

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DE QUÍMICA
CURSO DE BACHARELADO E LICENCIATURA EM QUÍMICA**

VINÍCIUS GABRIEL GROLI

**METODOLOGIA ANALÍTICA PARA IDENTIFICAÇÃO DE
HEPTACLORO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PATO BRANCO

2013

VINÍCIUS GABRIEL GROLLI

**METODOLOGIA ANALÍTICA PARA IDENTIFICAÇÃO DE
HEPTACLORO**

Trabalho de conclusão de curso, apresentado à Comissão de Diplomação do Curso de Bacharelado em Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), *Campus* Pato Branco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientador: Prof^a. Dr^a Tatiane Luiza Cadorin Oldoni
Coorientador: Prof. Dr. Márcio Barreto. Rodrigues

Pato Branco – PR
2013

TERMO DE APROVAÇÃO

O trabalho de diplomação intitulado **METODOLOGIA ANALÍTICA PARA IDENTIFICAÇÃO DE HEPTACLORO** foi considerado APROVADO de acordo com a ata da banca examinadora N° **055B2** de 2013.

Fizeram parte da banca os professores.

Dr^a. Tatiane Luiza Cadorin Oldoni

Dr. Márcio Barreto Rodrigues

Dr^a. Larissa Macedo dos Santos

RESUMO

GROLI, Vinícius G. **Metodologia Analítica Para Identificação De Heptacloro**. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação), Curso Superior de Bacharelado em Química Industrial – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2013.

O uso clandestino de pesticidas vem contaminando os esgotos urbanos. O lodo é um problema de logística no pós tratamento de esgotos urbanos e industriais. A disposição agrícola – uso como adubo – deste bioossólido rico em carbono, nitrogênio e micronutrientes oriundos da alta carga de orgânica é uma solução utilizada para sua disposição final. O heptacloro, da classe dos poluentes orgânicos persistentes que é lipofílico e sofre bioacumulação, é um dos possíveis contaminantes deste lodo. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi desenvolver uma metodologia analítica, utilizando a técnica de cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas, para determinar o pesticida heptacloro em lodo de esgoto, utilizando como padrão interno o decaclorobifenil. Para a identificação do padrão decaclorobifenil foi obtido o coeficiente de correlação linear 0,9945 para a equação de reta $y=10^{-4}x - 0,995$. Foi realizado um teste de recuperação em duplicata pela contaminação da amostra com 1 mL do decaclorobifenil na concentração de 130 µg/mL e extração por 3 minutos com hexano:propanona [1:1] em ultrassom, obtendo recuperações de 84 e 92%.

Palavras-chave: Heptacloro. Decaclorobifenila. Hexano.

ABSTRACT

GROLI, Vinícius G. **Analytical Methodology for Heptachlor Identification**. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação), Curso Superior de Bacharelado em Química Industrial – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2013.

The clandestine use of pesticides has been contaminating the urban sewage. The sludge is a problem of logistics in the post treatment of urban and industrial. The provision of agriculture - use as fertilizer - this biosolids rich in carbon, nitrogen and micronutrients derived from the high organic load is a solution used for final disposal. The heptachlor, class of persistent organic pollutants that are lipophilic and bioaccumulate, is one of the possible contaminants this sludge. In this context, the aim of this study was to develop an analytical methodology, using the technique of gas chromatography coupled with mass spectrometry to determine the pesticide heptachlor in sewage sludge, using as the standard interoperable decaclorobifenil. To identify the pattern decaclorobifenila was obtained linear correlation coefficient of 0.9945 for the equation line $y = 4x - 10 - 0,995$. We carried out a recovery test for contamination of the sample with 1 mL of decaclorobifenila to 130 ppm for 3 minutes and extraction with hexane: propanone [1:1] or ultrasonic obtain recoveries of 84 and 92%.

Keywords: Heptachlor. Decachorbiphenyl Hexane.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Processo geral de tratamento de esgoto.....	12
Figura 2. Molécula do Heptacloro.....	15
Figura 3. Construção da curva de calibração via padronização externa	19
Figura 4. Chegada do Esgoto à ETE de Pato Branco, Paraná.....	24
Figura 5. Gradeamento do Esgoto Bruto na ETE de Pato Branco, Paraná.....	25
Figura 6. Entrada do Esgoto no Reator Anaeróbio de Manto de Lodo e Fluxo Ascendente na ETE de Pato Branco, Paraná.	25
Figura 7. Reator Anaeróbio de Manto de Lodo e Fluxo Ascendente na ETE de Pato Branco, Paraná.	26
Figura 8. Tratamento Final da Parte Líquida: A) decantador Secundário, b) e c) liberação em corpo hídrico receptor do efluente tratado na ETE de Pato Branco, Paraná.....	26
Figura 9. Leitões de Secagem de Lodo na ETE de Pato Branco, Paraná.....	27
Figura 10. Lodo no Leito de Secagem com A) 2 dias, B) 9 dias, C) 21 dias e D) 33 dias na ETE de Pato Branco, Paraná.....	27
Figura 11. Baias de Estocagem de Lodo na ETE de Pato Branco, Paraná.	28
Figura 12. Amostragem nas Baias de Estocagem de Lodo na ETE de Pato Branco, Paraná.....	28
Figura 13. Preparo da Solução de Trabalho do Heptacloro e Decaclorobifenil.	29
Figura 14. Cromatograma da Injeção do "mix" Para a Determinação Dos Tempos de Retenção.....	30
Figura 15. Sobreposição dos Cromatogramas das Soluções de Decaclorobifenila à 2, 5, 10, 20, 40 e 50 ppm em Hexano.	31
Figura 16. Gráfico da Concentração em Função da Área do Pico da Decaclorobifenila na Construção da Curva de Calibração	33
Figura 17. Pesagem de 6,5 mg do <i>surrogate</i> para o ensaio de recuperação.....	35
Figura 18. Preparação do sistema de solventes (hexano:propanona [1:1]).	36
Figura 19. Extração em ultrassom para o ensaio de recuperação	36
Figura 20. Cromatograma do ensaio de recuperação com o tempo de retenção do <i>surrogate</i> identificado	37
Figura 21. Integração da área do pico de interesse e suas redondezas no ensaio de recuperação.	38
Figura 22. Integração da área do pico de interesse e suas redondezas na duplicata do ensaio de recuperação.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características Físico-químicas do Lodo da ETE - Pato Branco – PR.....	13
Tabela 2. Reagentes, vidraria e instrumentação utilizados nos ensaios.	22
Tabela 3. Identificação e descrição/aplicabilidade do método utilizado	23
Tabela 4. Área dos Picos e Concentrações das Soluções no Preparo da Curva de Calibração	33
Tabela 5. Metodologia utilizada no ensaio de recuperação	34
Tabela 6. Caracterização físico-química do lodo.....	40

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Propriedades Físico-químicas do Heptacloro	16
Quadro 2. Dados do ensaio de recuperação do <i>surrogate</i> pela extração com Hexano:Propanona [1:1] em ultrassom	40

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	11
2.1 OBJETIVO GERAL	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3 REFERENCIAL TEÓRICO	12
3.1 DEFINIÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DO LODO RESIDUAL	12
3.2 CONTAMINANTES ORGÂNICOS NOS BIOSSÓLIDOS	14
3.2.1 Pesticidas da Classe dos Organoclorados	14
3.2.1.1 Heptacloro	15
3.3 A VALIDAÇÃO ANALÍTICA	17
3.3.1 Seletividade/Especificidade	17
3.3.2 Precisão	18
3.3.3 Exatidão, Linearidade e Faixa de Aplicação	18
3.3.4 Padronização por <i>Surrogate</i>	20
3.3.5 Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)	20
3.3.6 Robustez	21
4 MATERIAIS E MÉTODOS	22
4.1 MATERIAIS	22
4.2 MÉTODOS	22
4.2.1 Protocolos SW-846 (EPA)	22
4.2.2 Construção da Curva de Calibração	23
4.2.3 Estação de tratamento de esgotos e amostragem	24
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1 DETERMINAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE INJEÇÃO: VOLUME, REGIME E RAMP DE TEMPERATURA E AQUISIÇÃO DE DADOS PELO EM	29
5.2 DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE RETENÇÃO DO HEPTACLORO E DO DECACLOROBIFÊNILA	30
5.3 CONSTRUÇÃO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DO LIMITE DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO	31
5.4 LIMITE DE DETECÇÃO (LD) E QUANTIFICAÇÃO (LQ)	33
5.5 ENSAIO DE RECUPERAÇÃO	34
5.6 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LODO	40
CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
REFERÊNCIAS	42

1 INTRODUÇÃO

Com a proibição da comercialização direta ao público e do uso de pesticidas da classe dos organoclorados em 1985 (MELO, 1998) devido descobertas sobre sua persistência no meio ambiente e alta toxicidade para os organismos superiores da cadeia alimentar, estes pesticidas vêm sendo comercializados clandestinamente (ACPO, 2003).

Em sistemas aquáticos e no solo, os POP's (poluentes orgânicos persistentes) estão fortemente ligados as partículas de solo, particularmente as de grande teor de matéria orgânica (JONES, 1999). Tipicamente hidrofóbicos, lipofílicos e resistentes ao metabolismo, os POP's se acumulam nos tecidos gordurosos de animais quando lixiviados (JONES, 1999) ou após introduzidos na cadeia alimentar via absorção radicular pelos vegetais (ATSDR, 2007).

Recentemente o lodo de esgoto processado, rico em matéria orgânica e macronutrientes, vêm sendo utilizado como fertilizante em diversas culturas vegetais, apresentando resultados satisfatórios (PEDROZA, 2003), dispensando a utilização de adubos sintéticos e baixando os custos pré colheita. Desta forma, é importante realizar a caracterização química, bem como, quantificar a carga de compostos tóxicos e/ou persistentes presente neste material.

Sabendo da toxicidade dos POP's e da possibilidade de sua presença no lodo de esgoto processado e sua aplicação como fertilizante é necessário quantificar esta carga orgânica poluidora para assegurar uma utilização sem riscos. Para que esta identificação e quantificação sejam realizadas de maneira precisa e exata, torna-se necessário otimizar uma metodologia de extração, bem como uma metodologia analítica específica para os compostos de interesse.

O Heptacloro, um organoclorado persistente, pode ser extraído e quantificado via uma metodologia desenvolvida pela Agência de Proteção do Meio Ambiente dos Estados Unidos da América. Entretanto, esta metodologia generaliza a extração e quantificação para toda classe de POP's em matrizes tanto líquidas quanto sólidas, sendo necessária a validação para utilização desta metodologia nas condições de apresentação da matriz utilizada.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Otimizar uma metodologia analítica para determinar o pesticida heptacloro em lodo de esgoto utilizando a técnica de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar as condições de injeção;
- Determinar as condições da metodologia analítica para análise utilizando o cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas;
- Determinar o tempo de retenção e padrão de fragmentação do heptacloro e decaclorobifenil num *mix* em hexano;
- Construir uma curva calibração utilizando padrão interno decaclorobifenil;
- Determinar os limites de detecção e quantificação para a curva padrão do padrão decaclorobifenil;
- Determinar a recuperação do *surrogate* nas amostras de lodo.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 DEFINIÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DO LODO RESIDUAL

O material a ser trabalhado é um produto do sistema de tratamento de esgotos denominado lodo de esgoto. O lodo é uma denominação genérica para os sólidos, orgânicos e inorgânicos que se acumulam no sistema, e que, devem ser periodicamente descartados (AISSE, 1999). A Figura 1 ilustra o processo geral de tratamento de esgotos e a obtenção do lodo residual.

