

# Avaliação da contaminação de corpos hídricos da Bacia do Alto Iguaçu através de matrizes de excitação-emissão de fluorescência.

## **Mauricius Marques dos Santos** <sup>(1)</sup>

Graduando em Química Tecnológica com ênfase Ambiental /Licenciatura em Química pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná/UTFPR.

## **Alessandra Honjo Ide** <sup>(1)</sup>

Graduanda em Química Tecnológica com ênfase Ambiental e em Processos Ambientais pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná/UTFPR.

## **Alinne Mizukawa** <sup>(2)</sup>

Graduada em Processos Ambientais pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná/UTFPR, Mestranda em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental na Universidade Federal do Paraná/UFPR.

## **Rafael Duarte Kramer** <sup>(1)</sup>

Graduado em Processos Ambientais pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná/UTFPR, Mestrando em Ciências e Tecnologia Ambiental na Universidade Tecnológica Federal do Paraná/UTFPR.

## **Tamara Simone Van Kaick** <sup>(1)</sup>

Graduada em Biologia pela PUC-PR. Mestrado em Tecnologia pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Doutorado em Meio Ambiente e Desenvolvimento pela Universidade Federal do Paraná. Professor Adjunto do Departamento Acadêmico de Química e Biologia da UTFPR

## **Júlio César Rodrigues de Azevedo** <sup>(1, 2)</sup>

Graduado em Química pela PUC-PR. Mestrado em Química pela Universidade Estadual de Maringá. Doutorado em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais também pela Universidade Estadual de Maringá.. Professor Adjunto do Departamento Acadêmico de Química e Biologia da UTFPR

**Endereço** <sup>(1)</sup>: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Curitiba. Departamento Acadêmico de Química e Biologia-DAQBi. Avenida Sete de Setembro, 3165 - Rebouças – Curitiba - PR - CEP: 80230-901 - Brasil - Tel: (41) 3310-4666 - e-mail: mauricius\_mds@hotmail.com

**Endereço** <sup>(2)</sup>: A Universidade Federal do Paraná-UFPR. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental - PPGERHA. Jardim das Américas– Curitiba - PR - CEP: 81531-990 - Brasil - Tel: (41) 3361-3143.

## **ABSTRACT**

Contamination of water bodies in areas of high population density is a major problem in many localities, especially in developing countries. Many analytical techniques can be used in combination to monitor the condition of these water bodies. Among them are the techniques of molecular fluorescence spectroscopy, which can be very useful in assessing the organic matter in aquatic environments. There are several ways to obtain fluorescence spectroscopic data; one of the most comprehensive is the use of excitation-emission matrices. In our study, a campaign in August 2010 was made to assess the contamination of some tributaries of the Upper Iguaçu basin - Curitiba Metropolitan Region - using excitation-emission matrices to assess the dissolved organic matter. Almost all the rivers analyzed showed signs of contamination, mainly suggested by the presence of a fluorescence peak associated with protein and a high intensity in the region similar to fulvic acids.

**KEYWORDS:** Dissolved organic matter; Fluorescence spectroscopy, Excitation-Emission matrix.

## INTRODUÇÃO

O monitoramento da qualidade da água em bacias hidrográficas se faz muito importante à medida que o crescimento populacional desordenado em áreas urbanas vem prejudicando os recursos hídricos de muitas regiões. A utilização de valores de carbono orgânico dissolvido (COD) é um dos métodos que pode ser utilizado na determinação da matéria orgânica dissolvida (MOD), entretanto a avaliação do COD não permite a distinção entre as diferentes frações da MOD (BAKER; 2002).

Em ambientes aquáticos a MOD é composta por uma mistura heterogênea de compostos orgânicos alifáticos e aromáticos originários tanto de fontes naturais como de fontes antropogênicas. A fração de compostos de origem antrópica, normalmente é composta principalmente de agentes branqueadores, componentes de detergentes, produtos de cuidado pessoal, poluentes orgânicos persistentes como bifenilas, pesticidas, hidrocarbonetos aromáticos, compostos organoclorados e bifenilas policlorinadas, e triptofano (MOSTOFA *et al.*; 2010). De maneira geral, a MOD em rios não influenciados por atividades antrópicas pode ser caracterizada como sendo originária de plantas aquática ou superiores e por substâncias húmicas, principalmente, pedogênica. Já a MOD em rios impactados, normalmente a MOD foi originária da atividade microbiana na degradação de compostos. Estas variações na MOD de ambientes com alterações provocadas pelo homem ou não, fornecem diferentes assinaturas espectrais para estes ambientes (HENDERSON *et al.*, 2009).

