



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

Tese de Doutorado

**DETERMINAÇÃO DE ÍONS METÁLICOS EM MOLUSCOS
BIVALVES DO MANGUEZAL DA REGIÃO PETROLÍFERA DE
SÃO FRANCISCO DO CONDE – RECÔNCAVO BAIANO**

Aluna: RITA MARIA WESTE NANO CARVALHO

Orientadora: Profa. Dra. SOLANGE CADORE

Co-Orientador: Prof. Dr. SÉRGIO LUÍS COSTA FERREIRA

Campinas – São Paulo

Agosto de 2006

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE
QUÍMICA DA UNICAMP**

C253d Carvalho, Rita Maria Weste Nano.
 Determinação de íons metálicos em moluscos
 bivalves do manguezal da região petrolífera de São
 Francisco do Conde Mangrove - Recôncavo Baiano /
 Rita Maria Weste Nano Carvalho. -- Campinas, SP:
 [s.n] , 2006.

 Orientadora: Solange Cadore
 Co-Orientador: Sérgio Luís Costa Ferreira
 Tese - Universidade Estadual de Campinas,
 Instituto de Química.

 1. Moluscos bivalves. 2. Íons metálicos.
 3. Planejamento experimental de misturas. 4. ICP
 OES. I. Cadore, Solange. II. Universidade Estadual
 de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Título em inglês: Determination of metallic ions in bivalve molluscs from the petroliferous region of São Francisco do Conde Mangrove - Recôncavo Baiano

Palavras-chaves em inglês: Mollusc bivalves, Metallic ions, Experimental of mixtures design, ICP OES

Área de concentração: Química Analítica

Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora: Solange Cadore (orientadora), Antônio Fernando de Souza Queiroz, Ricardo Erthal Santelli, Célio Pasquini, Carol Holligworth Collins

Data de defesa: 25/08/2006

BANCA EXAMINADORA

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual de Campinas, como requisito para obtenção do **Título de Doutor em Ciências**, Área de Concentração: Química Analítica.

DEDICATÓRIA

Ao meu marido Sérgio (*in memoriam*)
Com seu amor, amizade, companhia e paciência
Incentivou-me a iniciar este trabalho.
Aos meus filhos Luís Henrique e Rodrigo
Pela compreensão, apoio e paciência

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus, pela presença sempre constante na minha vida;

A minha família que me apoiou em todas as etapas da minha vida;

Ao Centro Federal de Educação Tecnológica da Bahia (CEFETBA), pela licença concedida que permitiu o desenvolvimento deste trabalho;

A FINEP-CTPETRO-CNPq-PETROBRAS, pelo apoio financeiro no âmbito dos Projetos MANGUESFC e Rede RECUPETRO;

À Profa Dra Solange Cadore, pela oportunidade em realizar este Projeto, pela orientação e apoio;

Ao Prof. Dr. Sérgio Luís Costa Ferreira, pelo incentivo e sugestões;

Ao Prof. Dr. Nivaldo Baccan, pela atenção e pelas valorosas discussões e por colaborar com a realização deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Roy E. Bruns pelo apoio e esclarecimentos relacionados à parte de planejamento experimental;

Ao Dr. Antônio Fernando de Souza Queiroz, agradeço todo o apoio e incentivo recebido;

A Dra. Olívia Maria Cordeiro Oliveira, amiga em tempo integral, agradeço todo o apoio e incentivo recebido;

Ao Químico Rui Lorenzo Garcia, amigo de todas as horas pelas discussões e apoio ao longo deste trabalho;

Aos amigos Terezinha, Gaiola e Raquel pela amizade, carinho, acolhida e apoio nos momentos difíceis.

Aos meus “quase” filhos Rafael, Gisele e Greice pela amizade e colaboração durante a realização deste trabalho;

Aos amigos e incentivadores do Núcleo de Estudos Ambientais (NEA) / IGEO/ UFBA, Elinaldo Sales, Jorge Palma, Karina dos Santos Garcia, Cássia Onofre, Taíse Bonfim pela amizade e ajuda nos trabalhos de laboratório e campo;

Aos técnicos do IQ/UNICAMP, Paulo e Helena, pela assistência, sempre com otimismo e boa vontade;

Aos amigos, que muito contribuíram: João Lamarck Argôlo, Vanice Silva Fontes, Cícero Gonçalves da Silva, Izabel Biasi, Célia Gomes, Betânia, enfim, a todos aqueles, mesmo não citados, mas que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

CURRICULUM VITAE

1- FORMAÇÃO ACADÊMICA

Mestrado em Química Analítica

Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia
Período: 1989/1995
Local: Salvador-Bahia.

Especialização em Química Analítica

Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia
Período: 2º semestre de 1981 a 2º semestre de 1982
Duração: 360 horas
Local: Salvador-Bahia.

Bacharelado em Química

Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia
Período: 1983/1987
Local: Salvador-Bahia.

2- ATIVIDADES PROFISSIONAIS

Química do Departamento de Geoquímica do Instituto de Geociências da Universidade Federal da Bahia, período de abril de 1980 até setembro de 1999.

Professora do Centro Federal de Educação Tecnológica da Bahia (CEFETBA) de 1984 até a presente data.

Professora participante do Curso de Pós-Graduação em Geoquímica e Meio Ambiente da Universidade Federal da Bahia - Mestrado, a partir do 1º semestre de 2000 até a presente data.

3 - TRABALHOS PUBLICADOS EM REVISTAS INDEXADAS

NANO, R.M.W. ; OLIVEIRA, O.M.C. de; MELO JR., G; MAIA, D.; GARCIA, K.S..
Avaliação geoquímica de metais em sedimento de manguezal do sul do estado da Bahia no trecho entre a ilha de Tinharé e a Baía de Camamu (Artigo Submetido). Revista Geoquímica Brasiliensis, 2006.

MELO JR., G ; OLIVEIRA, O.M.C. de; MAIA, D.; NANO, R.M.W.; GARCIA, K.S.; COSTA, C. E.F.S. . **Metais e hidrocarbonetos em águas marinhas da plataforma continental adjacente à Baía de Camamu (BA)** (Artigo Submetido). Revista Geoquímica Brasiliensis, 2006.

QUEIROZ, A.F. de S.; OLIVEIRA, O.M.C. de; REITERMAJER, D.; ARGÔLO, J.L.; NANO, R.M.W. ; VIANA, J.C. **Heavy metals distribution in the substratum of mangrove in the Sauípe River estuarine area, north seashore of the Bahia State, Brazil** (SUBMETIDO). Geochimica Brasiliensis, 2005.

Queiroz, A F.S.; Ramos, A J.A; Nano, R.M.W.; Argôlo, J.L.; Villas-Bôas, R.C.-1998. **Diagnóstico Geoambiental da Bacia Hidrográfica do Rio Itapicuru (BA): subsídio para um gerenciamento ambiental adequado**. Revista Escola de Minas – REM, v. 51, n.4, 51-54, 1998.

4 - TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS/SEMINÁRIOS

NANO, R. M. W.; SOUSA, R. A.; FERREIRA, S. L. C.; BACCAN, N.; CADORE, S. **Determinação de Espécies Inorgânicas em Moluscos Bivalves**, 13º Encontro Nacional de Química Analítica e 1º Congresso Ibero-Americano de Química Analítica, Niterói – RJ, 2005.

NANO, R. M W, CADORE, S., FERREIRA, S. L. C., QUEIROZ, A. F. DE S., GARCIA, R. J. L. **Desenvolvimento de Método de Digestão Alternativo para Determinação de Íons Metálicos em Moluscos Bivalves**, 1º Congresso Internacional Piatam, Manaus – AM, 2005.

NANO, R. M. W., CADORE, S., FERREIRA, S. L. C., QUEIROZ, A. F. DE S., GARCIA, R. J. L. **Estudo de Método de Decomposição para Determinar Macro e Microconstituintes em Moluscos Bivalves Utilizando Planejamento Experimental Simplex-Centróide** In: 1º Congresso Internacional Piatam, Manaus – AM, 2005.

NANO, R. M. W.; OLIVEIRA, O.M.C.; MELO JR, G.; MAIA, D.B.M. **Environmental Geochemistry of Mangrove Sediments from Southern Coast of Bahia State, Brazil**, 4th International Symposium Geochemistry in Tropical Countries, Búzios – RJ, 2004.

MELO JR, G.; NANO, R. M. W.; OLIVEIRA, O.M.C.; MAIA, D.B.M. **Environmental Geochemistry of Marine Sediments from the Southern Coast of Bahia State, Brazil**, 4th International Symposium Geochemistry in Tropical Countries, Búzios – RJ, 2004.

NANO, R. M. W.; OLIVEIRA, O.M.C.; MELO JR, G.; MAIA, D.B.M. **Levantamento Geoquímico em Sedimentos de Manguezal do Litoral Sul do Estado da Bahia - Trecho entre a Ilha de Tinharé e a Península de Maraúl**, VIII Congresso Brasileiro de Ecotoxicologia, Florianópolis – SC, 2004.

RESUMO

A poluição dos mares, baías e estuários provocada pela emissão de efluentes industriais e residenciais contendo íons metálicos é um dos principais fatores que favorece a contaminação dos moluscos bivalves. Esses organismos sofrem de maneira intensa a bioacumulação de íons metálicos, mesmo em baixas concentrações, tornando-se muitas vezes impróprios para o consumo humano e, além disso, podem refletir o grau de contaminação ambiental.

Métodos de digestão com aquecimento assistido por microondas (MW) e com bloco digestor (BD) foram desenvolvidos para a determinação de íons metálicos em tecido de moluscos bivalves, por Espectrometria de Emissão Óptica em Plasma com Acoplamento Indutivo (ICP OES). Um planejamento de misturas do tipo simplex-centróide foi utilizado para estudar o efeito dos reagentes HNO_3 , HCl e H_2O_2 nos dois métodos. A análise de material de referência certificado de tecido de ostra (SRM 1566b - NIST) em condições instrumentais otimizadas e nos comprimentos de onda selecionados, apresentaram recuperação dos íons estudados entre 90 - 105%, para o método de digestão com aquecimento assistido por MW, e entre 90 - 100% para o método de digestão com aquecimento no BD. A eficiência das digestões foi avaliada pela determinação do carbono orgânico total (TOC) presente na solução, obtendo-se uma variação de 0,05 a 0,64%. A acidez das soluções variaram de 1,3 a 5,6% sendo que as soluções provenientes da digestão em forno de MW apresentaram menores valores comparados com a decomposição no bloco digestor. Usando o modelamento de misturas foi possível ajustar modelos matemáticos e determinar a composição adequada da mistura HCl - HNO_3 - H_2O_2 para a decomposição de tecidos de moluscos bivalves. As proporções dos componentes foram 0,333: 0,333: 0,334 e 0,200: 0,200: 0,600 para digestão assistida por microondas e em bloco digestor, respectivamente.

Os métodos empregados permitiram determinar macro e microconstituintes em tecidos de moluscos, constituindo-se em importantes ferramentas a serem empregadas para a solução de problemas ambientais.

ABSTRACT

The pollution of oceans, bays and estuaries as a result of industrial and domestic effluents that contain metallic ions is one of the most important factors that lead to the contamination of bivalve molluscs. These organisms are greatly affected by the bioaccumulation of inorganic species, even at low concentrations, reflecting the environmental contamination level. Under these conditions the ingestion of this kind of food is not recommended.

Digestion methods based on heating in a microwave oven (MW) or with a digester block (BD) for the subsequent determination of metallic ions in bivalve tissues by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP OES) were developed. Mixtures planned using a simplex-centroide program were used to study the effect of the reagents HNO_3 , HCl e H_2O_2 in both methods. The analysis of a certified reference material of oyster tissue (SEM 1566b – NIST) under the optimized instrumental conditions at the selected wavelengths showed recoveries of 90 -105%, for digestion by MW and of 90 -100%, for digestion by BD. The efficiency of digestion was evaluated by the determination of total organic carbon (TOC) remaining in the solution and values between 0.05 and 0.64% were obtained. The digestion using MW heating showed lower values compared with BD decomposition. Using the modelling of the mixtures it was possible to determine the most adequate composition of HCl - HNO_3 - H_2O_2 mixture for the decomposition of bivalve mollusc tissues. The ratios of mixtures were: 0.333:0.333:0.334, for MW digestion and 0.200:0.200:0.600 for BD digestion.

The developed methods allowed the determination of macro and microconstituents in mollusc tissues and are important tools for environmental studies.

Sumário

LISTA DE ABREVIATURAS.....	xviii
LISTA DE TABELAS	xx
LISTA DE FIGURAS.....	xxiii
1. INTRODUÇÃO	1
2. JUSTIFICATIVA.....	3
3. OBJETIVO	5
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
4.1. A Baía de Todos os Santos e as Atividades Petrolíferas no Recôncavo Baiano	6
4.1.1. Localização da área de estudo.....	6
4.1.2. Atividades petrolíferas e o meio ambiente no Recôncavo Baiano.....	7
4.2. O Ecossistema Manguezal.....	9
4.3. Moluscos Bivalves.....	12
4.3.1. Moluscos bivalves como alimento	14
4.3.2. Moluscos bivalves como bioindicadores de poluição	15
4.4. Decomposição de Materiais Biológicos.....	18
4.5. Características dos Elementos Químicos e seus Efeitos	21
4.5.1. Arsênio (As).....	22
4.5.2. Cádmio (Cd)	22
4.5.3. Chumbo (Pb).....	23
4.5.4. Cobre (Cu).....	23
4.5.5. Cromo (Cr)	24
4.5.6. Manganês (Mn)	24
4.5.7. Níquel (Ni).....	24

4.5.8. Selênio (Se).....	25
4.5.9. Zinco (Zn)	25
4.6. Planejamento Experimental de Misturas	26
4.7. Espectrometria de Emissão Óptica em Plasma com Acoplamento Indutivo (ICP OES)	33
5. MATERIAIS E MÉTODOS	38
5.1. Reagentes e Soluções	38
5.2. Planejamento Experimental de Misturas	38
5.2.1. Estudo do sistema composto HCl – HNO ₃ - H ₂ O ₂ utilizando um planejamento simplex-centróide.....	38
5.2.2. Digestão do material certificado de referência	40
5.2.2.1. Digestão com aquecimento assistido por microondas.....	41
5.2.2.2. Digestão com aquecimento em bloco digestor.....	42
5.2.3. Determinação do carbono orgânico total (TOC) nas soluções	43
5.2.4. Determinação da acidez nas soluções.....	44
5.2.5. Seleção do comprimento de onda	44
5.2.6. Estudo de adição e recuperação de analitos	45
5.3. Avaliação do Desempenho Analítico do ICP OES	46
5.4. Figuras de Mérito	48
5.5. Coleta e Biometria das Amostras de Moluscos Bivalves.....	49
5.6. Estudo da Exatidão e Comparação entre os Métodos de Digestão	52
5.7. Digestão dos Indivíduos de <i>Annomalocardia brasiliiana</i>	53
5.8. Determinação da Umidade nas amostras	54
5.9. Estudo de Interferentes e Adição do Padrão Interno.....	55
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
6.1. Planejamento Experimental de Misturas	56
6.1.1. Determinação do carbono orgânico total (TOC) nas soluções.....	56
6.1.2. Determinação da acidez nas soluções.....	58
6.1.3. Seleção de comprimento de onda.....	59

6.1.4. Estudo do sistema composto HCl - HNO ₃ - H ₂ O ₂ utilizando um planejamento simplex-centróide	60
6.1.5. Determinação da melhor composição para o sistema HCl-HNO ₃ -H ₂ O ₂	67
6.1.6. Estudo de adição e recuperação de analitos.....	74
6.2. Avaliação do Desempenho Analítico do Espectrômetro.....	75
6.2.1. Efeito da potência de radiofrequência.	75
6.2.2.Efeito da vazão de nebulização.....	78
6.3. Figuras de Mérito	81
6.3.1. Concentração equivalente do background	82
6.3.2. Limite de detecção e limite de quantificação	83
6.4. Estudo de Interferentes	87
6.5. Comparação entre os Métodos de Digestão	89
6.6. Aplicação dos Métodos de Digestão em <i>Anomalocardia brasiliiana</i>	93
7. CONCLUSÕES	97
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100
9. ANEXO A - Resultados da ANOVA para a modelagem do planejamento..	111
10. ANEXO B - Superfície de resposta dos modelos para o aquecimento em BD123	
11. ANEXO C - Comparação entre métodos de digestão.....	135
12. ANEXO D – Biometria, sexo e massa dos indivíduos	145
13. ANEXO E - Concentração dos íons metálicos nos indivíduos	153
14. ANEXO F – Comparação da acumulação de íons metálicos entre indivíduos machos e fêmeas coletados	167

LISTA DE ABREVIATURAS

BD: Bloco digestor;

BEC: Background Equivalent Concentration (Concentração Equivalente de Fundo);

b_i: Coeficientes da equação

BTS: Baía de Todos os Santos;

CETESB: Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental;

CNPq: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico;

CONAMA: Conselho Nacional de Meio Ambiente;

CRA: Centro de Recursos Ambientais do Estado da Bahia

CTPETRO: Fundo Setorial do Petróleo e Gás Natural;

EIE: Elementos facilmente ionizáveis;

ETAAS: Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry (espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica);

FAAS: Flame Atomic Absorption Spectrometry (espectrometria de absorção atômica por chama);

FINEP: Financiadora de Estudos e Projetos;

GFAAS: Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (espectrometria de absorção atômica por forno de grafite);

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística;

ICP OES: Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (Espectrometria de Emissão Óptica em Plasma com Acoplamento Indutivo);

ICP-MS: Inductively Coupled Plasma Mass Spectroscopy (Espectrometria de Massas com Fonte de Plasma);

IGEO: Instituto de Geociências;

kW: Potência expressa em kilowatts;

L: Somatória dos limites inferiores;

L_i: Limite inferior;

LOD: Limite de detecção;

LOQ: Limite de quantificação;

MHz: Freqüência da onda expressa em megahertz;

MW: Radiação de microonda;

NEA: Núcleo de Estudos Ambientais;

NIST: National Institute of Standards and Technology;

PETROBRAS: Petróleo Brasileiro S.A.;

PIB: Produto Interno Bruto;

PROAMB: Protocolos de Avaliação e Recuperação de Ambientes Impactados por Atividades Petrolífera;

q: Número de componentes na mistura;

RECUPETRO: Rede Corporativa em Recuperação de Áreas Contaminadas por Atividades Petrolíferas;

RF: Rádio frequência;

RSD: Relative Standard Deviation (Desvio Padrão Relativo);

SBR: Signal to Background Ratio (Razão Sinal/Ruído);

S_i: Limite superior;

SRM: do inglês Standard Reference Material (material de referência certificado);

TEMADRE: Terminal Marítimo Almirante Alves Câmara;

TOC: Total Organic Carbon (Carbono Orgânico Total);

TRANSPETRO: Petrobras Transporte S.A.;

UCSal: Universidade Católica de Salvador;

UFAL: Universidade Federal de Alagoas;

UFBA: Universidade Federal da Bahia;

UFC: Universidade Federal do Ceará;

USEPA: U.S. Environmental Protection Agency;

x_i: Proporção dos componentes na mistura;

X_i: Proporção dos pseudocomponentes na mistura;

Y_i: Variável resposta do modelo

LISTA DE TABELAS

TABELA 01 - Composição fracionária dos componentes na mistura HCl - HNO ₃ - H ₂ O ₂	39
TABELA 02 - Composição dos pseudocomponentes na mistura HCl - HNO ₃ - H ₂ O ₂	40
TABELA 03 - Concentração (mg kg ⁻¹) dos principais constituintes do material certificado de referência (1556b-NIST).	41
TABELA 04 - Volumes da mistura utilizada no planejamento	42
TABELA 05 - Programa de aquecimento utilizado no forno de MW.....	42
TABELA 06 - Linhas espectrais estudadas	45
TABELA 07 - Parâmetros instrumentais do ICP OES.	47
TABELA 08 - Coordenadas geográficas das estações de amostragem.....	50
TABELA 09 - Concentração de carbono orgânico total (TOC).	57
TABELA 10 - Acidez das soluções resultantes do planejamento de mistura.	59
TABELA 11 - Comprimentos de onda selecionados.	60
TABELA 12 - Recuperação (%) de Al para o planejamento de misturas HCl - HNO ₃ - H ₂ O ₂ , (P= 1,4 kW ; V _{neb} = 0,6 L min ⁻¹).	61
TABELA 13 - Recuperação (%) de As para o planejamento de misturas HCl - HNO ₃ - H ₂ O ₂ , (P= 1,4 kW ; V _{neb} = 0,6 L min ⁻¹).	61
TABELA 14 - Recuperação (%) de Ba para o planejamento de misturas HCl - HNO ₃ - H ₂ O ₂ , (P= 1,4 kW ; V _{neb} = 0,6 L min ⁻¹)	62
TABELA 15 - Recuperação (%) de Ca para o planejamento de misturas HCl - HNO ₃ - H ₂ O ₂ , (P= 1,4 kW ; V _{neb} = 0,6 L min ⁻¹)	62
TABELA 16 - Recuperação (%) de Cd para o planejamento de misturas HCl - HNO ₃ - H ₂ O ₂ , (P= 1,4 kW ; V _{neb} = 0,6 L min ⁻¹)	63
TABELA 17 - Recuperação (%) de Co para o planejamento de misturas HCl - HNO ₃ - H ₂ O ₂ , (P= 1,4 kW ; V _{neb} = 0,6 L min ⁻¹)	63
TABELA 18 - Recuperação (%) de Cu para o planejamento de misturas HCl - HNO ₃ - H ₂ O ₂ , (P= 1,4 kW ; V _{neb} = 0,6 L min ⁻¹)	64

TABELA 19 - Recuperação (%) de Fe para o planejamento de misturas HCl - HNO ₃ - H ₂ O ₂ , (P= 1,4 kW ; V _{neb} = 0,6 L min ⁻¹)	64
TABELA 20 - Recuperação (%) de Mg para o planejamento de misturas HCl - HNO ₃ - H ₂ O ₂ , (P= 1,4 kW ; V _{neb} = 0,6 L min ⁻¹)	65
TABELA 21 - Recuperação (%) de Mn para o planejamento de misturas HCl - HNO ₃ - H ₂ O ₂ , (P= 1,4 kW ; V _{neb} = 0,6 L min ⁻¹)	65
TABELA 22 - Recuperação (%) de V para o planejamento de misturas HCl - HNO ₃ - H ₂ O ₂ , (P= 1,4 kW ; V _{neb} = 0,6 L min ⁻¹)	66
TABELA 23 - Recuperação (%) de Zn para o planejamento de misturas HCl - HNO ₃ - H ₂ O ₂ , (P= 1,4 kW ; V _{neb} = 0,6 L min ⁻¹)	66
TABELA 24 - Avaliação dos modelos para a digestão com aquecimento em MW utilizando o sistema ternário HCl - HNO ₃ - H ₂ O ₂	69
TABELA 25 - Avaliação dos modelos para a digestão com aquecimento em BD utilizando o sistema ternário HCl - HNO ₃ - H ₂ O ₂	71
TABELA 26 - Proporções dos componentes e volumes do sistema HCl - HNO ₃ - H ₂ O ₂ para a digestão com aquecimento em BD.....	72
TABELA 27 – Estudo de adição e recuperação de analitos P = 1,4 kW; V _{neb} = 0,6 L min ⁻¹	75
TABELA 28 - Concentração Equivalente do Background (BEC) para digestão em MW e BD, em µg mL ⁻¹ . Condições instrumentais: P =1,4 kW, V = 0,8 L min ⁻¹	83
TABELA 29 - Limites de detecção para digestão em MW e BD, em µg mL ⁻¹ . Condições instrumentais: P =1,4 kW, V = 0,8 L min ⁻¹	84
TABELA 30 - Limites de quantificação para digestão em MW e BD, em µg mL ⁻¹ . Condições instrumentais: P =1,4 kW, V = 0,8 L min ⁻¹	86
TABELA 31 - Estudo de interferentes com e sem adição de padrão interno. Condições instrumentais: P =1,4 kW, V = 0,8 L min ⁻¹	89
TABELA 32 - Comparação entre os métodos de digestão no material certificado. Condições instrumentais: P =1,4 kW, V = 0,8 L min ⁻¹ ...	91

TABELA 33 -Concentrações médias e valores mínimos e máximos dos indivíduos de <i>Anomalocardia brasiliiana</i> utilizando o método de digestão com aquecimento em BD. Condições instrumentais: P =1,4 kW, V = 0,8 L min ⁻¹	95
---	----

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01 - Mapa de localização da Baía de Todos os Santos – Bahia - Brasil.	7
FIGURA 02 - Moluscos bivalves: a) formas, b) valvas	13
FIGURA 03 - Espaço experimental para três fatores independentes (cubo) e mistura de três componentes (triângulo).....	28
FIGURA 04 - Superfície de resposta de um modelo quadrático de uma mistura de três componentes, visão tridimensional.	30
FIGURA 05 - Curvas de nível do modelo quadrático de uma mistura de três componentes.	31
FIGURA 06 – Plasma acoplado indutivamente.	34
FIGURA 07 - Representação esquemática do planejamento simplex-centróide para o sistema ternário HCl – HNO ₃ - H ₂ O ₂	39
FIGURA 08 - Digestão em bloco digestor e refluxo com dedo frio.	43
FIGURA 09 - Remoção do sedimento para coleta de <i>Anomalocardia brasiliiana</i> ..	50
FIGURA 10 - Coleta de <i>Anomalocardia brasiliiana</i>	51
FIGURA 11 - Medida do comprimento da concha.....	52
FIGURA 12 - Concha aberta para retirar o tecido mole.	52
FIGURA 13 - Estudo da relação entre a recuperação dos elementos e o n° do experimento do planejamento de misturas para digestão em forno de MW	70
FIGURA 14 - Estudo da melhor composição para o sistema HCl - HNO ₃ - H ₂ O ₂ para digestão em forno de MW.....	70
FIGURA 15 - Estudo da relação entre a recuperação dos elementos e n° do experimento do planejamento de misturas para digestão em BD.....	73
FIGURA 16 - Estudo da melhor composição para o sistema HCl - HNO ₃ - H ₂ O ₂ para digestão em forno de BD.	73
FIGURA 17 - Efeito da potência aplicada empregando a vazão do gás de nebulização de 0,8 L min ⁻¹ e configuração axial (aquecimento em bloco digestor)	76

FIGURA 18 - Efeito da potência aplicada empregando a vazão do gás de nebulização de 0,8 L min ⁻¹ e configuração axial (aquecimento em forno de MW)	77
FIGURA 19 - Efeito da potência aplicada empregando a vazão do gás de nebulização de 0,8 L min ⁻¹ e configuração radial (aquecimento em bloco digestor)	77
FIGURA 20 - Efeito da potência aplicada empregando a vazão do gás de nebulização de 0,8 L min ⁻¹ e configuração radial (aquecimento em forno de MW).....	77
FIGURA 21 - Efeito da potência de radiofrequência aplicada sobre a razão MgII/MgI, vazão de nebulização de 0,8 L min ⁻¹	78
FIGURA 22 - Efeito da vazão do gás de nebulização utilizando potência de 1,4 kW e configuração axial (aquecimento em bloco digestor).....	79
FIGURA 23 - Efeito da vazão do gás de nebulização utilizando potência de 1,4 kW e configuração axial (aquecimento em forno de MW).....	80
FIGURA 24 - Efeito da vazão do gás de nebulização utilizando uma potência de 1,4 kW e configuração radial (aquecimento em bloco digestor)	80
FIGURA 25 - Efeito da vazão do gás de nebulização utilizando uma potência de 1,4 kW e configuração radial (aquecimento em forno de MW)	80
FIGURA 26- Efeito da vazão de nebulização sobre a razão MgII/MgI, potência da radiofrequência de 1,4 kW	81

1. INTRODUÇÃO

Os ambientes marinho e costeiro do Brasil vêm sofrendo nos últimos anos um considerável processo de degradação ambiental, gerado pela crescente pressão sobre os recursos naturais marinhos e continentais e pela capacidade limitada desses ecossistemas absorverem os impactos resultantes. Alteração ou destruição de habitats, alterações na sedimentação e poluição industrial constituem-se nos maiores impactos ambientais na zona costeira brasileira, especialmente em regiões próximas aos grandes centros. Inúmeras baías e estuários estão com seus habitats naturais comprometidos pela poluição e exploração dos recursos naturais (MARINS, 2004; CRA, 2004; KENNISH, 1997).

A região estuarina da Baía de Todos os Santos (BTS) sofre impactos ambientais devido às atividades industriais e centros urbanos em suas margens. Esta baía é constituída por densos manguezais (GERMEN, 1997). O manguezal é um dos ecossistemas mais importantes na cadeia trófica, típico de áreas tropicais e subtropicais, considerado entre os ecossistemas o de maior produtividade do planeta, devido a grande quantidade de matéria orgânica nele gerada e liberada para as águas costeiras na forma de detritos, compondo a base alimentar da fauna e da flora (SCHAEFFER-NOVELLI, 1995).

As regiões de manguezal encontram-se, geralmente, em locais de baixa energia, ocupando substratos cujos sedimentos são pouco arejados, ricos em matéria orgânica, constituindo o habitat natural de diversas espécies que estão adaptadas para esse tipo de ambiente peculiar. Essas condições especiais geram um fluxo de energia e de matéria que favorecem a ocorrência de uma rica fauna marinha, particularmente de moluscos, peixes e crustáceos (SCHAEFFER-NOVELLI, 1995). Dentre esses organismos destacam-se os moluscos bivalves, invertebrados filtradores com ampla distribuição ao longo de praias e de estuários. Através da filtração da água que passa pelo local onde vivem, esses animais retêm pequenas partículas e microorganismos que lhes servem de alimento. O lançamento de resíduos ou dejetos em rios ou mares, mesmo em quantidades reduzidas, pode causar uma lenta acumulação de íons metálicos em organismos e

uma conseqüente biomagnificação. Essas concentrações na cadeia alimentar podem constituir uma ameaça direta para os predadores naturais, inclusive o homem. A população humana alimentando-se de organismos contaminados pode comprometer sua saúde. A maioria desses poluentes é altamente lipofílico e através do metabolismo pode ligar-se às proteínas dos organismos marinhos, entrando na cadeia alimentar em todos os níveis tróficos.

A determinação de elementos químicos em amostras de natureza orgânica ou biológica constitui um grande problema analítico. Normalmente, é necessária a transformação dos elementos de interesse da matriz orgânica em uma forma inorgânica simples e a maioria das técnicas analíticas utilizadas requer que os elementos estejam dissolvidos em uma solução aquosa. Entretanto, a decomposição adequada da amostra, cujos constituintes inorgânicos encontram-se na faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$, deve evitar o risco de contaminação, perdas por volatilização e digestão incompleta, necessitando ainda apresentar reprodutibilidade e baixos limites de detecção e, sempre que possível, ser simples e rápida. Frequentemente, o interesse nessas amostras é a determinação de constituintes presentes em baixas concentrações, devendo-se atentar para interferências causadas pelos constituintes majoritários, como Na, K, Ca, Mg e P (KRUG *et al.*, 2002).

Os ácidos mais utilizados para a decomposição de material biológico são HNO_3 e H_2SO_4 , que podem ser usados individualmente ou combinados com H_2O_2 , pois diferentes propriedades podem ser combinadas para a destruição completa da matéria orgânica (KRUG *et al.*, 2002).

Através do planejamento de mistura simplex-centróide (BARROS NETO *et al.*, 2003) dois métodos de digestão foram estudados, neste trabalho, para a determinação simultânea de macro (Ca, Mg, P, Zn) e micro constituintes (Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Se, V), em amostras de moluscos bivalves, por ICP OES. A exatidão de cada procedimento analítico foi avaliada através da utilização de material de referência certificado (SRM 1566b - NIST).

2. JUSTIFICATIVA

A aplicação de estudos apropriados para zonas de manguezal é uma das metas almejadas por toda a sociedade que conhece a importância da preservação desse ecossistema, principalmente com o intuito de se continuar respeitando a harmonia do homem com a natureza. Para que o controle ambiental se estabeleça, é de suma importância que haja um monitoramento das regiões impactadas, conhecendo-se os agentes causadores da poluição e suas concentrações.

Com o crescimento da tecnologia, dois grupos de substâncias em particular têm um efeito duradouro no balanço natural de sistemas aquáticos: nutrientes, que promovem um crescimento biológico irrestrito e por outro lado provocam depleção de oxigênio; substâncias químicas sintéticas e de descarte, que freqüentemente provocam efeitos adversos no ecossistema aquático.

Outro grupo, igualmente importante para a cadeia trófica, é formado por íons metálicos ao nível de traços, que têm influência direta ou indireta no organismo humano e podem causar sérios danos. Em relação a esse grupo poluente, é importante ressaltar que ele não é usualmente eliminado dos ecossistemas aquáticos por meio de processos naturais. Elementos como Cd, Cu, Hg e muitos outros tendem a se acumular em sedimentos e podem ser lançados na cadeia biológica, vindo a alcançar os seres humanos e provocar doenças crônicas e agudas (FÖRSTNER e WITTMANN,1983).

A necessidade de determinar baixas concentrações de elementos químicos em amostras de tecidos de animais estimula o desenvolvimento de métodos analíticos que, para atender a tal demanda nas condições tecnológicas atuais, devem ser sensíveis, seletivos e rápidos.

Métodos analíticos confiáveis e sensíveis têm um papel importante na determinação e combate à poluição causada por metais. Os elementos monitorados não são somente aqueles tóxicos para o homem em pequenas quantidades (tais como, Hg, Cd, Pb e As), mas também um largo espectro que é tóxico para algumas espécies animais, e que pode entrar na cadeia alimentar.

A espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) é uma técnica analítica multielementar largamente utilizada para a determinação de íons metálicos. Para a determinação de elementos traços em amostras ambientais, a técnica analítica mais utilizada é a espectrometria de absorção atômica por forno de grafite (GFAAS), devido à sua alta detectabilidade, o que permite obter um melhor limite de detecção em relação à técnica de ICP OES. Entretanto, a técnica de GFAAS apresenta como principal limitação a interferência de matriz, além de ser uma técnica lenta quando se deseja avaliar um grande número de amostras e elementos.

A aplicabilidade da técnica de ICP OES foi ampliada com o desenvolvimento de equipamentos com tocha em posição axial, que aumenta consideravelmente a área de observação e, conseqüentemente, a quantidade de radiação que chega ao detector (BRENNER e Zander, 2000).

3. OBJETIVOS

1 – Desenvolver métodos de digestão de amostras com aquecimento assistido por microondas (MW) e com bloco digestor (BD), para determinação simultânea de macro e micro constituintes no material certificado de referência (SRM 1566b);

2 – Otimizar parâmetros instrumentais para determinação de Al, As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mg, Ni, Pb, Se, V, Ni e Zn utilizando a técnica de ICP OES;

3 – Determinar, através do planejamento de mistura, qual a melhor composição para o sistema HNO₃, HCl e H₂O₂ nos métodos desenvolvidos para decomposição de materiais biológicos.

4 – Comparar os dois métodos de digestão propostos, avaliando a exatidão para cada elemento estudado no material certificado, bem como a relação custo x benefício nos processos pesquisados;

5 – Aplicar os procedimentos desenvolvidos em amostras de moluscos coletados em zonas de manguezal na região de São Francisco do Conde e Madre de Deus - Recôncavo Baiano, que sofre influência de atividades da indústria do petróleo.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. A Baía de Todos os Santos e as Atividades Petrolíferas no Recôncavo Baiano

4.1.1. Localização da área de estudo

A Baía de Todos os Santos (BTS) é uma reentrância costeira inserida na região do Recôncavo Baiano, com área de aproximadamente 1052 km² e cerca de 184 km de extensão costeira. Está situada a cerca de 13° de latitude (S) e 38° de longitude (W), sendo considerada a maior e mais importante baía navegável da costa tropical do Brasil (LEÃO e DOMINGUEZ, 2000).

O litoral dessa baía foi originalmente ocupado por diversas nações indígenas, cuja presença não representou graves problemas para o meio ambiente, pois permitia a renovação dos recursos naturais explorados. Segundo dados do último Censo (IBGE, 2000), cerca de 3 milhões de habitantes vivem às margens da baía, incluindo-se neste contingente populacional os moradores dos municípios de São Francisco do Conde e Madre de Deus.

O município de São Francisco do Conde está localizado no Recôncavo Baiano, ao norte da BTS (Figura 01) e possui uma área geográfica de 267,6 km². Limita-se com os municípios de Santo Amaro, Candeias, Salvador e Madre de Deus. O município possui três distritos: São Francisco do Conde (sede), Mataripe e Monte Recôncavo, além de povoados como Coqueiro Grande, Caípe e São Paulo e ilhas como a de Cajaíba, das Fontes e a do Pati.

Próximo a Mataripe, ao centro-oeste da BTS (Figura 01), o município de Madre de Deus conta com uma área geográfica de 11,2 km². Limita-se com São Francisco do Conde. A região apresenta ambiente estuarino-lagunar com mata atlântica e ecossistemas associados, a exemplo de manguezais e restingas, e é composta pelas ilhas de Maria Guarda, das Vacas e a da Coroa do Capeta, além da ilha de Madre de Deus, hoje ligada ao continente por uma ponte. O Terminal Almirante Alves Câmara (TEMADRE), unidade operacional da TRANSPETRO,

Salvador, denominado de Lobato. Apesar da existência de registro da exploração de petróleo para fins comerciais antes da criação da PETROBRAS, a chegada da estatal ao Recôncavo Baiano, através da instalação da primeira refinaria brasileira, é um marco socioeconômico relevante, sendo considerado o ponto de partida do processo de industrialização do Estado da Bahia (OLIVEIRA, 1997).

As indústrias de petróleo são consideradas altamente poluidoras, pois geram produtos que podem interferir nos processos naturais de ecossistemas. Nas fases de perfuração, produção e refino, os maiores problemas são os lançamentos de efluentes gasosos e líquidos na atmosfera, nos rios ou no mar. Na fase de refino, os resíduos sólidos de uma refinaria podem conter Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, V, Ni e Zn, que são colocados em aterros industriais (FÖRSTNER e WITTMANN, 1983; PETROBRAS, 2000).

Quando ocorrem acidentes ambientais envolvendo aporte de óleo e/ou derivados em ambientes marinhos, muitos são os tipos de problemas sentidos pela fauna e pela flora e, conseqüentemente, pela comunidade humana que vive nas proximidades das áreas atingidas pelos poluentes.

De um modo geral, as conseqüências da poluição incluem: morte de organismos marinhos, como peixes, moluscos, crustáceos; alterações nos padrões de reprodução dos organismos; ruptura da cadeia alimentar; mudanças nas características populacionais; etc.

Depois de cinquenta anos de convívio com derrames e vazamentos de óleo e derivados, a região norte da Baía de Todos os Santos é apontada pela literatura especializada como uma área contaminada por hidrocarbonetos de petróleo e íons metálicos, com um passivo ambiental que deve ser resgatado pela sociedade, em especial a científica, pelo bem das futuras gerações.

Trabalhos realizados com íons metálicos por TAVARES (1996), estudando a sua distribuição espacial nos ecossistemas da Baía de Todos os Santos, confirmaram o comprometimento ambiental dessas zonas fortemente influenciadas por atividades petrolíferas.

O Centro de Recursos Ambientais do Estado da Bahia (CRA) avaliou o grau de contaminação da água e sedimento da BTS, e verificou a existência de

alterações nas comunidades bióticas como um reflexo dos contaminantes presentes na área. Dentre esses contaminantes estão presentes os íons metálicos (CRA, 2004).

Nesta linha de pesquisa, voltada para a avaliação e recuperação de ambientes contaminados por atividades petrolíferas, diversos trabalhos vêm sendo realizados no âmbito da Rede de Pesquisa intitulada “Rede Cooperativa em Recuperação de Áreas Contaminadas por Atividades Petrolíferas - RECUPETRO” no âmbito do Projeto Cooperativo “Protocolos de Avaliação e Recuperação de Ambientes Impactados por Atividades Petrolífera - PROAMB. Esta Rede é uma parceria entre a Universidade Federal da Bahia (UFBA), representada pelo Núcleo de Estudos Ambientais (NEA) do Instituto de Geociências (IGEO) com outras Universidades Nordestinas, a exemplo da Universidade Católica de Salvador (UCSal), Universidade Federal de Alagoas (UFAL) e Universidade Federal do Ceará (UFC), com financiamento da FINEP – CTPETRO – CNPq e PETROBRAS. Esta parceria está possibilitando a realização de estudos em zonas de manguezal localizadas ao norte da Baía de Todos os Santos, com o objetivo de desenvolver ações de preservação, conservação e recuperação desse ecossistema no entorno de regiões sob influência da indústria do petróleo nos municípios de São Francisco do Conde, Madre de Deus e Candeias.

Nesta linha de pesquisa e ainda no âmbito da RECUPETRO, a presente Tese destaca-se no desenvolvimento de métodos de análise que deverão se traduzir em novas tecnologias a serem utilizadas na determinação de íons metálicos em material biológico, contribuindo com processos que permitam a mitigação da contaminação de regiões de manguezal inseridas em áreas com problemas similares, ou seja, que também venham sendo afetadas por atividades da indústria do petróleo.

4.2. O Ecossistema Manguezal

Manguezal constitui um ecossistema costeiro, de transição entre os ambientes terrestre e marinho, característico de regiões tropicais e subtropicais.

As marés são o principal mecanismo de penetração das águas salinas neste ecossistema. Os sedimentos do manguezal são invariavelmente originados pela decomposição de rochas de diferentes naturezas às quais se juntam restos de folhas, galhos e animais (matéria orgânica). Esse ecossistema é constituído de espécies animais e vegetais caracterizadas por colonizarem zonas predominantemente lodosas, com baixos teores de oxigênio (SCHAEFFER-NOVELLI, 1995).

Dentro do ecossistema manguezal, as plantas, os animais, o solo e o ambiente físico são mantidos por processos de trocas contínuas e assimilação de energia, representados pela fixação, acumulação de biomassa, decomposição da matéria orgânica e ciclo mineral.

Esse ecossistema apresenta condições propícias para a alimentação, proteção e reprodução de muitas espécies animais, sendo considerado importante transformador de matéria orgânica em nutrientes e gerador de bens e serviços (LACERDA *et al.*, 1995).

As trocas de materiais entre os manguezais e as áreas marinhas adjacentes foram estudadas por diversos autores, a exemplo de Lacerda (1998), e Machado *et al.* (2002), uma vez que é através dessas trocas que os manguezais ciclam os elementos químicos presentes na região, sendo influenciados pela composição das águas regionais.