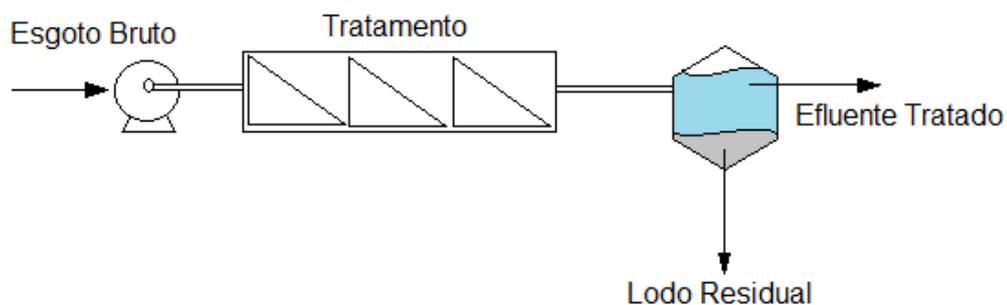


Figura 1. Processo geral de tratamento de esgoto
Fonte: Adaptado de Sperling, 2001.

Normalmente, o destino final do efluente tratado são os corpos receptores, que absorvem esta carga líquida sem maiores impactos ambientais. Para o lodo residual a disposição final ocorre com o descarte via oxidação úmida, incineração, *landfarming* (disposição no solo) ou despejo direto em aterro sanitário enquanto que o uso benéfico deste recurso são as reciclagens agrícola e não agrícola (fabricação de lajotas e similares) como auxiliar na recuperação de áreas degradadas (ANDREOLI, 2001).

O lodo tratado, estabilizado, higienizado e maturado é denominado biossólido que é um “*resíduo de composição predominantemente orgânica e com grande potencial para a reciclagem*” (ANDREOLI, 2001), contendo em média 40% de matéria orgânica, 4% de nitrogênio, 2% de fósforo e 0,4% de potássio (ZEITOUNI, 2005)

A reciclagem agrícola como uso benéfico do lodo residual é reforçada por Bonnet (2000), pois, a valorização agrícola do lodo de esgoto tem sido colocada como alternativa preferencial na disposição do produto, face a sua influência na

composição química do solo e sua composição química em termos de matéria orgânica, nitrogênio, fósforo e outros nutrientes. A reciclagem do lodo como condicionador de solos vem sendo pesquisada desde o início da década de 1990 e testada desde o ano 2000.

O lodo de esgoto aplicado à agricultura é denominado de biossólido, e o objeto de estudo, proveniente da ETE (estação de tratamento de esgoto) da cidade de Pato Branco - Paraná cujas coordenadas geográficas são 26° 12' 06" Sul e 52° 40' 51" Oeste, apresenta característica química específica, alguns parâmetros já caracterizados estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Características Físico-químicas do Lodo da ETE - Pato Branco – PR.

Parâmetro Analisado	Concentrações Médias
pH	---
C (Carbono)	(g.Kg ⁻¹) 7,560
Relação C:N	(g.Kg ⁻¹) 152,00
N - NH ₄	(mg.Kg ⁻¹) 10:2
N - NO ₃	(mg.Kg ⁻¹) 1,546
P total (Fósforo)	% 536,00
S total (Enxofre)	% 8,000
K (Potássio)	% 1,230
Ca (Cálcio)	% 1,340
Mg (Magnésio)	% 165,000
	5,210

Fonte: Agustini, 2007.

Do ponto de vista agrônômico o biossólido, dependendo de sua origem e processo de tratamento utilizado, apresenta uma quantidade significativa de nutrientes essenciais ao desenvolvimento das plantas. Uma de suas características é a matéria orgânica que exerce efeitos importantes nas características do solo, e que de maneira geral, aumenta a infiltração e retenção de água no solo, entretanto, deve haver cautela na questão dos nutrientes que dependem da origem do esgoto bruto recebido pela estação de tratamento, e algumas vezes precisam ser corrigidos com fertilizantes químicos (ANDREOLI, 2001).

A reciclagem agrícola é uma solução viável para a disposição final deste resíduo, visto o aumento na produtividade de diversas culturas agrícolas, observadas nos primeiros trabalhos desenvolvidos com biossólido por pesquisadores como Bettiol et al. (1982) que verificaram aumentos na produção de arroz em solos cultivados com resíduo; Berton (1989) constatou aumento na produção de fitomassa do milho nos tratamentos adubados com biossólido, Martins

(1993) e Vanzolini (1994) verificaram aumento nas quantidades de fitomassa da parte aérea e da raiz do sorgo granífero proporcionais às doses de lodo empregadas.

Ainda, Silva (1995) verificou aumentos lineares da produtividade de biomassa em cana-de-açúcar cultivada em solo que recebeu bio sólido, Favaretto et al. (1997) obtiveram maior produtividade da cultura do milho adubada organicamente com lodo de esgoto, além de observarem um aumento da produção de grãos em função do aumento das dosagens de bio sólido. Lourenço et al. (1995), verificaram aumento da produtividade do milho e feijão adubados com bio sólido. Bottega e Nascimento (1999) constataram aumentos de 32 a 54% na produtividade da cultura do milho com uso de lodo de esgoto digerido aeróbio caçado. (PEDROZA, 2003)

3.2 CONTAMINANTES ORGÂNICOS NOS BIOSSÓLIDOS

O lodo de esgoto é uma matriz complexa de compostos orgânicos e inorgânicos, que lhe confere seu uso como adubante em solos cuja sua aplicação é necessária. Como sua origem antes de chegar à estação de tratamento não é controlada, uma carga de poluentes tanto orgânicos quanto inorgânicos é sempre absorvida por esta matriz. Algumas análises vêm apontando centenas de contaminantes orgânicos no bio sólido, cujas origens são de produtos sintéticos e seus respectivos produtos de degradação. Nestes estudos, foram encontrados: pesticidas organoclorados, bifenilas policloradas, organofosforados, óleos minerais, lipídeos, produtos farmacêuticos, entre outros que, pela sua natureza hidrofóbica ou lipofílica migram para a fase sólida durante o processo de tratamento (SAITO, 2007).

Andreoli (2001) ressalta que existem *“poucos dados sobre o comportamento destes poluentes orgânicos no meio”*. E que a falta deste conhecimento *“torna extremamente difícil a previsão de tratabilidade e do destino destes, nas etapas de tratamento”*.

3.2.1 Pesticidas da Classe dos Organoclorados

As moléculas ditas organocloradas, são hidrocarbonetos clorados sintetizados pelo homem, logo, não são encontradas naturalmente no ambiente. Os organoclorados de baixo peso molecular são utilizados como solventes devido a sua

alta volatilidade, já os de alto peso molecular são os pesticidas e bifenilos de baixa volatilidade, que apresentam grande impacto na biota em que são inseridos (YOGUI, 2002).

Devido à alta persistência no meio ambiente, os compostos organoclorados podem causar efeito danoso em longo prazo. Outro fator agravante no caso desses compostos está associado à sua lipofilicidade que é a condição de uma substância se dissolver em gorduras e sua consequentemente insolubilidade em água, explicada por sua baixa polaridade. Em razão destas características, estes compostos sofrem bioacumulação, ou seja, pequenas quantidades dos compostos presentes na água ou sedimentos têm sua concentração aumentada à medida que vão sendo transferidos para níveis mais altos da cadeia alimentar (BARBOSA, 2004).

3.2.1.1 Heptacloro

O composto 1,4,5,6,7,8,8-heptachloro-3 α ,4,7,7 α -tetrahydro-4,7-methanoindene ou heptacloro (IUPAC) é um inseticida organoclorado sintético da classe dos ciclodienos clorados, persistente, isolado do clordano em 1946. Foi extensivamente utilizado durante os anos de 1953 a 1974 no controle de pragas do solo (FELIX, 2007). A molécula do heptacloro é representada na Figura 2 e suas características físico-químicas no Quadro1.

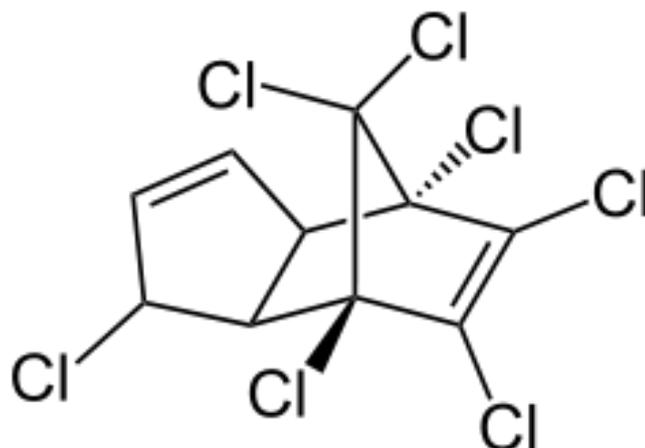


Figura 2. Molécula do Heptacloro
Fonte: Kegley, 2010.

Nome Usual	Heptacloro
Numeração CAS	76-44-8
Fórmula Molecular	$C_{10}H_5Cl_7$
Massa Molar	$373,500 \text{ g.mol}^{-1}$
Ponto de Fusão	$95,000 \text{ }^\circ\text{C}$
Ponto de Ebulição (1 mmHg)	$135,000 \text{ }^\circ\text{C}$
Solubilidade em H_2O	$0,056 \mu\text{g.L}^{-1}$
Solubilidade em Solventes Orgânicos	Muito Solúvel
Pressão de Vapor ($20 \text{ }^\circ\text{C}$)	1,440 Pa
Densidade ($20 \text{ }^\circ\text{C}$)	1,660

Quadro 1. Propriedades Físico-químicas do Heptacloro
Fonte: Adaptado de Anjos, 2005 e Kegley, 2010.

O heptacloro, no solo, é eliminado via evaporação ou oxidação. Sua meia vida no solo em regiões temperadas pode alcançar dois anos e sua oxidação a epóxido de heptacloro (também lipossolúvel e com baixa pressão de vapor), ocorre quando incorporado biologicamente (FELIX, 2007).

No Brasil, o heptacloro é acrescentado à cola para madeira e atua como fungicida para a conservação da mesma, sua venda direta ao público está proibida, juntamente com o restante da classe organoclorada desde 1985 (MELO, 1998). Entretanto, pode ser aplicado pelas autoridades competentes em campanhas de saúde pública no combate a vetores de agentes etiológicos de moléstias e a critério da Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária (SNAD) do Ministério da Agricultura em uso emergencial na agricultura (ANVISA, 1985).