Dentre as técnicas disponíveis para a diferenciação das frações da MOD pode-se destacar a técnicas espectroscópicas de absorção (na região do ultravioleta ao visível) e a de emissão de fluorescência. Uma das principais vantagens da espectroscopia molecular de emissão de fluorescência sobre a espectroscopia de absorção na região ultra-violeta e visível é sua maior sensibilidade (10-1000X), sendo essa capaz de detectar até mesmo a presença de uma única molécula (HENDERSON *et al.*; 2009). Outras vantagens apresentadas por essa técnica são sua simplicidade, seu custo relativamente baixo, a necessidade de pouco ou nenhum tratamento de amostra e a capacidade de fornecer informações sobre a estrutura e grupos funcionais das moléculas analisadas (BAGHOTH *et al.*, 2011). As características dos espectros de fluorescência podem ser alteradas de acordo com o pH do meio, a força iônica, a temperatura, o potencial redox, a interação com íons metálicos e de acordo com a composição e estrutura da própria MOD (PEURAVUORI *et al.*, 2002).

Em estudos realizados em rios com influência de águas residuárias foi possível observar que a utilização da fluorescência da região semelhante a proteínas é um melhor indicador da qualidade de águas do que a utilização da absorbância na região do ultravioleta em 254 nm (BAKER; 2001).

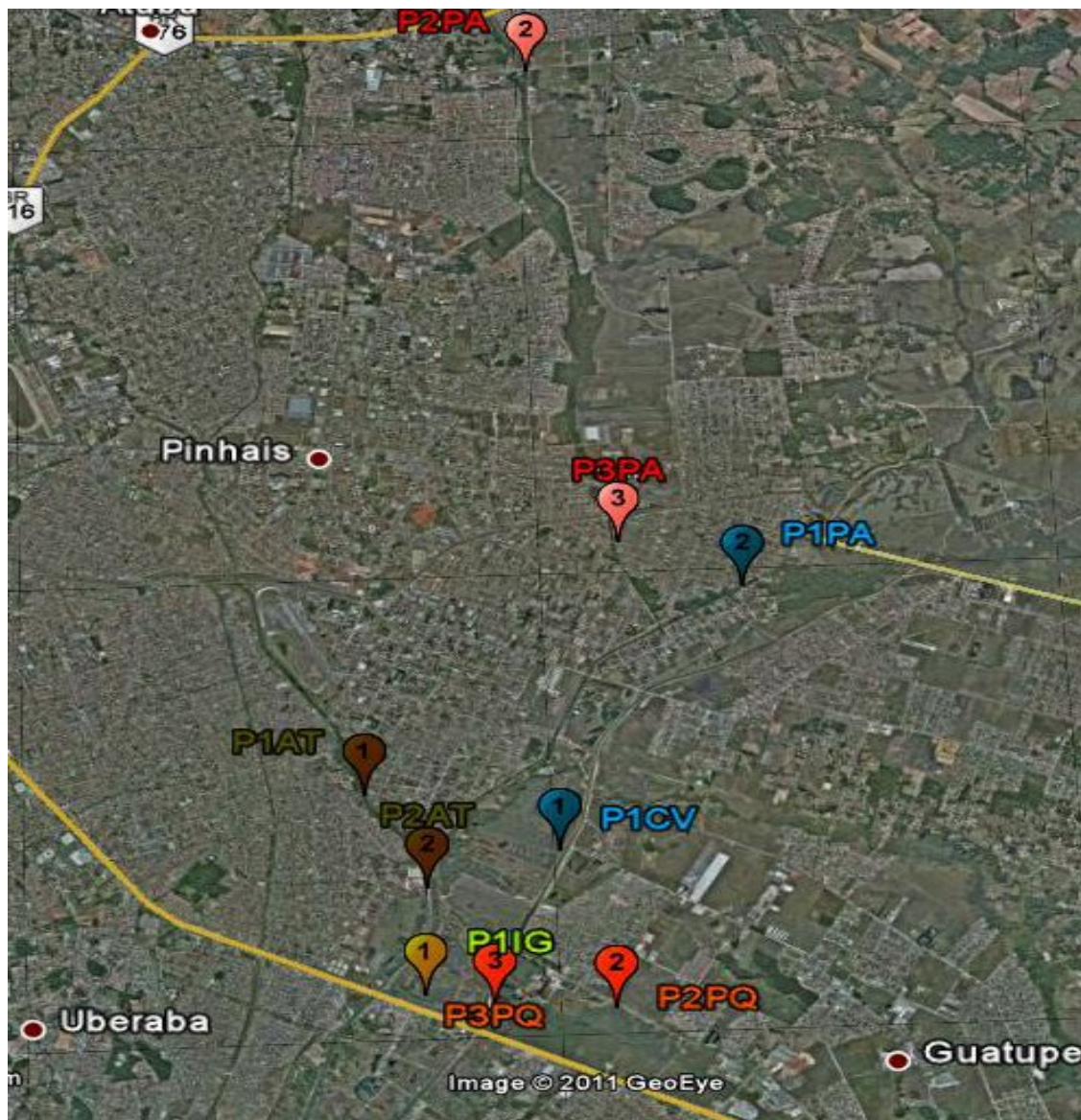
A espectroscopia molecular de fluorescência pode ser utilizada de diferentes formas na avaliação da matéria orgânica em ambientes aquáticos, dentre essas formas se encontram espectros de emissão, espectros de excitação, espectros sincronizados e matrizes de emissão-excitação (MEE). Um dos primeiros estudos envolvendo a utilização de MEE na avaliação de MOD foi realizado por Coble (1996) que revelou a presença de cinco picos principais de fluorescência que podem ser relacionados com a matéria orgânica. Estes picos são: pico B (Ex/Em 275/310 nm) a materiais semelhantes a proteínas (Tirosina); pico T (Ex/Em 275/340 nm) às substâncias semelhantes a proteínas (Triptofano), pico A (Ex/Em 260/380-460 nm) às substâncias húmicas terrestre, pico M (Ex/Em 312/380-420 nm) às substâncias húmicas marinhas e o pico C (Ex/Em 350/420-480 nm) às substâncias húmicas terrestre.