O petróleo é constituído basicamente por hidrocarbonetos, contendo também apreciável quantidade de compostos sulfurados, nitrogenados, oxigenados e metálicos. A análise elementar do petróleo, em porcentagem de peso é: hidrogênio (11,00-14,00%), carbono (83,00-87,00%), que constituem os hidrocarbonetos, e enxofre (0,06-8,00%), nitrogênio (0,11-1,70%), oxigênio (0,10-2,00%) e metais até 0,30%. Segundo Thomas (2001), os compostos metálicos que fazem parte da constituição do petróleo apresentam-se de duas formas: como sais orgânicos dissolvidos na água emulsionada ao petróleo, e na forma de compostos organometálicos complexos. O manguezal, dentre os ecossistemas costeiros, é o que possui a maior vulnerabilidade a derrames de óleo. O impacto do óleo no manguezal está relacionado com o tipo do poluente e o padrão de deposição

desse poluente, acarretando prejuízos à vegetação, que são repassados aos outros elementos que constituem o ecossistema, podendo, até mesmo, através de modificações químicas e/ou físico-químicas impostas, influenciar processos e mudar características ambientais locais. Alguns constituintes do petróleo contêm íons metálicos em sua estrutura, os quais, ao chegarem ao ecossistema manguezal, tornam-se biodisponíveis e podem vir a influenciar diversos elos da cadeia trófica. Essas ações comprometem a quantidade e a qualidade dos produtos oriundos do manguezal (RODRIGUES, 1997).

Um dos principais agentes de contaminação e destruição dos manguezais, atualmente, são os íons metálicos, que chegam até esse ecossistema através de vários vetores urbanos e industriais, tais como esgotamentos sanitários e de indústrias químicas e petroquímicas. Esses contaminantes tóxicos desempenham um importante papel na dinâmica de regiões costeiras e, conseqüentemente, nos processos geoquímicos das zonas de manguezal, já que se acumulam naturalmente e podem influenciar sobremaneira a cadeia trófica, que tem como uma forte base de sustentação esse ecossistema vital (LACERDA, 1998).

A compreensão de que muitos contaminantes aquáticos se depositam em sedimentos acelerou estudos de forma a caracterizar o seu destino e a sua disposição na complexa matriz sedimentar. A deposição é uma combinação de processos biológicos, químicos e físicos que podem dar origem a alterações na forma de xenobióticos (KLAASSEN e WATKINS, 2001).

Os manguezais apresentam baixa diversidade de espécies vegetais, porém grande diversidade de fauna, comportando espécies de praticamente todos os filos. As plantas obrigatórias para a Bahia são: *Rhizophora mangle*, *Laguncularia Racemosa*, *Avicennia schaueriana* e *Avicennia germinans*. A distribuição dessas espécies ao longo do estuário depende de uma série de condições, especialmente da salinidade e do regime das marés.

O manguezal é habitado por peixes, aves, mamíferos, répteis, anfíbios, moluscos, crustáceos e insetos, que podem viver no substrato (enterrados ou não), nas copas das árvores, ou na água, como residentes fixos ou visitantes. São de origem marinha, terrestre ou de água doce.

A presença de poluentes no manguezal traz conseqüências que variam amplamente, podendo provocar desde modificações nas folhas, raízes e propágulos da vegetação até a morte dos indivíduos. Em casos mais graves, o extermínio do bosque de manguezal pode ser observado.

Os manguezais que bordejam a região norte da BTS podem ser considerados como uma das regiões mais impactadas do Estado da Bahia nas últimas décadas. Estudos realizados por Santos Júnior, 2005; Leão, 2004; Santos, 2002, dentre outros, reportam que a Baía de Todos os Santos apresenta altos índices de poluição provocados por íons metálicos, provenientes das atividades industriais do Recôncavo Baiano.

4.3. Moluscos Bivalves

Entre os organismos do meso-litoral de um manguezal, destacam-se os moluscos bivalves, invertebrados, com ampla distribuição ao longo de praias e dos estuários.

Os moluscos são animais predominantemente marinhos, embora existam espécies de água doce e terrestre. A maioria é de vida livre podendo viver fixos, enterrados, ou ainda nadando e andando. Há representantes de grande importância econômica, como as ostras, que produzem pérolas, e os mariscos comestíveis (CRAZY MANIA, 2005).

O *filo* Mollusca possui seis classes, entre as quais destacam-se a classe dos gastrópodes, a dos pelecípodes e a dos cefalópodes (ROCHA, 2006; REINO ANIMALIA IV, 2005). Os moluscos pelecípodes apresentam corpo mole, localizado dentro de uma concha rígida que possui duas partes ou valvas. São, por isso, conhecidos como moluscos bivalves.

Apesar de apresentarem grande diversidade de formas (Figura 2a) e hábitos, o padrão básico dos bivalves é inconfundível. A concha pode ser totalmente ou parcialmente calcificada e consiste de uma valva esquerda e uma direita (Figura 2b). As valvas são unidas na parte dorsal, conectadas por um ligamento elástico parcialmente calcificado e mantidas juntas por músculos

adutores, um ou dois, que estão presos à superfície interna da concha. As valvas são abertas pelo ligamento e fechadas pela contração dos músculos adutores. (CONQUILIOLOGISTAS DO BRASIL, 2006).



FIGURA 02 – Moluscos bivalves: a) formas, b) valvas

Os moluscos bivalves alimentam-se de plânctons, microorganismos e matéria orgânica. Através das brânquias filtram cerca de 10 a 50 L/h de água, com alguma ou nenhuma capacidade seletiva, acumulando na massa visceral, lúmen do intestino e hepatopâncreas, todos os agentes biológicos e abióticos que se encontram na água onde vivem. Durante o processo fisiológico da alimentação, a água entra na cavidade palial através do sifão aspirante, passando pela brânquia da óstia e é expelida pelo sifão expirante que é mais estreito que o sifão aspirante. As partículas de alimento são presas pelo muco espalhado sobre as lamelas branquiais concentrando-se assim nos tecidos dos moluscos (GALVÃO, 2004).

A maioria dos moluscos bivalves é marinha. Alguns gêneros são encontrados em ambientes de água doce. A evolução da alimentação por filtração levou esse grupo a colonizar e se adaptar aos diversos habitats e modos de vida: cavadores de fundo mole, que podem viver parcialmente enterrados (semi-infaunais), ou totalmente enterrados (infaunais); habitantes de superfície (epifaunais), com formas não fixadas (livres) ou fixadas à superfície através de filamentos de bisso ou cimentadas. A morfologia e demais feições da concha são importantes no diagnóstico do modo de vida desses organismos, na reconstrução ambiental e demais considerações paleoecológicas. (ROSSI, 2006).

4.3.1. Moluscos bivalves como alimento

Os bivalves têm grande importância econômica, seja como alimento para peixes, seja pelo consumo direto pelo homem.

Como os moluscos estão distribuídos ao longo da costa, seu extrativismo é facilitado e muitas espécies são utilizadas como fonte de alimentação. No Brasil, os estudos de bivalves comestíveis são numerosos, principalmente relacionados aos mexilhões (ADORNO, 2003).

O cultivo de moluscos é responsável por 22% de toda produção mundial, sendo que os mexilhões representam cerca de 40% da produção de moluscos cultivados. O Brasil vem se destacando com o aumento de sua produção, a partir de 1988, sendo o Estado de Santa Catarina o maior produtor de ostras e mexilhões do país (CURTIUS *et al.*, 2003).

A utilização de moluscos bivalves como alimento data da época paleozóica, sendo a qualidade sanitária do ambiente aquático onde estes são capturados ou cultivados, diretamente responsável pelos problemas de saúde pública que podem gerar quando consumidos, principalmente se ingeridos *in natura* (GALVÃO, 2004).

Ostras, berbigões, mexilhões e outros moluscos bivalves, apesar de consumidos regularmente e em larga escala com bastante segurança, podem, de forma ocasional, em função do local onde vivem e da época do ano, estar contaminados. No processo de filtração da água, as substâncias poluentes e nocivas são retidas e vão aos poucos se acumulando em seu organismo, sem provocar-lhes, porém, qualquer problema, pois são, quase sempre, imunes aos seus efeitos diretos e sobrevivem para passar a toxina aos animais que os devoram. Devido a esse hábito alimentar os moluscos bivalves podem ser contaminados, tornando-se venenosos ao consumo humano, em função de circunstâncias ambientais básicas, a poluição das águas. A poluição dos mares, baías e estuários, provocada pela emissão "*in natura*" de lixo e esgotos industriais e residenciais contendo íons metálicos, coliformes fecais, bactérias patogênicas e outras substâncias nocivas, é um dos principais fatores que favorece a contaminação desses moluscos por poluentes (LENOCH, 2005).

No homem, a intoxicação provocada pelo consumo de moluscos bivalves provenientes das águas poluídas pode resultar em problemas gastrointestinais, como gastroenterites leves a severas, observadas após o consumo (LENOCH, 2005). Os íons metálicos, por sua vez, vão-se acumulando ao longo dos anos no organismo humano e podem provocar diversos distúrbios fisiológicos.

Cavalcanti (2003), realizou um monitoramento em relação à concentração dos elementos traço Hg, Zn, Fe, Cu e Mn em amostras de ostras comercializadas em Recife, durante o período de um ano (março/2001 a fevereiro/2002). O mercúrio foi o principal contaminante encontrado nas ostras e o elemento que apresenta maior risco à saúde pública. Foram encontrados valores de concentração de Hg de até 551,12 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (peso úmido). Esses valores sugerem que a ingestão de ostras deve ser feita com restrições por crianças, mulheres grávidas e a população que vive de subsistência, pois estão sujeitas a maiores riscos de contaminação por Hg, ao consumirem ostras provenientes do canal de Santa Cruzes, mesmo com os níveis encontrados situados abaixo do limite máximo recomendado.

Machado *et al.* (2002) avaliaram os níveis de contaminação dos íons metálicos Pb, Cd, Hg, Cu e Zn na ostra de manguezal (*Crassostrea brasiliiana*) do estuário de Cananéia - SP, Brasil. Concluíram que os íons determinados apresentaram concentrações abaixo dos limites estabelecidos pela legislação brasileira, não oferecendo riscos aparentes ao consumo humano.

Pereira *et al.* (2002) determinaram as concentrações dos íons metálicos Pb, Cd, Hg, Cu e Zn nos bivalves *Crassostrea brasiliiana*, *Perna perna*, *Mytella falcata* coletados em vários bancos naturais do litoral da Baixada Santista. Na avaliação realizada os autores concluíram que os bivalves estudados encontravam-se em condições adequadas para o consumo humano.

4.3.2. Moluscos bivalves como bioindicadores de poluição

Os íons metálicos podem ser introduzidos nos sistemas aquáticos como resultado de processos naturais, bem como por meio de uma variedade de

atividades antrópicas. Na água, os íons metálicos podem estar presentes nas formas particuladas, coloidal e dissolvida sendo constantemente redistribuídos entre essas fases durante o transporte e, dependendo de sua forma química, podem ser acumulados pelos organismos vivos (SHI *et al.*, 1998).

Devido a esse processo dinâmico de transporte e redistribuição dos metais nas diferentes fases, concentrações aparentemente baixas na coluna d'água e nos sedimentos, podem estar potencialmente disponíveis para acúmulo pelos organismos, tornando-se eventualmente tóxicas. O processo de biomagnificação de íons metálicos é uma das formas pela qual esses elementos atingem altas concentrações na biota, uma vez que os níveis de algumas espécies aumentam progressivamente ao longo da cadeia alimentar, atingindo níveis elevados nos organismos predadores que ocupam o topo da cadeia trófica (MARINS, 2004; MACHADO *et al.*, 2002).

Os íons metálicos diferem de outros agentes tóxicos porque não são sintetizados nem destruídos pelo homem (CAMPOS, 2005). Todas as formas de vida são afetadas pela sua presença, dependendo da dose e da forma química. Muitos íons metálicos são essenciais para o crescimento de todos os tipos de organismos, desde as bactérias até mesmo o ser humano, mas eles são requeridos em baixas concentrações e podem danificar sistemas biológicos (PEREIRA *et al.*, 2002).

De acordo com Curtius *et al.*, (2003), a biodisponibilidade de um íon metálico e, conseqüentemente, sua toxicidade dependem da forma química e física na qual o íon se encontra. Esses íons podem estar na forma dissolvida ou associados a matéria particulada em suspensão na coluna de água ou, ainda, associados ao plâncton. Torna-se, assim, importante conhecer a concentração do íon na forma livre iônica dissolvida que é, freqüentemente, muito menor do que o conteúdo total. Mesmo que estes valores sejam considerados baixos (na ordem de $\mu\text{g g}^{-1}$), os impactos do ponto de vista ecotoxicológico podem alcançar proporções surpreendentes, quando considerados de forma relativa.

A habilidade dos moluscos bivalves em tolerar ambientes poluídos, acumulando em seus tecidos, substâncias tóxicas e microorganismos prejudiciais

à saúde humana, torna-os amplificadores biológicos de grande importância na cadeia alimentar. Desta forma, são freqüentemente utilizados como bioindicadores para programas de monitoramento ambiental (ADORNO, 2003), especialmente no monitoramento da poluição em ambientes costeiros (STORELLI E MARCOTRIGIANO, 2005; GIFFORD *et al.*, 2005; YAWEI *et al.*, 2005; LIANG *et al.*, 2004; SAAVEDRA *et al.*, 2004a; GEFFARD *et al.*, 2004; SOKOLOWSKI *et al.*, 2004; ZAUKE *et al.*, 2003; OTCHERE *et al.*, 2003; IRATO *et al.*, 2003; BEIRAS *et al.*, 2003; ASTUDILLO *et al.*, 2002).

No Brasil existem vários relatos de contaminação da água e organismos aquáticos por íons metálicos. Em alguns deles foi evidenciada a ocorrência de bioacumulação em moluscos, como a contaminação da Baía de Todos os Santos-BA (Cd, Hg, Pb e Zn) (TAVARES, 1996) e da Baía de Guanabara-RJ (Cr, Cu, Mn e Zn), provocada pelo despejo de esgoto urbano e rejeitos da indústria petroquímica e metalúrgica (PFEIFFER, 1985 *apud* MACHADO *et al.*, 2002).

A bioacumulação e depuração de Zn e Cd foi avaliada em ostras (*Crassostrea rhizophorae*) cultivadas, que foram transportadas para dois ecossistemas costeiros no sudeste brasileiro, a baía de Sepetiba, altamente contaminada por íons metálicos, e a ilha de Cabo Frio, sem registro de contaminação ambiental. Os autores observaram que a ostra é capaz de melhor acumular do que depurar íons metálicos e que a ostra transportada pode ser usada para avaliar uma contaminação ambiental em um pequeno intervalo de tempo (AMARAL *et al.*, 2005).

Concentrações de Cd, Pb e Hg foram determinadas em amostras de água, sedimentos, peixes e moluscos bivalves coletados em seis bacias hidrográficas do Estado de São Paulo. Os níveis dos metais variaram com o tamanho dos organismos e da espécie analisada. A avaliação das concentrações de Cd e Pb nos rios pode ser realizada com sucesso utilizando os bivalves, visto que tais organismos refletem as concentrações disponíveis no ambiente (TOMAZELLI, 2003).

Curtius *et al.* (2003) utilizaram ostras e mexilhões cultivados nas proximidades da ilha de Santa Catarina, com o objetivo de avaliar a contaminação

de As, Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb, Se, Sn e Zn, em atividades de maricultura. A conclusão do estudo foi de que os riscos de contaminação de moluscos por espécies inorgânicas podiam ser considerados, até aquela época, pouco relevantes quando comparados com os limites toleráveis citados pelo "Food and Drugs Administration (FDA). Todavia, esta conclusão deve ser considerada com reservas, pelo fato de não ter sido realizada uma avaliação suplementar sobre o estado dos sedimentos existentes nas áreas de cultivo selecionadas.

Carvalho *et al.* (2001) avaliaram a contaminação do ambiente costeiro próximo à cidade de Macaé, através da determinação dos elementos Al, Fe, Mn, Cd, Pb, Cr, Zn, Cu e Ni em mexilhões *Perna perna*. Apesar da proximidade de possíveis fontes poluidoras as concentrações dos íons metálicos encontradas nesse estudo indicam a ausência de contaminação.

4.4. Decomposição de Materiais Biológicos

Em análises, tanto de rotina quanto de pesquisa, há uma tendência para se utilizar técnicas analíticas que ofereçam economia na mão de obra e no tempo. A quantificação de analitos e a rapidez de análise em diversas amostras são características que desafiam a tecnologia em busca de uma técnica ideal.

O desenvolvimento de uma técnica de decomposição de amostras que resulte em completa solubilização, retenção de elementos voláteis, redução das contaminações causadas pelo frasco, baixos valores de branco de reagentes e rapidez é um dos pontos mais críticos de uma análise empregando técnicas espectroanalíticas. Devem ser observadas, prioritariamente, as características do elemento a ser determinado, da amostra e das condições da solução final (concentração ácida, viscosidade, teor de carbono orgânico residual, etc.) (KRUG *et al.*, 2002; GARCIA, 2000).

A eliminação da matéria orgânica é de grande importância para a determinação de íons metálicos em solução. Materiais biológicos ricos em proteínas e gorduras requerem altas temperaturas de decomposição ou o uso de ácido mineral oxidante concentrado ou de misturas de ácidos oxidantes ou mistura

de um ácido oxidante com peróxido de hidrogênio, utilizando sistema aberto ou sistemas fechados (aquecimento convencional ou assistido por microondas) (CARRILHO *et al.*, 2001).

Os ácidos comumente empregados para a decomposição de amostras são o HNO_3 , H_2SO_4 , H_3PO_4 e o HClO_4 concentrados ou misturas desses ácidos. Alguns reagentes são utilizados para melhorar a eficiência da dissolução com um ou mais ácidos minerais, por exemplo, H_2O_2 e KClO_3 (KRUG *et al.*, 2002).

Ácidos concentrados são susceptíveis a contaminações e a elevada concentração ácida final pode ser prejudicial a algumas técnicas analíticas para determinação de elementos ao nível de traços (CRISPINO, 2005).

Os métodos de solubilização em sistemas abertos, normalmente, trabalham com massas de amostras e volumes de ácidos em quantidades relativamente maiores do que em sistemas fechados. Além disso, envolvem o aquecimento da amostra (chapa elétrica, banho-maria, banho de areia, bloco digestor) na presença de ácidos por longos períodos de tempo, podendo levar à contaminação. Apesar de favorecer a determinação de baixas concentrações de íons metálicos, pois muitos elementos são convertidos em cátions inorgânicos não voláteis, alguns elementos podem ser perdidos completa ou parcialmente por volatilização (KRUG *et al.*, 2002; CRISPINO, 2005).

No final da década de 70, a utilização da radiação de microondas (MW), surgiu como uma ferramenta analítica para a decomposição de amostras. A utilização de frascos de alta pressão e ácidos oxidantes proporciona uma maior rapidez na digestão, processamento de grande número de amostras e eliminação de perdas de espécies voláteis. Porém, alguns parâmetros são relevantes como a massa de amostra, tipo de ácido, volume de reagentes, temperatura, pressão e tempo de aquecimento. Deve-se evitar o uso de H_2SO_4 e HClO_4 , devido ao seu alto ponto de ebulição, que ocorre acima do ponto de fusão do Teflon.

Algumas restrições são recomendadas, quando as soluções preparadas serão analisadas por ICP OES. Por exemplo, o H_2SO_4 e o H_3PO_4 podem contribuir com a emissão de radiação de fundo e o HF pode atacar os acessórios compostos

de vidro ou quartzo, principalmente a tocha. Neste caso, os ácidos comumente sugeridos são o HNO_3 e o HCl (BOSS e FREDEEN, 1997).

Em alguns trabalhos de monitoramento ambiental, espécies representativas de moluscos são coletadas a fim de avaliar se os mesmos estão contaminados e, para isso, íons metálicos são determinados no tecido mole dos bivalves provenientes dos locais em estudo. Como já mencionado anteriormente, a maioria das técnicas analíticas utiliza soluções para a determinação dos analitos e, dessa forma, o tecido mole dos moluscos necessita ser decomposto para atender os requisitos necessários dessas técnicas.

Diferentes autores têm empregado o forno de MW ou bombas de aço para o desenvolvimento da digestão em materiais biológicos, porém as massas das amostras e os volumes de ácido utilizados foram pequenos, possivelmente para evitar uma solução final com uma acidez elevada, bem como por questão de segurança (LIANG *et al.*, 2004; SAAVEDRA *et al.*, 2004b; SOKOLOWSKI *et al.*, 2004; BEIRAS *et al.*, 2003; CAVALCANTI, 2003; DOBROWOLSKI e SKOWNÓSKA, 2002; GARCIA-RICO e RUIZ, 2001; BERMEJO-BARRERA *et al.*, 2000). Entretanto, nessas soluções os elementos-traço só puderam ser determinados utilizando técnicas como espectrometria de massas com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) ou a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS).

Outros pesquisadores preferiram empregar os métodos de solubilização em sistemas abertos (STORELLI e MARCOTRIGIANO, 2005; TOMAZELLI, 2003; ASTUDILLO *et al.*, 2002; PEREIRA *et al.*, 2002; CARVALHO *et al.*, 2001; PEMPKOWIAK *et al.*, 1999), utilizando massas e volumes de ácidos em quantidades maiores do que em sistemas fechados, podendo determinar elementos-traço, além dos elementos maiores, embora os processos nesses casos, sejam morosos e inadequados para determinar elementos voláteis.

Considerando os aspectos descritos nos parágrafos anteriores, objetiva-se no presente trabalho a combinação de um ácido oxidante (HNO_3), um não oxidante (HCl) e um agente oxidante auxiliar (H_2O_2) para a determinação de macro e microconstituintes em tecido de moluscos bivalves, empregando o forno de MW

e o bloco digestor com refluxo (“dedo frio”). A acidez final das soluções foi também monitorada (NANO *et al.*, 2005a; NANO *et al.*, 2005b; NANO *et al.*, 2005c).

4.5. Características dos Elementos Químicos e seus Efeitos

Muitos estudos sobre o comportamento dos elementos químicos no meio aquático vêm sendo desenvolvidos, pois representam um problema ambiental por sua persistência no ambiente e não biodegradabilidade. Frente à expansão do aporte, sua presença nos ecossistemas aquáticos tem despertado interesse sob vários aspectos, incluindo os efeitos desses contaminantes, sua distribuição nas cadeias alimentares e sua ciclagem biogeoquímica (REINFELDER *et al.*, 1998).

Todas as formas de vida são afetadas pela presença de íons metálicos dependendo da dose e da espécie química. Muitos elementos são essenciais para o crescimento de todos os tipos de organismos, desde as bactérias até mesmo o ser humano, mas eles são requeridos em baixas concentrações e podem danificar sistemas biológicos, caso sejam absorvidos em doses superiores às necessárias para cada organismo.

Elementos químicos são classificados por Campos (2005), em:

1. elementos essenciais: sódio, potássio, cálcio, ferro, zinco, cobre, níquel e magnésio;
2. micro-contaminantes: arsênio, chumbo, cádmio, mercúrio, alumínio, titânio, estanho e tungstênio;
3. elementos essenciais e simultaneamente micro-contaminantes: cromo, zinco, ferro, cobalto, manganês e níquel.

Algumas espécies destacam-se por estarem associadas à contaminação do ambiente aquático e causarem problemas de intoxicação ao homem e outros organismos. O As, Cd, Cu, Cr, Ni, Mn, Pb, Se e Zn são elementos normalmente estudados por participarem de processos de contaminação em ecossistemas

aquáticos, uma vez que persistem no ambiente e causam distúrbios nos processos metabólicos dos seres vivos (GUSMÃO, 2004; LEMES, 2001; REINFELDER *et al.*, 1998).

4.5.1. Arsênio (As)

O arsênio é um elemento químico com ampla distribuição na superfície terrestre, ocorrendo nas rochas com concentrações médias entre 1,5 a 6,6 $\mu\text{g g}^{-1}$, e 5 $\mu\text{g g}^{-1}$ em sedimentos (ROHDE, 2000).

No homem produz efeitos nos sistemas respiratório, cardiovascular e nervoso, observando-se também a relação do arsênio com o câncer de pele e brônquios (CAMPOS, 2005).

A concentração máxima permitida de As para peixes e produtos de pesca é de 1,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ (BRASIL, 1998). A concentração máxima permitida de As dissolvido nas águas doces, salinas e estuarinas é de 0,01 mg L^{-1} (CONAMA, 2005).

4.5.2. Cádmio (Cd)

A forma mais freqüente de Cádmio nos solos é Cd^{+2} , sendo que sua mobilidade é controlada, sobretudo, pelo pH e pelo potencial redox (CETESB, 2001). Sua concentração depende da rocha de origem e pode variar de 0,1 a 0,3 $\mu\text{g g}^{-1}$, sendo que em solos naturais raramente ultrapassa 0,5 $\mu\text{g g}^{-1}$ (ROHDE, 2000).

A água é outra fonte que também pode conter cádmio e deve ser considerada não somente pelo seu consumo como água potável, mas também pelo seu uso na fabricação de bebidas e no preparo de alimentos. O cádmio é um elemento de vida biológica longa (10 a 30 anos) e de lenta excreção pelo organismo humano. O órgão alvo primário nas exposições ao cádmio em longo prazo é o rim (CAMPOS, 2005).

A concentração máxima permissível de Cd para peixes e produtos de pesca é de 1,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ (BRASIL, 1998), em águas doces, salinas e estuarinas é de 0,001 mg L^{-1} e de 0,005 mg L^{-1} de Cd, respectivamente (CONAMA, 2005).

4.5.3. Chumbo (Pb)

O chumbo tem sua ocorrência natural em rochas em concentrações que variam de 2 a 20 $\mu\text{g g}^{-1}$ (ROHDE, 2000). As emissões atmosféricas de chumbo, especialmente no período em que era adicionado à gasolina como antidetonante, contribuíram para um acréscimo significativo do metal nos solos e nas águas superficiais, refletindo-se, inclusive, nos estuários e oceanos (KENNISH, 1997).

O sistema nervoso, a medula óssea e os rins são considerados órgãos críticos para o chumbo, que interfere nos processos genéticos ou cromossômicos e produz alterações na estabilidade da cromatina em cobaias, inibindo reparo de DNA e agindo como promotor do câncer (CAMPOS, 2005).

O limite da legislação brasileira para peixes e produtos de pesca é 2,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ de Pb (BRASIL, 1998) e em águas doces, salinas e estuarinas é de 0,01 mg L^{-1} de Pb (CONAMA, 2005).

4.5.4. Cobre (Cu)

O cobre é um metal de ampla distribuição pela crosta terrestre, ocorrendo nas rochas e em solos em valores de até 80 $\mu\text{g g}^{-1}$ e 20 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente (ROHDE, 2000).

Por tratar-se de metal de amplo emprego industrial e doméstico, o cobre está presente no lixo doméstico e nos esgotos em geral. O metal também está presente no chorume de lixões e aterros sanitários e nos esgotos lançados no mar e nos estuários (CETESB, 2001).

O pH alcalino do ambiente estuarino favorece sua deposição no sedimento e biodisponibilidade para os organismos de fundo, entre eles os moluscos (CETESB, 2001).

O limite máximo estabelecido de Cu pela legislação brasileira (BRASIL, 1977) em organismos aquáticos a serem utilizados para o consumo humano é de 30 $\mu\text{g g}^{-1}$, enquanto em águas doces, salinas e estuarinas é de 0,009 mg L^{-1} e de 0,005 mg L^{-1} de Cu, respectivamente (CONAMA, 2005).

4.5.5. Cromo (Cr)

O cromo ocorre na natureza em vários minerais, freqüentemente associado a outros metais. O cromo pode alcançar valor médio de $456 \mu\text{g g}^{-1}$ na crosta terrestre (ROHDE, 2000). Nas águas, assim como nos solos, encontra-se, predominantemente, em sua forma iônica reduzida (Cr^{+3}), mais estável e menos tóxica, ou na forma mais oxidada (Cr^{+6}), menos estável e mais tóxica aos organismos (CETESB, 2001).

Sais de cromo têm amplo emprego em curtumes, laboratórios e na indústria química em geral. O metal é encontrado também em efluentes líquidos de siderúrgicas, refinarias, indústrias de fertilizantes e de celulose e papel (CETESB, 2001).

O valor limite de Cr para consumo humano é de $11 \mu\text{g g}^{-1}$ (USEPA, 1997). O limite máximo permitido em águas doces, salinas e estuarinas é de $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ de Cr (CONAMA, 2005).

4.5.6. Manganês (Mn)

O manganês é um elemento encontrado na maioria das rochas ígneas, estando presente nos solos em concentrações que variam de acordo com o material de origem. Freqüentemente está associado ao ferro com o qual possui grandes semelhanças de comportamento químico no ambiente (CETESB, 2001). Segundo Rohde (2000), o manganês ocorre na crosta terrestre em concentração média de $1136 \mu\text{g g}^{-1}$.

O valor limite de Mn para consumo humano é de $54 \mu\text{g g}^{-1}$ (USEPA, 1997). O limite máximo permitido em águas doces, salinas e estuarinas é de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ de Mn (CONAMA, 2005).

4.5.7. Níquel (Ni)

O níquel está presente na crosta terrestre com um valor médio de $245 \mu\text{g g}^{-1}$ (ROHDE, 2000). O metal é normalmente encontrado em efluentes líquidos industriais, principalmente em refinarias de petróleo, siderúrgicas, fábricas de fertilizantes e de celulose e de papel (CETESB, 2001). O níquel é também

utilizado em galvanoplastias. Assim como para outros íons metálicos, em soluções diluídas, este elemento pode precipitar a secreção da mucosa produzida pelas brânquias dos peixes, impedindo as trocas gasosas entre a água e os tecidos branquiais do peixe, provocando a morte por asfixia. Concentrações de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ níquel são tóxicas aos organismos de água doce (CETESB, 2003).

Concentrações de níquel em águas superficiais naturais podem chegar a aproximadamente $0,025 \text{ mg L}^{-1}$, embora concentrações de mais de $11,0 \text{ mg L}^{-1}$ possam ser encontradas, principalmente em áreas de mineração (CETESB, 2003).

O limite máximo estabelecido pela legislação brasileira para consumo humano é de $5 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ (BRASIL, 1965) e em águas doces, salinas e estuarinas é de $0,025 \text{ mg L}^{-1}$ de Ni (CONAMA, 2005).

4.5.8. Selênio (Se)

O elemento está presente na crosta terrestre e em rochas sedimentares com valores médios de $0,6 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ de $0,01 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente (ROHDE, 2000).

A combustão de carvão e de outros combustíveis fósseis é uma das fontes antrópicas de selênio lançado à atmosfera. Outras possíveis fontes de Se são a mineração, a fundição e o refino de materiais como cobre, zinco, fosfatos e urânio, bem como a própria produção desse elemento e seu uso industrial. Fontes adicionais de Se ao ambiente podem ser a incineração de pneus, o papel e os rejeitos municipais (AZEVEDO e CHASIN, 2003).

Em águas relativamente não poluídas a concentração de Se em bivalves varia entre $1,3$ e $11 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ (AZEVEDO E CHASIN, 2003). O Se dissolvido nas águas doces, salinas e estuarinas ocorre em concentrações de $0,01 \text{ mg L}^{-1}$ (CONAMA, 2005).

4.5.9. Zinco (Zn)

O zinco é um metal amplamente distribuído na natureza, ocorrendo nos solos como nutriente essencial nas plantas em geral. Nos solos, os valores de zinco em áreas não poluídas variam de 10 a $50 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$. Segundo Rohde (2000) a concentração média natural deste metal na crosta terrestre é de $78 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$.

O zinco é um elemento essencial para o crescimento, porém, em concentrações acima de $5,0 \text{ mg L}^{-1}$, confere sabor à água e uma certa opalescência a águas alcalinas. O efeito tóxico do zinco sobre os peixes e sobre as algas é bem conhecido. A ação desse íon metálico sobre o sistema respiratório dos peixes é semelhante à do níquel, anteriormente citada. Entretanto, é preciso ressaltar que o zinco em quantidades adequadas é um elemento essencial e benéfico para o metabolismo humano, sendo que a atividade da insulina e diversos compostos enzimáticos dependem da sua presença. A deficiência do zinco nos animais pode conduzir ao atraso no crescimento (CETESB, 2003).

O limite máximo estabelecido pela legislação brasileira para consumo humano é de $50 \mu\text{g g}^{-1}$ de Zn (BRASIL, 1965) enquanto em águas doces, salinas e estuarinas é de $0,18 \text{ mg L}^{-1}$ e de $0,09 \text{ mg L}^{-1}$ de Zn, respectivamente (CONAMA, 2005). Os valores de Zn em moluscos bivalves freqüentemente são elevados, especialmente em ostras, havendo relatos de concentrações superiores a $1000 \mu\text{g g}^{-1}$, peso seco, (KENNISH, 1997).

4.6. Planejamento Experimental de Misturas

O termo quimiometria foi proposto há mais de trinta anos, para descrever a área da Química que utiliza estatística e matemática multivariada para extrair informação útil de dados químicos. Esta área inclui o planejamento e otimização de métodos analíticos cujo objetivo principal é obter a melhor resposta (máxima ou mínima) em função das variáveis que afetam o procedimento. A otimização pode ser feita monitorando a influência individual de cada uma das variáveis sobre a resposta experimental, denominada então otimização univariada. A sua principal desvantagem é o tempo gasto e a falta de interpretação acerca das interações entre a variável em estudo e as demais variáveis que afetam o procedimento, resultando numa otimização ineficiente. Técnicas envolvendo otimização multivariada permitem, entre outras vantagens, a otimização simultânea de todas as variáveis com menos experimentos, menos tempo e mais

eficiência. Apesar de apresentar muitas vantagens em relação à otimização tradicional, somente nas últimas décadas houve uma utilização efetiva e crescente das técnicas multivariadas na otimização de métodos analíticos, porque o microcomputador permitiu a execução de cálculos necessários para analisar os resultados (ARAUJO e BRERETON, 1996).

O experimento com misturas é aquele no qual dois ou mais componentes são misturados, em quaisquer proporções, obtendo-se uma resposta para cada conjunto de componentes. Duas considerações são importantes: as propriedades de uma mistura são determinadas pelas proporções de seus componentes e as proporções dos diversos componentes são dependentes entre si. Para otimizar as propriedades de uma mistura mudando a sua formulação, deve-se sempre obedecer a regra de que a soma dos componentes tem que resultar em 100%.

Para uma mistura qualquer de q componentes, podemos escrever (BARROS NETO *et al.*, 2003):

$$\sum_{i=1}^q x_i = x_1 + x_2 + \dots + x_q = 1, \quad (1)$$

onde q é o número de componentes na mistura e x_i é a proporção dos componentes na mistura (equação 1). Para especificar a composição da mistura, precisamos fixar as proporções de $q-1$ componentes. A proporção do último componente será sempre o que falta para completar 100%.

Em sistemas com três fatores independentes, a figura básica é um cubo e os experimentos correspondem a qualquer ponto dentro desse cubo. Os componentes da mistura devem obedecer à restrição $x_1 + x_2 + x_3 = 1$, que definirá um triângulo equilátero inscrito no cubo, como mostra a Figura 03.

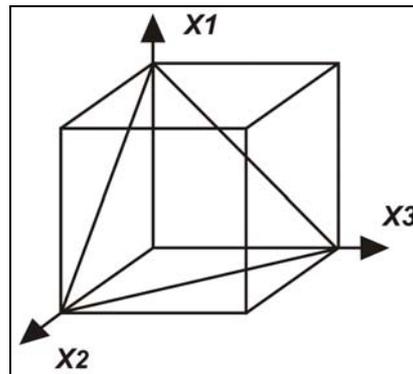


FIGURA 03 – Espaço experimental para três fatores independentes (cubo) e mistura de três componentes (triângulo)

Em um planejamento de mistura, as proporções de cada elemento estão restritas por uma fronteira. Combinando-se estas fronteiras cria-se o que se denomina “Região Simplex”. Os tipos principais são:

Planejamento em rede simplex – representado por seis pontos no triângulo. Neste tipo de planejamento os pontos dos experimentos estão distribuídos nos vértices (componentes puros) e nos lados (misturas binárias) do triângulo.

Planejamento centróide simplex – este planejamento acrescenta ao simplex em rede um ponto central no triângulo que correspondente à mistura ternária em partes iguais $(x_1, x_2, x_3) = (1/3, 1/3, 1/3)$.

O planejamento de misturas normalmente requer a presença de todos os componentes, mas pode não ser possível realizar experimentos com certas composições onde, por exemplo, não se obtém resposta do sistema que está sendo medido. Quando essas limitações experimentais ocorrem, é necessário ajustar o planejamento de misturas para as condições em que se pode, efetivamente, realizar as medidas, reduzindo-se a escala original, mas garantindo-se que a mesma distribuição dos experimentos seja obedecida. Isso é feito utilizando-se os pseudocomponentes, que são combinações dos componentes originais, utilizadas para redefinir as coordenadas das misturas em relação ao espaço experimental a ser efetivamente estudado. Neste caso, o planejamento

experimental é aplicado apenas à área delimitada por eles, dentro da qual o modelamento será válido e as variáveis passam a obedecer à desigualdade (equação 2):

$$0 \leq L_i \leq X_i \leq S_i \leq 1 \quad (2)$$

onde:

L_i = limite inferior;

S_i = limite superior;

$i = 1, 2, 3, \dots, q$;

X_i = proporção do pseudocomponente.

A composição dos pseudocomponentes é calculada a partir dos componentes originais, através da equação 3:

$$X_i = \frac{x_i - L_i}{1 - L} \quad (3)$$

onde:

L é obtido pela somatória dos limites inferiores.

O modelamento de misturas consiste em ajustar um modelo matemático polinomial a partir de um planejamento experimental. Para isso, é necessário realizar experimentos pré-selecionados, envolvendo os componentes puros e outras misturas de composição variada.

A função resposta (Y) pode ser expressa como um polinômio de primeiro, segundo ou terceiro grau (CORREA *et al.*, 2004a) e é calculada por regressão, a partir de valores da propriedade obtida experimentalmente envolvendo os componentes puros e outras misturas de composição variada.

O modelo mais simples é o linear, que procura explicar o comportamento de uma propriedade apenas com os resultados obtidos com a utilização de cada componente individualmente, isto é, prever o comportamento de qualquer mistura sem realizar nenhuma mistura (equação 4). Pode-se ter, além deste, o modelo quadrático, que considera os efeitos das interações de dois componentes

(equação 5), e modelo cúbico especial que considera os efeitos das interações dos três componentes (equação 6).

$$Y_i = b_1 * x_1 + b_2 * x_2 + b_3 * x_3 \quad (4)$$

$$Y_i = b_1 * x_1 + b_2 * x_2 + b_3 * x_3 + b_{12} * x_1 * x_2 + b_{13} * x_1 * x_3 + b_{23} * x_2 * x_3 \quad (5)$$

$$Y_i = b_1 * x_1 + b_2 * x_2 + b_3 * x_3 + b_{12} * x_1 * x_2 + b_{13} * x_1 * x_3 + b_{23} * x_2 * x_3 + b_{123} * x_1 * x_2 * x_3 \quad (6)$$

onde:

Y_i = Variável resposta do modelo;

b_i = Coeficientes da equação;

x_i = Proporção do componente na mistura.

Para estimar a falta de ajuste do modelo escolhido, costuma-se preparar misturas de composições diferentes daquelas utilizadas no planejamento, para serem utilizadas como pontos de verificação do modelo.

O modelo ajustado a partir do planejamento de mistura pode ser representado graficamente por uma superfície de resposta. Como exemplo, a Figura 04 mostra uma superfície obtida por um modelo quadrático e as curvas de nível do modelo são apresentadas na Figura 05 (BARROS NETO *et al.*, 2003).

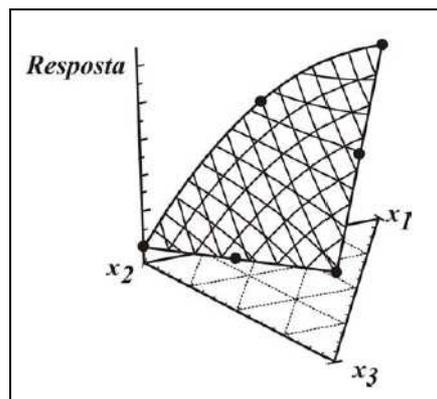


FIGURA 04 – Superfície de resposta de um modelo quadrático de uma mistura de três componentes, visão tridimensional

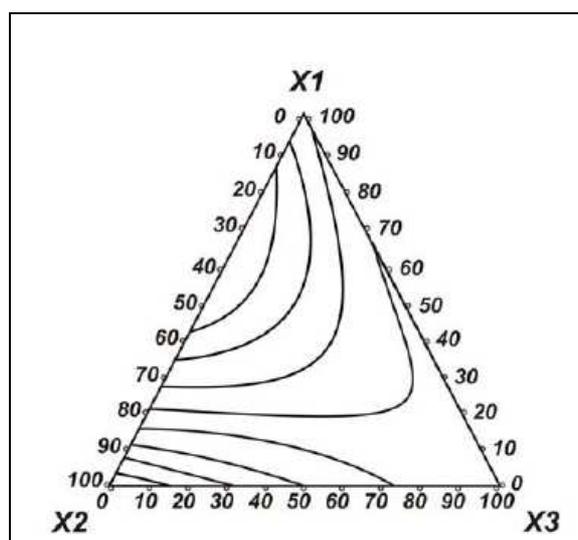


FIGURA 05 – Curvas de nível do modelo quadrático de uma mistura de três componentes

Experimentos que utilizam modelagem de misturas não são freqüentes em pesquisa química e biológica, e menos ainda em digestão de amostras para determinação de íons metálicos por espectrometria atômica.

O planejamento de misturas foi utilizado por de Andrade *et al.* (2001; 2003), que desenvolveram um método eletroanalítico utilizando a técnica de voltametria adsortiva de redissolução em um sistema ternário homogêneo de solventes, minimizando consideravelmente os problemas encontrados na determinação de Mo (VI) em amostras de aço inoxidável, plantas e amostras farmacêuticas. O mesmo sistema ternário foi empregado para a determinação direta de Ni por Coscione *et al.* (2005).

Eiras *et al.* (1994) utilizaram um planejamento de misturas para estudar os efeitos dos solventes água, etanol e metilisobutilcetona na determinação de Cu por espectrometria de absorção atômica e obtiveram uma mistura otimizada dos três solventes, o que proporcionou considerável aumento na sensibilidade do método.

de Andrade *et al.* (1998), otimizaram um método espectrofotométrico para determinação de Mo (VI) com tiocianato utilizando um planejamento experimental de misturas. O Mo foi extraído com α -benzoinoxima em uma mistura de água,

etanol e clorofórmio. A aplicabilidade do método foi testada em duas amostras de aço inox e os resultados foram compatíveis com os valores obtidos por espectrometria de absorção atômica.

