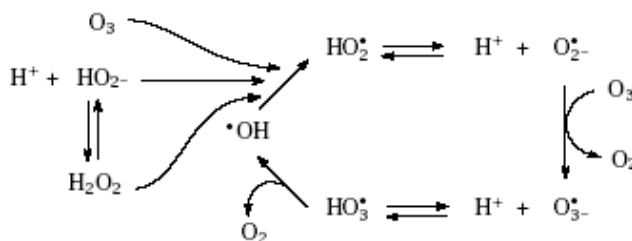


Figura 8 – Mecanismos de produção de radicais hidroxilos.

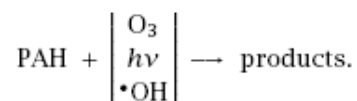


Figura 9 – Reacção de oxidação de PAHs.

Este sistema contém três componentes para produzir radicais $\text{HO}^\bullet$ e/ou para oxidar o poluente para a reacção subsequente: radiação UV, ozono e peróxido de hidrogénio.

O sistema de oxidação UV/ O_3 é eficiente para a oxidação e destruição de compostos orgânicos na água. Basicamente consiste em saturar a solução aquosa com O_3 e irradiá-la com luz UV ao comprimento de onda de 253,7 nm.

Experiências realizadas por Ledakowicz *et al.*, em 2001, com Benzo(a)Pireno (BaP), Criseno (CHR) e Fluoreno (FLU) em soluções aquosas utilizando sistema O_3 /UV resultaram nas seguintes conclusões:

- A ozonização combinada com a radiação UV é um método rápido e efectivo na degradação dos PAHs referidos, em ambiente aquoso. A taxa mais elevada de degradação é encontrada nas soluções ácidas e a mais baixa nas soluções alcalinas.
- Em solução neutra o BaP é mais oxidado pela fotólise directa (Tabela 19).
- Dos 3 métodos de degradação de PAHs (O_3 , radiação UV e O_3 /UV), o processo combinado foi o mais efectivo. A aplicação deste sistema no lugar da ozonização ou fotólise é aconselhável para águas naturais, contendo BaP.

Ledakowicz *et al.*, em 2001, avaliaram a contribuição da ozonização, fotólise e reacção com radicais para o processo combinado O_3 /UV durante a degradação do BaP (Tabela 19).

Tabela 19 - Contribuição da ozonização directa, fotólise e reacção com radicais no processo combinado O₃/UV para a oxidação do BaP, [BaP]=4.76*10⁻⁹ M =1.20 µg/L (Ledakowicz *et al.*, 2001).

Condições de degradação do BaP					
C ₀ =4,76*10 ⁻⁹ M; Y _w =5,2 mg/dm ³ ; Q _v =8 dm ³ /h; T= 293 K; t=15 s; kOH=2,53*10 ¹⁰ M ⁻¹ s ⁻¹					
pH	r ⁰ *10 ¹⁰ M s ⁻¹	γ _{UV} %	γ _{O₃} %	γ _{OH} %	C _{OH} *10 ¹³ M
2	1,04	44,3	41,2	14,5	2,7
4	0,974	59,5	33,1	7,4	1,1
7	0,93	74,9	24,6	0,5	0,06
9	0,838	78,5	20,9	0,6	0,06
12	0,679	87,9	7,4	4,7	0,37

Sendo: C₀ – Concentração inicial; Q_v – Caudal volumétrico; Y_w – Quantidade de ozono no gás de alimentação; t – Tempo; k – Constante da reacção
r⁰ – Velocidade da reacção inicial; γ – Contribuição da reacção particular no processo.

Constataram que o processo que mais contribuiu para a degradação foi a fotólise aumentando com o aumento de pH. Relativamente à contribuição da ozonização esta baixou à medida que o pH aumentou. Do ponto de vista prático e porque grande parte das águas naturais têm pH próximo do neutro, foi importante verificarem que o processo que mais contribuiu para a degradação do BaP foi a fotólise. A comparação dos processos de degradação O₃, UV e O₃/UV, na oxidação do BaP, CHR e FLU está apresentada na Figura 10.

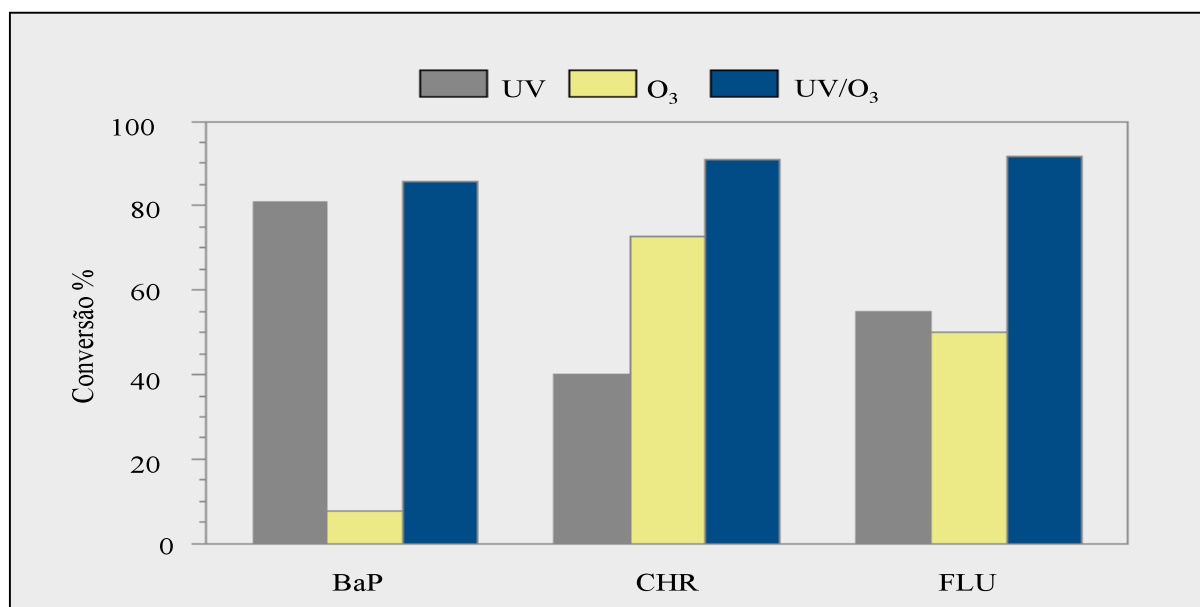


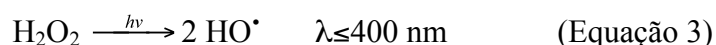
Figura 10 - Comparação dos processos de degradação O₃, UV e O₃/UV, na oxidação do BaP, CHR e FLU (adaptado de Ledakowicz *et al.*, 2001).

Oxidação com H₂O₂/ UV

De entre os processos de oxidação avançada, o processo com H₂O₂/UV é o mais simples em termos de operação, manutenção e complexidade. A sua única desvantagem é a vulnerabilidade a interferências pela absorção de radiação UV dos componentes da solução.

A degradação dos poluentes neste caso deve-se a dois processos: fotólise directa e destruição através dos radicais hidroxilo. A radiação UV consegue produzir radicais hidroxilo por fotoactivação do H₂O₂. Sem esta fotoactivação, o H₂O₂ não consegue destruir os poluentes mais difíceis de oxidar, como o BaP.

Na equação 3 apresenta-se o mecanismo mais bem aceite para a fotólise do H₂O₂ que é a quebra da molécula em radicais hidroxilo.

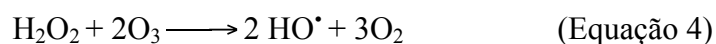


A grande vantagem deste processo relativamente ao uso de O₃, é o facto de ser um processo barato de obtenção de radicais e elimina o problema de manuseamento do O₃.

A maior desvantagem deste processo é ter baixa eficiência de tratamento quando as águas apresentam absorvâncias elevadas. Quando isso acontece, pode haver competição da radiação com o H₂O₂.

Oxidação com O₃/H₂O₂

A adição de peróxido de hidrogénio ao ozono é outra maneira de acelerar a decomposição do ozono, conduzindo à formação de radicais hidroxilo (equação 4).



A vantagem deste sistema é que não depende de radiação UV, assim sendo pode ser aplicado em soluções aquosas com elevada turvação. É relativamente fácil adaptar um sistema de O_3 para o H_2O_2 basta adicionar um doseador.

Oxidação com H_2O_2 / Ozono / UV

A adição de H_2O_2 ao processo O_3 /UV tem como consequência o aceleração da decomposição do ozono aumentando a taxa de produção de radicais $HO^\bullet$. Este é um processo de oxidação muito poderoso que permite uma redução considerável de Carbono Orgânico Total (TOC) (Rodríguez, 2003).

UV/ TiO_2

O processo de foto catálise heterogénea consiste em utilizar uma radiação do UV próximo para excitar um semicondutor na presença de oxigénio. Sobre estas condições são geradas espécies oxidativas.

O processo é heterogéneo porque existem duas fases activas (sólida e líquida). Muitos processos catalíticos têm sido estudados, no entanto o TiO_2 revelou-se ser o processo mais interessante, bastante estável, boa performance e baixo custo. No entanto tem como desvantagens a separação catalítica da solução, perda do catalisador na matéria orgânica e a baixa solubilidade do BaP em matrizes aquosas (Rodríguez, 2003).

1.2.5.1. Oxidação com Reagente de Fenton

Um outro processo utilizado para degradação de PAHs é a oxidação com Reagente de Fenton (mistura de peróxido de hidrogénio e ferro, actuando este último como catalisador).

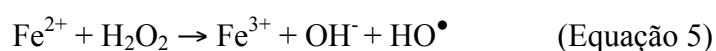
A oxidação química de compostos orgânicos pode ser parcial ou completa (conversão destes compostos em dióxido de carbono e água sem a presença de microrganismos). No caso

de uma oxidação parcial, os compostos originais podem ser parcialmente oxidados a substâncias mais biodegradáveis como álcoois, aldeídos, cetonas e ácidos carboxílicos. A oxidação química pode ser utilizada como tratamento único ou como pré tratamento, aumentando a biodegradabilidade ou toxicidade de certos afluentes, sendo estes então reencaminhados para outros tratamentos, como por exemplo tratamento biológico.

Os processos de aplicação de peróxido de hidrogénio dividem-se em três categorias distintas:

- Aplicações simples, com injeção directa de peróxido;
- Processos avançados de oxidação, com a formação de radicais hidroxilo sem a presença de catalisadores metálicos (por exemplo, com utilização de ozono ou luz UV)
- Catalíticas, onde se enquadra o Reagente de Fenton, e que compreendem o recurso a um catalisador metálico.

O poder oxidante do reagente de Fenton provém da divisão da molécula de H_2O_2 em OH^- e radicais $\text{HO}^\bullet$, em meio ácido, sendo o passo chave do processo a formação desses radicais (equação 5).



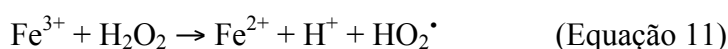
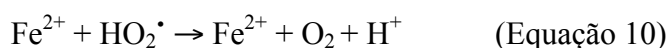
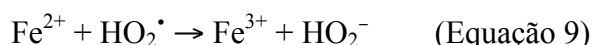
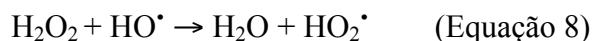
No processo Foto-Fenton ($\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+}$) para além da equação 5, formam-se também radicais hidroxilos na presença de radiação UV, de acordo com a equação 6.



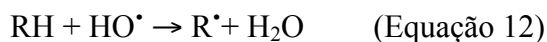
A fotólise necessita de baixos comprimentos de onda UV, de elevada intensidade e de oxidantes químicos como o O_3 ou H_2O_2 para que o tratamento seja eficaz.

Castro *et al.*, em 2001 concluíram que, quando se trabalha com um excesso de iões Fe^{2+} , ocorrem preferencialmente as reacções representadas nas equações 5 e 7; mas quando se trabalha com um excesso de H_2O_2 em meio ácido ocorrem preferencialmente as reacções apresentadas nas equações 5, 8 e 9 e as reacções apresentadas nas equações 10 e 11 são

consideradas desprezáveis. Por fim, para concentrações semelhantes de Fe^{2+} e H_2O_2 ocorrem as reacções apresentadas nas equações 5, 7, 8 e 9 (Castro *et al.*, 2001).



O radical hidroxilo é uma espécie com um tempo de semi-vida extremamente curto, mas muito reactivo, podendo ser sequestrado por outras espécies como o Fe^{2+} (equação 7) ou mesmo pelo H_2O_2 (equação 8). Na ausência de um substrato observa-se a decomposição autocatalítica do peróxido de hidrogénio em oxigénio gasoso e água mas, na sua presença, os radicais hidroxilo oxidam a matéria orgânica (equação 12).



As principais variáveis do processo são:

- Quantidade de ferro,
- Quantidade peróxido de hidrogénio
- Razão entre $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$,
- Concentração de substrato,
- Temperatura,
- pH.

Mediante estudos realizados com vários compostos, concluiu-se que o aumento da concentração de ferro levava a um aumento da velocidade de remoção de poluentes até um máximo, onde a adição de mais ferro não tem efeito na velocidade. É recomendada a presença de algum ferro inicial na solução, de modo a permitir um tempo de reacção razoável.

A reacção é altamente exotérmica, mas é também favorecida pelo aumento de temperatura. Para valores superiores a 40-50 °C o H_2O_2 decompõe-se rapidamente em água e

oxigénio, diminuindo muito a eficiência do processo. Assim, a gama óptima para a maioria das aplicações será entre 20 e 40 °C.

Efeito da concentração do Ferro

De um modo geral o catalisador apresenta-se sobre a forma de FeSO_4 . Geralmente a taxa de degradação dos compostos aumenta com a concentração inicial de ferro. No entanto um excesso de ferro pode igualmente consumir os radicais hidroxilo, prejudicando o processo. Existe assim uma gama óptima para a quantidade de catalisador a utilizar, que corresponde a um equilíbrio entre a eficiência do processo e o custo do reagente. Normalmente os factores que podem influenciar a definição da gama óptima são:

- Um limiar mínimo de concentração de ferro entre 3 e 15 mg/L para permitir o progresso da reacção num período razoável de tempo, qualquer que seja a concentração do material orgânico.
- Uma razão Fe^{2+} : substrato acima do limiar mínimo, normalmente 1:10 - 1:50.
- Uma alíquota suplementar de ferro que compense o consumo de ferro em reacções, e garanta a existência de ferro livre para catalisar a formação dos radicais hidroxilo.

A dosagem de ferro pode ser expressa como razão $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ em massa ou em moles, sendo a gama típica 1:5 – 1:25 (0,20 e 0,04) em peso. Tang e Huang em 1997 obtiveram a razão molar óptima teórica ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$), para qualquer substrato pela expressão:

$$\left(\frac{\text{H}_2\text{O}_2}{\text{Fe}^{2+}} \right)_{\text{Opt}} = \frac{K_{\text{Fe}^{2+} \cdot \text{OH}}}{K_{\text{H}_2\text{O}_2 \cdot \text{OH}}} = \frac{4,3 \times 10^8}{2,7 \times 10^7} = 15,9 \quad (\text{Equação 13})$$

Na oxidação de PAHs com reagente de Fenton, Beltrán *et al.*, em 1997, estudaram a degradação do Fluoreno. Usaram razões $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ em concentração molar entre 0,01 e 0,20 (0,015 e 0,30 razão em massa) e constaram que quanto maior a razão maior a remoção de Fluoreno e mais rápida era a reacção (Figura 11).

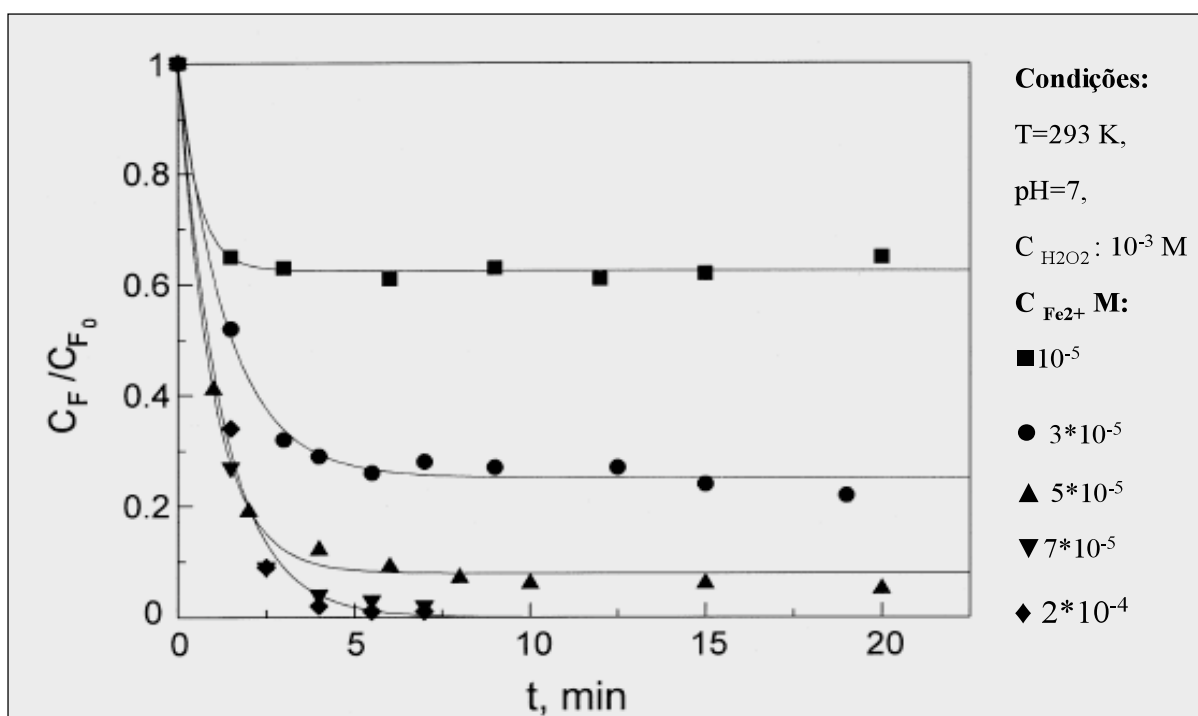


Figura 11 – Efeito da concentração de ião Ferro na oxidação do Fluoreno em água, com reagente de Fenton, para concentração inicial de Fluoreno de $5,2 \cdot 10^{-6}\text{ M}$ (adaptado de Beltrán *et al.*, 1997).

Efeito da concentração de H_2O_2

A concentração de H_2O_2 em solução é importante pois é esta espécie que vai fornecer iões hidroxilo à solução. É necessário atingir uma concentração de H_2O_2 elevada para que haja um decréscimo acentuado da toxicidade das águas. Um excesso de reagente pode igualmente ser prejudicial, pois pode dar origem a reacções parasitas de consumo de radicais hidroxilo, responsáveis pela oxidação.

Beltrán *et al.*, em 1997 estudaram o efeito da concentração de H_2O_2 no processo de oxidação por reagente de Fenton do Fluoreno em água. A Figura 12 mostra a variação da remoção de Fluoreno ao longo do tempo para diferentes concentrações de peróxido de hidrogénio. Observaram que existia um período inicial da reacção na qual a concentração de Fluoreno diminuía muito rápido especialmente para as concentrações de H_2O_2 de 10^{-4} e 10^{-3} M . Após os 5 a 10 minutos iniciais a concentração de Fluoreno permanecia praticamente constante. Esta tendência foi também observada para o Fenantreno e para o Acenafeno.

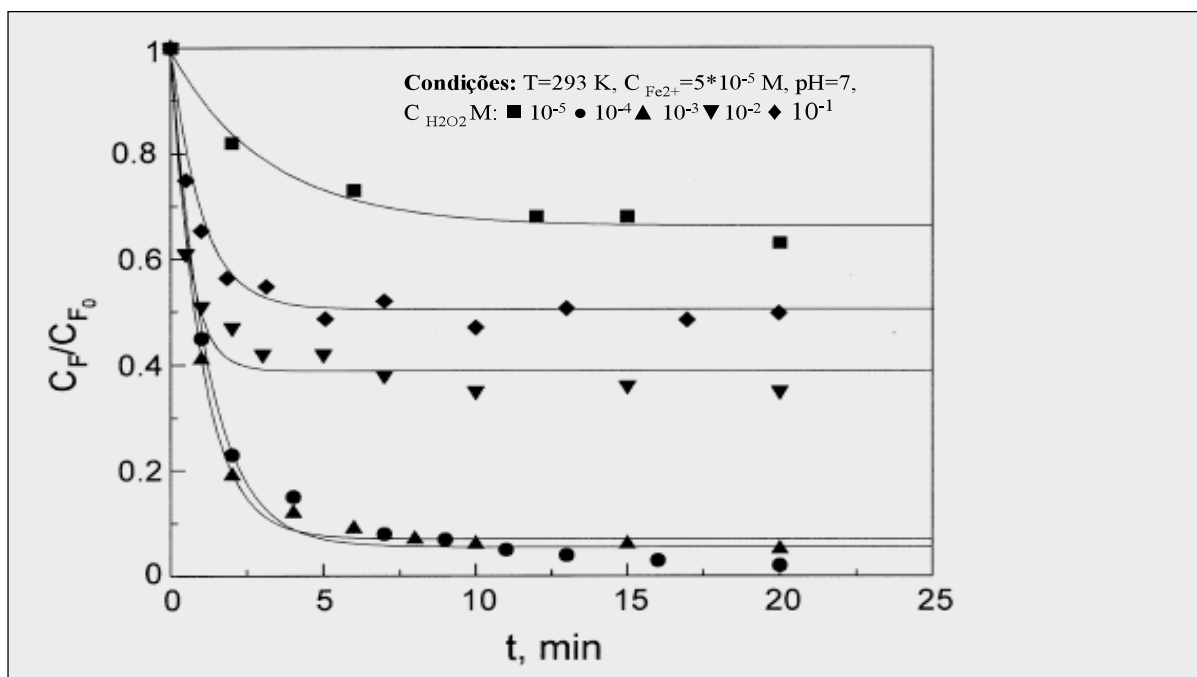


Figura 12 – Efeito da concentração de peróxido de hidrogénio na oxidação do Fluoreno com reagente de Fenton, para uma concentração inicial de Fluoreno de $5,2 \cdot 10^{-6}\text{ M}$ (adaptado de Beltrán *et al.*, 1997).

Constataram ainda, que o PAH mais reactivo com o reagente de Fenton era o Fenantreno seguido do Fluoreno (Figura 13).

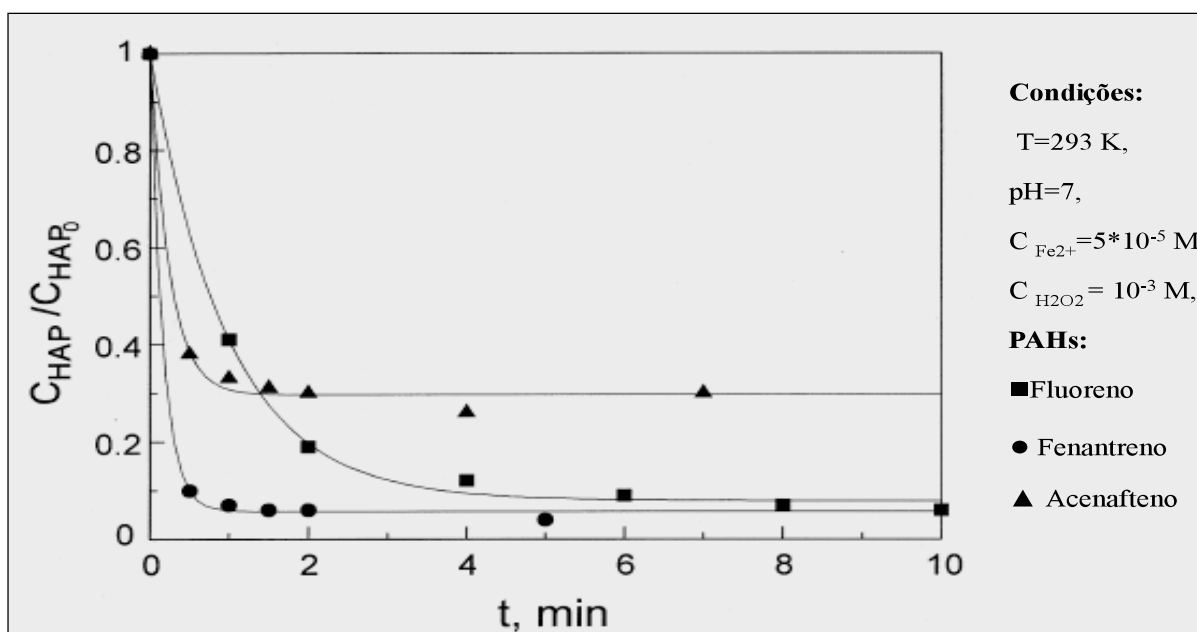


Figura 13 – Variação da remoção de Fluoreno, Fenantreno e Acenafteno com o tempo durante a oxidação com Reagente de Fenton, com concentrações iniciais de: Fluoreno: $5,2 \cdot 10^{-6}\text{ M}$; Fenantreno: $2,5 \cdot 10^{-6}\text{ M}$; Acenafteno: $1,5 \cdot 10^{-5}\text{ M}$ (adaptado de Beltrán *et al.*, 1997).

A estabilização da concentração de PAHs após os primeiros minutos de reacção pode ser devida à rápida cinética de reacção do Reagente de Fenton que resulta no consumo total de Fe^{2+} . Também é possível que o tempo de consumo de reagente de Fenton seja menor do que o tempo de agitação necessário para a mistura completa dos reagentes.

Efeito da temperatura

A velocidade da reacção com reagente de Fenton aumenta com o aumento da temperatura, com efeito negativo pronunciado para temperaturas abaixo dos 20 °C. No entanto quando as temperaturas aumentam acima de 40-50 °C, a eficiência da utilização de H_2O_2 também é reduzida. Isto é devido à decomposição acelerada do peróxido em oxigénio e água. Podemos afirmar que, na prática a maioria das aplicações comerciais do reagente de Fenton ocorrem a temperaturas entre os 20 e 40 °C.

Efeito do pH

As propriedades oxidantes do reagente de Fenton dependem do pH da solução, pelo que é necessário um controlo apropriado do pH aquando da utilização deste reagente, de modo a maximizar a eficiência.

O pH óptimo situa-se entre 3 e 6 de modo a que o Fe (III) fique em solução, em vez de precipitar como hidróxidos férricos, $\text{Fe}(\text{OH})_3$ e FeOOH , o que acontece a pH superior. Para além disso a pH superior a 6, o ferro catalisa a decomposição do peróxido de hidrogénio em água e oxigénio, não ocorrendo formação de radicais hidroxilo, o que leva à diminuição da eficiência de reacção. Esta propriedade é utilizada, no entanto, para remover o ferro do efluente final, através da sua precipitação em lamas de hidróxido de ferro, permitindo a sua reutilização.

Para pH inferior a 3, o método perde consistência mas de forma menos acentuada. Nesta situação a quantidade de Fe^{3+} , responsável pela continuidade do processo oxidativo, é muito baixa, estando este em equilíbrio com compostos intermediários.

Convém salientar que a adição do reagente, bem como a própria reacção de oxidação (que conduz geralmente à formação de ácidos orgânicos), afectam o pH do meio. Convém por isso controlar cuidadosamente o pH no reactor para que este se mantenha entre 3-5.