A utilização de matrizes de excitação-emissão (MEE) pode ser capaz de distinguir entre diferentes tipos e fontes da MOD em ambientes aquáticos (BAGHOTH *et al.*, 2011). A presença de alta intensidade de fluorescência nas regiões semelhantes a proteínas vem sendo utilizada na identificação de MOD relacionada a águas residuárias. Rios influenciados pela atividade antrópica podem ser caracterizados pela alta intensidade da região semelhante a proteínas e da região semelhante a ácidos fúlvicos (BAKER, 2002). Estudos realizados por Baker (2001) demonstraram que a intensidade de fluorescência relacionada a ácidos fúlvicos e proteínas é significativamente maior em áreas a jusante de estações de tratamento de esgotos do que a sua montante.

Este estudo teve como objetivo avaliar a contaminação de corpos hídricos da bacia do Alto Iguaçu através de técnicas de espectroscopia molecular de emissão de fluorescência utilizando-se matrizes de excitação-emissão (MEE).

## ÁREA DE ESTUDO

A bacia do alto Iguaçu possui uma área de aproximadamente 565 Km<sup>2</sup> e é formada pelas seguintes sub-bacias Rio Atuba, Rio Iraí, Rio Iraizinho, Rio do Meio, Rio Piraquara, Rio Palmital, Rio Itaqui, e Rio Pequeno. O rio Palmital tem sua área de drenagem localizada nos municípios de Colombo e Pinhais – Região metropolitana de Curitiba – e essa sub-bacia possui uma área equivalente de 93 Km<sup>2</sup>. Suas nascentes encontram-se relativamente inalteradas e ao longo de seu curso este rio recebe diversos aportes de material orgânico originários de água residuárias. Já o rio Pequeno está situado no município de São José dos Pinhais drenando uma área de aproximadamente 140 Km<sup>2</sup> (ANDREOLLI *et al.*, 2003). Esta bacia possui uma grande importância para a região metropolitana de Curitiba já que representa cerca de 62 % da água utilizada para o abastecimento público (ANDREOLLI *et al.*, 1999). Neste estudo foram avaliados três pontos ao longo do Rio Palmital, dois pontos no Rio Atuba, três pontos no rio Pequeno, um ponto no rio Iguaçu e um ponto em uma das cavas do rio Iguaçu.



**Figura 1:** Localização geral dos pontos de coleta na Região metropolitana de Curitiba, P1-PA foi excluído devido a sua distância aos demais locais.

## MÉTODOS

No ano de 2010 foi realizada uma campanha amostral no mês de agosto em diversos ambientes aquáticos pertencentes à bacia do Alto Iguaçu – região metropolitana de Curitiba. As amostras foram armazenadas em frascos de polipropileno previamente descontaminados com solução de ácido clorídrico 5% por no mínimo 24 h e então enxaguadas com água deionizada por 3 vezes. A coleta foi realizada utilizando-se uma garrafa do tipo Van Dorn de 5L feita de teflon ou então com o auxílio de um balde. Após a coleta as amostras foram filtradas em membranas de acetato de celulose de 0,45 µm para a remoção de material particulado e mantidas sob refrigeração (4°C) até o momento das análises.