A apresentação comercial do heptacloro, um sólido com aspecto de cera, cuja composição técnica chega a 67% de princípio ativo e 33% de substâncias correlatas (LARINI, 1993), é a Biarbinex 400 CE, Hepta 50 e Madefour, facilmente encontrado em sites especializados e pode ser obtido clandestinamente pela internet (ACPO, 2003). A legislação brasileira, representada pela Portaria 518 do Ministério da Saúde, aceita para padrão de potabilidade, concentrações de heptacloro na ordem de $0,03 \mu\text{g.L}^{-1}$ ou 0,03 ppb (BRASIL, 2004) enquanto a resolução CONAMA 357 aceita $0,01 \mu\text{g.L}^{-1}$ (CONAMA, 2005).

3.3 A VALIDAÇÃO ANALÍTICA

Validação de método analítico é o processo que deve demonstrar que o método é adequado ao uso pretendido, é vital para a garantia da qualidade analítica e tem recebido considerável atenção na literatura. A determinação das características de desempenho do método é somente uma parte do processo e os critérios de aceitação são baseados no uso intencional do método. É recomendado que o planejamento e execução da validação de método siga um plano mestre de validação (BARROS, 2002).

O uso de ferramentas estatísticas adequadas, testes de hipótese: t de Student e F, rejeição de dispersos, análise de variância e regressão linear, entre outras, é indicado para demonstração de evidência objetiva da validade do método. Existem diversos conceitos para o termo “Validação”, entre eles está o descrito pela ANVISA:

“A validação deve garantir, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. Para tanto, deve apresentar precisão, exatidão, linearidade, limite de detecção e limite de quantificação, especificidade, reprodutibilidade, estabilidade e recuperação adequadas à análise” (ANVISA, 2003).

Por fim, toda a validação começa com uma condição analítica proveniente de uma literatura, portanto, deve-se ter sempre a melhor condição analítica para se iniciar uma validação (LEITE, 2008).

3.3.1 Seletividade/Especificidade

A Especificidade do método analítico refere-se à capacidade de medir com exatidão o analito de interesse em presença de outros componentes ou interferentes que possam estar presentes na matriz da amostra. Especificidade do método é demonstrada como o desvio dos resultados obtidos pela análise do analito de interesse em amostras fortalecidas com todos os interferentes e os resultados obtidos com amostras não fortalecidas, contendo somente o analito. Quando não se conhecem os interferentes, a especificidade do método pode ser investigada pela comparação dos resultados com outros métodos/técnicas independentes (LANÇAS, 2004).

3.3.2 Precisão

A Precisão do método analítico é o grau de concordância entre resultados de medidas independentes em torno de um valor central, efetuadas várias vezes em uma amostra homogênea, sob condições pré-estabelecidas. É calculado por desvio padrão, variância ou coeficiente de variação que são funções de quanto um resultado individual (x_1) difere da média (\bar{x}), fornecendo o desvio em relação à média (d_i) conforme equação 1 (SKOOG, 2008).

$$d_i = |x_1 - \bar{x}| \quad [1]$$

Observe que o valor de d_i está em módulo. Na prática, se calcula a estimativa do desvio padrão absoluto, conforme equação 2, aonde (n) é o número de medições.

$$s = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad [2]$$

Pode ainda ser expressa através do intervalo de confiança da média, que é uma faixa de valores no qual existe uma determinada probabilidade de se encontrar um certo valor de uma variável, calculada pela equação 3, em que (t_{n-1}) é valor crítico da distribuição de Student com ($n - 1$) graus de liberdade.

$$\text{Intervalo de confiança da média} = \bar{x} \pm t_{n-1} \frac{s}{\sqrt{n}} \quad [3]$$

Ainda, há a estimativa da porcentagem do desvio padrão relativo (RSD) ou coeficiente de variação (CV) que pode se calculada pela equação 4.

$$RSD (\%) \text{ ou } CV (\%) = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100 \quad [4]$$

Para análises em macro quantidades, são aceitos valores, para a equação 4, de 1 a 2% enquanto para análises de traços ou impurezas, até 20% (JARDIM, 2004).

3.3.3 Exatidão, Linearidade e Faixa de Aplicação

A exatidão indica a proximidade da medida do valor verdadeiro, de uma maneira geral, são aceitos valores entre 80% a 120%. Quanto mais próximo este

resultado estiver de 100%, maior a proximidade com o valor real e, portanto, maior a exatidão (SKOOG, 2008). Os processos mais utilizados para avaliar a exatidão de um método são a utilização de um material de referência certificado, comparação de métodos, adição de padrão e os ensaios de recuperação (JARDIM, 2004).

Para avaliar a exatidão do método via adição de padrão ou ensaio de recuperação, se espera a sua linearidade, que é a capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração do analito (JARDIM, 2004).

Observa-se a linearidade, Figura 3, na construção da curva analítica via métodos como a padronização interna/externa, que consiste na análise de várias soluções de concentrações distintas e conhecidas do analito de interesse, variando entre as proximidades dos limites mínimos e máximos de quantificação, que é a faixa de aplicação deste método (SKOOG, 2008).

Toda curva analítica é descrita pela equação “ $y = ax + b$ ” e é uma relação linear simples entre um valor de sinal genérico (y) e a concentração (x) do analito estudado naquele ensaio. O valor de (a) é chamado de coeficiente angular, ou inclinação da reta, e de (b) é o valor de “ y ” quando “ $x = 0$ ” (CHARNET, 1999).

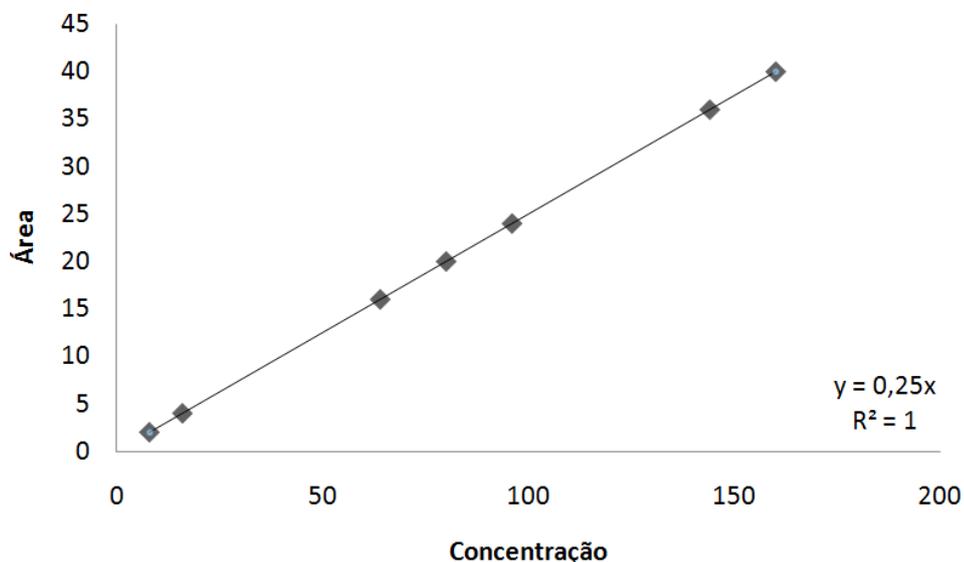


Figura 3. Construção da curva de calibração via padronização externa
Fonte: adaptado de SKOOG, 2008.

Ainda, deve se verificar a relação estatística entre os valores dos pontos que compõem a reta via coeficiente de correlação (R^2), que quanto mais perto de 1,0 (um), menor a dispersão do conjunto de pontos e menor a incerteza nos coeficientes

estimados (INMETRO, 2003). Coeficientes iguais a 0,90 e 0,99 são recomendados pelo INMETRO (INMETRO, 2003) e ANVISA (ANVISA, 2003), respectivamente.

3.3.4 Padronização por *Surrogate*

O termo *surrogate* significa em português substituto em português (WHITLAM, 2012) e utilizado em ensaios de recuperação, é um composto puro e diferente do analito que quando adicionado na amostra, à priori da extração, fornece a eficiência global – via equação 5 (INMETRO, 2003) - do processo e ainda pode ser usado para corrigir as concentrações em vista das possíveis perdas no processo. Necessita ser química e fisicamente semelhante ao analito (CLARK, 2003).

$$\text{Recuperação, \%} = \frac{C1 - C2}{C1} \cdot 100$$

5

Aonde (C1) é a concentração do surrogate adicionado e (C2) a concentração recuperada. Ainda, deve ter tempo de retenção próximo do analito, ser inerte aos outros componentes da matriz e, quando cromatografada, ficar separada de todas as demais substâncias presentes na amostra (JARDIM, 2004).

3.3.5 Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

Limite de detecção (LD) é a menor concentração do analito em uma amostra, que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, sob determinadas condições experimentais. Existem muitos critérios para definição do limite de detecção. Para métodos analíticos instrumentais, o critério adotado é a relação sinal/ruído de 3:1 (SKOOG, 2008).

Limite de quantificação (LQ) do método analítico é a menor concentração do analito que pode ser determinada com precisão e exatidão, aceitáveis, sob determinadas condições experimentais. É calculado como a concentração do analito para o qual a relação sinal/ruído é de 10:1 (SKOOG 2003).

3.3.6 Robustez

A robustez mede a sensibilidade que o método apresente frente a pequenas variações (INMETRO, 2003). E, ainda, o nível de reprodutibilidade dos resultados dos testes obtidos pelas análises de algumas amostras sob uma variedade de condições anormais de como diferentes laboratórios, diferentes analistas, diferentes instrumentos, diferentes lotes de reagentes, diferentes dias, etc (CLARK, 2003).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

Para o desenvolvimento dos ensaios foram utilizados os materiais conforme a Tabela 2.

Tabela 2. Reagentes, vidraria e instrumentação utilizados nos ensaios.

	Descrição	Quantidade (Especificação)
Reagentes	Hexano P.A.	1000 mL (PROLAB)
	Lodo estabilizado	5000 g (ETE PB)
	Decaclorobifenila anidra	10 mg (AKSO Inc.)
Vidraria	Balão volumétrico	6 (2 mL) / 1 (100 mL)
	Bastão de vidro	1 (30 cm)
	Espátula	1
	Vial	6 (2 mL)
	Vial	2 (50 mL)
Instrumentação	Balança analítica	1 (0,000 g ± 0,005 g)
	Coluna cromatográfica	1 (30 m x 0,25 mm id DF 0,25 µm)
	Cromatógrafo gasos	1 (Varian VF - 5 ms)
	Espectrometro de massas	1 (Acoplado CG)

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Protocolos SW-846 (EPA)

A metodologia original faz parte de um conjunto de métodos da Agência de Proteção do Meio Ambiente dos Estados Unidos da América (EPA) denominado SW-846 (métodos para a avaliação de resíduos sólidos – métodos físico-químicos) para extração e análise de compostos tóxicos. O método que trata de organoclorados está na Tabela 3.