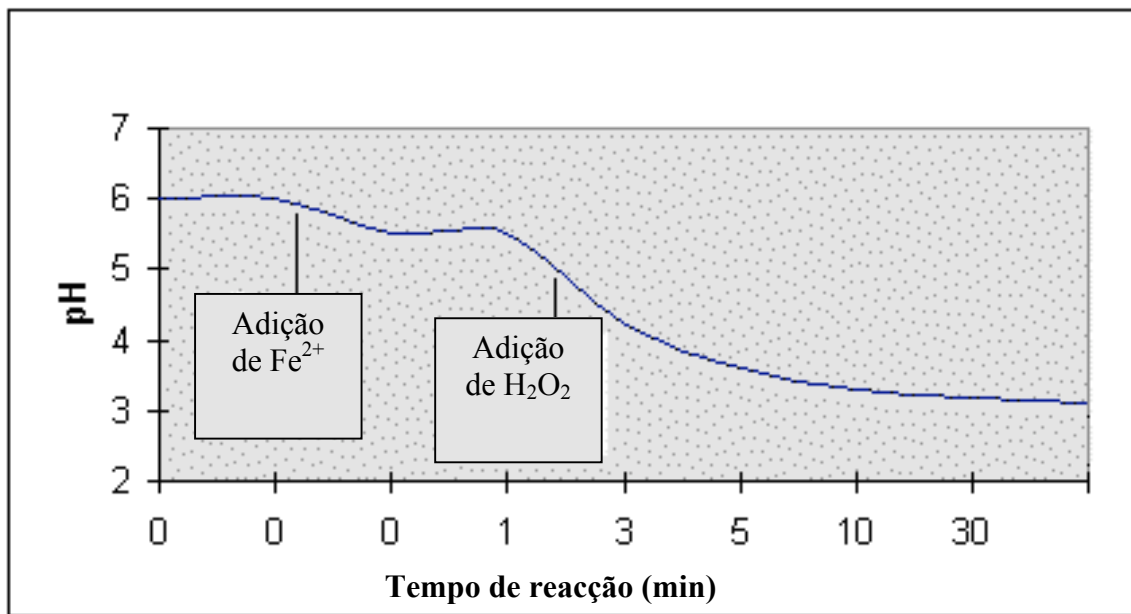


Figura 14 – Perfil típico de pH durante a reacção de Fenton.

Observando a Figura 14, verifica-se que a adição de Fe^{2+} (normalmente sob a forma de sulfato) é responsável por uma primeira diminuição do valor de pH. A segunda inflexão, mais pronunciada, ocorre quando se adiciona o peróxido de hidrogénio. Verifica-se que esta diminuição prossegue, de forma gradual, enquanto a reacção se dá, evolução essa que depende da concentração do catalisador e da matéria orgânica. Esta descida no valor de pH é atribuída à oxidação dos compostos orgânicos em ácidos orgânicos.

A evolução de pH é indicativa de que a reacção está a ocorrer. Uma ausência desta descida pode ser indicativo de que a reacção está a sofrer inibição e a concentração de peróxido aumenta ou mantém-se constante, dependendo da forma como o sistema funciona, em semicontínuo ou fechado, respectivamente (www.H2O2.com/industrialwatewater.com).

Beltrán *et al.*, em 1997, também estudaram a influência do pH na reacção com reagente de Fenton. Os resultados obtidos (Figura 15) mostraram que a degradação do Fluoreno em água apresenta uma maior remoção a pH 7, seguido da degradação a pH 3,4.

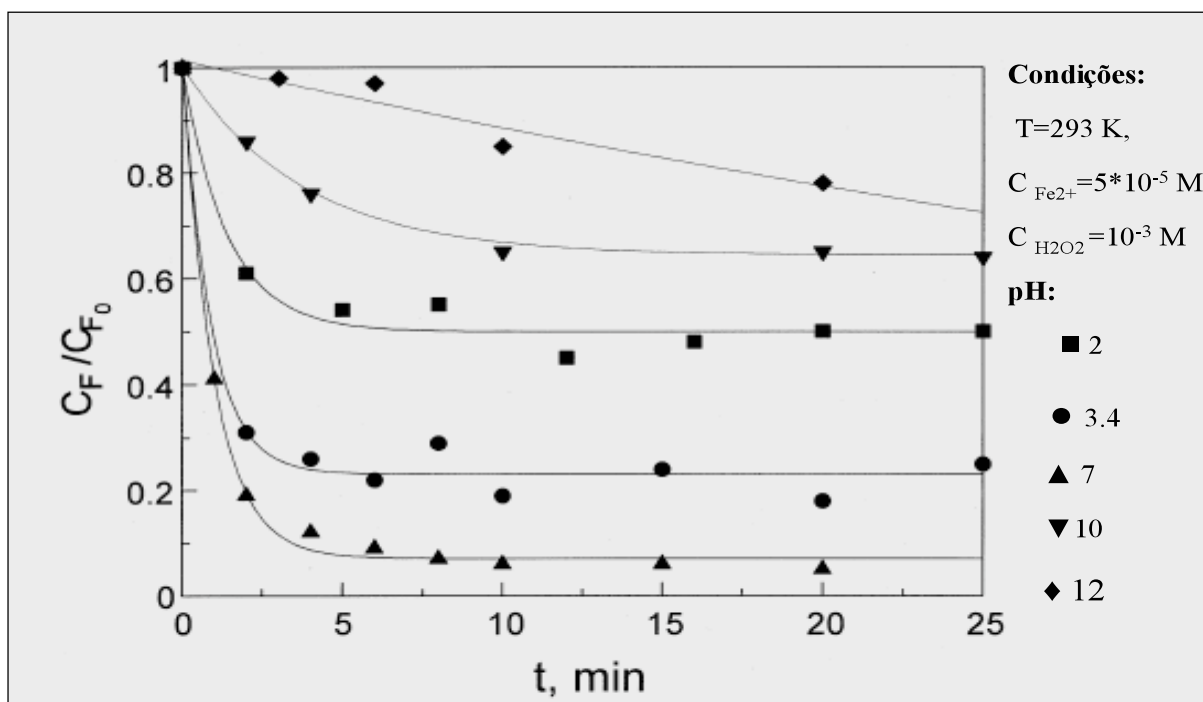


Figura 15 – Efeito do pH na remoção de Fluoreno ao longo do tempo de oxidação com reagente de Fenton, para uma concentração inicial de Fluoreno de $5,2 \cdot 10^{-6}\text{ M}$ (adaptado de Beltrán *et al.*, 1997).

Efeito do tempo de reacção

O tempo necessário para completar a reacção depende de várias variáveis, entre elas a razão $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ e a toxicidade dos compostos presentes na água.

Aplicações do Reagente de Fenton

O processo pode ser aplicado a águas, águas residuais, lamas ou solos contaminados com a seguinte finalidade:

- Destruição de poluentes orgânicos
- Redução da toxicidade
- Aumento da biodegradabilidade
- Redução da cor e cheiro
- Remoção da CQO/CBO.

Lee *et al.*, em 2000, obtiveram eficiências de remoção com reagente de Fenton em etanol da ordem dos 99,9% para o Benzo(a)Pireno.

Um outro estudo, realizado por Flotron *et al.*, em 2004; estudaram a remoção de poluentes absorvidos em solos, lama e sedimentos usando o reagente de Fenton. As condições experimentais usadas para o estudo estão apresentadas na Tabela 20.

A Figura 16 representa os resultados obtidos nas condições experimentais referidas na Tabela 20 e verifica-se que o Benzo(a)Pireno degrada praticamente na totalidade.

Tabela 20 – Dados experimentais, para oxidação de PAHs presentes em solos, lamas e sedimentos, por reagente de Fenton (Flotron *et al.*, 2004).

Experiência	Fe ²⁺ (mol/L)	H ₂ O ₂ (mol/L)	Fe ²⁺ /ΣPAHs (mol/mol)	H ₂ O ₂ /Fe ²⁺ (mol/mol)	PAH
0	0	0	0	0	Mistura - Fla Mistura - BbF Mistura - BaP
1	1*10 ⁻⁵	1.0*10 ⁻⁴	10	10	Mistura - Fla Mistura - BaP
2	8.2*10 ⁻⁵	1.7*10 ⁻⁴	80	2	Mistura - Fla Mistura - BaP
3	1.6*10 ⁻⁴	3.2*10 ⁻⁴	155	2	Mistura - Fla Mistura - BaP
4	1.6*10 ⁻⁴	1.6*10 ⁻⁴	155	10	Mistura - Fla Mistura - BaP
5	3.1*10 ⁻⁴	3.1*10 ⁻³	300	2	Mistura - Fla Mistura - BaP
6	1.6*10 ⁻⁴	3.2*10 ⁻⁴ (adição em 2 passos)	155	2	Mistura - Fla Mistura - BaP
7	3.1*10 ⁻⁴	3.1*10 ⁻³	300	10	Fla BaP

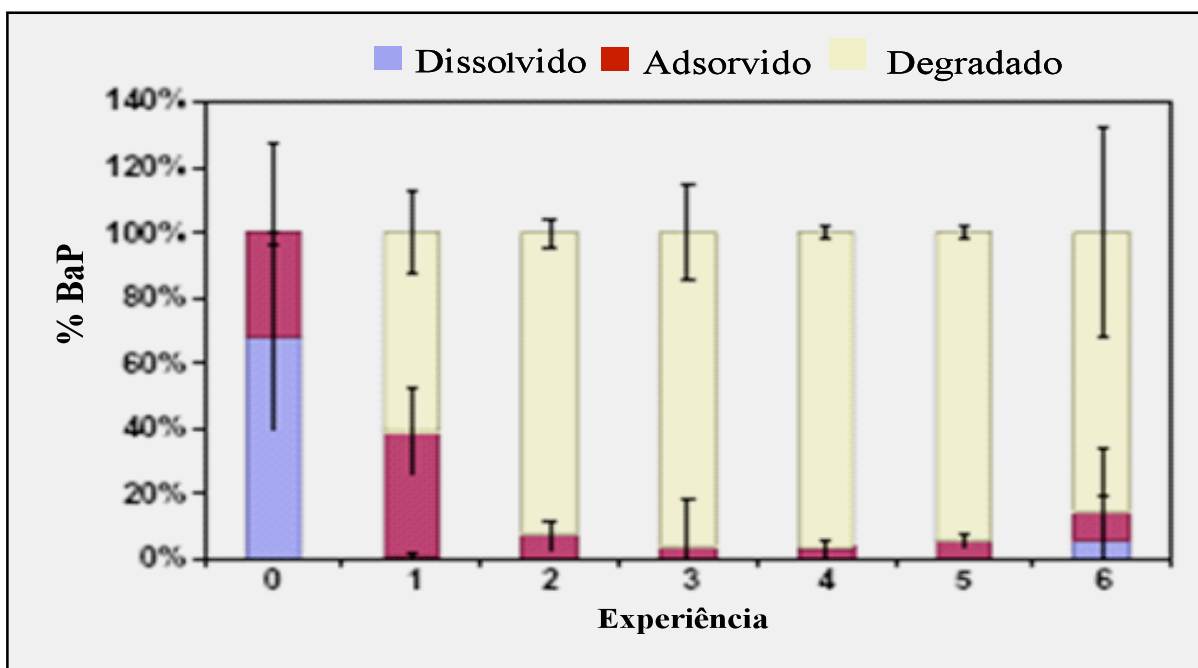


Figura 16 - Efeito da concentração do reagente de Fenton no comportamento do BaP nas condições apresentadas na Tabela 20 (Flotron *et al.*, 2005).

Beltrán *et al.*, em 1997, realizaram experiências com oxidação por reagente de Fenton de três PAHs (Fenantreno, Fluoreno e Acenafteno). As variáveis estudadas e as gamas aplicadas foram:

- Concentrações iniciais de: Fluoreno: $5,2 \cdot 10^{-6}$ M; Fenantreno: $2,5 \cdot 10^{-6}$ M; Acenafteno: $1,5 \cdot 10^{-5}$ M.
- Concentrações iniciais de reagentes: Fe^{2+} =0 a $2 \cdot 10^{-4}$ M; H_2O_2 = 10^{-5} a 10^{-1} M; pH=2 a 12.

As concentrações ótimas de oxidação obtidas foram: $\text{Fe}^{2+}=5 \cdot 10^{-5}$ M; $\text{H}_2\text{O}_2=1 \cdot 10^{-3}$ M; pH=7 e temperatura de 293 K. Tendo obtido percentagens de conversão de 97, 80 e 73% para Fenantreno, Fluoreno e Acenafteno, respectivamente. Os produtos resultantes a 80% de conversão dos respectivos PAHs estão mencionados na tabela abaixo apresentada (Tabela 21).

Tabela 21 - Produtos encontrados ou identificados por GC/MS em amostras resultantes da oxidação de PAHs por reagente de Fenton (Beltrán *et al.*, 1997).

Nº composto	Produto encontrado ou identificado	tempo de retenção (min)	PAH		
			Fluoreno	Fenantreno	Acenafteno
1	<i>phthalic anhydrid</i>	14	☑		☑
2	<i>2(H) 1-benzopyran 2-one 3,4-dihydro</i>	14,5			☑
3	<i>acenaphthene</i>	16,7			☑
4	<i>dibenzofuran</i>	17,2	☑		
5	<i>unidentified</i>	18,1			☑
6	<i>fluorene</i>	18,3	☑		
7	<i>9-fluorenone</i>	20,6	☑		
8	<i>9-fluoreinol</i>	20,8	☑		
9	<i>1-naphtalenol 2-ethyl</i>	21,1			☑
10	<i>phenanthrene</i>	21.3		☑	
11	<i>0-hydroxybiphenyl</i>	21.6			☑
12	<i>unidentified</i>	22.5		☑	
13	<i>9-phenanthrenol</i>	27,8		☑	

Comparando diferentes tipos de processos de oxidação avançada, Beltrán *et al.*, em 1997, verificaram que a eficiência da oxidação com reagente de Fenton, é similar ou mesmo maior do que a obtida pelos outros processos de oxidação (Tabela 22). Apenas o processo de O₃/UV apresenta eficiências muito próximas das do reagente de Fenton, para todos os PAHs estudados (Fluoreno, Fenantreno e Acenafteno).

Assim sendo, podemos concluir que o reagente de Fenton é um processo de oxidação economicamente viável para a oxidação de PAHs como, Fluoreno, Fenantreno e Acenafteno, em matizes aquosas.

Tabela 22 – Comparação de diferentes processos de oxidação avançada relativamente ao reagente de Fenton na oxidação de PAHs em água (Beltrán *et al.*, 1997).

PAH	% Conversão para diferentes tipos de Tratamento					
	Radiação UV	O ₃	O ₃ /H ₂ O ₂	O ₃ /UV	UV/H ₂ O ₂	H ₂ O ₂ /Fe ²⁺
Fluoreno	30	60	62	87	67	80
Fenantreno	52	95	93	95	96	97
Acenafteno	20	71	71	73	73	73

Na Tabela 23 estão apresentados vários estudos de degradação de PAHs com reagente de Fenton em diferentes tipos de matrizes ambientais. Mediante os resultados obtidos podemos dizer que o reagente de Fenton é um bom processo de oxidação para os PAHs e para o BaP, dependendo no entanto da concentração inicial destes compostos.

Tabela 23: Degradação de PAHs por oxidação com reagente de Fenton em diferentes tipos de matrizes.

Matriz	PAH	[BaP]	T (°C)	pH	[Fe ²⁺]	[H ₂ O ₂]	Tempo de reacção	% remoção	Bibliografia
Solo	BaP +4 PAHs	10 mg/Kg	30	3,5	2 ml de 0,5 M	1 ml de H ₂ O ₂ 30%	3 horas	99	Lee <i>et al.</i> , 2000
BaP concentrado em etanol	BaP	85 mg/L	30	3,5	2 ml de 0,5 M	1 ml de H ₂ O ₂ 30%		>99,8 (BaP)	Lee <i>et al.</i> , 2001
Solo	BaP+ 17 PAHs		25		10 ml de FeSO ₄ = 10 mM	20 ml de H ₂ O ₂ 15%	1 hora	5,5-38 (5 anéis)	Jonsson <i>et al.</i> , 2007
Sedimentos	BaP+16 PAHs	142,7 mg/Kg	Tamb	pH sedimento	4 ml de FeSO ₄ = 0,5 M	40 ml de H ₂ O ₂ 5M (Razão Fe/H ₂ O ₂ =1:100)		62,9 (BaP)	Ferrarese <i>et al.</i> , 2007
Sedimentos	BaP+2 PAHs	0,003 mg/Kg		3				≈ 16,9 (BaP)	Flotron <i>et al.</i> , 2005
Lama	BaP+2 PAHs	0,31 mg/Kg		3	10 ⁻² mol/L	4,9 mol/L	24 horas	≈ 48,1 (BaP)	
Matriz aquosa	BaP+2 PAHs	80 µg/L	Tamb	3	1,6*10 ⁻⁴ mol/L	3,2*10 ⁻⁴ mol/L	3 horas	85,2 (BaP)	Flotron <i>et al.</i> , 2003
Matriz aquosa	BaP+1PAHs		Tamb	4	10mM de FeSO ₄ 7H ₂ O	0,5 % H ₂ O ₂	48 horas	60	Nadarajah <i>et al.</i> , 2002
Solo	BaP		Tamb	8	6,6 mM Fe ²⁺	14,000 mM H ₂ O ₂	24 horas	59	Watts <i>et al.</i> , 2002

Vantagens e desvantagens do método

Podem-se enumerar alguns aspectos vantajosos da aplicação do reagente de Fenton como sistema de oxidação face a outros tratamentos:

- Os custos de equipamento das instalações para oxidação com reagente de Fenton são bastante mais baixos comparados com os de outros sistemas de oxidação.
- Não são necessárias altas pressões nem altas temperaturas, sendo o equipamento tecnologicamente simples e de dimensões reduzidas. (Bigda, 1995).
- Os custos de operação destes sistemas são geralmente menores do que os que utilizam ozono, cloro, dióxido de cloro ou permanganato de potássio.
- O reagente de Fenton é fácil de manusear, ambientalmente limpo e não conduz à geração de sub-produtos tóxicos.
- Reduz a toxicidade de águas residuais tornando possíveis tratamentos biológicos convencionais.
- Permite dar uma resposta imediata no caso de graves problemas ambientais, uma vez que o arranque da instalação é rápido, sendo capaz de reagir com praticamente todas as classes de compostos orgânicos.
- É aplicável mesmo na presença de compostos orgânicos coloridos ou efluentes de coloração escura, os quais, por absorção de luz ultravioleta interferem com processos que envolvam radiação UV e diminuem a eficácia desses sistemas.

Apesar do processo ser bastante atractivo, apresenta algumas desvantagens, tais como:

- Necessidade de um estudo prévio quer a nível laboratorial, quer mesmo à escala piloto, antes de se decidir acerca da implementação a nível industrial.
- Não possuir uma acção prolongada, cessando assim que todo o peróxido se tenha decomposto.
- Formação de intermediários que podem persistir no meio.
- Requer um pH e temperatura específicos para que o tratamento seja eficiente.
- Produção de lamas com hidróxidos de ferro e complexos organometálicos insolúveis, que podem ser, eventualmente, recicláveis.

O método mais usual de avaliação da reacção (e do seu término) consiste na medição do potencial redox do meio. O consumo de radicais hidroxilo leva a uma diminuição do potencial redox. Quando a reacção tiver terminado, a acumulação destas radicais no meio levará a um aumento deste potencial.

1.2.6. Processos Combinados

A melhor solução para a degradação de um determinado composto ou conjunto de poluentes não tem de passar obrigatoriamente pela aplicação de um único processo de tratamento.

A alternativa é estudar as vantagens e desvantagens de cada processo, a reformulação de diferentes combinações de métodos de degradação e proceder a ensaios experimentais com o objectivo de avaliar a aplicabilidade do tratamento à escala industrial.

Na avaliação de cada processo de tratamento devem ser tidos em conta diversos factores tais como:

- Eficiência de degradação
- Aumento da biodegradação
- Custos
- Produção de resíduos

1.2.6.1 Oxidação Química/Biodegradação

Da pré-oxidação dos PAHs por reagente de Fenton resultam produtos de oxidação que são mais solúveis em água e mais biodegradáveis (compostos mais acessíveis para os microrganismos). A combinação da oxidação química com a biodegradação tem grande vantagem sobre ambos os tratamentos aplicados isoladamente na remediação de contaminantes orgânicos. Este tipo de combinação tem sido aplicado na purificação de água residual. O pré-tratamento com peróxido de hidrogénio seguido pela biodegradação resulta numa diminuição substancial na dosagem da quantidade de oxidante (Kulik *et al.*, 2006).

Num outro estudo realizado por Haapea *et al.*, em 2006, avaliaram a influência da lavagem do solo, nos processos de degradação.

A lavagem do solo e a ozonização, com pequenas doses, aumenta a biodegradação, e/ou mobilidade dos PAHs, o que torna o tratamento biológico mais eficiente. As principais conclusões do estudo realizado por Haapea *et al.*, em 2006, foram:

- A lavagem do solo e a ozonização aumentam a biodegradação dos PAHs, no entanto o ajuste de pH irá aumentar os custos totais durante a operação e restringir o pós-tratamento.
- A remoção de 90% de PAHs é obtida pelo tratamento biológico de solo ozonizado.
- A pré-lavagem do solo não melhora a degradação dos PAHs durante a ozonização mas diminui a quantidade de ozono necessário.

Neste processo combinado, se quisermos determinar a variação da biodegradabilidade em função das condições químicas da reacção (tempo de pré-tratamento, concentração do agente oxidante e temperatura), deve realizar-se um teste de biodegradação. Vários autores propuseram vários métodos para medir a biodegradabilidade deste sistema. BOD e BOD/CQO ou BOD/TOC foram métodos normalmente usados por Gilbert, em 1987; Yu and Hu, em 1994; Marco *et al.*, em 1997 e Chamarro *et al.*, em 2001.

Um outro processo de oxidação/biodegradação foi estudado por de Guieysse *et al.*, em 2004. Estes investigadores estudaram a degradação do BaP em conjunto com mais 5 PAHs em solo usando o processo UV/Biodegradação. As amostras foram trabalhadas em diferentes tipos de solventes (óleo de silicone e tetradecano) e submetidas à radiação UV durante 436 a 552 horas. A percentagem de remoção do BaP foi de 100% em ambos os casos.

Na Tabela 24 estão compiladas as principais vantagens e desvantagens dos diferentes processos de degradação aplicados à degradação do BaP.

Tabela 24 – Vantagens e desvantagens dos vários processos de degradação aplicáveis à degradação do BaP.

Processo de Degradação	Bibliografia	Vantagens	Desvantagens	
Carvão activado	Zhou <i>et al.</i> , 2005			
Permanganato	Brown <i>et al.</i> , 2003 Ferrarese <i>et al.</i> , 2007	Não gera problema Ambiental Tão eficiente quanto H ₂ O ₂ Mais fácil de manusear do que H ₂ O ₂ Mais estável que H ₂ O ₂	Redução da permeabilidade Formação de partículas de MnO ₂	
Persulfato	Nadim <i>et al.</i> , 2005		Processo de oxidação mais lento Necessita de catalisador Baixa solubilidade Fraco oxidante	
Ozono	Haapea <i>et al.</i> , 2006	Mais fácil de realizar o tratamento pois reage rapidamente Oxidante forte	Custos elevados Difícil manuseamento	
AOPs	UV/O ₃	Ledakowicz <i>et al.</i> , 2001	Eficiente na oxidação de compostos orgânicos Método mais rápido do que a fotólise ou ozono	Elevado consumo de energia
	UV/H ₂ O ₂	Schrank <i>et al.</i> , 2005	Mais simples de todos em termos de operação, manutenção e complexidade Processo barato, relativamente ao UV/O ₃	Vulnerável a interferências como a turvação Baixa eficiência no tratamento de águas com elevada turvação Elevado consumo de energia
	O ₃ /H ₂ O ₂		Não depende da luz Pode ser aplicado a soluções turvas Fácil de montar	
	UV/TiO ₂	Rodríguez, 2003	Estável Boa performance Baixo custo	Dificuldade de separação da solução catalítica Perda de catalisador Elevado consumo de energia
	Fenton	Ferrarese <i>et al.</i> , 2007 Lee <i>et al.</i> , 2000 Flotron <i>et al.</i> , 2005	Não tem resíduos de peróxido Equipamento de baixo custo Fácil de manusear Não precisa de pressões e temperatura elevadas	Requer estudos prévios para optimização das condições de operação Produção de lamas Não possui acção prolongada Requer pH e temperatura específicos

1.3. Metodologias Analíticas para Quantificação do Benzo(a)Pireno em Soluções Aquosas

Para avaliar a eficiência dos processos de tratamento de matrizes aquosas é necessário recorrer a metodologias analíticas específicas para cada finalidade.

Os métodos analíticos vulgarmente usados para detecção e quantificação de PAHs em matrizes aquosas são baseados em técnicas de separação tais como Cromatografia Líquida de Alta Resolução (HPLC) com detecção por fluorescência (FLD), Cromatografia Gasosa (GC) com detector FID ou MS. Estes métodos são frequentemente acompanhados de técnicas de extracção e/ou concentração, como por exemplo extracção Líquido-Líquido, extracção em Fase Sólida (SPE), que para além de ser necessário um processo de calibração complexo, devido à perda apreciável do analito, requerem solventes orgânicos (Algarra, *et al.*, 2005).

A cromatografia é uma técnica que permite separar, identificar e quantificar diversos compostos numa mistura. Pressupõe a existência de duas fases em contacto, uma fase móvel que transporta a amostra a analisar e uma fase estacionária com a qual alguns dos compostos poderão estabelecer relações de afinidade (Alves, 2006).

A amostra é normalmente introduzida no injector, através de uma seringa, sendo arrastada pela fase móvel através da coluna. Aqui os compostos da amostra com maior afinidade para a fase estacionária, contida dentro da coluna, são retidos mais tempo, enquanto que os outros saem mais depressa da coluna. Depois de saírem da coluna os compostos já separados chegam ao detector, onde é registada a sua passagem através de um sinal eléctrico representativo de uma propriedade em relação à qual o detector é específico (Alves, 2006).

Assim sendo na Tabela 25, apresentam-se técnicas aplicadas por vários cientistas.

Tabela 25 – Métodos analíticos, condições de funcionamento e resultados obtidos para análise de PAHs em matrizes aquosas.

Método	Extracção	Matriz	Coluna	Gás de arraste/Fase móvel	Fase móvel	Caudal ml/min	PAH	BaP λ_{Exc} (nm)	BaP λ_{Em} (nm)	Linearidade	Correlação (R^2)	Tempo de retenção BaP (min)	LD	Bibliografia
GC/MS		Água superficiais (rio)					Mistura						0,09	Hwang et al., 2006
HPLC/FLD		Água superficiais (rio)	C18	Metanol	Água	1	Mistura				0,993		1,87 ng/L	
GC/MS		Água superficiais (lago)	SGE25QC3/HT8	Hélio		1,3	Mistura							Olivella, M., 2006
GC/MS		Água superficiais (rio)	DB-5ms (0,25 mm)	Hélio			Mistura						0,02 ng/L	Olivella, et al., 2006
HPLC/FLD	Líquido-líquido	Água de consumo	Fase reversa Supelco LC-PAH, 5 μ m	Acetonitrilo	Água	2,0	BaP + 10 PAHs	280	>389			26,0	BaP=0,029 μ g/L	USEPA 550
GC/MS	SPME (PDMS 100 μ m)	Matriz aquosa	RTX5 MS (0,25 μ m)	Hélio			BaP + 15 PAHs			BaP=0,02-10 μ g/L	BaP=0,75		BaP=18 ng/L	King et al., 2004
GC/MS	Líquido-líquido	Água do mar	Capilar de sílica	Hélio		1	BaP + 15 PAHs				0,994-1	27,18	BaP=0,15 μ g/ml	Anyakora et al., 2005
HPLC/FLD	SPE	Água superficiais (rio)	Supelcosil C18, 5 μ m			1	BaP + 14 PAHs	255	420					Zhu et al., 2008
LVI GC/MS	MASE	Matriz aquosa	Capilar (0,25 mm)	Hélio		1	BaP + 15 PAHs			0,05-100 μ g/L	BaP=0,995	31,5	BaP=40 ng/L	Rodil et al., 2007
HPLC/UV	Sonificação	Água superficiais (rio)	Supelcosil C18	Metanol	Água	1	BaP + 9 PAHs						BaP=33,52 ng/L	Zhu et al., 2004
HPLC/FLD	SPE	Matriz aquosa	Supelcosil C18	Acetonitrilo	Água	0,7	BaP + 15 PAHs	260	432	BaP=0,1-25 ng/L	> 0,998		BaP=0,79 ng/L	Busetti et al., 2006
HPLC/FLD	SPME (PDMS)	Água superficiais (lago)	Supelcosil C18; LC-PAH	Acetonitrilo	monocloro acetato de sódio	1,0	BaP + 4 PAHs	266	415	BaP=0,01-65 μ g/L	0,9999	15,3	BaP=4,2 ng/L	Cheng, Hong-Wen; 2004
HPLC/FLD	SBSE	Água da chuva	Supelcosil LC-PAH; 3 μ m	Acetonitrilo	Água	2,0	BaP+14 PAHs	270	410	2-10 ng/mL	0,9992		BaP=0,2 ng/L	Deschamps et al., 2007

Tabela 25 (Cont.) – Métodos analíticos, condições de funcionamento e resultados obtidos para análise de PAHs em matrizes aquosas.