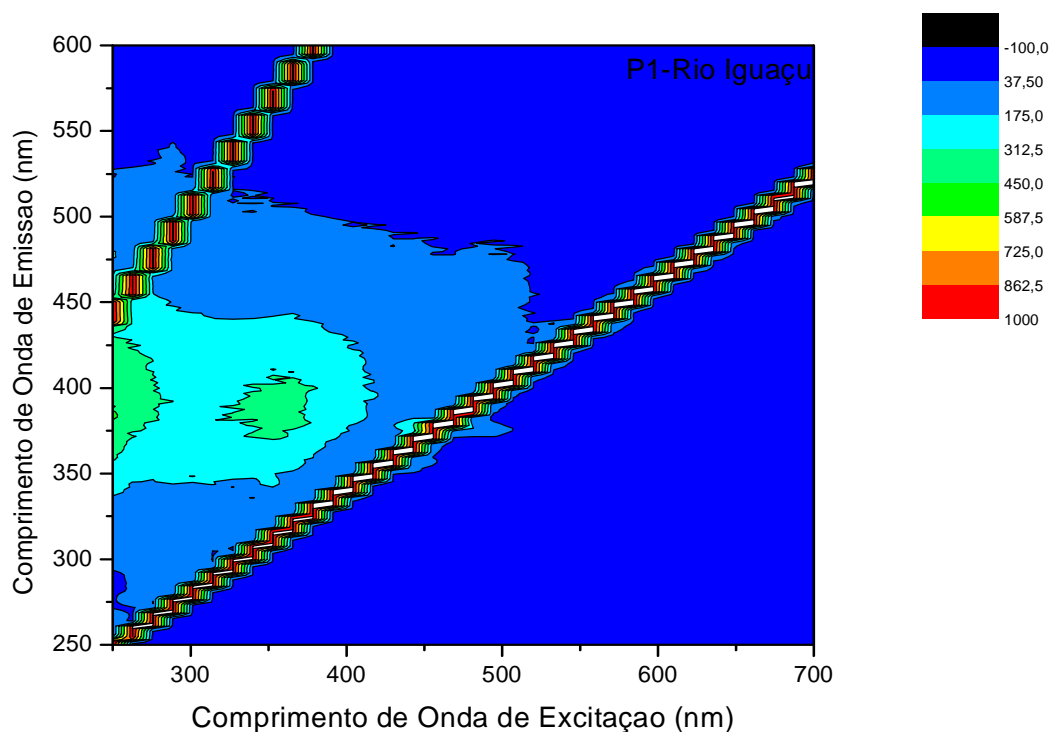
A determinação de carbono orgânico dissolvido (COD) foi realizada no analisador de carbono orgânico total – HiPerTOC (Thermo Scientific) com detector de infravermelho não- dispersivo de 15 polegadas. A determinação do carbono total foi feita pelo método da oxidação em alta temperatura (1000 °C) em ambiente rico em oxigênio e o carbono inorgânico total pela acidificação.

As determinações espectrofluorimétricas foram realizadas em um espectrofluorímetro Cary Eclipse (Varian Inc.) utilizando-se lâmpada de xenônio a uma voltagem de 900 V. Adotou-se fendas de 5 nm tanto para emissão quanto para excitação. As medidas foram realizadas nos comprimentos de onda de 250 a 600 nm para excitação e de 250 a 700 nm para emissão. A velocidade de varredura foi de 9600 nm/minuto com intervalo de 2 nm para emissão e de 10 nm para excitação. Determinações do espectro de água ultrapura foram realizadas para um controle do sinal analítico e eliminação do espalhamento Raman dos espectros.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