Tabela 3. Identificação e descrição/aplicabilidade do método utilizado

Método (EPA - SW-846)	Descrição/Aplicabilidade
8081B	Análise por CG; Escolha método extração Escolha do <i>surrogate</i> Escolha do Sistema de solventes
3500C	Padronização interna
3550c	Extração em ultrassom

Fonte: Adaptado de EPA, 1993

A sessão 2.12 do método 8081B indica a extração de organoclorados, entre outros, pelo método 3550C (ultrassom) e padronização interna pelo método 3500C (técnica de *surrogate*). A sessão 5.4.2 do método 3550C indica 100 mL de hexano:propanona na proporção 1:1, v/v ou diclorometano:propanona na proporção 1:1, v/v como sistema de solventes para a extração, por 3 minutos, em 30 gramas de amostra. A adição do *surrogate*, pelo método 3500C é feita com 1 mL de decaclorobifenila à 10 LQ. Para a cromatografia dos extratos, a sessão 11.5 do método 8081B indica a injeção de 2 µL, em modo split, do extrato e não especifica sobre diluições ou troca de solventes. Já para a identificação, a espectrometria de massas é comentada na sessão 11.7 do mesmo método.

4.2.2 Construção da Curva de Calibração

A sessão 3.3.3 deste trabalho trata da utilização da equação da reta e regressão para a determinação da concentração de um analito em uma matriz genérica. A construção da curva de calibração será feita pela preparação de uma solução de trabalho e a partir desta obter seis diluições que serão injetadas no cromatógrafo com as condições de trabalho previamente determinadas. A integração dos picos do composto decaclorobifenila fornecerá a área que será relacionada com a concentração da amostra utilizada no processo.

A linearidade será confirmada pelo valor do r quadrático o qual determina se os valores seguem a linearidade esperada e comparado ao indicado pelo INMETRO e ANVISA: 0,90 e 0,99, respectivamente.

4.2.3 Estação de tratamento de esgotos e amostragem

O tratamento de esgoto aplicado na ETE de Pato Branco é a estabilização anaeróbia em reator anaeróbio de lodo fluidizado. O esgoto chega à estação por uma série de tubulações que afluem para a estação conforme Figura 4.



Figura 4. Chegada do Esgoto à ETE de Pato Branco, Paraná.

É gradeado, desarenado, passa por calha Parshall – Figura 5 - e segue para o reator anaeróbio de manto de lodo e fluxo ascendente (Figura 7) aonde o líquido é tratado ao passar pelo fundo do reator que é rico em bactérias conforme Figura 6.



Figura 5. Gradeamento do Esgoto Bruto na ETE de Pato Branco, Paraná.

Seguindo pela tubulação, entra no reator anaeróbio de manto de lodo e fluxo ascendente (RALF) conforme Figura 6.



Figura 6. Entrada do Esgoto no Reator Anaeróbio de Manto de Lodo e Fluxo Ascendente na ETE de Pato Branco, Paraná.



Figura 7. Reator Anaeróbio de Manto de Lodo e Fluxo Ascendente na ETE de Pato Branco, Paraná.

Neste estágio, há a precipitação da fase sólida com a fase líquida seguindo para decantação (Figura 8A) e liberação (Figura 8B e C).



Figura 8. Tratamento Final da Parte Líquida: A) decantador Secundário, b) e c) liberação em corpo hídrico receptor do efluente tratado na ETE de Pato Branco, Paraná.

O lodo segue pela tubulação até os leitos de secagem, Figura 9, nos quais é separado da água residual por evaporação.



Figura 9. Leitos de Secagem de Lodo na ETE de Pato Branco, Paraná.

Quando chega aos leitos, passa pelos estágios visualizados na Figura 10.

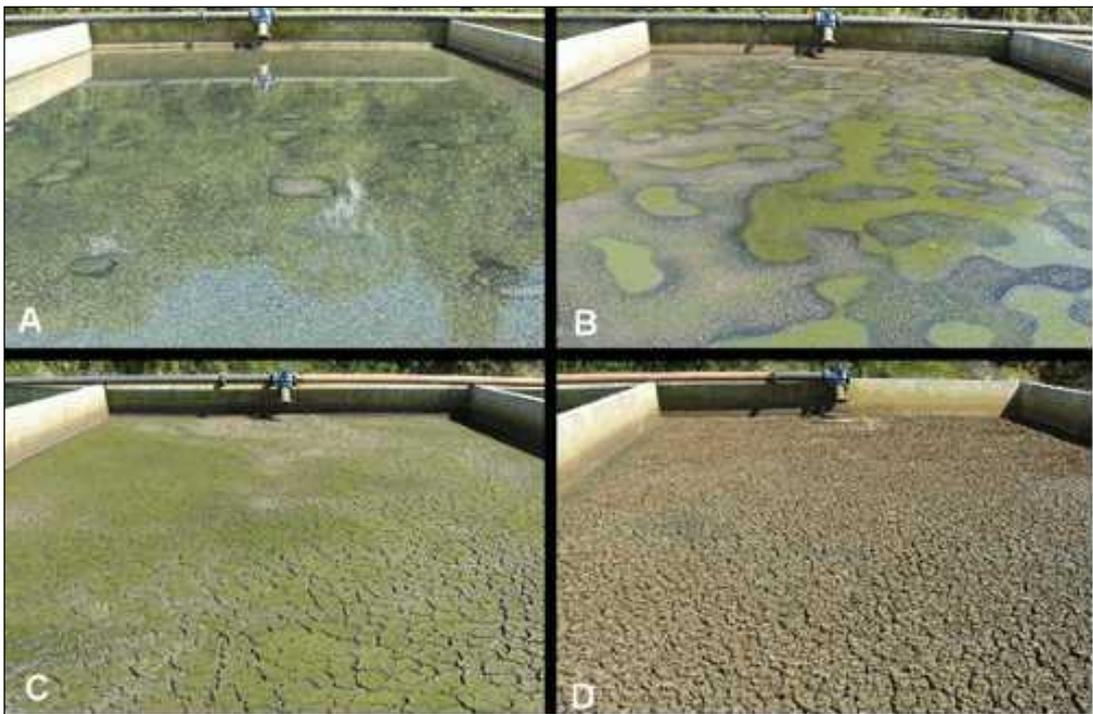


Figura 10. Lodo no Leito de Secagem com A) 2 dias, B) 9 dias, C) 21 dias e D) 33 dias na ETE de Pato Branco, Paraná.

Após a completa secagem, (Figura 10D), é feita a raspagem do leito, a calagem, que é a deposição e homogeneização de carbonato de cálcio ao lodo afim de atingir a estabilidade biológica e a estocagem em 8 baias (Figura 11) aonde aguarda sua destinação final.



Figura 11. Baias de Estocagem de Lodo na ETE de Pato Branco, Paraná.

As duas últimas baias de cada lado do pavilhão foram escolhidas para amostragem, pois estariam logo sendo distribuídas para a adubação conforme Figura 12.



Figura 12. Amostragem nas Baias de Estocagem de Lodo na ETE de Pato Branco, Paraná.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 DETERMINAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE INJEÇÃO: VOLUME, REGIME E RAMPA DE TEMPERATURA E AQUISIÇÃO DE DADOS PELO EM

Cem mililitros de uma solução de trabalho de heptacloro na concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$ em hexano foi preparada pela pesagem de 10 miligramas do analito em um balão volumétrico de cem mililitros tendo seu volume completado com hexano P.A. (Figura 13). O mesmo procedimento foi realizado com o *surrogate* decaclorobifenila. Estas foram chamadas soluções de trabalho.

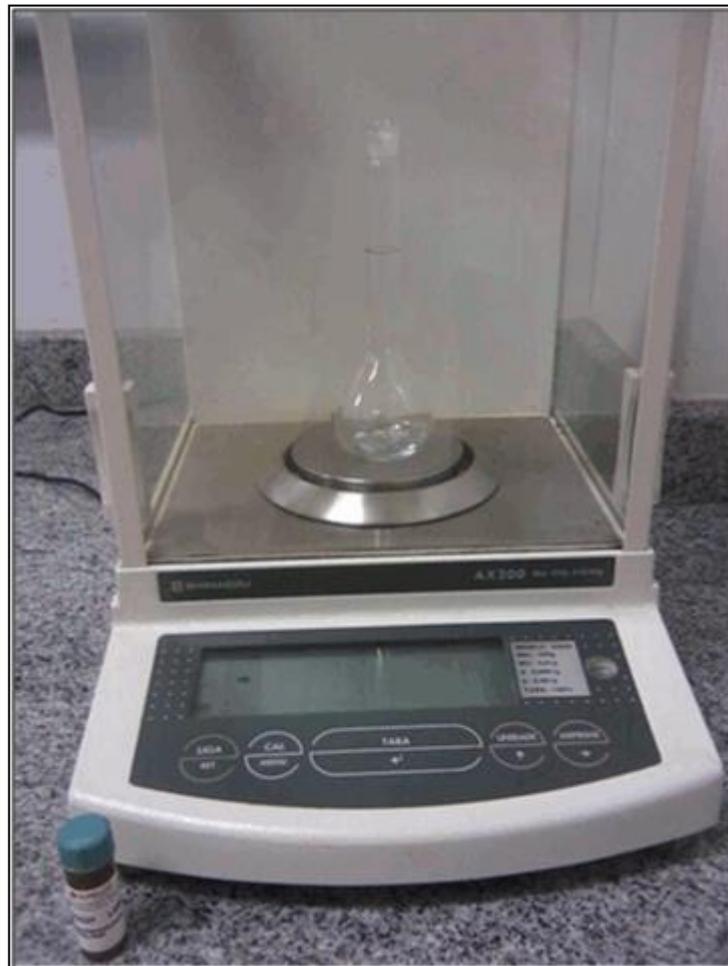


Figura 13. Preparo da Solução de Trabalho do Heptacloro e Decaclorobifenil.

Das soluções de trabalho foram preparadas soluções *mix* dos padrões, à 10 $\mu\text{g/mL}$, para os testes de injeção. Após a otimização, as condições ideais verificadas foram a injeção de 1 μL de amostra - em modo *splitless*. A aquisição de dados pelo espectrômetro de massas foi iniciada aos 6 minutos do início da corrida até os 44

minutos toais da corrida cromatográfica. O arraste foi promovido por Helio na vazão constante de 1 mL.min⁻¹ iniciando a corrida com a temperatura de 100 °C mantida constante nos dois primeiros minutos elevada a uma taxa de 15 °C.min⁻¹ até 160 °C e novamente elevada a uma taxa de 5 °C.min⁻¹ até 300 °C ao final da corrida.

5.2 DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE RETENÇÃO DO HEPTACLORO E DO DECACLOROBIFENILA

Com as condições de injeção definidas, uma solução *mix* (contendo heptacloro e decaclorobifenil) foi injetada, os compostos foram identificados e seus tempos de retenção conhecidos (Figura).