Método	Extracção	Matriz	Coluna	Gás de arraste/Fase móvel	Fase móvel	Caudal ml/min	PAH	BaP $\lambda_{Exc.}$ (nm)	BaP $\lambda_{Em.}$ (nm)	Linearidade	Correlação (R^2)	Tempo de retenção BaP (min)	LD	Bibliografia
HPLC/FLD	SPMDs	Água superficiais	Supelcosil LC-PAH; 5 μ m	Acetonitrilo	Água	1,5	BaP + 14 PAHs	290	410	50-250 ng/ml	> 0,99	33,9		Williamson et al., 2002
Fluorimétrico	SPE discos C18	Água de consumo					BaP + 4 PAHs	367,2	404,2	0,06-4,0 μ g/L	BaP=0,9942		BaP=0,03 μ g/L	Algarra et al., 2005
GC/MS	Líquido-líquido	Água superficiais (rio)	Capilar de sílica 30 μ m	Hélio		1,0	BaP + 15 PAHs			BaP=0,123-1,228 μ g/ml	0,995	27,18	BaP=0,15 μ g/ml	Anyakora et al., 2006
GC/FID	SPME (PDMS 100 μ m e PA 85 μ m)	Água	A 30-m Ultra Alloy-5 <i>capillary column</i> (0.5 mm I.D., 0.5 mm film thickness)	Nitrogénico		3,0	BaP + 15 PAHs			0,1-10 ng/ml	0,978 Fibras de 100 mm PDMS		BaP=0,44 ng/ml	Doong et al., 2000
GC/MS	SPME (PDMS 100 μ m e PA 85 μ m)	Água	30-m HP-5 (5% <i>phenyl-95% methylpolysiloxane</i>) (0.25 mm I.D., 0.25 mm film thickness).	Hélio		1,3	BaP + 15 PAHs			5-100 ng/ml	0,985 Fibras de 100 mm PDMS		BaP=0,24 ng/ml	Doong et al., 2000
GC/MS	SBSE	Matriz aquosa	HP5-MS (Agilent), 30 m 30.25 mm I.D., d 50.25 mm			1,0				1-100 ng/L	0,92543		BaP=1,2 ng/L	Kolahgar et al., 2002
GC/MS/MS	SPME (PDMS/DVB)	Água	DB-XLB (60m×0.25 mm, 0.25 m film thickness)	Hélio		1,0 ml/min	BaP + 26 PAHs			0,025-10 μ g/L	0,9955-0,9999	71,35	BaP=0,63 ng/L	Fernandez-Gonzalez et al., 2007
GC/FID	MA-HS-SPME (PDMS/DVB)	Matriz aquosa	Sílica DB-5	Nitrogénico			BaP + 15 PAHs			BaP=1-100 μ g/L	BaP=0,9890		BaP=0,5 μ g/L	Wei et al., 2007
LC/FLD	SPME (PDMS 100 μ m)	Águas Residuais	Vydac 201 TP 52	Acetonitrilo	Água	0,4		266	415	0,01-1,0 μ g/L	0,996-0,999		BaP=0,001 μ g/L	Popp et al., 2000

Cromatografia Gasosa

O BaP encontra-se no meio ambiente nas águas de consumo e residuais em concentrações extremamente baixas. Os limites legais estabelecidos impõem limitações ao nível dos µg/L. Por este motivo, surge a necessidade de recorrer a métodos de análise de compostos vestigiais.

Como se pode observar na Tabela 25 de entre os métodos de análise os que geralmente são utilizados são cromatografia líquida (HPLC) e a cromatografia gasosa (GC).

A análise do BaP por cromatografia gasosa pode ser feita usando um detector ECD (Captura Electrónica de Electrões) ou por GC/MS (Cromatografia Gasosa com Espectrometria de Massa).

A técnica de GC/MS é a ideal para a identificação de compostos uma vez que, para além da informação do cromatograma, fornece o espectro de massa dos compostos que eluem da coluna cromatográfica. Uma vez que estes espectros são únicos e característicos de cada substância, é possível identificá-los inequivocamente pelos tempos de retenção. Os outros detectores não fornecem nenhuma informação para a identificação dos compostos, pelo que é feita apenas através da comparação dos tempos de retenção com a análise de padrões.

A espectroscopia de massa é uma das ferramentas analíticas mais poderosa de que dispõem os analistas. Como método de detecção acoplado à cromatografia líquida ou gasosa, permite sensibilidades elevadas (da ordem 10^{-3} a 10^{-13}) permite elevada selectividade, principalmente se for utilizada no modo SIM (Single Ion Monitoring) ou no modo MS/MS (dupla fragmentação), permite diferentes formas de ionização conforme as características dos compostos e amostras, permite fazer caracterização elementar, permite obter informação estrutural e isotópica, e ainda efectuar análise qualitativa e quantitativa.

Cromatografia Líquida

A cromatografia líquida (HPLC) segue os princípios gerais de qualquer cromatografia, princípios esses que se aplicam a quase todos os tipos de cromatografia em coluna (Barreira, 2003).

Existem diversos tipos de HPLC, conforme a escolha da fase estacionária e os equilíbrios envolvidos.

Em HPLC, o fluxo da fase móvel é controlado através de bombas, que mantêm uma pressão de várias atmosferas sobre a coluna. Assim, as colunas são construídas em materiais bastante resistentes, como o aço inoxidável, tendo comprimentos que variam entre 10 e 30 cm, com um diâmetro interno de 4 a 10 mm. A amostra é adicionada directamente à coluna, dissolvida na fase móvel, em volumes que variam dos 5 aos 500 μL (Barreira, 2003). Cerca de 80% das aplicações de HPLC utilizam colunas C18, constituídas por partículas de sílica ligadas a um filme de líquido constituído por uma cadeia de hidrocarbonetos com 18 carbonos (partículas de diâmetro entre 3 e 20 μm). São colunas denominadas de fase reversa, pois devido às suas características apolares, o solvente é que estabelece relações de afinidade com os solutos.

Se os solutos tiverem alguma afinidade pela fase estacionária da coluna, ao longo desta vão-se estabelecer sucessivos equilíbrios de distribuição dos solutos entre a fase móvel (eluente) e a estacionária. Se as constantes de distribuição para os diversos solutos forem suficientemente diferentes, estes irão deslocar-se ao longo da coluna a velocidades diferentes, saindo da coluna separados uns dos outros.

Regra geral, quanto mais pequenas são as partículas do enchimento, mais eficientes são as colunas. No entanto quanto mais pequenas são as partículas, maior é a perda de pressão do líquido ao longo da coluna e menor é o caudal de eluente para a mesma pressão aplicada. Como há limitações instrumentais à utilização de pressões muito elevadas, quanto menor for o diâmetro das partículas do enchimento, menor é também o comprimento da coluna que se utiliza.

Como consequência do empacotamento das partículas de pequena dimensão no interior da coluna, são necessárias pressões elevadas para forçar o eluente ao longo da coluna, sendo usual utilizarem-se pressões entre 80 e 120 bar. A bomba tem de manter um caudal de eluente constante, sem oscilações de pressão ou caudal e tem de ser construída com material compatível para uma larga gama de solventes.

Este tipo de cromatografia tem a possibilidade de usar detectores muito variados, sensíveis e com limites de detecção muito baixos. Os detectores mais usados em HPLC para análise do BaP são os de fluorescência (FLD) e UV (254 nm).

Para a determinação de PAHs por HPLC usam-se colunas revestidas por um filme de sílica C18, de fase reversa e eluentes como a água e o acetonitrilo (Barreira, 2003).

Após saírem da coluna os componentes da amostra passam a um detector. A representação gráfica do sinal enviado pelo detector em função do tempo que decorreu, desde a injeção da amostra na coluna, constitui o que se designa por cromatograma da mistura.

Os solventes utilizados em HPLC têm de ser muito puros e não podem conter resíduos sólidos. Devem ser desgaseificados antes da sua utilização, pois a formação de bolhas de gás no sistema cromatográfico pode causar variações de pressão no interior do sistema e/ou perturbações mais ou menos graves no sinal do detector. A degasificação pode fazer-se submetendo o eluente a pressões reduzidas e/ou ultra-sons, ou por deslocamento dos gases dissolvidos com hélio.

A eluição pode ser feita mantendo sempre o mesmo eluente (eluição isocrática), ou variando a composição do eluente com o tempo (eluição com gradientes). Sempre que possível deve proceder-se a uma eluição isocrática.

2. Parte Experimental

2.1 Metodologia

A metodologia seguida para o estudo da degradação do BaP com reagente de Fenton consistiu em três partes. A primeira correspondeu ao desenvolvimento do método analítico apropriado para este composto, a segunda a optimização das variáveis que influenciam a degradação com reagente de Fenton e a terceira consistiu em avaliar e discutir a degradação deste composto nas condições optimizadas.

2.2 Descrição do Método Analítico

Nesta secção apresenta-se uma relação de todo o material utilizado no desenvolvimento do método analítico e da degradação do BaP com Reagente de Fenton, bem como a descrição da metodologia usada.

2.2.1 Reagentes

No método analítico usaram-se os seguintes reagentes:

- Padrão de BaP de 1000 mg/L em acetona, adquirido à Supelco (referência 40071) com grau de pureza de 99,9%.
- Etanol Absoluto (Panreac).
- Água ultra-pura com condutância de 18,3 mΩ/cm adquirida no Laboratório 204,
- Acetonitrilo (Chromanorm *for* HPLC, gradiente grade da VWR) – Solvente para HPLC
- Corrente de Hélio, para desgasificação da fase móvel.

Os reagentes necessários e utilizados nos ensaios com Reagente de Fenton estão apresentados na Tabela 26.

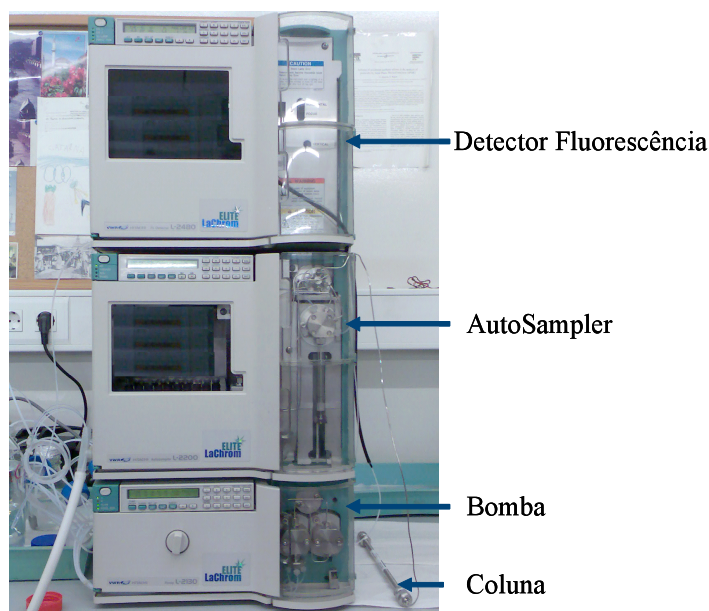
Tabela 26 – Lista de Reagente usados na oxidação do BaP com Reagente de Fenton.

Reagente	Fornecedor
Peróxido de Hidrogénio 30%	Merck
Água ultra pura	Condutância=18.3 mΩ/cm.
Etanol Absoluto	Panreac
Sulfito de Sódio	Merck
Hidróxido de Sódio (NaOH)1M	Merck
Ácido Sulfúrico (H ₂ SO ₄) 1M	Merck
Sulfato de Ferro heptahidratado	Merk

2.2.2 Equipamento

Equipamento usado para a quantificação do BaP em matrizes aquosas

A análise do BaP, foi feita por HPLC, Hitachi modelo Elite Lachrom da VWR, equipado com autosampler (L2200), Bomba (L2130) e Detector de Fluorescência (L2480), tal como apresentado na Figura 17.

**Figura 17** – Equipamento de HPLC-FLD usado na quantificação do BaP em matrizes aquosas.

Na Figura 18 está apresentada a coluna cromatográfica utilizada (Lichrocart 250-4 HPLC cartridge, Purospher star RP 18 - 5 μ m).



Figura 18 – Coluna usada na quantificação do BaP em matrizes aquosas.

A fase móvel era constituída por 90% de Acetonitrilo e 10% de água ultra-pura. Ambos os constituintes foram desgaseificados com uma corrente de Hélio, durante 10 minutos por cada 500 mL, antes do arranque do equipamento.

A programação da sequência das análises e a aquisição dos dados analíticos foi feita pelo software EZChrom Elite.

Equipamento usado na degradação do BaP com reagente de Fenton

A instalação experimental usada era composta por um termómetro, um reactor com camisa ($\approx$ 200 ml de capacidade), um agitador magnético, um banho termostático e uma barra magnética, como está representado na Figura 19 e 20.

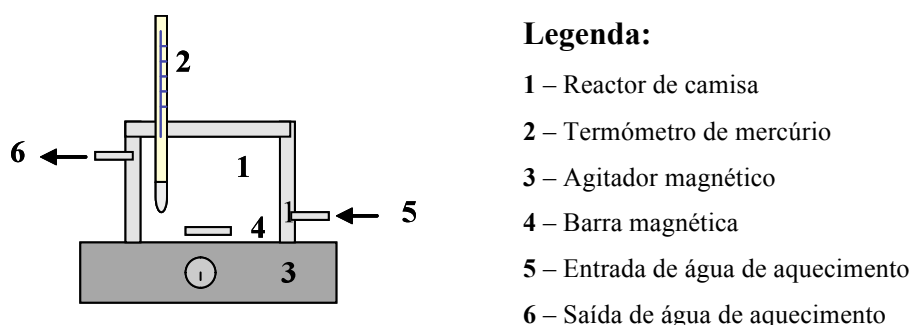


Figura 19 – Esquema da instalação experimental



Figura 20 - Instalação usada para a oxidação do BaP pelo reagente de Fenton em matrizes aquosas.

2.2.3 Preparação da Fase Móvel para HPLC

A fase móvel é constituída por 90% de Acetonitrilo e 10% de água Ultra pura. Ambos os constituintes eram desgaseificados com uma corrente de Hélio durante 10 minutos por cada 500 mL.

2.2.4 Preparação de Padrões

Preparação da solução mãe M1 do BaP (10 mg/L)

Diluíram-se 100 μL de Padrão BaP 1000 mg/L, em etanol num balão volumétrico de 10 mL.

Preparação dos padrões do BaP para a curva de calibração

Os padrões do BaP para traçar a curva de calibração foram preparados por diluição da solução mãe M1 do BaP (10 mg/L) em água ultra-pura, de acordo com a Tabela 27.

Tabela 27 – Preparação dos padrões do BaP em matriz aquosa a partir da solução mãe M₁, para a realização da curva de calibração.

Padrão	Concentração do BaP (µg/L)	Volume de solução mãe M1 de 10 mg/L do BaP (µl)	Volume Total do padrão (ml)
1	1	10	100
2	10	10	10
3	40	40	10
4	60	60	10
5	100	100	10

Preparação das Soluções de BaP para experiências com reagente de Fenton

As soluções usadas na degradação com reagente de Fenton foram preparadas a partir da solução mãe M1 e diluídas em água ultra-pura (Tabela 28).

Todas as soluções do BaP foram preparadas no dia da análise deixando-as estabilizar por 1 hora.

Tabela 28 – Padrões usados na optimização da oxidação com reagente de Fenton.

Concentração BaP mg/L	Volume de solução mãe M1 de 10 mg/L do BaP (µl)	Volume Total do padrão (ml)
10	100	100
20	200	100
60	600	100
100	1000	100

Para a realização da optimização das variáveis para a oxidação com reagente de Fenton foi necessário realizar alguns cálculos para a determinação da massa de sulfato de ferro e volume de peróxido hidrogénio a adicionar ao reactor. No anexo C está apresentado um exemplo de cálculo.

2.2.5 Condições de Operação

As condições de operação usadas para a realização do processo analítico encontram-se na Tabela 29.

Tabela 29 - Condições de Operação usadas para a quantificação do BaP por HPLC/FLD.

Condições de Operação	
Caudal da fase Móvel	1.2 ml/min
Fase Móvel (Eluente)	90% Acetonitrilo + 10% Água
Temperatura	Temperatura ambiente
$\lambda_{exc.}$	297 nm
λ_{em}	405 nm
Volume de injeção	50 μ l
Tempo análise	15 minutos

2.2.6 Quantificação

O método de quantificação foi o método do padrão externo, recorrendo á curva de calibração. A resposta diária do detector foi verificada através da análise de 2 padrões controlo do BaP (padrão de 10 e 100 μ g/L), sempre que se realizaram análises.

2.3. Ensaios de Degradação com Reagente de Fenton

Qualquer estratégia experimental destinada a estudar um dado problema implica trabalho quase sempre com várias variáveis, podendo cada uma delas influenciar o resultado.

A forma tradicional, foi a seguida, consiste no estudo de uma variável de cada vez, fazendo-a variar dentro de uma determinada gama de valores, mantendo todas as outras variáveis constantes. A partir destas observações verifica-se a existência ou não, de uma relação quantitativa entre a variável e a resposta.

2.3.1. Ensaios de optimização do processo de degradação

Neste trabalho pretendeu-se estudar quatro variáveis fundamentais no processo de oxidação com reagente de Fenton. As quatro variáveis estudadas foram: pH, Temperatura, Concentração de Ferro e Concentração de Peróxido de Hidrogénio.

Em experiências preliminares a temperatura foi de 40 °C e partiu-se de um valor inicial do BaP de 10 µg/L e razões $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ de 37,8 usadas por Rodolfo, 2004 (208:5.5 massa).

Após a montagem da instalação e preparação do padrão do BaP de 10 µg/L, retirou-se 1 mL de amostra para posterior análise e transferiu-se o padrão para o reactor.

De seguida corrigiu-se o pH para o valor a estudar e deixou-se a temperatura atingir os 40 °C. O pH corrigiu-se fazendo uso das soluções de H_2SO_4 e/ou NaOH , a temperatura foi regulada no banho termostático. Nesta altura voltou-se a retirar uma amostra de 1 mL de padrão para análise

Após estabilização da temperatura transferiu-se a quantidade de sulfato de ferro para a solução. Ligou-se a agitação na posição 3 e deixou-se dissolver.

De seguida adicionou-se o volume de H_2O_2 necessário e iniciou-se a contagem do tempo de reacção. Logo após a adição de peróxido de hidrogénio retirou-se mais uma aliquota de 1 mL para análise.

A partir da adição do oxidante (H_2O_2) retiraram-se aliquotas de 1 mL de 15 em 15 min inicialmente até 60 min tendo-se prolongado posteriormente para 90 min. Todos os *vials* foram devidamente identificados tendo em conta o tempo a que foram recolhidas as amostras.

Em todos os *vials* onde foram guardadas as aliquotas recolhidas após o início da reacção, foi previamente colocada a massa necessária de sulfito de sódio para reagir com o peróxido de hidrogénio, em condições estequiométricas (1:1) de modo a evitar a formação de radicais $\text{HO}^\bullet$, e consequentemente parar a reacção. Mais tarde, a partir do início da optimização da concentração de ferro, este passo foi substituído pelo abaixamento de pH com H_2SO_4 1M segundo Lee *et al.*, 2000, por uma questão a sua execução ser mais fácil e rápida. Este passo é bastante importante pois sem este a reacção continuaria a dar-se, e a análise obtida não corresponderia ao tempo a que foi recolhida a amostra. As amostras foram então preservadas por abaixamento de $\text{pH} < 1$ e foram analisadas por HPLC/FDL no mesmo dia em que foram recolhidas.

Optimização do pH

Para a optimização do pH procedeu-se à realização de 2 experiências, uma em que não se fez qualquer acerto de pH e outra em que se acertou o pH até ao pH recomendado na bibliografia (3-6) para a realização de degradação com reagente de Fenton

Na Tabela 30 estão apresentadas as condições em que foram realizadas as experiências, para optimização do pH na degradação do BaP com reagente de Fenton.

Tabela 30 - Apresentação das condições a que foram realizadas as experiências para otimização do pH.

Condições:	Experiência	
	1	2
Concentração do BaP ($\mu\text{g/L}$)	10	10
pH	3,5	Normal=5,9
T ($^{\circ}\text{C}$)	40	40
Concentração de Fe^{2+} (mg/l)	5,5	5,5
Concentração de H_2O_2 (mg/l)	208	208
$[\text{H}_2\text{O}_2]/[\text{Fe}^{2+}]=208/5,5$	37,8	37,8
$[\text{Fe}^{2+}] / [\text{H}_2\text{O}_2]$	0,026	0,026
Massa de $\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (mg)	7,01	7,01
Volume de H_2O_2 (μl)	160	160
Massa de Na_2SO_3 (mg)	0,74	0,74
Posição da Agitação	3	3
Tempo de reação (min)	90	90

Optimização da Temperatura

Foram realizadas 4 experiências para otimização da temperatura. Foram consideradas temperaturas entre 30 e 70 $^{\circ}\text{C}$, uma vez que a degradação com reagente de Fenton aumenta com o aumento da temperatura. Na Tabela 31 estão apresentadas as condições em que foram realizadas as experiências de otimização da temperatura para a degradação com reagente de Fenton.

Tabela 31 - Apresentação das condições a que foram realizadas as experiências de otimização da temperatura.

Condições:	Experiência			
	3	4	5	6
Concentração do BaP ($\mu\text{g/L}$)	10	10	10	10
pH	3,5	3,5	3,5	3,5
T ($^{\circ}\text{C}$)	30	40	50	70
Concentração de Fe^{2+} (mg/l)	5,5	5,5	5,5	5,5
Concentração de H_2O_2 (mg/l)	208	208	208	208
$[\text{H}_2\text{O}_2]/[\text{Fe}^{2+}]=208/5,5$	37,8	37,8	37,8	37,8
$[\text{Fe}^{2+}]/[\text{H}_2\text{O}_2]=5,5/208$	0,026	0,026	0,026	0,026
Massa de $\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (mg)	2,74	2,74	2,74	2,74
Volume de H_2O_2 (μl)	61,4	61,4	61,4	61,4
Massa de Na_2SO_3 (mg)	0,77	0,77	0,77	0,77
Posição da Agitação	3	3	3	3
Tempo (min)	90	90	90	90

Optimização da Concentração de Fe^{2+}

Para a optimização da concentração de Fe^{2+} , foram realizadas 5 experiências com concentrações crescentes de Fe^{2+} . Beltrán *et al.*, em 1996 mostraram que a degradação aumentava com o aumento da concentração de catalisador Fe^{2+} . Na Tabela 32 estão apresentadas as condições em que foram executadas as diferentes experiências.

Tabela 32 - Apresentação das condições a que foram realizadas as experiências de optimização da concentração de Fe^{2+} .

Condições:	Experiência				
	7	8	9	10	11
Concentração do BaP ($\mu\text{g/L}$)	10	10	10	10	10
pH	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
T ($^{\circ}\text{C}$)	40	40	40	40	40
Concentração de Fe^{2+} (mg/L)	2,00	2,75	3,00	3,75	5,5
Concentração de H_2O_2 (mg/L)	104	104	104	104	104
$[\text{Fe}^{2+}] / [\text{H}_2\text{O}_2]$	0,019	0,026	0,029	0,036	0,053
$[\text{H}_2\text{O}_2] / [\text{Fe}^{2+}]$	52,0	37,8	34,7	27,7	18,9
Massa de $\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (mg)	1,00	1,37	1,49	1,87	2,74
Volume de H_2O_2 (μl)	30,7	30,7	30,7	30,7	30,7
H_2SO_4 (1 M)	2 gotas	2 gotas	2 gotas	2 gotas	2 gotas
Posição da Agitação	3	3	3	3	3
Tempo (min)	90	90	90	90	90

Optimização da Concentração de Peróxido de Hidrogénio

Foram realizadas 4 experiências para a optimização da concentração de peróxido de hidrogénio. As condições de operação estão apresentadas na Tabela 33.

Tabela 33 - Apresentação das condições a que foram realizadas as experiências de otimização da concentração de H_2O_2 .

Condições:	Experiência			
	12	13	14	15
Concentração do BaP ($\mu\text{g/L}$)	10	10	10	10
pH	3,5	3,5	3,5	3,5
T ($^{\circ}\text{C}$)	40	40	40	40
Concentração de Fe^{2+} (mg/L)	3,75	3,75	3,75	3,75
Concentração de H_2O_2 (mg/L)	50	150	22,5	37,5
$[\text{Fe}^{2+}] / [\text{H}_2\text{O}_2]$	0,075	0,025	0,167	0,100
$[\text{H}_2\text{O}_2] / [\text{Fe}^{2+}]$	13,3	40,0	6,0	10
Massa de $\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (mg)	1,87	1,87	1,87	1,87
Volume de H_2O_2 (μl)	14,75	44,25	6,64	11,1
H_2SO_4 (1 M)	2 gotas	2 gotas	2 gotas	2 gotas
Agitação	3	3	3	3
Tempo (min)	90	90	90	90

Ensaio de Degradação do BaP, nas condições otimizadas

Estas experiências foram realizadas após se terem fixado os valores das variáveis a otimizar relativamente à degradação com Reagente de Fenton. Na Tabela 34 estão apresentadas as experiências realizadas para diferentes concentrações do BaP nas condições óptimas encontradas nas experiências anteriores.

Tabela 34 - Apresentação das condições a que foram realizadas as experiências de degradação do BaP.

Condições:	Experiência			
	16	17	18	19
Concentração do BaP ($\mu\text{g/L}$)	10	20	60	100
pH	3,5	3,5	3,5	3,5
T ($^{\circ}\text{C}$)	40	40	40	40
Concentração de Fe^{2+} (mg/L)	3,75	3,75	3,75	3,75
Concentração de H_2O_2 (mg/L)	50	50	50	50
$[\text{H}_2\text{O}_2] / [\text{Fe}^{2+}]$	13,3	13,3	13,3	13,3
$[\text{Fe}^{2+}] / [\text{H}_2\text{O}_2]$	0,075	0,075	0,075	0,075
Massa de $\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (mg)	1,87	1,87	1,87	1,87
Volume de H_2O_2 (μl)	14,75	14,75	14,75	14,75
H_2SO_4 (1M)	2 gotas	2 gotas	2 gotas	2 gotas
Agitação	3	3	3	3
Tempo (min)	90	90	90	90

3. Resultados e Discussão

No presente capítulo procede-se à análise e discussão dos resultados obtidos nas três vertentes: (a) validação do método analítico, (b) optimização do processo de degradação do BaP com reagente de Fenton em matriz aquosa e (c) avaliação da eficiência de degradação do BaP para vários níveis de concentração.

3.1. Validação do Método Analítico

A validação de um Método Analítico consiste na obtenção de um conjunto de parâmetros estatísticos que caracterizam esse método e que permitem provar que o método é “válido”, isto é, serve para o fim a que se destina.

Os objectivos de validação de um método analítico são:

- Avaliar as características do método
- Controlar as variáveis que afectam a obtenção do resultado
- Estimar a incerteza global associada ao resultado

Actualmente, os conceitos associados à validação de métodos analíticos têm vindo a ser discutidos de forma a uniformizar os processos de obtenção dos parâmetros de validação. De uma forma geral, pode referir-se que a validação de um método engloba:

- **Parâmetros de caracterização:** que nos indicam para que é que o método serve (especificidade) e quais as condições de restrição, isto é, que tipo de interferentes poderão afectar o resultado (praticabilidade);
- **Parâmetros de quantificação:** que definem as condições que permitem obter o resultado, englobando o estudo da linearidade e os parâmetros estatísticos associados (declive, ordenada na origem e coeficiente de correlação), bem como a sensibilidade e os limites de detecção e de quantificação;

- **Parâmetros de fiabilidade do método:** que nos indicam se o método conduz efectivamente aos resultados esperados, englobando a precisão, a exactidão e a robustez.

Neste trabalho iremos abordar os parâmetros de quantificação e os parâmetros de fiabilidade.

3.1.1. Identificação do Benzo(a)Pireno

A identificação do composto foi obtida por injeção de padrões de BaP e avaliação do tempo de retenção médio, que foi de $9,0 \pm 1,3$ min. O cromatograma de um padrão de BaP de concentração $10 \mu\text{g/L}$ está representado na Figura 21. Pode verificar-se a ausência de interferentes na proximidade da eluição do composto.