Hillig *et al.* (2003) analisaram a viabilidade da utilização do planejamento centróide simplex para modelagem de experimentos com misturas de espécies de madeira na confecção de chapas aglomeradas. As propriedades mecânicas e a densidade das chapas foram explicadas pelo modelo linear, enquanto que para as propriedades de estabilidade dimensional o modelo quadrático foi o mais adequado. Os pesquisadores concluíram que a modelagem de misturas é um método viável para aplicação em experimentos com misturas de espécies para confecção de chapas aglomeradas estruturais.

Durante a confecção de peças cerâmicas, a mistura de diferentes tipos de solo é feita intuitivamente. Contudo, as características desse produto são fortemente dependentes das proporções usadas nessa mistura. Um planejamento em rede simplex foi empregado por Alexandre *et al.* (2001), para prever as propriedades resultantes dessas misturas.

Correa *et al.* (2004a; 2004b) caracterizaram dez formulações constituídas por uma mistura de argilas, feldspato potássico e areia quartzosa, que foram processadas sob condições semelhantes às utilizadas na indústria de revestimento cerâmico. Com os resultados da caracterização foram calculados modelos de regressão relacionando cada propriedade com as proporções de matérias-primas. Os modelos foram usados para delimitar a gama de composições que permite produzir um corpo cerâmico com características de grês porcelânico.

Um método de decomposição de amostras biológicas que resulte em uma completa solubilização do material, retenção de elementos voláteis, redução das contaminações, baixos valores de branco e rapidez é um dos pontos mais críticos de uma análise empregando técnicas espectroanalíticas.

Neste trabalho será desenvolvido um planejamento experimental do tipo simplex-centróide com três componentes para otimizar a proporção de HNO₃, HCl e H₂O₂ na mistura digestora e obter métodos de decomposição aplicáveis a tecidos de moluscos bivalves.

4.7. Espectrometria de Emissão Óptica em Plasma com Acoplamento Indutivo (ICP OES).

Para atender as necessidades de determinar traços de metais em amostras naturais (ambientais, geológicas, biológicas, dentre outras), métodos analíticos altamente sensíveis, seletivos e rápidos estão sendo desenvolvidos. A tendência atual em análise instrumental é o uso de técnicas multielementares com capacidade para determinação de elementos em baixas e altas concentrações.

A Espectrometria de emissão óptica em plasma com acoplamento indutivo está inserida no universo das técnicas espectroanalíticas e é muito usada em química analítica devido à sua capacidade de quantificar macro e micro-constituintes em diversas matrizes.

Os espectrômetros de emissão óptica em plasma com acoplamento indutivo são compostos basicamente por um sistema de introdução de amostras, tocha de quartzo para geração do plasma, fonte de radiofrequência, sistema óptico para permitir a eficiente separação dos diferentes comprimentos de onda e o sistema de detecção (BOSS e FREDEEN, 1997; MONTASER e GOLIGHTLY, 1992; SKOOG e LEARY, 1992).

As fontes de plasma oferecem uma série de vantagens, quando comparadas com outras fontes de atomização, dentre as quais pode-se destacar:

- Espectros de emissão de boa qualidade para vários elementos, o que possibilita uma determinação simultânea;
- Curvas analíticas lineares com até cinco ordens de grandeza;
- Capacidade para determinar baixas concentrações de elementos que tendem a formar óxidos refratários, tais como: B, P, W, U, Zr e Nb.

O plasma pode ser definido como um gás parcialmente ionizado, onde coexistem cátions Ar^+ , elétrons e átomos neutros de Ar. Os íons argônio e os elétrons são as principais espécies condutoras, embora possam estar presentes outros cátions provenientes da amostra em quantidades menores. Os íons argônio, uma vez formados no plasma, são capazes de absorver potência

suficiente de uma fonte externa para manter a temperatura do plasma, no qual o nível de ionização mantém-se indefinidamente (BOSS e FREDEEN, 1997; MONTASER e GOLIGHTLY, 1992, SKOOG e LEARY,1992).

O plasma indutivamente acoplado é formado na extremidade de um dispositivo constituído de três tubos de quartzo concêntricos (tocha), através dos quais flui o argônio principal, auxiliar e nebulizador (BOSS e FREDEEN, 1997; GINÉ-ROSIAS, 1998, SKOOG e LEARY,1992).

A Figura 06 mostra o esquema da tocha (quartzo) que é a configuração que sustenta o plasma, circundada por uma bobina de indução (resfriada a água ou ar) através da qual a energia de até 0,5-2 kW é fornecida, sendo o gerador de frequência de 27 ou 40 MHz.

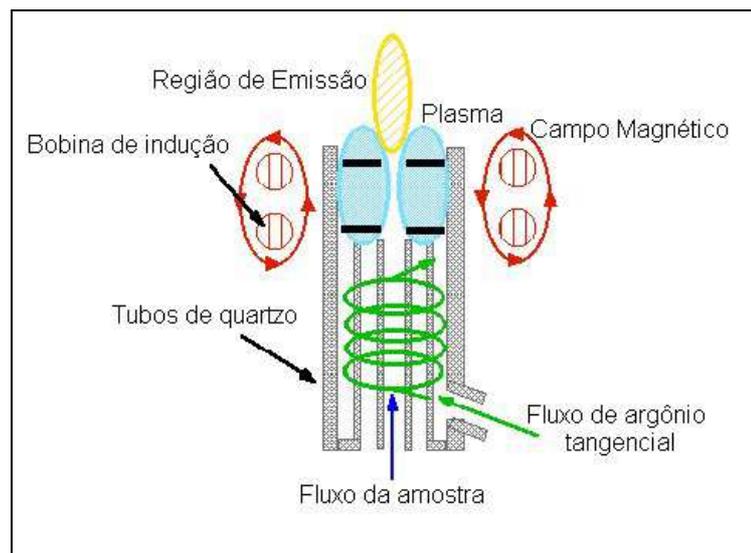


FIGURA 06 – Plasma acoplado indutivamente

Na extremidade da tocha, o plasma é inicialmente formado por meio de uma descarga elétrica produzida por uma bobina Tesla, que ioniza o argônio principal. A temperatura do plasma é bastante elevada e, por isso, é necessário resfriar a tocha. Esta é a função de um fluxo de argônio que flui tangencialmente ao redor das paredes do tubo e que é chamado de gás auxiliar. O fluxo central é

chamado de gás nebulizador e sua função é transportar a amostra, em forma de aerossol, para dentro do plasma.

Uma inovação relativamente recente consiste na utilização de uma tocha axialmente alinhada com o sistema óptico do equipamento, que aumenta consideravelmente a região de observação e, conseqüentemente, a detectabilidade. Entretanto, os efeitos de matriz são, em geral, mais severos nesta configuração. Por outro lado, tais efeitos podem ser minimizados com o uso de uma interface que remove a extremidade menos quente do plasma, onde ocorrem recombinação química e auto-absorção. Além disso, o uso de condições instrumentais otimizadas também favorece a obtenção de medidas com boa exatidão e precisão (BOSS e FREDEEN, 1997; MONTASER e GOLIGHTLY, 1992).

Os elementos facilmente ionizáveis (EIE) em um plasma são aqueles que possuem baixa energia de atomização e ionização, tais como: sódio, potássio, cálcio e lítio. A presença desses elementos no plasma pode resultar na intensificação ou depressão na intensidade do sinal do analito. Segundo Romero *et al.* (1997), esse comportamento pode ser fortemente dependente das condições operacionais do espectrômetro, como potência aplicada e vazão do gás nebulizador.

Mermet (1991) demonstrou que a razão entre as intensidades das linhas atômicas e iônicas do elemento Mg, nas linhas de 285,213 nm (linha atômica) e 280,270 nm (linha iônica), pode ser associada ao tempo de residência do analito no plasma com o aumento ou decréscimo dessa razão. Essa razão representada por Mg II/Mg I tem sido usada como critério prático para avaliar o desempenho analítico e a robustez do plasma frente à presença de interferentes, principalmente Na e Ca. Um plasma robusto tende a minimizar as interferências causadas pelos EIE e pode ser obtido quando for estabelecida uma baixa vazão de nebulização e uma potência da fonte de radiofrequência alta, acima de 1,2 kW (BRENNER *et al.*, 1998; BRENNER e ZANDER, 2000; SILVA *et al.*, 2002).

O termo robustez foi proposto para representar a eficiência da transferência de energia e a resposta do plasma na troca das condições de atomização e excitação e a composição química da solução aspirada (SILVA *et al.*, 2002).

A detectabilidade da técnica de ICP OES não era adequada para a determinação de vários elementos de interesse encontrados nos fluidos e tecidos biológicos, sobretudo aqueles em níveis de traços, entretanto com o advento da tocha configurada axialmente, esse panorama foi modificado. Em geral, quando o analito não é detectado, procedimentos de pré-concentração podem ser utilizados. Outra alternativa é o uso da espectrometria de absorção atômica com aquecimento eletrotérmico e a espectrometria de massas com fonte de plasma, que são técnicas que se apresentam com excelente detectabilidade, possibilitando a determinação de elementos nas amostras biológicas em níveis de concentração que podem alcançar de $\mu\text{g L}^{-1}$ até ng L^{-1} .

Os íons Cd, Pb, Cr, Ni, As e Cu, Zn foram determinados em amostras de moluscos bivalves empregando as técnicas ETAAS e FAAS, respectivamente, após o preparo de uma sopa de moluscos e uma etapa de decomposição da amostra com aquecimento assistido por MW (SAAVEDRA *et al.*, 2004a). Em outro estudo semelhante, os íons foram determinados utilizando as mesmas técnicas, sendo que as amostras foram decompostas em bombas de aço (BEIRAS *et al.*, 2003).

Curtius *et al.* (2003) determinaram As, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Se, V e Zn, em sopa de moluscos e material certificado de referência (NIST 1566a) empregando um espectrômetro de massas com fonte de plasma indutivamente acoplado, com introdução de amostra por vaporização eletrotérmica (ETV-ICP-MS). Vale ressaltar que as concentrações certificadas de Cu, Mn e Zn estão em níveis de $\mu\text{g g}^{-1}$ (66,3; 12,3; 850, respectivamente). Os mesmos íons foram determinados no material certificado e em amostras de ostras, com exceção do Fe e Al, empregando a técnica ICP-MS de alta resolução (GIFFORD *et al.*, 2005).

Alguns trabalhos encontrados na literatura mostraram que a técnica de ICP OES foi empregada para determinação de alguns íons metálicos em amostras de bivalves, entretanto sem proveito da sua potencialidade, pois não utilizaram a sua

capacidade de determinar um número maior de elementos com um intervalo de concentração mais amplo e o uso da tocha com configuração axial, que possibilita a determinação de alguns elementos em baixas concentrações (PEREIRA *et al.*, 2002, CARVALHO *et al.*, 2001; MACHADO *et al.*, 2002).

Como já mencionado e com o objetivo de determinar um maior número possível de elementos constituintes do tecido de moluscos bivalves, a técnica de ICP OES foi utilizada neste trabalho após uma etapa de decomposição da amostra, onde as proporções da mistura reacional foram obtidas através do planejamento de misturas.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Reagentes e Soluções

Todas as soluções foram preparadas com reagentes de grau analítico e água ultrapura obtida do sistema Milli-Q Gradiente (Millipore, USA), com condutividade de $0,054 \mu\text{S cm}^{-1}$.

Todos os materiais utilizados (plásticos e vidros) foram previamente descontaminados em banho de detergente neutro a 5% (v/v) por 24 h, lavados com água ultrapura e logo depois colocados em banho de HNO_3 a 10 % (v/v), por 24 h, lavados com água ultrapura e secos ao ar.

Padrões multielementares de Al, As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, P, Pb, Se, V e Zn foram preparados a partir da diluição das soluções padrões (Merck), de 1000 mg L^{-1} , em ácido, cuja concentração dependia do experimento do planejamento de misturas. As curvas analíticas foram definidas para cinco pontos. As concentrações dos padrões multielementares foram: i) 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e $6,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ de Al, Cu e Fe; ii) 0,02; 0,04; 0,10; 0,20 e $0,40 \mu\text{g mL}^{-1}$ para As, Ba, Cd, Co, Cr, Mn, Mo, Ni, Pb, Se e V; iii) 5,0; 10; 15; 20 e $40 \mu\text{g mL}^{-1}$ para Ca, Mg e Zn; iv) 25; 50; 100; 200 e $300 \mu\text{g mL}^{-1}$ para P.

5.2. Planejamento Experimental de Misturas

5.2.1. Estudo do sistema composto por HCl - HNO_3 - H_2O_2 utilizando um planejamento simplex-centróide

No planejamento simplex-centróide, os pontos nos vértices, arestas e centróide referem-se às amostras puras, binárias e ternárias, respectivamente (Figura 07). Os outros pontos no interior do triângulo correspondem às misturas ternárias adicionais ou axiais.

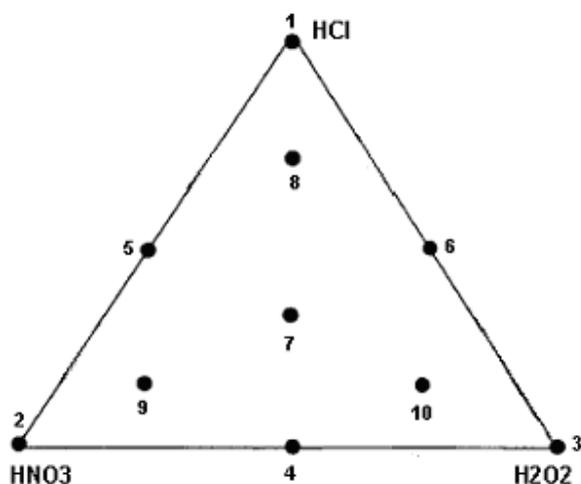


FIGURA 07 – Representação esquemática do planejamento simplex-centróide para o sistema ternário HCl - HNO₃ - H₂O₂

A Tabela 01 apresenta a composição fracionária dos componentes no sistema ternário HNO₃, HCl e H₂O₂, conforme o planejamento mostrado na Figura 07.

TABELA 01 - Composição fracionária dos componentes na mistura HCl – HNO₃ - H₂O₂

Pontos do planejamento	HCl	HNO ₃	H ₂ O ₂
1	0,600	0,200	0,200
2	0,100	0,800	0,100
3	0,200	0,200	0,600
4	0,100	0,450	0,450
5	0,450	0,450	0,100
6	0,400	0,200	0,400
7	0,333	0,333	0,334
8	0,567	0,217	0,216
9	0,216	0,567	0,217
10	0,217	0,216	0,567

Como a otimização de misturas não podia ser realizada com certas composições dos componentes, foi necessário ajustar o planejamento para as condições possíveis (pseudocomponentes). A Tabela 02 apresenta as composições fracionárias dos pseudocomponentes na mistura.

Tabela 02 - Composição fracionária dos pseudocomponentes na mistura HCl – HNO₃ - H₂O₂.

Pontos do planejamento	HCl	HNO ₃	H ₂ O ₂
1	0,714	0,143	0,143
2	0,000	1,000	0,000
3	0,143	0,143	0,714
4	0,000	0,500	0,500
5	0,500	0,500	0,000
6	0,429	0,142	0,429
7	0,333	0,333	0,334
8	0,667	0,167	0,166
9	0,166	0,667	0,167
10	0,167	0,166	0,667

5.2.2. Digestão do material certificado de referência

Para avaliar o efeito das proporções na composição do sistema HNO₃ - HCl - H₂O₂ em dois tipos de decomposição, foi utilizado um material de referência certificado de tecido de ostra, que é uma espécie de molusco bivalve. A Tabela 03 apresenta a concentração dos elementos constituintes desse material (SRM 1566b - NIST).

TABELA 03 – Concentração (mg kg^{-1}) dos principais constituintes do material certificado de referência (1566b – NIST)

Constituinte	Concentração, $\mu\text{g g}^{-1}$	Constituinte	Concentração, $\mu\text{g g}^{-1}$
Al	$197,2 \pm 6,0$	Ni	$1,04 \pm 0,09$
As	$7,65 \pm 0,65$	Pb	$0,308 \pm 0,009$
Ba	$8,6 \pm 0,3$	Se	$2,06 \pm 0,15$
Cd	$2,48 \pm 0,08$	V	$0,577 \pm 0,023$
Co	$0,371 \pm 0,009$	Zn	1424 ± 46
Cu	$71,6 \pm 1,6$	Ca	838 ± 20
Fe	$205,8 \pm 6,8$	Mg	1085 ± 23
Hg total	$0,0371 \pm 0,0013$	K	652 ± 90
Mn	$18,5 \pm 0,2$	Na	3297 ± 53

5.2.2.1. Digestão com aquecimento assistido por microondas

As soluções para cada ponto do planejamento de mistura foram preparadas, pesando-se aproximadamente $0,5000 \pm 0,0001$ g do material de referência (SRM 1566b - NIST), adicionando-se os volumes de HCl 37% e HNO₃ 65% descritos na Tabela 04, e o sistema ficou reagindo por 30 min. Após esse período a H₂O₂ 30% foi adicionada, lentamente, para evitar uma reação brusca e perda de material.

A decomposição foi realizada num forno de microondas, marca Provecto, modelo DGT 100 Plus, utilizando o programa mostrado na Tabela 05.

Quando concluído o programa, os frascos foram retirados do forno, deixou-se esfriar e a solução foi transferida para balão volumétrico de 25,0 mL, completando-se o volume com água ultrapura.

As concentrações de Al, As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mg, Mo, P, Pb, Ni, Se, V e Zn nas soluções resultantes dos experimentos foram determinadas por ICP OES, utilizando-se as condições pré-selecionadas da vazão do gás

nebulizador e a potência de radiofrequência em $0,6 \text{ L min}^{-1}$ e $1,4 \text{ kW}$, respectivamente.

TABELA 04 - Volumes da mistura utilizada no planejamento.

Pontos do planejamento	HCl, mL	HNO ₃ , mL	H ₂ O ₂ , mL
1	3,0	1,0	1,0
2	0,5	4,0	0,5
3	1,0	1,0	3,0
4	0,5	2,3	2,2
5	2,2	2,3	0,5
6	2,0	1,0	2,0
7	1,6	1,7	1,7
8	2,8	1,1	1,1
9	1,1	2,8	1,1
10	1,1	1,1	2,8

TABELA 05 - Programa de aquecimento utilizado no forno de MW.

Etapa	Tempo min	Potência W
1	5	200
2	5	0
3	10	500
4	30	630
5	5	0

5.2.2.2. Digestão com aquecimento em bloco digestor

As soluções para cada ponto do planejamento de mistura foram preparadas, pesando-se aproximadamente $0,5000 \pm 0,0001 \text{ g}$ do material de referência (SRM 1566b - NIST) em um tubo de digestão e adicionando-se o

volume de HCl 37% e HNO₃ 65%, conforme Tabela 04. Os tubos foram colocados em um bloco digestor, marca TECNAL, modelo TE 040/25. Aos tubos foram acoplados condensadores, chamados de “dedo frio”, com água. O sistema ficou reagindo overnight, a uma temperatura de 50°C (Figura 08). Concluída essa etapa, a H₂O₂ 30% foi adicionada e a temperatura do bloco foi aumentada gradualmente, até aproximadamente 140°C, sendo a digestão realizada por 4 h nessa temperatura. Após a digestão os tubos foram retirados do bloco digestor, esfriados à temperatura ambiente e a solução foi transferida para balão volumétrico de 25,0 mL, sendo o volume completado com água ultrapura.



FIGURA 08 – Digestão em bloco digestor e refluxo com “dedo frio”

As concentrações de Al, As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mg, Mo, P, Pb, Ni, Se, V e Zn nas soluções resultantes dos experimentos foram determinadas por ICP OES, utilizando-se as condições pré-selecionadas da vazão do gás nebulizador e a potência de radiofrequência em 0,6 L min⁻¹ e 1,4 kW, respectivamente.

5.2.3. Determinação do carbono orgânico total (TOC) nas soluções

As soluções resultantes do planejamento de mistura por aquecimento assistido por MW e em BD foram analisadas para determinar a concentração do

carbono orgânico total na solução, com o objetivo de avaliar a eficiência da digestão. A presença de compostos orgânicos na solução pode levar a um baixo desempenho analítico do espectrômetro de emissão ótica em plasma, devido às emissões do carbono e de seus compostos, que aumentam o sinal de fundo.

As soluções para determinação do TOC foram preparadas, diluindo-se 300 µL da solução original para 10 mL e ajustando-se o pH para ± 3 . As determinações foram realizadas em um analisador de carbono orgânico total, marca SHIMADZU, mod. TOC 5000.

5.2.4. Determinação da acidez nas soluções

As soluções resultantes do planejamento de mistura por aquecimento assistido por MW e em BD foram analisadas para determinar a acidez residual nas soluções. Uma alíquota de 1,0 mL foi transferida para um erlenmayer de 250 mL e o volume completado para 50 mL com água ultrapura. Adicionou-se 5 gotas de fenolftaleína à solução e titulou-se com solução padronizada de NaOH 0,1 mol L⁻¹.

5.2.5. Seleção do comprimento de onda

Algumas linhas espectrais recomendadas pelo fabricante do espectrômetro foram analisadas, levando-se em consideração a concentração equivalente do background (BEC) e a matriz estudada.

Os comprimentos de onda de macro (Ca, Mg, P, Zn) e micro constituintes (Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Se, V) avaliados nesse trabalho são mostrados na Tabela 06. Esses elementos foram escolhidos, pois estão presentes no material de referência e normalmente são estudados em organismos que habitam áreas contaminadas por efluentes industriais e domésticos.

TABELA 06 – Linhas espectrais estudadas

Elemento	Linha	λ (nm)	Elemento	Linha	λ (nm)
Al	I	308,215	Mg	II	279,077
Al	I	396,152	Mg	II	280,270
As	I	188,979	Mg	II	279,553
As	I	193,696	Mn	II	257,610
As	I	197,197	Mn	II	260,569
As	I	228,812	Mo	II	202,030
Ba	II	233,527	Mo	II	203,844
Ba	II	455,403	P	I	213,617
Ca	II	317,933	P	I	178,221
Ca	II	422,673	Ni	I	232,003
Ca	I	315,887	Ni	II	231,604
Cd	II	214,438	P	I	214,914
Cd	II	226,502	P	I	177,434
Co	II	228,616	Pb	II	220,353
Co	II	238,892	Pb	I	216,999
Cr	II	205,560	Se	I	196,026
Cr	II	206,158	Se	I	203,985
Cu	I	324,754	V	II	292,402
Cu	II	224,700	V	II	309,311
Fe	II	238,204	Zn	I	213,856
Fe	II	239,562	Zn	II	202,548

I = linha atômica; II = linha iônica

5.2.6. Estudo de adição e recuperação de analitos

Nas mesmas condições instrumentais foram executados testes de adição e recuperação de analito, principalmente para os que apresentavam baixas concentrações nas soluções preparadas, visando verificar possíveis efeitos no

sinal analítico. Para isto, em algumas soluções preparadas pelos dois métodos de digestão (0,5 g do material de referência para 25 mL de solução), com a melhor composição dos reagentes, foram adicionadas alíquotas da solução multielementar (As, Cd, Co, Cr, Mo, Ni, Pb Se e V) em concentrações de 0,25; 0,10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 0,04 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

A recuperação do analito adicionado é calculada pela equação 7.

$$\%REC = [(C_1 - C_2)/C_3]*100 \quad (7)$$

REC = recuperação do analito na solução (%)

C_1 = concentração determinada na solução adicionada

C_2 = concentração determinada na solução não adicionada

C_3 = concentração do analito adicionada

Para calcular o intervalo de confiança a seguinte equação (equação 8) foi utilizada:

$$X \pm \frac{t \cdot S}{N^{1/2}} \quad (8)$$

X = concentração média

t = valor de t Student para $\alpha = 0,05$

S = desvio padrão da média

N = número de determinações

5.3. Avaliação do Desempenho Analítico do ICP OES

As determinações dos micro e macro constituintes do material biológico foram realizadas em um espectrômetro de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente, modelo Optima 3000 DV (*Dual view*, Perkin Elmer, Norwalk, CT, EUA) equipado com: a) uma fonte de radiofrequência (RF) de 40 MHz; b) detector

de estado sólido (SCD); c) nebulizador de fluxo cruzado (*cross-flow*) com uma câmara de nebulização do tipo duplo passo (*Scott*); d) tubo injetor central da tocha com diâmetro interno de 2,0 mm. O equipamento possui uma interface que usa uma elevada vazão de argônio (18 L min^{-1}) introduzido perpendicularmente à tocha, para remoção de região de menor temperatura do plasma (*cross-flow shear gas*).

A otimização instrumental foi avaliada de forma univariada, utilizando-se soluções com a melhor composição do sistema HNO_3 - HCl - H_2O_2 obtidas através do planejamento de misturas, tanto para aquecimento assistido por MW quanto para aquecimento em BD. Os parâmetros avaliados foram: potência da radiofrequência (RF) e vazão do gás de nebulização.

O efeito da potência de radiofrequência foi avaliado variando-se a potência de 1,2 a 1,5 kW e mantendo-se a vazão do gás de nebulização em $0,8 \text{ L min}^{-1}$, usando as configurações axial e radial da tocha.

O efeito da vazão do gás nebulizador foi avaliado fixando-se a potência em 1,4 kW e variando-se a vazão do gás de nebulização de $0,6$ a $0,9 \text{ L min}^{-1}$, usando as configurações axial e radial da tocha. As condições de operação do espectrômetro são apresentadas na Tabela 07.

TABELA 07 - Parâmetros instrumentais do ICP OES

Parâmetros	Condições
Potência aplicada (kW)	1,2 – 1,5
Vazão do gás nebulizador (L min^{-1})	0,6 – 0,9
Vazão do gás auxiliar (L min^{-1})	0,5
Vazão do plasma (L min^{-1})	15
Vazão de bombeamento (mL min^{-1})	1,0
Diâmetro do tubo injetor (mm)	2,0
Altura da visão radial (mm)	15
Correção do fundo	2 pontos
Tempo de integração (s) e de leitura (s)	1 – 5; 30
Replicatas	3
Interface	Shear gas

5.4. Figuras de Mérito

O BEC é a concentração que equivale ao sinal de fundo e corresponde à radiação que é produzida quando o analito não está presente e depende da resolução instrumental e das condições de excitação. O BEC é um indicador da sensibilidade relativa da linha de emissão e se esse parâmetro for maior do que o normal freqüentemente indica problemas com a eficiência no sistema de introdução da amostra (BOSS e FREDEEN, 1997).

O BEC, o limite de detecção (LOD), o limite de quantificação (LOQ) e a robustez (razão MgII/MgI) foram determinados para avaliar o desempenho dos procedimentos propostos.

A razão de intensidade Mg II/Mg I foi determinada utilizando as soluções obtidas do planejamento de misturas.

Para determinar o BEC foram utilizados brancos provenientes das digestões com aquecimento assistido por MW e com BD e uma solução padrão multielementar de maior concentração da curva analítica. A concentração ácida final dos brancos foi de 0,45 mol L⁻¹ e de 0,36 mol L⁻¹, para as digestões por MW e BD, respectivamente.

As condições operacionais do espectrômetro foram ajustadas empregando-se uma vazão de nebulização de 0,8 L min⁻¹ e uma potência de 1,4 kW. Foram feitas 11 leituras dos brancos e do padrão para cada íon nas duas configurações da tocha.

O BEC, SBR, LOD foram calculados de acordo com as equações 9, 10 e 11, respectivamente (THOMSEN, 2000). O LOQ foi calculado segundo Thomsen (2003), equação 12. Os LOD e LOQ expressos em µg g⁻¹ foram calculados com as equações 13 e 14.

$$\text{BEC} = \frac{C_{\text{analito}}}{\text{SBR}} \quad (9)$$

$$\text{SBR} = \frac{(I_{\text{analito}} - I_{\text{branco}})}{I_{\text{branco}}} \quad (10)$$

$$\text{LOD} = \frac{3 \times \text{RSD}_{\text{branco}} \times \text{BEC}}{100} \quad (11)$$

$$\text{LOQ} = 3,3 \times \text{LOD} \quad (12)$$

$$\text{LOD} (\mu\text{g g}^{-1}) = \text{LOD} \times F \quad (13)$$

$$\text{LOQ} (\mu\text{g g}^{-1}) = 3,3 \times \text{LOD}' \quad (14)$$

BEC – Concentração equivalente do background

SBR – razão sinal analítico /sinal de fundo

$I_{\text{analítico}}$ – intensidade do sinal analítico (n = 11)

I_{branco} – intensidade do sinal do branco (n = 11)

C_{analito} – concentração do analito

LOD – Limite de detecção em $\mu\text{g mL}^{-1}$

LOQ – Limite de quantificação em $\mu\text{g mL}^{-1}$

$\text{RSD}_{\text{branco}}$ – desvio padrão relativo do branco (n = 11)

F = 50 (25 mL de solução/0,5 g de amostra) – fator para calcular a concentração em $\mu\text{g g}^{-1}$

5.5. Coleta e Biometria das Amostras de Moluscos Bivalves

A espécie de molusco *Anomalocardia brasiliiana* foi escolhida para este estudo, por ser um organismo de biologia conhecida, de fácil coleta, de vasta distribuição geográfica e por filtrar a água da qual retira seu alimento e poder responder às variações das concentrações de poluentes (ADORNO, 2003).

Duas campanhas de amostragem foram realizadas, a primeira entre os dias 21 e 23 de setembro de 2002 e a segunda entre os dias 13 e 14 de outubro de 2004. Com o auxílio de mapa e tábuas de marés, foram estabelecidas 04 (quatro) estações de amostragem em zonas no interior do manguezal na região de São Francisco do Conde e Madre de Deus – Recôncavo Baiano. Os locais de amostragem foram selecionados de forma a se obter uma melhor representatividade da área de estudo, relacionada às influências das atividades

petrolíferas. A localização das estações de amostragem (Tabela 08) foi realizada através de GPS (Sistema de Posicionamento Global).

TABELA 08 – Coordenadas geográficas das estações de amostragem

Estação	Nome	Coordenadas
1	Coqueiro Grande	12° 43'30,9 S 38° 32'58,7" W
2	Caípe	12° 43'19,4" S 38° 34'40,3" W
3	Fábrica de Asfalto	12° 44'10,6" S 38° 37'14,4" W
4	Suape	12° 44'08,2" S 38° 35'55,3" W

Como os moluscos bivalves são relativamente sedentários e possuem o hábito de viverem enterrados no sedimento, a amostragem foi realizada com a remoção do sedimento até sua localização (Figuras 09 e 10).



FIGURA 09 – Remoção do sedimento para coleta de *Anomalocardia brasiliiana*

FIGURA 10 – Coleta de *Anomalocardia brasiliana*

Em média, 60 indivíduos foram coletados em cada estação de amostragem e acondicionados em sacos plásticos com água do ambiente. Os sacos foram identificados por estações e encaminhados para o Laboratório de Estudos Biogeoquímicos de Manguezais, do Instituto de Geociências da UFBA (LEM/IGEO/UFBA). No laboratório, os indivíduos foram transferidos para baldes de 20 L, os quais foram preenchidos com água superficial coletada nas próprias estações de amostragem. Bombas de aquário foram instaladas no sistema para oxigenar a água durante 24 h, para haver a depuração (purificação por processo natural) dos moluscos (PEMPKOWIAK *et al.*, 1999; ZAUKE *et al.*, 2003).

Após o período de depuração, os indivíduos foram identificados e, individualmente, foi medido o comprimento total da concha (mm), com auxílio de um paquímetro (Figura 11). Para as medidas, tomou-se como base a maior distância entre o umbo (saliência localizada na zona antero-dorsal de cada valva) e a margem oposta da concha (TOMAZELLI, 2003). A concha do indivíduo foi aberta (Figura 12), utilizando-se espátula plástica. O sexo do indivíduo foi determinado retirando-se uma porção da gônada (órgão sexual do molusco) com pipeta de Pasteur e identificado através de um microscópio. O tecido mole (carne) foi cuidadosamente separado da valva, colocado em frasco plástico e congelado, para posterior análise química (MACHADO *et al.*, 2002; SOKOLOWSKI *et al.*, 2004).



FIGURA 11 – Medida do comprimento da concha



FIGURA 12 – Concha aberta para retirar o tecido mole

5.6. Estudo da Exatidão e Comparação entre os Métodos de Digestão

Com as melhores proporções de HCl - HNO₃ - H₂O₂ determinadas pelo planejamento de misturas, testes estatísticos foram realizados com o objetivo de verificar se existiam diferenças significativas entre os resultados obtidos com aquecimento em forno de MW e aquecimento em BD. O material de referência foi empregado para a realização dos testes.

Porções de 0,5 g do material de referência foram colocadas em tubos do bloco digestor. Aos tubos foram adicionados 1,0 mL de HCl 37% e 1,0 mL de HNO₃ 65% e acoplado um “dedo frio” para promover o refluxo dos reagentes. O sistema ficou reagindo overnight, a uma temperatura de 50°C. Concluída esta etapa, 3,0 mL de H₂O₂ 30% foram adicionados e a temperatura do bloco foi aumentada gradualmente até aproximadamente 140°C, sendo a digestão realizada por 4 h nessa temperatura. Após a digestão os tubos foram retirados do bloco digestor e deixou-se esfriar. A solução foi transferida para balão volumétrico de 25,0 mL e o volume foi completado com água ultrapura.

Cinco alíquotas de 0,5 g do material foram transferidas para os frascos de microondas, aos quais foram adicionados 1,6 mL de HCl 37% e 1,7 mL de HNO₃ 65%. Após 30 minutos de reação, adicionou-se 1,7 mL de H₂O₂ 30%. Os frascos foram tampados e colocados no forno de microondas, seguindo-se o programa da Tabela 05. Após a digestão os frascos foram retirados do forno e deixou-se esfriar. A solução foi transferida para balão volumétrico de 25,0 mL e o volume foi completado com água ultrapura.

As concentrações de Al, As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mg, Ni, Pb, Se, V, Ni e Zn nas soluções resultantes dos dois métodos propostos foram determinadas por ICP OES, utilizando-se as condições da vazão do gás nebulizador e a potência de radiofrequência em 0,8 L min⁻¹ e 1,4 kW, respectivamente.

5.7. Digestão dos Indivíduos de *Anomalocardia brasiliana*

Como o objetivo do trabalho foi determinar a concentração de íons metálicos em cada molusco coletado, foi estabelecido um número de 30 indivíduos para representar estatisticamente a população na estação de coleta (SAAVEDRA *et al.*, 2004a; CARVALHO *et al.*, 2001). Os indivíduos foram escolhidos aleatoriamente e o percentual de machos e fêmeas coletados nas estações foi mantido para determinar a concentração dos íons metálicos.

Os frascos contendo os tecidos dos indivíduos foram retirados do freezer e deixados atingir a temperatura ambiente. A carne foi transferida para um tubo do bloco digestor e pesada. Aos tubos foram adicionados 1,0 mL de HCl 37% e 1,0 mL de HNO₃ 65% e acoplado um “dedo frio”. O sistema ficou reagindo overnight a uma temperatura de 50°C. Concluída essa etapa, 3,0 mL de H₂O₂ 30% foram adicionados e a temperatura do bloco foi aumentada gradualmente, até aproximadamente 140°C, e a digestão foi realizada por 4 h nessa temperatura. Após a digestão os tubos foram retirados do bloco digestor e deixou-se esfriar. A solução foi transferida para balão volumétrico de 25,0 mL e o volume foi completado com água ultrapura. A concentração de Al, As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mg, Mo, Ni, P, Pb, Se, V e Zn foi determinada utilizando-se a técnica de ICP OES em condições selecionadas neste trabalho.

5.8. Determinação da Umidade nas amostras

A determinação da umidade nos tecidos dos moluscos se fez necessária, uma vez que a concentração das espécies de interesse nesse tipo de amostra, normalmente, é expressa em peso seco.

A umidade dos moluscos foi determinada, separadamente, utilizando-se indivíduos de *Annomalocardia brasiliiana* de cada estação, para obter-se uma média de umidade, uma vez que a digestão foi realizada por indivíduo.

Inicialmente, os pesa-filtros foram levados à estufa e deixados por 24 h na temperatura de 105°C. A seguir, foram transferidos para um dessecador e depois pesados. Com a amostra na temperatura ambiente, e sem água, cada indivíduo foi pesado e deixado na estufa por 24 h, na temperatura de 105°C (SAAVEDRA *et al.*, 2004a; CARVALHO *et al.*, 2001; ASTM, 2000).

5.9. Estudo de Interferentes e Adição do Padrão Interno

Para avaliar o efeito de interferência no sistema proposto, foram preparadas soluções contendo 100 mg L^{-1} de Ca, Mg e Zn; 200 mg L^{-1} de Na; 300 mg L^{-1} de K e P, a partir de soluções padrões (Merck), de 1000 mg L^{-1} .

O ítrio foi empregado como padrão interno para avaliar a interferência da matriz. Alíquotas da solução de Y 1000 mg L^{-1} foram adicionadas na solução de interferentes, ficando com concentração de 2 mg L^{-1} .

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Planejamento Experimental de Misturas

Um planejamento experimental de misturas foi desenvolvido para determinar a melhor composição de um sistema reacional composto por HNO_3 65%, HCl 37% e H_2O_2 30%, visando obter métodos de digestão aplicáveis a tecidos de moluscos bivalves.

Um material de referência foi digerido empregando dois tipos de decomposição: aquecimento assistido por microondas e aquecimento em bloco digestor. Experimentos prévios mostraram que era necessária a utilização de todos os reagentes (HNO_3 , HCl e H_2O_2) para a realização do planejamento. Os componentes envolvidos no planejamento foram convertidos em valores de pseudocomponentes, de acordo com o descrito na revisão bibliográfica.

As digestões foram realizadas, obtendo-se soluções para cada experimento do planejamento e, a seguir, foram avaliados alguns parâmetros para subsidiar a escolha da composição mais adequada da mistura. Os parâmetros estudados preliminarmente foram: i) estudo prévio das condições instrumentais; ii) carbono orgânico residual iii) acidez final; iv) escolha do comprimento de onda; v) determinação da melhor proporção para o sistema $\text{HCl} - \text{HNO}_3 - \text{H}_2\text{O}_2$; vi) determinação da concentração dos íons metálicos nas condições otimizadas; vii) estudo da adição e recuperação de analitos nas condições otimizadas.

6.1.1. Determinação do carbono orgânico total (TOC) nas soluções

A presença do carbono em uma solução pode produzir emissão não específica, que afeta a detecção devido ao aumento do BEC. Por esse motivo é importante que os reagentes empregados em uma decomposição possuam um poder oxidante suficiente para oxidar a matéria orgânica e que o teor de carbono residual seja mínimo.

A Tabela 09 apresenta a concentração do TOC nas soluções analisadas, que variou de 0,04 a 0,20% para aquecimento em forno de MW, e de 0,40 a 0,64% no aquecimento com bloco digestor. Observa-se que a concentração do carbono orgânico ficou mais elevada nas soluções onde a digestão foi realizada com aquecimento no bloco digestor. Segundo informações do fabricante, a temperatura dentro dos frascos atinge 180°C, quando altas potências são usadas na digestão. A temperatura empregada no bloco digestor foi de 140°C. Possivelmente, uma temperatura maior na digestão por MW pode ter favorecido a melhor oxidação da matéria orgânica nas amostras digeridas por esse método.

Além disso, pode-se ressaltar que nas soluções onde os reagentes HNO₃ e H₂O₂ estão em maiores proporções (Tabela 02, Material e Métodos), a concentração do TOC é menor, confirmando os dados obtidos por Araújo *et al.* (2002) que observaram uma diminuição de resíduos e de carbono orgânico residual quando maiores volumes de H₂O₂ foram utilizados.

O teor de carbono orgânico total nas soluções estudadas está entre 0,001 e 1%, intervalo considerado adequado na determinação de íons metálicos por ICP OES nessas soluções, pois os efeitos indesejáveis do carbono não afetam a detectabilidade dos analitos.

TABELA 09 – Concentração de carbono orgânico total (TOC)

Pontos do planejamento	TOC, %	
	Aquecimento por MW	Aquecimento com BD
1	0,20	0,52
2	0,06	0,43
3	0,05	0,50
4	0,05	0,40
5	0,08	0,40
6	0,19	0,64
7	0,04	0,46
8	0,17	0,49
9	0,08	0,41
10	0,12	0,50

6.1.2. Determinação da acidez nas soluções

A acidez das soluções foi determinada para avaliar a concentração residual dos ácidos utilizados, pois soluções com elevada acidez podem afetar os processos de nebulização, de excitação-nebulização e as espécies presentes no plasma. Propriedades físicas como viscosidade e tensão superficial afetam a formação do aerossol envolvendo gotículas da solução dispersas no gás argônio (KRUG *et al.* 2002).

Essa determinação foi realizada, titulando-se uma alíquota da solução final com solução de hidróxido de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. A concentração ácida final foi calculada e os resultados são apresentados na Tabela 10, podendo-se observar que a acidez das soluções provenientes das duas formas de digestão não variou significativamente. Pode-se destacar também, que a acidez foi menor nos experimentos de n^{os} 3 e 10, onde o volume de H_2O_2 está em maiores proporções e no experimento n^o 7, no qual as proporções de HNO_3 , HCl e H_2O_2 são iguais (Tabela 02, Material e Métodos).

Crispino (2005) argumenta que o uso de maiores quantidades de H_2O_2 pode gerar soluções com acidez final menor, adequadas à determinação dos elementos de interesse por ICP OES.

TABELA 10 – Acidez das soluções resultantes do planejamento de mistura.

Pontos do planejamento	Acidez, %	Acidez, %
	Aquecimento nor MW	Aquecimento com BD
1	3,5	2,8
2	3,7	5,6
3	1,3	1,5
4	1,6	2,3
5	3,5	3,3
6	3,2	2,0
7	1,8	1,6
8	3,3	2,2
9	3,2	3,2
10	1,7	1,1

6.1.3. Seleção do comprimento de onda

A escolha da linha espectral adequada para a determinação dos elementos de interesse no material de referência certificado foi realizada com a potência de 1,4 kW e a vazão do gás de nebulização de 0,6 L min⁻¹, nas duas configurações da tocha.

Os comprimentos de onda adequados para as medidas de emissão dos analitos devem atender alguns critérios, tais como aqueles definidos por Boss e Fredeen, 1997:

- A concentração dos elementos deve estar na faixa de trabalho da linha e quando o analito apresentar uma concentração acima dessa faixa, um outro comprimento de onda menos sensível deve ser usado;
- a origem da linha de emissão, isto é, atômica ou iônica, pois algumas linhas podem ser menos vulneráveis a interferências;

- o as linhas selecionadas devem estar livres de interferências espectrais.