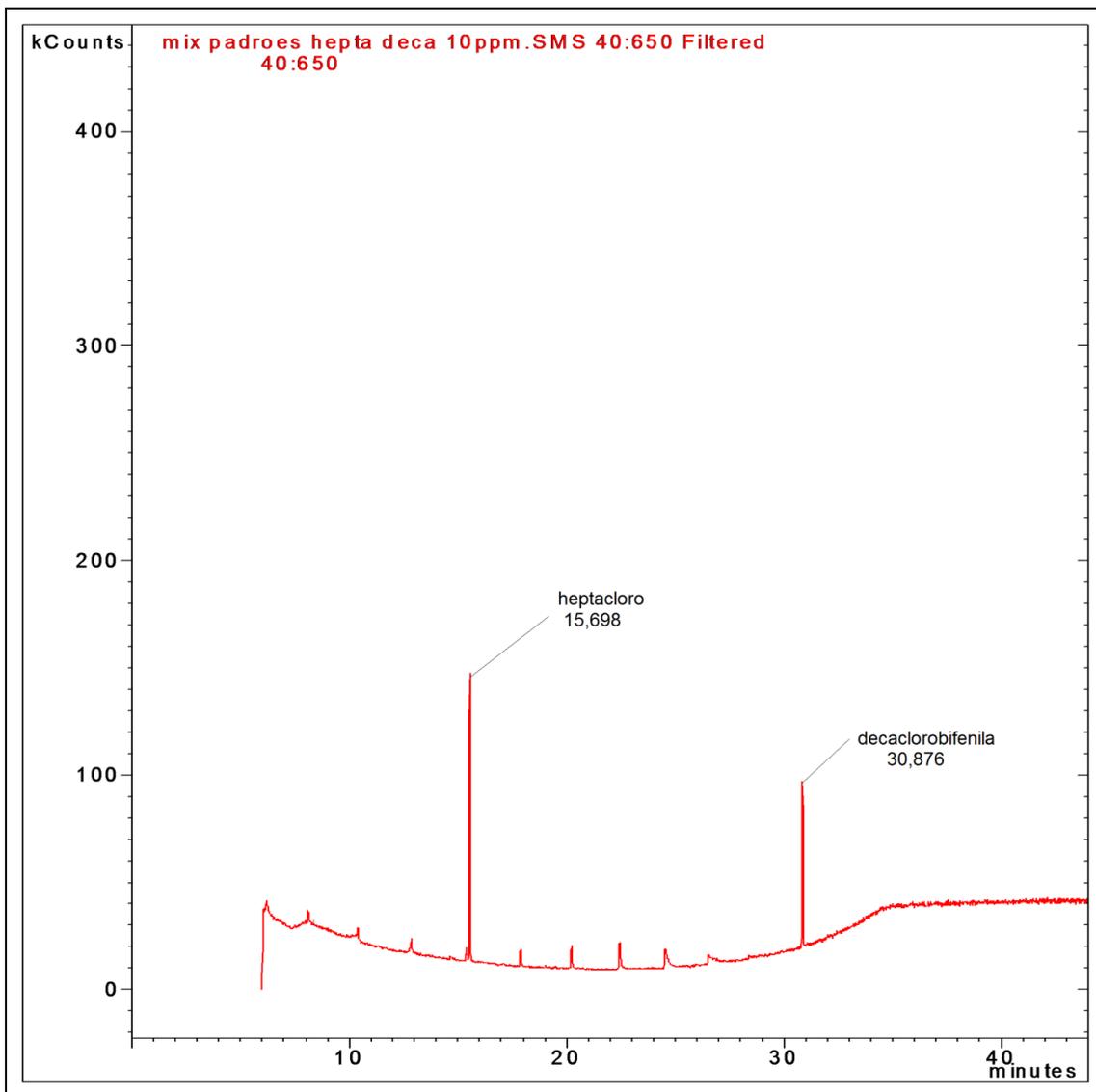


Figura 14. Cromatograma da Injeção do "mix" Para a Determinação Dos Tempos de Retenção.

O heptacloro e a decaclorobifenila apresentam tempo de retenção de 15,698 min e 30,876 min, respectivamente. As interferências presentes na linha de base não comprometem a identificação dos picos destes compostos.

5.3 CONSTRUÇÃO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DO LIMITE DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

A partir da solução de trabalho do decaclorobifenila, foram diluídas soluções à 2, 5, 10, 20, 40 e 50 $\mu\text{g/mL}$ cujos cromatogramas, obtidos pelas injeções em cromatógrafo gasoso sob as condições abordadas, estão sobrepostos na Figura .

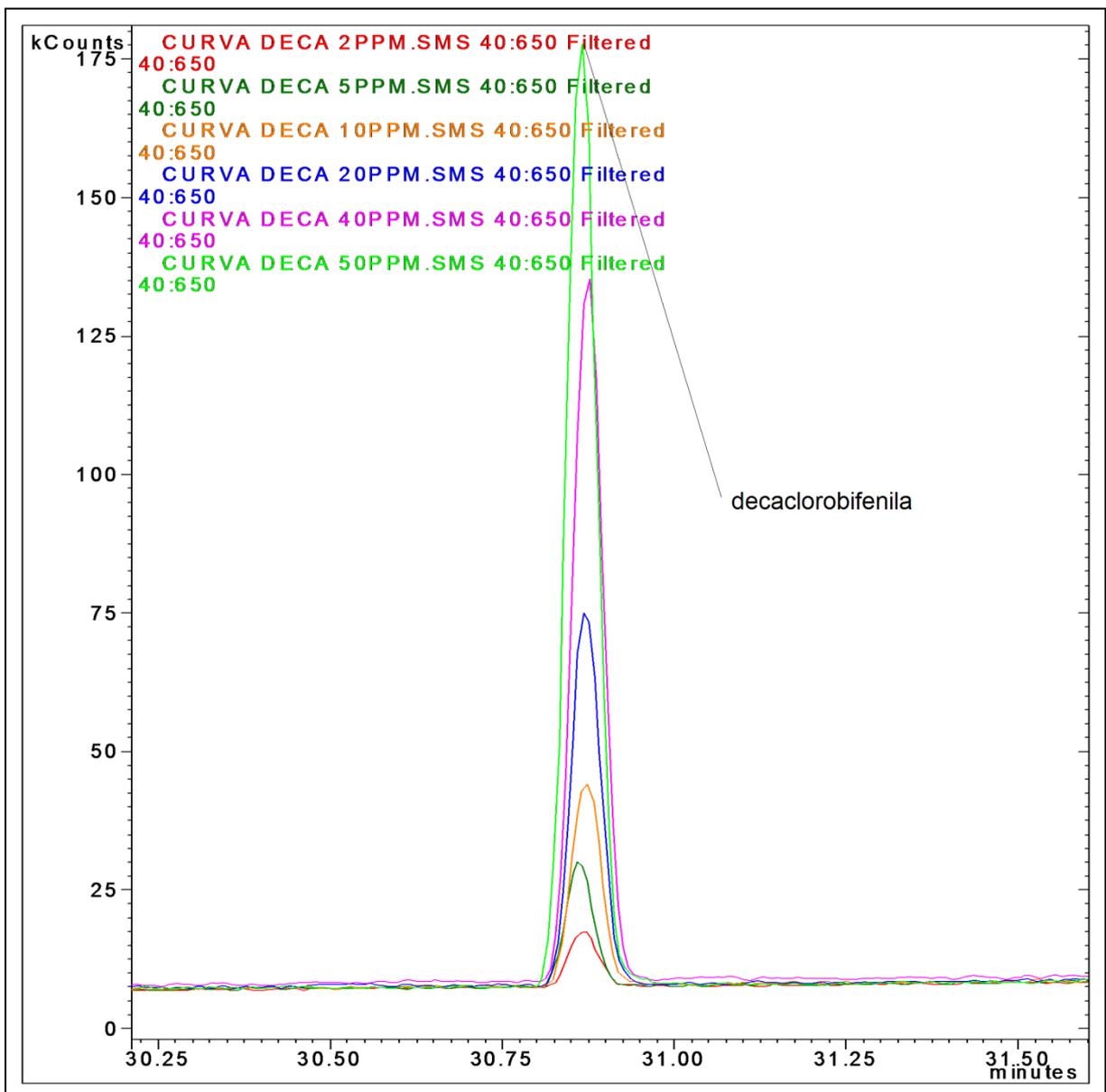


Figura 15. Sobreposição dos Cromatogramas das Soluções de Decaclorobifenila à 2, 5, 10, 20, 40 e 50 ppm em Hexano.

A área dos picos (Figura 16) foi integrada com o auxílio do software de análise dos cromatogramas, do ponto que o pico deixa e retorna para a linha base e foram diretamente proporcionais à concentração da decaclorobifenila na amostra e estão relacionados na Tabela 4.

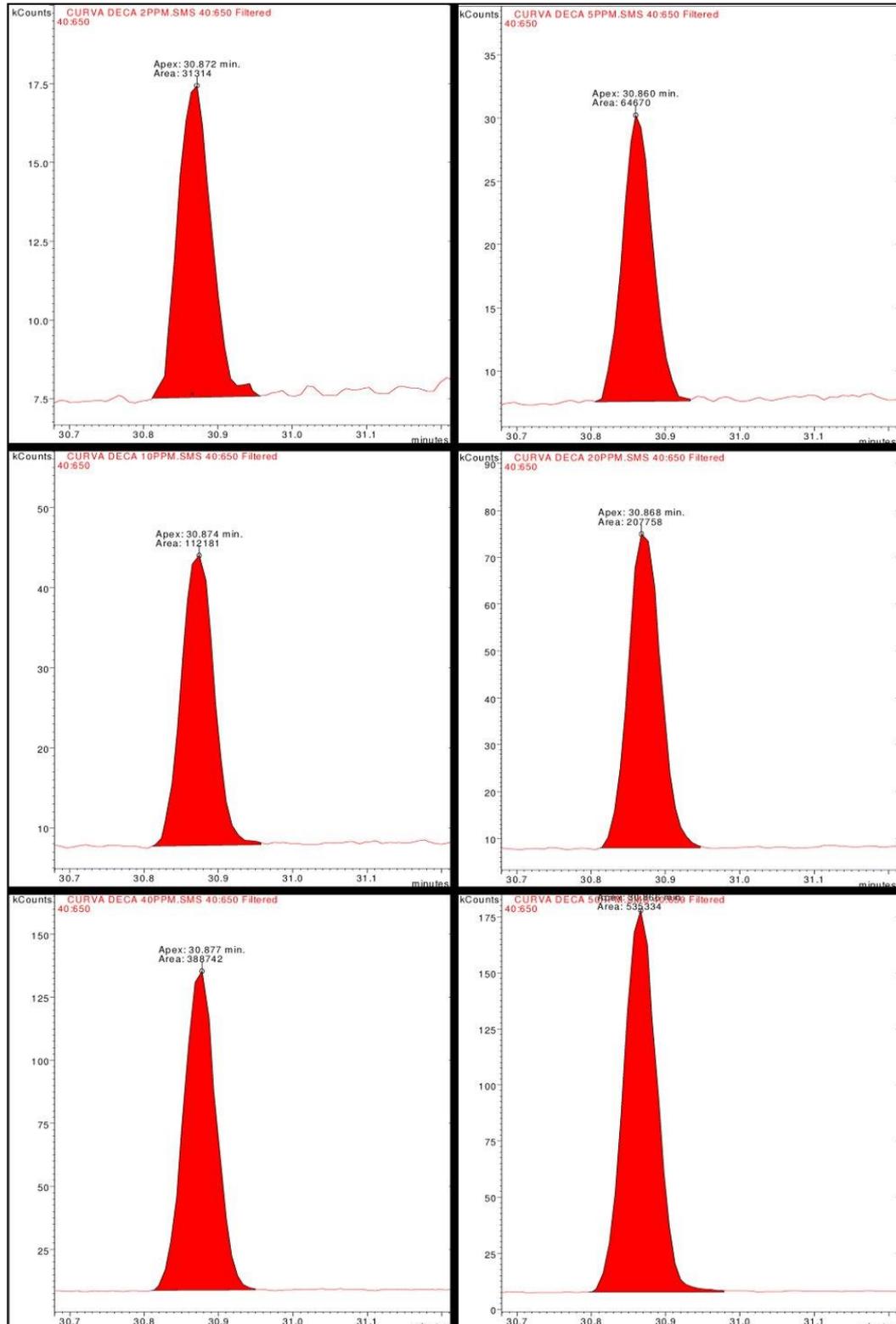


Figura 16. Área dos picos de decaclorobifenila nas concentrações de 2, 5, 10, 20, 40 e 50 µg/mL utilizadas para a calibração interna.