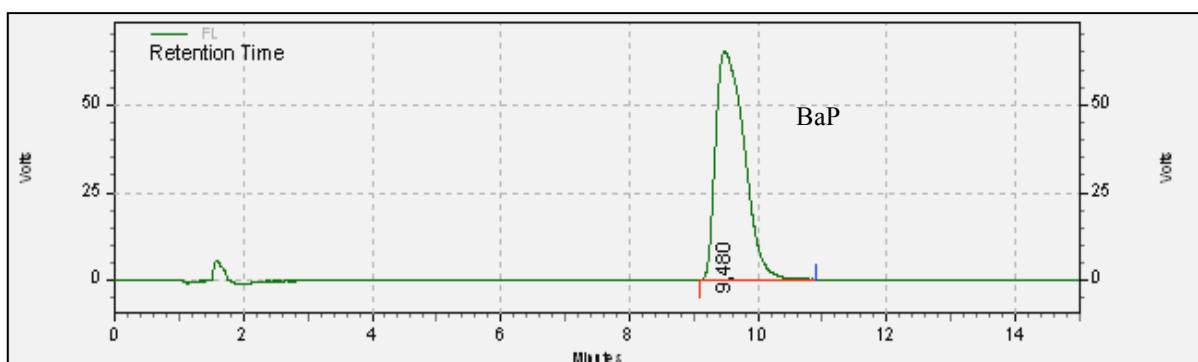


Figura 21 – Cromatograma correspondente ao padrão do BaP de $10 \mu\text{g/L}$ usado na construção da curva de calibração.

A resolução do BaP nas amostras, após paragem da reacção com fenton por adição de ácido sulfúrico também se revelou adequada, verificando-se ausência de interferentes. Na verdade, tal facto seria expectável, uma vez que os componentes do reagente de fenton não apresentam fluorescência. Ao mesmo tempo não se encontram compostos intermediários ou subprodutos da reacção de oxidação, pelo menos com resposta de fluorescência detectável na gama de comprimentos de onda utilizados.

Quanto ao sinal obtido, injectando padrões de várias concentrações do composto, constatou-se que o detector de fluorescência variava a sua resposta de dia para dia. Optou-se por injectar diariamente dois padrões de BaP, um para concentrações baixas (10 µg/L) e outro para concentrações altas (100 µg/L), a partir do qual a resposta do dia era ajustada.

Na Figura 22 está apresentado um cromatograma correspondente à quantificação do BaP após ter sido submetida a degradação com reagente de Fenton. A amostra corresponde à degradação com reagente de Fenton realizada nas condições da experiência 8 para o padrão de 10 µg/L, dois minutos após o início da reacção.

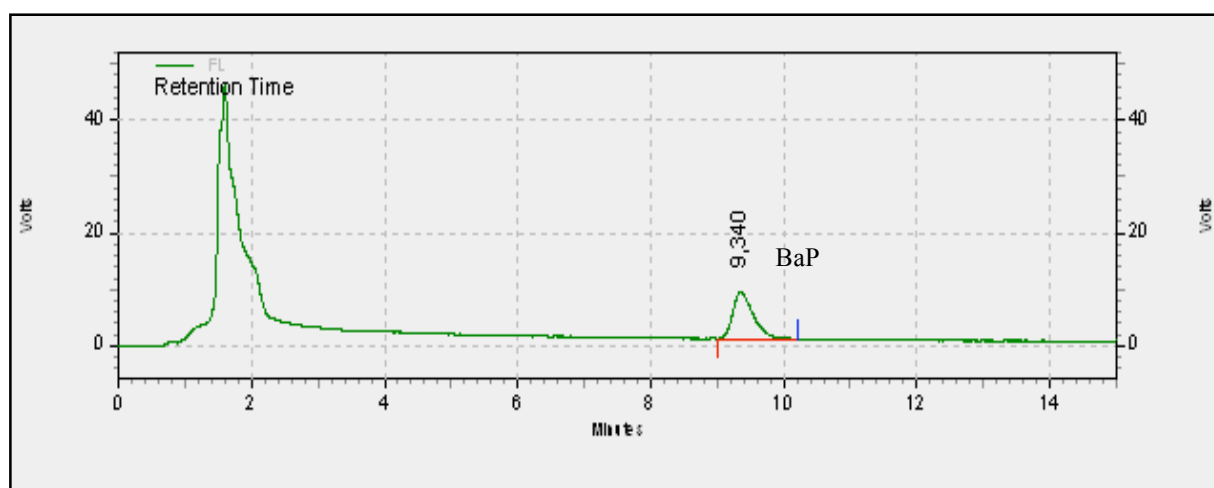


Figura 22 – Cromatograma correspondente ao padrão do BaP de 10 µg/L após oxidação com reagente de Fenton (Experiência 8, amostra retirada 2 minutos após início da reacção de degradação).

Por outro lado, para avaliar a estabilidade da resposta, bem como ter medidas de controlo dos resultados obtidos diariamente, criando parâmetros de alerta, foram traçadas cartas de controlo. Os limites para as cartas de controlo foram calculados da seguinte forma:

- Cálculo das médias das áreas obtidas nos diferentes dias, $\bar{X}$
- Cálculo do desvio padrão das mesmas áreas, S
- Limites de Controlo Superior (LCS) = $\bar{X} \pm 3 \cdot S$
- Limites de Controlo Inferior (LCI) = $\bar{X} \pm 2 \cdot S$

Os dados para a construção da carta de controle estão apresentados na Tabela B1 e B2 do Anexo B e nas Figuras 23 e 24 encontram-se as cartas de controle obtidas.

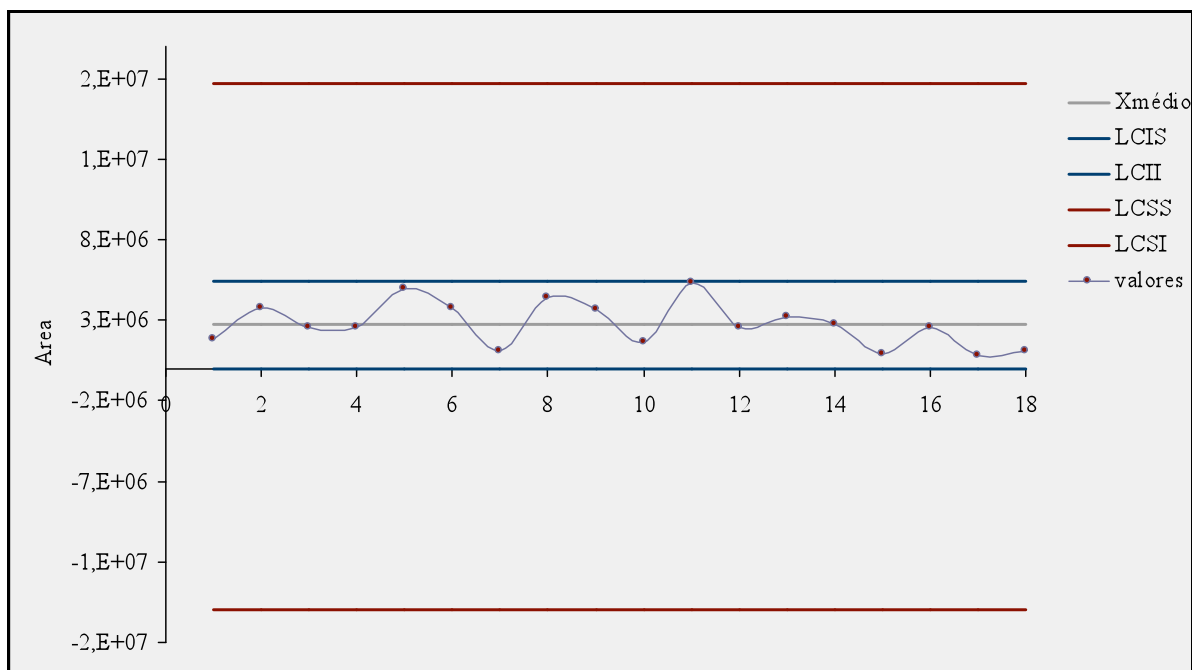


Figura 23 - Carta de controle do padrão diário do BaP de 10 µg/L.

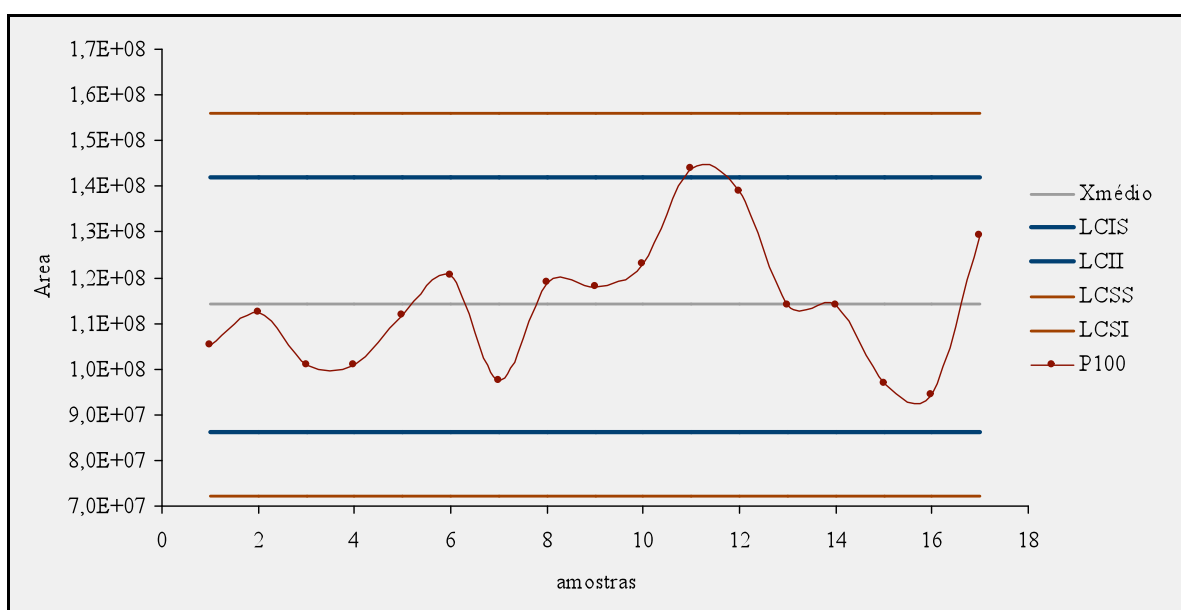


Figura 24 - Carta de controle do padrão diário do BaP de 100 µg/L.

Tal como se pode verificar pelos limites das cartas de controle a resposta da fluorescência varia bastante no tempo.

As cartas de controlo partem do princípio que a ocorrência de erros é aleatória, pelo que a distribuição de pontos em torno do valor médio ($X_{\text{médio}}$) segue uma distribuição normal. Estas permitem obter informações sobre a estabilidade da resposta do equipamento, estado dos reagentes e desempenho dos analistas. Pode-se assim controlar a exactidão das análises ou apenas a precisão.

Devem ser averiguadas as eventuais anomalias sempre que se verifiquem as seguintes situações (ISO 8258/1993):

- Existirem 1 ponto fora da linha de acção (LCSS e LCSI);
- Existirem 2 pontos sucessivos fora das linhas de aviso (LCII e LCIS);
- Existirem 9 pontos consecutivos de um dos lados da média ($X_{\text{médio}}$);
- Existirem 6 pontos consecutivos a subir ou a descer;

Nestas situações devem ser averiguadas as causas dos pontos fora de controlo de forma a proceder as acções correctivas correspondentes.

Relativamente aos resultados obtidos, na Figura 24 verifica-se que existe um ponto fora do limite Inferior superior de controlo (LCIS) no entanto como o ponto seguinte já se encontrava dentro dos limites de controlo, não foi realizada nenhuma acção correctiva.

No entanto as cartas de controlo devem manter-se actualizadas quer relativamente aos valores dos controlos quer relativamente aos limites de controlo. A actualização dos limites de controlo deve ser realizada entre 30 a 50 pontos de controlo, nesta altura devem ser recalculados os novos valores da média e respectivo desvio padrão com todos os pontos (excluindo os fora de controlo).

3.1.2. Linearidade e Limites de Detecção

Procedeu-se à análise de 5 padrões do BaP preparados como indicado na Tabela 26, na gama de concentrações de 1 a 100 µg/L, para obter a recta de calibração que permitiu a quantificação do BaP. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela B3 do Anexo B.

Foi realizado um ajuste linear pelo método dos mínimos quadrados, aos resultados obtidos, segundo o modelo do tipo:

$$y=b*x+a \quad (\text{Equação 14})$$

Sendo y a área obtida por cromatografia, x a concentração do analito em µg/l (BaP), b o declive e a a ordenada na origem.

Fazendo a representação da área do BaP em função da concentração, pode-se observar a linearidade da resposta do detector – Figura 25.

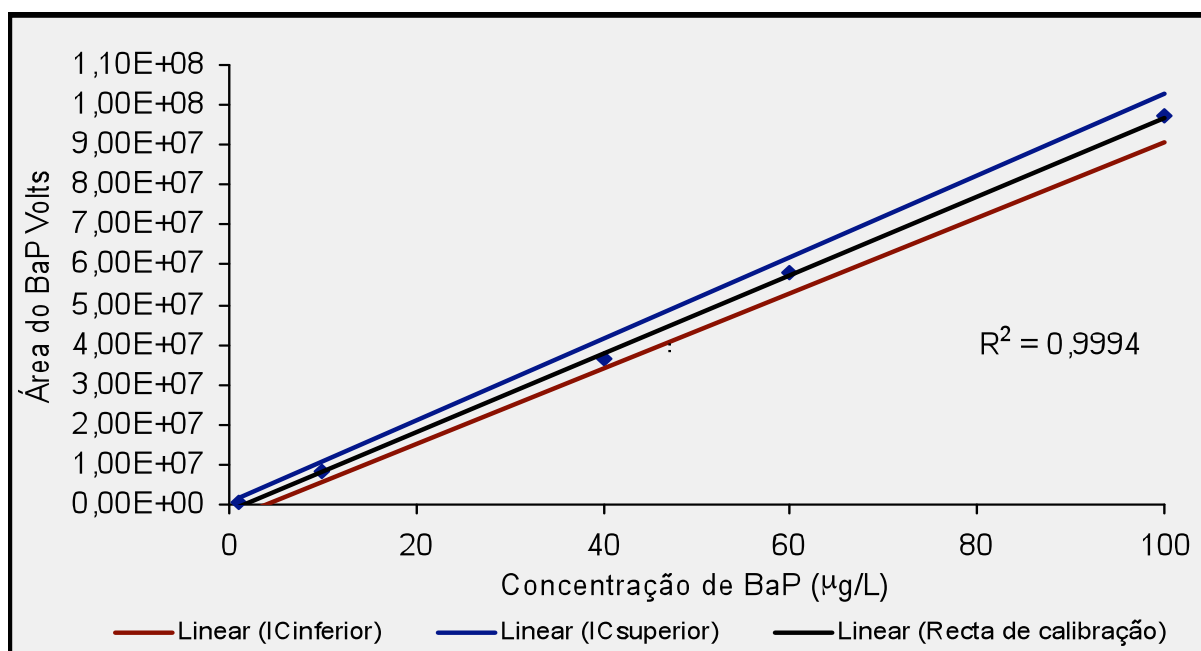


Figura 25 – Recta de calibração para a análise do BaP, (IC – Intervalo de Confiança).

Os resultados obtidos do ajuste linear estão apresentados na Tabela 35.

Tabela 35 – Resultados do tratamento estatístico à recta de calibração do BaP.

Declive ($\mu\text{g/L} / \text{V}$)	$b = \frac{\sum (x_i - \bar{x}) * (y_i - \bar{y})}{\sum (x_i - \bar{x})}$	985139
Ordenada na origem (V)	$a = \bar{y} - b * \bar{x}$	-1558656
Coefficiente de correlação	$R^2 = \frac{\sum (x_i - \bar{x}) * (y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2 * \sum (y_i - \bar{y})^2}}$	0,9993
Desvio padrão residual	$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \hat{y})^2}{n - 2}}$	1127345
Desvio padrão associado a a	$S_a = S_{y/x} * \sqrt{\frac{\sum x_i^2}{n * \sum (x_i - \bar{x})^2}}$	779502
Desvio padrão associado a b	$S_b = \frac{S_{y/x}}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2}}$	14091
Limite de detecção BaP (Área)	$y_{LD} = a + 3 * S_a$	779848
Limite de detecção do BaP ($\mu\text{g/L}$)	$x_{LD} = 3 * S_a / b$	2,37
Coefficiente de variação do declive	S_b / b (%)	1,43
Valor da distribuição t de <i>student</i> (95%) para (n-2)	t Valor tabelado	2,776
Intervalo de confiança de b	$IC_b = t * S_b$	39117
Intervalo de confiança de a	$IC_a = t * S_a$	2163897

Embora não exista base científica para os critérios que se seguem, normalmente os laboratórios de controlo de qualidade de produtos admitem um método analítico como adequado para ser utilizado em análise se (Alves, 2006):

- O desvio padrão relativo do declive, S_b/b , (razão entre o desvio padrão do declive e o declive) for inferior a 5%.
- A ordenada na origem contiver a origem ($a - S_a < 0 < a + S_a$).
- O coeficiente de correlação for superior a 0,995.

Da análise dos resultados de linearidade obtidos concluiu-se que: o resultado do ajuste foi bastante bom, uma vez que se conseguiu um coeficiente de correlação $R^2 > 0,995$ (0,9993) e que o coeficiente de variação do declive (S_b/b) foi inferior a 5% (1,43%). Comparando o valor do coeficiente de correlação com os valores encontrados na bibliografia e apresentados na Tabela 25, constata-se que o valor obtido é em alguns casos superior aos encontrados na bibliografia.

O limite de detecção obtido foi de 2,37 $\mu\text{g/L}$ do BaP. Define-se limite de detecção como a concentração mínima a partir do qual é possível deduzir a presença do analito, com uma incerteza estatística determinada, isto com uma precisão e uma exactidão que podem não ser as que são obtidas para concentrações maiores (Alves, 2006). O limite de detecção é muito superior ao valor paramétrico do Decreto de Lei 306/2007 que é de 0,01 $\mu\text{g/L}$, o que quer dizer que este método não se aplica a análise de águas para consumo humano. Foi objectivo deste trabalho avaliar a eficácia da oxidação com reagente de Fenton em degradar o BaP, assim sendo decidiu-se escolher uma gama de linearidade com concentrações mais altas, por forma a permitir a análise das águas mais contaminadas e poder avaliar a sua degradação em termos de concentração.

3.1.3. Precisão do Método

A precisão é um termo geral que pretende avaliar a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos sobre uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, em condições definidas (Relacre, 2000).

Para o estudo da precisão do método usou-se o conceito de precisão intermédia que se refere à precisão avaliada, sobre uma mesma amostras, amostras semelhantes ou padrões, utilizando o mesmo método, variando neste caso o dia de análise (Relacre, 2000).

A precisão intermédia do método foi avaliada através do coeficiente de variação (CV) entre medições efectuadas em 5 dias diferentes de uma amostra a três níveis de concentração (10, 60 e 100 $\mu\text{g/L}$ do BaP), os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 36 e os valores lidos na Tabela B4 do Anexo B.

Tabela 36 – Resultados da precisão intermédia de 3 padrões em 5 dias diferentes, para o BaP.

	Concentrações medidas $\mu\text{g/L}$		
	Padrão 10 $\mu\text{g/L}$	Padrão 60 $\mu\text{g/L}$	Padrão 100 $\mu\text{g/L}$
Dia 1	8,3	64,5	120,3
Dia 2	10,6	57,9	120,5
Dia 3	10,9	60,6	110,9
Dia 4	12,5	59,1	119,0
Dia 5	10,8	56,8	114,8
Concentração média $\bar{x}$ ($\mu\text{g/L}$)	10,6	59,8	117,1
Desvio padrão S ($\mu\text{g/L}$)	1,5	3,0	4,2
CV = $S/\bar{x}$ (%)	13,9	5,0	3,5
Erro relativo %	6,4	0,3	17,1

O CV foi de 13,9% (com erro relativo de 6,4%) para a concentração média de 10,6 $\mu\text{g/L}$, 5,0 % (com erro relativo de 0,3%) para a concentração média de 59,8 $\mu\text{g/L}$ e de 3,5% (com erro relativo de 17,1%) para a concentração média do BaP de 117,1 $\mu\text{g/L}$. O resultado está de acordo com o esperado uma vez que para concentrações menores o coeficiente de variação é maior. No entanto devemos ter em conta a variabilidade da resposta da fluorescência demonstrada nas cartas de controlo (Figura 23 e 24).

3.1.4. Exactidão

A exactidão mede o grau de proximidade entre o resultado obtido e o resultado esperado. Utilizou-se o método da adição de padrão para o cálculo da exactidão. Este método consiste na adição de um padrão de concentração conhecida a uma amostra e obtemos o resultado da análise antes e após a adição; e calcula-se a percentagem de recuperação do analito (Alves, 2006).

Os ensaios de recuperação para análise do BaP foram realizados com contaminação de amostras (padrões), com o padrão de 100 µg/L preparado no dia, em 5 dias diferentes. Esta contaminação realizou-se em amostras com concentrações entre 10 e 60 µg/L do BaP.

Os resultados da percentagem de recuperação estão apresentados na Tabela 37 e na Tabela B5 do Anexo B.

Tabela 37 – Resultados de ensaios de recuperação do BaP, em 5 dias diferentes.

Dia	Amostras contaminadas	
	Recuperação média %	Concentração obtida µg/L
1	79,7	79,7
2	75,3	75,3
3	79,9	79,9
4	71,3	71,4
5	85,3	85,3
Média	78,3	78,3
Desvio padrão	5,3	5,3

A recuperação foi calculada a partir da razão entre o aumento de área observado e a área do padrão adicionado.

A recuperação média obtida foi de 78,3% (com um desvio padrão de 5,3%).

Também foram realizados ensaios de recuperação a partir da solução resultante da degradação do BaP com reagente de Fenton. O que se fez foi preparar um padrão de 100 µg/L de BaP com essa solução. Os ensaios foram realizados em 3 dias diferentes e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 38 e no Anexo B, Tabela B6.

Tabela 38 – Resultados de recuperação restantes do padrão de 100 µg/L preparado com a solução resultante da degradação com o reagente de Fenton.

Dia	Amostras contaminadas	
	Recuperação média%	Concentração obtida µg/L
1	48,5	48,5
2	37,6	37,6
3	45,8	45,8
Média	44,0	44,0
Desvio padrão	5,7	5,7

Da análise da recuperação obtida com os padrões preparados com a solução resultante da degradação com reagente de Fenton, verificou-se que a % de recuperação baixou cerca de 44% relativamente à obtida com padrões ideais, o que quer dizer que existe uma possível interferência da matriz no processo de análise.

3.1.5. Incerteza Global

A incerteza global representa uma medida da possível variabilidade e consequente fiabilidade do método analítico. A avaliação da incerteza associada ao método analítico que foi validado é a etapa final da validação, que conduz ao resultado $\pm$ Incerteza.

A avaliação da incerteza global, com base na metodologia descrita pela Eurachem (2000), combina as contribuições de todas as fontes de incerteza, julgadas significativas pelo operador, de forma a conduzir a uma melhor interpretação final do resultado e constatar as fontes de erro que mais contribuem.

Neste trabalho foram contabilizadas quatro incertezas individuais para o cálculo da incerteza global:

- Incerteza associada à preparação dos padrões, U_1
- Incerteza associada à recta de calibração, U_2
- Incerteza associada à precisão, U_3
- Incerteza associada à exactidão, U_4

A incerteza global do método analítico de quantificação do BaP é determinada pela seguinte expressão:

$$U = \sqrt{U_1^2 + U_2^2 + U_3^2 + U_4^2} \quad (\text{Equação 15})$$

Em que U representa a incerteza global em %.

3.1.5.1. Incerteza associada à preparação dos padrões, U_1

Esta incerteza foi calculada recorrendo à expressão:

$$U_1 = \sqrt{\sum \left(\frac{\Delta m_i}{m_i} \right)^2} \quad (\text{Equação 16})$$

Onde Δm_i é o erro associado à medição de uma determinada grandeza, como por exemplo preparação de soluções e m_i é o valor medido da respectiva grandeza.

Incertezas associadas à preparação da solução mãe do BaP (M_1) de 10 mg/L:

A incerteza associada aos equipamentos de medição de volumes usados (micropipeta e balões volumétricos) na preparação da solução mãe e dos padrões do BaP são apresentados na Tabela 39. As incertezas dos balões volumétricos foram estimadas a partir dos intervalos de confiança indicados nos mesmos e considerando uma distribuição triangular dos erros (Eurachem/CITAC Guide, 2000).

$$u_{\text{Distribuição triangular}} = \frac{a}{\sqrt{6}} \quad (\text{Equação 17})$$

Sendo a o intervalo de confiança da distribuição.

As incertezas da micropipeta foram retiradas dos valores tabelados da mesma e fornecidos pelo fabricante, no que respeita aos extremos (10 e 100 μL) os restantes foram obtidos por interpolação dos valores tabelados.

Tabela 39 – Incertezas associadas à medição de volumes com balões volumétricos e micropipetas, usados na preparação da solução mãe (M_1) e dos padrões do BaP, incerteza da solução mãe (M_1).

Balões Volumétricos	Capacidade (mL)	10	50	100		
	Tolerância (mL)	0,025	0,06	0,1		
	Incerteza (u)	0,010	0,024	0,041		
Micropipeta Socorex (10-100 μL)	Volume medido μL	10	20	40	60	100
	Incerteza associada U %	1,00	0,98	0,93	0,89	0,80
Padrão Comercial BaP	Concentração BaP (mg/L)	1000				
	Incerteza associada U %	0,50				
Solução mãe M_1	Concentração solução M_1 (mg/ L)	10				
	Volume padrão (μL)	100				
	Volume Final (mL)	10				
	Incerteza U %	0,98				

A incerteza relativa associada à preparação da solução mãe M_1 foi calculada a partir das incertezas associadas ao padrão comercial do BaP, incerteza do balão volumétrico e incerteza da micropipeta para o volume retirado, segundo equação 18.

$$U_{\text{solução mãe } M_1} = \sqrt{\left(\frac{u_{\text{balão}}}{V_{\text{balão}}}\right)^2 + (U_{\text{micropipeta}})^2 + (U_{\text{padrão}})^2} = 0,0098 \quad (\text{Equação 18})$$

Incerteza associada à preparação dos padrões do BaP usados na curva de calibração:

As incertezas associadas aos padrões usados na curva de calibração são apresentadas na Tabela 40.

A incerteza relativa associada à concentração dos padrões usados para traçar a curva de calibração foi calculada a partir das incertezas associada à concentração e ao volume utilizado da solução mãe M1, e à medição de volume no balão volumétrico, (Equação 19).

$$U_{padrões} = \sqrt{\left(\frac{u_{balão}}{V_{balão}}\right)^2 + \left(U_{micropipeta}\right)^2 + \left(U_{solução\ mãe\ M_1}\right)^2} \quad (\text{Equação 19})$$

Tabela 40 - Incerteza relativa associada às concentrações dos padrões do BaP.

Concentração BaP µg/L	Solução mãe do BaP M ₁		Vol. retirado da Sol. mãe M ₁		Balão volumétrico		U ₁ padrões %
	Concentração mg/L	Incerteza U	Volume (mL)	Incerteza micropipeta U	Volume (mL)	Incerteza absoluta u (mL)	
1	10	0,0098	10	1,00E-02	100	0,100	1,40
10			10	1,00E-02	10	0,025	1,42
40			40	9,30E-03	10	0,025	1,37
60			60	8,90E-03	10	0,025	1,34
100			100	8,00E-03	10	0,025	1,29

3.1.5.2. Incerteza associada à curva de calibração, U₂

Calculou-se a incerteza relativa associada ao cálculo do valor da concentração obtido pela recta de calibração, ou seja:

$$U_2 = \frac{u_{x0}}{x0} \quad (\text{Equação 20})$$

Sendo u_{x0} o desvio padrão da concentração calculado pela Equação 21, e $x0$ a concentração calculada através da recta de calibração. Os resultados indicam-se na Tabela 41e Tabela B7 do Anexo B.

$$u_{x0} = \frac{S_{y/x}}{b} \sqrt{\frac{1}{N} + \frac{1}{n} + \frac{(y_i - \bar{y})^2}{b^2 * \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}} \quad (\text{Equação 21})$$

Em que N é o número de pontos experimentais e n o número de ensaios efectuados para cada padrão, neste caso n=2.

Tabela 41 - Incerteza relativa associada à curva de calibração, na análise do BaP.

Xi	u_{x0}	U₂=u_{x0}/x0 %
1	1,12	56,76
10	1,06	10,74
40	0,96	2,50
60	0,99	1,64
100	1,27	1,26

3.1.5.3. Incerteza associada à precisão, U₃

A incerteza relativa associada à precisão foi calculada a partir de 3 amostras com aproximadamente 10, 60 e 100 µg/L do BaP, em 5 dias diferentes. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 42 e B4 (do anexo B).