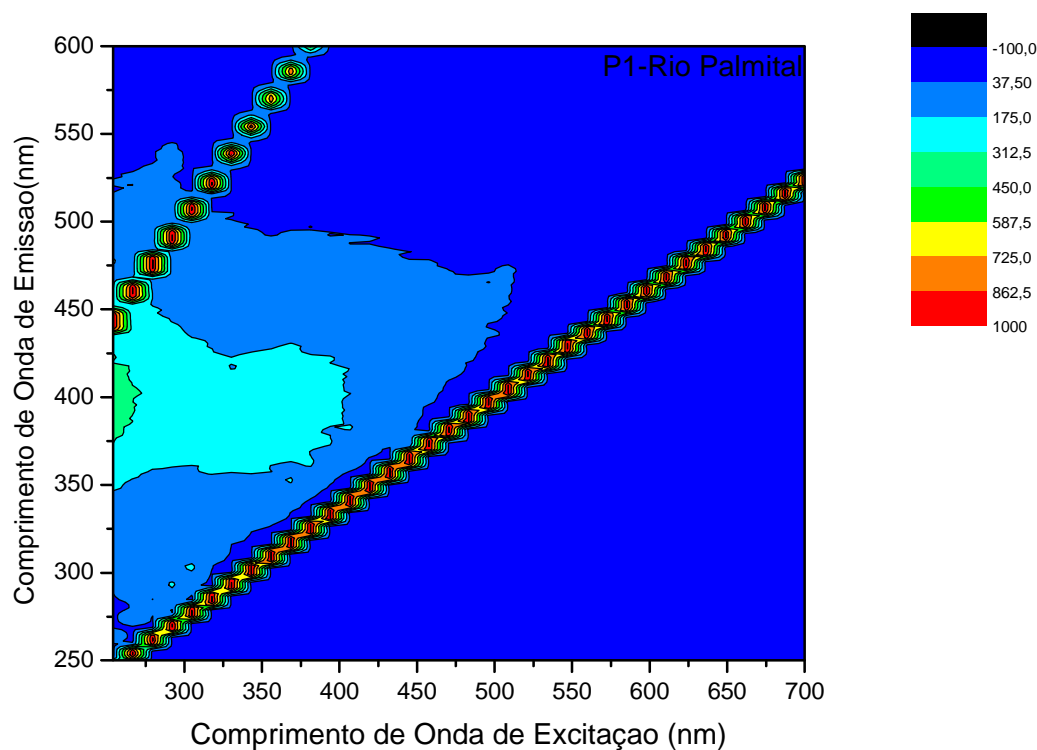
Para a interpretação dos dados obtidos nas matrizes de excitação-emissão, uma das formas mais úteis é a utilização de gráficos de superfície de contorno. Esses gráficos permitem a visualização das principais regiões responsáveis pela emissão de fluorescência em uma amostra.

Na MEE (FIGURA 2), do principal rio pertencente a bacia hidrográfica Rio Iguaçu, foi possível observar a presença de duas regiões distintas de emissão de fluorescência. Uma região com EX/EM 350/375 nm, semelhante à região de fluorescência de substâncias húmicas na região visível do espectro eletromagnético. A outra região observável foi em EX/EM 260/400, fluorescência associada também a substâncias húmicas. De maneira geral, foi possível observar a existência de fluorescência também na região de EX/EM próxima a 275/320, sendo essa região associada a substâncias semelhantes a proteínas, podendo ser originárias tanto da produtividade primária como de compostos orgânicos de estrutura simples presentes em águas residuárias (esgotos domésticos).



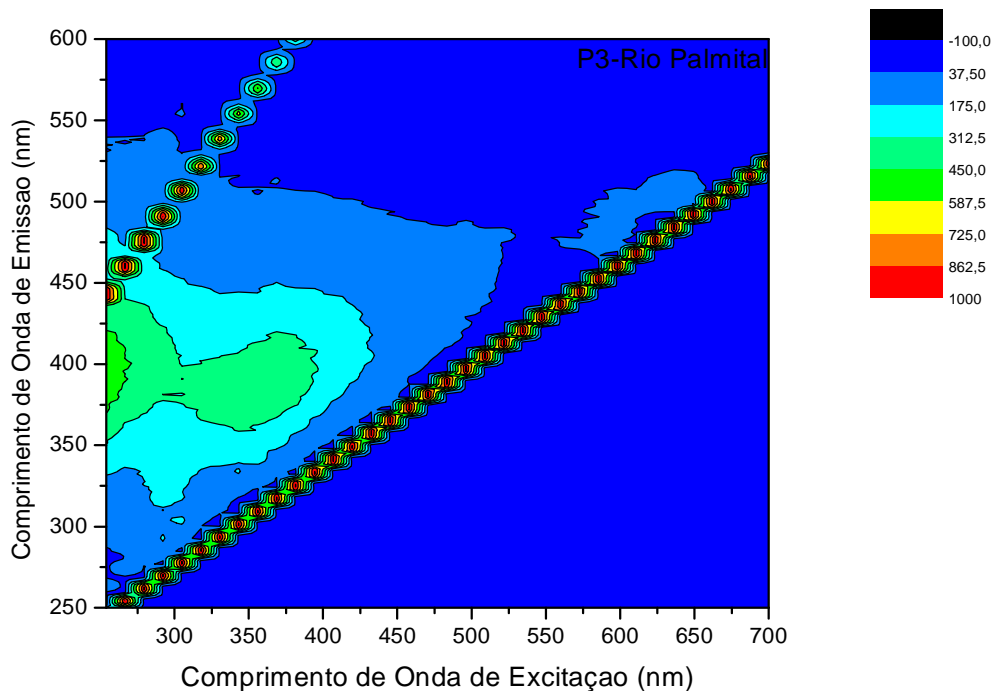
**Figura 2:** Espectro de contorno da MEE da varredura de emissão de fluorescência da amostra do ponto P1-Rio Iguaçu.