As linhas selecionadas foram aquelas que apresentaram os melhores valores de recuperação de cada espécie no material certificado, levando-se em consideração todos os critérios recomendados. A Tabela 11 mostra os comprimentos de onda selecionados para a determinação dos elementos de interesse na matriz utilizada.

TABELA 11 – Comprimentos de onda selecionados.

Elemento	Linha	Comprimento de onda, nm	Elemento	Linha	Comprimento de onda, nm
Al	I	396,153	Mg	II	279,077
As	I	188,979	Mn	II	257,610
Ba	II	455,403	Mo	II	202,031
Ca	II	315,887	Ni	I	232,003
Cd	II	226,502	P	I	214,914
Co	II	228,616	Pb	II	220,353
Cr	II	205,560	Se	I	196,026
Cu	I	324,754	V	II	292,402
Fe	II	238,204	Zn	I	213,856

I – Raia atômica; II – Raia iônica

6.1.4. Estudo do sistema composto por HCl - HNO₃ - H₂O₂ utilizando um planejamento simplex-centróide

Com as condições pré-selecionadas do espectrômetro em 0,6 L min⁻¹ para a vazão do gás nebulizador e 1,4 kW para potência aplicada, na configuração axial e nos comprimentos de onda selecionados, foi determinada a concentração dos elementos de interesse para os pontos do planejamento na Tabela 02, Material e Métodos.

As Tabelas 12 a 23 apresentam a recuperação média dos elementos Al, As, Ba, Ca, Cd, Co, Cu, Fe, Mg, Mn, V e Zn determinados no material de referência

NIST 1556b, que foi digerido por aquecimento assistido por MW e aquecimento em BD. As concentrações dos elementos Cr, Mo e P não constam no certificado do material de referência.

TABELA 12 – Recuperação (%) de Al para o planejamento de misturas HCl - HNO₃ - H₂O₂, (P= 1,4 kW ; V_{neb} = 0,6 L min⁻¹).

Pontos do planejamento	Aquecimento por MW			Aquecimento em BD		
	Réplica 1	Réplica 2	Média	Réplica 1	Réplica 2	Média
1	81	70	76	53	46	49
2	60	71	65	54	39	47
3	75	80	78	55	36	45
4	77	82	79	75	61	68
5	64	78	71	15	38	26
6	*	*	*	40	18	29
7	79	68	74	57	88	73
8	78	**	78	*	*	*
9	76	70	74	39	41	40
10	75	78	77	38	47	43

* Não houve digestão do material de referência neste ponto do planejamento

** Solução desprezada

TABELA 13 – Recuperação (%) de As para o planejamento de misturas HCl - HNO₃ - H₂O₂, (P= 1,4 kW ; V_{neb} = 0,6 L min⁻¹).

Pontos do planejamento	Aquecimento por MW			Aquecimento em BD		
	Réplica 1	Réplica 2	Média	Réplica 1	Réplica 2	Média
1	92	89	91	85	78	81
2	103	106	105	78	76	77
3	99	98	99	94	89	92
4	95	107	101	106	97	101
5	97	102	100	74	72	73
6	*	*	*	86	83	84
7	111	102	107	90	93	91
8	98	**	98	*	*	*
9	104	97	101	89	90	90
10	94	102	98	88	95	89

* Não houve digestão do material de referência neste ponto do planejamento

** Solução desprezada

TABELA 14 – Recuperação (%) de Ba para o planejamento de misturas HCl - HNO₃ - H₂O₂, (P= 1,4 kW ; V_{neb} = 0,6 L min⁻¹).

Pontos do planejamento	Aquecimento por MW			Aquecimento em BD		
	Réplica 1	Réplica 2	Média	Réplica 1	Réplica 2	Média
1	93	88	90	86	63	75
2	84	87	86	112	68	90
3	86	85	86	94	55	74
4	84	92	88	139	117	128
5	87	90	89	**	68	68
6	*	*	*	31	**	31
7	96	84	90	93	**	93
8	85	**	85	*	*	*
9	94	80	86	54	37	46
10	86	90	88	42	67	52

* Não houve digestão do material de referência neste ponto do planejamento

** Solução desprezada

TABELA 15 – Recuperação (%) de Ca para o planejamento de misturas HCl - HNO₃ - H₂O₂, (P= 1,4 kW ; V_{neb} = 0,6 L min⁻¹).

Pontos do planejamento	Aquecimento por MW			Aquecimento em BD		
	Réplica 1	Réplica 2	Média	Réplica 1	Réplica 2	Média
1	97	102	100	96	88	92
2	100	101	100	75	74	75
3	101	96	98	101	94	98
4	98	109	103	97	94	96
5	100	104	102	89	79	84
6	*	*	*	96	97	96
7	106	97	102	98	95	97
8	98	**	98	*	*	*
9	102	95	99	94	93	94
10	94	101	98	87	101	94

* Não houve digestão do material de referência neste ponto do planejamento

** Solução desprezada

TABELA 16 – Recuperação (%) de Cd para o planejamento de misturas HCl - HNO₃ - H₂O₂, (P= 1,4 kW ; V_{neb} = 0,6 L min⁻¹).

Pontos do planejamento	Aquecimento por MW			Aquecimento em BD		
	Réplica 1	Réplica 2	Média	Réplica 1	Réplica 2	Média
1	97	113	105	96	87	92
2	111	102	107	62	68	65
3	104	104	104	105	95	100
4	100	109	105	97	92	94
5	108	105	106	83	77	80
6	*	*	*	96	94	95
7	119	100	110	97	94	96
8	84	**	84	*	*	*
9	115	100	108	90	91	90
10	94	105	100	86	98	92

* Não houve digestão do material de referência neste ponto do planejamento

** Solução desprezada

TABELA 17 – Recuperação (%) de Co para o planejamento de misturas HCl - HNO₃ - H₂O₂, (P= 1,4 kW ; V_{neb} = 0,6 L min⁻¹).

Pontos do planejamento	Aquecimento por MW			Aquecimento em BD		
	Réplica 1	Réplica 2	Média	Réplica 1	Réplica 2	Média
1	81	67	74	54	54	54
2	121	94	108	14	40	27
3	81	94	87	121	54	88
4	81	81	81	81	52	66
5	107	67	87	40	40	40
6	*	*	*	80	54	67
7	161	80	121	81	67	74
8	67	**	67	*	*	*
9	121	67	94	54	54	54
10	94	108	101	120	67	94

* Não houve digestão do material de referência neste ponto do planejamento

** Solução desprezada

TABELA 18 – Recuperação (%) de Cu para o planejamento de misturas HCl - HNO₃ - H₂O₂, (P= 1,4 kW ; V_{neb} = 0,6 L min⁻¹).

Pontos do planejamento	Aquecimento por MW			Aquecimento em BD		
	Réplica 1	Réplica 2	Média	Réplica 1	Réplica 2	Média
1	93	128	111	97	88	92
2	88	89	89	70	69	70
3	93	91	92	94	89	92
4	87	97	92	88	86	87
5	93	98	95	81	73	77
6	*	*	*	90	90	90
7	97	91	94	89	85	87
8	93	**	93	*	*	*
9	94	87	90	85	85	85
10	88	96	92	80	91	85

* Não houve digestão do material de referência neste ponto do planejamento

** Solução desprezada

TABELA 19 – Recuperação (%) de Fe para o planejamento de misturas HCl - HNO₃ - H₂O₂, (P= 1,4 kW ; V_{neb} = 0,6 L min⁻¹).

Pontos do planejamento	Aquecimento por MW			Aquecimento em BD		
	Réplica 1	Réplica 2	Média	Réplica 1	Réplica 2	Média
1	96	99	97	88	82	83
2	91	93	92	70	71	70
3	98	93	96	93	86	89
4	88	98	93	87	87	87
5	95	101	98	80	69	74
6	*	*	*	91	89	90
7	101	97	99	92	89	90
8	95	**	95	*	*	*
9	97	89	93	87	88	88
10	94	101	98	80	92	86

* Não houve digestão do material de referência neste ponto do planejamento

** Solução desprezada

TABELA 20 – Recuperação (%) de Mg para o planejamento de misturas HCl - HNO₃ - H₂O₂, (P= 1,4 kW ; V_{neb} = 0,6 L min⁻¹).

Pontos do planejamento	Aquecimento por MW			Aquecimento em BD		
	Réplica 1	Réplica 2	Média	Réplica 1	Réplica 2	Média
1	95	100	97	94	86	90
2	97	98	98	76	74	75
3	99	95	97	98	94	96
4	96	107	101	93	92	92
5	98	104	101	86	79	82
6	*	*	*	94	94	94
7	104	97	100	96	92	94
8	99	**	99	*	*	*
9	99	93	96	91	91	91
10	93	101	97	84	97	91

* Não houve digestão do material de referência neste ponto do planejamento

** Solução desprezada

TABELA 21 – Recuperação (%) de Mn para o planejamento de misturas HCl - HNO₃ - H₂O₂, (P= 1,4 kW ; V_{neb} = 0,6 L min⁻¹).

Pontos do planejamento	Aquecimento por MW			Aquecimento em BD		
	Réplica 1	Réplica 2	Média	Réplica 1	Réplica 2	Média
1	94	98	96	93	84	88
2	96	96	96	74	73	74
3	97	92	94	98	92	95
4	94	103	98	90	90	90
5	97	101	99	84	77	80
6	*	*	*	93	92	93
7	102	94	98	94	90	92
8	95	**	95	*	*	*
9	98	89	94	89	89	89
10	9	99	95	85	95	90

* Não houve digestão do material de referência neste ponto do planejamento

** Solução desprezada

TABELA 22 – Recuperação (%) de V para o planejamento de misturas HCl - HNO₃ - H₂O₂, (P= 1,4 kW ; V_{neb} = 0,6 L min⁻¹).

Pontos do planejamento	Aquecimento por MW			Aquecimento em BD		
	Réplica 1	Réplica 2	Média	Réplica 1	Réplica 2	Média
1	95	95	95	78	78	78
2	104	95	99	26	69	46
3	104	95	99	87	69	78
4	69	95	82	60	67	64
5	103	95	99	34	59	47
6	*	*	*	77	86	82
7	112	78	95	69	78	74
8	86	**	86	*	*	*
9	104	86	95	52	78	65
10	86	95	91	78	78	78

* Não houve digestão do material de referência neste ponto do planejamento

** Solução desprezada

TABELA 23 – Recuperação (%) de Zn para o planejamento de misturas HCl - HNO₃ - H₂O₂, (P= 1,4 kW ; V_{neb} = 0,6 L min⁻¹).

Pontos do planejamento	Aquecimento por MW			Aquecimento em BD		
	Réplica 1	Réplica 2	Média	Réplica 1	Réplica 2	Média
1	94	98	96	92	84	88
2	95	97	96	73	75	74
3	98	92	95	97	91	94
4	91	101	96	92	89	90
5	96	98	97	86	78	82
6	*	*	*	92	92	92
7	102	94	98	94	90	92
8	94	**	94	*	*	*
9	98	92	95	89	88	88
10	92	96	94	81	96	88

* Não houve digestão do material de referência neste ponto do planejamento

** Solução desprezada

Avaliando os resultados apresentados nas Tabelas 12 a 23 para o aquecimento em forno de MW pode-se verificar que os elementos As, Ca, Fe, Mg,

Mn e Zn apresentaram valores de recuperação média de 90 a 107% em todos os pontos do planejamento. Os elementos Cd, Cu e V, em pelo menos um ponto do planejamento apresentaram uma recuperação média abaixo ou acima do intervalo de 90 - 110%. Excluindo esses valores que não estão no intervalo, a média da recuperação ficou em torno de 107, 93 e 96%, respectivamente.

Observa-se que os pontos 2 e 5 do planejamento na digestão com aquecimento no BD apresentaram recuperações mais baixas comparados aos outros pontos, para os elementos As, Ca, Cd, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn. Entretanto, o aquecimento em BD foi eficiente em alguns pontos do planejamento, uma vez que revelou uma recuperação média de 83 a 101% para esses elementos. O Co e V apresentaram recuperação menor do que 90% em todos os pontos do planejamento.

O Al foi o elemento que apresentou uma baixa recuperação tanto para a digestão com aquecimento em MW como para o bloco digestor.

6.1.5. Determinação da melhor composição para o sistema HCl - HNO₃ - H₂O₂

Para estudar o efeito da composição da mistura na variável resposta, pode-se utilizar a modelagem de misturas. A modelagem consiste em ajustar um modelo matemático polinomial a partir de um planejamento experimental. Numa mistura de três componentes pode-se ter modelos quadráticos que consideram os efeitos das interações de dois componentes e modelos cúbicos que analisam os efeitos das interações dos três componentes. Neste estudo foram testados os modelos quadrático e cúbico especial, tendo em vista decidir qual deles descreveria o comportamento do sistema para cada elemento determinado (BARROS NETO *et al.*, 2003; MASSART *et al.*, 2003).

A técnica mais usada para avaliar estatisticamente a qualidade do ajuste de um modelo é a Análise de Variância (ANOVA). Esse método permite identificar quais as variâncias significativas e estabelece meios para estimar seus efeitos (BARROS NETO *et al.*, 2003; MASSART *et al.*, 2003).

Em um modelo ajustado, a diferença entre o valor observado e o valor previsto deve ser mínima, ou seja, os desvios dos valores previstos em relação aos valores experimentais pelo modelo devem ser semelhantes aos erros experimentais dos valores observados. Outro parâmetro avaliado é a significância da regressão do modelo, que consiste em verificar se os termos do modelo têm algum efeito sobre a resposta (BARROS NETO *et al.*, 2003).

Para avaliar a adequação do modelo utiliza-se o valor do F_{calc} (F calculado), obtido no teste da ANOVA e o F_{tab} (F tabelado) encontrado em tabelas estatísticas. Para que o modelo esteja bem ajustado, ou seja, não haja falta de ajuste, é necessário que $F_{\text{calc}} < F_{\text{tab}}$, nos níveis de confiança de 95%. A regressão do modelo é significativa se $F_{\text{calc}} > F_{\text{tab}}$.

Visando obter a melhor composição do sistema HCl - HNO₃ - H₂O₂, uma modelagem foi elaborada utilizando os valores de recuperação dos íons metálicos para os dois tipos de digestão (Tabelas 12 a 23) como matriz de respostas e como matriz de planejamento foram utilizados os valores dos pseudocomponentes (Tabela 02, Material e Métodos). Na realização da modelagem os programas MIXREG e STATISTICA foram empregados.

As Tabelas 01A a 12A, Anexo A, apresentam os resultados da ANOVA para o modelo quadrático de cada íon metálico para o procedimento em forno de MW, enquanto as Tabelas 01B a 12B mostram os resultados para os modelos cúbicos.

A Tabela 24 mostra os valores de F dos modelos avaliados para o aquecimento em forno de MW e analisando os dados em relação à falta de ajuste, verifica-se que para todos os elementos estudados os valores do F_{tab} são maiores do que o F_{calc} , significando que os modelos não apresentam falta de ajuste.

Em relação à regressão do modelo, observa-se também que os valores de F_{tab} são maiores do que F_{calc} , indicando que não há efeitos lineares, quadráticos e cúbicos significativos para as interações entre os componentes, ou seja, a composição da mistura não afeta a recuperação dos elementos estudados.

TABELA 24 – Avaliação dos modelos para a digestão com aquecimento em MW utilizando o sistema ternário HCl - HNO₃ - H₂O₂

Elemento	Modelo quadrático		Modelo cúbico	
	Falta de ajuste F _{calc} ; F _{tab} ; α=0,05	Regressão F _{calc} ; F _{tab} ; α=0,05	Falta de ajuste F _{calc} ; F _{tab} ; α=0,05	Regressão F _{calc} ; F _{tab} ; α=0,05
Al	0,11; 4,07	1,91; 3,20	0,16; 4,46	1,45; 3,22
As	0,99; 4,07	1,97; 3,20	1,35; 4,46	1,57; 3,22
Ba	0,36; 4,07	0,21; 3,20	0,53; 4,46	0,16; 3,22
Ca	0,40; 4,07	0,35; 3,20	0,60; 4,46	0,26; 3,22
Cd	1,90; 4,07	0,39; 3,20	1,23; 4,46	0,90; 3,22
Co	0,33; 4,07	1,01; 3,20	0,49; 4,46	0,76; 3,22
Cu	0,56; 4,07	1,19; 3,20	0,55; 4,46	1,07; 3,22
Fe	0,38; 4,07	1,06; 3,20	0,55; 4,46	0,81; 3,22
Mg	0,56; 4,07	0,26; 3,20	0,73; 4,46	0,24; 3,22
Mn	0,55; 4,07	0,18; 3,20	0,75; 4,46	0,16; 3,22
V	0,29; 4,07	0,64; 3,20	0,02; 4,46	0,70; 3,22
Zn	0,40; 4,07	0,12; 3,20	0,52; 4,46	0,12; 3,22

A modelagem para a digestão por MW demonstrou que a composição da mistura não afeta a recuperação dos elementos, o que pode ser constatado nas Tabelas 12 a 23, onde a recuperação da maioria dos elementos ficou entre 90 a 110%.

Para selecionar a composição, dentre as utilizadas no planejamento de mistura, que melhor atendesse aos elementos determinados, foram construídos gráficos com o objetivo de agrupar todos os elementos e verificar o seu comportamento frente a variação das proporções dos componentes da mistura, levando-se em consideração a recuperação.

A Figura 13 mostra o desempenho da digestão assistida por MW com as proporções dos reagentes HCl 30%, HNO₃ 65% e H₂O₂ 30% utilizadas no planejamento de misturas. O estudo relacionou a recuperação dos elementos com o n° do experimento. Vale ressaltar que para cada experimento a composição foi diferente. Observa-se que os experimentos de n^{os} 2, 5, 7 e 9 mostram uma maior recuperação para a maioria dos elementos. Para facilitar o estudo outros gráficos foram construídos para avaliar qual a melhor composição da mistura. Analisando a

Figura 14, verifica-se que o experimento de n° 7 apresentou o melhor desempenho.

Examinando os valores de acidez e de teor de carbono orgânico da solução do experimento n° 7, verifica-se que o mesmo apresenta os menores teores, para os dois parâmetros. Dessa forma, pode-se concluir que a composição da mistura HCl 37%, HNO₃ 65% e H₂O₂ 30% empregada na digestão com aquecimento assistido por MW será 0,333; 0,333; 0,333 (composição fracionária), que corresponde a concentração de 0,77; 0,95; 0,67 mol L⁻¹ ou em termos de volumes 1,6; 1,7 e 1,7 mL, respectivamente.

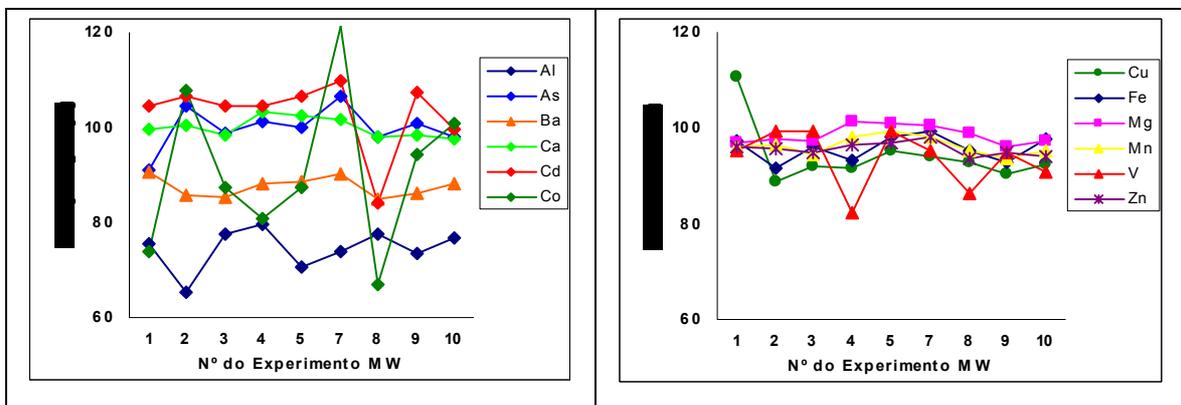


Figura 13 – Estudo da relação entre a recuperação dos elementos e o n° do experimento do planejamento de misturas para digestão em forno de MW

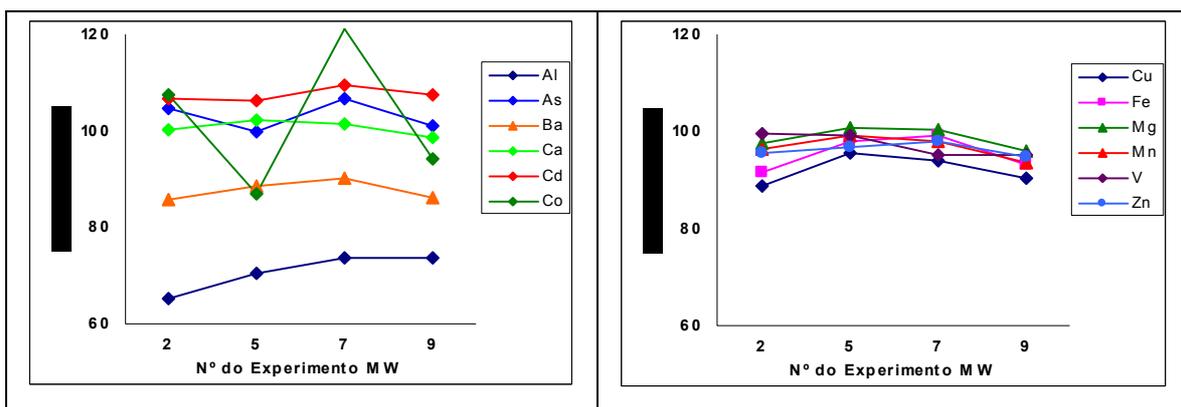


Figura 14 – Estudo da melhor composição para o sistema HCl - HNO₃ - H₂O₂ para digestão em forno de MW

As Tabelas 14A, 16A - 18A e 20A - 23A (Anexo A), apresentam os resultados da ANOVA para o modelo quadrático de cada íon metálico para o procedimento em bloco digestor, enquanto as Tabelas 13B, 15B e 19B, para os modelos cúbicos. A Tabela 25 mostra uma síntese dos resultados obtidos dos modelos avaliados para o aquecimento em bloco digestor.

Avaliando os resultados em relação à falta de ajuste, constata-se que os valores dos F_{tab} são maiores do que os F_{calc} para todos os elementos estudados, significando que não há falta de ajuste dos modelos.

Em relação à regressão do modelo, observa-se que para os elementos As, Ca, Cd, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn os valores dos F_{calc} são maiores do que os F_{tab} , entretanto, para Al, Ba e Co a regressão do modelo não é significativa, indicando que o resultado não é afetado pela composição da mistura.

TABELA 25 – Avaliação dos modelos para a digestão com aquecimento em BD utilizando o sistema ternário HCl - HNO₃ - H₂O₂.

Elemento	Falta de ajuste	Regressão	Modelo ajustado
	$F_{\text{calc}}; F_{\text{tab}};$ $\alpha=0,05$	$F_{\text{calc}}; F_{\text{tab}};$ $\alpha=0,05$	
Al	2,49; 4,26	2,47; 3,09	Cúbico
As	1,02; 3,86	18,99; 3,11	Quadrático
Ba	2,19; 5,59	3,14; 3,58	Cúbico
Ca	0,87; 3,86	6,97; 3,11	Quadrático
Cd	1,76; 3,86	10,60; 3,11	Quadrático
Co	0,08; 4,26	2,70; 3,09	Cúbico
Cu	1,93; 3,86	6,78; 3,11	Quadrático
Fe	1,53; 3,86	3,81; 3,11	Quadrático
Mg	1,24; 3,86	7,14; 3,11	Quadrático
Mn	1,48; 3,86	8,28; 3,11	Quadrático
Zn	0,87; 3,86	4,95; 3,11	Quadrático

Como para alguns elementos os modelos quadráticos não apresentaram falta de ajuste e a regressão foi significativa, a melhor composição da mistura para cada elemento foi determinada através das superfícies de respostas (Figuras 01B a 09B, Anexo B) obtidas para o modelo, usando o programa MIXPLOT. O ponto ótimo é representado pela letra Z no interior da superfície.

As proporções para cada componente da mistura HCl - HNO₃ - H₂O₂, com os respectivos volumes, são mostrados na Tabela 26. Verifica-se que para alguns elementos as proporções dos componentes na mistura foram bem semelhantes, como para Ca, Cd, Mg e Zn. Por outro lado, observa-se que o H₂O₂, apresentou maiores proporções na mistura, em torno de 0,450, com exceção do Cu. Considerando-se que para alguns elementos a regressão não foi significativa e não foi possível uma conclusão definida para as proporções dos componentes, uma segunda avaliação foi realizada.

TABELA 26 – Proporções dos componentes e volumes do sistema HCl - HNO₃ - H₂O₂ para a digestão com aquecimento em BD

Elemento	HCl		HNO ₃		H ₂ O ₂	
	Proporção	Volume, mL	Proporção	Volume, mL	Proporção	Volume, mL
As	0,113	0,6	0,429	2,1	0,458	2,3
Ca	0,261	1,3	0,301	1,5	0,437	2,2
Cd	0,214	1,3	0,288	1,4	0,463	2,3
Cu	0,741	3,7	0,109	0,5	0,150	0,8
Fe	0,374	1,9	0,164	0,8	0,462	2,3
Mg	0,319	1,6	0,217	1,3	0,429	2,1
Mn	0,366	1,8	0,176	0,9	0,458	2,3
Zn	0,285	1,4	0,273	1,4	0,442	2,2

A mesma avaliação realizada para a digestão com MW foi aplicada para a digestão com BD, ou seja, gráficos foram construídos com o objetivo de determinar a melhor composição da mistura.

A Figura 15 mostra o desempenho da digestão com BD com as proporções dos reagentes HCl 37%, HNO₃ 65% e H₂O₂ 30% utilizadas no planejamento de misturas. O estudo relacionou a recuperação dos elementos com o n° do experimento. Nota-se que os experimentos de n^{os} 1, 3, 6 e 7 mostram maiores valores de recuperação para a maioria dos elementos. Desta forma, construiu-se outro gráfico relacionando esses experimentos com a recuperação dos elementos.

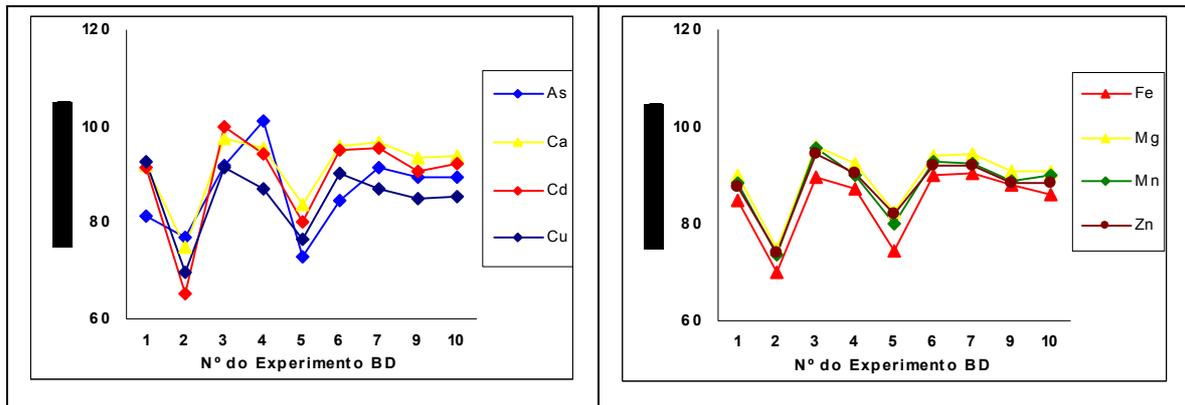


Figura 15 – Estudo da relação entre a recuperação dos elementos e o nº do experimento do planejamento de misturas para digestão em BD

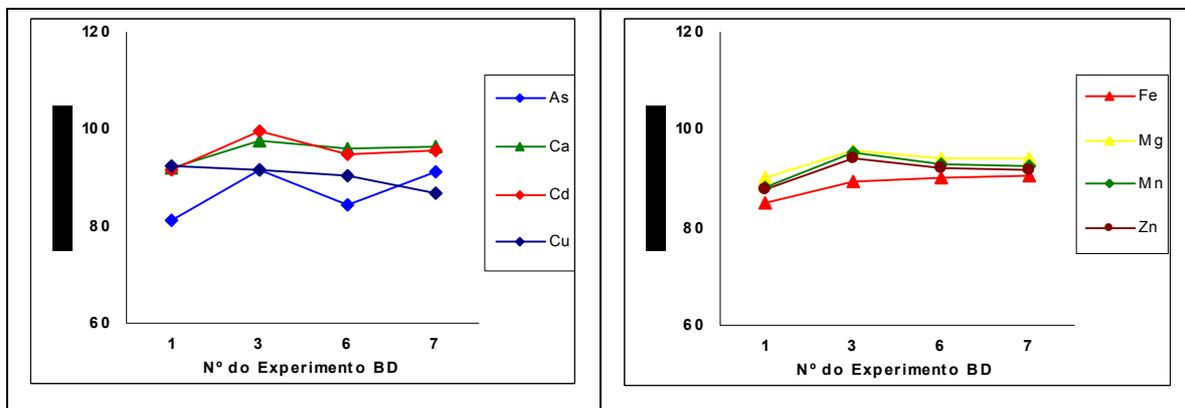


Figura 16 – Estudo da melhor composição para o sistema HCl - HNO₃ - H₂O₂ para digestão em BD

A Figura 16 mostra que o experimento de nº 3, ofereceu melhores respostas para a recuperação dos elementos. As proporções dos componentes HCl - HNO₃ - H₂O₂ na mistura para esse ponto do planejamento são 0,200; 0,200 e 0,600, respectivamente.

Confrontando-se os dados obtidos pela modelagem e os encontrados nos gráficos, verifica-se que há uma convergência nos resultados, ou seja, H₂O₂ está presente na mistura em maiores proporções.

Considerando-se os pontos avaliados, pode-se concluir que a composição de HCl 37%, HNO₃ 65% e H₂O₂ 30% para digestão em BD, respectivamente, será

0,200; 0,200 e 0,600 (composição fracionária), que corresponde a concentração de 0,48; 0,56 e 1,17 mol L⁻¹, em termos de volume foi 1,0; 1,0 e 3,0 mL.

6.1.6. Estudo da adição e recuperação de analitos

Nas condições instrumentais empregando a vazão do gás nebulizador de 0,6 L min⁻¹ e a potência de 1,4 kW, foram executados testes de adição e recuperação para os analitos em baixas concentrações (As, Cd, Co, Ni, Pb, Se e V) e para Cr e Mo, que não constam no certificado do material de referência.

Como o manual do equipamento mencionava valores de concentração equivalente do background elevados para alguns elementos, esse teste foi realizado visando verificar se nas condições instrumentais utilizadas era possível obter o sinal analítico referente à quantidade de analito adicionado.

Os analitos foram adicionados nas soluções obtidas das digestões com aquecimento em MW e aquecimento em BD. A Tabela 27 mostra o estudo realizado para dois níveis de concentração adicionada. A concentração média e a recuperação média foram calculadas e expressadas conforme orientação de Harris (2002), ASTM (2000) e Meier (1993). Para o nível maior, a recuperação média para os íons investigados ficou entre 91 e 107%, levando-se em consideração o intervalo de confiança (n = 7). Para o nível menor a recuperação média ficou entre 90 e 107%, exceto para As, Cd, Se e V, cujos valores foram de 88 a 111%, levando-se em consideração o intervalo de confiança (n=14). Esses resultados demonstram que a determinação nessas concentrações pode ser realizada sem decréscimo da exatidão analítica.

TABELA 27 – Estudo de adição e recuperação de analitos
 $P = 1,4 \text{ kW}$; $V_{\text{neb}} = 0,6 \text{ L min}^{-1}$.

Elemento	Comprimento de onda, nm	Concentração adicionada, $\mu\text{g mL}^{-1}$	Concentração média recuperada, $\mu\text{g mL}^{-1}$	Recuperação média, %
As	188,979	0,250	$0,240 \pm 0,013$	$96,0 \pm 5,0$
		0,040	$0,0409 \pm 0,0037$	102 ± 9
Cd	226,502	0,100	$0,0984 \pm 0,0048$	$98,4 \pm 4,8$
		0,040	$0,0377 \pm 0,0025$	94 ± 6
Co	228,616	0,100	$0,1006 \pm 0,0029$	$100,6 \pm 2,9$
		0,040	$0,0395 \pm 0,0019$	$98,8 \pm 4,8$
Cr	205,560	0,100	$0,0993 \pm 0,0082$	$99,3 \pm 8,2$
		0,040	$0,0388 \pm 0,0025$	97 ± 6
Mo	202,031	0,100	$0,0976 \pm 0,0040$	$97,6 \pm 4,0$
		0,040	$0,0382 \pm 0,0021$	$95,6 \pm 5,3$
Ni	232,003	0,100	$0,0987 \pm 0,0051$	$98,7 \pm 5,1$
		0,040	$0,0381 \pm 0,0018$	$95,2 \pm 4,6$
Pb	220,353	0,100	$0,0999 \pm 0,0051$	$99,9 \pm 5,1$
		0,040	$0,0397 \pm 0,0030$	99 ± 8
Se	196,026	0,250	$0,2439 \pm 0,0072$	$97,5 \pm 2,9$
		0,040	$0,0390 \pm 0,0033$	97 ± 8
V	292,402	0,100	$0,1009 \pm 0,0035$	$100,9 \pm 3,5$
		0,040	$0,0367 \pm 0,0017$	$91,8 \pm 4,3$

6.2. Avaliação do Desempenho Analítico do Espectrômetro

De forma a minimizar a ocorrência de interferências devido a processos que ocorrem no plasma, as condições de operação do espectrômetro foram estabelecidas ajustando-se alguns parâmetros operacionais.

6.2.1. Efeito da potência de radiofrequência

As soluções com a melhor composição do sistema $\text{HCl} - \text{HNO}_3 - \text{H}_2\text{O}_2$ provenientes das digestões com aquecimento em forno de MW e em bloco

digestor foram utilizadas para avaliar o efeito da potência de rádio frequência aplicada sobre as condições de excitação do plasma, usando a visão axial e a radial. De acordo com Silva *et al.* (2003) e Sousa *et al.* (2005), valores de potência de radiofrequência entre 1,1 e 1,5 kW, garantem um plasma estável que não se extingue durante a análise. Neste trabalho, o desempenho do plasma foi avaliado variando-se a potência de 1,2 a 1,5 kW e mantendo-se a vazão do gás de nebulização em $0,8 \text{ L min}^{-1}$.

As Figuras 17, 18, 19 e 20 mostram o comportamento dos íons estudados quando a potência da fonte de radiofrequência foi variada, mantendo-se constante a vazão de nebulização. Essas figuras permitem visualizar que, em ambas as configurações, o plasma apresentou características adequadas de transferência de energia, quando foi empregada uma potência de 1,4 kW. Entretanto, os elementos Ba, Ni e Cd na visão axial e Ba, Mn e V na visão radial, apresentaram um comportamento diferente em relação aos demais íons estudados.

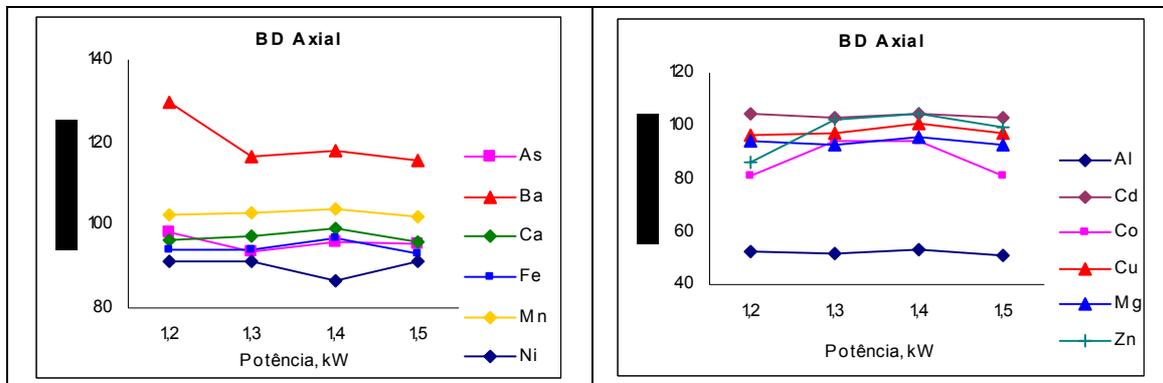


Figura 17 – Efeito da potência aplicada empregando a vazão do gás de nebulização de $0,8 \text{ L min}^{-1}$ e configuração axial (aquecimento em BD).

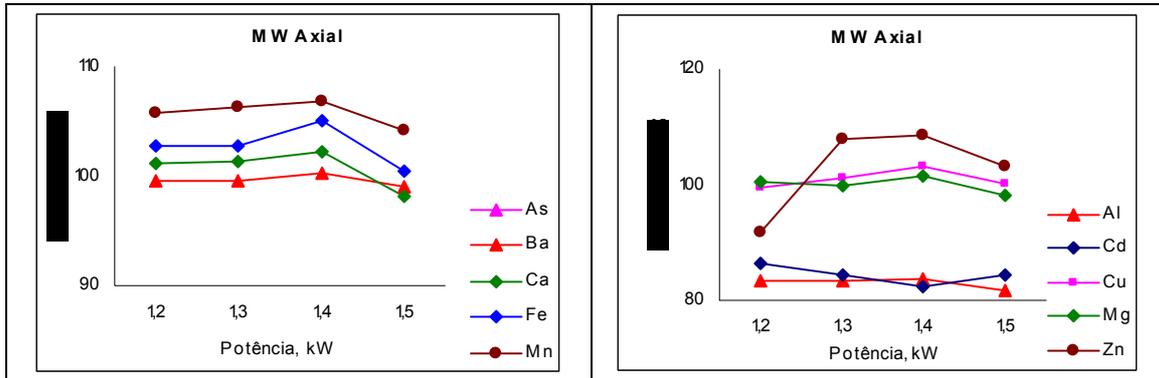


Figura 18 – Efeito da potência aplicada empregando a vazão do gás de nebulização de $0,8 \text{ L min}^{-1}$ e configuração axial (aquecimento em forno de MW).

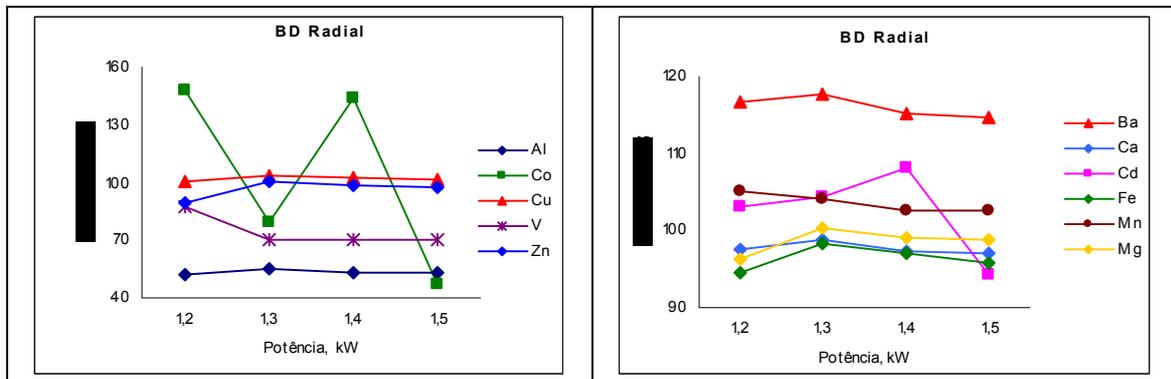


Figura 19 – Efeito da potência aplicada empregando a vazão do gás de nebulização de $0,8 \text{ L min}^{-1}$ e configuração radial (aquecimento em BD).

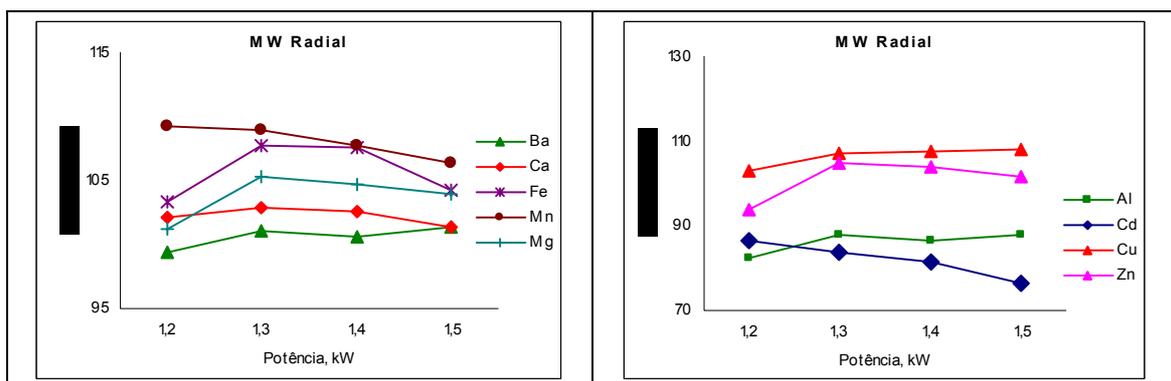


Figura 20 – Efeito da potência aplicada empregando a vazão do gás de nebulização de $0,8 \text{ L min}^{-1}$ e configuração radial (aquecimento em forno de MW).

Um sistema é considerado robusto quando a razão Mg II/Mg I é maior do que 10, em equipamentos que utilizam fotomultiplicadoras como detectores, e superior a 6 em equipamentos com detectores de estado sólido (KRUG *et al.*, 2002).

A Figura 21 mostra o efeito causado na robustez do plasma quando a potência de radiofrequência é variada. Observa-se que a razão diagnóstico variou de 7,0 a 8,0 para a configuração axial e de 9,9 a 10,7 para a radial. Esses valores indicam que o plasma foi operado em condições robustas, uma vez que, conforme especificado em Material e Métodos, item 3, o espectrômetro utilizado possui um detector de estado sólido.

Uma vez que os elementos determinados apresentaram maiores valores de recuperação na potência de 1,4 kW, que as razões Mg II/ Mg I pouco variaram nas potências aplicadas e que os valores experimentais das razões foram superiores aos indicados na literatura, concluiu-se que a potência adequada para esse trabalho foi de 1,4 kW.