A incerteza relativa associada à precisão foi calculada segundo as equações 22 e 23.

$$u_{\text{precisão}} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (\text{Equação 22})$$

$$U_{\text{precisão}} = \frac{u_{\text{precisão}}}{\overline{\text{Concentração}}} \quad (\text{Equação 23})$$

Sendo s o desvio padrão das medições das concentrações realizadas em dias diferentes, n o número de medições efectuadas (n=5) e $\overline{\text{Concentração}}$ a concentração média dos ensaios efectuados.

Tabela 42 – Incertezas relativas associadas à precisão, na análise do BaP.

Concentração das amostras do BaP (µg/L)	10	60	100
n	5	5	5
Concentração média (µg/L)	10,6	59,8	117,1
Desvio padrão (µg/L)	1,5	3,0	4,2
Incerteza absoluta u (µg/L)	0,66	1,33	1,86
Incerteza relativa (U₃) %	6,23	2,23	1,59

3.1.5.4. Incerteza associada à Exactidão, U₄

A incerteza absoluta associada à exactidão é obtida a partir dos ensaios de recuperação realizados (Tabela 43), sendo calcula pela equação 24:

$$U_{recuperação} = \frac{R_{máx} - R_{mín}}{R_{médio} * \sqrt{n}} \quad (\text{Equação 24})$$

Sendo s o desvio padrão das medições das concentrações realizadas em dias diferentes, n o número de medições efectuadas (n=5).

Tabela 43 – Incerteza associada à exactidão, na análise do BaP.

n	5
R _{max} %	85,3
R _{mín} %	71,4
R _{médio} %	78,3
Desvio padrão %	5,3
U₄ %	0,08

3.1.4.5. Incerteza Global, U_{global}

A incerteza global do método foi calculada a partir dos componentes da incerteza: Preparação de padrões (U_1), Calibração (U_2), Precisão (U_3) e Exactidão (U_4). Foi obtida segundo a equação 15 e os resultados são apresentados na Tabela 44.

Tabela 44 – Incerteza global associada à análise do BaP e respectivos componentes da incerteza.

Concentração BaP ($\mu\text{g/L}$)	U_1 (%)	U_2 (%)	U_3 (%)	U_4 (%)	U_{global} (%)
1,00	1,40	56,76	16,25	0,08	59,1
10,00	1,42	10,74	6,30	0,08	12,5
40,00	1,37	2,50	2,84	0,08	4,0
60,00	1,34	1,64	2,17	0,08	3,0
100,00	1,29	1,26	1,61	0,08	2,4

A incerteza global do método analítico foi representada em função da concentração do BaP, na Figura 26.

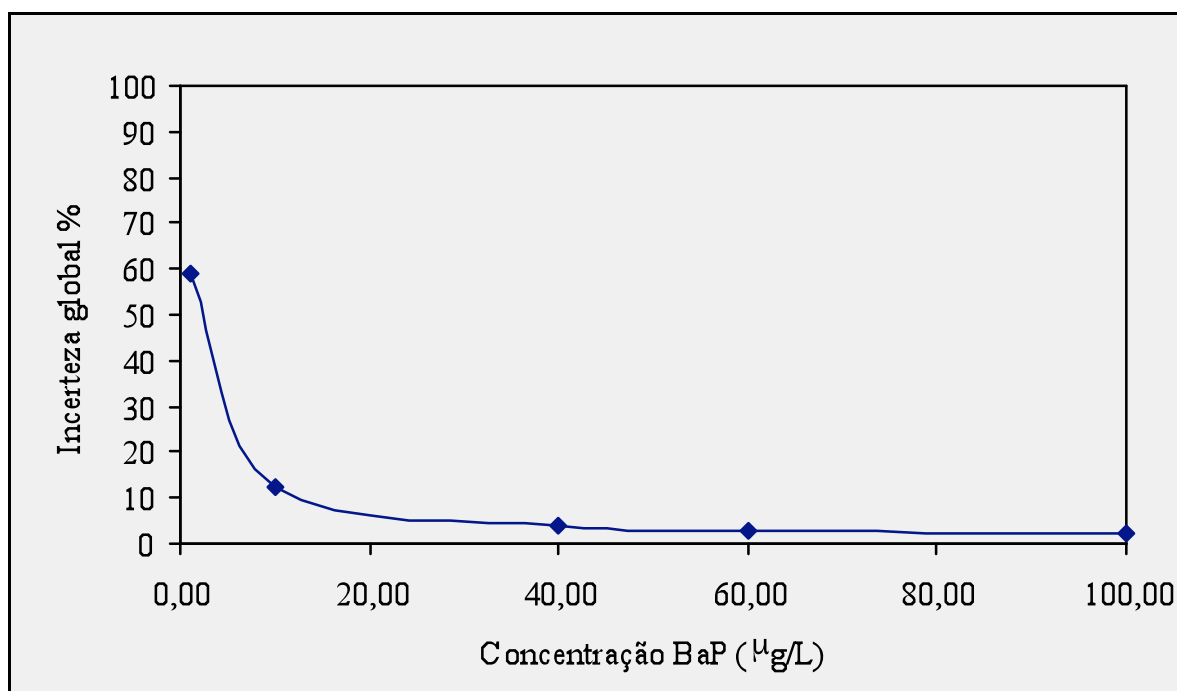


Figura 26 – Incerteza Global em função da concentração do BaP.

A incerteza global mantém-se praticamente constante para as gamas de concentração altas, subindo exponencialmente para as gamas de concentração mais baixas.

A estimativa global da incerteza associada à medição analítica é, hoje em dia, de primordial importância e é frequentemente esquecida na bibliografia científica. Quando se trata da determinação compostos vestigiais, a incerteza é muitas vezes da mesma ordem de grandeza dos resultados, fazendo com que a determinação dos mesmos não tenha significado em estudos de degradação.

Como neste método para a concentração mais baixa (1 µg/L) obteve-se um valor de incerteza de 59,1% devemos ter atenção às conclusões retiradas para concentrações desta ordem de grandeza.

A estimativa da incerteza pela metodologia Eurachem foi comparada com a metodologia prevista por Horwitz (1982) baseando-se esta na seguinte fórmula:

$$R.D.S \% = 0,02^{(1-0,5\log C)} \quad (\text{Equação 26})$$

Sendo C a concentração do analito (em fracção mássica).

Este tipo de fórmula simples e empírica é completamente indiferente ao tipo de analito, matriz e método aplicado. Tem no entanto a vantagem de possibilitar de uma forma muito imediata a estimativa da incerteza global, sem recorrer aos parâmetros de validação.

No entanto Thompson verificou que tal equação poderia não ser válida em todos os casos, propondo o seguinte:

Se $C < 1,2 \cdot 10^{-7}$	$\Rightarrow \sigma_R = 0,22$	(sendo C em fracção mássica, o que corresponde a 120 µg/Kg)
Se $1,2 \cdot 10^{-7} \leq C \leq 0,138$	$\Rightarrow \sigma_R = 0,2^{(1-0,5 \cdot \log C)}$	Equação de Horwitz
Se $C \geq 0,138$	$\Rightarrow \sigma_R = 0,01 C^{0,5}$	(sendo C em fracção mássica, o que corresponde a 138 g/Kg)

As gamas de concentração deste trabalho ficam claramente sob as condições da primeira expressão. Assim sendo, o resultado da incerteza para o BaP é de 22% em toda a gama de concentrações usadas.

Na Figura 27 apresenta-se a comparação das duas formas de cálculo da incerteza global.

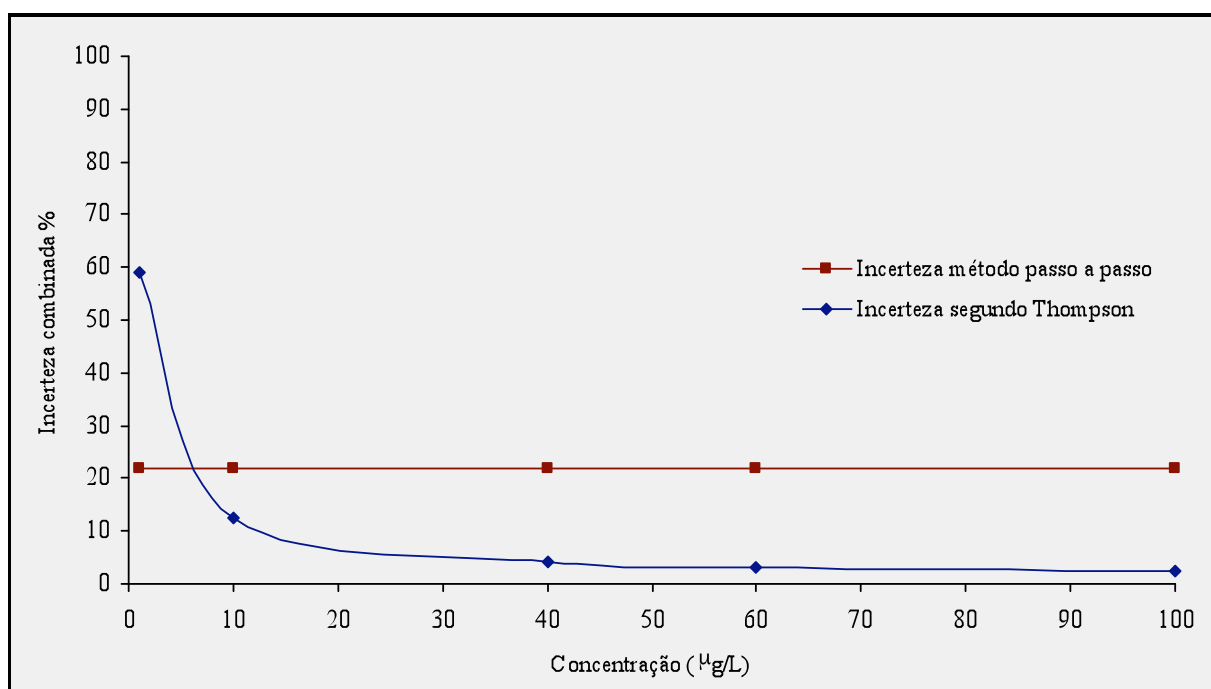


Figura 27 – Comparação da incerteza combinada estimada segundo o método passo a passo e segundo Thompson (2000) para o BaP.

Ao observar a Figura 27 reparamos que para a gama de baixas concentrações a incerteza segundo Thompson (2000) é inferior, o quereria dizer que estaríamos a obter uma estimativa da incerteza por defeito, ao passo que para concentrações mais altas estaríamos por excesso.

Pode-se assim considerar que a incerteza segundo Thompson (2000) é um resultado válido como primeira estimativa, uma vez que é uma maneira bastante expedita de prever a incerteza analítica. No entanto deve ser sempre realizado um estudo mais aprofundado do cálculo de incerteza. Realizar o estudo passo a passo não só permite saber com mais segurança o valor da incerteza, como também permite saber qual o factor que mais contribui para o aumento da incerteza global.

Na Figura 28 podemos constatar que as fontes que mais contribuíram para o resultado da incerteza global foram as incertezas da calibração e da precisão.

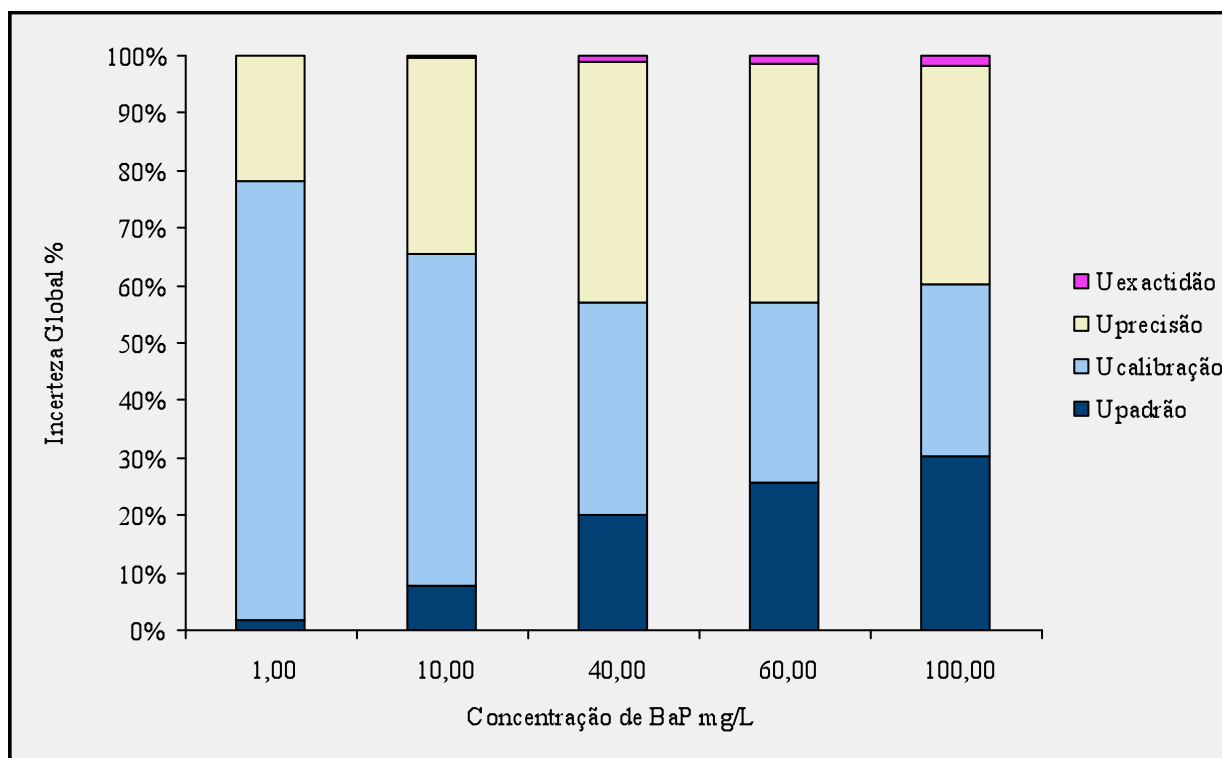


Figura 28 – Contribuição das incertezas individuais no resultado da incerteza global.

3.2. Degradação do Benzo(a)Pireno com Reagente de Fenton

De seguida apresentam-se os resultados finais relativamente às variáveis optimizadas na degradação do BaP com reagente de Fenton (pH, temperatura, concentração de ferro e concentração de peróxido de hidrogénio).

Um dos objectivos deste trabalho foi estudar o comportamento do BaP relativamente à degradação com reagente de Fenton numa matriz aquosa. A reacção com reagente de Fenton baseia-se fundamentalmente na geração de radicais livres, em particular de radicais hidroxilo, que são altamente oxidantes e reactivos com a maioria dos contaminantes orgânicos presentes.

Todas as experiências de optimização foram realizadas partindo da concentração inicial do BaP de 10 µg/L.

3.2.1. Optimização do pH

As propriedades oxidantes do reagente de Fenton dependem do pH sendo que o pH óptimo para este processo de degradação se situa entre 3 e 6. Para pH superior a 6 existe grande probabilidade de ocorrência de hidróxido de ferro baixando a eficiência da degradação, para além de a estes pH o ferro catalisar a decomposição do peróxido de hidrogénio em água e oxigénio, não havendo formação dos radicais hidroxilo. Para pH inferior a 3 também existe perda de eficiência da degradação embora não seja tão acentuada.

Os resultados obtidos da degradação do BaP com reagente de Fenton nas condições referidas na Tabela 30 conduziram aos resultados representados na Figura 29 (os dados desses resultados estão apresentados na Tabela C1 do Anexo C).

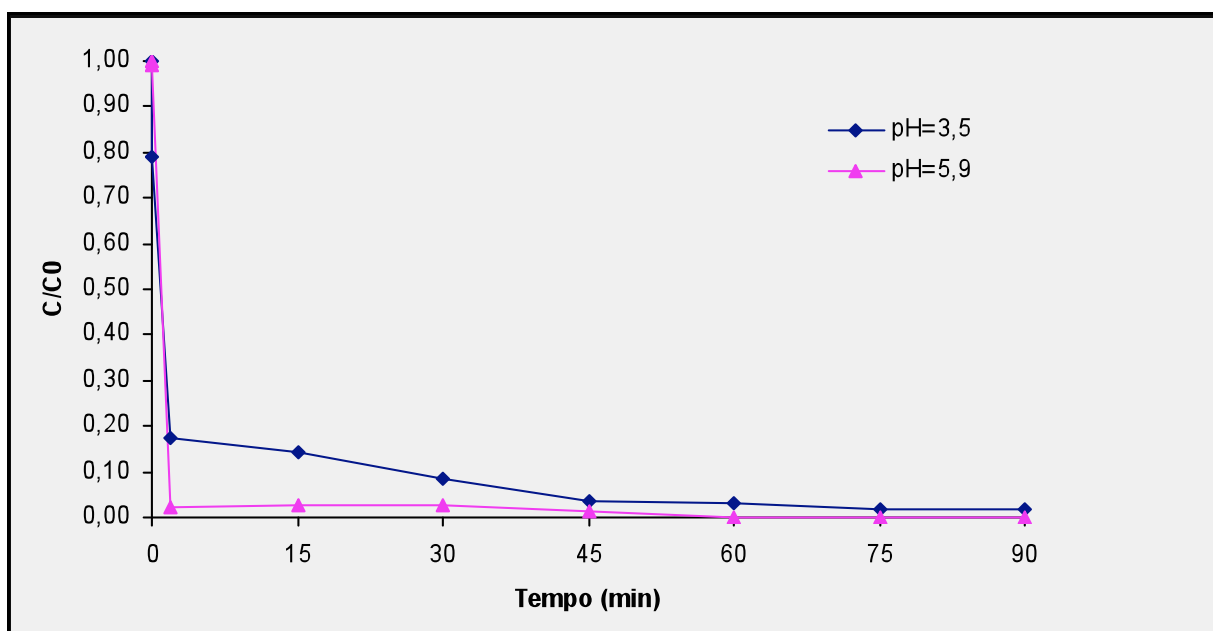


Figura 29 – Representação gráfica dos resultados de degradação do BaP com reagente de Fenton a diferentes pH, e $[\text{BaP}]_{\text{inicial}} = 10 \mu\text{g/L}$.

Relativamente à optimização do pH constatou-se que para pH=5,9 a degradação foi melhor em termos de % de degradação quer em termos de velocidade de reacção, tal como demonstrado por Beltrán *et al.*, em 1997. No entanto foi escolhido o pH 3,5 uma vez que para este valor Beltrán também obteve bons resultados tal como Rodolfo, 2004.

3.2.2. Optimização da Temperatura

Como anteriormente referido, a velocidade da reacção aumenta com o aumento de temperatura. No entanto para temperaturas superiores a 40 50°C existe uma perda de eficiência do processo de degradação devido à decomposição acelerada do peróxido em água e oxigénio. Mas para temperaturas inferiores a 20°C o efeito negativo é mais acentuado.

A determinação da temperatura óptima conduziu aos resultados apresentados no anexo C (Tabela C2). A Figura 30 representa a comparação entre as experiências realizadas a diferentes temperaturas e a pH=3,5. As condições de operação estão apresentadas na Tabela 31.

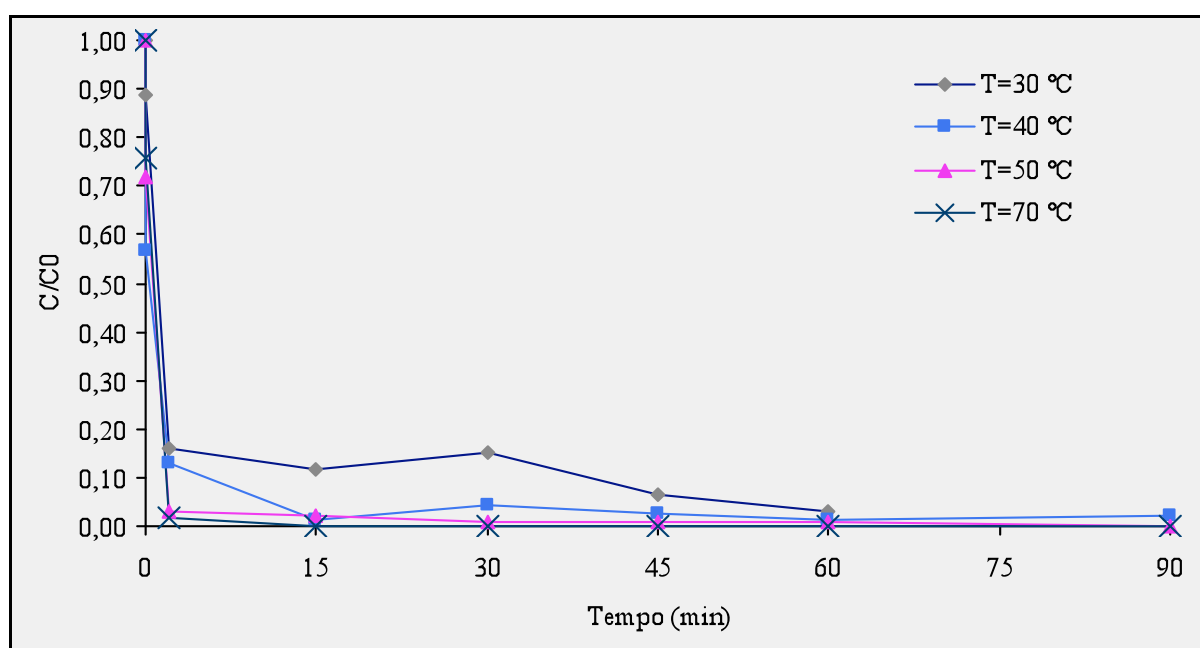


Figura 30 – Representação gráfica dos resultados de degradação do BaP com reagente de Fenton a diferentes temperaturas, e $[\text{BaP}]_{\text{inicial}} = 10 \mu\text{g/L}$.

Na Figura 30 estão representados os resultados obtidos na degradação do BaP com reagente de Fenton, a diferentes temperaturas. Da análise gráfica pode concluir-se que todas as temperaturas conduzem a bons resultados, no entanto à temperatura de 30 °C a reacção mostrou-se mais lenta ou seja demorou mais tempo a atingir a mesma fracção de degradação que os restantes ensaios.

As temperaturas para as quais se registaram melhores resultados foram 50 e 70 °C, tal como seria de esperar e demonstrado por Beltrán *et al.*, em 1997. No entanto, como neste tipo de processos a vertente económica é muitas vezes o factor limitante e a 70 °C existe o risco de a velocidade de decomposição do H₂O₂ aumentar, optou-se por escolher a T= 40 °C para a qual se registou valores de degradação semelhantes às temperaturas de 50 e 70 °C a partir dos 15 minutos de reacção.

3.2.3. Optimização da Concentração de Fe²⁺

O ião ferro funciona como espécie catalizadora do processo. A eficiência do processo aumenta com o aumento da concentração inicial de ferro. Um excesso de ferro também pode baixar a eficiência do processo de degradação por consumo de radicais hidroxilo. Não se realizou experiências com concentração de ferro superior a 5,5 mg/L uma vez que para esta concentração se verificou que a reacção era bastante rápida mas o resultado obtido em termos de eficiência do processo era o mesmo, para além disso havendo um excesso de ferro este pode reagir com os radicais hidroxilo. Relativamente à concentração de 2 mg/L não se realizaram experiências com concentrações mais baixa uma vez que para esta já se verificava uma reacção mais lenta, atingia-se a mesma concentração final mais com mais tempo de degradação.

Após ter encontrado o pH e temperatura óptimos foi-se determinar a concentração óptima de catalisador. A determinação da concentração de Fe²⁺ óptima conduziu aos resultados apresentados no anexo C (Tabela C3). As Figuras 31 e 32 representam a comparação entre as experiências realizadas a diferentes concentrações de Fe²⁺ a pH=3,5 e T=40 °C. As condições de operação estão apresentadas na Tabela 32.

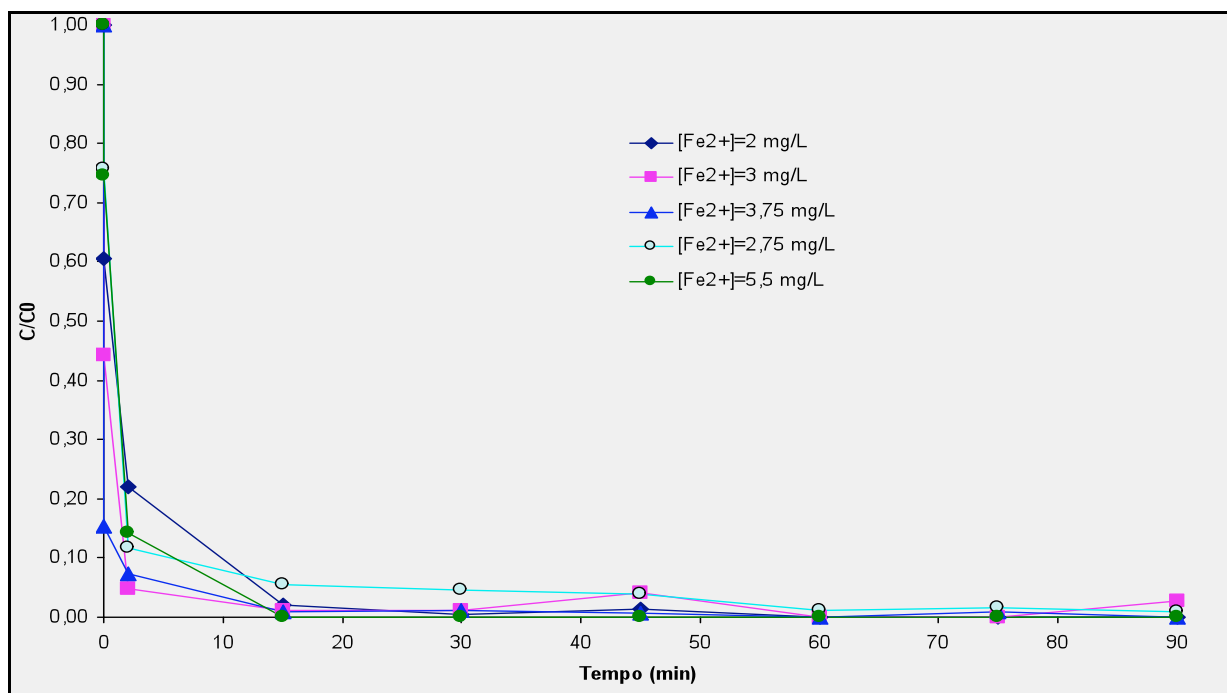


Figura 31 – Representação gráfica dos resultados de degradação do BaP com reagente de Fenton a diferentes concentrações de Fe^{2+} , nas condições apresentadas na Tabela 31, e $[\text{BaP}]_{\text{inicial}} = 10 \mu\text{g/L}$.

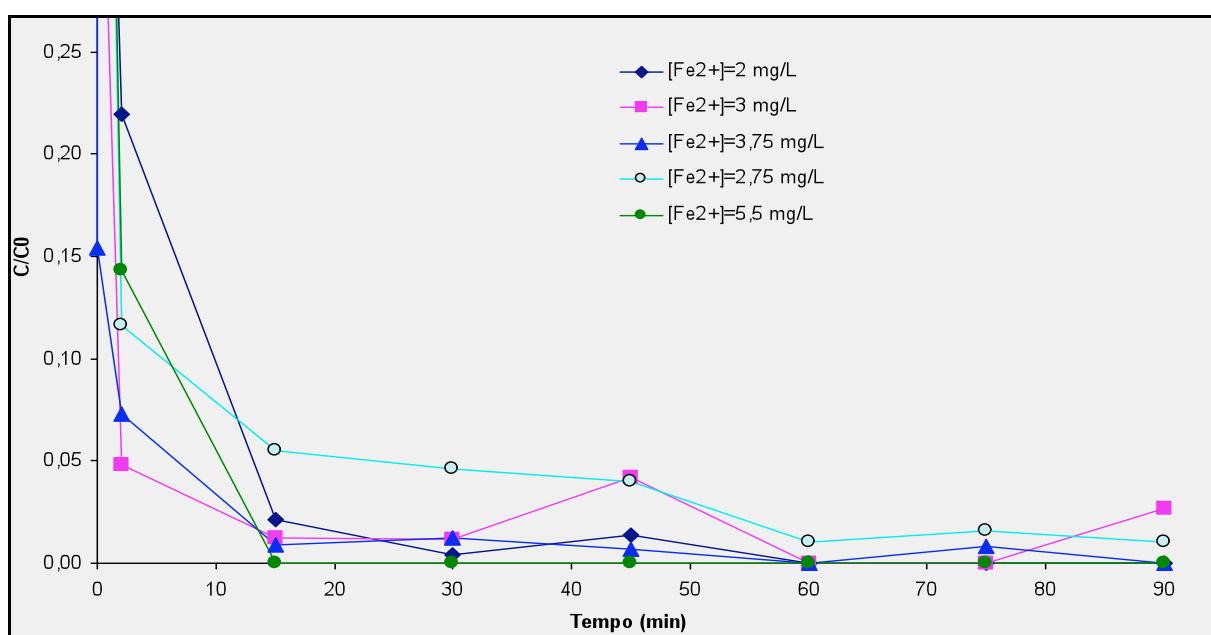


Figura 32 – Representação gráfica dos resultados de degradação do BaP com reagente de Fenton a diferentes concentrações de Fe^{2+} , nas condições apresentadas na Tabela 31, e $[\text{BaP}]_{\text{inicial}} = 10 \mu\text{g/L}$.