O rio Palmital, outro rio pertencente à bacia do alto Rio Iguaçu, em seu primeiro ponto de coleta, local esse mais afastado do perímetro urbano e com menor influência antrópica, apresenta em suas características de fluorescência, observáveis através da MEE (FIGURA 3), também a presença dos picos relacionados a substâncias húmicas na região do visível e do ultra-violeta, EX/EM 350/400 nm e EX/EM 260/400 nm, respectivamente.



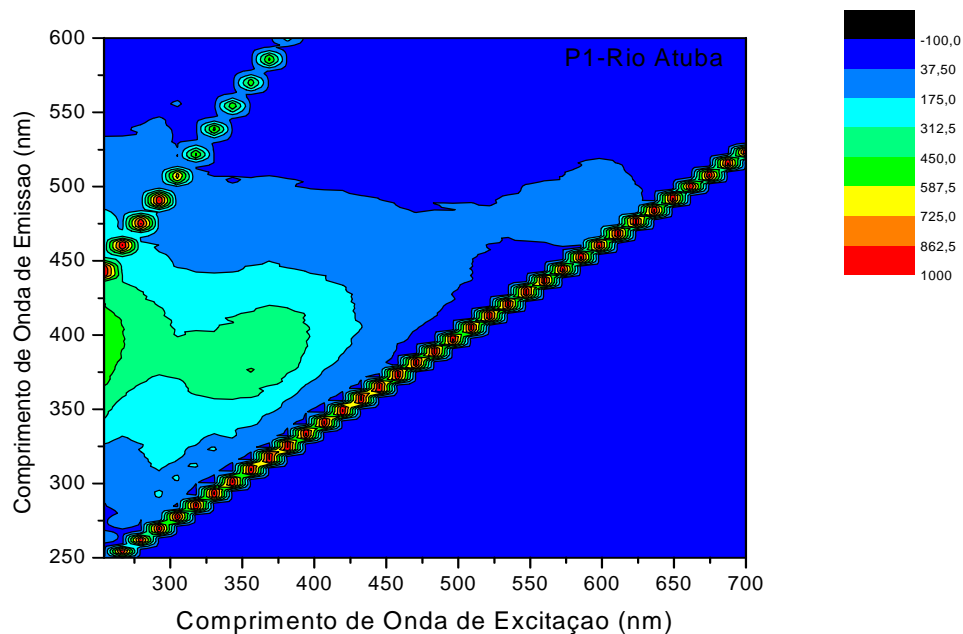
**Figura 3:** Gráfico de contorno da MEE, P1-Rio Palmital

No segundo e terceiro local de coleta desse mesmo rio, representado aqui pela FIGURA 4, foi possível observar um aumento na intensidade de fluorescência nas duas regiões semelhantes a substâncias húmicas. Além disso, foi possível verificar uma clara distinção de um pico de EX/EM próximo a 300/320 nm. Esse pico pode ser resultante da produtividade primária no ambiente ou ainda da contribuição de substâncias presentes em águas residuárias clandestinas. Esses dois locais de coleta encontram-se em regiões mais fortemente habitadas e com uma ocupação do solo não controlada. Dessa forma, a presença de um pico de fluorescência na região de EX/Em 300/320 nm pode ser um indicativo da influencia antrópica na qualidade da água dos rios da região.



**Figura 4:** Gráfico de contorno da MEE , P3-Rio Palmital

Outra situação semelhante foi observada no Rio Atuba, no seu primeiro local de coleta. Foi possível observar a presença tanto de fluoróforos associados a substâncias húmicas (região do visível e do ultravioleta) como um fluoróforo relacionado a proteínas. Esse fato pode, novamente, indicar uma contribuição antrópica na composição da matéria orgânica dissolvida nos ambientes da bacia do Alto Rio Iguazu.



**Figura 5:** Gráfico de contorno da MEE, P1-Rio Atuba

Já no segundo ponto de amostragem do Rio Atuba, situado logo após a saída de efluentes de uma estação de tratamento de esgotos, foi notável um significativo aumento da intensidade de fluorescência emitida pela amostra (FIGURA 6). Esse aumento da intensidade de fluorescência observada pode sugerir



que a estação de tratamento de esgotos possui uma grande influencia na matéria orgânica dissolvida para o rio Atuba a jusante a sua localização.