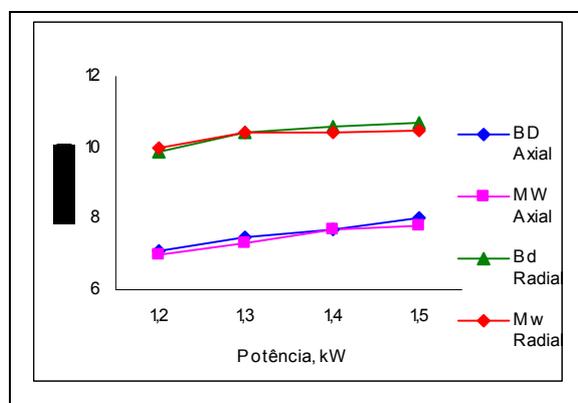


Figura 21 – Efeito da potência de radiofrequência aplicada sobre a razão Mg II/Mg I, vazão de nebulização de 0,8 L min⁻¹.

6.2.2. Efeito da vazão do gás de nebulização

O processo de transferência de energia do plasma para a amostra depende da vazão do gás de nebulização. Esse efeito foi avaliado, fixando-se a potência em 1,4 kW e variando-se a vazão do gás de nebulização de 0,6 a 0,9 L min⁻¹.

Para este estudo utilizaram-se soluções do material de referência resultantes das digestões com aquecimento em forno de MW e aquecimento em bloco digestor, empregando-se as configurações axial e radial do plasma.

As Figuras 22, 23, 24 e 25 apresentam a recuperação (%) dos íons determinados nas soluções, em função da variação da vazão do gás de nebulização. De um modo geral, os elementos apresentaram valores mais elevados de recuperação quando a vazão de nebulização foi ajustada para $0,8 \text{ L min}^{-1}$, para ambas as configurações. Entretanto, para a digestão com aquecimento em BD, Cd, Ni, V, Ba e Mg apresentaram comportamento diferente na configuração axial, enquanto para Ca e V a diferença foi constatada na configuração radial. Para a digestão com forno de MW, a maioria dos elementos mostrou um bom desempenho na vazão de $0,8 \text{ L min}^{-1}$, exceto Cu e Cd nas configurações axial e radial, respectivamente.

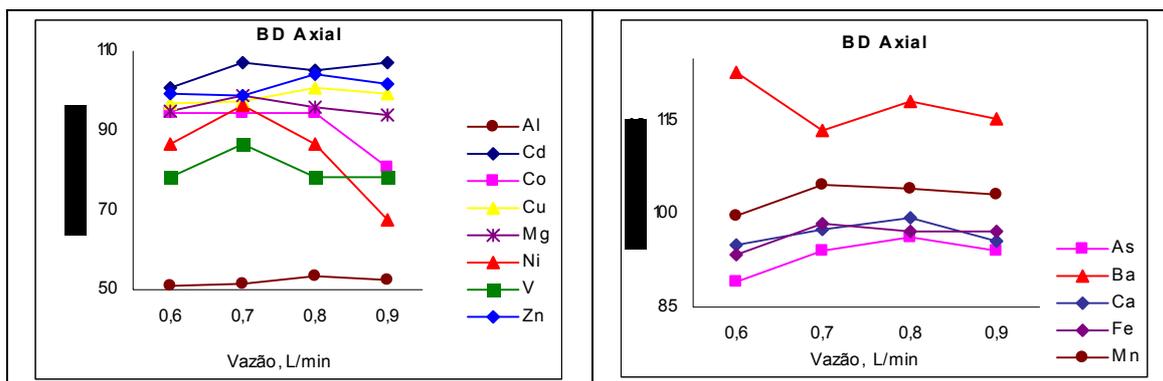


Figura 22 – Efeito da vazão do gás de nebulização utilizando potência de 1,4 kW e configuração axial (aquecimento em BD).

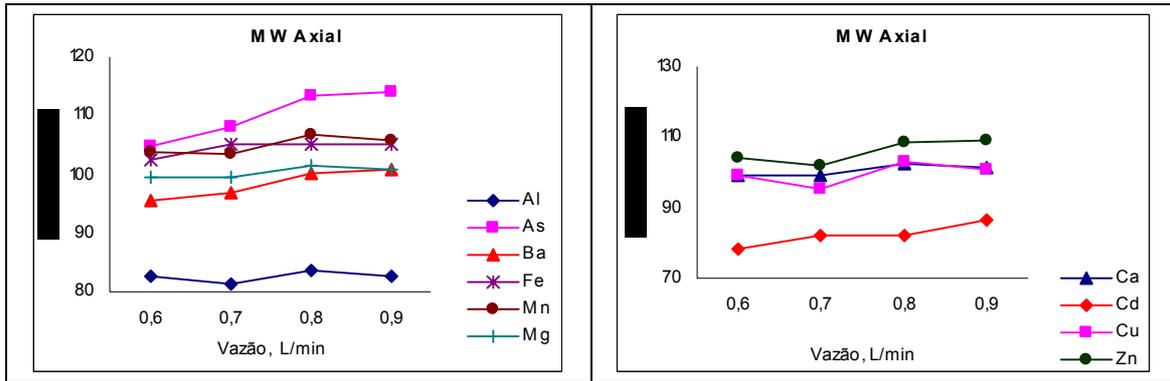


Figura 23 – Efeito da vazão do gás de nebulização utilizando potência de 1,4 kW e configuração axial (aquecimento em forno de MW)

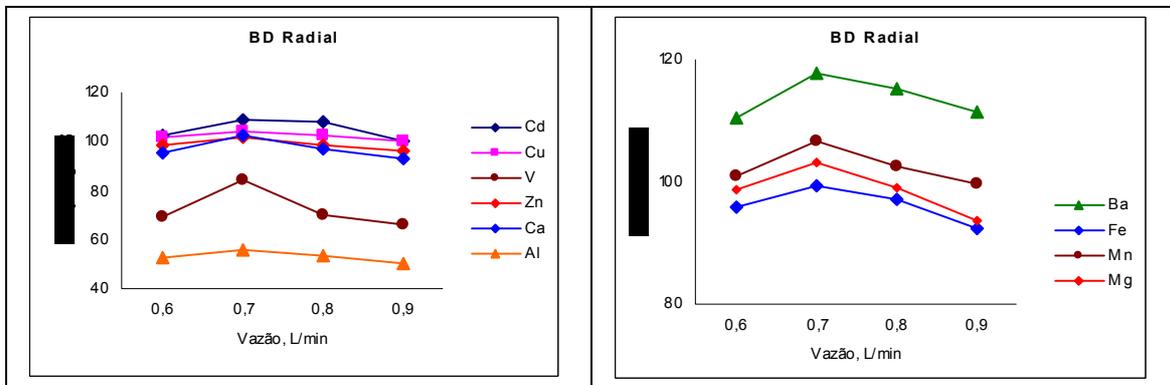


Figura 24 – Efeito da vazão do gás de nebulização utilizando uma potência de 1,4 kW e configuração radial (aquecimento em bloco digestor)

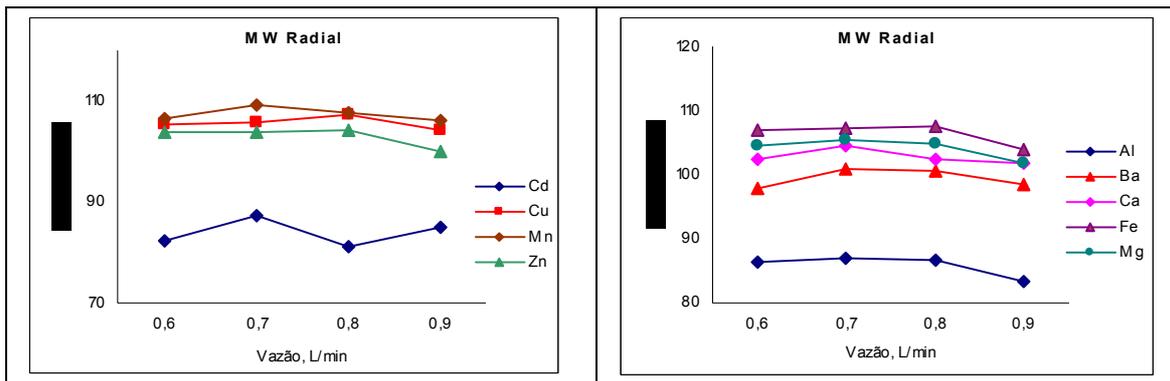


Figura 25 – Efeito da vazão do gás de nebulização utilizando uma potência de 1,4 kW e configuração radial (aquecimento em forno de MW)

A Figura 26 mostra o efeito da vazão de nebulização na robustez do plasma. Observa-se que a razão diagnóstico variou de 5,5 a 11,9 para a

configuração axial e de 6,8 a 13,3 para a radial. Esses valores indicam que o plasma foi operado em condições robustas.

Considerando-se que a maioria dos elementos determinados apresentaram melhores valores de recuperação na vazão de 0,8 L min⁻¹; as razões Mg II/Mg I foram 7,7 para configuração axial e 10,4 para radial; os valores experimentais das razões foram superiores aos indicados na literatura, o que denota uma robustez do plasma, conclui-se que a vazão do gás de nebulização selecionada por meio deste estudo foi de 0,8 L min⁻¹ e uma potência de 1,4 kW.

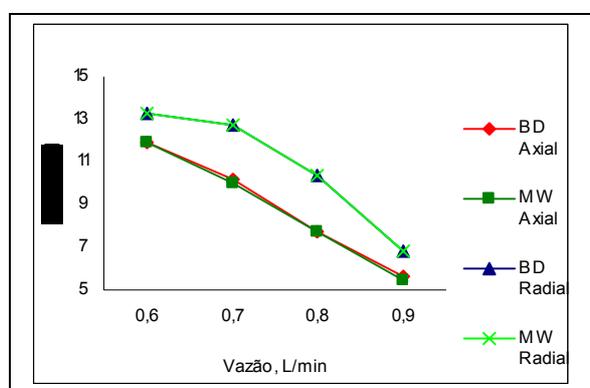


Figura 26 – Efeito da vazão de nebulização sobre a razão Mg II/Mg I, potência da radiofrequência de 1,4 kW

6.3. Figuras de Mérito

A validação é um processo de verificação do desempenho de um método analítico com o intuito de avaliar sua performance para as condições nas quais ele será aplicado. O processo de validação deve ser realizado sempre que um método é proposto ou desenvolvido (VALDERRANA, 2005).

A validação pode ser atestada através da determinação de parâmetros, conhecidos como figuras de mérito. Os principais parâmetros para determinações por ICP OES são (MERMET, 1991): a) Concentração equivalente do background; b) Limite de detecção; c) Limite de determinação ou de quantificação.

6.3.1. Concentração equivalente do background

O BEC foi calculado segundo a equação recomendada por Thomsen *et al.* (2002), que relaciona a concentração do analito e o SBR (razão do sinal analítico e o sinal de background). As intensidades, os RSD do branco e as intensidades do padrão foram obtidos utilizando a vazão de nebulização de $0,8 \text{ L min}^{-1}$ e a potência de 1,4 kW, nas duas configurações da tocha.

A Tabela 28 apresenta os valores de BEC encontrados no manual do espectrômetro e os experimentais, obtidos na configuração axial. Os valores do BEC na configuração radial não constam na tabela, uma vez que o fabricante não informou os valores nessa configuração. Confrontando-se os valores, pode-se notar que aqueles obtidos experimentalmente estão abaixo dos teóricos, tanto para soluções com aquecimento por MW, quanto para aquecimento com BD. Esse comportamento indica que as condições instrumentais empregadas foram robustas, apresentando a razão diagnóstico de MgII/MgI de 9,2 e que o sinal de background não foi intenso a ponto de influenciar significativamente este parâmetro.

Confrontando os resultados dos BEC entre as duas digestões, nota-se que a decomposição assistida por MW apresentou menores valores para os íons Al, As, Ba, Ca, Cr, Fe, Mg, Ni, P V e Zn. Para a decomposição em BD, os íons que mostraram menores valores de BEC foram Cd, Co, Cu, Mn, Mo, Pb e Se.

TABELA 28 - Concentração Equivalente do Background (BEC) para digestão em MW e BD, em $\mu\text{g mL}^{-1}$
Condições instrumentais: P = 1,4 kW, V = 0,8 L min^{-1}

Elemento	Linha	Comprimento de onda, nm	BEC do fabricante, $\mu\text{g mL}^{-1}$	BEC MW, $\mu\text{g mL}^{-1}$	BEC BD, $\mu\text{g mL}^{-1}$
Al	I	396,153	0,95	0,0023	0,076
As	I	188,979	4,55	0,000076	0,0028
Ba	II	455,403	0,04	0,0017	0,018
Ca	II	315,887	0,73	0,000072	0,00053
Cd	II	226,502	0,11	0,0025	0,00015
Co	II	228,616	0,23	0,00023	0,00014
Cr	II	205,560	0,20	0,00074	0,0086
Cu	I	324,754	0,18	0,00090	0,00031
Fe	II	238,204	0,15	0,055	0,060
Mg	II	279,077	1,00	0,0061	0,012
Mn	II	257,610	0,05	0,00061	0,00039
Mo	II	202,031	0,26	0,0012	0,00047
Ni	I	232,003	0,50	0,0011	0,0027
P	I	214,914	2,56	0,064	0,19
Pb	II	220,353	1,43	0,0032	0,00084
Se	I	196,026	2,50	0,0063	0,0053
V	II	292,402	0,25	0,000027	0,00022
Zn	I	213,856	0,06	0,0021	0,0083

6.3.2. Limite de detecção e limite de quantificação

A Tabela 29 mostra os valores para os limites de detecção dos íons determinados nas soluções provenientes da digestão com aquecimento em MW e em bloco digestor, nas duas configurações da tocha. Nota-se que a maioria dos elementos apresentou limites de detecção menores na configuração axial do que na configuração radial, com exceção de Ba, Ca, Mg, P e Se para aquecimento em BD. Esses resultados estão de acordo com a discussão feita por Brenner e Zander (2000), na qual são apresentados valores de ganho de sensibilidade quando a configuração axial é comparada com a radial.

A Tabela 29 mostra que a maioria dos íons determinados na solução proveniente da digestão em BD apresentou valores de LOD menores do que a digestão assistida por MW. Avaliando os resultados experimentais de RSD dos

brancos e os resultados calculados do BEC para os elementos citados acima, constatou-se que esses parâmetros indicaram menores valores para a digestão em BD.

TABELA 29 – Limites de detecção para digestão em MW e BD, em $\mu\text{g mL}^{-1}$, Condições instrumentais: P = 1,4 kW, V = 0,8 L min^{-1}

Elemento	Linha	Comprimento de onda, nm	Configuração da tocha	LOD MW ng mL^{-1}	LOD BD ng mL^{-1}
Al	I	396,153	Axial	0,23	2,5
			Radial	5,4	13
As	I	188,979	Axial	2,3	12
			Radial	220	53
Ba	II	455,403	Axial	0,55	0,74
			Radial	0,75	0,65
Ca	II	315,887	Axial	0,019	0,022
			Radial	0,069	0,017
Cd	II	226,502	Axial	0,82	0,043
			Radial	13	5,1
Co	II	228,616	Axial	0,11	0,056
			Radial	13	2,6
Cr	II	205,560	Axial	3,0	4,5
			Radial	230	89
Cu	I	324,754	Axial	0,42	0,022
			Radial	0,89	0,78
Fe	II	238,204	Axial	1,0	5,0
			Radial	15	14
Mg	II	279,077	Axial	0,28	0,46
			Radial	1,7	0,42
Mn	II	257,610	Axial	0,033	0,010
			Radial	0,52	0,19
Mo	II	202,031	Axial	12	0,85
			Radial	19	48
Ni	I	232,003	Axial	3,4	2,7
			Radial	100	18
P	I	214,914	Axial	1,4	74
			Radial	31	12
Pb	II	220,353	Axial	54	7,4
			Radial	170	380
Se	I	196,026	Axial	34	160
			Radial	88	93
V	II	292,402	Axial	0,021	0,084
			Radial	0,58	4,4
Zn	I	213,856	Axial	0,0045	0,010
			Radial	0,038	0,038

Os limites de quantificação foram calculados como $3,3 \times \text{LOD}$ (THOMSEN *et al.* 2003) e são mostrados da Tabela 30, bem como a concentração (em $\mu\text{g g}^{-1}$) dos elementos no material de referência certificado e a concentração teórica dos elementos em $\mu\text{g mL}^{-1}$ (concentração calculada a partir da decomposição de $0,5000 \pm 0,0001$ g do material certificado e diluído para 25 mL).

Como o LOQ foi calculado a partir do LOD, o desempenho desse parâmetro foi análogo para os elementos nas soluções decompostas.

O LOQ é um parâmetro que assegura determinar a concentração de uma espécie sem a interferência de background. Como a concentração teórica dos íons nas soluções é maior do que os LOQ calculados, os micro e macro constituintes no material de referência podem ser determinados com segurança por ICP OES, com exceção do As, Co e Ni, na visão radial para os dois tipos de digestão. O Se e o Pb não podem ser determinados em nenhuma das condições. Vale ressaltar, entretanto, que amostras de moluscos bivalves que tenham concentrações de Se e de Pb acima do LOQ poderão ser analisadas nessas condições instrumentais.

TABELA 30 – Limites de quantificação para digestão em MW e BD, em ng mL⁻¹,
Condições instrumentais: P =1,4 kW, V = 0,8 L min⁻¹

Elemento	Concentração certificada no SRM 1566b, µg g ⁻¹	Concentração teórica na solução no SRM 1566b µg mL ⁻¹	Configuração da tocha	LOQ para MW, ng mL ⁻¹	LOQ para BD, ng mL ⁻¹
Al	197,2	3,944	Axial	0,77	8,2
			Radial	18	42
As	7,65	0,153	Axial	7,6	40
			Radial	720	180
Ba	8,6	0,172	Axial	1,8	2,5
			Radial	2,5	2,2
Ca	838	16,76	Axial	0,064	0,074
			Radial	0,23	0,055
Cd	2,48	0,049	Axial	2,7	0,14
			Radial	42	17
Co	0,371	0,007	Axial	0,36	0,19
			Radial	8,8	8,6
Cr	NC ⁽²⁾	NC ⁽¹⁾	Axial	9,9	15
			Radial	760	300
Cu	71,6	1,432	Axial	1,4	0,074
			Radial	2,9	2,6
Fe	205,8	4,116	Axial	3,3	16
			Radial	50	45
Mg	1085	21,7	Axial	0,91	1,5
			Radial	5,5	1,4
Mn	18,5	0,370	Axial	0,11	0,034
			Radial	1,7	0,61
Mo	NC ⁽²⁾	NC ⁽¹⁾	Axial	39	2,8
			Radial	61	160
Ni	1,04	0,021	Axial	11	9,0
			Radial	330	58
P	NC ⁽²⁾	NC ⁽¹⁾	Axial	4,5	240
			Radial	10	40
Pb	0,308	0,006	Axial	180	24
			Radial	550	1200
Se	2,06	0,041	Axial	110	520
			Radial	290	310
V	0,577	0,012	Axial	0,070	0,28
			Radial	1,9	14
Zn	1424	28,48	Axial	0,015	0,033
			Radial	0,13	0,13

(1) Concentração não certificada

6.4. Estudo de Interferentes

A determinação de elementos químicos em amostras de natureza orgânica ou biológica constitui um problema analítico, pois freqüentemente o interesse nessas amostras é a determinação de constituintes presentes em baixas concentrações. Nesse caso, deve-se atentar para interferências causadas pelos constituintes majoritários como, por exemplo, Na, K, Ca, Mg, C e P. Quando as determinações são realizadas pela técnica de ICP OES, além dos elementos facilmente ionizáveis (sódio, potássio, magnésio, cério, lítio e cálcio), outros íons também podem provocar interferências negativas e positivas sobre as intensidades de emissão dos analitos, quando presentes em elevadas concentrações na matriz. Esses efeitos podem ocorrer tanto nos processos de formação do aerossol e transporte (efeitos físicos), como nas etapas de atomização, ionização e excitação das espécies de interesse presentes na solução aspirada no plasma (DUBUISSON *et al.*, 1998).

O material de referência apresenta concentrações de Na e K de 0,3297 e 0,652%, respectivamente. O certificado desse material não expressa a concentração do fósforo, porém este elemento foi quantificado juntamente com os outros íons determinados e sua concentração foi de 0,84%.

Nesse sentido realizou-se um estudo para verificar o efeito da presença dos elementos Na, K, Ca, Mg, Zn e P sobre as intensidades dos sinais dos analitos presentes em baixa concentração. As soluções dos interferentes foram preparadas com as seguintes concentrações: 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de Ca, Mg e Zn; 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de Na; 300 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de K 3000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de P. Como a solução dos interferentes não contém os elementos Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Se e V, a intensidade de emissão desses analitos deveria ser igual a zero. Assim, se algum sinal for medido será devido a interferências causadas pelos íons adicionados. Dessa forma, a interferência proporcionará um efeito depressivo ou supressivo, que causará um desvio no sinal analítico. Esse desvio é calculado, multiplicando-se o sinal causado pelos interferentes na linha do elemento (no caso a concentração), por 100.

A eficiência da padronização interna na supressão do efeito de matriz provocado por Na, K e Ca foi investigada e para esse estudo o elemento ítrio foi adicionado à solução dos interferentes com uma concentração final de $2 \mu\text{g mL}^{-1}$, conforme recomendação da literatura (BRENNER e ZANDER, 2000).

A Tabela 31 apresenta o efeito de matriz de Ca, Mg, Na, P e Zn sobre os elementos de interesse utilizando os dois modos de observação do plasma, com e sem a presença do padrão interno, além dos desvios (%) causados pelos interferentes.

Segundo Silva *et al.* (2002), um desvio de 15% no sinal dos analitos devido ao efeito de matriz, não é significativo quando o espectrômetro opera em condições robustas. Os resultados apresentados na Tabela 31 mostram que, em geral, os efeitos positivos ou depressivos causados pelos interferentes estudados não são significativos, pois os desvios foram menores que 15%.

O ítrio foi utilizado como padrão interno para verificar se o efeito de matriz causado pelos interferentes poderia ser eliminado ou minimizado. Entretanto, o ítrio não contribuiu para evitar os efeitos interferentes sofridos pelos constituintes em baixas concentrações e, em algumas situações, até aumentou esses efeitos, como pode ser observado na Tabela 31.

Sumarizando, nota-se que as concentrações de Ca, Mg, Na, K, P e Zn presentes na solução do material certificado não causaram efeito de matriz significativos e que os elementos presentes em baixas concentrações podem ser determinados nessas condições.

TABELA 31 – Estudo de interferentes com e sem adição de padrão interno
Condições instrumentais: P =1,4 kW, V = 0,8 L min⁻¹

Elemento	Comprimento de onda, nm	Configuração da tocha	Solução de interferentes $\mu\text{g mL}^{-1}$	Desvio causado pelos interferentes %	Solução de interferentes + itrio $\mu\text{g mL}^{-1}$	Desvio causado pelos interferentes + Y %
Al	396,153	Axial	0,073	7,3	0,146	14,6
		Radial	0,018	1,8	0,147	14,7
As	188,979	Axial	-0,001	-0,1	-0,009	-0,9
		Radial	0,010	1,0	-0,001	-0,1
Ba	455,403	Axial	0,004	0,4	0,005	0,5
		Radial	0,003	0,3	0,004	0,4
Cd	226,502	Axial	-0,001	-0,1	-0,001	-0,1
		Radial	0,001	0,1	0,001	0,1
Co	228,616	Axial	0,002	0,2	0,002	0,2
		Radial	-0,001	-0,1	-0,001	-0,1
Cr	205,560	Axial	0,014	1,4	0,018	1,8
		Radial	0,021	2,1	0,024	2,4
Cu	324,754	Axial	0,036	3,6	0,053	5,3
		Radial	-0,023	-2,3	0,010	1,0
Fe	238,204	Axial	-0,008	-0,8	0,041	4,1
		Radial	0,002	0,2	0,065	6,5
Mn	257,610	Axial	0,000	0,0	0,001	0,1
		Radial	0,000	0,0	0,002	0,2
Mo	202,031	Axial	-0,002	-0,2	0,001	0,1
		Radial	0,012	1,2	-0,002	-0,2
Ni	232,003	Axial	0,013	1,3	0,016	1,6
		Radial	0,032	3,2	0,039	3,9
Pb	220,353	Axial	0,010	1,0	0,007	0,7
		Radial	-0,017	-1,7	-0,012	-1,2
Se	196,026	Axial	0,010	1,0	0,010	1,0
		Radial	-0,008	-0,8	0,022	2,2
V	292,402	Axial	0,000	0,0	-0,001	-0,1
		Radial	0,000	0,0	0,004	0,4

6.5. Comparação entre os Métodos de Digestão

Nas condições instrumentais otimizadas uma avaliação da exatidão dos métodos de digestão com aquecimento em forno de MW e aquecimento em BD foi realizada, empregando-se o material de referência certificado (SRM 1566b - NIST).

Os resultados apresentados na Tabela 32 mostram que a eficiência da digestão para a maioria dos elementos foi similar tanto para MW quanto para BD, em ambas as configurações, apresentando recuperações de 91% a 111% e de 83% a 112%, respectivamente.

As concentrações de Pb e Se no material certificado estão abaixo dos valores de LOQ nos dois métodos de digestão, bem como os elementos Co e Ni, na visão radial. Observa-se que a recuperação média do Ni na configuração axial ficou em 111%, para a digestão em MW, mas o intervalo de recuperação (94%-129%) mostra uma baixa precisão nas determinações. Os elementos Co e V determinados nas soluções provenientes da digestão em BD não obtiveram uma recuperação quantitativa.

A digestão assistida por MW favoreceu uma recuperação de 84,5% a 92,7% para o Al, na configuração radial, apesar desse resultado não representar uma recuperação quantitativa. Porém, esses valores significam um avanço na determinação do Al, uma vez que a literatura sugere tratamentos mais drásticos com resultados semelhantes.

A literatura sugere que para determinar o Al a amostra deve ser decomposta utilizando o HF, pois o íon fluoreto é um ânion que reage com óxidos refratários, formando complexos com o objetivo de aumentar a solubilidade dos elementos (KRUG *et al.*, 2002). Sun *et al.* (1997) determinaram Al em amostras biológicas de tecido de ostras digeridas com HNO₃-HClO₄ (placa de aquecimento), HNO₃-H₂O₂ (forno de MW) e HNO₃-H₂O₂-HF (forno de MW), obtendo valores de recuperação de 54%, 32% e 96%, respectivamente. Contudo, a digestão com HF pode trazer algumas desvantagens, como por exemplo: i) os frascos de MW foram retirados do forno para adicionar a H₂O₂ e o H₃BO₄, retornaram ao forno sem as tampas para evaporar o HNO₃ para que a acidez da solução ficasse em torno de 2%; ii) a adição do H₃BO₄ pode provocar efeito de matriz para outros analitos.

Experimentos prévios foram realizados antes da utilização dos pseudocomponentes para o sistema e, nessa fase do trabalho, melhores valores de recuperação de Al foram obtidos usando a digestão com MW. Usando volumes de 2,5 - 2,5 - 0 mL e 1,0 - 1,0 - 3,0 mL de HNO₃ - HCl - H₂O₂ a recuperação de Al

foi de 94% e 95%, respectivamente. Assim, se o objetivo é determinar apenas o Al, pode-se utilizar essas proporções de reagentes.

TABELA 32 – Comparação entre os métodos de digestão no material certificado
Condições instrumentais: P = 1,4 kW, V = 0,8 L min⁻¹.

Elemento, nm	Concentração do SRM 1566b, µg g ⁻¹	Configuração da tocha	MW		BD	
			µg g ⁻¹	%	µg g ⁻¹	%
Al 396,153	197,2 ± 6,0	Axial	168 ± 10	85,2 ± 5,3	94 ± 8	47,9 ± 4,2
		Radial	174,8 ± 8,1	88,6 ± 4,1	99 ± 10	50,0 ± 5,0
As 188,979	7,65 ± 0,65	Axial	7,8 ± 1,3	101 ± 17	7,52 ± 0,17	98,4 ± 2,2
		Radial	7,25 ± 0,96	95 ± 13	7,11 ± 0,39	92,9 ± 5,1
Ba 455,403	8,6 ± 0,3	Axial	8,55 ± 0,64	99,4 ± 7,5	8,22 ± 0,37	95,6 ± 4,3
		Radial	8,75 ± 0,62	101,8 ± 7,2	8,51 ± 0,44	98,9 ± 5,2
Ca 315,887	838 ± 20	Axial	888 ± 44	106,0 ± 5,2	877 ± 12	104,7 ± 1,4
		Radial	900 ± 50	106,8 ± 7,3	912 ± 12	108,8 ± 1,5
Cd 226,502	2,48 ± 0,08	Axial	2,49 ± 0,24	100 ± 10	2,677 ± 0,056	108,0 ± 2,2
		Radial	2,46 ± 0,25	99 ± 10	2,704 ± 0,063	109,0 ± 2,5
Co 228,616	0,371 ± 0,009	Axial	0,338 ± 0,042	91 ± 11	0,311 ± 0,017	83,8 ± 4,5
		Radial	< 0,44	-	< 0,43	-
Cr 205,560	NC ⁽¹⁾	Axial	< 0,50	-	< 0,75	-
		Radial	< 38	-	< 15	-
Cu 324,754	71,6 ± 1,6	Axial	73,4 ± 3,4	102,5 ± 4,7	72,8 ± 1,4	101,7 ± 1,9
		Radial	75,5 ± 6,5	105,4 ± 9,1	78,00 ± 0,81	108,9 ± 1,1
Fe 238,204	205,8 ± 6,8	Axial	210 ± 11	102,3 ± 5,1	205,3 ± 2,7	99,8 ± 1,3
		Radial	212,7 ± 9,1	103,4 ± 4,4	210,8 ± 3,7	102,4 ± 1,8
Mg 279,077	1085 ± 23	Axial	1138 ± 41	104,9 ± 3,8	1106 ± 15	101,9 ± 1,4
		Radial	1139 ± 59	105,0 ± 5,5	1170 ± 9	107,84 ± 0,79
Mn 257,610	18,5 ± 0,2	Axial	19,4 ± 1,3	104,7 ± 7,1	20,22 ± 0,47	109,3 ± 2,5
		Radial	19,0 ± 2,1	102 ± 11	20,79 ± 0,63	112,4 ± 3,4
Mo 202,031	NC ⁽¹⁾	Axial	< 1,9	-	< 0,14	-
		Radial	< 3,1	-	< 7,9	-
Ni 232,003	1,06 ± 0,09	Axial	1,16 ± 0,18	111 ± 17	0,96 ± 0,09	93 ± 9
		Radial	< 16	-	< 2,9	-
P 214,914	NC ⁽¹⁾	Axial	8156 ± 285	-	8269 ± 109	-
		Radial	8359 ± 577	-	8377 ± 141	-
Pb 220,353	0,308 ± 0,009	Axial	< 8,9	-	< 1,2	-
		Radial	< 27	-	< 62	-
Se 196,026	2,06 ± 0,15	Axial	< 5,6	-	< 26	-
		Radial	< 15	-	< 15	-
V 292,402	0,577 ± 0,023	Axial	0,565 ± 0,050	98,0 ± 8,6	0,393 ± 0,037	68,0 ± 6,4
		Radial	0,553 ± 0,076	96 ± 13	0,476 ± 0,030	82,6 ± 5,2
Zn 213,856	1424 ± 46	Axial	1495 ± 89	105,0 ± 6,3	1415 ± 61	99,3 ± 4,3
		Radial	1492 ± 82	104,8 ± 5,8	1459 ± 20	102,4 ± 1,4

(1) Concentração não certificada

Testes estatísticos foram empregados utilizando ANOVA (Análise de Variâncias) de um fator (one-way) com posterior teste de comparação múltipla SNK (teste de Student, Newman e Keuls), com o objetivo de verificar se existem diferenças significativas entre os dois conjuntos de dados resultantes dos métodos de decomposição com BD, MW e o material de referência para as espécies químicas determinadas (ZAR, 1999).

A ANOVA é a técnica que permite isolar e estimar as variâncias que contribuem para a variação total de um experimento. Ela permite identificar quais as variâncias relevantes e estabelece meios para estimar seus efeitos.

A igualdade de variâncias é feita através de teste de hipóteses, usando a distribuição F de Fisher. A partir dos dados amostrais, calcula-se o valor de F, que é dado pela razão entre as duas variâncias das amostras. O teste de hipóteses tem a forma:

$$H_0: S_1^2 = S_2^2 \text{ (hipótese nula)}$$

$$H_1: S_1^2 \neq S_2^2$$

A hipótese nula será aceita se F calculado for igual ou menor do que o F tabelado, atestando a igualdade entre as variâncias. Se F calculado for maior que o F tabelado, a hipótese nula será rejeitada. Nas situações onde há diferença entre as variâncias, uma investigação adicional deve ser empregada. O SNK é um teste de comparação múltipla utilizado para reconhecer variâncias iguais entre si e separar aquelas diferentes das demais.

O primeiro teste foi aplicado para verificar se existia diferença significativa entre os resultados dos dois métodos e o valor certificado do material de referência. Os resultados estatísticos são apresentados no Anexo C (Tabelas 01A a 13A, para configuração axial, e Tabelas 01B a 13B, para configuração radial).

A hipótese nula foi aceita com 95% de confiança, significando que não há diferença estatística entre os resultados obtidos com os procedimentos de digestão usando BD e MW e o valor certificado, nas duas configurações, para os elementos As, Ba, Ca, Cd, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn. Os elementos Co e Ni não apresentaram diferença significativa, para a configuração axial, mas o Co na visão

radial apresentou diferença significativa. Para o Al na configuração axial houve diferença extremamente significativa.

O teste de comparação múltipla entre amostras para o V na configuração axial mostrou que há diferença significativa entre os resultados do BD e o valor certificado e os resultados do BD com os resultados MW, contudo a comparação entre os resultados do MW e o valor certificado mostrou que não houve diferença significativa.

Após análises estatísticas e comparativas utilizando o intervalo de recuperação dos elementos na solução, pode-se concluir que os métodos de digestão por MW e BD são eficientes para decompor amostras de moluscos bivalves e determinar por ICP OES, os elementos As, Ba, Ca, Cd, Cu, Fe, Mg, Mn, V e Zn, nas duas configurações da tocha, e o Ni, na configuração axial.

O método por MW mostrou-se eficiente para os elementos Co e V na configuração axial e para Al na radial.

Não foi possível determinar o Pb e Se nesse material, pois suas concentrações são menores do que o limite de determinação, mas se outra amostra apresentar maiores concentrações, esses elementos podem ser determinados, uma vez que o teste de adição e recuperação mostrou uma boa resposta. O mesmo ocorre para o Cr e Mo, que não têm uma concentração certificada, mas apresentaram boa recuperação neste estudo. Esses elementos, além do P, podem ser determinados nesse tipo de amostra.

6.6. Aplicação dos Métodos de Digestão em *Annomalocardia brasiliiana*

O método de digestão com aquecimento em BD proposto neste trabalho foi aplicado aos indivíduos de *Annomalocardia brasiliiana* coletados nas duas campanhas de amostragem. Dentre as 240 amostras dos bivalves analisados, 115 indivíduos eram machos e 125 fêmeas. As massas dos tecidos dos indivíduos, juntamente com seus resultados de biometria encontram-se nas Tabelas 01 a 08 do Anexo D.

As soluções foram analisadas em condições otimizadas do espectrômetro e as concentrações dos elementos, expressas em $\mu\text{g g}^{-1}$, encontram-se nas Tabelas 01 a 16 do Anexo E. Como as concentrações máximas permitidas pela legislação são expressas em base úmida, os resultados das concentrações dos indivíduos foram calculadas igualmente em base úmida.

A Tabela 33 apresenta as concentrações médias, os valores mínimos e máximos de todos os elementos estudados, nas duas campanhas de amostragem, bem como as concentrações máximas permitidas para o consumo humano para algumas espécies. Os valores médios, bem como os valores mínimos e máximos de As dos indivíduos nas campanhas encontram-se acima dos limites máximos preconizados pela legislação brasileira. Em relação ao Cd, os indivíduos machos e fêmeas apresentaram valores máximos superiores aos limites, nas duas campanhas, com exceção para as fêmeas na 2ª campanha. Se comparados com os limites da USEPA, os valores máximos do Mn foram mais elevados que os valores de referência, nas duas campanhas, para ambos os sexos. Para o Zn, só os valores máximos dos indivíduos machos na 1ª campanha encontram-se acima do limite estabelecido pela legislação brasileira. Em relação ao Se, verificou-se que os limites de quantificação ficaram acima do intervalo de concentração recomendado por Azevedo e Chasin (2003) para o consumo humano.

Analisando os dados da Tabela 33, verifica-se que houve uma pequena variação da concentração dos íons metálicos em relação ao sexo dos indivíduos. Os valores máximos e médios de As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Fe, Mg, P, Se e V foram observados em indivíduos machos e as maiores concentrações de Mn e Mo foram notadas em indivíduos fêmeas.

O teste não paramétrico denominado de Wilcoxon-Mann-Whitney foi aplicado a fim de se verificar se havia diferenças significativas entre os teores médios dos elementos encontrados nos indivíduos machos e fêmeas, nas duas campanhas. Esse teste consiste em avaliar se ocorreram modificações significativas em dois conjuntos de dados. Quando as modificações ou diferenças são muito pequenas, elas podem ser devidas ao acaso, porém, quando são expressivas, provavelmente decorrem de um fator causal (ZAR, 1999).

TABELA 33 – Concentrações médias e valores mínimos e máximos dos indivíduos de *Annomalocardia brasiliana* utilizando o método de digestão com aquecimento em BD (peso úmido). Condições instrumentais: P = 1,4 kW, V = 0,8 L min⁻¹

Elemento, nm	Concentração Máxima Permitida ⁽¹⁾ , µg g ⁻¹	1ª Campanha de amostragem		2ª Campanha de amostragem	
		Macho, µg g ⁻¹	Fêmea, µg g ⁻¹	Macho, µg g ⁻¹	Fêmea, µg g ⁻¹
As 188,979	1,0 ⁽¹⁾	5,6 2,3 - 36,2	3,9 1,7 - 9,0	5,2 2,4 - 12,4	3,4 1,7 - 7,5
Ba 455,403		2,24 < 0,12 - 16,60	1,99 0,24 - 6,54	3,91 < 0,12 - 21,52	2,08 0,24 - 9,50
Ca 315,887		3464 367 - 48635	2486 799 - 6716	3235 580 - 43057	3101 623 - 34356
Cd 226,502	1,0 ⁽¹⁾	0,4989 < 0,0071 - 5,5646	0,4200 < 0,0071 - 1,4133	0,3741 < 0,0071 - 1,1385	0,3047 < 0,0071 - 0,9902
Co 228,616		0,3213 < 0,0093 - 5,5646	0,2290 < 0,0093 - 0,8385	0,2059 < 0,0093 - 0,7639	0,1951 < 0,0093 - 0,7895
Cr 205,560	11 ⁽²⁾	< 0,75 < 0,75 - 6,99	< 0,75 < 0,75 - 0,81	< 0,75 < 0,75 - 9,97	< 0,75 < 0,75 - 1,29
Cu 324,754	30,0 ⁽³⁾	2,5535 < 0,0037 - 20,3259	2,0727 < 0,0037 - 5,9284	2,4973 1,2590 - 5,4568	2,6732 1,2347 - 13,8363
Fe 238,204		54 2 - 135	92 2 - 135	74 4 - 423	60 17 - 152
Mg 279,077		1214 642 - 8541	1141 742 - 1889	1587 1003 - 3498	1480 805 - 2342
Mn 257,610	54 ⁽²⁾	8,7 0,50 - 92,39	14,26 0,33 - 124,90	10,91 0,62 - 125,12	28,56 0,46 - 161,30
Mo 202,031		0,18 < 0,14 - 2,23	0,68 < 0,14 - 13,48	0,15 < 0,14 - 0,94	0,23 < 0,14 - 3,57
Ni 232,003	5,0 ⁽⁴⁾	< 0,45 < 0,45 - 1,67	< 0,45 < 0,45 - 3,54	< 0,45 < 0,45 - 1,85	< 0,45 < 0,45 - 0,86
P 214,914		3253 1610 - 24914	2392 1699 - 4338	3786 1462 - 8081	2403 1467 - 4242
Pb 220,353	2,0 ⁽¹⁾	< 1,2	< 1,2 < 1,2 - 4,5	< 1,2	< 1,2
Se 196,026	1,3 - 11 ⁽⁵⁾	< 15	< 15	< 15 < 15 - 23	< 15
V 292,402		< 0,014 < 0,014 - 0,080	< 0,014 < 0,014 - 0,224	0,019 < 0,014 - 0,277	< 0,014 < 0,014 - 0,100
Zn 213,856	50 ⁽⁴⁾	14,2121 1,5303 - 109,5557	15,1285 2,8703 - 29,7385	4,7514 < 0,0017 - 30,6959	4,1854 2,8703 - 30,0528

(1) Brasil (1998); (2) USEPA (1997); (3) Brasil (1977); (4) Brasil (1965); (5) AZEVEDO e CHASIN (2003).

Para os elementos Se, V e Pb, devido ao pequeno número de valores acima do limite de quantificação, os testes não puderam ser realizados. Os resultados dos testes demonstraram que não há diferença significativa, com 95% de confiança, entre os sexos de *annomalocardia brasiliiana*, quanto ao acúmulo de íons metálicos nos tecidos desse organismo, exceto para As, P e Zn para indivíduos machos e Mn e Mo, para indivíduos fêmeas (Tabelas, 01 a 03, Anexo F). Este comportamento também foi observado em outros moluscos (mexilhões), em que as fêmeas apresentaram maiores concentrações de Cu, Zn e Mn (Furley, 1993 *apud* Carvalho *et al.*, 2001) e Cd (Lima, 1997, *apud* Carvalho *et al.*, 2001). Por outro lado, Carvalho *et al.* (2001) não observaram diferenças significativas entre indivíduos machos e fêmeas, exceto para Cu.

7. CONCLUSÕES

O planejamento experimental de misturas do tipo simplex-centróide foi utilizado em um sistema de três componentes para o desenvolvimento e a otimização de métodos de decomposição aplicáveis a tecidos de moluscos bivalves.

Os métodos de digestão investigados utilizaram a combinação de um ácido oxidante (HNO_3), um não oxidante (HCl) e um agente oxidante auxiliar (H_2O_2), em proporções diferenciadas, para a determinação de macro (Ca, Mg P e Zn) e microconstituintes (Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Se e V). Foi empregado o aquecimento em forno de MW e aquecimento em bloco digestor com refluxo (“dedo frio”).