Da análise gráfica dos resultados com variação da concentração de Fe^{2+} , constatou-se que as concentrações que apresentavam melhores resultados em termos de degradação do BaP eram $\text{Fe}^{2+}=5,5$; 3,75; e 3 mg/L ou seja as concentrações mais altas de Fe^{2+} . Optou-se por escolher a concentração de 3,75 mg/L por ser uma boa alternativa económica e por apresentar resultados de degradação mais estáveis do que para a concentração de 3,00 mg/L. Verificou-se que esta concentração se encontrava dentro do limiar mínimo de concentração de ferro tal como referido anteriormente. Beltrán *et al.*, em 1997 obteve uma concentração óptima de ferro de 2,84 mg/L para uma concentração de Fluoreno de $5,2 \times 10^{-6}$ M.

3.2.4. Optimização da Concentração de Peróxido de Hidrogénio

O peróxido de hidrogénio é a espécie fornecedora de radicais hidroxilo. Um excesso de peróxido de hidrogénio também pode baixar a eficiência da degradação com reagente de Fenton, isto devido é existência de reacções parasitas de consumo de radicais hidroxilo.

Nas condições apresentadas na Tabela 33 foram realizadas experiências com variação da concentração de peróxido de hidrogénio. Os resultados obtidos neste processo de optimização estão apresentados no Anexo C (Tabela C4). As Figuras 33 e 34 representam os resultados de degradação obtidos.

Na Figura 34 mostra-se mais pormenorizadamente, os resultados obtidos (alteração de escala).

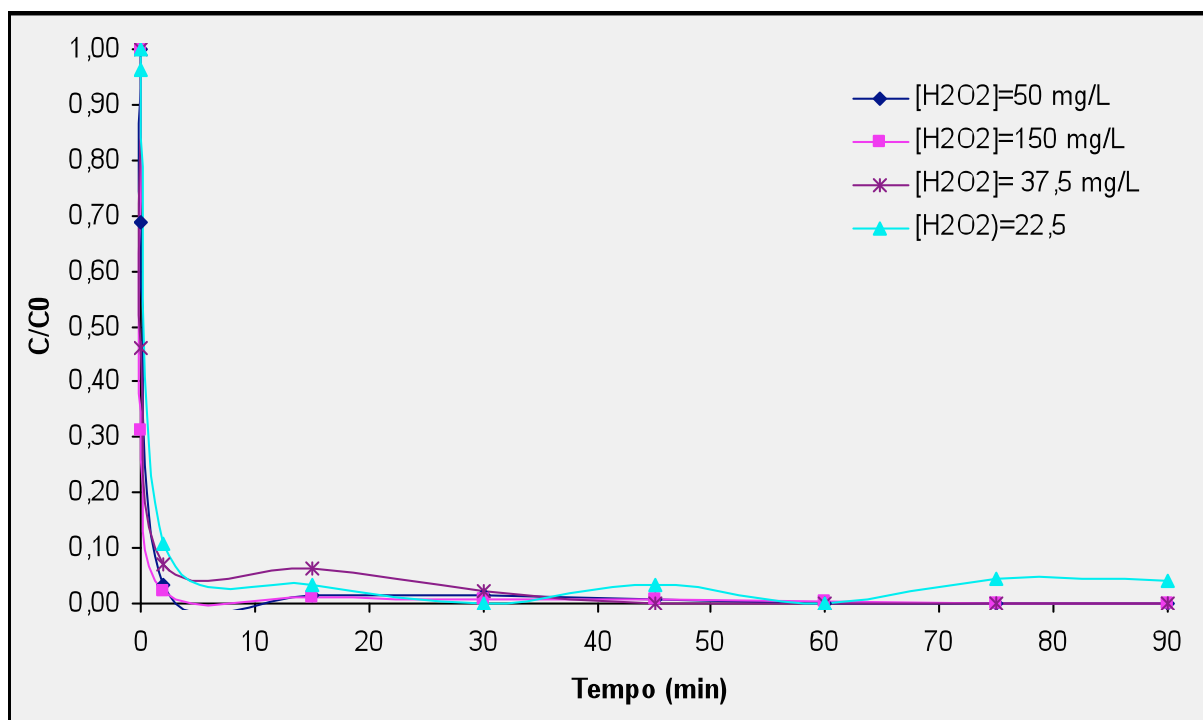


Figura 33 – Representação gráfica dos resultados de degradação do BaP com reagente de Fenton a diferentes concentrações de H_2O_2 , nas condições apresentadas na Tabela 32, e $[\text{BaP}]_{\text{inicial}} = 10 \mu\text{g/L}$.

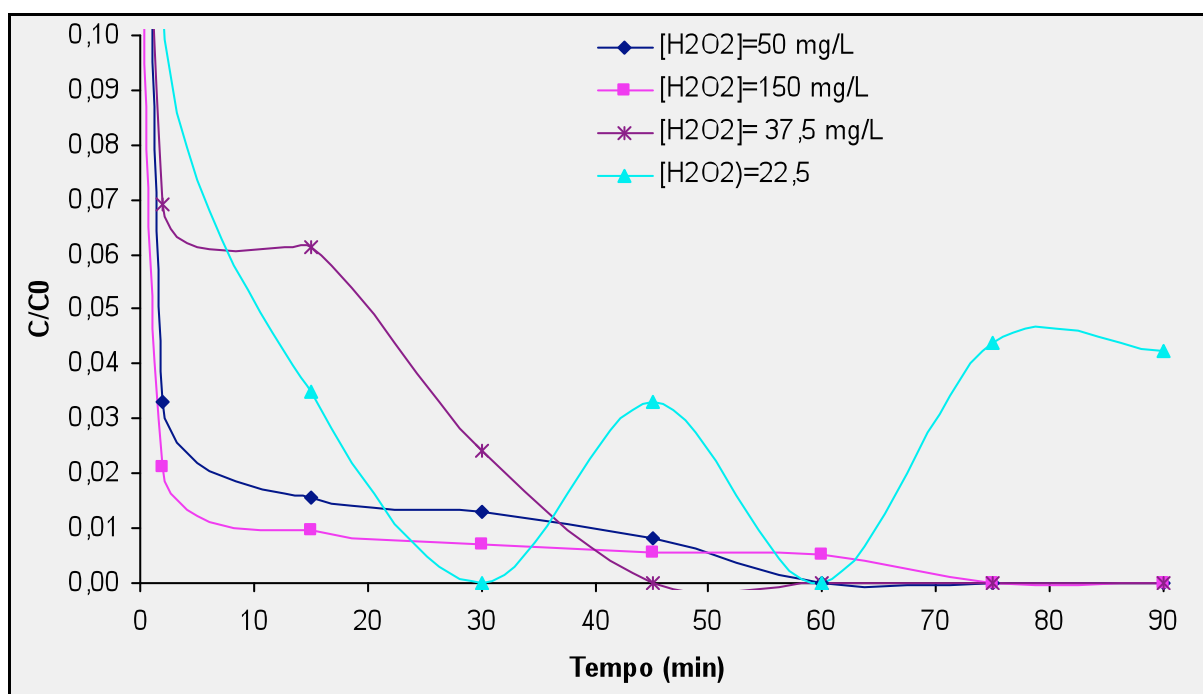


Figura 34 – Representação gráfica dos resultados de degradação do BaP com reagente de Fenton a diferentes concentrações de H_2O_2 , nas condições apresentadas na Tabela 32 e $[\text{BaP}]_{\text{inicial}} = 10 \mu\text{g/L}$.

Da análise das Figuras 33 e 34 concluiu-se que os resultados de degradação com reacção mais eficiente (mais rápida), foi obtida para as concentrações de peróxido de hidrogénio de 50 e 150 mg/L, concentrações mais altas, tal como demonstrou Beltrán *et al.*, em 1997. Mais uma vez o factor económico pesou na decisão optando-se por uma concentração de H_2O_2 de 50 mg/L.

Beltrán *et al.*, em 1997 obteve como concentração óptima de H_2O_2 , na degradação de $5,2 \cdot 10^{-6}$ M de Fluoreno com reagente de Fenton, 10^{-3} M (38 mg/L).

Na Figura 33 podemos ainda observar, que para razões C/C0 baixas obtiveram-se flutuações nos resultados ao longo da degradação, isto traduz a realidade encontrada no cálculo da incerteza global, para concentrações baixas as incerteza são grandes.

Os resultados de optimização obtidos encontram-se compilados na Tabela 45.

Tabela 45 – Resultados da optimização dos parâmetros para reagente de Fenton, na degradação de 10 µg/L do BaP.

Parâmetros de optimização	Resultado
pH	3,5
Temperatura °C	40
Concentração de Fe^{2+} (mg/L)	3,75
Concentração de H_2O_2 (mg/L)	50,0
$[\text{Fe}^{2+}]/[\text{H}_2\text{O}_2]$ (massa)	0,075
$[\text{H}_2\text{O}_2]/[\text{Fe}^{2+}]$ (massa)	13,3

Comparando estes resultados com os obtidos por Beltrán *et al.*, em 1997 ($[\text{Fe}^{2+}] = 5 \cdot 10^{-5}$ M (2,84 mg/L), $[\text{H}_2\text{O}_2] = 1 \cdot 10^{-3}$ M (38 mg/L), $[\text{Fe}^{2+}]/[\text{H}_2\text{O}_2] = 0,075$ (massa), $[\text{H}_2\text{O}_2]/[\text{Fe}^{2+}] = 13,4$ (massa)), em termos de razões podemos dizer que são iguais embora neste trabalho se tenha usado concentrações superiores de ferro e peróxido de hidrogénio.

Tal como apresentado na Tabela 46 os valores de percentagem de degradação do BaP são bastante bons, e podemos constatar que ao fim de 15 min de reacção 98,4% de BaP tinha sido degradado, Beltrán *et al.*, em 1997 também obteve % de degradação desta ordem de grandeza nas condições óptimas definidas para a degradação de Fenton.

Tabela 46 – Resultados da % de degradação do BaP para concentração inicial de 10 µg/L, nas condições óptima mencionadas na Tabela 45.

[BaP] µg/L	Tempo (min)	Área média	Degradação%	[BaP] final µg/L	Correcção de volume BaP µg/L	C/C0
10	0	13715400	---	10,00	10,00	1,00
	0	9552226	30,4	6,96	6,89	0,69
	2	463327	96,6	0,34 *	0,33	0,03
	15	223273	98,4	0,16 *	0,16	0,02
	30	186687	98,6	0,14 *	0,13	0,01
	45	115533	99,2	0,08 *	0,08	0,01
	60	ND	100,0	0,00 *	0,00	0,00
	75	ND	100,0	0,00 *	0,00	0,00
	90	ND	100,0	0,00 *	0,00	0,00

* Resultados inferiores ao limite de detecção (meramente indicativo para o cálculo da % de recuperação.

É no entanto de referir que para a maior parte das experiências os resultados obtidos, foram inferiores ao limite de detecção do método. Como foi referido anteriormente sabemos que para concentrações desta ordem de grandeza a incerteza é grande podendo justificar algumas variações nos resultados da concentração.

Apesar de todas as experiências terem sido realizadas para a concentração inicial do BaP de 10 µg/L, e de se ter constatado que para concentrações abaixo desta os valores da incerteza são elevados, é esta gama de concentração que nos interessa trabalhar uma vez que é a que melhor traduz a realidade, ou seja amostras contaminadas poderão andar em valores de concentração desta ordem de grandeza.

3.2.5. Degradação do Benzo(a)Pireno nas Condições Optimizadas

Após ter determinado as condições óptimas para a degradação com reagente de Fenton de 10 µg/L do BaP, decidiu-se experimentar essas mesmas condições em concentrações mais elevadas do BaP (20, 60 e 100 µg/L). Os resultados obtidos encontram-se apresentados no

Anexo C (Tabela C5). Na Figura 35 estão representados os resultados obtidos na degradação de diferentes concentrações do BaP nas condições óptimas encontradas.

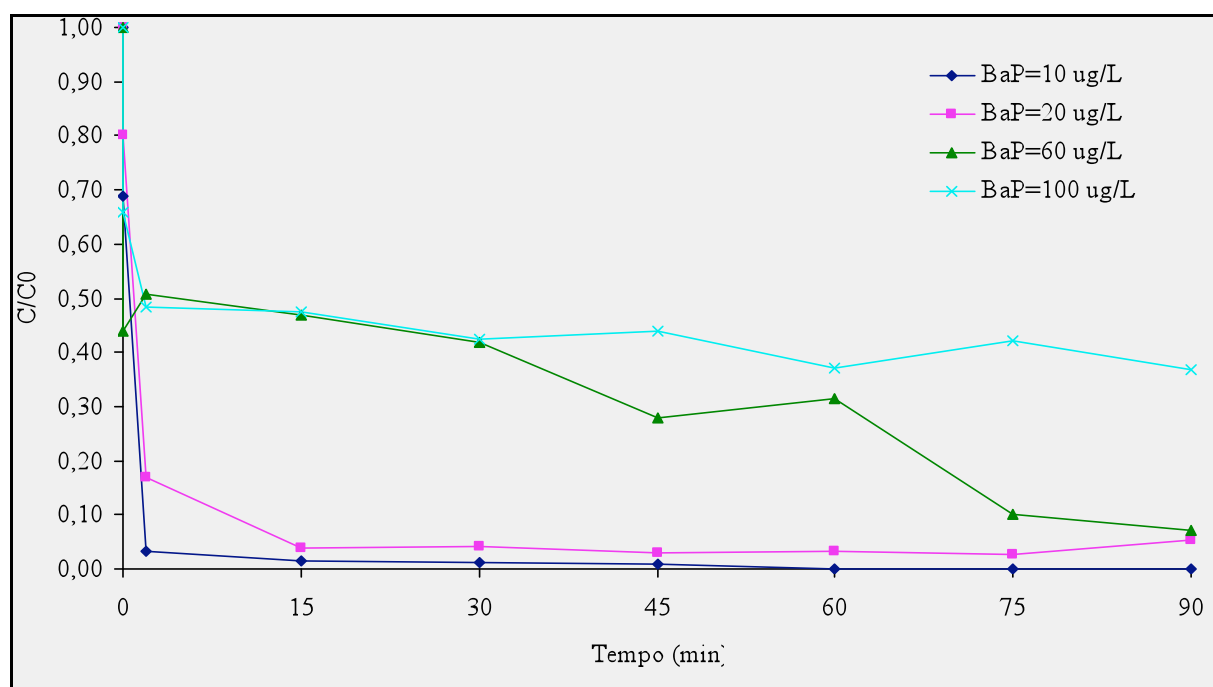


Figura 35 – Representação gráfica dos ensaios com reagente de Fenton a diferentes concentrações do BaP, nas condições óptimas encontradas, pH=3,5; Temperatura=40 °C; Concentração de Fe^{2+} =3,75 mg/L; Concentração de H_2O_2 =50 mg/L.

Tal como seria de esperar esta optimização funcionou para concentrações baixas mas aumentando a concentração do BaP a % de degradação diminuiu (para 100 µg/L obteve-se uma % de degradação do BaP aproximadamente 50%) e a velocidade da reacção também diminuiu. Será então aconselhável usar estas condições óptimas de reagente de Fenton mas em proporção com a concentração do BaP.

Após a análise de resultados pode verificar-se que a equação obtida por Tang e Huang (1997) em concentrações molares corresponde também ao nosso caso e após efectuar o cálculo verificou-se que para uma concentração de Fe^{2+} de 3,75 mg/L ($6,7 \cdot 10^{-5}$ mol/L) seria necessário usar uma concentração de H_2O_2 de $1,1 \cdot 10^{-3}$ mol/L tendo sido obtido $1,3 \cdot 10^{-3}$ mol/L (50 mg/L), o que quer dizer que a relação empírica poderia ser usada neste caso.

Relativamente aos resultados devemos estar atentos à gama de concentrações em que estamos a trabalhar. Pois tal como já foi referido e apesar desta situação traduzir a realidade, o

facto de trabalharmos em baixas concentrações faz com que a maior parte dos valores de concentração obtidos, após a degradação, esteja abaixo do limite de detecção encontrado para o método analítico. Além disso as incertezas do método para estas concentrações são elevadas.

Da realização deste trabalho podemos concluir que o processo de degradação com reagente de Fenton é um processo da qual se obteve uma boa eficiência de degradação do Bap, os custos de equipamento são baixos e fáceis de implementar, não se trabalha com pressões nem temperaturas elevadas não havendo por isso riscos para os operadores e reagentes de baixo custo comercial. No entanto neste tipo de processos existe o inconveniente da produção de lamas, e de subprodutos da reacção, que necessitam de ser identificados para verificar qual a possibilidade de envio para aterros sanitários no caso de fase sólida ou de submeter a outro tipo de tratamento, p.e. biodegradação, no caso da fase sólida e /ou líquida. A caracterização do efluente final poderia ser realizada por GC/MS de forma a obter uma informação quanto aos produtos de degradação e a sua possível toxicidade.

A produção excessiva de lamas bem como a toxicidade do produto final pode por em causa este tipo de processo de degradação. Pois o custo do tratamento posterior poderá ser bastante elevados não compensando relativamente a outros tipos de processos.

Este processo, nas condições optimizadas, poderia ainda ser testado em outros PAHs ou mesmo em misturas de PAHs, tendo presente que as características físico químicas dos PAHs são diferentes e que quanto maior o número de anéis aromáticos que possuem mais difíceis são de degradar.

4. Conclusões e Sugestões para Trabalho Futuro

O principal objectivo deste trabalho consistiu no estudo da degradação do BaP, um poluente com elevada toxicidade, através do reagente de Fenton. Tendo presente tal objectivo, o trabalho desenvolvido dividiu-se em duas partes: validação do método de análise do BaP e estudo da degradação deste composto por oxidação com reagente de Fenton.

O método de análise para a quantificação do BaP baseou-se na técnica de Cromatografia Líquida de Alta resolução (HPLC) com detecção por fluorescência. O limite de detecção obtido foi de 2,37 µg/L o que foi um limite bastante bom comparado com os encontrados na literatura para a gama de concentrações em que se realizou a curva de calibração.

A precisão intermédia do método foi avaliada através do CV a três níveis de concentração do BaP, os resultados obtidos foram: 13,9% para uma concentração média de 10,6 µg/L, 5,0% para uma concentração média de 59,8 µg/L e 3,5% para uma concentração média de 117,1 µg/L.

Relativamente à exactidão, esta foi calculada através de ensaios de recuperação realizado por contaminação de amostras com um padrão de 100 µg/L de BaP. Os resultados obtidos foram de 78,3% de recuperação com um desvio padrão de 5,3%.

Os ensaios de validação contaram ainda com o cálculo da incerteza global, obtendo-se valores $\leq 4\%$ para concentrações compreendidas entre 40 e 100 µg/L, aumentando consideravelmente para concentrações mais baixas (máximo de 59,1% para a concentração de 1 µg/L).

Em resultados preliminares com reagente de Fenton constatou-se que o processo de oxidação era um processo rápido e eficiente atingindo aproximadamente a degradação total do BaP, num curto intervalo de tempo, e também é económico pois as quantidades de reagente usadas são mínimas.

Foram avaliados os efeitos de várias variáveis na oxidação com reagente de Fenton, nomeadamente, pH, temperatura, concentração de ião ferro e concentração de peróxido de hidrogénio. Verificou-se que a degradação aumentava à medida que estas variáveis também aumentavam.

Nas condições estudadas os resultados mais favoráveis, quer em termos de percentagem de degradação quer em termos de custo, foram: pH=3,5; T=40 °C; $[\text{Fe}^{2+}] = 3,75 \text{ mg/L}$ e $[\text{H}_2\text{O}_2] = 50 \text{ mg/L}$.

Apesar de se ter obtido resultados bastante aliciantes neste trabalho com reagente de Fenton, deve-se ter consciência de que os limites legais impostos pela legislação não atingidos, pois a gama de concentrações é bastante mais alta do que a gama dos limites impostos e o limite de detecção obtido no método foi de $2,37 \mu\text{g/L}$. Além disso também não se sabe se a reacção foi completa e quais os produtos de degradação obtidos. Também há que ter em conta que a incerteza deste método para concentrações baixa são elevadas. No entanto o estudo realizado com concentração de BaP de $10 \mu\text{g/L}$ traduz uma realidade das concentrações encontradas no ambiente em amostras aquosas.

Sugestões Futuras

Devido ao facto do processo de optimização envolver 4 variáveis este torna-se demasiado complexo e demorado, no entanto podia-se usar as experiências realizadas neste trabalho e recorrer à experimentação factorial, avaliando a influência de diferentes variáveis operatórias na degradação. Ou mesmo realizar uma experimentação com a aplicação informática JMP (The statistical Discovery Software).

Também seria interessante identificar os produtos resultantes da degradação (por exemplo por GC/MS) e se estes forem diferentes dos compostos resultantes da oxidação completa (CO_2 e H_2O), estudar a biodegradação (por bactérias ou fungos), desses compostos tendo como base os resultados apresentados no capítulo de biodegradação.

Claro que uma sugestão para futuro não podia deixar de ser a realização de experiências com matrizes naturais (amostras reais) e testar as condições ótimas de degradação com reagente de Fenton encontradas neste trabalho, acompanhado do estudo da cinética de degradação.

No processo de oxidação química, seria interessante, do ponto de vista ambiental e económico, estudar a possibilidade de reciclar o ferro utilizado, ou seja no fim da oxidação provocava-se a precipitação do ferro por aumento de pH.

Uma outra sugestão seria testar as condições ótimas obtidas neste trabalho com outros PAHs ou mesmo com misturas destes compostos, tendo em atenção de que cada composto possui características físico químicas diferentes e que quantos mais anéis benzénicos tiverem mais difícil será a degradação (também depende da forma como estes anéis estão combinados).

5. Bibliografia

- Abrantes R., Assunção J., Pesquero C. (2004). Emission of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Light-duty Diesel Vehicles Exhaust. *Atmospheric Environment* 38: 1631–1640.
- Air Pollution Abatement Review Group (APARG), (1995). Report on the Abatement of Toxic Organic Micropollutants (TOMPs) from Stationary Sources. Oxfordshire, UK.
- Aitken M. D., Stringfellow W. T., Nagel R. D., Kazunga C., Chen S. H. (1998). Characteristics of Phenanthrene-Degrading Bacteria Isolated from Soils Contaminated with Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Canadian Journal of Microbiology* 44: 743–752.
- Algarra M., Jiménez V., Fornier P., Lamotte M. (2005). Detection and Quantification of PAH in Drinking Water by Front-Face Fluorimetry on a Solid Sorbent and PLS Analysis *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 382: 1103–1110.
- Alves A. (2006). Mestrado Integrado de Engenharia Química – Módulo de Métodos Instrumentais de Análise – Apontamentos Teóricos da Disciplina de Projecto de Engenharia Química I. Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto.
- Anyakora C., Coker H. (2006). Determination of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Selected Water Bodies in the Niger Delta. *African Journal of Biotechnology* Vol. 5 (21): 2024–2031.
- Anyakora C., Ogbeche A., Palmer P., Coker H. (2005). Determination of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons in Marine Samples of Siokolo Fishing Settlement. *Journal of Chromatography A*, 1073: 323–330.
- ATSDR, (2001). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. US Department of Health and Human Services, Public Health Services

- Barclay C. D., Farquhar G. F., Legge R. L. (1995). Biodegradation and Sorption of Polyaromatic Hydrocarbons by *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 42: 958-963.
- Beltrán F. J., González M., Ribas F. J., Ivarez P. (1997). Fenton Reagent Advanced Oxidation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in water. *Water, Air & Pollution*, 105: 685-700.
- Bhatt M., Cajthaml T. (2002). Mycoremediation of PAH-Contaminated Soil. *Folia Microbiol.* 47(3): 255-258.
- Bigda R.J., (1995). Consider Fenton's Chemistry for Wastewater Treatment, *Chemical Engineering Progress* 91 (12): 62–66.
- Boaventura, R. (2006). Mestrado de Engenharia do Ambiente, Ramo Tratamento de Águas e Águas residuais. Apontamentos da Cadeira de Tratamento Biológico de Efluentes. Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto.
- Boonchan S., Britz M.L., Stanley G.A. (2000). Degradation and Mineralization of High-molecular-weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Defined Fungal-bacterial Cocultures. *Applied and Environmental Microbiology* 66 (3): 1007–1019.
- Brown G., Barton L., Thomson B. (2003). Permanganate Oxidation of Sorbed Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Waste Management* 23: 737–740.
- Bumpus J. A., Tien M., Wright D., Aust S.D. (1985). Oxidation of Persistent Environmental Pollutants by a White Rot Fungus. *Science* 228: 1434-1436.
- Busby W., Goldman M., Newbeme P. (1984). Tumorigenicity of Fluoranthene in a Newborn Mouse Lung Adenoma Bioassay. *Carcinogenesis* 5: 1311-1316.
- Busby W., Stevens E., Martin C. (1989). Comparative Lung Tumorigenicity of Parent and Mononitro-Polynuclear Aromatic Hydrocarbons in the BLU:Ha Newborn Mouse Assay. *Toxicol Appl Pharmacol* 99(3): 555-563.

- Busetti F., Heitz A., Cuomo M., Badoer S., Traverso P. (2006). Determination of Sixteen Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Aqueous and Solid Samples from an Italian Wastewater Treatment Plant. *Journal of Chromatography A*, 1102: 104–115.
- Camargo M., Toledo M. (2003). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Brazilian Vegetables and Fruits. *Food Control* 14: 49–53.
- Canadian Guidelines, (1997). Canadian Soil Quality Guidelines for the Protection of Environmental and Human Health. Benzo(a)Pireno 1997. Canadian Quality Environmental Guidelines, Canadian Council of Ministers of the Environmental.
- Canet R., Lopez-Real J. M., Beck A. J. (1999). Overview of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Biodegradation by White Rot Fungi. *Land Contam. Reclam.* 7 (3): 191-197.
- Cao Z., Wang Y., Mab Y., Xua Z., Shi G., Zhuang Y., Zhua T. (2005). Occurrence and Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Reclaimed Water and Surface Water of Tianjin, China. *Journal of Hazardous Materials A*122: 51–59.
- Caricchia A. M., Chiavarini S., Pezza M., (1999). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Urban Atmospheric particulate Matter in the City of Naples (Italy). *Atmospheric Environment* 33: 3731-3738.
- Castro J. P., Faria P. (2001). Oxidação Química com Reagente de Fenton. Projecto de Investigação. Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Departamento de Engenharia Química.
- Cavalieri E., Higginbotham S., Ramakrishna N. (1991). Comparative Dose Response Tumorigenicity Studies of diBenzo(a)pyrene versus 7,12-dimethylbenz(a)anthracene, Benzo(a)pyrene and Two diBenzo(a)pyrene dihydrodiols in Mouse Skin and Rat Mammary Gland. *Carcinogenesis* 12(10): 1939-1944.
- Cavalieri E., Rogan E., Cremonesi P. (1988b). Tumorigenicity of 6-halogenated derivatives of Benzo(a)pyrene in mouse skin and rat mammary gland. *J Cancer Res Clin Oncol* 114: 10-15.