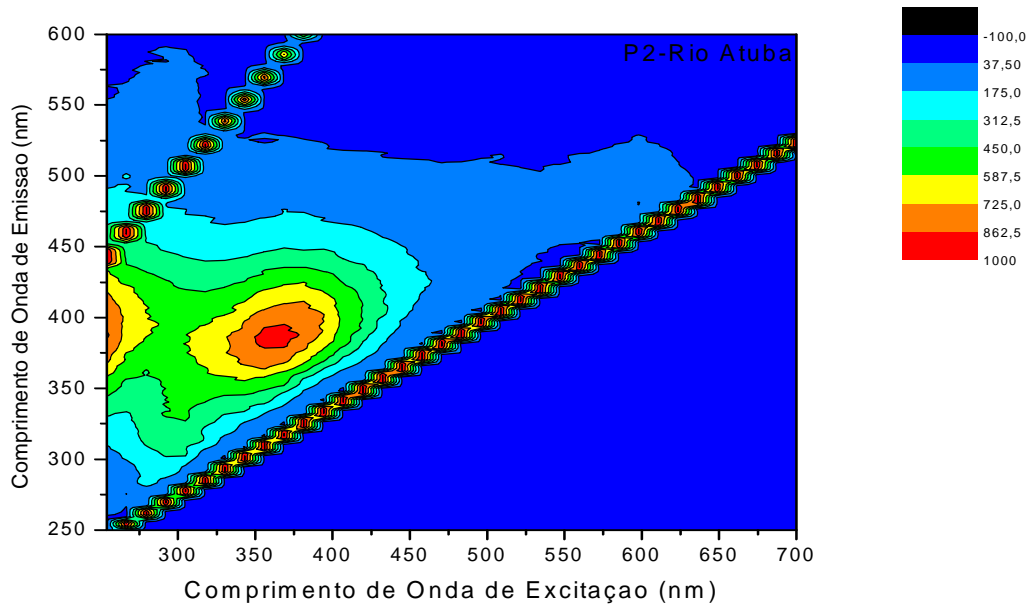


Figura 6: Gráfico de contorno da MEE, P2-Rio Atuba.

Na amostra do ponto 2 do rio Atuba, a presença de um forte pico de fluorescência na região semelhante a proteínas (EX/EM 300/325 nm) corrobora com a hipótese de que este pico está associado à atividade antrópica na região. Esse pico encontra-se na mesma posição observada nos espectros das amostras do Rio Palmital.

Para o rio Pequeno foi verificada uma situação muito semelhante ao rio Palmital. No seu primeiro local de amostragem (P1-Rio Pequeno), ponto mais próximo de sua nascente, no seu gráfico de contorno (FIGURA 7) é possível observar uma baixa intensidade de fluorescência e a presença dos picos relacionados a substâncias húmicas tanto na região visível como na região ultra-violeta do espectro eletromagnético.