Com as condições fixadas do espectrômetro em $0,6 \text{ L min}^{-1}$ para a vazão do gás nebulizador e 1,4 kW para a potência aplicada, na configuração axial e nos comprimentos de onda selecionados, a recuperação dos íons ficou entre 90 e 105%, para o método de digestão com aquecimento assistido por MW, e entre 90 e 100% para o método de digestão com aquecimento no BD.

Através do modelamento de misturas foi possível ajustar modelos matemáticos a partir do planejamento experimental simplex-centróide e determinar a composição adequada da mistura $\text{HCl} - \text{HNO}_3 - \text{H}_2\text{O}_2$ para a decomposição de tecidos de moluscos bivalves:

- Para o aquecimento assistido por microondas as proporções dos componentes foram 0,333; 0,333; 0,334, que correspondem à concentrações de 0,77; 0,95; 6,67 mol L^{-1} , em termos de volumes, foram 1,6; 1,7 e 1,7 mL, respectivamente.
- Para o aquecimento em bloco digestor e refluxo com “dedo frio” as proporções dos componentes $\text{HCl} - \text{HNO}_3 - \text{H}_2\text{O}_2$ foram 0,200; 0,200 e 0,600

que corresponde às concentrações de 0,48; 0,56; 1,17 mol L⁻¹, ou, em termos de volume, foram 1,0; 1,0 e 3,0 mL, respectivamente.

Nas condições instrumentais otimizadas em 0,8 L min⁻¹ de vazão de nebulização e 1,4 kW para a potência de radiofrequência, as razões Mg II/Mg I experimentais foram superiores aos indicados na literatura, o que denota uma robustez do plasma e melhores valores de recuperação para os elementos determinados.

A ANOVA de um fator com posterior teste de comparação múltipla SNK e análise comparativa, utilizando o intervalo de recuperação dos elementos na solução, mostrou que os métodos de digestão por MW e BD são eficientes para decompor amostras de moluscos bivalves e determinar por ICP OES, os elementos As, Ba, Ca, Cd, Cu, Fe, Mg, Mn, V e Zn, nas duas configurações, e o Ni na configuração axial. O método por MW mostrou-se eficiente para os elementos Co e V na configuração axial e para Al na radial. Além do P, os elementos Pb, Se, Cr e Mo podem ser determinados em amostras que apresentem concentrações maiores que os seus limites de quantificação.

Os indivíduos machos e fêmeas de *Anomalocardia brasiliiana* foram decompostos pelo procedimento com aquecimento em BD e os teores dos íons nos indivíduos foram comparados com valores limites de referência da literatura. Para o Cd, os indivíduos machos e fêmeas apresentaram valores máximos superiores aos limites. Os teores máximos do Mn foram mais elevados que os valores de referência, para ambos os sexos. Para o Zn, só os valores máximos dos indivíduos machos na 1^a campanha de amostragem encontraram-se acima do limite estabelecido pela legislação brasileira.

Verificou-se que houve uma pequena variação da concentração dos íons metálicos em relação ao sexo dos indivíduos. Os valores máximos e médios de As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Fe, Mg, P, Se e V foram observados em indivíduos

machos e as maiores concentrações de Mn e Mo foram notados em indivíduos fêmeas.

Testes estatísticos constataram que não há diferença significativa, com 95% de confiança, entre os sexos de *Anomalocardia brasiliiana*, quanto ao acúmulo de íons metálicos nos tecidos desse organismo, exceto para As, Mn, P e Zn.

Entre as principais características dos métodos desenvolvidos destacam-se a determinação multielementar, a rapidez de análise, boa precisão e exatidão e potencialidade para aplicação em análises de rotina, mostrando-se adequados para a quantificação das espécies estudadas em tecidos de moluscos bivalves.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADORNO, E.V. Estudo populacional de *Mytella guyanensis* (LAMARCK, 1819) (BIVALVIA – MYTILIDAE) em Manguezais do Recôncavo Baiano – Uma Análise Comparativa. 2003. 110f. Dissertação (Mestrado em Biologia), Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

ALEXANDRE, J.; TOLEDO, R.; SABOYA, F.; PEREIRA, M. Utilização de planejamento em rede Simplex na previsão de propriedades mecânicas de peças cerâmicas vermelhas. *Cerâmica*, v.47, n.303, 170-174, 2001.

AMARAL, M.C.R. do; REBELO, M.F.; TORRES, J.P.M.; PFEIFFER, W.C. Bioaccumulation and depuration of Zn and Cd in mangrove oysters (*Crassostrea rhizophorae*, Guilding, 1828) transplanted to and from a contaminated tropical coastal lagoon. *Marine Environmental Research*, v.59, 277-285, 2005.

de ANDRADE, J.C.; de ALMEIDA, A.M.; COSCIONE, A.R.; ALEIXO, L.M. Determination of molybdenum in steel by adsorptive stripping voltammetry in a homogeneous ternary solvent system. *Analyst*, v.126, 892-896, 2001.

de ANDRADE, J.C.; de ALMEIDA, A.M.; ALEIXO, L.M.; COSCIONE, A.R.; de Abreu, M.F. Direct voltammetric determination of Mo(VI) in plants: the need for a multivariate study of interferences. *Analytica Chimica Acta*, v.487, 243-248, 2003.

de ANDRADE, J.C.; CUELBAS, C.J.; EIRAS, S.P. Spectrophotometric determination of Mo(VI) in steel using a homogeneous ternary solvent system after single-phase extraction. *Talanta*, v.47, 719-727, 1998.

ARAÚJO, G.C.L.; GONZÁLEZ, M.H.; FERREIRA, A.G.; NOGUEIRA, A.R.A.; NÓBREGA, J.A. Effect of acid concentration on closed-vessel microwave-assisted digestion of plants materials. *Spectrochimica Acta B*, v.57, 2121-2132, 2002.

ARAÚJO, P.W.; BRERETON, G. Experimental design II. Optimization. *Trends in Analytical Chemistry*, v.15, n.2, 1996.

ASTM - AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. D-4638/95a, Standard Guide for Preparation of Biological Samples for Inorganic Chemical, Philadelphia, ASTM, v.11.01, 2000.

ASTUDILLO, L.R.; YEN, L.C.; AGARD, J.; BEKELE, I.; HUBBARD, R. Heavy metals in green mussel (*Perna viridis*) and oysters (*Crassostrea sp*) from Trinidad and Venezuela. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, v.42, 410-4154, 2002.

AZEVEDO, F.A.; CHASIN, A.A. da M. Metais - Gerenciamento da Toxicidade, São Paulo, Editora Atheneu, 2003, 554p.

BARROS NETO, B; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. Como fazer Experimentos - Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria, 2ª ed., Campinas, Editora da UNICAMP, 2003, 401p.

BEIRAS, R.; FERNÁNDEZ, N.; BELLAS, J.; BESADA, V.; GONZÁLEZ-QUIJANO, A.; NUNES, T. Integrative assessment marine pollution in Galicia estuaries using sediment chemistry, and embryo-larval toxicity bioassays. Chemosphere, v.52, n.7, 1209-1224, 2003.

BERMEJO-BARRERA, P.; MOREDA-PINEIRO, A.; MUNIZ-NAVEIRO, O.; GÓMEZ-FERNÁNDEZ, A.M.J.; BERMEJO-BARRERA, A. Optimization of a microwave-pseudo-digestion procedure by experimental designs for the determination of trace elements in seafood products by atomic absorption spectrometry. Spectrochimica Acta Part B, v.55, 1351-1371, 2000.

BOSS, C. B.; FREDEEN, K. J. Concepts, Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, 2ª ed, Perkin-Elmer Corporation, 1997, 102p.

BRASIL. Decreto no 55871 de 26 de Março de 1965. Publicada no Diário Oficial da União. Brasília 09/04/65 Sec.1 pt1. p. 3611. 1965.

BRASIL. Secretaria Nacional de Saúde do Ministério da Saúde, Comissão de Normas e Padrões para Alimentos, Portaria 56, de 14 de março de 1977, Diário Oficial da União, Brasília, 22 de março de 1977. Seção 1, pt. 1 p.3304. 1977.

BRASIL. Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, Portaria nº 685, de 27 de agosto de 1998, Diário Oficial da União, Brasília, 28 de agosto de 1998.

BRENNER, I. B.; ZISCHK, M.; MAICHIN, B.; KNAPP, G. Ca and Na interference effects in an axially viewed ICP using low and high aerosol loadings. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, v.13, 1257-1264, 1998.

BRENNER, I. B.; ZANDER, A.T. Axially and radially viewed inductively coupled plasmas – a critical review. *Spectrochimica Acta B*, v.55, 1195-1240, 2000.

CAMPOS, M.J.A. Metais Pesados e seus efeitos. Disponível em: <<http://www.mundodoquimico.hpg.com.br>>. Acesso em: 29 de dezembro de 2005.

CARRILHO, E.N.V. M.; NOGUEIRA A.R.A.; NÓBREGA, J.A.; SOUZA, G.B. de; CRUZ, G.M. An attempt to correlate fat and protein content of biological samples with residual carbon after microwave-assisted digestion. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, v. 371, 536-540, 2001.

CARVALHO, C.E.V.; CAVALCANTE, M.P.O.; GOMES, M.P.; FARIA, V.V.; REZENDE, C.E. Distribuição de metais pesados em mexilhões (*Perna perna*, L.) da Ilha de Santana, Macaé, SE, Brasil. *Ecotoxicology and Environmental Restoration*, v.4, n.1, 1-5, 2001.

CAVALCANTI, A.D. Monitoramento da contaminação por elementos traço em ostras comercializadas em Recife, Pernambuco, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, v.19, n.5, 1545-1551, 2003.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental de São Paulo. Sistema Estuarino de Santos e São Vicente. Relatório Técnico CETESB, 2001, 141p.

CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental de São Paulo, Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo 2002, Relatório Técnico CETESB, São Paulo, 2003, 264p.

CONAMA – Conselho Nacional de Meio Ambiente. Resolução nº 357, 17 de março de 2005: publicada no Diário Oficial da União. de 18 de março de 2005.

Conquiliologistas do Brasil. Filo Mollusca. Disponível em: <<http://www.conchasbrasil.org.br/materias/moluscos/default.asp>>. Acesso em: 21 de março de 2006.

CORREA, S.L.; HOTZA, D.; SEGADÃES, A.M. Uso de técnicas de planejamento experimental e programação não linear para otimização de massas cerâmicas triaxiais. *Revista Matéria*, v.9, n.4, 271-279, 2004a.

CORREA, S.L.; HOTZA, D.; SEGADÃES, A.M. Simultaneous optimization of linear firing shrinkage and water absorption of triaxial ceramic bodies using experiments design. *Ceramics International*, v.30, 917-922, 2004b.

COSCIONE, A.R.; de ANDRADE, J.C.; MAY, G.M. O Modelamento estatístico de misturas: experimento tutorial usando voltametria de redissolução anódica. *Química Nova*, v.28, n.6, 1116-1122, 2005.

CRA - Centro de Recursos Ambientais do Estado da Bahia. Diagnóstico do grau de contaminação da Baía de Todos os Santos por metais pesados e hidrocarbonetos de petróleo a partir da análise das suas concentrações nos sedimentos de fundo e na biota associada. In Relatório do diagnóstico da concentração de metais pesados e hidrocarbonetos de petróleo nos sedimentos e biota da Baía de Todos os Santos, v. IV, Salvador, 2004, 351p.

CRAZY MANIA. Matéria: Biologia. Moluscos. Disponível em: <<http://www.superzap.com/biblioteca/?cat=biologia&page2=moluscos>>. Acesso em: 28 de dezembro de 2005.

CRISPINO, C.C. Determinação de As, Sb e Se em material agrônomo por espectrometria de emissão óptica acoplada a plasma induzido com geração de hidretos (HG-ICP OES). 2005.109f. Dissertação (Mestrado em Química), Centro de Ciência Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

CURTIUS, A.J.; SEIBERT, E.L.; FIEDLER, H.D.; FERREIRA, J.F.; VIEIRA, P.H.F. Avaliando a contaminação por elemento traço em atividades de maricultura. Resultados parciais de um estudo de caso realizado na ilha de Santa Catarina, Brasil. *Química Nova*, v.26, n.1, 44-52, 2003.

DOBROWOLSKI, R.; SKOWNÓSKA, M. Concentration and discrimination of selected trace metals by freshwater mollusks. *Environmental Contamination and Technology*, v.69, 509-515, 2002.

DUBUISSON, C.; POUSSEL, E.; TODOLI, J.L.; MERMET, M. Effect of sodium during the aerosol transport and filtering in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Spectrochimica Acta B*, v. 53, n.4, 593- 600, 1998.

EIRAS, S.P.; ZAMORRA, P.G.P.; REIS, E.L. Estudo do efeito de misturas de solventes na determinação espectrofotométrica por absorção atômica. *Química Nova*, v.17, 369-371, 1994.

FÖRSTNER, U; WITTMANN, G.T. *Metal Pollution in the Aquatic Environment*, Berlin, Springer-Verlag, 1983, 486p

GALVÃO, J.A. Qualidade microbiológica da água de cultivo e de mexilhões *Perna perna* (Linnaeus, 1758) comercializados em Ubatuba, SP. 2004. 109f.. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

GARCIA-RICO, L.; RUIZ, R.E.R. Determination of total metals in cultivated oysters (*Crassostrea gigas*) from northwest coast of México by microwave digestion and atomic absorption spectrometry. *Journal of AOAC International*, v.84, n.6, 1909-1913, 2001.

GARCIA, E.E. Decomposição de materiais agronômicos em frascos fechados assistida por microondas: Experimento 15, III Workshop sobre Preparo de Amostras, Universidade Federal de São Carlos, 2000.

GEFFARD, A.; JEANTET, A.Y.; AMIARD, J.C.; PENNEC, M.LE.; BALLAN-DUFRANÇAIS, C.; AMIARD-TRIQUET, C. Comparative study of metal handling strategies in bivalves *Mytilus edulis* and *Crassostrea gigas*: a multidisciplinary approach. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, v.84, 641-650, 2004

GERMEN – Grupo de Recomposição Ambiental. Baía de Todos os Santos: Diagnóstico Sócio-Ambiental e Subsídios para a Gestão, Salvador, Edições GERMEN, 1997, 244p.

GIFFORD, S.; DUNSTAN, H.; O'CONNOR, W.; MACFARLANE, G.R. Quantification of in situ nutrient and heavy metal remediation by small pearl oyster (*Pinctada imbricata*) farm at Port Stephens, Australia. *Marine Pollution Bulletin*, v.50, n.4, 417-422, 2005.

GINÉ-ROSIAS, M. F. Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente, Piracicaba, Editora CPG/CENA, 1998, 148p (Série didática, v.3).

de GUSMÃO, L.F.M. Efeitos do cobre e cromo na comunidade zooplanctônica: Um estudo experimental em mesocosmos. 2004. 268f. Dissertação (Mestrado Engenharia Ambiental), Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

HARRIS, D.C. Análise Química Quantitativa, 5ª ed., Rio de Janeiro, Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 2001, 862p.

HILLIG, E.; HASELEING, C.R.; IWAKIRI, S. Modelagem de misturas de três espécies de madeira na fabricação de chapas aglomeradas estruturais. *Revista Floresta*, v. 33, n. 3, 311-320, 2003.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Senso Demográfico 2000, Brasília. <http://www.ibge.gov.br>.

IRATO, P.; SANTOVITO, G.; CASSINI, A.; PICCINNI, E.; ALBERGONI, V. Metal accumulation and binding protein induction in *Mytilus galloprovincialis*, *Scapharca inaequivalvis*, and *Tapes philipinarum* from lagoon of Venice. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v.44, 476-484, 2003.

KENNISH, M.J. Practical Handbook of Estuarine and Marine Pollution, Boca Raton, CRC Press, 1997, 524p.

KLAASSEN, C; WATKINS, J.B. Toxicologia: a Ciência dos Tóxicos de Casarett e Doullan, 5ª ed., Ed. McGraw-Hill de Portugal, 2001, 864p.

KRUG, J.F.; NÓBREGA, J.A.; NOGUEIRA, A.R.A.; OLIVEIRA, P.V. Curso em Análise Química - Preparo de Amostras para Técnicas Espectroanalíticas, São Paulo, Varian e PPG-DQ/UFSCar, 2002.

LACERDA, L.D. Trace Metals Biogeochemistry and Difuse Pollution. In Mangrove Ecosystems, International Society for Mangrove Ecosystems (ISME), n.2, 1998, 65p.

LACERDA, L.D.; ITTEKKOT, V.; PATCHINEELAM, S.R. Biogeochemistry of mangrove soil organic matter: a comparison between *Rhizophora* and *Avicennia* soil in south – eastern Brazil. Estuarine, Coastal and Shelf Science, v.40, 713 – 720, 1995.

LEÃO, C.S. Caracterização geoambiental de zonas de Manguezal da Bahia de aratu - BA- Brasil. 2004. 135f. Dissertação (Mestrado em Geoquímica e Meio Ambiente), Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

LEÃO, Z.M.A.N.; DOMINGUEZ, J.M.L. Tropical coast of Brazil. Marine Pollution Bulletin, v.41, 112-122, 2000.

LEMES, M.J.L. Avaliação de metais e elementos-traço em águas e sedimentos das bacias hidrográficas dos Rios Mogi-Guaçu e Pardo, São Paulo. 2001. 215f.. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear), Instituto de Pesquisas Energética e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo.

LENOCH, R. Ciência e tecnologia do mar, Saúde Pública e os Moluscos Marinhos Cultivados, <http://www.zoonews.com.br/noticias2/noticia.php?idnoticia=28664>, Arquivo consultado em 23/04/2005.

LIANG, L.N.; He, B.; JIANG, G.B.; CHEN, D.Y.; YAO, Z.W. Evaluation of mollusks as biomonitors to investigate heavy metal contaminations along the Chinese Bohai Sea. The Science of the Total Environment, v.324, 105–113, 2004.

MACHADO, I.C.; MAIO, F.D.; KIRA, C.S.; CARVALHO, M.F.H. Estudo da ocorrência dos metais pesados Pb, Cd, Hg, Cu e Zn na ostra mangue *Crassostrea Brasiliana* do estuário de Cananéia-SP, Brasil. Revista do Instituto Adolfo Lutz, v.61, n.1, 13-18, 2002.

MACHADO, W.; SIVA-FILHO, E.V.; OLIVEIRA, R.R.; LACERDA, L.D. Trace metal retention in mangrove ecosystems in Guanabara Bay, SE Brazil. Marine Pollution Bulletin, v.44, 1277-1280, 2002.

MARINS, R.V.; PAULA FILHO, F.J. de; MAIA, S.R.R. Distribuição de mercúrio total como indicador de poluição urbana e industrial na costa brasileira, *Química Nova*, v.27, n.5, 763-770, 2004.

MASSART, D.L.; VANDEGINSTE, B.G.M.; BUYDENS, L.M.C.; JONG, S. de; LEWI, P.J.; SMEYERS-VERBEKE, J. Data handling in science and technology, 20A: Handbook of chemometrics and qualimetrics: Part A, 3ª ed., Amsterdam, Elsevier Science B. V., 2003, 867p.

MEIER, P.C.; ZÜND, R.E. Statistical methods in analytical chemistry, New York, John Wiley e Sons, 1993, 321p.

MERMET, J.M. Use of magnesium as a test element for inductively coupled plasma atomic emission spectrometry diagnostics, *Analytica Chimica Acta*, v.250, 85-94, 1991.

MONTASER, A.; GOLIGHTLY, D. W. Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry. 2ª ed., New York, VCH Publishers, 1992.

NANO, R.M.W, CADORE, S., FERREIRA, S.L.C., QUEIROZ, A F.de S., GARCIA, R.J.L. Desenvolvimento de método de digestão alternativo para determinação de íons metálicos em moluscos bivalves In: 1º Congresso Internacional Piatam, 2005, Manaus - AM. Anais do 1º Congresso Internacional Piatam, 250 – 250, 2005a.

NANO, R.M.W., CADORE, S., FERREIRA, S.L C., QUEIROZ, A.F. de S., GARCIA, R.J.L. Estudo de método de decomposição para determinar macro e microconstituintes em moluscos bivalves utilizando planejamento experimental Simplex-Centróide In: 1 Congresso Internacional Piatam, Manaus. Anais do 1º Congresso Internacional Piatam. , 2005b.

NANO, R.M.W., SOUSA, R. A., FERREIRA, S.L.C., BACCAN, N., CADORE, S. Determinação de espécies inorgânicas em moluscos bivalves In: 13º Encontro Nacional de Química Analítica e 1º Congresso Ibero-Americano de Química Analítica, 2005, Niterói. Anais do 13º Encontro Nacional de Química Analítica e 1º Congresso Ibero-Americano de Química Analítica. , 2005c.

OLIVEIRA, W.F. Evolução Sócio-Econômica do Recôncavo Baiano: In Baía de Todos os Santos: Diagnóstico Sócio Ambiental e Subsídios para a Gestão, Salvador, Edições GERMEN, 43 – 56, 1997, 244p.

OTCHERE, F.A.; JOIRIS, C.R.; HOLSBEEK, L. Mercury in the bivalves *Anadara (Senilia) senilis*, *Perna perna* and *Crassostrea tulipa* from Ghana. The Science of Total Environment, v.304, 369-375, 2003.

PEMPKOWIAK, J.; SIKORA, A.; BIERNACKA, E. Speciation of heavy metals in marine sediments vs their bioaccumulation by mussels. Chemosphere, v.39, n.2, 313-321, 1999.

PEREIRA, O.M.; HENRIQUES, M.B.; ZENEBON, O.; SAKUMA, A.; KIRA, C.S. Determinação dos teores de Hg, Pb, Cd, Cu e Zn em moluscos (*Crassostrea brasiliiana*, *Perna perna* e *Mytella falcata*). Revista do Instituto Adolfo Lutz, v.61, n.1, 19-25, 2002.

PETROBRAS. Controle Ambiental/Sistemas de tratamento. Disponível em: <<http://www.revap.petrobras.com.br/asema/bdg/Amb-Trat.htm>>. Acesso em: 07 de outubro de 2000.

REINO ANIMALIA IV: Moluscos e Equinodermos. Disponível em: <<http://members.tripod.com/~netopedia/biolog/AnimaliaIV.htm>>. Acesso em: 28 de dezembro de 2005.

REINFELDER, J.R.; FISHER, N.F.; LUOMA, S.N.; NICHOLS, J.K.; WANG, W.X. Trace element trophic transfer in aquatic organism : a critique of the kinetic model approach. The Science of the Total Environment, v.219, 117-135, 1998.

ROCHA, S. Filo Mollusca. Em:<<http://curlygirl.no.sapo.pt/moluscos.htm>>. Acesso em: 21 de março de 2006.

ROHDE, M.G. Geoquímica Ambiental e Estudos de Impacto, São Paulo, Ed. Signus, 2000, 156p.

RODRIGUES, F. O. Derramamento de óleo no ecossistema de manguezal – Limpeza do ambiente, efeitos e metodologia de estudo. 1997. 185p. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública), Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo.

ROSSI, A. Pelecípodos (ou bivalves). Disponível em: <http://geocities.yahoo.com.br/anna_rgs/pelecipodos.html>. Acesso em: 21 de março de 2006.

ROMERO, X.; POUSSEL, E.; MERMET, J.M. The effect of sodium on analyte ionic line in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry: influence of the operating conditions. *Spectrochimica Acta B*, v. 52, 495-502, 1997.

SAAVEDRA, Y.; GONZÁLEZ, A.; FERNÁNDEZ, P.; BLANCO, J. Interspecific variation of metal concentrations in three bivalve mollusks from Galicia. *Archives of Environmental and Toxicology*, v.47, 341-351, 2004a.

SANTOS JÚNIOR, W. S. D. Estudos geoquímicos em sedimentos de manguezal como indicadores de impactos ambientais na região petrolífera de São Francisco do Conde – BA. 2005. 117f. Dissertação (Mestrado em Geoquímica e Meio Ambiente) - Instituto de Geociências, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

SAAVEDRA, Y.; GONZÁLEZ, A.; FERNÁNDEZ, P.; BLANCO, J. A simple optimized microwave digestion method for multielement monitoring in mussel samples. *Spectrochimica Acta B*, v.59, 533-541, 2004b.

SANTOS, J. B. Estudos geoquímicos em substrato lamoso em zonas de manguezal da região de São Francisco do Conde – Recôncavo Baiano: Subsídios a um programa de diagnóstico e monitoramento ambiental para regiões de manguezal influenciadas por atividades petrolíferas. 2002. 142f. Dissertação (Mestrado em Geoquímica e Meio Ambiente), Instituto de Geociência, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y. Manguezal: Ecosistema entre a terra e o mar, São Paulo, Ed. Caribbean Ecological Research, 1995, 64p.

SHI, B.; ALLEN, H.E.; GRASSI, M.T.; HUIZHONG, M.; Modeling copper partitioning in surface waters. *Water Research*, v.32, 3756-3764, 1998

SILVA, F.V.; TREVIZAN, L.C.; SILVA, C.S; NOGUEIRA, A.R.A.; NÓBREGA, J.A. Evaluation of inductively coupled plasma optical emission spectrometers with axially and radially viewed configurations. *Spectrochimica Acta B*, v.57, 1905-1913, 2002.

SILVA, J.C.J.; BACCAN, N.; NÓBREGA, J.A. Analytical performance of an inductively coupled plasma optical emission spectrometry with dual view configuration. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.14, n.2, 310-315, 2003.

SKOOG, D. A.; LEARY, J.J. *Principles of Instrumental Analysis*. 4th ed., Harcourt Brace College Publishers, Orlando, 1992, 802p.

SOKOLOWSKI, A.; BAWAZIR, A.S.; WOLOWICZ, M. Trace metals in the brown mussel *Perna perna* from the coastal water of Yemen (Gulf of Aden): how concentrations are affected by weight, sex, and seasonal cycle. *Archives of Environmental Science and Toxicology*, v. 46, 67-80, 2004.

SOUSA, R.A.; BACCAN, N.; CADORE, S. Direct Determination of metals in Brazilian coconut water utilizing an inductively coupled plasma optical emission spectrometer. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 16, n.3B, 540-544, 2005.

STORELLI, M.M.; MARCOTRIGIANO, G.O. Bioindicador organisms: heavy metal pollution evaluation in the Ionian Sea (Meditarranean-Italy). *Environmental Monitoring and Assessment*, v.102, 159-166, 2005.

SUN, DA-HAI; WATERS, J.K.; MAWHINNEY, T.P. Microwave digestion with HNO₃-H₂O₂-HF for the determination of total aluminum in seafood and meat by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v.45, 2115-2119, 1997.

TAVARES, T.M. Distribuição espacial de metais pesados e hidrocarbonetos ao norte da Baía de Todos os Santos-Programa de monitoramento dos ecossistemas ao norte da Baía de Todos os Santos, Relatório Técnico Final, Tomo XI, UFBA, 1996, 85p.

THOMAS, J.E. *Fundamentos de engenharia de petróleo – PETROBRÁS – Petróleo Brasileiro Ltda, Universidade Petrobrás, Editora Interciência, 2001, 271p.*

TOMAZELLI, A.C. Estudo comparativo das concentrações de cádmio, chumbo e mercúrio em seis bacias hidrográficas do Estado de São Paulo, Ribeirão Preto. 2003, 124f.. Tese (Doutorado em Biologia Comparada), Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

THOMSEN, V.; ROBERTS, G.; BURGESS, K. The concept of background equivalent concentration in spectrochemistry, *Spectroscopy*, v.15, n.1, 33-36, 2000.

THOMSEN, V.; SCHATZLEIN, D.; MERCURO, D. Limits of detection in spectroscopy, *Spectroscopy*, v.18, n.12, 112-114, 2003.

USEPA. The incidence and severity of sediment contamination in surface waters of the United States. Volume 1: National Sediment Quality Survey. U.S. Environmental Protection Agency. Office of Science and Technology Washington, DC.. EPA 823-R-97-006. 1997

YAWEI, W.; LINA, L.; JIANGBO, S.; GUIBIN, J. Chemometrics methods for the investigation of methylmercury and total mercury contamination in mollusks samples collected from coastal sites along the Chinese Bohai Sea. *Environmental Pollution*, v.135, n.3, 457-467, 2005.

VALDERRANA, P. Avaliação de figuras de mérito em calibração multivariada na determinação de parâmetros de controle de qualidade em indústria alcooleira por espectrometria no infravermelho próximo. 2005, 128f. Dissertação (Mestrado em Química), Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

ZAR, J.H. *Biostatistical Analysis*, 4^a ed., Upper Saddle River, Prentice Hall Inc, 1999, 663p.

ZAUKE, G.P.; CLASON, B.; SAVINOV, V.M.; SAVINOSA, T. Heavy metals of inshore benthic invertebrates from the Barents Sea. *The Science of Total Environment*, v.306, 99-100, 2003.

9. ANEXO A

RESULTADOS DA ANOVA PARA A MODELAGEM DO PLANEJAMENTO

Tabela 01A - Análise de Variância para AI com aquecimento por MW – Modelo quadrático.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	p
Regressão	283,4196	5	56,68392582	1,9121934	0,171981
Resíduos	326,0775	11	29,64340698		
Falta de Ajuste	12,4756	3	4,158542263	0,1060846	0,954179
Erro Puro	313,6019	8	39,20023125		
Total Ajusto	609,4971	16	38,09356912		

Tabela 01B - Análise de Variância para AI com aquecimento por MW – Modelo cúbico.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	p
Regressão	283,4258	6	47,23762794	1,44869	0,287861
Resíduos	326,0713	10	32,60713383		
Falta de Ajuste	12,4695	2	6,234744133	0,1590487	0,855587
Erro Puro	313,6019	8	39,20023125		
Total Ajusto	609,4971	16	38,09356912		

Tabela 02A - Análise de Variância para As com aquecimento por MW - Modelo Quadrático.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	p
Regressão	239,4863	5	47,89725906	1,9744362	0,161229
Resíduos	266,8457	11	24,25870149		
Falta de Ajuste	72,1665	3	24,05550548	0,9885188	0,445628
Erro Puro	194,6792	8	24,3349		
Total Ajusto	506,3320	16	31,64575074		

Tabela 02B - Análise de Variância para As com aquecimento por MW - Modelo Cúbico.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	p
Regressão	246,0016	6	41,00026629	1,5749319	0,250427
Resíduos	260,3304	10	26,0330414		
Falta de Ajuste	65,6512	2	32,82560702	1,3489107	0,312736
Erro Puro	194,6792	8	24,3349		
Total Ajusto	506,3320	16	31,64575074		

Tabela 03A - Análise de Variância para Ba com aquecimento por MW - Modelo Quadrático.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Regressão	25,7946	5	5,158919943	0,212729	0,949933
Resíduos	266,7624	11	24,25113158		
Falta de Ajuste	31,6378	3	10,54593245	0,3588201	0,784486
Erro Puro	235,1247	8	29,39058125		
Total Ajusto	292,5570	16	18,28481544		

Tabela 03B - Análise de Variância para Ba com aquecimento por MW - Modelo Cúbico.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Regressão	26,2174	6	4,369561927	0,1640597	0,980891
Resíduos	266,3397	10	26,63396755		
Falta de Ajuste	31,2150	2	15,60751275	0,5310379	0,607364
Erro Puro	235,1247	8	29,39058125		
Total Ajusto	292,5570	16	18,28481544		

Tabela 04A - Análise de Variância para Ca com aquecimento por MW - Modelo Quadrático.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Regressão	34,2429	5	6,848585614	0,3452745	0,874844
Resíduos	218,1871	11	19,83519264		
Falta de Ajuste	28,4672	3	9,489072996	0,4001298	0,756819
Erro Puro	189,7199	8	23,7149875		
Total Ajusto	252,4300	16	15,77687794		

Tabela 04B - Análise de Variância para Ca com aquecimento por MW - Modelo Cúbico.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Regressão	34,2743	6	5,712390203	0,2618492	0,942688
Resíduos	218,1557	10	21,81557058		
Falta de Ajuste	28,4358	2	14,21790292	0,5995324	0,571986
Erro Puro	189,7199	8	23,7149875		
Total Ajusto	252,4300	16	15,77687794		

Tabela 05A -Análise de Variância para Cd com aquecimento por MW - Modelo Quadrático.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Regressão	163,9786	5	32,7957293	0,3917927	0,844452
Resíduos	920,7752	11	83,70683321		
Falta de Ajuste	383,2738	3	127,7579218	1,9015083	0,207846
Erro Puro	537,5014	8	67,187675		
Total Ajusto	1084,7538	16	67,79711324		

Tabela 05B - Análise de Variância para Cd com aquecimento por MW - Modelo Cúbico.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Regressão	381,6389	6	63,60647651	0,9046384	0,528105
Resíduos	703,1150	10	70,31149527		
Falta de Ajuste	165,6136	2	82,80677635	1,2324697	0,341518
Erro Puro	537,5014	8	67,187675		
Total Ajusto	1084,7538	16	67,79711324		

Tabela 06A -Análise de Variância para Co com aquecimento por MW - Modelo Quadrático.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Regressão	3182,9979	5	636,5995897	1,0039765	0,459394
Resíduos	6974,8601	11	634,0781886		
Falta de Ajuste	773,5140	3	257,8380083	0,332622	0,802294
Erro Puro	6201,3461	8	775,1682563		
Total Ajusto	10157,8580	16	634,8661265		

Tabela 06B - Análise de Variância para Co com aquecimento por MW - Modelo Cúbico.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Regressão	3191,9415	6	531,9902582	0,7637046	0,614587
Resíduos	6965,9165	10	696,5916474		
Falta de Ajuste	764,5704	2	382,2852122	0,4931642	0,628103
Erro Puro	6201,3461	8	775,1682563		
Total Ajusto	10157,8580	16	634,8661265		

Tabela 07A -Análise de Variância para Cu com aquecimento por MW - Modelo Quadrático.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Regressão	506,2321	5	101,2464293	1,1949345	0,372532
Resíduos	932,0266	11	84,72969149		
Falta de Ajuste	161,1200	3	53,70665213	0,5573349	0,657778
Erro Puro	770,9067	8	96,36333125		
Total Ajusto	1438,2588	16	89,89117206		

Tabela 07B - Análise de Variância para Cu com aquecimento por MW - Modelo Cúbico.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Regressão	561,4416	6	93,57359629	1,0671962	0,44105
Resíduos	876,8172	10	87,68171752		
Falta de Ajuste	105,9105	2	52,95526259	0,5495375	0,597545
Erro Puro	770,9067	8	96,36333125		
Total Ajusto	1438,2588	16	89,89117206		

Tabela 08A -Análise de Variância para Fe com aquecimento por MW - Modelo Quadrático.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Regressão	85,4882	5	17,0976353	1,0630345	0,430644
Resíduos	176,9218	11	16,08380107		
Falta de Ajuste	22,0958	3	7,365270577	0,3805702	0,769849
Erro Puro	154,8260	8	19,35325		
Total Ajusto	262,4100	16	16,40062426		

Tabela 08B - Análise de Variância para Fe com aquecimento por MW - Modelo Cúbico.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Regressão	86,1397	6	14,35661419	0,8144658	0,582326
Resíduos	176,2703	10	17,62703031		
Falta de Ajuste	21,4443	2	10,72215154	0,5540233	0,595195
Erro Puro	154,8260	8	19,35325		
Total Ajusto	262,4100	16	16,40062426		

Tabela 09A-Análise de Variância para Mg com aquecimento por MW - Modelo Quadrático.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Regressão	24,0253	5	4,805059528	0,2608871	0,925256
Resíduos	202,5997	11	18,41815476		
Falta de Ajuste	35,0328	3	11,67758412	0,5575125	0,657672
Erro Puro	167,5670	8	20,94586875		
Total Ajusto	226,6250	16	14,1640625		

Tabela 09B - Análise de Variância para Mg com aquecimento por MW - Modelo Cúbico.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Regressão	28,3059	6	4,717643994	0,2378814	0,953784
Resíduos	198,3191	10	19,8319136		
Falta de Ajuste	30,7522	2	15,37609302	0,7340871	0,509677
Erro Puro	167,5670	8	20,94586875		
Total Ajusto	226,6250	16	14,1640625		

Tabela 10A-Análise de Variância para Mn com aquecimento por MW - Modelo Quadrático.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Regressão	17,3640	5	3,472797434	0,1801153	0,964373
Resíduos	212,0907	11	19,28097336		
Falta de Ajuste	36,0894	3	12,02980232	0,5468052	0,664061
Erro Puro	176,0013	8	22,0001625		
Total Ajusto	229,4547	16	14,34091838		

Tabela 10B - Análise de Variância para Mn com aquecimento por MW - Modelo Cúbico.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Regressão	20,4556	6	3,409263136	0,1631233	0,981159
Resíduos	208,9991	10	20,89991153		
Falta de Ajuste	32,9978	2	16,49890765	0,7499448	0,502905
Erro Puro	176,0013	8	22,0001625		
Total Ajusto	229,4547	16	14,34091838		

Tabela 11A - Análise de Variância para V com aquecimento por MW - Modelo Quadrático.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Regressão	405,6289	5	81,12577776	0,6405109	0,674107
Resíduos	1393,2372	11	126,6579235		
Falta de Ajuste	137,3473	3	45,78241942	0,2916333	0,830446
Erro Puro	1255,8899	8	156,9862375		
Total Ajusto	1798,8660	16	112,4291279		

Tabela 11B - Análise de Variância para V com aquecimento por MW - Modelo Cúbico.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Regressão	535,8029	6	89,30048677	0,7070152	0,651929
Resíduos	1263,0631	10	126,3063126		
Falta de Ajuste	7,1732	2	3,586613227	0,0228467	0,977476
Erro Puro	1255,8899	8	156,9862375		
Total Ajusto	1798,8660	16	112,4291279		

Tabela 12A - Análise de Variância para Zn com aquecimento por MW - Modelo Quadrático.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Regressão	8,0098	5	1,601963704	0,1186922	0,985459
Resíduos	148,4646	11	13,49678441		
Falta de Ajuste	19,1658	3	6,388609514	0,3952773	0,760039
Erro Puro	129,2988	8	16,16235		
Total Ajusto	156,4744	16	9,779652941		

Tabela 12B - Análise de Variância para Zn com aquecimento por MW - Modelo Cúbico.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Regressão	10,3990	6	1,733158608	0,1186481	0,991618
Resíduos	146,0755	10	14,60754954		
Falta de Ajuste	16,7767	2	8,388347707	0,5190054	0,613859
Erro Puro	129,2988	8	16,16235		
Total Ajusto	156,4744	16	9,779652941		

Tabela 13B - Análise de Variância para Al com aquecimento por BD - Modelo Cúbico.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Regressão	3040,3893	6	506,73155	2,472788	0,091758
Resíduos	2254,155	11	204,92318		
Falta de Ajuste	803,80785	2	401,90393	2,493979	0,137466
Erro Puro	1450,3471	9	161,14968		
Total Ajusto	5294,5442	17	311,44378		

Tabela 14A-Análise de Variância para As com aquecimento por BD-Modelo Quadrático.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	F tabelado
Regressão	1177,1590	5	235,4318	189,941	3,11
Resíduos	148,7399	12	12,395		
Falta de Ajuste	-0,0604	3	-0,0201	-0,0012	3,86
Erro Puro	148,8003	9	16,5334		
Total Ajusto	1325,8990	17			

Tabela 15B - Análise de Variância para Ba com aquecimento por BD - Modelo Cúbico.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Regressão	9628,821	6	1604,803	3,138285	0,069032
Resíduos	4090,905	8	511,3632		
Falta de Ajuste	976,3672	1	976,3672	2,194409	0,182064
Erro Puro	3114,538	7	444,934		
Total Ajusto	13719,73	14	979,9804		

Tabela 16A-Análise de Variância para Ca com aquecimento por BD-Modelo Quadrático.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	F tabelado
Regressão	828,2052	5	165,641	69,776	3,11
Resíduos	284,8661	12	23,7388		
Falta de Ajuste	-163,6249	3	-54,5416	-10,945	3,86
Erro Puro	448,4910	9	49,8323		
Total Ajusto	1113,0710	17			

Tabela 17A-Análise de Variância para Cd com aquecimento por BD-Modelo Quadrático.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	F tabelado
Regressão	1628,0300	5	325,6059	106,016	3,11
Resíduos	368,5531	12	30,7128		
Falta de Ajuste	-235,5925	3	-78,5308	-11,699	3,86
Erro Puro	604,1456	9	67,1273		
Total Ajusto	1996,5830	17			

Tabela 18A-Análise de Variância para Cu com aquecimento por BD-Modelo Quadrático.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	F tabelado
Regressão	773,4301	5	154,686	67,756	3,11
Resíduos	273,9583	12	22,8299		
Falta de Ajuste	-294,7807	3	-98,2602	-15,549	3,86
Erro Puro	568,7390	9	63,1932		
Total Ajusto	1047,3880	17			

Tabela 19B - Análise de Variância para Co com aquecimento por BD - Modelo Cúbico.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Regressão	7362,2982	6	1227,05	2,70163	0,072914
Resíduos	4996,0753	11	454,1887		
Falta de Ajuste	89,682566	2	44,84128	0,082254	0,921722
Erro Puro	4906,3927	9	545,1547		
Total Ajusto	12358,374	17	726,9631		

Tabela 20A-Análise de Variância para Fe com aquecimento por BD-Modelo Quadrático.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	F tabelado
Regressão	619,6769	5	123,9354	38,194	3,11
Resíduos	389,3906	12	32,4492		
Falta de Ajuste	-80,4476	3	-26,8159	-0,5137	3,86
Erro Puro	469,8382	9	52,2042		
Total Ajusto	1009,0680	17			

Tabela 21A-Análise de Variância para Mg com aquecimento por B -Modelo Quadrático.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	F tabelado
Regressão	652,1371	5	130,4274		3,11
Resíduos	219,2781	12	18,2732		
Falta de Ajuste	-137,5487	3	-45,8496		3,86
Erro Puro	356,8268	9	39,6474		
Total Ajusto	871,4152	17			

Tabela 22A-Análise de Variância para Mn com aquecimento por BD-Modelo Quadrático.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	F tabelado
Regressão	695,9683	5	139,1937	82,82	3,11
Resíduos	201,6817	12	16,8068		
Falta de Ajuste	-123,7184	3	-41,2395	-11,406	3,86
Erro Puro	325,4001	9	36,1556		
Total Ajusto	897,6500	17			

Tabela 23A-Análise de Variância para Zn com aquecimento por BD-Modelo Quadrático.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	F tabelado
Regressão	562,6111	5	112,5222	49,46	3,11
Resíduos	273,0000	12	22,75		
Falta de Ajuste	-84,0765	3	-28,0255	-0,7064	3,86
Erro Puro	357,0765	9	39,6752		
Total Ajusto	835,6111	17			