- Cavalieri E., Rogan E., Sinha D. (1988c). Carcinogenicity of Aromatic Hydrocarbons Directly Applied to Rat Mammary Gland. *J Cancer Res Clin Oncol* 114: 3-9.
- Cerniglia C. E. (1992). Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Biodegradation* 3: 351-368.
- Cerniglia C. E. (1997). Fungal Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Past, Present and Future Applications in Bioremediation. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 19: 324-333
- Cerniglia C. E., Gibson D. T. (1980a). Oxidation of Benzo(a)pyrene by the Filamentous Fungus *Cunninghamella elegans*. *Journal of Biological Chemistry* 254: 12174-12180.
- Cerniglia C. E., Gibson D. T., Baalen C. (1980b). Algal Oxidation of Naphthalene. *Journal of General Microbiology* 116: 495-500.
- Cerniglia C. E., Mahaey W., Gibson D. T. (1980c). Fungal Oxidation of Benzo(a)pyrene: Formation of (̳)-trans-7,8-dihydroxy-7,8-dihydrobenzo(a)pyrene by *Cunninghamella elegans*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 94: 226-232.
- Cerniglia C. E., Yang S. K. (1984). Stereoselective Metabolism of Anthracene and Phenanthrene by the Fungus *Cunninghamella elegans*. *Applied and Environmental Microbiology* 47: 119-124.
- Chamarro E., Marco A., Esplugas S., (2001). Use of Fenton Reagent to Improve Organic Chemical Biodegradability. *Water Res.* 35: 1047–1051.
- Chen S. H., Aitken M. D. (1999). Salicylate Stimulates the Degradation of High Molecular Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by *Pseudomonas saccharophila* P15. *Environmental Science and Technology* 33: 435-439.
- Cheng Hong-W. (2004). Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water by Solid-phase Microextraction and Liquid Chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1102: 104–115.

- Cohen Y., Yaffe D., Arey J., Atkinson R. (2001) A Multimedia Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Their Nitro-PAH. Transformation Products, Statewide Air Pollution Research Center, University of California, Riverside.
- Collins P. J., Kotterman M. J. J., Field J. A., Dobson A. D. W. (1996). Oxidation of Anthracene and Benzo(a)pyrene by Laccases from *Trametes versicolor*. Applied and Environmental Microbiology 62: 4563-4567.
- Costa A. F. (2001). Avaliação da Contaminação Humana por Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos: Determinação de 1-hidroxipireno Urinário. Mestrado Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública; 80 p.
- Countway R. E., Dickhut R. M., Canuel E. A. (2003). Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) Distributions and Associations with Organic Matter in Surface Waters of the York River, VA Estuary Organic Geochemistry 34: 209–224.
- Datta D., Samanta T. B. (1988). Effects of Inducers of Metabolism of Benzo(a)pyrene in Vivo and in Vitro: Analysis by High Pressure Liquid Chromatography. Biochemical and Biophysical Research Communications 155: 493-502.
- Dean-Ross D., Moody J., Cerniglia C. E. (2002). Utilization of Mixtures of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Bacteria Isolated from Contaminated Sediment. FEMS Microbiol. Ecol. 41 (1): 1-7.
- Decreto Lei nº 236/98 de 1 de Agosto. *Diário da República nº 176/98 - I Série A*. Ministério do Ambiente. Lisboa.
- Decreto Lei nº 306/2007 de 25 de Agosto. *Diário da República nº 164/2007 - I Série*. Ministério do Ambiente Lisboa.
- Decreto Lei nº. 243/2001 de 5 de Setembro. *Diário da República nº 206/2001 - I Série A*. Ministério do Ambiente. Lisboa.
- Deschamps M B. Daudin J., Barriuso E. (2007). An Experimental Design Approach to Optimise the Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Rainfall Water Using Stir Bar Sorptive Extraction and High Performance Liquid Chromatography-fluorescence Detection. Journal of Chromatography A, 1167: 143–153.

- Deutsch-Wenzel R, Bmne H, Grimmer G. (1983). Experimental Studies in Rat Lungs on the Carcinogenicity and Dose-response Relationships of Eight Frequently Occurring Environmental Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *J Natl Cancer Inst* 71: 539-544.
- Doong R., Chang S., Sun Y. (2000). Solid-phase Microextraction for Determining the Distribution of Sixteen US Environmental Protection Agency Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water Samples. *Journal of Chromatography A*, 879: 177–188.
- Eggen T. (1999). Application of Fungal Substrat from Commercial Mushroom Production – *Pleuroteus ostreatus* – for biodegradation of creosote contamination soil. *Int. Biodetetiation & Biodegradation* 41: 125-133.
- Eurochem/CITAC Guide, (2000). Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 2ª edição.
- Faust R. A. (1994). Toxicity Summary for Benzo(a)pyrene. OAK Ridge Reservation Environmental Restoration Program.
- Fernandes S M. B., Sicre M. A., Boireau A., Tronczynski J. (1997). Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) Distributions in the Seine River and its Estuary Marine Pollution Bulletin, Vol. 34, No. 11, pp. 857-867.
- Fernandez-Gonzalez V., Concha-Grana E., Muniategui-Lorenzo S., Lopez-Mahía P., Prada-Rodríguez D. (2007). Solid-phase Microextraction–gas Chromatographic Tandem Mass Spectrometric Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Towards the European Union Water Directive 2006/0129 EC. *Journal of Chromatography A*, 1176: 48–56
- Ferrarese E., Andreottola G., Oprea I. (2007). Remediation of PAH Contaminated Sediments by Chemical Oxidation. *Journal of Hazardous Materials* (em publicação).
- Field J. A., Jong E., Costa G. F. Bont J. A. M. (1992). Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by New Isolates of White Rot Fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 2219–2226.
- Finlayson-Pitts B. J., Pitts J. N. (1997). Tropospheric Air Pollution: Ozone, Airborne Toxics and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Particles. *Science* 276: 1045–4051.

- Flotron V., Delteil C., Bermond A., Camel V. (2003). Remediation of Matrices Contaminated by Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Use of Fenton's Reagent. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 23: 353–376.
- Flotron V., Delteil C., Padellec Y., Camel V. (2004). Removal of Sorbed Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Soil, Sludge and Sediment Samples Using the Fenton's Reagent Process. *Chemosphere*, 59: 1427-1427.
- Ghosh D. K., Datta D., Samanta T. B., Mishra A. K. (1983). Microsomal Benzo(a)pyrene hydroxylase in *Aspergillus ochraceus* TS: Assay and Characterisation of the Enzyme System. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 113: 497-505.
- Gibson D. T., Mahadevan V., Jerina R. M., Yagi H., Yeh H. J. C. (1975). Oxidation of the Carcinogens Benzo(a)pyrene and Benzo(a)anthracene to dihydrodiols by a Bacterium. *Science* 189: 295-297.
- Gilbert E. (1987). Biodegradability of ozonation products as a function of COD and DOC elimination by example of substituted aromatic substances. *Wat. Res.*, 21: 1273-1278.
- Gmeiner G., Stehlik G., Tausch H. (1997). Determination of Seventeen Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Tobacco Smoke Condensate. *Journal of Chromatography A*, 767: 163-169.
- Guidelines for Drinking-Water Quality (1998). Recommendations – Addendum World Health Organization Geneva. WHO Library Cataloging in Publication Data Guidelines for drinking-water quality. -Second Edition, Volume 1.
- Guieysse B., Viklund G., Toes A. C., Mattiasson B. (2004). Combined UV-biological degradation of PAHs. *Chemosphere* 55: 1493–1499.
- Guillén M. D. (1994). Polycyclic Aromatic Compounds: Extraction and Determination in Food. *Food Additives and Contaminants* 11 (6): 669–684.
- Haapea P., Tuhkanen T. (2006). Integrated Treatment of PAH Contaminated Soil by Soil Washing, Ozonation and Biological Treatment. *Journal of Hazardous Materials*, B 136, 244-250.

- Haemmerli S. D., Leisola M. S. A., Sanglard D., Fiechter A. (1986). Oxidation of Benzo(a)pyrene by Extracellular Liginase of *Phanerochaete chrysosporium*. The Journal of Biological Chemistry 261: 6900-6903.
- Heitkamp M. A., Freeman J. P., Miller D. W., Cerniglia C. E. (1988). Pyrene Degradation by a *Mycobacterium* sp.: Identification of Ring Oxidation and Ring Fission Products. Applied and environmental Microbiology, 2556-2565.
- Higarasshi M. M., Moreira, J. C., Oliveira, A. S., Ferreira, L. F. V. (2000). Utilização de Processos Oxidativos Avançados na Descontaminação do Meio Ambiente. Química - Boletim SPQ. Lisboa. N°79: 16-20.
- Ho K. F., Lee S. C., Chin G. M. Y. (2002). Characterization of Selected Volatile Organic Compounds, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Carbonyl Compounds at a Roadside Monitoring Station. Atmospheric Environment 36: 57-65.
- Hoigne J. (1998). Chemistry of Aqueous Ozone and Transformation of Pollutants by Ozonation and Advanced Oxidation Processes, in The Handbook of Environmental Chemistry, J. Hrubec (ed.), Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Horwitz W. (1980). Editor, Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, AOAC, Washington.
- Horwitz, W. (1982). Evaluation of analytical methods used for regulation of foods and drugs. Analytical Chemists. v.54, n.1, p. 67A – 76A, 1982.
- Hwang H. M., Foster G. D. (2006). Characterization of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Urban Stormwater Runoff Flowing into the Tidal Anacostia River, Washington, DC, USA. Environmental Pollution, 140: 416-426.
- IARC (1970 – 1997). Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans: Chemicals, Industrial Processes and Industries Associated with Cancer in Humans, vol. 1 - 55, IARC, Lyon.
- International Programme on Chemical Safety (IPCS), (1998). Environmental Criteria 202. Selected Non-heterocyclic PAHs, World Health Organization, Geneva.

- ISO 8258, (1993). Shewhart Control Charts & Technical Corrigendum 1. International Organization for Standardization, Geneva.
- Iwagawa M, Maeda T, Izumi K. (1989). Comparative Dose-response Study on the Pulmonary Carcinogenicity of 1,6-dinitropyrene and Benzo(a)Pyrene in F344 Rats. *Carcinogenesis* 10 (7): 1285-1290.
- Jonsson S., Persson Y., Frankki S., Bavel B., Lundstedt S., Haglund P., Tysklind M. (2007). Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Contaminated Soils by Fenton's Reagent: A multivariate Evaluation of the Importance of Soil characteristics and PAH Properties. *Journal of Hazardous Materials* 149: 86–96.
- Juhasz A. L., Britz M. L., Stanley G. A. (1996). Degradation of High Molecular Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by *Pseudomonas cepacia*. *Biotechnology Letters* 18: 577-582.
- Juhasz A. L., Naidu R. (2000). Bioremediation of High Molecular Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: a Review of the Microbial Degradation of Benzo(a)pyrene. *International Biodeterioration & Biodegradation* 45: 57-88.
- Juhasz A.L., Britz M.L., Stanley G.A. (1997). Degradation of Fluoranthene, Pyrene, Benz(a)anthracene and dibenz(a,h)anthracene by *Burkholderia cepacia*. *Journal of Applied Microbiology* 83, 189-198.
- Kakareka S., Kukharchyk T., Khomich V. (2005). Study of PAH Emission from the Solid Fuels Combustion in Residential Furnaces. *Environmental Pollution* 133: 383-387.
- Kanally R. A., Harayama S. (2000). Biodegradation of High Molecular Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Bacteria. *J. Bacteriol.* 182 (8): 2059-2067.
- King A., Readman J., Zhou J. (2004). Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water by Solid-phase Microextraction-gas Chromatography-mass Spectrometry. *Analytica chimica Acta* 523: 259-267.

- Kolahgar B., Hoffmann A., Heiden A. C. (2002). Application of Stir Bar Sorptive Extraction to the Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Aqueous Samples. *Journal of Chromatography A*, 963: 225–230.
- Kottermann M. J. J., Vis E. H., Field J. A. (1998). Successive Mineralisation and Detoxication of Benzo(a)pyrene by the White Rot Fungus *Bjerkandera sp.* strain BOS55 and Indigenous Microflora. *Applied and Environmental Microbiology* 64: 2853-2858.
- Kulik N., Goi A., Trapido M., Tuhkanen T. (2006). Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Combined Chemical Pre-oxidation and Bioremediation in Creosote Contaminated Soil. *Journal of environmental Management* 78: 382-391.
- Kulkarni P., Venkataraman C. (2000). Atmospheric Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Mumbai, India. *Atmospheric Environment* 34: 2785-2790.
- Kunstler K. (1983). Failure to Induce Tumors by Intratracheal Instillation of Automobile Exhaust Condensate and Fractions Thereof in Syrian Golden Hamsters. *Cancer Let* 18: 105-108.
- Ladislao B. A., Real J. L., Beck A. J. (2004). Bioremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) Contaminated Waste Using Composting Approaches. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 34: 249-289.
- Lattuada R. S. J. (2005). Characterization of Soil Biofilms for the Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. A Dissertation Submitted to the Division of Research and Advanced Studies of the University of Cincinnati in Partial Fulfillment of the Requirements for the degree of Doctorate of Philosophy in the Department of Civil and Environmental Engineering of the College of Engineering.
- Launen L., Pinto L., Wiebe C., Kiehlmann E., Moore M. (1995). The Oxidation of Pyrene and Benzo(a)pyrene by nonbasidiomycete Soil Fungi. *Canadian Journal of Microbiology* 41: 477-488.

- Lavoie E. J., Hosted T. J. J., Rice J. E., (1984). Fluoranthene and Pyrene Enhance Benzo(a)pyrene DNA Adduct Formation in Vivo in Mouse Skin. *Cancer Lett* 24: 327-333.
- Ledakowicz S., Miller J. S., Olejnik D. (2001). Oxidation of PAHs in Water Solution by Ozone Combined with Ultraviolet Radiation. *International Journal of Photoenergy* 213: 90-924.
- Lee B. D., Hosomi M. (2000). Ethanol washing of PAH-contaminated soil and Fenton oxidation of washing solution. *J Mater Cycles Waste Manag* 2: 24–30.
- Lee B. D., Iso M., Hosomi M. (2001). Prediction of Fenton Oxidation Position in Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) by Frontier Electron Density. *Chemosphere* 42: 431-435.
- Lee M. L., Novotny V. M., Bartle D. K. (1981). *Analytical Chemistry of Polycyclic Aromatic Compounds*. Academic Press Inc. New York.
- Levin W., Chang R., Wood A. (1984). High Stereoselectivity Among the Optical Isomers of the Diastereomeric Bay Region diol-epoxides of Benz(a)anthracene in the Expression of Tumorigenic Activity in Murine Tumor Models. *Cancer Res* 44: 929-933.
- Li C. S., Ro Y. S. (2000). Indoor Characteristics of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Urban Atmosphere of Taipei. *Atmospheric Environment* 34: 611-620.
- Lindquist B., Warshawsky D. (1985). Identification of the 11,12- dihydro-11,12-dihydroxybenzo(a)pyrene as a Major Metabolite by the Green Alga *Selenastrum capricornutum*. 130: 71-75.
- Luttrell W., Thomas C. (2007). Toxic Tips: Benzo(a)pyrene. *Journal of Chemical Health & Safety*, November/December.
- Majcherczyk A., Johannes C., Huttermann A. (1998). Oxidation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) by Laccase of *Trametes versicolor*. *Enzyme and Microbial Technology* 22: 335-341.
- Manoli E., Samara C. (1999). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Natural Waters: Sources, Occurrence and Analysis. *Analysis analytical chemistry*, vol. 18, no. 6.

- Manoli E., Samara C., Konstantinou I., Albanis T. (2000). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Bulk Precipitation and Surface Waters of Northern Greece. *Chemosphere* 41: 1845-1855.
- Marco A., Esplugas S., Saum, G. (1997). How and why to combine chemical and biological processes for wastewater treatment. *Water Sci. Technol.*, 35: 321-327.
- Mass M., Jeffers A., Ross J. (1993). Ki-ras oncogene Mutations in Tumors and DNA Adducts Formed by Benz(j)aceanthrylene and Benzo(a)pyrene in the Lungs of strain A/J Mice. *Mol Carcinogen* 8: 186-192.
- Metcalf & Eddy, (1991). *Wastewater Engineering Treatment. Disposal, and Reuse*, 3rd edition. McGraw-Hill, Inc.
- Method USEPA 550. Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Drinking Water by Liquid-liquid Extraction and HPLC with Coupled Ultraviolet and Fluorescence Detection. U.S. Environmental Protection Agency, Environmental Monitoring and Support Laboratory, Cincinnati Ohio 45268, July 1990.
- Mrozik A., Piotrowska-Seget Z., Labuzck S. (2002). Bacterial Degradation and Bioremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Polish Journal of Environmental Studies*, Vol 12: 15-25.
- Nadarajah N., Hamme J. V., Pannu J., Singh A., Ward O. (2002). Enhanced Transformation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Using a Combined Fenton's Reagent, Microbial Treatment and Surfactants. *Appl Microbiol Biotechnol* 59: 540-544.
- Nadim F., Huang K., Dahmani A. (2005). Remediation of Soil and Ground Water Contaminated with PAH Using Heat and Fe(II)-EDTA Catalyzed Persulfate Oxidation. *Water, Air, and Soil Pollution: Focus* 6: 227-232.
- Naslund I., Rubio C., Auer G. (1987). Nuclear DNA Changes During Pathogenesis of Squamous Carcinoma of the Cervix in 3,4-benzopyrene Treated Mice. *Anal Quant Cytol Histol* 9: 411-418.

- Nettesheim P, Griesemer R., Martin D. (1977). Induction of Preneoplastic and Neoplastic Lesions in Grafted Rat Tracheas Continuously Exposed to Benzo(a)pyrene. *Cancer Res* 37: 1272-1278.
- Netto A. O., Dias J. C., Arbilla G., Ferreira L. F., Oliveira A., Berette J. (2000). Evaluation of Human Contamination with Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH's) and Their Nitrated Derivatives (NPAH's): A review of Methodology. *Química Nova*, 23 (6).
- Olivella M. A. (2006). Isolation and analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Natural Water using Accelerated Solvent Extraction Followed by Gas Chromatography - mass Spectrometry. *Talanta* 69: 267-275.
- Olivella M. A., Ribalta T. G., Febrer M., Heras F. X. C. (2006). Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Riverine Waters after Mediterranean Forest Fires. *Science of Total Environment* 355: 156-166.
- Omar N. Y. M. J., Abas M. R. B., Ketuly K. A., Tahir N. M. (2002). Concentrations of PAHs in Atmospheric Particles (PM-10) and Roadside Soil Particles Collected in Kuala Lumpur, Malaysia. *Atmospheric Environment* 36: 247-254.
- Park S. S., Kim Y. J., Kang C. H. (2002). Atmospheric Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Seoul, Korea. *Atmospheric Environment* 36: 2917-2924.
- Pfeiffer E. (1977). Oncogenic Interaction of Carcinogenic and Non-carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Mice: IARC Scientific Publication No. 16. Air Pollution and Cancer in Man. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 69-77.
- Pickart M. A., Roman R., Tinoco R., Vasquez-Duhalt R., (1999). Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Metabolism by White Rot Fungi and Oxidation by *Coriolopsis gallica* UAMH8260 laccase. *Appl. Environmental Microbiology* 65 (9): 3805-3809.
- Popp P., Bauer C., Moder M., Paschke A. (2000). Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Waste Water by off-line Coupling of Solid-phase Microextraction with Column Liquid Chromatography. *Journal of Chromatography A*, 897: 153–159.

- Proposta de Directiva do Parlamento Europeu e do Conselho relativa a Normas de Qualidade Ambiental no Domínio da Política da Água e que Altera a Directiva 2000/60/CE. Bruxelas, 17.7.2006.
- Rama R., Mougin C., Boyer F.-D., Kollmann A., Malosse C., Sigoillot J. C. (1998). Biotransformation of Benzo(a)pyrene in Bench Scale Reactor Using Laccase of *Pycnoporus cinnabarinus*. *Biotechnology Letters* 20: 1101-1104.
- Ravindra K., Sokhi R., Grieken R. (2006). Atmospheric Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Source Attribution, Emission Factors and Regulation. *Atmospheric Environment*, pp. 1-205.
- Relacre - Associação de Laboratório Acreditados de Portugal, (2000). Guia 13 – Validação de métodos de Ensaio em Análise Química. Relacre, Espaço 2 Gráfico.
- Rodil R., Schellin M., Popp P. (2007). Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water and Beverages using Membrane-assisted Solvent Extraction in Combination with Large Volume Injection–gas Chromatography–mass Spectrometric Detection *Journal of Chromatography A*, 1163: 288–297.
- Rodríguez M. (2003). Fenton and UV-vis Based Advanced Oxidation Processes in Wastewater Treatment: Degradation, Mineralization and Biodegradability Enhancement. Programa de Doctorado de Ingeniería Química, Universitat de Barcelona Facultat de Química, Departament d'Enginyeria Química I Metallúrgia.
- Sack U., Hofrichter M., Fritsche W. (1997b). Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Manganese Peroxidase of *Nematoloma Frowardii*. *FEMS Microbiology Letters* 152: 227-234.
- Sanglard D., Leisola M.S.A., Fiechter A. (1986). Role of Extracellular Liginases in Biodegradation of Benzo(a)pyrene by *Phanerochaete chrysosporium*. *Enzyme Microbial Technology* 8: 209-212.
- Santos L. (2006). Propriedade Físico Químicas dos PAHs. Laboratório de Métodos Instrumentais de Análise. Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto.

- Schneider J., Grosser R., Jayasimhulu K., Xue W., Warshawsky D. (1996). Degradation of Pyrene, Benz(a)anthracene and Benzo(a)pyrene by *Mycobacterium sp.* strain RJGII-135, Isolated from a Former Coal Gasification Site. *Applied and Environmental Microbiology* 62: 13-19.
- Schrank S. G., Moreira R. F. P., Schroder H. F. (2005). Aplicability of Fenton and H₂O₂/UV Reactions in the Treatment of Tannery Wastwaters. *Chemosphere* 60: 644-655.
- Sellakumar A., Shubik P. (1974). Carcinogenicity of Different Polycyclic Hydrocarbons in the Respiratory Tract of Hamsters. *J Natl Cancer Inst* 53: 1713-1719.
- Stanley G. A., Britz M. L., Boonchan S., Juhasz A.L. (1999). Detoxication of Soils Containing High Molecular Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by gram-negative Bacteria and Bacterial-fungal Co-cultures. *Hazardous Waste Contaminated Soil*. Marcel Dekker, New York, pp. 161-179 (in press).
- Tang W. Z., Huang C. P. (1997). Stoichiometry of Fenton's reagent in the Oxidation of Chlorinated Aliphatic Organic Pollutants. *Environ. Technol.* 18: 13-23.
- Thompson M (2000). Recent Trends in Inter-laboratory Precision at ppb and sub-ppb Concentrations in Relation to Fitness for Purpose Criteria in Proficiency Testing. *Analyst* 125: 385-386.
- Topping D., Martin D., Nettesheim P. (1981). Determination of Cocarcinogenic Activity of Benzo(e)pyrene for Respiratory Tract Mucosa. *Cancer Lett* 11 (4): 315-321.
- Trzesicka-Mlynarz D., Ward O. P. (1995). Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) by a Mixed Culture and its Component Pure Cultures, Obtained from PAH Contaminated Soil. *Canadian Journal of Microbiology* 41: 470-476.
- Turusov V., Nikonova T., Parfenov Y. (1990). Increased Multiplicity of Lung Adenomas in Five Generations of Mice Treated with Benz(a)pyrene when Pregnant. *Cancer Lett* 55 (3): 227-231.
- US - EPA, (1995). United States Environmental Protection Agency. Toxicological profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. US department of health and human services.

- US - EPA, United States Environmental Protection Agency. Drinking Water Contaminant Candidate List, www.epa.gov/safewater/ccl/cclfs.html, Acesso em: Dezembro de 2007.
- US - EPA, United States Environmental Protection Agency. List of Drinking Water Contaminants MCLs, www.epa.gov/safewater/mcl.html, Acesso em: Dezembro de 2007.
- Van Herwijnen R., Wattiau P., Bastiaens L., Daal L., Jonker L., Springael D., Govers H. A. J., Parsons, J.R. (2003). Elucidation of the Metabolic Pathway of Fluorine and Cometabolic Pathways of Phenanthrene, Fluoranthene, Anthracene and diBenzothiophene by *Sphingomonas sp* LB126. Res. Microbiol. 154 (3): 199-206.
- Walter U, Beyer M., Klein A., Reamp H. A. (1991). Degradation of Pyrene by *Rhodococcus sp.* UW1. Appl. Microbiol. Biotechnol. 34: 671–676.
- Wang L., Wang C., Chang J., Lai S., Chang-Chien G. (2007). Emission of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) from the Liquid Injection Incineration of Petrochemical Industrial Wastewater. Journal of Hazardous Materials 148: 296–302.
- Warshawsky D., Radike M., Jayasimhulu K., Cody, T. (1988). Metabolism of Benzo(a)pyrene by a dioxygenase Enzyme System of the Freshwater Green Alga *Selenastrum capricornutum*. Biochemical and Biophysical Research Communications 152: 540-544.
- Watts R. J., Stanton P. C., Howsawkung J., Teel A. L. (2002). Mineralization of a Sorbed Polycyclic Aromatic Hydrocarbon in Two Soils using Catalyzed Hydrogen Peroxide. Water Research 36: 4283–4292.
- Wei M. C., Jen J. F. (2007). Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Aqueous Samples by Microwave Assisted Headspace Solid-phase Microextraction and Gas Chromatography/flame Ionization Detection. Talanta 72: 1269–1274.
- Wenzel-Hartung R, Brune H, Grimmer G. (1990). Evaluation of the Carcinogenic Potency of 4 Environmental Polycyclic Aromatic Compounds Following Intrapulmonary Application in rats. Exp Pathol 40 (4): 221-227.

- WHO (2003) Polynuclear Aromatic Hydrocarbons in Drinking Water. Background Document for Preparation of WHO Guidelines for Drinking Water Quality. Geneva, World Health Organization
- Williamson K., Petty J., Huckins J., Lebo J., Kaiser E., (2002). HPLC-PFD Determination of Priority Pollutant PAHs in Water, Sediment, and Semipermeable Membrane Devices. *Chemosphere* 49: 703–715.
- Wolter M., Zadrazil F., Martens R., Bahadir M., (1997). Degradation of Eight Highly Condensed Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by *Pleurotus sp.* Florida in Solid Wheat Straw Substrate. *Applied Microbiology and Biotechnology* 48: 398-404.
- Yang H.S., Lee W. J., Chen S. J., Lai S. O. (1998). PAH Emission From Various Industrial Stacks. *Journal of Hazardous Material* 60: 159-174.
- Ye B., Siddiqi M. A., Maccubbin A. E., Kumar S., Sikka H. C. (1996). Degradation of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons by *Sphingomonas paucimobilis*. *Environmental Science and Technology* 30: 136-142.
- Yin Y., Allen H. (1999). In Situ Chemical Treatment.
- Yu Y., Hu S., (1994). Preoxidation of chlorophenolic wastewaters for their subsequent biological treatment. *Water Sci. Technol.*, 29: 313-320.
- Zhou H., Zhong Z., Jin B., Huang Y., Xiao R. (2005). Experimental study on the removal of PAHs using in-duct activated carbon injection. *Chemosphere* 59: 861–869.
- Zhou J. L., Maskaoui K. (2003). Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water and Surface Sediments from Daya Bay, China. *Environmental Pollution* 121: 269–281.
- Zhu L., Chen B., Wang J., Shen H. (2004). Pollution Survey of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Surface Water of Hangzhou, China. *Chemosphere* 56: 1085–1095.
- Zhu L., Chen B., Wang J., Shen H. (2004). Pollution Survey of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Surface Water of Hangzhou, China. *Chemosphere* 56: 1085–1095.

- Zhu L., Chen Y., Zhou R. (2008). Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water, Sediment and Soil in Drinking Water Resource of Zhejiang Province, China. *Journal of Hazardous Materials* 150: 308–316.

Anexo A

Efeitos do Benzo(a)Pireno

Tabela A1 – Sumário dos estudos do efeito do BaP em animais usando diferentes vias de administração (ATSDR, 2001).