Tabela 4. Área dos Picos e Concentrações das Soluções no Preparo da Curva de Calibração

Área do pico	Concentração da decaclorobifenila (µg/mL)
31314	2
64670	5
112181	10
207758	20
388742	40
535334	50

O gráfico de calibração foi construído e mostrou um coeficiente de correlação em 0,9945, cuja equação da reta é dada por $y = 10^{-4}x - 0,8096$ (Figura 17).

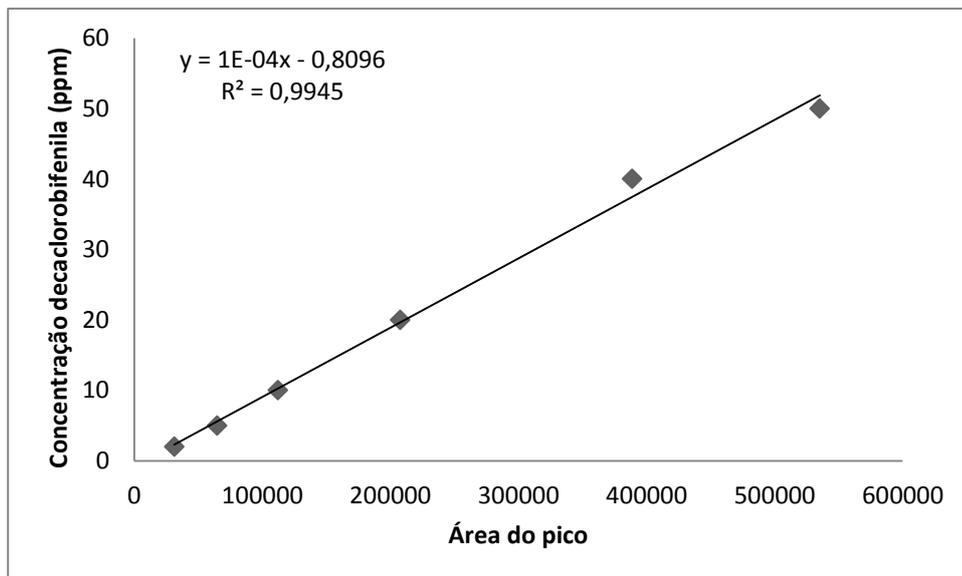


Figura 16. Gráfico da Concentração em Função da Área do Pico da Decaclorobifenila na Construção da Curva de Calibração

5.4 LIMITE DE DETECÇÃO (LD) E QUANTIFICAÇÃO (LQ)

Estes parâmetros foram determinados utilizando-se a relação sinal-ruído no tempo de retenção em que o composto decaclorobifenil foi eluído. Para o LD a razão sinal:ruído foi 3:1 e o valor obtido foi de 0,5 µg/mL. Para o LQ a razão sinal:ruído foi 10:1 e o valor determinado 4,33 µg/mL.

5.5 ENSAIO DE RECUPERAÇÃO

Um ensaio de recuperação foi executado, regido pelas metodologias dos métodos 8081B, 3500C e 3550C, adaptadas por este trabalho, conforme Tabela 5.

Tabela 5. Metodologia utilizada no ensaio de recuperação

Métodos Adaptados	Descrição das Atividades Desenvolvidas
8081B	Análise por CG; Injeção de 1 μ L em modo <i>splitless</i> ; Rampa de temperatura conforme Fig. 16; Corrida cromatográfica de 44 minutos; Extração por ultrassom; Contaminado com decaclorobifenila; Hexano:Propanona 1:1
3500C	<i>Surrogate</i> à 130 ppm em Hexano
3550C	Extração ultrassônica; 15 gramas de lodo; 1 mL <i>surrogate</i> ; 50 mL Hexano:Propanona 1:1; 3 minutos de extração Filtração à vácuo e evaporação; Recuperação com 10 mL de Hexano; Passagem em filtro 0,45 μ m e evaporação Recuperação com 1 mL Hexano; Passagem da solução em filtro 0,45 μ m; Acondicionamento em <i>vial</i> para injeção.

Foi preparado 50 mL de decaclorobifenila a 130 μ g/mL para a contaminação das amostras. Em balança analítica, um balão volumétrico de 50 mL previamente tratado em estufa e mantido em dessecador até a temperatura ambiente foi tarado e nele foram pesados 6,50 mg \pm 0,01 mg (Figura 18) dissolvidos em Hexano P.A. A solução foi estocada à - 4°C até o início do protocolo.

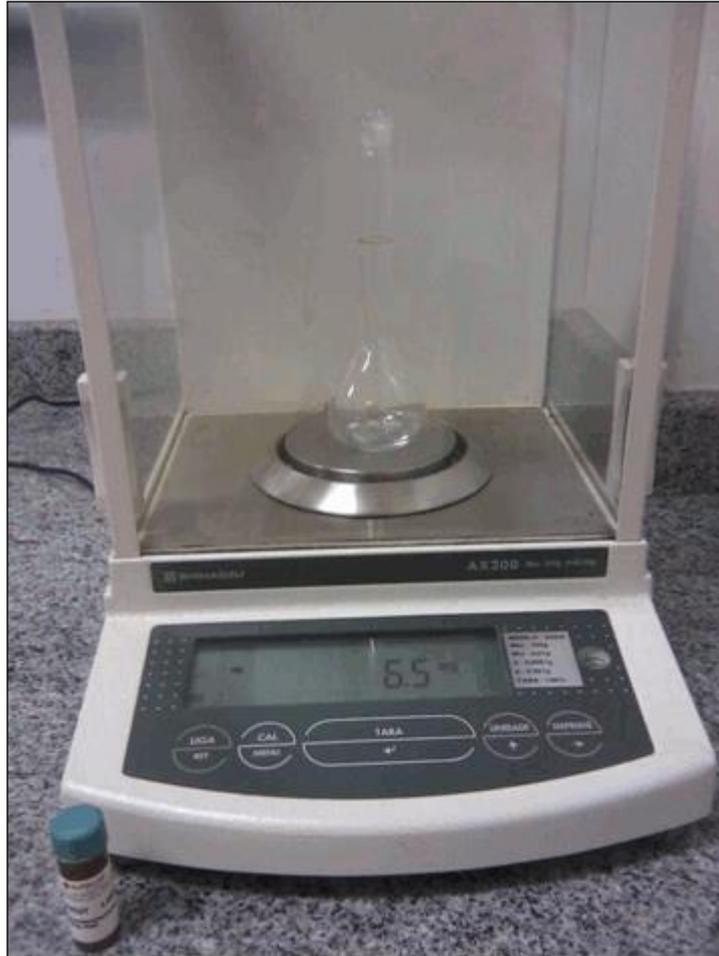


Figura 178. Pesagem de 6,5 mg do *surrogate* para o ensaio de recuperação.

As amostras foram homogeneizadas, trituradas em moinho de pás, peneiradas à 100 mesh, pesadas a $15,00 \text{ g} \pm 0,001 \text{ g}$ e contaminadas com 1 mL de *surrogate* conforme Figura 19.



Figura 19. Contaminação da amostra com 1 mL de *surrogate* a 130 ppm

Foram utilizados os solventes hexano e propanona, ambos puros e adquiridos no comércio varejista de produtos químicos. A preparação dos sistemas de solvente com a medida de 25 mL de cada um dos solventes em proveta, homogeneização em um béquer e deposição sobre no lodo ocorreram conforme Figura 20.



Figura 18. Preparação do sistema de solventes (hexano:propanona [1:1]).

Logo preparados e o aparelho de ultrassom configurado para o tempo de 3 minutos, as amostras foram extraídas conforme Figura 21.



Figura 19. Extração em ultrassom para o ensaio de recuperação

Ambos os extratos foram filtrados e mantidos em estufa até a secura, após serem recuperados hexano e passado pelo filtro de 0,45 um foram injetados no cromatógrafo gasoso. Os cromatogramas são bastante semelhantes conforme a Figura 22.

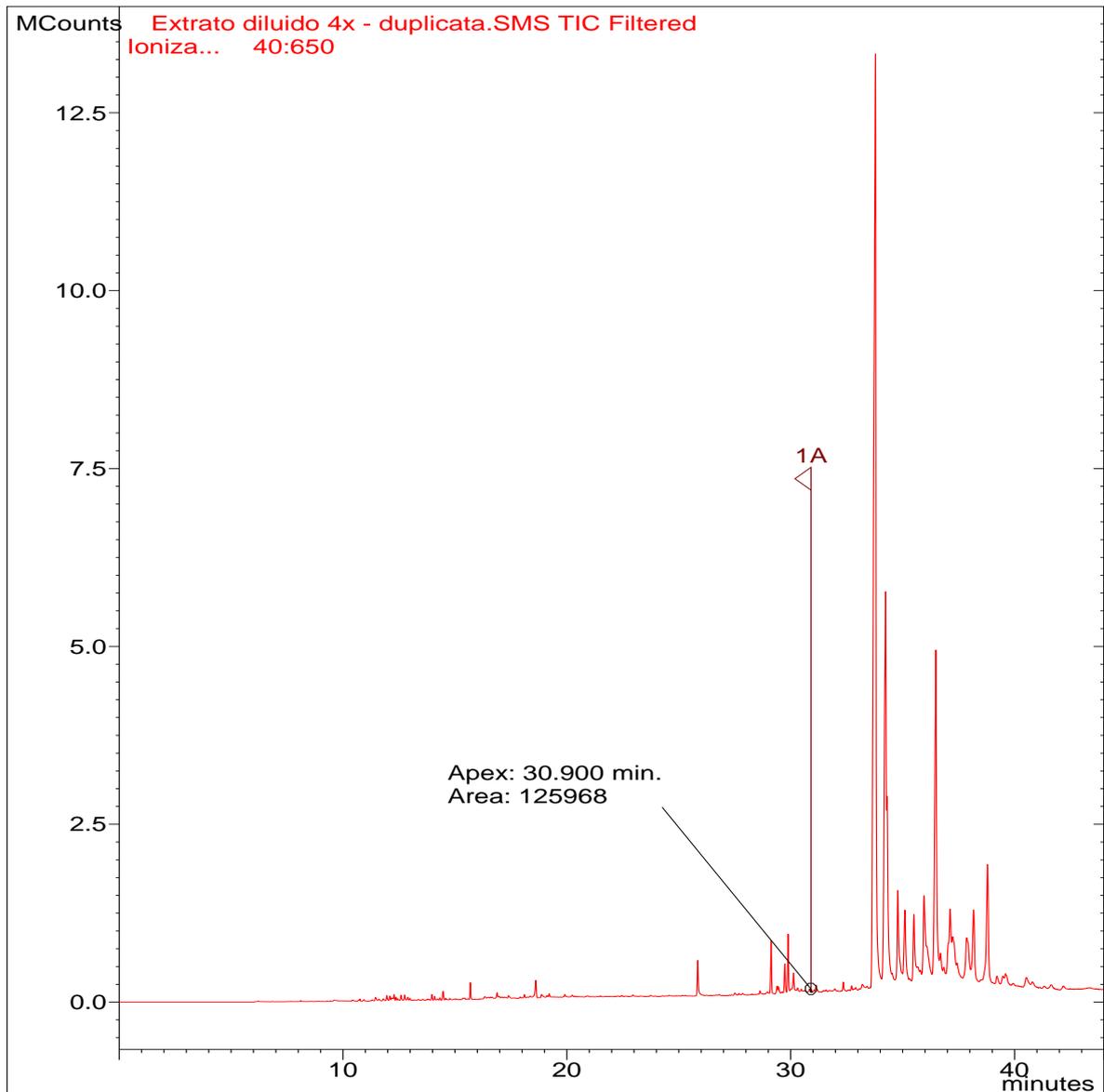


Figura 20. Cromatograma do ensaio de recuperação com o tempo de retenção do *surrogate* identificado