10. ANEXO B

SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DOS MODELOS PARA O AQUECIMENTO EM BD

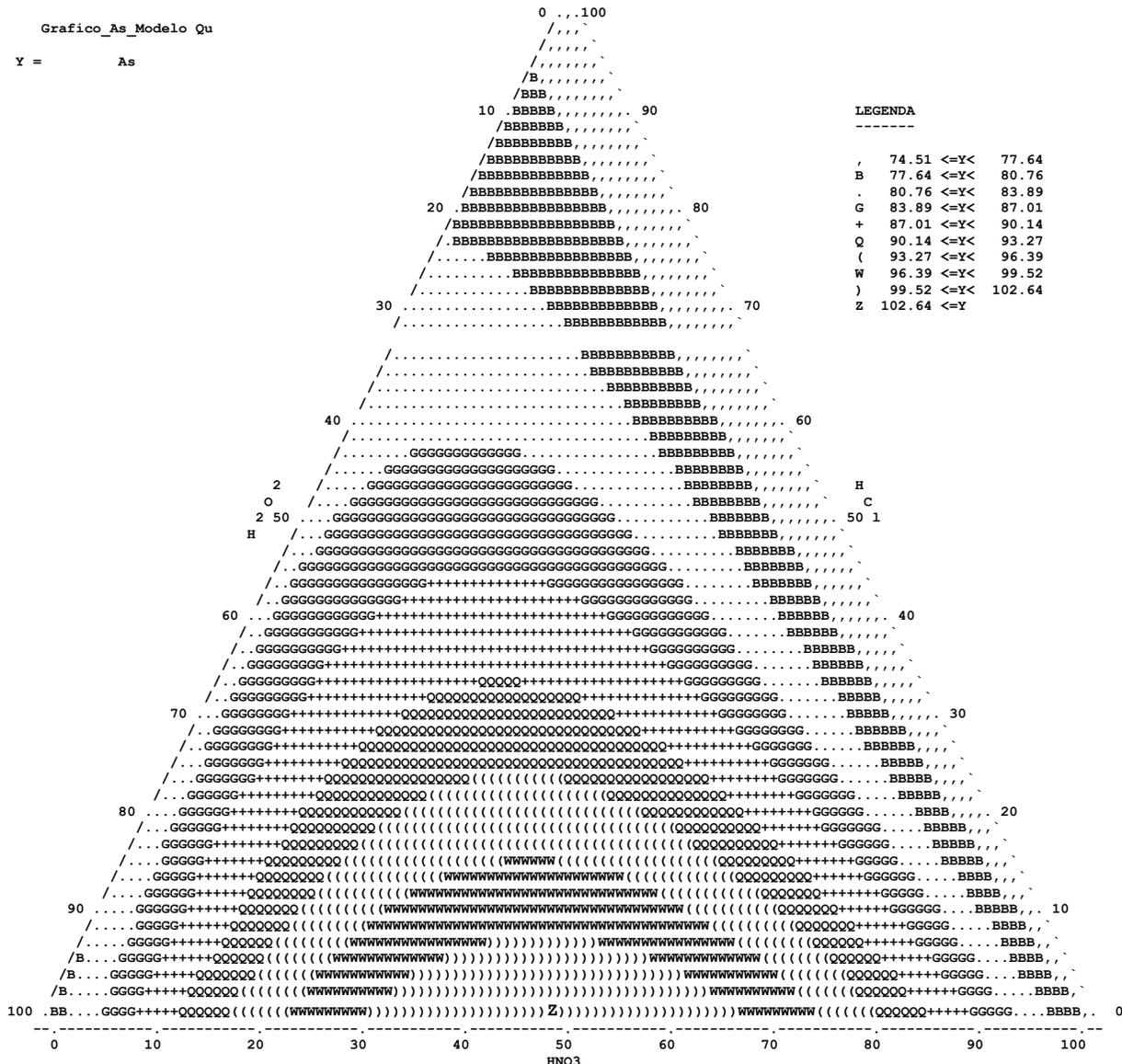


Figura 01B – Superfície de resposta do modelo quadrático para o As – aquecimento em BD

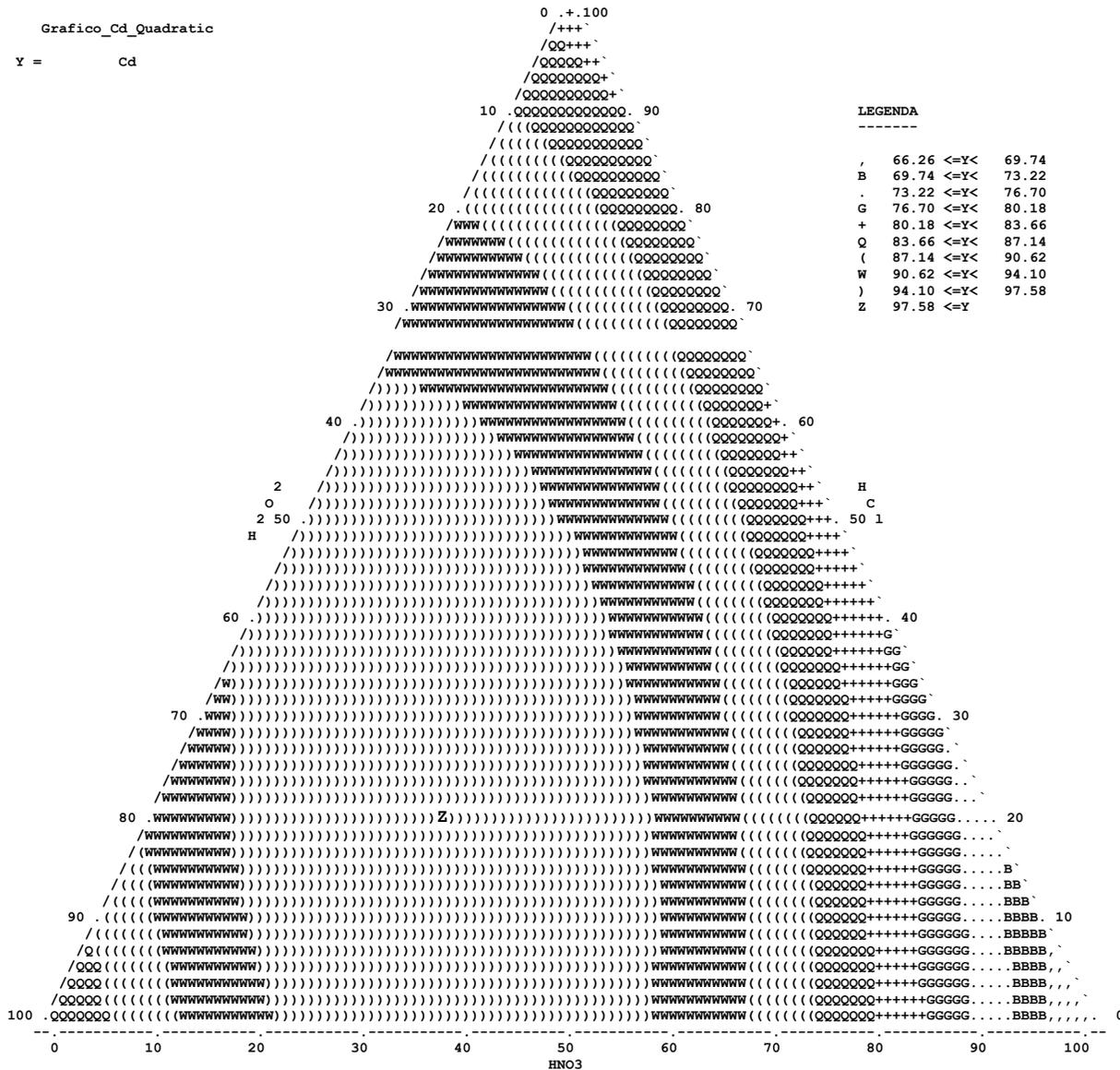


Figura 03B – Superfície de resposta do modelo quadrático para o Cd – aquecimento em BD

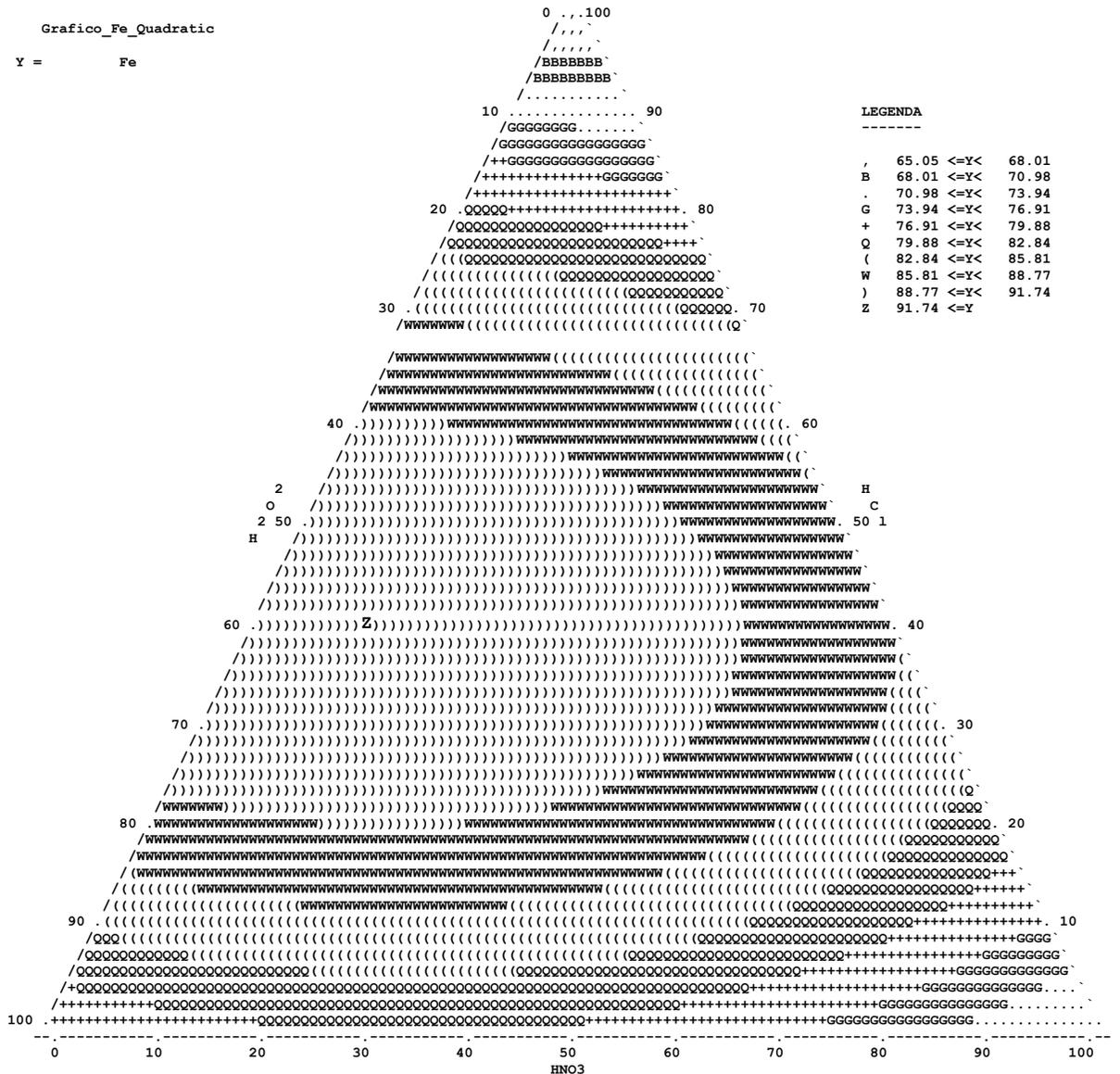


Figura 06B – Curvas de nível do modelo quadrático para o Fe – aquecimento em BD

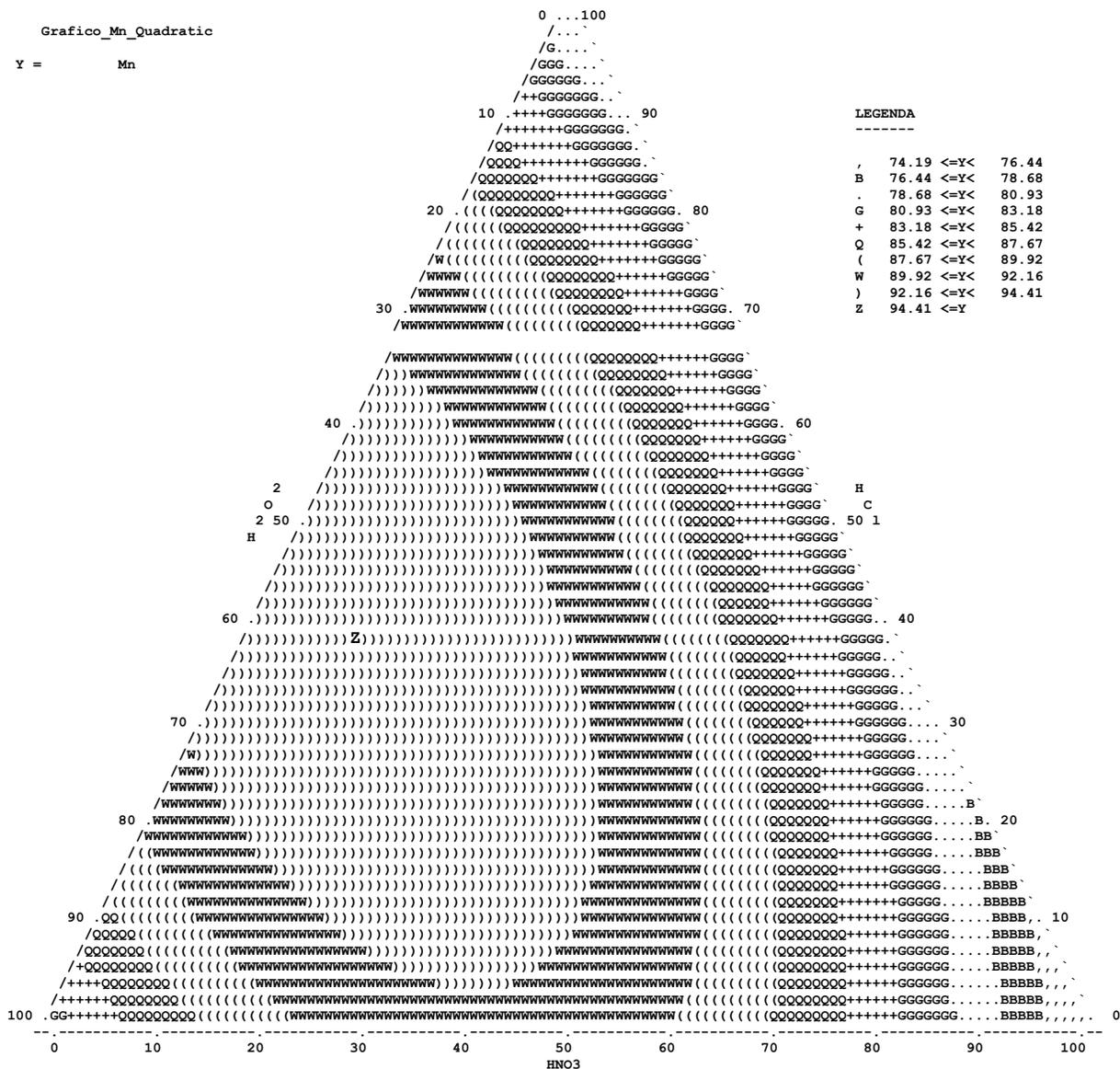


Figura 08B – Curvas de nível do modelo quadrático para o Mn – aquecimento em BD

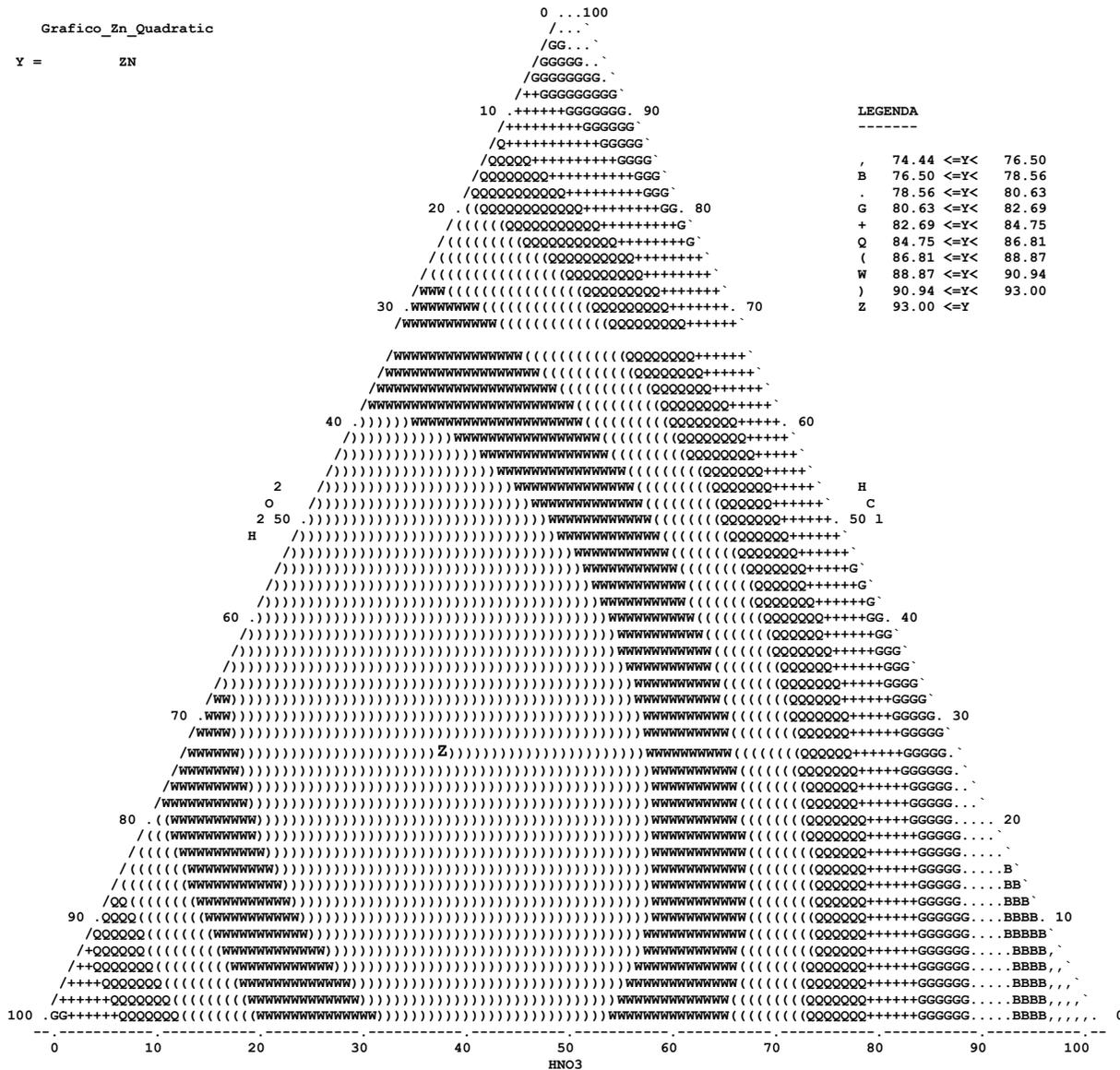


Figura 09B – Curvas de nível do modelo quadrático para o Zn – aquecimento em BD

11. ANEXO C

COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS DE DIGESTÃO

Tabela 01A – Teste de Comparação Múltipla SNK ($p < 0,05000$) para AI
Visão Axial

Métodos	MC ⁽¹⁾	BD	MW
MC ⁽¹⁾		0,000168	0,018700
Bloco Digestor	0,000168		0,000162
Microondas	0,018700	0,000162	

(1) Material Certificado de Referência.

Resultado = Há diferença significativa entre os métodos de decomposição e material certificado.

Tabela 01B – ANOVA com Ranks (Kruskal-Wallis) para Grupos
Independentes ($p < 0,05000$) para AI – Visão Radial

Métodos	Código	Número válido	Soma dos Ranks
MC ⁽¹⁾	101	1	18,0000
Microondas	102	8	108,0000
Bloco Digestor	103	9	45,0000

(1) Material Certificado de Referência

Resultado = Não há diferença significativa entre os métodos de decomposição e material certificado

Tabela 02A - ANOVA ONE WAY ($p < 0,05000$) para As – Visão Axial.

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Métodos	0,2514	2	0,1257	0,1752	0,840774
Erro	12,1959	17	0,7174		
Total	12,4472	19			

Resultado = Não há diferença significativa entre os métodos de decomposição e material certificado

Tabela 02B - ANOVA com Ranks (Kruskal-Wallis) para Grupos
Independentes ($p < 0,05000$) para As – Visão Radial

Métodos	Código	Número válido	Soma dos Ranks
MC ⁽¹⁾	101	1	12,00000
Microondas	102	6	54,00000
Bloco Digestor	103	9	70,00000

(1) Material Certificado de Referência

Resultado = Não há diferença significativa entre os métodos de decomposição e material certificado

Tabela 03A - ANOVA ONE WAY ($p < 0,05000$) para Ba – Visão Axial

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	p
Métodos	0,5039	2	0,2519	0,627	0,547534
Erro	6,0258	15	0,4017		
Total	6,5297	17			

Resultado = Não há diferença significativa entre os métodos de decomposição e material certificado

Tabela 03B – ANOVA com Ranks (Kruskal-Wallis) para Grupos Independentes ($p < 0,05000$) para Ba – Visão Radial

Métodos	Código	Número válido	Soma dos Ranks
MC ⁽¹⁾	101	1	9,00000
Microondas	102	8	87,00000
Bloco Digestor	103	9	75,00000

⁽¹⁾Material Certificado de Referência

Resultado = Não há diferença significativa entre os métodos de decomposição e material certificado

Tabela 04A - ANOVA ONE WAY ($p < 0,05000$) para Ca – Visão Axial

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	p
Métodos	2227	2	1114	1,407	0,277559
Erro	11085	14	792		
Total	13312	16			

Resultado = Não há diferença significativa entre os métodos de decomposição e material certificado

Tabela 04B – ANOVA com Ranks (Kruskal-Wallis) para Grupos Independentes ($p < 0,05000$) para Ca – Visão Radial

Métodos	Código	Número válido	Soma dos Ranks
MC ⁽¹⁾	101	1	2,00000
Microondas	102	8	37,00000
Bloco Digestor	103	9	66,00000

⁽¹⁾Material Certificado de Referência

Resultado = Não há diferença significativa entre os métodos de decomposição e material certificado

Tabela 05A - ANOVA ONE WAY ($p < 0,05000$) para Cd – Visão Axial

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Métodos	0,17670	2	0,08835	1,7564	0,202591
Erro	0,85514	17	0,05030		
Total	1,03184	19			

Resultado = Não há diferença significativa entre os métodos de decomposição e material certificado

Tabela 05B – ANOVA com Ranks (Kruskal-Wallis) para Grupos Independentes ($p < 0,05000$) para Cd – Visão Radial

Métodos	Código	Número válido	Soma dos Ranks
MC ⁽¹⁾	101	1	4,00000
Microondas	102	8	43,00000
Bloco Digestor	103	9	89,00000

⁽¹⁾ Material Certificado de Referência

Resultado = Não há diferença significativa entre os métodos de decomposição e material certificado

Tabela 06A - ANOVA ONE WAY ($p < 0,05000$) para Co – Visão Axial

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Métodos	0,005129	2	0,002564	2,2118	0,146305
Erro	0,016232	14	0,001159		
Total	0,021361	16			

Resultado = Não há diferença significativa entre os métodos de decomposição e material certificado

Tabela 06B - ANOVA ONE WAY ($p < 0,05000$) para Co – Visão Radial

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Métodos	0,003854	2	0,001927	0,5003	0,622245
Erro	0,034666	9	0,003852		
Total	0,038521	11			

Resultado = Há diferença significativa entre os métodos de decomposição e material certificado

Tabela 07A - ANOVA ONE WAY ($p < 0,05000$) para Cu – Visão Axial

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	p
Métodos	3,99	2	2,00	0,185	0,832648
Erro	194,13	18	10,79		
Total	198,12	20			

Resultado = Não há diferença significativa entre os métodos de decomposição e material certificado

Tabela 07B - ANOVA ONE WAY ($p < 0,05000$) para Cu – Visão Radial

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	p
Métodos	48,00	2	24,00	1,454	0,272038
Erro	198,09	12	16,51		
Total	246,09	14			

Resultado = Não há diferença significativa entre os métodos de decomposição e material certificado

Tabela 08A - ANOVA ONE WAY ($p < 0,05000$) para Fe – Visão Axial

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	p
Métodos	111,0	2	55,5	0,918	0,420788
Erro	907,2	15	60,5		
Total	1018,1	17			

Resultado = Não há diferença significativa entre os métodos de decomposição e material certificado

Tabela 09B - ANOVA ONE WAY ($p < 0,05000$) para Fe – Visão Radial

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	p
Métodos	46,4	2	23,2	0,421	0,664620
Erro	772,2	14	55,2		
Total	818,6	16			

Resultado = Não há diferença significativa entre os métodos de decomposição e material certificado

Tabela 09A - ANOVA ONE WAY ($p < 0,05000$) para Mg – Visão Axial

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Métodos	5491	2	2746	2,584	0,108549
Erro	15937	15	1062		
Total	21428	17			

Resultado = Não há diferença significativa entre os métodos de decomposição e material certificado

Tabela 09B – ANOVA com Ranks (Kruskal-Wallis) para Grupos Independentes ($p < 0,05000$) para Mg – Visão Radial

Métodos	Código	Número válido	Soma dos Ranks
MC ⁽¹⁾	101	1	2,00000
Microondas	102	8	41,00000
Bloco Digestor	103	9	77,00000

⁽¹⁾ Material Certificado de Referência

Resultado = Não há diferença significativa entre os métodos de decomposição e material certificado

Tabela 10A - ANOVA ONE WAY ($p < 0,05000$) para Mn – Visão Axial

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Métodos	4,777	2	2,389	1,763	0,205261
Erro	20,323	15	1,355		
Total	25,101	17			

Resultado = Não há diferença significativa entre os métodos de decomposição e material certificado

Tabela 10B - ANOVA ONE WAY ($p < 0,05000$) para Mn – Visão Radial

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Métodos	13,569	2	6,784	2,5164	0,122284
Erro	32,353	12	2,696		
Total	45,921	14			

Resultado = Não há diferença significativa entre os métodos de decomposição e material certificado

Tabela 11A - ANOVA ONE WAY ($p < 0,05000$) para Ni – Visão Axial

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Métodos	0,103841	2	0,051920	3,8883	0,052815
Erro	0,146882	11	0,013353		
Total	0,250723	13			

Resultado = Não há diferença significativa entre os métodos de decomposição e material certificado

Tabela 12A - ANOVA ONE WAY ($p < 0,05000$) para V – Visão Axial

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Métodos	0,136527	2	0,068263	23,7260	0,000023
Erro	0,043157	15	0,002877		
Total	0,179684	17			

Há diferença significativa entre os métodos de decomposição e material certificado

Tabela 12A – Teste de Comparação Múltipla SNK ($p < 0,05000$) para V Visão Axial

Métodos	MC ⁽¹⁾	BD	MW
MC ⁽¹⁾		0,004911	0,815703
Bloco Digestor	0,004911		0,003057
Microondas	0,815703	0,003057	

(1) Material Certificado de Referência.

Resultado = Há diferença significativa entre os métodos BD e MW, BD e MC.

Resultado = Não há diferença significativa entre MW e MC.

Tabela 12B - ANOVA ONE WAY ($p < 0,05000$) para V – Visão Radial

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Métodos	0,024029	2	0,012014	3,0424	0,085349
Erro	0,047387	12	0,003949		
Total	0,071415	14			

Resultado = Não há diferença significativa entre os métodos de decomposição e material certificado

Tabela 13A - ANOVA ONE WAY ($p < 0,05000$) para Zn – Visão Axial

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Métodos	28256	2	14128	1,626	0,227522
Erro	138992	16	8687		
Total	167249	18			

Resultado = Não há diferença significativa entre os métodos de decomposição e material certificado

Tabela 13B - ANOVA ONE WAY ($p < 0,05000$) para Zn – Visão Radial

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F calculado	P
Métodos	6642	2	3231	0,884	0,435082
Erro	52614	14	3758		
Total	59257	16			

Resultado = Não há diferença significativa entre os métodos de decomposição e material certificado

12. ANEXO D

BIOMETRIA, SEXO E MASSAS

DOS INDIVÍDUOS

Tabela 01 – Moluscos Bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliiana* coletados em Coqueiro Grande na campanha de 2002

Indivíduo, nº	Sexo	Comprimento da concha, mm	Massa Concha, g	Massa seca da amostra, g	Indivíduo, nº	Sexo	Comprimento, mm	Massa concha, g	Massa seca da amostra, g
7	F	26,9	6,1471	0,0854	1	M	27,65	6,5371	0,1156
12	F	27,5	5,854	0,1161	6	M	29,85	6,9817	0,1248
14	F	27,85	6,8203	0,1172	15	M	27,35	5,3852	0,1014
23	F	27,7	4,9947	0,1213	18	M	28,8	5,7187	0,0992
29	F	27,9	4,9275	0,0845	30	M	26,35	4,9183	0,0900
37	F	27,7	4,8912	0,0741	40	M	28,45	5,9285	0,1059
45	F	26,3	4,2918	0,0526	51	M	23,85	3,7779	0,0510
49	F	23,3	3,5726	0,0553	62	M	22,85	2,9713	0,0424
57	F	24,65	4,4452	0,0852	65	M	24,05	3,3044	0,0724
61	F	24,15	4,0723	0,0768	73	M	23,4	3,7566	0,0670
68	F	22,7	3,318	0,0543	76	M	22,75	2,9628	0,0437
77	F	23,55	3,6681	0,0630	85	M	24,45	3,7605	0,0701
80	F	22,7	2,96	0,0391	88	M	23,85	3,2855	0,0589
86	F	22,9	3,2209	0,0444	94	M	21,95	3,0223	0,0441
97	F	23,65	3,1255	0,0381					
100	F	22,7	3,2645	0,0564					

Tabela 02 – Moluscos Bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliiana* coletados em Suape na campanha de 2002

Indivíduo, nº	Sexo	Comprimento, mm	Massa Concha, g	Massa seca da amostra, g	Indivíduo, nº	Sexo	Comprimento, mm	Massa concha, g	Massa seca da amostra, g
1	F	28,0	5,0721	0,0758	3	M	22,95	3,5821	0,0475
12	F	24,85	5,0363	0,0641	6	M	24,3	4,8711	0,0600
19	F	23,7	3,7919	0,0506	9	M	24,55	4,2722	0,0698
23	F	22,55	3,4281	0,0595	13	M	23,65	4,3738	0,0832
28	F	25,2	4,9136	0,0648	20	M	18,9	4,3153	0,0829
34	F	24,95	3,7516	0,0479	25	M	24,7	4,531	0,0646
40	F	23,7	4,1974	0,0544	33	M	23,25	3,5555	0,0354
44	F	23,25	3,8611	0,0393	39	M	26,0	4,4077	0,0743
51	F	25,45	4,2626	0,0614	48	M	22,2	3,9332	0,0535
57	F	23,4	3,9069	0,0636	63	M	23,5	3,4324	0,0457
61	F	23,45	3,6125	0,0558	70	M	21,65	3,2237	0,0508
65	F	23,85	3,435	0,0550	77	M	23,45	3,0316	0,0543
80	F	21,35	3,1233	0,0381	84	M	21,05	2,6681	0,0360
83	F	22,0	3,1046	0,0407	99	M	22,55	3,7312	0,0295
88	F	23,35	3,0386	0,0321					
94	F	23,95	3,8297	0,0544					

Tabela 03 – Moluscos Bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliana* coletados em Fábrica de Asfalto na campanha de 2002

Indivíduo, nº	Sexo	Comprimento, mm	Massa Concha, g	Massa seca da amostra, g	Indivíduo, nº	Sexo	Comprimento, mm	Massa concha, g	Massa seca da amostra, g
5	F	26,05	5,0391	0,0651	1	M	30,95	7,5134	0,1077
12	F	27,0	5,4206	0,0736	3	M	28,9	6,623	0,0792
20	F	26,8	5,2904	0,0875	8	M	29,25	6,3817	0,0869
23	F	28,15	6,0544	0,0824	13	M	27,25	4,8558	0,0636
30	F	27,1	5,2804	0,0711	19	M	28,1	5,151	0,0694
35	F	24,75	7,7395	0,0500	32	M	26,75	5,7281	0,0793
46	F	24,95	3,8948	0,0686	40	M	29,00	5,2634	0,0910
50	F	26,9	4,3775	0,0640	53	M	26,65	4,3924	0,0637
56	F	27,4	4,8648	0,0838	62	M	23,45	4,4852	0,0807
61	F	26,0	3,4212	0,0620	66	M	25,45	4,2035	0,0722
69	F	23,75	3,5806	0,0649	71	M	23,25	4,3967	0,0656
77	F	27,7	4,6621	0,0758	81	M	29,45	5,489	0,0968
80	F	20,0	3,0276	0,0293	85	M	23,15	3,3068	0,0675
88	F	22,0	2,8243	0,0466	98	M	19,4	1,9601	0,0256
93	F	23,75	3,4561	0,0499					
97	F	19,65	2,2473	0,0278					

Tabela 04 – Moluscos Bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliana* coletados em Caípe na campanha de 2002

Indivíduo, nº	Sexo	Comprimento, mm	Massa Concha, g	Massa seca da amostra, g	Indivíduo, nº	Sexo	Comprimento, mm	Massa Concha, g	Massa seca da amostra, g
1	F	29,2	6,900	0,2287	3	M	30,9	9,1051	0,3175
5	F	29,5	6,763	0,2073	13	M	30,35	7,2011	0,2349
8	F	23,7	3,7968	0,0876	17	M	26,9	5,1887	0,1469
12	F	28,4	4,6526	0,1020	26	M	32,15	8,1778	0,2594
20	F	27,0	5,2873	0,1582	36	M	31,1	7,2556	0,1881
25	F	26,35	5,6722	0,1839	48	M	28,55	6,8921	0,1710
33	F	29,6	7,015	0,1595	53	M	27,45	6,6246	0,1755
39	F	29,3	6,915	0,1772	62	M	25,75	4,7817	0,1146
43	F	38,05	8,4854	0,2883	79	M	25,3	4,261	0,1174
52	F	28,55	6,1666	0,1770	82	M	24,4	4,0691	0,1460
63	F	28,65	4,7086	0,1113	84	M	26,7	4,7969	0,1503
67	F	28,15	6,2369	0,1531	90	M	24,65	4,4509	0,1129
70	F	26,7	4,1657	0,0932	96	M	27,5	5,3752	0,1445
76	F	25,0	4,2592	0,1000					
80	F	26,55	4,5854	0,1293					
95	F	24,7	4,4684	0,1144					
100	F	24,4	4,2094	0,1268					

Tabela 05 – Moluscos Bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliiana* coletados em Coqueiro Grande na campanha de 2004

Indivíduo, nº	Sexo	Comprimento, mm	Massa Concha, g	Massa seca da amostra, g	Indivíduo, nº	Sexo	Comprimento, mm	Massa concha, g	Massa seca da amostra, g
2	M	26,5	6,6448	0,0752	1	F	29,6	6,4649	0,1305
3	M	27,0	6,4478	0,1423	8	F	25,8	5,4047	0,1427
5	M	23,45	4,7613	0,0517	15	F	25,55	6,5795	0,1145
7	M	25,8	6,381	0,1670	19	F	21,6	5,5274	0,1237
9	M	24	4,3794	0,0904	21	F	24,7	5,3121	0,1443
13	M	29,5	8,3552	0,2291	28	F	24,4	7,5235	0,1512
17	M	25,9	6,0071	0,0906	30	F	25,26	6,279	0,1134
20	M	24,3	6,6918	0,1616	33	F	26,6	7,1508	0,1295
22	M	25,3	5,2007	0,0645	39	F	27,9	7,328	0,1330
24	M	25,5	4,6734	0,1421	40	F	23,4	5,5483	0,1123
25	M	27,07	6,1124	0,1162	42	F	25,0	4,6466	0,1138
27	M	26,3	4,5528	0,1561	47	F	24,45	5,9067	0,0874
29	M	23,62	5,0011	0,1251	48	F	24,8	6,7567	0,1053
34	M	29,6	8,7099	0,1186					
37	M	24,4	5,3511	0,0700					
38	M	22,1	4,9816	0,0937					
46	M	23,8	5,4425	0,0918					

Tabela 06 – Moluscos Bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliiana* coletados em Caípe na campanha de 2004

Indivíduo, nº	Sexo	Comprimento, mm	Massa Concha, g	Massa seca da amostra, g	Indivíduo, nº	Sexo	Comprimento, mm	Massa concha, g	Massa seca da amostra, g
5	F	15,9	1,8693	0,0516	1	M	23,5	6,0095	0,1596
6	F	25,0	6,8482	0,1982	3	M	19,4	3,4168	0,0906
9	F	17,5	2,7234	0,0781	7	M	15,4	2,0813	0,0398
13	F	19,2	3,0741	0,0795	8	M	18,6	3,2185	0,0808
16	F	19,0	2,9633	0,0787	10	M	17,5	2,9538	0,0670
18	F	14,45	3,2014	0,0328	12	M	25,5	5,0301	0,1556
19	F	17,12	1,6473	0,0683	15	M	22,65	4,2133	0,1502
21	F	18,01	4,0958	0,0813	27	M	19,45	3,0458	0,0823
22	F	21,65	3,0407	0,1230	35	M	22,25	4,7808	0,1086
23	F	27,7	4,4267	0,1758	38	M	14,2	1,468	0,0135
24	F	22,3	3,3656	0,1267	42	M	19,01	2,7254	0,0884
25	F	25,0	5,6172	0,1630					
30	F	24,45	5,0130	0,1683					
32	F	22,5	4,4813	0,1422					
33	F	19,0	2,9054	0,0685					
36	F	19,7	3,1369	0,0589					
39	F	19,95	3,6867	0,1066					
40	F	17,66	2,4505	0,0795					
44	F	19,13	3,1225	0,1047					

Tabela 07 – Moluscos Bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliana* coletados em Suape na campanha de 2004

Indivíduo, nº	Sexo	Comprimento, mm	Massa Concha, g	Massa seca da amostra, g	Indivíduo, nº	Sexo	Comprimento, mm	Massa concha, g	Massa seca da amostra, g
1	M	21,4	0,2477	0,2477	2	F	25,1	4,0983	0,1945
4	M	18,8	0,0951	0,0951	5	F	15,55	1,9599	0,0743
8	M	21,05	3,1028	0,1327	9	F	21,9	3,7187	0,1736
11	M	19,2	0,1459	0,0927	15	F	21,8	3,7594	0,1125
14	M	21,9	0,0912	0,1459	18	F	19,7	3,8983	0,1242
20	M	19,6	0,1705	0,0912	21	F	21,9	4,1408	0,1723
25	M	22,7	0,1389	0,1705	24	F	19,0	2,6896	0,1190
27	M	22,75	0,0916	0,1389	29	F	20,4	3,3735	0,1141
35	M	22,0	0,0855	0,0916	32	F	23,0	2,9186	0,0856
37	M	23,0	0,0441	0,0855	40	F	19,0	1,8879	0,0314
39	M	21,0	0,0784	0,0441	43	F	22,0	3,3126	0,0625
44	M	22,0	0,0356	0,0784	46	F		2,3826	0,0461
51	M	19,0	0,0615	0,0356	49	F	22,0	2,7661	0,0692
54	M	19,0	0,0367	0,0615	52	F	20,0	2,5188	0,0816
58	M	19,0	2,0122	0,0367	56	F	19,0	1,9404	0,0531

Tabela 08 – Moluscos Bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliana* coletados em Fábrica de Asfalto na campanha de 2004

Indivíduo, nº	Sexo	Comprimento, mm	Massa Concha, g	Massa seca da amostra, g	Indivíduo, nº	Sexo	Comprimento, mm	Massa concha, g	Massa seca da amostra, g
1	M	22,9	5,3497	0,1151	6	F	23,8	4,7898	0,12241
2	M	24,1	4,2475	0,1721	7	F	22,7	4,7895	0,09706
4	M	21,1	3,6792	0,0901	8	F	23,95	4,9082	0,13061
9	M	24,31	4,184	0,1236	10	F	23,6	4,5738	0,12006
11	M	24,65	5,3663	0,1451	14	F	18,3	2,7781	0,05773
13	M	23,0	4,693	0,0959	17	F	22,45	3,4306	0,11475
15	M	20,6	4,0103	0,1044	20	F	19,7	3,0744	0,08362
18	M	24,25	4,8913	0,1648	22	F	23,85	4,8746	0,11790
24	M	18,9	3,2637	0,0818	23	F	22,95	4,1318	0,09051
27	M	23,8	4,7743	0,1342	26	F	22,78	4,4358	0,11174
31	M	22,6	4,1576	0,1094	29	F	21,75	3,9557	0,09661
32	M	16,65	2,0901	0,0362	39	F	22,0	3,3158	0,07485
33	M	16,35	2,2242	0,0410	40	F	18,0	3,1759	0,06786
35	M	21,4	4,0429	0,1024					
37	M	23,0	4,1343	0,1251					
38	M	19,45	3,5735	0,0929					
41	M	18,9	2,4381	0,0408					