Espécie	Administração	Duração	Resultado/local	Bibliografia
<i>Newborne Mouse</i>	Intraperitoneal	3 dias	+/-pulmões	Levin <i>et al.</i> , 1984
<i>Hamster</i>	Intratraquial	30 semanas	-	Sellakumar and Shubik, 1974
<i>Mouse</i>	Subcutâneo	dose simples	+/-sarcomas no local da injeção	Pfeiffer, 1977
<i>Newborne Mouse</i>	Intraperitoneal	dose simples	+/-Fígado	LaVoie <i>et al.</i> , 1984
<i>Newborne Mouse</i>	Intraperitoneal	sem registo	+/-pulmões	Busby <i>et al.</i> , 1984
<i>Rat</i>	Intra mamário	dose simples	+/-glândula mamária	Cavalieri <i>et al.</i> , 1988b, 1988c
<i>Mouse</i>	Intra vaginal	5 meses	+/-cerviz	Naslund <i>et al.</i> , 1987
<i>Rat</i>	Intrapulmonar	dose simples	+/-pulmões	Deutsch-wenzel <i>et al.</i> , 1983
<i>Hamster</i>	Intratraquial	crónico	-	Kunstler, 1983
<i>Rat</i>	Implante traqueia	intermédio	+/-traqueia	Nettesheim <i>et al.</i> , 1977
<i>Rat</i>	Intrapulmonar	dose simples	+/-pulmões	Iwagawa <i>et al.</i> , 1989
<i>Newborne Mouse</i>	Subcutâneo	15 dias	+/-pulmões	Busby <i>et al.</i> , 1989
<i>Rat</i>	Intra mamário	dose simples	+/-glândula mamária	Cavalieri <i>et al.</i> , 1991
<i>Mouse</i>	Uterino	2 dias	+/-pulmões	Turusov <i>et al.</i> , 1990
<i>Rat</i>	Intrapulmonar	dose simples	+/-pulmões	Wenzel-Hartung <i>et al.</i> , 1990
<i>Mouse</i>	Intraperitoneal	dose simples	+/-pulmões	Mass <i>et al.</i> , 1993

Anexo B

Validação do Método Analítico

Nas tabelas B1 e B2 estão apresentados os resultados obtidos para a construção das cartas de controlo, realizadas para 2 padrões (10 e 100 µg/L).

Tabela B1 – Dados da construção da carta de controlo do padrão de 10 µg/L.

Amostras	Área (Volt)					Padrão 10 µg/L
	$\bar{X}$	LCIS	LCII	LCSS	LCSI	
1	2718165	5434447	1884	17661483	-14945201	1837494
2	2718165	5434447	1884	17661483	-14945201	3776101
3	2718165	5434447	1884	17661483	-14945201	2552441
4	2718165	5434447	1884	17661483	-14945201	2552441
5	2718165	5434447	1884	17661483	-14945201	4941311
6	2718165	5434447	1884	17661483	-14945201	3781841
7	2718165	5434447	1884	17661483	-14945201	1066978
8	2718165	5434447	1884	17661483	-14945201	4419693
9	2718165	5434447	1884	17661483	-14945201	3631906
10	2718165	5434447	1884	17661483	-14945201	1644787
11	2718165	5434447	1884	17661483	-14945201	5360873
12	2718165	5434447	1884	17661483	-14945201	2530084
13	2718165	5434447	1884	17661483	-14945201	3227520
14	2718165	5434447	1884	17661483	-14945201	2714619
15	2718165	5434447	1884	17661483	-14945201	933603
16	2718165	5434447	1884	17661483	-14945201	2549126
17	2718165	5434447	1884	17661483	-14945201	836276
18	2718165	5434447	1884	17661483	-14945201	1106571

Tabela B2 – Dados da construção da carta de controlo do padrão de 100 µg/L.

Amostras	Área (Volts)					Padrão 100 µg/L
	$\bar{X}$	LCIS	LCII	LCSS	LCSI	
1	114137119	142061288	86212949	156023372	72250865	105188546
2	114137119	142061288	86212949	156023372	72250865	112353274
3	114137119	142061288	86212949	156023372	72250865	100961227
4	114137119	142061288	86212949	156023372	72250865	100961227
5	114137119	142061288	86212949	156023372	72250865	111687027
6	114137119	142061288	86212949	156023372	72250865	120384125
7	114137119	142061288	86212949	156023372	72250865	97453192
8	114137119	142061288	86212949	156023372	72250865	118891488
9	114137119	142061288	86212949	156023372	72250865	118027355
10	114137119	142061288	86212949	156023372	72250865	122841116
11	114137119	142061288	86212949	156023372	72250865	143756917
12	114137119	142061288	86212949	156023372	72250865	138716480
13	114137119	142061288	86212949	156023372	72250865	113799661
14	114137119	142061288	86212949	156023372	72250865	113799661
15	114137119	142061288	86212949	156023372	72250865	96942544
16	114137119	142061288	86212949	156023372	72250865	94160590
17	114137119	142061288	86212949	156023372	72250865	129209750

Nesta parte do Anexo B apresentam-se os resultados obtidos na quantificação do BaP para a construção da curva de calibração e validação do método analítico, com respectivo cálculo de incertezas.

Tabela B3 - Resultados da calibração analítica do BaP.

Conc BaP(µg/L)	A _{BaP} (Volts)		$\overline{A}_{BaP}$ (Volts)	S _{BaP} (Volts)	CV _{BaP} %
1	480671	305098	392885	124148,9	31,6
10	8255030	8127357	8191194	90278,4	1,1
40	35576224	36915268	36245746	946847,1	2,6
60	57957932	57618176	57788054	240243,8	0,4
100	97686736	97219647	97453192	330281,8	0,3

Tabela B4 – Resultados da Precisão do método analítico.

Padrão de 10 µg/L				Padrão de 60 µg/L			Padrão de 100 µg/L		
Dia	Área (volts)	A média	BaP (µg/L)	Área (volts)	A média	BaP (µg/L)	Área (volts)	A média	BaP (µg/L)
1	6747887	6643560	8,3	62519660	61980231	64,5	120393266	120065872	120,3
	6660841			62080551			120374984		
	6521953			61340482			119429366		
2	9182202	8929845	10,6	55839580	55529535	57,9	120416512	120252147	120,5
	8638414			55769254			121282025		
	8968918			54979771			119057903		
3	9247159	9228452	10,9	58859826	58145311	60,6	109950365	110792068	110,9
	9079287			57957932			111662157		
	9358911			57618176			110763682		
4	11051272	1071506 3	12,5	57242886	56681640	59,1	118171990	118768777	119,0
	10407068			56680077			119331291		
	10686850			56121956			118803050		
5	9525570	9093718	10,8	54447416	54405212	56,8	113571505	114691394	114,8
	9593865			54639472			114779189		
	8161718			54128748			115723488		

Tabela B5 – Resultados dos ensaios de Recuperação do BaP, em 5 dias diferentes.

Data	Amostra	V _{amostra} (μl)	V _{Controlo100} (μg/L) (μl)	Área da amostra	Área Obtida (amostra+padrão)			Área média Obtida (amostra+padrão)	Area esperada	% Recuperação
14-09-2007	Controlos 10 (μg/L)	–	–	–	4501201	3811482	4338185	4216956	–	–
	Controlos 100 (μg/L)	–	–	–	122706281	120436905	113531277	118891488	–	–
	1	300	300	4108022	49923332	49390450	52667982	50660588	61499755	82,4
	2	300	300	4011863	47301873	47402435	47204591	47302966	61451675	77,0
Média										79,7
20-10-2007	Controlos 10 (μg/L)	–	–	–	4897302	3960359	3303453	4053704,667	–	–
	Controlos 100 (μg/L)	–	–	–	109120643	126794234	118167188	118027355	–	–
	3	300	300	5781964	44062862	44062862	43837424	43987716	61904659	71,1
	4	300	300	4715133	48661083	49061552	48851174	48857936	61371244	79,6
Média										75,3
26-10-2007	Controlos 10 (μg/L)	–	–	–	1715750	1692586	1526025	1644787	–	–
	Controlos 100 (μg/L)	–	–	–	122553980	122086635	123882734	122841116	–	–
	5	300	600	1070216	65234729	65326903	64982838	65181490	82250816	79,2
	6	300	600	33878018	77695553	77601567	77905882	77734334	93186750	83,4
	7	300	600	3277850	52323225	52838635	51949247	52370369	82986694	63,1
	8	300	600	2733889	70366532	70957778	71042729	70789013	82805374	85,5
Média										79,9

Tabela B5 (Cont.) – Resultados dos ensaios de Recuperação do BaP, em 5 dias diferentes.

Data	Amostra	V _{amostra} (μl)	V _{Controlo100} (μg/L) (μl)	Área da amostra	Área Obtida (amostra+padrão)			Área média Obtida (amostra+padrão)	Area esperada	% Recuperação
09-11-2007	Controlos 10 (μg/L)	–	–	–	–	–	–	5360873	–	–
	Controlos 100 (μg/L)	–	–	–	–	–	–	107110768	–	–
	10	1000	1000	5360873	47271738	47544192	47471745	47429225	73194136	64,8
	11	1000	2000	5360873	47943123	47532562	46497650	47324445	56235820	84,2
	12	1000	3000	5360873	61122053	60831868		60976961	81673294	74,7
	13	3000	1000	5360873	18850582	19294972	18936959	19027504	30798347	61,8
									Média	71,4
14-12-2007	Controlos 100 (μg/L)	–	–	–	96885658	96199429	97254053	96779713	–	–
	14	1000	1000	4743387	48559206	46785571	44194575	46513117	50761550	91,6
	15	1000	1000	45409306	71359965	69063054	67190502	69204507	93799165	73,8
	16	1000	1000	111555704	96755986	94136020	92113159	94335055	104167709	90,6
									Média	85,3

Tabela B6 – Resultados dos ensaios de Recuperação do BaP após reacção com reagente de Fenton, em 3 dias diferentes.

Data	Amostra	*Padrão BaP µg/L	Área amostra	Área Obtida (amostra+padrão)			Área Obtida (amostra+padrão) média	Area esperada	%Rec
21-01-2008	Controlos 100 µg/L	–	–	189055938	152189198	–	170622568	–	–
	1	100	ND	64298823	63842015	76568431	68236423	170622568	40,0
	2	100	ND	103444620	102699415	101619368	102587801	170622568	60,1
	3	100	ND	77416977	77700576	77439537	77519030	170622568	45,4
								Média	48,5
01-02-2008	Controlos 100 µg/L	–	–	253615558	239003420		242972976,7	–	–
	4	100	ND	94028561	94292618	89423865	92581681	242972977	37,6
								Média	37,6
09-02-2008	Controlos 100 µg/L	–	–	175093399	174483535	–	174788467	–	–
	5	100	691418	68540992	67360793	–	67950893	175479885	38,7
	6	100	5808997	77215089	75594762	–	76404926	180597464	42,3
	7	100	5,2E+07	127043999	128576310	–	127810154,5	226644326	56,4
								Média	46,8

*Padrão preparado com a solução resultante da oxidação com reagente de Fenton ao fim dos 90 min de reacção

ND – Não detectável;

Tabela B7 – Parâmetros necessários para o estudo da linearidade da resposta do HPLC e para o cálculo de Incerteza da calibração.

	X₀	X_i	(x_i-x_{média})²	y₀=ax+b	y_i	(y₀- y_{i média})²	Sy/x/b	u_{x0}	U₂=u_{x0}/x₀
	2,0	1	1697,44	-573517,8	392885	1,65E+15	1,14	1,12	56,76
	9,9	10	1036,84	8292734,3	8191194	1,01E+15	1,14	1,06	10,74
	38,4	40	4,84	37846907,8	36245746	4,70E+12	1,14	0,96	2,50
	60,2	60	316,84	57549690,2	57788054	3,07E+14	1,14	0,99	1,64
	100,5	100	3340,84	96955255,0	97453192	3,24E+15	1,14	1,27	1,26
Média	42,2				40014214				
Soma		6396,8							

Anexo C

Degradação do Benzo(a)Pireno com Reagente de Fenton

Exemplo de cálculo - Oxidação com reagente de Fenton**Dados:**

M (FeSO ₄ .7H ₂ O) (g/mol)	277,86
M (Na ₂ SO ₃) (g/mol)	126,02
M (Fe ²⁺) (g/mol)	55,8
M H ₂ O ₂ (g/mol)	34
H ₂ O ₂ disponível (30%) (g/L)	339
Volume reactor (ml)	260

Dados das variáveis

Volume de amostra (ml)	100
Volume extraído para análise (ml)	1
[H ₂ O ₂] (mg/L)	104
[BaP] (µg/L)	10

Volume de H₂O₂ a adicionar ao reactor para obter no instante zero uma concentração de 104 mg/L:

$$V_{H_2O_2} = \frac{[H_2O_2] * V_{amostra}}{M_{H_2O_2}} = \frac{104 \frac{mg}{L} * \frac{1}{1000} \frac{g}{mg} * 0,1 L}{339 \frac{g}{L}} * 10^6 = 30,7 \mu l$$

Massa de FeSO₄.7H₂O a adicionar ao reactor:

Para obter uma razão Fe²⁺/H₂O₂ = 0.026 (massa/massa) temos:

$$m_{Fe^{2+}} = 0.026 * m_{H_2O_2} = (0.026 * 200 mg/L * 0,1 L / 1000) * 1000 = 0,275 mg$$

sendo que 1 mol de Fe²⁺ = 1 mol FeSO₄.7H₂O, então:

$$m_{FeSO_4.7H_2O} = 0.275 mg * 277,6 / 55,8 = 1.37 mg$$

Massa de Na₂SO₃ a adicionar às amostras:

1 mol de Na₂SO₃ = 1 mol H₂O₂

$$m \text{ Na}_2\text{SO}_3 = (104 \text{ mg/L} * 1 \text{ ml} * 126.02 \text{ g/mol}) / (34 \text{ g/mol} * 1000) = 0,39 \text{ mg}$$

Nas tabelas a seguir apresentadas estão os resultados obtidos nas experiências realizadas na otimização da degradação do BaP com reagente de Fenton.

Tabela C1 – Resultados da degradação do BaP na optimização do pH.

Experiência	pH	Tempo (min)	Área do Pico	Área média	% Degradação	Concentração final do BaP µg/L	Correcção de volume BaP µg/L	C/C0
1	3,5	0	7700371	8169454	7934912,5	10,00	10,00	1,00
		0	5863958	6402090	6133024	20,4	7,96	0,79
		2	967902	1768547	1368224,5	82,2	1,78 *	0,17
		15	985930	1268392	1127161	85,4	1,46 *	0,14
		30	667641	668501	668071	91,3	0,87 *	0,08
		45	390775	208812	299793,5	96,1	0,39 *	0,04
		60	341882	185423	263652,5	96,6	0,34 *	0,03
		75	97771	204008	150889,5	98,0	0,20 *	0,02
		90	145413	142999	144206	98,1	0,19 *	0,02
2	5,9	0	4895979	4986643	4941311	10,00	10,00	1,00
		0	NA	NA	NA	10,00	9,90	0,99
		2	102463	119193	110828	97,8	0,22 *	0,02
		15	112779	153376	133077,5	97,3	0,27 *	0,03
		30	105458	150605	128031,5	97,4	0,26 *	0,02
		45	27788	126946	77367	98,4	0,16 *	0,01
		60	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00
		75	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00
		90	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00

ND – Não detectável; NA – Não analisado; * Resultados inferiores ao limite de detecção meramente indicativo para o cálculo da % de recuperação.

Tabela C2 – Resultados da degradação do BaP na optimização da temperatura.

Experiência	Temperatura °C	Tempo (min)	Área do Pico		Área média	% degradação	Concentração final do BaP µg/L	Correcção de volume BaP µg/L	C/C0
3	30	0	30512884	31612085	30512884	---	10,00	10,00	1,00
		0	27890809	27731435	27811122	10,4	8,96	8,87	0,89
		2	5218498	4984230	5101364	83,6	1,64 *	1,61 *	0,16
		15	3654212	3823031	3738622	88,0	1,20 *	1,17 *	0,12
		30	5169979	4692703	4931341	84,1	1,59 *	1,53 *	0,15
		45	1992213	2196535	2094374	93,3	0,67 *	0,64 *	0,06
		60	1102162	986931	1044547	96,6	0,34 *	0,32 *	0,03
4	40	0	32404591	32097305	32250948	----	10,00	10,00	1,00
		0	18316197	18560118	18438158	42,82	5,72	5,66	0,57
		2	4426240	3987274	4206757	86,95	1,30 *	1,28 *	0,13
		15	588450	349312	468881	98,54	0,15 *	0,14 *	0,01
		30	1772613	1007443	1390028	95,69	0,43 *	0,41 *	0,04
		45	1050373	702029	876201	97,28	0,27 *	0,26 *	0,03
		60	466838	464452	465645	98,55	0,14 *	0,14 *	0,01
		90	1190247	318051	754149	97,66	0,23 *	0,22 *	0,02

* Resultados inferiores ao limite de detecção meramente indicativo para o cálculo da % de recuperação.

Tabela C2 (Cont.) – Resultados da degradação do BaP na optimização da temperatura.

Experiência	Temperatura °C	Tempo (min)	Área do Pico		Área média	% degradação	Concentração final do BaP µg/L	Correcção de volume BaP µg/L	C/C0
5	50	0	32404591	32097305	32250948	---	10,00	10,00	1,00
		0	24213176	22717677	23465426,5	27,3	7,27	7,20	0,72
		2	1089043	981168	1035105,5	96,8	0,32 *	0,31 *	0,03
		15	784552	580740	682646	97,9	0,21 *	0,21 *	0,02
		30	256385	272455	264420	99,2	0,08 *	0,08 *	0,01
		45	381261	335916	358588,5	98,9	0,11 *	0,11 *	0,01
		60	387933	93934	240933,5	99,3	0,07 *	0,07 *	0,01
		90	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00 *	0,00
6	70	0	20744676	20746671	20745673,5	---	10,00	10,00	0,00
		0	15521298	16215857	15868577,5	23,5	7,6	7,57	0,76
		2	362235	442970	402602,5	98,1	0,2 *	0,19 *	0,02
		15	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00 *	0,00
		30	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00 *	0,00
		45	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00 *	0,00
		60	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00 *	0,00
		90	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00 *	0,00

ND – Não detectável

* Resultados inferiores ao limite de detecção meramente indicativo para o cálculo da % de recuperação.

Tabela C3 – Resultados da degradação do BaP na optimização da concentração de Fe²⁺.

Experiência	[Fe ²⁺] mg/L	Tempo (min)	Área do Pico			Área média	Degradação %	[BaP] final µg/L	Correcção de volume BaP µg/L	C/C0
7	2,0	0	6949862	5645971	4648841	5748224,667	---	10	10,00	1,00
		0	3969831	2635111	2586417	3063786	38,8	6,12	6,06	0,61
		2	1215906	1177443	1205362	1199570	77,6	2,24 *	2,19 *	0,22
		15	104426	88812	159603	117614	97,8	0,22 *	0,21 *	0,02
		30	67487	ND	ND	67487	99,6	0,04 *	0,04 *	0,00
		45	ND	234832	ND	234832	98,5	0,15 *	0,14 *	0,01
		60	ND	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00 *	0,00
		75	ND	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00 *	0,00
		90	ND	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00 *	0,00
8	2,75	0	5612985	5108761	---	5360873	---	10,00	10,00	1,00
		0	4702211	4073535	3523583	4099776	23,5	7,65	7,57	0,76
		2	715255	587968	604883	636035	88,1	1,19 *	1,16 *	0,12
		15	364486	272368	275237	304030	94,3	0,57 *	0,55 *	0,06
		30	262469	262128	248086	257561	95,2	0,48 *	0,46 *	0,05
		45	220638	235859	220667	225721	95,8	0,42 *	0,40 *	0,04
		60	93611	10680	76219	60170	98,9	0,11 *	0,11 *	0,01
		75	90543	87301	90367	89404	98,3	0,17 *	0,16 *	0,02
		90	63512	59522	54424	59153	98,9	0,11 *	0,10 *	0,01

ND – Não detectável

* Resultados inferiores ao limite de detecção meramente indicativo para o cálculo da % de recuperação.

Tabela C3 (Cont.) – Resultados da degradação do BaP na optimização da concentração de Fe²⁺.

Experiência	[Fe ²⁺] mg/L	Tempo (min)	Área do Pico			Área média	Degradação%	[BaP] _{final} µg/L	Correcção vol. BaP µg/L	C/C0
9	3,00	0	6949862	5645971	4648841	5748225	---	10,00	10,00	1,00
		0	2565687	2445407	2440626	2483907	55,8	4,42	4,38	0,44
		2	175705	383132	240809	266549	95,2	0,48 *	0,47 *	0,05
		15	163646	80409	ND	122028	98,7	0,13 *	0,12 *	0,01
		30	91369	ND	104892	98130,5	98,8	0,12 *	0,11 *	0,01
		45	ND	708583	ND	708583	95,8	0,42 *	0,40 *	0,04
		60	ND	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00 *	0,00
		75	ND	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00 *	0,00
		90	183960	135218	142725	153968	97,3	0,27 *	0,25 *	0,03
10	3,75	0	6949862	5645971	4648841	5748225	---	10	10,00	1,00
		0	889275	849932	853323	864177	84,6	1,54 *	1,52 *	0,15
		2	400839	404259	415858	406985	92,7	0,73 *	0,71 *	0,07
		15	ND	148875	ND	148875	99,1	0,09 *	0,09 *	0,01
		30	ND	ND	170426	170426	98,8	0,12 *	0,12 *	0,01
		45	ND	111867	ND	111867	99,3	0,07 *	0,06 *	0,01
		60	ND	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00 *	0,00
		75	171568	ND	ND	171568	99,2	0,08 *	0,08 *	0,01
		90	ND	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00 *	0,00
11	5,00	0	2062874	2031190	2004328	2032797	---	10,00	10,00	1,00
		0	1590564	1554534	1507612	1550903	24,8	7,52	7,44	0,74
		2	307915	315157	281297	301456	85,4	1,46 *	1,43 *	0,14
		15	ND	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00 *	0,00
		30	ND	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00 *	0,00
		45	ND	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00 *	0,00
		60	ND	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00 *	0,00
		75	ND	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00 *	0,00
		90	ND	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00 *	0,00

ND – Não detectável; * Resultados inferiores ao limite de detecção meramente indicativo para o cálculo da % de recuperação.

Tabela C4 – Resultados da degradação do BaP na optimização da concentração de H₂O₂.

Experiência	[H ₂ O ₂] mg/L	Tempo (min)	Área do Pico			Área média	Degradação %	[BaP] final µg/L	Correcção de volume BaP µg/L	C/C0
12	50	0	15676916	13371607	12097678	13715400,33	---	10,00	10,00	1,00
		0	10712005	9105508	8839165	9552226	30,4	6,96	6,89	0,69
		2	597147	444720	348115	463327	96,6	0,34 *	0,33 *	0,03
		15	181355	167723	320742	223273	98,4	0,16 *	0,16 *	0,02
		30	287947	85427	ND	186687	98,6	0,14 *	0,13 *	0,01
		45	ND	148093	82973	115533	99,2	0,08 *	0,08 *	0,01
		60	ND	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00 *	0,00
		75	ND	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00 *	0,00
		90	ND	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00 *	0,00
13	150	0	6351825	6262338	5937184	6183782,3	---	10,00	10,00	1,00
		0	4244750	4270881	4463816	4326482	68,5	3,15	3,12	0,31
		2	297176	322804	262681	294220	97,9	0,21 *	0,21 *	0,02
		15	90572	224349	91800	135574	99,0	0,10 *	0,10 *	0,01
		30	133310	ND	69808	101559	99,3	0,07 *	0,07 *	0,01
		45	ND	ND	82973	82973	99,4	0,06 *	0,06 *	0,01
		60	ND	ND	75628	75628	99,4	0,06 *	0,05 *	0,01
		75	ND	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00 *	0,00
		90	ND	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00 *	0,00

ND – Não detectável;

* Resultados inferiores ao limite de detecção meramente indicativo para o cálculo da % de recuperação.

Tabela C4 (Cont.) – Resultados da degradação do BaP na optimização da concentração de H₂O₂.

Experiência	[H ₂ O ₂] mg/L	Tempo (min)	Área do Pico		Área média	Degradação %	[BaP] final µg/L	Correcção de volume BaP µg/L	C/C0
14	22,5	0	2119818	1890584	1878001	1962801	10,00	10,00	1,00
		0	1972796	1883096	1867755	1907882	2,8	9,72	0,96
		2	214656	236236	187725	212872	89,2	1,08 *	0,11
		15	69010	60289	82875	70725	96,4	0,36 *	0,03
		30	ND	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00
		45	68303	ND	ND	68303	96,5	0,35 *	0,03
		60	ND	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00
		75	93256	ND	92288	92772	95,3	0,47 *	0,04
		90	ND	90132	ND	90132	95,4	0,46 *	0,04
15	37,5	0	7307793	6609322	5787407	6568174	---	10,00	1,00
		0	4937067	4721562	4670310	4776313	27,3	7,27	0,72
		2	1212468	917413	894383	1008088	84,7	1,53 *	0,15
		15	205229	694648	333554	411144	93,7	0,63 *	0,06
		30	173633	165703	128942	156093	97,6	0,24 *	0,02
		45	295689	202940	176389	225006	96,6	0,34 *	0,03
		60	122556	79700	114415	105557	98,4	0,16 *	0,02
		75	87744	ND	ND	87744	98,7	0,13 *	0,01
		90	132015	ND	51494	91755	98,6	0,14 *	0,01

ND – Não detectável;

* Resultados inferiores ao limite de detecção meramente indicativo para o cálculo da % de recuperação.

Tabela C5 – Resultados da degradação de diferentes concentrações BaP nas condições óptimas.

Experiência	[BaP] µg/L	Tempo (min)	Área do Pico			Área média	Degradação%	[BaP] final µg/L	Correcção de volume BaP µg/L	C/C0
16	10	0	15676916	13371607	12097678	13715400	---	10,00	10,00	1,00
		0	10712005	9105508	8839165	9552226	30,4	6,96	6,89	0,69
		2	597147	444720	348115	463327	96,6	0,34 *	0,33	0,03
		15	181355	167723	320742	223273	98,4	0,16 *	0,16	0,02
		30	287947	85427	ND	186687	98,6	0,14 *	0,13	0,01
		45	ND	148093	82973	115533	99,2	0,08 *	0,08	0,01
		60	ND	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00	0,00
		75	ND	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00	0,00
		90	ND	ND	ND	ND	100,0	0,00 *	0,00	0,00
17	20	0	25245447	23370750	22277989	23631395	---	20,00	20,00	1,00
		0	20128698	20776100	16421000	19108599	19,1	16,17	16,01	0,80
		2	4317024	3975286	3990951	4094420	82,7	3,47	3,40	0,17
		15	1240535	1318434	1127468	962105	95,9	0,81 *	0,79 *	0,04
		30	861882	1065458	958976	1013119	95,7	0,86 *	0,82 *	0,04
		45	724924	1638454	675978	716517	97,0	0,61 *	0,58 *	0,03
		60	845826	648420	655305	818373	96,5	0,69 *	0,65 *	0,03
		75	872668	792218	790234	691418	97,1	0,59 *	0,54 *	0,03
		90	664170	651672	758413	691418	97,1	0,59 *	0,54 *	0,05

ND – Não detectável;

* Resultados inferiores ao limite de detecção meramente indicativo para o cálculo da % de recuperação.

Tabela C5 (Cont.) – Resultados da degradação de diferentes concentrações BaP nas condições ótimas.

Experiência	[BaP] µg/L	Tempo (min)	Área do Pico			Área média	Degradação%	[BaP] final µg/L	Correcção de volume BaP µg/L	C/C0
18	60	0	78685055	77987342	70186722	75619706	---	60,00	60,00	1,00
		0	35051042	33633250	32290693	33658328	55,5	26,71	26,44	0,44
		2	41715145	40609922	35361909	39228992	48,1	31,13	30,50	0,51
		15	37872794	36593129	35069126	36511683	51,7	28,97	28,10	0,47
		30	33520626	33053467	32559185	33044426	56,3	26,22	25,17	0,42
		45	23093755	22114940	21596617	22268437	70,6	17,67	16,79	0,28
		60	25195998	25512705	25071376	25260026	66,6	20,04	18,84	0,31
		75	8417691	8198147	8056975	8224271	89,1	6,53	6,07	0,10
		90	6033036	5742732	5651224	5808997	92,3	4,61	4,24	0,07
19	100	0	130229538	129119354	129300145	129549679	---	100,00	100,00	1,00
		0	86724860	86725494	85732334	86394229	33,3	66,69	66,02	0,66
		2	67450982	62702116	61149264	63767454	50,8	49,22	48,24	0,48
		15	64355137	63118122	63144177	63539145	51,0	49,05	47,57	0,48
		30	57390058	57492819	56942774	57275217	55,8	44,21	42,44	0,42
		45	60047404	59716437	59669309	59811050	53,8	46,17	43,86	0,44
		60	53132602	53026664	46788754	50982673	60,6	39,35	36,99	0,37
		75	58323471	58436068	58891308	58550282	54,8	45,20	42,03	0,42
		90	54516762	55794518	45256296	51855859	60,0	40,03	36,83	0,37