Para fins quantitativos, as áreas dos picos de ambos os cromatogramas foram integradas. Os cromatogramas do ensaio de recuperação e de sua duplicata com a integração em simetria estão disponíveis na Figura 23 e 24, respectivamente.

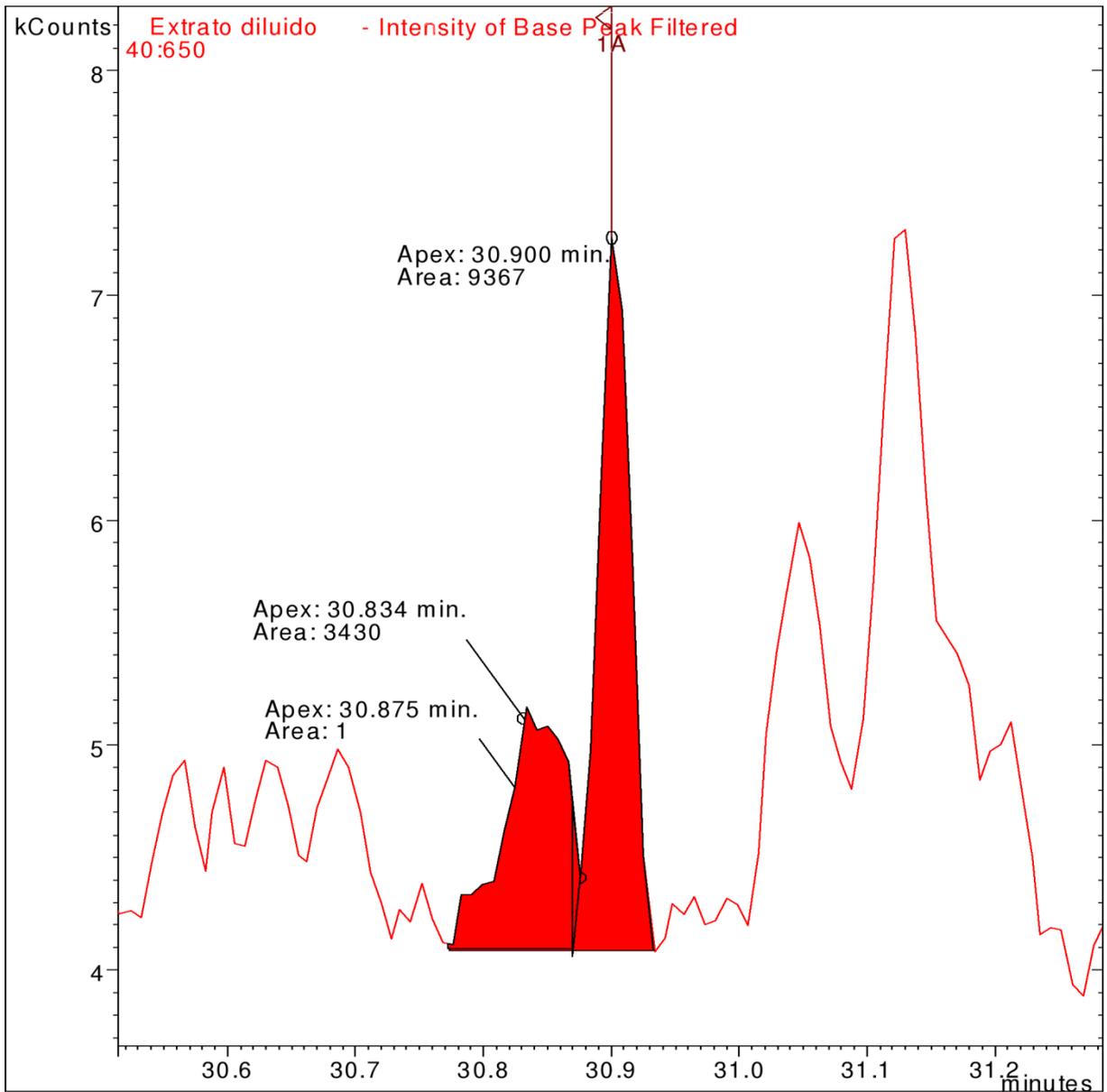


Figura 21. Integração da área do pico de interesse e suas redondezas no ensaio de recuperação.

O pico de interesse é o identificado com a marcação sendo os picos próximos ruídos e interferências. A integração da área do pico do *surrogate* obteve o valor de 9367 e foi feita de acordo com as bases dos picos obtidas no cromatograma. O desconto das áreas foi feito pela integração em simetria do fim do pico de interesse e integração de base das outras áreas dos interferentes.

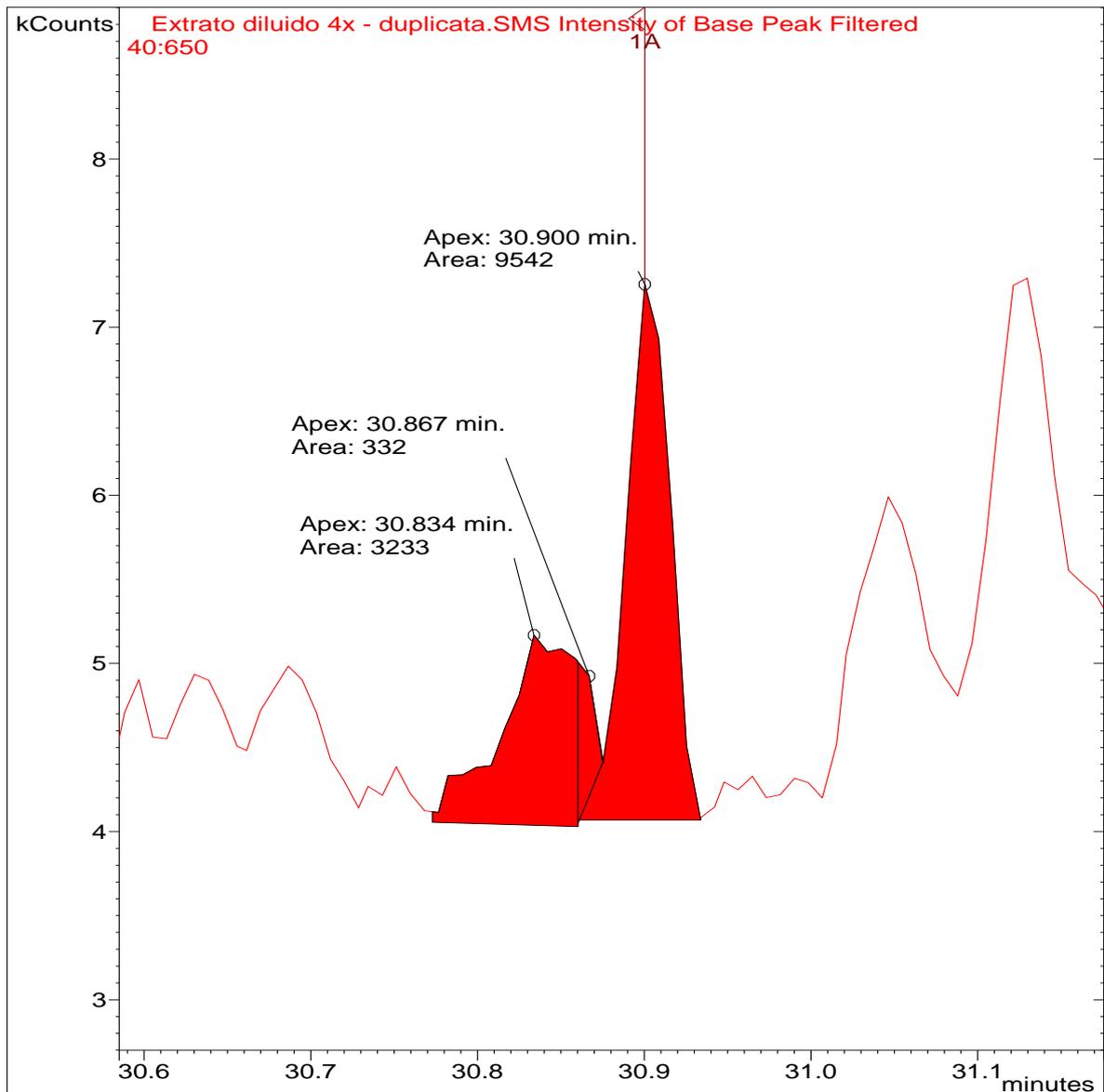


Figura 22. Integração da área do pico de interesse e suas redondezas na duplicata do ensaio de recuperação.

A área obtida, de metodologia análoga ao realizado na Figura 23, foi de 9542. Com estes valores e a equação da reta da Figura 19 transcrita como Equação 6.

$$y = 10^{-04x} - 0,8096$$

Equação 6. Regressão linear da análise de recuperação do *surrogate*

A equação já organizada em termos de y pode calcular a concentração de decaclorobifenila naquela amostra pela adição de x que é a área obtidas nas Figuras 23 e 24 conforme Quadro 2.