13. ANEXO E
CONCENTRAÇÃO
DOS ÍONS METÁLICOS NOS
INDIVÍDUOS

Tabela 01 – Concentração de metais em Moluscos Bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliiana* machos coletados em Coqueiro Grande na campanha de 2002 (massa úmida)

elemento	1M CG1	6M CG1	15M CG1	18M CG1	30M CG1	40M CG1	51M CG1	62M CG1	65M CG1	73M CG1	76M CG1	85M CG1	88M CG1	94M CG1
Assunto:	4,7	4,7	36,2	4,2	2,5	9,8	5,5	5,5	3,9	5,1	2,3	3,9	4,8	3,5
Ba	1,60	0,99	16,60	0,79	0,49	1,75	2,08	5,08	2,97	1,84	1,52	0,87	1,99	2,93
Ca	1490	3270	48635	3929	2285	759	1579	1734	657	1201	1429	2692	5832	4451
Cd	0,3905	0,4069	5,5646	0,3990	0,2508	0,5328	0,5532	0,1343	0,2351	0,1684	< 0,0071	0,1610	0,1913	< 0,0071
Co	0,2441	0,2713	5,5646	0,6269	0,2508	0,3730	0,5532	0,1343	0,1567	0,2526	0,1282	0,0805	0,2869	< 0,0093
Cr	< 0,75	< 0,75	3,90	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	6,99	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75
Cu	1,7341	3,1435	20,3259	2,1959	1,8512	2,2659	2,3817	2,6234	3,2544	2,5709	3,0171	2,6182	3,7802	2,8888
Fe	47	78	452	36	41	97	96	50	28	49	38	41	51	38
Mg	924	987	8541	897	1031	956	1173	1358	787	861	1122	854	1034	1027
Mn	6,35	6,56	55,09	1,99	29,03	92,39	10,40	1,61	0,94	0,93	6,54	0,72	12,43	2,82
Mo	0,20	0,18	2,23	< 0,14	< 0,14	0,21	< 0,14	< 0,14	< 0,14	0,25	< 0,14	0,16	< 0,14	< 0,14
Ni	< 0,45	< 0,45	1,67	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	1,18	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45
P	2077	2482	24914	2246	1610	2054	1960	3480	3605	2511	2256	2652	4688	3220
Pb	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2
Se	<15	<15	22	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15
V	< 0,014	0,045	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	0,064	< 0,014
Zn	7,7062	10,5743	109,5557	9,5113	8,3308	13,1008	10,2760	15,7023	10,1784	14,8120	12,8085	14,8009	18,9244	12,5520

Tabela 02 – Concentração de metais em Moluscos Bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliiana* fêmeas coletadas em Coqueiro Grande na campanha de 2002 (massa úmida)

Elemento	7F CG2	12F CG1	14F CG1	23F CG1	29F CG1	37F CG1	45F CG1	49F CG1	57F CG1	61F CG1	68F CG1	77F CG1	80F CG1	86F CG2	97F CG2	100F CG1
As	3,5	3,6	4,6	3,7	3,2	4,4	5,8	3,1	3,6	3,1	2,5	3,0	2,7	4,4	4,7	2,7
Ba	3,33	2,40	2,04	1,46	1,70	1,33	1,66	2,49	1,09	2,82	1,81	2,28	1,22	6,54	3,77	3,24
Ca	2024	1639	1539	1963	1112	842	1756	5484	899	1358	3753	1144	1841	1137	2433	1819
Cd	0,3574	0,2801	0,1926	0,3256	0,2003	0,3046	0,5364	0,2041	0,3311	0,1469	0,1039	0,1791	< 0,0071	0,1271	0,2962	< 0,0071
Co	0,2170	0,3484	0,5777	0,5117	0,5342	0,5330	0,3218	0,2041	0,4636	0,1469	0,1039	0,0896	< 0,0093	0,2542	0,2962	0,4002
Cr	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75
Cu	2,6246	1,7362	4,8974	2,7317	1,8513	2,1873	3,8322	2,7268	2,8295	3,2859	2,5692	2,8413	2,5578	3,3962	3,8097	2,3735
Fe	57	44	83	49	31	69	92	31	75	33	34	38	24	44	44	31
Mg	1250	858	872	940	960	954	1395	1018	1007	977	901	938	1087	1362	1374	1042
Mn	9,71	6,32	22,72	16,79	1,54	1,45	9,76	1,43	124,90	3,01	3,53	8,42	2,31	5,97	15,11	7,90
Mo	< 0,14	< 0,14	< 0,14	0,17	1,78	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14
Ni	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45
P	2382	1706	1699	1940	1744	2496	2681	2288	2144	2433	1875	2110	1900	3130	3916	1862
Pb	< 1,2	< 1,2	4,5	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2
Se	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15
V	< 0,014	< 0,014	0,048	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014
Zn	12,6672	10,7757	13,3706	12,7791	10,9324	13,0760	19,4934	14,6644	17,0017	16,8775	12,0248	15,3798	12,6588	25,8894	28,8374	12,0773

Tabela 03 – Concentração de metais em Moluscos Bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliiana* machos coletados na Fábrica de Asfalto na campanha de 2002 (massa úmida)

Elemento	1M F1	3M F1	8M F1	13M F1	19M F1	32M F1	40M F1	53M F1	62M F1	66M F1	71M F1	81M F1	85M F1	98M F1
As	4,6	6,2	7,1	2,3	2,7	4,3	5,6	4,6	3,4	5,7	4,2	4,1	2,4	3,0
Ba	1,50	0,15	1,26	2,72	4,40	3,85	1,01	1,99	1,07	0,96	2,55	0,72	2,56	6,08
Ca	5122	962	1659	985	2639	1253	2948	3640	792	1574	1221	2557	3112	2010
Cd	0,1069	0,3635	0,6625	0,3621	0,3318	0,5082	0,3796	0,2712	0,3567	0,5582	0,3511	0,6543	0,0853	< 0,0071
Co	0,3208	0,8723	0,6625	0,2716	0,4148	0,2904	0,1265	0,1808	0,2854	0,3987	0,0878	0,4758	0,1706	< 0,0093
Cr	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	0,86	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75
Cu	2,4597	3,5629	2,8497	1,9926	2,4068	2,6872	2,0886	2,5318	2,2125	3,1109	2,5462	2,2014	2,0481	1,4869
Fe	43	102	60	75	43	74	55	47	65	91	46	47	56	127
Mg	1292	1607	1477	1547	1558	1184	1267	1352	1064	1284	1100	1114	1291	1533
Mn	0,75	1,09	1,13	66,90	1,66	4,07	1,14	0,72	3,35	6,86	0,79	0,71	13,14	1,58
Mo	0,16	0,29	0,27	0,18	0,17	0,15	0,19	< 0,14	< 0,14	0,16	0,18	0,18	0,26	< 0,14
Ni	< 0,45	0,73	0,53	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45
P	2071	2441	2948	2082	2149	2952	2040	3683	2358	3062	3078	2488	2112	3318
Pb	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2
Se	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15
V	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014
Zn	12,9489	15,4276	15,1207	14,5044	15,1174	14,0287	9,6943	16,4701	11,0029	18,1993	12,1313	11,1357	17,3341	12,4455

Tabela 04 – Concentração de metais em Moluscos Bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliiana* fêmeas coletadas na Fábrica de Asfalto na campanha de 2002 (massa úmida)

Elemento	5F F1	12F F1	20F F1	23F F1	30F F1	35F F1	43F F1	50F F1	56F F1	61F F1	69F F1	77F F1	80F F1	88F F1	93F F1	97F F1
As	2,9	4,3	4,8	2,7	5,8	2,4	3,6	2,4	2,9	1,7	2,5	2,4	3,0	3,1	3,3	2,7
Ba	1,22	2,02	2,22	2,36	0,95	2,16	2,58	0,70	2,18	2,76	0,78	1,27	4,47	5,53	2,97	5,13
Ca	3265	1359	1330	3789	2162	2026	6703	5629	1085	1420	4672	1532	1411	3867	5471	2056
Cd	0,3538	0,8605	0,7238	0,4891	0,6478	0,2303	1,1750	0,7197	0,4122	< 0,0071	0,3549	0,5879	0,3930	0,1236	0,3461	< 0,0071
Co	0,2653	0,3129	0,5264	0,8385	0,3239	0,3455	0,5875	0,6297	0,2748	0,0929	0,2661	0,5776	< 0,0093	< 0,0093	0,1154	< 0,0093
Cr	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	0,81	< 0,75
Cu	2,5231	2,0752	2,4036	2,2030	2,8770	2,1335	2,7301	2,7464	2,1662	1,6277	1,7324	2,3188	3,0514	1,9186	1,9071	2,8018
Fe	68	5	5	65	89	41	104	135	48	36	49	83	62	35	69	130
Mg	1376	1313	1316	1462	1417	1571	1657	1502	1144	1079	1143	1310	1797	1121	1192	1333
Mn	2,65	1,72	0,66	28,37	2,19	1,84	60,18	88,07	7,56	6,04	1,33	39,80	3,34	1,85	28,85	1,66
Mo	0,27	0,23	0,26	0,28	0,32	< 0,14	0,25	0,18	< 0,14	1,86	13,48	0,30	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14
Ni	< 0,45	< 0,45	0,66	0,91	< 0,45	< 0,45	< 0,45	0,81	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	3,54	< 0,45	< 0,45	< 0,45
P	2277	2091	2856	2095	2701	2125	2428	2140	1855	1725	1974	1803	2279	1984	1966	2043
Pb	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2
Se	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15	< 15
V	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014
Zn	19,5747	14,1067	18,5774	18,9586	14,6027	12,5894	29,7385	24,6791	16,1685	11,4529	14,1348	11,1148	25,2172	12,0254	12,7301	11,4593

Tabela 05 – Concentração de metais em Moluscos Bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliiana* machos coletados em Caípe na campanha de 2002 (massa úmida)

Elemento	3M C1	13M C1	17M C1	26M C1	36M C1	48M C1	53M C1	62M C1	79M C1	82M C1	84M C1	90M C1	96M C1
As	3,5	4,0	3,9	4,4	4,5	3,5	3,8	4,6	4,9	3,7	5,2	4,2	4,7
Ba	0,96	0,95	2,03	0,87	2,27	1,05	2,42	2,61	2,52	1,85	0,97	1,38	2,20
Ca	777,2	366,9	1012,8	4376,9	942,6	4164,7	1127,5	1186,0	4764,7	1130,0	1093,6	549,3	1102,8
Cd	0,3596	0,6042	0,3212	0,4495	0,4677	0,3899	0,2144	0,4451	0,3120	0,4991	0,3967	0,2977	0,4251
Co	0,2112	0,2148	0,4693	0,3022	0,2745	0,3884	0,1084	0,0735	0,0241	0,0811	0,1703	0,0403	0,1704
Cr	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75
Cu	2,5702	2,8028	2,7979	2,7474	4,4880	1,8379	1,6736	2,3212	2,5451	2,3618	2,2297	3,1537	3,0161
Fe	18	26	40	35	58	27	26	33	30	28	31	45	42
Mg	642	745	876	775	808	795	920	943	869	737	913	775	989
Mn	3,98	1,32	4,50	5,40	1,17	5,66	1,51	1,10	1,43	1,72	5,02	1,34	25,79
Mo	0,24	0,26	0,15	0,40	0,21	0,19	0,16	0,24	0,21	< 0,14	0,22	0,15	0,26
Ni	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45
P	2512	3022	3157	2970	2963	1888	2183	4170	4121	3063	3734	3946	3984
Pb	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2
Se	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15
V	< 0,014	< 0,014	< 0,014	0,036	0,080	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014
Zn	11,2735	13,2268	13,1848	11,8989	12,4703	12,7102	13,4481	19,9254	16,8199	13,4288	16,8065	15,6634	17,2384

Tabela 06 – Concentração de metais em Moluscos Bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliana* fêmeas coletadas em Caipe na campanha de 2002 (massa úmida)

lemento	1F C1	5F C1	8F	C1	12F C1	20F	C1	25F	C1	33F	C1	39F	C1	43F C1	52F	C1	63F	C1	67F	C1	70F	C1	76F	C1	80F	C1	95F	C1	100F	C1	
As	2,8	5,9	4,6	6,2	2,7	3,0	2,6	3,3	2,4	3,6	7,3	3,0	4,3	4,2	2,7	4,2	3,5														
Ba	1,03	0,53	3,54	1,66	1,94	0,76	1,54	0,71	0,74	1,84	1,46	0,39	1,34	1,92	1,14	1,36	0,28														
Ca	882,7	1162,4	1619,6	6113,7	2552,1	1842,7	5750,5	1938,0	1076,1	912,0	3172,4	1199,1	1042,6	798,5	993,1	1872,7	834,6														
Cd	0,3914	0,6135	0,4244	0,2929	0,2364	0,7308	0,6108	0,4642	0,6225	0,6753	1,2114	0,5371	0,4016	0,5229	0,1737	0,1966	0,2353														
Co	0,1305	0,1804	< 0,0093	0,2929	0,0946	0,5278	0,1409	0,2110	0,3113	0,3798	0,2692	0,1465	0,1606	0,0747	0,0579	0,0655	0,0588														
Cr	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75														
Cu	2,7524	2,2871	2,7485	3,3233	3,8296	3,5474	1,9440	2,6748	2,1886	2,3372	2,9865	1,8738	2,5204	2,4187	5,9284	2,1872	2,1397														
Fe	23	36	36	34	2	36	42	41	28	39	36	24	37	25	19	26	25														
Mg	873	910	1546	1889	886	1057	958	890	754	890	1021	991	1116	1148	849	1094	943														
Mn	12,95	23,35	5,18	3,59	3,21	5,81	34,77	7,47	27,89	6,54	2,56	4,30	4,02	6,72	6,37	3,01	2,35														
Mo	0,41	0,38	0,48	0,70	0,38	0,59	0,31	5,98	0,28	0,36	0,51	0,32	0,53	0,34	0,27	0,37	0,39														
Ni	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	0,69	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45														
P	2265	2287	3357	4338	2180	2475	2413	2313	2008	2193	3450	2454	3128	3171	2066	2779	2561														
Pb	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2														
Se	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15														
V	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	0,224	< 0,014	< 0,014	< 0,014														
Zn	14,4780	17,0272	23,4997	28,1837	23,8756	17,6940	18,6908	15,4818	14,6764	14,4689	19,4380	16,5432	21,8347	21,4267	13,1355	18,1401	16,2833														

Tabela 07 – Concentração de metais em Moluscos Bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliiana* machos coletados em Suape na campanha de 2002 (massa úmida)

Elemento	3M S1	6M S1	9M S1	13M S1	20M S1	25M S1	33M S1	39M S1	48M S1	63M S1	70M S1	77M S1	84M S1	99M S1
As	7,4	4,6	4,0	5,1	5,2	7,4	10,2	7,0	7,0	9,0	5,1	8,0	3,6	12,9
Ba	1,71	1,97	1,27	2,25	0,99	< 0,12	1,43	1,63	2,85	3,12	2,11	2,96	2,38	4,65
Ca	20706	6652	1853	2126	1601	2200	2678	1395	2118	1214	6282	1259	4055	5102
Cd	0,3472	0,4301	0,3477	0,4585	0,6406	0,6833	0,7156	0,5547	0,6161	0,5749	0,3077	0,7783	0,2690	1,6415
Co	0,1157	< 0,0093	0,1371	0,1224	0,1635	0,3775	0,1416	0,1485	0,1376	0,0546	0,0607	0,1816	< 0,0093	0,1301
Cr	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75
Cu	< 0,0037	< 0,0037	< 0,0037	< 0,0037	< 0,0037	< 0,0037	6,8501	< 0,0037	10,0838	< 0,0037	< 0,0037	< 0,0037	< 0,0037	< 0,0037
Fe	26	26	28	27	33	48	28	35	30	27	8	61	13	61
Mg	1121	1071	1111	826	806	1216	1383	972	1144	1274	868	1161	986	2187
Mn	1,39	3,31	6,82	1,00	0,54	1,70	1,06	0,82	1,36	1,27	0,50	54,55	2,37	14,25
Mo	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14
Ni	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	0,68	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	0,55	< 0,45
P	2478	2663	2885	2349	2917	2767	4011	2836	3365	2894	2957	2178	2128	4297
Pb	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2
Se	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15
V	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	0,033	< 0,014	< 0,014
Zn	7,0531	6,8211	10,3046	7,6456	6,3976	11,3581	16,5167	12,2496	9,3631	12,2984	4,7198	7,2949	1,5303	15,3665

Tabela 08 – Concentração de metais em Moluscos Bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliiana* fêmeas coletadas em Suape na campanha de 2002 (massa úmida)

Elemento	1F S1	12F S1	19F S1	23F S1	28F S1	34F S1	40F S1	44F S1	51F S1	57F S1	61F S1	65F S1	80F S1	83F S1	88F S1	94F S1
As	4,4	6,6	3,9	3,6	4,7	5,3	3,5	6,6	9,0	4,1	4,0	5,1	4,5	4,8	6,8	3,6
Ba	1,12	1,96	1,82	1,47	2,10	1,14	0,24	3,24	1,80	0,60	2,08	3,13	2,06	1,56	2,82	0,82
Ca	1740	5119	6184	908	1440	3206	1045	6716	4504	4580	1064	1067	1664	3635	1734	4195
Cd	0,3511	0,5453	0,2831	0,3507	0,4008	0,5735	0,2936	0,8936	1,4133	0,3187	0,3010	0,5187	0,4252	0,3584	0,5410	0,4473
Co	0,1401	0,1744	0,0281	0,0326	0,2159	0,0749	0,0315	0,1776	0,1444	0,0780	0,0436	0,1132	< 0,0093	< 0,0093	0,1315	0,1595
Cr	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75
Cu	< 0,0037	< 0,0037	< 0,0037	< 0,0037	1,5176	< 0,0037	0,2363	< 0,0037	< 0,0037	< 0,0037	< 0,0037	< 0,0037	< 0,0037	< 0,0037	2,5229	< 0,0037
Fe	32	22	44	15	40	41	30	38	42	28	17	28	20	28	49	30
Mg	919	1166	1150	742	1430	1204	999	1529	1285	991	812	1000	1083	936	1421	949
Mn	41,03	1,37	45,46	1,21	8,53	45,66	35,30	6,96	1,25	18,16	6,70	0,33	3,99	2,17	3,93	22,71
Mo	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14
Ni	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45
P	1812	2433	2294	1801	2658	2539	1943	3136	3224	2060	1940	3514	2660	2341	3228	2113
Pb	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2
Se	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15
V	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	0,045	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014
Zn	10,2133	15,1749	5,2470	2,8703	14,5411	10,7940	17,6127	11,5524	11,0894	9,8977	4,9779	7,3035	4,6578	4,3108	8,5824	17,4068

Tabela 09 – Concentração de metais em Moluscos Bivales da espécie *Anomalocardia brasiliiana* machos coletados em Coqueiro Grande na campanha de 2004 (massa úmida)

Elemento	2M	CG2	3M	CG2	5M	CG2	7M	CG2	9M	1 M	17M	2 M	22M	24M	25M	27M	29M	34M	37M	38M	46M												
	CG2		CG2		CG2		CG2		CG2		CG2		CG2		CG2		CG2		CG2		CG2												
As	8,8		2,8		3,4		3,0		4,0		5,7		4,2		3,7		8,5		3,8		3,9		3,6		3,0		5,5		7,5		4,4		4,3
Ba	13,80		8,40		21,52		5,55		10,17		5,14		14,28		5,93		16,03		8,88		8,52		8,38		9,40		11,99		14,80		12,06		10,43
Ca	4269		43057		2541		1014		1227		1941		1818		2066		24577		1264		1604		682		1106		1863		1866		1474		1287
Cd	0,7836		0,2752		0,2946		0,2219		0,3026		0,2521		0,4655		0,3429		0,5791		0,1455		0,6316		0,1718		0,2182		1,1385		0,6183		0,1948		0,2966
Co	0,7516		0,3031		0,1563		0,2416		0,2368		0,4703		0,5573		0,2709		0,7639		0,2773		0,4489		0,1198		0,1966		0,5591		0,3929		0,1318		0,3976
Cr	< 0,75		< 0,75		< 0,75		< 0,75		< 0,75		< 0,75		< 0,75		< 0,75		< 0,75		< 0,75		< 0,75		< 0,75		< 0,75		< 0,75		< 0,75		< 0,75		< 0,75
Cu	4,5450		1,3919		1,5179		1,6085		2,1191		1,3132		2,5877		1,7542		4,6643		1,4131		1,8791		1,6073		1,3966		1,4216		3,1312		2,3541		1,9015
Fe	423		356		147		81		82		119		158		55		182		62		107		57		66		218		170		60		75
Mg	3498		1128		1815		1349		1214		1296		1834		1293		2604		1743		2786		1238		1630		1560		1798		1609		1384
Mn	51,83		40,81		18,02		6,65		5,09		125,12		2,05		1,84		3,42		8,76		16,60		5,41		3,16		88,59		50,67		2,29		2,96
Mo	0,56		< 0,14		< 0,14		0,27		< 0,14		0,38		0,24		0,21		0,40		0,41		0,29		0,21		< 0,14		0,94		0,42		< 0,14		0,50
Ni	0,45		0,63		< 0,45		< 0,45		< 0,45		0,83		< 0,45		< 0,45		< 0,45		< 0,45		< 0,45		< 0,45		< 0,45		< 0,45		< 0,45		< 0,45		< 0,45
P	6135		1462		2613		2772		3392		2076		2983		2448		8081		2461		3053		1971		2762		1691		3464		3309		3293
Pb	< 1,2		< 1,2		< 1,2		< 1,2		< 1,2		< 1,2		< 1,2		< 1,2		< 1,2		< 1,2		< 1,2		< 1,2		< 1,2		< 1,2		< 1,2		< 1,2		< 1,2
Se	<15		<15		<15		<15		<15		<15		<15		<15		<15		<15		<15		<15		<15		<15		<15		<15		<15
V	0,277		0,194		< 0,014		< 0,014		< 0,014		< 0,014		< 0,014		< 0,014		< 0,014		< 0,014		< 0,014		< 0,014		< 0,014		0,203		< 0,014		< 0,014		< 0,014
Zn	< 0,0017		< 0,0017		< 0,0017		< 0,0017		< 0,0017		< 0,0017		< 0,0017		< 0,0017		< 0,0017		< 0,0017		< 0,0017		< 0,0017		< 0,0017		< 0,0017		< 0,0017		< 0,0017		< 0,0017

Tabela 10 – Concentração de metais em Moluscos Bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliiana* fêmeas coletadas em Coqueiro Grande na campanha de 2004 (massa úmida)

Elemento	1F CG2	8F CG2	15F CG2	19F CG2	21F CG2	28F CG2	30F CG2	33F CG2	39F CG2	40F CG2	42F CG2	47F CG2	48F CG2
As	5,2	3,2	2,6	3,2	2,3	3,1	2,2	2,9	5,8	1,7	1,7	4,2	2,0
Ba	1,69	2,03	1,07	0,65	0,43	4,04	2,41	2,52	1,19	0,78	1,91	< 0,12	0,23
Ca	11480	1449	3716	1433	1015	2318	1948	809	867	1202	2676	1137	2525
Cd	0,3182	0,2208	0,5483	0,2909	0,3031	0,2440	0,2732	0,3651	0,3526	0,0811	0,0078	0,3003	0,3651
Co	0,4734	0,3830	0,2360	0,2204	0,3462	0,4817	0,1405	0,4907	0,4665	0,0506	0,0847	0,3700	0,2029
Cr	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	0,94	1,29
Cu	2,0972	2,3584	1,7944	1,6557	1,8441	2,0695	2,2485	6,6726	1,8074	2,3784	1,6946	1,3575	1,4515
Fe	152	96	133	104	82	97	126	98	97	51	55	120	55
Mg	1540	1536	1295	1289	1714	1749	1428	1386	1203	1107	1137	1516	1489
Mn	55,06	2,32	44,77	27,90	26,92	6,38	88,65	93,09	148,00	4,57	2,01	16,16	15,47
Mo	0,30	0,36	0,22	0,18	0,25	0,45	0,16	0,27	0,18	0,19	< 0,14	0,32	0,36
Ni	< 0,45	0,54	< 0,45	< 0,45	< 0,45	0,47	< 0,45	0,64	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45
P	2458	2487	1756	1671	2264	2323	1637	2291	1882	1914	1705	1626	1554
Pb	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2
Se	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15
V	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014
Zn	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017

Tabela 11 – Concentração de metais em Moluscos Bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliiana* machos coletados na Fábrica de Asfalto na campanha de 2004 (massa úmida)

Elemento	1 M F2	2M	F2 4M	F2 9M	F2	11M F2	13M F2	15M F2	18M F2	24M F2	27M F2	31M F2	32M	F2 33M	F2 35M	F2 37M	F2	38M F2	41M	F2
As	4,1	3,7	6,9	5,7	5,8	5,3	4,7	4,1	4,3	2,8	3,8	5,0	3,6	5,0	3,7	4,0	4,7			
Ba	< 0,12	< 0,12	< 0,12	< 0,12	< 0,12	< 0,12	< 0,12	< 0,12	< 0,12	0,67	< 0,12	< 0,12	< 0,12	4,77	2,97	< 0,12	2,74	< 0,12		
Ca	885	2394	5264	2283	1657	8186	1949	1319	1583	2346	2798	1752	2003	1519	1715	868	998			
Cd	0,9801	0,3074	0,8117	0,4549	0,5270	0,4960	0,3979	0,5362	0,1887	0,3743	0,3848	0,2220	0,0549	0,6098	0,3261	0,3280	0,0341			
Co	0,2339	0,4495	0,3929	0,4575	0,5783	0,4563	0,6663	0,4712	0,1862	0,1994	0,2395	< 0,0093	< 0,0093	0,3140	0,2092	0,2987	< 0,0093			
Cr	< 0,75	< 0,75	< 0,75	2,59	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	0,84	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75			
Cu	1,9127	2,0317	3,9483	4,3653	2,5681	3,2553	3,5279	1,7195	2,4947	1,9621	3,6885	3,9795	2,4974	2,4195	2,1575	2,4890	4,3448			
Fe	111	63	85	69	76	90	62	132	39	44	31	35	29	36	30	45	36			
Mg	1518	1244	1899	1501	1241	1600	1684	1256	1649	1286	1159	1694	1474	1598	1507	1298	1486			
Mn	21,75	23,53	3,15	1,17	1,59	5,90	1,01	2,55	6,40	35,97	0,65	13,92	5,27	0,89	0,62	7,89	3,28			
Mo	0,22	0,23	0,33	0,25	0,33	0,17	0,16	0,20	< 0,14	0,19	0,23	< 0,14	< 0,14	0,16	< 0,14	< 0,14	< 0,14			
Ni	0,51	< 0,45	1,07	0,66	0,76	1,22	0,95	0,80	0,63	0,53	< 0,45	< 0,45	< 0,45	0,61	< 0,45	0,68	0,52			
P	3167	2744	4110	3410	3729	3577	2710	2278	3319	1908	3689	4799	3197	2587	3024	2575	3319			
Pb	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2			
Se	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15			
V	< 0,014	0,035	0,027	0,048	0,021	< 0,014	< 0,014	0,038	< 0,014	0,033	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014			
Zn	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017			

Tabela 12 – Concentração de metais em Moluscos Bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliiana* fêmeas coletadas na Fábrica de Asfalto na campanha de 2004 (massa úmida)

Elemento	6F F2	7F F2	8F F2	10F F2	14F F2	17F F2	20F F2	22F F2	23F F2	26F F2	29F F2	39F	F2	40F	F2
As	3,4	2,4	3,0	2,9	2,1	2,8	2,6	2,0	4,2	3,4	2,2	2,9	3,7		
Ba	1,03	2,08	1,75	1,09	2,00	2,14	1,67	1,16	1,19	0,71	0,21	0,72	2,73		
Ca	2532	1763	4201	1786	785	2964	2534	5011	2802	2359	2177	2928	928		
Cd	0,4053	0,3914	0,5078	0,2140	0,1091	0,5158	0,2840	0,4408	0,6913	0,3452	0,2319	0,1479	0,4514		
Co	0,3322	0,3040	0,3398	0,6537	0,1101	0,2020	0,1717	0,3405	0,7895	0,2403	0,1807	0,1558	0,4314		
Cr	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75		
Cu	2,7642	2,7539	3,7726	2,5201	2,5660	2,5160	1,7427	2,0024	4,1590	2,1664	1,7991	2,4179	4,2771		
Fe	93	74	102	43	36	61	80	87	90	55	47	54	80		
Mg	1450	1539	1612	1499	1527	1768	1565	1506	2077	1574	1447	1681	1886		
Mn	124,49	22,78	129,10	1,53	5,14	24,52	64,70	47,07	83,45	55,68	28,98	14,28	3,18		
Mo	0,35	0,40	0,24	0,26	< 0,14	0,44	0,23	3,57	0,40	0,38	0,20	0,20	< 0,14		
Ni	0,50	0,53	0,50	0,86	< 0,45	< 0,45	< 0,45	0,56	0,74	0,54	< 0,45	< 0,45	0,48		
P	3049	2236	2816	2194	1812	2493	2635	2413	3401	2678	1941	2347	2772		
Pb	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2		
Se	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15		
V	0,036	0,033	0,035	0,028	< 0,014	0,028	< 0,014	< 0,014	0,051	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014		
Zn	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017		

Tabela 13 – Concentração de metais em Moluscos Bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliiana* machos coletados em Caipe na campanha de 2004 (massa úmida)

Elemento	1M	C2	3M	C2	7M C2	8M	C2	10M C2	12M	C2	1 M C2	27M	C2	35M	C2	38M C2	42M	C2
As	4,9	3,6	5,0	4,6	4,7	6,0	3,2	5,9	5,3	7,5	4,2							
Ba	0,33	< 0,12	3,00	< 0,12	1,15	0,71	1,46	0,86	0,77	3,35	0,53							
Ca	2210	830	2113	1828	1649	3511	1044	1875	1895	10912	1456							
Cd	0,3487	0,2070	0,0498	0,2876	0,1821	0,4133	0,2280	0,2254	0,2219	< 0,0071	0,3706							
Co	0,2611	0,0220	< 0,0093	0,0739	0,0472	0,1115	0,1030	0,1447	0,1607	< 0,0093	0,1069							
Cr	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75							
Cu	3,2182	1,9677	1,6521	2,5853	2,2748	2,1056	2,2021	2,3359	1,8753	2,8895	1,8410							
Fe	46	17	28	157	16	32	27	25	33	21	4							
Mg	1441	1230	1333	1732	1516	1608	1065	1989	1419	2146	1141							
Mn	16,79	0,94	1,48	2,04	1,25	7,61	0,80	1,44	1,62	14,42	1,64							
Mo	0,15	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	0,15	< 0,14	0,17	< 0,14	< 0,14							
Ni	< 0,45	< 0,45	0,66	0,49	0,68	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	1,85	< 0,45							
P	5161	4182	2431	5494	4724	2757	4892	5636	6278	3333	3795							
Pb	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2							
Se	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15							
V	0,016	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014							
Zn	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017							

Tabela 14 – Concentração de metais em Moluscos Bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliiana* fêmeas coletadas em Caipe na campanha de 2004 (massa úmida)

Elemento	5F C2	6F C2	9F C2	13F C2	16F C2	18F C2	19F C2	21F C2	22F	C2 23F	C2 24F	C2 25F	C2 30F	C2 32F	C2 33F	C2 36F	C2 39F	C2 40F	C2 44F	C2
As	3,8	3,6	3,9	4,9	2,9	3,1	3,6	3,0	2,9	3,1	3,1	3,0	2,4	3,1	3,0	4,6	3,4	2,9	2,6	
Ba	4,55	0,45	7,18	1,83	7,66	6,22	2,17	3,14	< 0,12	1,17	2,29	1,60	1,64	0,36	5,06	2,33	1,14	1,70	2,46	
Ca	896	17643	2003	1650	1049	3388	1724	34356	792	1404	1685	2970	1346	1622	1888	3399	1983	2936	867	
Cd	0,0834	0,6375	0,1615	0,3517	0,0923	< 0,0071	0,1641	0,1347	0,2099	0,7174	0,1768	0,8630	0,2938	0,2237	< 0,0071	0,0954	0,2200	0,1427	0,1383	
Co	< 0,0093	0,3845	0,0189	< 0,0093	< 0,0093	< 0,0093	< 0,0093	0,0451	0,1363	0,1883	0,0895	0,3443	0,1722	0,2128	< 0,0093	0,0326	0,0674	0,0815	0,1589	
Cr	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	0,38	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75
Cu	2,3420	4,4958	3,5008	2,5793	2,0369	1,4838	2,3401	1,6684	2,3505	2,1137	2,1930	2,9979	1,8693	2,8331	1,4626	3,2641	1,8280	2,8045	2,9005	
Fe	21	30	36	33	25	18	26	37	26	35	29	56	17	33	25	39	24	24	27	
Mg	1392	1258	1378	1741	1353	1131	1569	1284	1340	1655	1354	1999	1310	1247	1350	1543	1391	1460	1030	
Mn	1,46	2,95	10,55	4,33	3,57	0,46	8,77	2,90	10,68	2,65	8,35	3,64	1,87	4,77	2,90	5,82	10,63	8,50	6,58	
Mo	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	0,55	0,30	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14
Ni	< 0,45	0,55	< 0,45	0,47	< 0,45	< 0,45	0,62	0,53	< 0,45	< 0,45	< 0,45	0,47	< 0,45	< 0,45	0,50	0,54	0,55	0,49	< 0,45	
P	1981	2701	2684	3489	2350	2262	2594	2253	2850	2045	2893	2715	1924	2852	2135	3499	2912	2362	2473	
Pb	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2
Se	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15
V	< 0,014	0,022	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	0,070	< 0,014	0,100	< 0,014	0,017	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014
Zn	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017	< 0,0017

Tabela 15 – Concentração de metais em Moluscos Bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliiana* machos coletados em Suape na campanha de 2004 (massa úmida)

Elemento	1M S2	4M S2	8M S2	11M S2	14M S2	20M S2	25M S2	27M S2	35M S2	37M S2	39M S2	44M S2	51M S2	54M S2	58M S2
As	4,8	7,5	2,4	6,1	5,6	4,0	4,2	5,4	5,9	8,0	10,8	9,7	6,3	6,6	12,4
Ba	1,49	4,77	2,45	< 0,12	2,13	2,85	1,51	2,04	1,61	5,65	4,09	6,41	2,49	2,85	3,26
Ca	580	1315	3267	5242	7257	608	835	2615	1805	2958	2018	2027	2189	2148	1769
Cd	0,2775	0,2444	0,8074	0,9831	0,5082	0,2530	0,2574	0,2936	0,5722	0,4688	0,4311	0,7736	0,2237	0,2448	0,3203
Co	0,0867	0,1583	0,0474	0,0890	0,0738	< 0,0093	0,0612	0,0656	< 0,0093	0,0314	< 0,0093	0,1973	< 0,0093	< 0,0093	< 0,0093
Cr	9,97	1,60	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75
Cu	2,2510	3,1346	1,2801	2,4862	1,2590	1,5625	1,5153	2,2897	2,6150	2,3821	5,4568	4,6464	3,4869	1,8607	3,7396
Fe	60	85	56	85	52	25	31	31	65	56	69	72	44	28	89
Mg	1035	1628	1247	1400	1322	1003	1098	1117	1992	1842	1991	2518	1925	1530	2511
Mn	1,40	1,71	40,70	1,46	5,71	1,88	2,53	0,83	1,94	5,50	8,86	2,38	1,55	4,86	3,02
Mo	0,33	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	0,25	< 0,14	< 0,14	< 0,14
Ni	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	0,56	< 0,45	< 0,45
P	3640	5185	1620	4050	2431	2947	2899	4247	4903	4913	6205	7274	5158	3264	6623
Pb	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2
Se	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	23	<15	<15	<15
V	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014
Zn	14,1261	21,9078	12,8119	18,4807	12,2240	9,6337	12,0165	14,7489	17,2565	22,3995	29,6177	28,4039	26,0344	14,6881	30,6959

Tabela 16 – Concentração de metais em Moluscos Bivalves da espécie *Anomalocardia brasiliiana* fêmeas coletadas em Suape na campanha de 2004 (massa úmida)

Elemento	2F S2	5F S2	9F S2	15F S2	18F S2	21 F S2	24F S2	29F S2	32 F S2	40 F S2	43 F S2	46F S2	49F S2	52F S2	56F S2
As	3,3	3,5	3,3	2,8	2,6	3,6	4,5	3,7	5,8	7,5	5,7	5,6	5,4	4,7	5,0
Ba	2,69	3,98	1,85	4,27	< 0,12	0,16	1,01	2,47	4,97	< 0,12	9,50	1,84	3,15	3,43	< 0,12
Ca	942	623	921	4138	1192	1014	1654	2401	2457	2768	18173	3972	2039	1467	907
Cd	0,4327	< 0,0071	0,3895	0,4531	0,2715	0,3961	0,2083	0,4304	0,9902	0,0816	0,2350	0,0576	0,5609	0,1070	0,2431
Co	0,0853	< 0,0093	0,0409	0,0244	0,0564	0,0490	0,0814	0,0569	0,2748	< 0,0093	< 0,0093	< 0,0093	< 0,0093	< 0,0093	< 0,0093
Cr	4,38	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75	< 0,75
Cu	1,9690	3,4277	1,2347	1,8478	1,8819	1,5340	2,2447	2,2169	4,1375	4,2602	1,9111	13,8363	3,4934	1,7666	2,6069
Fe	52	18	27	60	39	33	34	70	100	43	40	35	64	29	40
Mg	1299	805	1138	1330	1360	1140	913	1100	2146	2265	1498	1657	2342	1397	1649
Mn	6,47	1,40	5,73	4,66	6,71	62,37	0,91	39,15	161,30	4,88	7,87	3,56	8,99	3,28	5,57
Mo	0,23	< 0,14	< 0,14	< 0,14	0,20	< 0,14	< 0,14	< 0,14	0,36	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14	< 0,14
Ni	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45	< 0,45
P	2252	1705	1716	1584	1950	1822	3546	1467	3545	4242	2177	2947	3826	2128	3294
Pb	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2	< 1,2
Se	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15	<15
V	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014	< 0,014
Zn	6,0599	5,0060	4,1753	4,7832	5,5894	6,7459	5,4993	5,1015	12,9438	12,2826	6,1875	7,6678	11,1129	5,6256	9,3609

14. ANEXO F

COMPARAÇÃO DA ACUMULAÇÃO DE ÍONS METÁLICOS ENTRE INDIVÍDUOS MACHOS E FÊMEAS COLETADOS

Tabela 01 – Teste de Wilcoxon – Mann – Whitney ($p < 0,05000$) para As

Soma dos Ranks Macho	Soma dos Ranks Fêmea	Z ajustado	p	Número válido Macho	Número válido Fêmea
17407,00	11513,00	6,606103	0,000001	115	125
Resultado = Há diferença significativa entre os sexos quanto ao acúmulo de íons metálicos (machos acumula mais que fêmeas)					

Tabela 02 – Teste de Wilcoxon – Mann – Whitney ($p < 0,05000$) para Ba

Soma dos Ranks Macho	Soma dos Ranks Fêmea	Z ajustado	p	Número válido Macho	Número válido Fêmea
14383,00	14537,00	0,978354	0,327900	115	125
Resultado = Não há diferença significativa entre os sexos quanto ao acúmulo de íons metálicos					

Tabela 03 – Teste de Wilcoxon – Mann – Whitney ($p < 0,05000$) para Ca

Soma dos Ranks Macho	Soma dos Ranks Fêmea	Z ajustado	p	Número válido Macho	Número válido Fêmea
13853,00	15067,00	-0,008375	0,993318	115	125
Resultado = Não há diferença significativa entre os sexos quanto ao acúmulo de íons metálicos					

Tabela 04 – Teste de Wilcoxon – Mann – Whitney ($p < 0,05000$) para Cd

Soma dos Ranks Macho	Soma dos Ranks Fêmea	Z ajustado	p	Número válido Macho	Número válido Fêmea
14654,00	14266,00	1,482466	0,138217	115	125
Resultado = Não há diferença significativa entre os sexos quanto ao acúmulo de íons metálicos					

Tabela 05 – Teste de Wilcoxon – Mann – Whitney ($p < 0,05000$) para Co

Soma dos Ranks Macho	Soma dos Ranks Fêmea	Z ajustado	p	Número válido Macho	Número válido Fêmea
14484,00	14436,00	1,167519	0,243002	115	125
Resultado = Não há diferença significativa entre os sexos quanto ao acúmulo de íons metálicos					

Tabela 06 – Teste de Wilcoxon – Mann – Whitney ($p < 0,05000$) para Cu

Soma dos Ranks Macho	Soma dos Ranks Fêmea	Z ajustado	p	Número válido Macho	Número válido Fêmea
14080,00	14840,00	0,414161	0,678756	115	125
Resultado = Não há diferença significativa entre os sexos quanto ao acúmulo de íons metálicos					

Tabela 07 – Teste de Wilcoxon – Mann – Whitney ($p < 0,05000$) para Fe

Soma dos Ranks Macho	Soma dos Ranks Fêmea	Z ajustado	p	Número válido Macho	Número válido Fêmea
14885,00	14035,00	1,912318	0,055836	115	125
Resultado = Não há diferença significativa entre os sexos quanto ao acúmulo de íons metálicos					

Tabela 08 – Teste de Wilcoxon – Mann – Whitney ($p < 0,05000$) para Mg

Soma dos Ranks Macho	Soma dos Ranks Fêmea	Z ajustado	p	Número válido Macho	Número válido Fêmea
14036,00	14884,00	0,332212	0,739729	115	125
Resultado = Não há diferença significativa entre os sexos quanto ao acúmulo de íons metálicos					

Tabela 09 – Teste de Wilcoxon – Mann – Whitney ($p < 0,05000$) para Mn

Soma dos Ranks Macho	Soma dos Ranks Fêmea	Z ajustado	p	Número válido Macho	Número válido Fêmea
11346,00	17574,00	-4,67424	0,000003	115	125
Resultado = Há diferença significativa entre os sexos quanto ao acúmulo de íons metálicos (fêmeas acumula mais que machos)					

Tabela 10 – Teste de Wilcoxon – Mann – Whitney ($p < 0,05000$) para Mo

Soma dos Ranks Macho	Soma dos Ranks Fêmea	Z ajustado	p	Número válido Macho	Número válido Fêmea
11346,00	17574,00	-4,67424	0,000003	115	125
Resultado = Há diferença significativa entre os sexos quanto ao acúmulo de íons metálicos (fêmeas acumula mais que machos)					

Tabela 11 – Teste de Wilcoxon – Mann – Whitney ($p < 0,05000$) para Ni

Soma dos Ranks Macho	Soma dos Ranks Fêmea	Z ajustado	p	Número válido Macho	Número válido Fêmea
13659,00	15261,00	-0,488876	0,624930	115	125

Resultado = Não há diferença significativa entre os sexos quanto ao acúmulo de íons metálicos

Tabela 12 – Teste de Wilcoxon – Mann – Whitney ($p < 0,05000$) para P

Soma dos Ranks Macho	Soma dos Ranks Fêmea	Z ajustado	p	Número válido Macho	Número válido Fêmea
17514,00	11406,00	6,805245	0,000001	115	125

Resultado = Há diferença significativa entre os sexos quanto ao acúmulo de íons metálicos (machos acumula mais que fêmeas)

Tabela 13 – Teste de Wilcoxon – Mann – Whitney ($p < 0,05000$) para Zn

Soma dos Ranks Macho	Soma dos Ranks Fêmea	Z ajustado	p	Número válido Macho	Número válido Fêmea
157474,00	13446,00	3,052321	0,002271	115	125

Resultado = Há diferença significativa entre os sexos quanto ao acúmulo de íons metálicos (machos acumula mais que fêmeas)