Valor do comando "=intersepção"	9,84E-05
valor do comando "=inclinação"	-809581567
[(Área . Inclinação) + intercepção]	
Área ensaio recuperação	9367
Área duplicata ensaio recuperação	9542
Concentração ensaio	0,112142
Concentração duplicata ensaio	0,129362
Massa de <i>surrogate</i> utilizada na contaminação (mg)	
0,13 mg	
Massa recuperada (mg)	
Ensaio	0,112
Duplicata	0,129
Porcentagem recuperada (%)	
Ensaio	84,61
Duplicata	99,23

Quadro 2. Dados do ensaio de recuperação do *surrogate* pela extração com Hexano:Propanona [1:1] em ultrassom

5.6 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO LODO

O lodo de esgoto foi caracterizado em ensaios físico-químicos no Laboratório de Solos da UTFPR/PB utilizando metodologia de análise específica de solos. Foram avaliados pH, Carbono, Nitrogênio (nitrito), Fósforo, Cálcio e Magnésio conforme Tabela

Tabela 6. Caracterização físico-química do lodo

Parâmetro Analisado		Concentração obtida
pH	---	8,560
C (Carbono)	(g.Kg ⁻¹)	132,00
N - NO ₃	(mg.Kg ⁻¹)	682,00
P total (Fósforo)	%	7,300
Ca (Cálcio)	%	173,000
Mg (Magnésio)	%	1,210

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O coeficiente de correlação linear (0,9945) apresentou valor acima e igual ao indicado pelo INMETRO (0,90) e ANVISA (0,99). Portanto, a amostra a ser analisada pode ser preparada em hexano e 1 μL injetada no modo splitless utilizando gás de arraste Hélio à uma vazão de 1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ com temperatura inicial de 100 °C evoluindo até 300 °C numa corrida de 44 minutos.

As recuperações obtidas de 84 e 99 % para os ensaios evidenciam que o processo está calibrado e é preciso. Entretanto, é encorajada a continuidade do trabalho com a aplicação da metodologia de extração para heptacloro do lodo estabilizado utilizando a metodologia construída neste trabalho para a injeção e análise.

REFERÊNCIAS

- ACPO. **Associação de Combate aos POPs**. Poluição e Contaminação, 2003. Disponível em <<http://www.acpo.org.br>>. Acesso em 23 set. 2011, 11:58.
- AGUSTINI, Diane.; ONOFRE, Sideney Becker. Caracterização físico-química e microbiológica do lodo de esgoto produzido pela estação de tratamento de esgoto (ete) de Pato Branco - PR. **Revista de Biologia e Saúde da UNISEP**: Dois Vizinhos, 8 f, n 1.Fev 2007. Disponível em <http://www.sumarios.org/sites/default/files/pdfs/24046_3028.pdf>. Acesso em 26 out. 2011, 22:30.
- AISSE, Miguel Mansur. **Aspectos tecnológicos e de processos**. In Reciclagem de biossólidos: transformando problemas em soluções. Curitiba: SANEPAR 1999.
- ANDREOLI, Cleverson D. **Disposição do lodo no solo**. In Lodo de esgoto: tratamento e disposição final. Curitiba:SANEPAR, 2001.
- ANVISA. **Resolução nº 899/2003**. Validação de métodos bioanalíticos. Brasília, DF, 2003. Disponível em <[http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/RE_899_validacao .pdf](http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/RE_899_validacao.pdf)> . Acesso em 02 nov. 2011, 19:30.
- ANVISA. **Portaria nº 329, 02 de setembro de 1985**: Proíbe a comercialização, uso e distribuição de produtos agrotóxicos organoclorados destinados à agropecuária. Brasília, DF 02 de set. 1985. Disponível em <[http://www.anvisa.gov.br/legis/ portarias/329_85.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/329_85.htm)>. Acesso em 27 out. 2011, 19:42.
- BARBOSA, Luiz Claudio De Almeida. **Os pesticidas, o homem e o meio ambiente**. Viçosa: UFV, 2004.
- BARROS, Cleide Bassani. Validação de métodos analíticos. **Biológico**. São Paulo, v.64, n.2, p.175-177, jul./dez., 2002. Disponível em < [http://www.biologico.sp.gov.br /docs/bio/ v64_2/barros.pdf](http://www.biologico.sp.gov.br/docs/bio/v64_2/barros.pdf)>. Acesso em 23 out. 2011, 18:28.
- BONNET, Barbara Rocha Pinto. **Indicadores bilógicos de qualidade sanitária do lodo de esgoto**. In Manual de métodos para análises microbiológicas e parasitológicas em reciclagem agrícola de lodo de esgoto. Curitiba: SANEPAR, 2000
- BRASIL. Portaria MS n.º 518/2004. Série E. Legislação de Saúde. **Ministério da Saúde**. Brasília, DF, 2005 <[http://www.abessp.org.br/arquivos/portaria_518_2004 .pdf](http://www.abessp.org.br/arquivos/portaria_518_2004.pdf)>. Acesso em 28 out. 2011, 19:15.
- CLARK, M.J.R. **British Columbia field sampling manual**: water, air and climate change branch, ministry of water, land and air protection. Victoria: BC, 2003. Disponível em < http://www.env.gov.bc.ca/epd/wamr/labsys/field_man_pdfs/fld_man_03.pdf >. Acesso em 26 out. 2011, 23:52.

CONAMA. Resolução Nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE**. Brasília, DF, 17 mar. 2005. Disponível em <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>. Acesso em 20 ou. 2011, 20:15.

CETSB. **Aldrin, Dieldrin e Edrin**: valores de referência de toxicidade Para a saúde humana. São Paulo: CETSB, 2008.

ANJOS, Gisele Corrêa dos. **Qualidade da água freática e do solo na área desativada de uma fábrica de imunizantes para madeira - Ananindeua/PA**. 2005, 155 f. Dissertação (Mestrado em Geologia e Geoquímica) - Centro de Geociências Universidade Federal do Pará. Disponível em <http://www.cprm.gov.br/publique/media/mestra_gisele_anjos.pdf>. Acesso em 18 nov. 2011, 19:50.

EPA. **Method 3540 C: Soxhlet Extraction**. Washington, DC:U.S.Environmental Protection Agency. 8 p. December 1996. Disponível em: <<http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/pdfs/3540c.pdf>> Acesso em: 20/09/2011, 13:18.

EPA. **Method 8081 B: Organochlorine pesticides by Gas Chromatography**. Washington,DC:U.S.Environmental Protection Agency. 50 p. Jan. 1998. Disponível em: <<http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/pdfs/8081b.pdf>> Acesso em: 20/09/2011, 14:15.

EPA. **Method 3550 C: Ultrasonic Extraction**. Washington, DC:U.S.Environmental Protection Agency. 16 p. Nov. 2000. Disponível em: <<http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/pdfs/3550c.pdf>> Acesso em: 20/09/2011, 15:30.

FELIX, Fabiane F.; NAVICKIENE, Sandro.; DÓREA, Haroldo S. Poluentes orgânicos persistentes (POPs) como indicadores da qualidade dos solos. **Revista da Fapese**.São Paulo, v.3, n. 2, p. 39-62, jul./dez. 2007. Disponível em < http://www.fapese.org.br/revista_fapese/v3n2/artigo4.pdf>. Acesso em 30 out. 2011, 21:52

GAD, Shayne Cox. **Pharmaceutical manufacturing handbook**: regulations and quality. New Jersey: WILEY, 2008.

INMETRO. DOQ-CGCRE-0082003. Orientação sobre validação de métodos analíticos. **Coordenação Geral de Acreditação**. São Paulo, SP, fev. 2010. Disponível em <http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGC RE-8_03.pdf>. Acesso em 20 out. 2011, 18:40.

JARDIM, Isabel C. S. F.; RIBANI, Marcelo.; COLLINS, Carol H.; et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Quim. Nova**, Vol. 27, No. 5, 2004. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v27n5/a17v27n5.pdf>>. Acesso em 18 out. 2011, 23:45.

JONES, K. C.; VOOGT, P. de. Persistent organic pollutants (POPs): state of the science. **Environmental Pollution**. v 100,n 1, mar. 1999. Disponível em < <http://data2.xjlas.accn:81/UploadFiles/sdz/cnki/%E5%A4%96%E6%96%87/ELSEVIER/evirontmental%20risk%20assessment/122.pdf>>. Acesso em 04 nov. 2011, 17:45.

KEGLEY, S.E., Hill, B.R., Orme S., Choi A.H., PAN Pesticide Database, Pesticide Action Network, North America (San Francisco, CA, 2010), <http://www.pesticideinfo.org>.

LANÇAS, Fernando M. **Validação de Métodos Cromatográficos de Análise**. São Carlos: Rima, 2004.

LARINI, Lourival. **Toxicologia**. São Paulo: Manole, 1993.

LEITE, Flávio. **Validação em análise química**. Campinas: Átomo, 2008.

MELO, Reinaldo M.; VEIGA, Antônio F. Eficiência do fipronil no controle do cupim de montículo, *Nasutitermes sp.* (Isoptera: Termitidae) em cana-de-açúcar. **An. Soc. Entomol. Bras. [online]**. São Paulo, vol.27, n.1, 1998. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/aseb/v27n1/v27n1a19.pdf>>. Acesso em 28 out. 2011, 19:45.

PEDROZA, Juarez P.; HAANDEL, Adrianus C. van; BELTRAO, Napoleão E. de M.; DIONISIO, Jair A.. Produção e componentes do algodoeiro herbáceo em função da aplicação de biossólidos. **Rev. bras. eng. agríc. ambient. [online]**. São Paulo, vol.7, n.3, 2003. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/rbeaa/v7n3/v7n3a13.pdf>>. Acesso em 08 set. 2011, 01:30.

SAITO, Maria Lúcia. **O uso do lodo de esgoto na agricultura: precauções com os contaminantes orgânicos**. Jaguariúna: Embrapa, 2007.

SPERLING, Marcos Von. Lodo de esgoto: características e produção. In: **Lodo de esgoto: tratamento e disposição final**. Curitiba: SANEPAR, 2001.

SKOOG, Douglas A; West; Holler et al. **Fundamentos de química analítica**. São Paulo: Thomson Learning, 2008.

WHITMAN, John.; DAVIES, Vitoria.; HARLAND, Mike.; et al. **Dicionário COLLINS: inglês-português, português-inglês**. São Paulo: Martins Fontes, 2012.

YOGUI, Gilvan Takeshi. **Ocorrência de compostos organoclorados (pesticidas e PBC's) em mamíferos marinhos da costa de São Paulo (Brasil) e da Ilha Rei George (Antártica)**. 2002. 157 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002. Disponível em <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/21/21133/tde-17032002-115002/publico/Yogui2002.pdf>>. Acesso em 20 out. 2011, 19:18.

ZEITOUNI, Rafael de Freitas. **Análise crítica da norma CETESB p 4.230 – “aplicação de lodos de sistemas de tratamento biológico em áreas agrícolas – critérios para projeto e operação”**. 2005, 267 f. Dissertação (Mestre em Agricultura Tropical e Subtropical – Área de Concentração em Gestão dos Recursos Agroambientais.) – Instituto Agronômico de Campinas. Campinas, 2005. Disponível em <<http://www.iac.sp.gov.br/PosIAC/pdf/pb1803603.pdf>>. Acesso em 18 out. 2011, 19:24.

ZIGLIO, L., COMEGNA, M.. Segurança química no Brasil: as convenções de roterdã e estocolmo. **Estudos Geográficos: Revista Eletrônica de Geografia**, Brasil, 2, abr. 2007. Disponível em <<http://www.periodicos.rc.biblioteca.unesp.br/index.php/estgeo/article/view/250/206>>. Acesso em: 2 nov. 2011, 17:52.