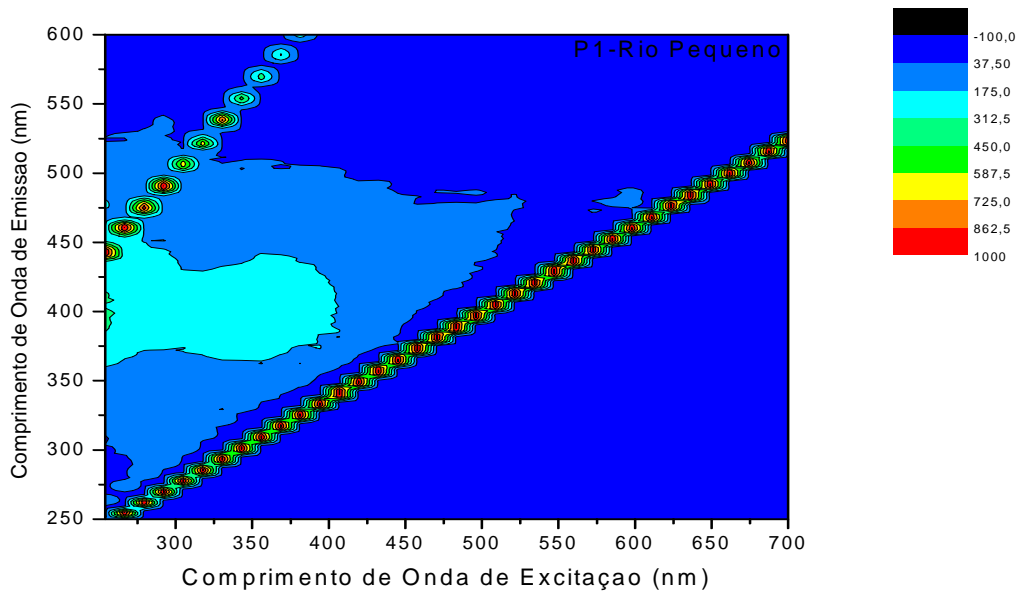
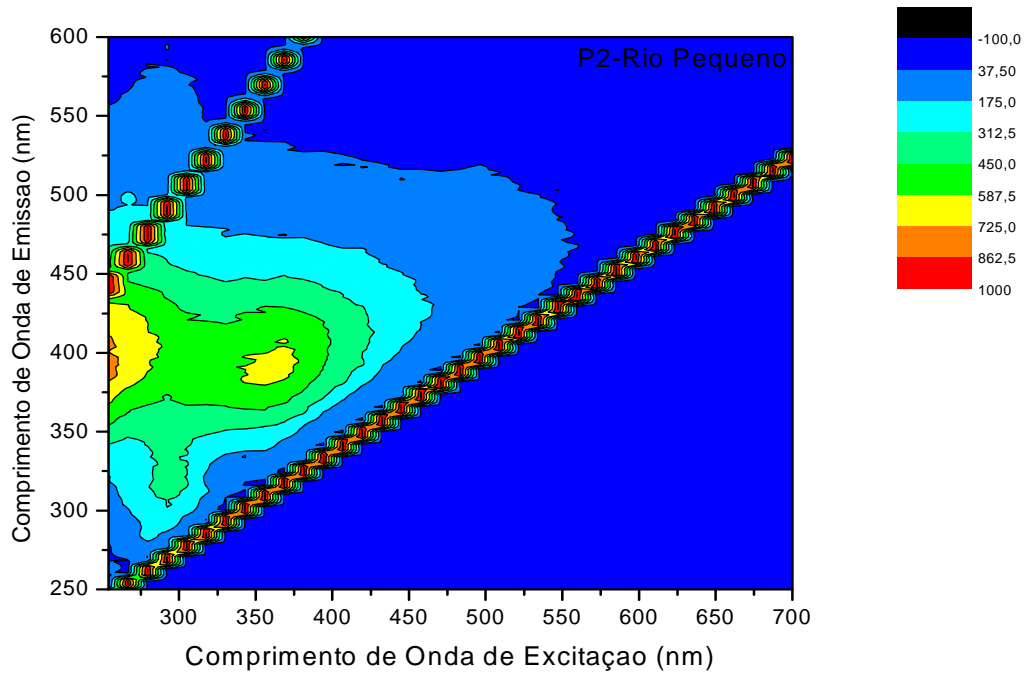


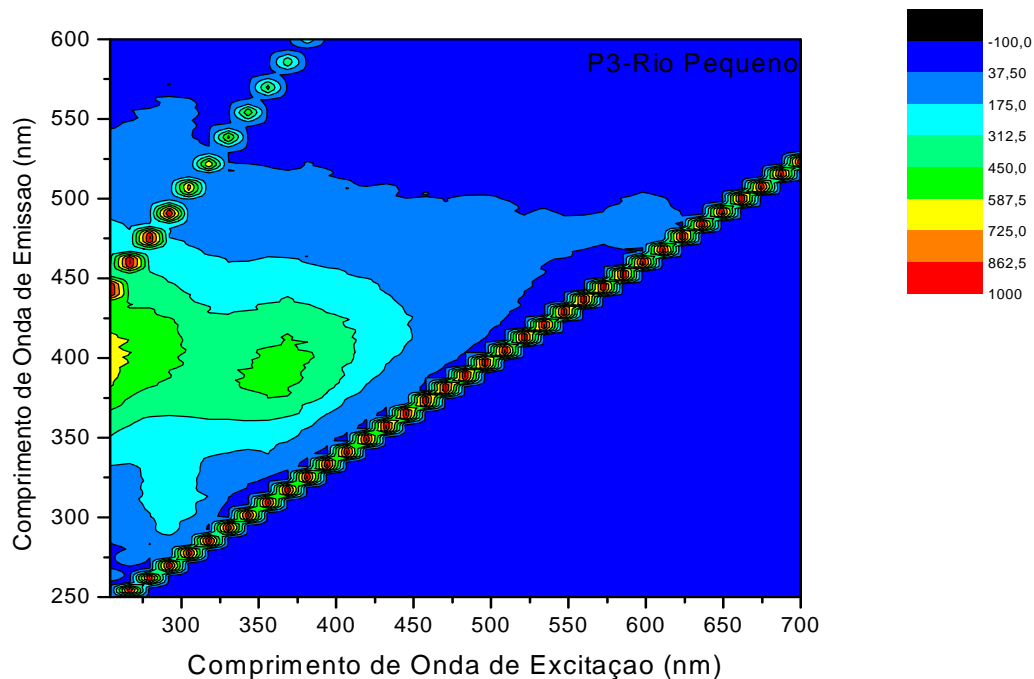
Figura 7: Gráfico de contorno da MME, P1-Rio Pequeno.



Para os demais pontos de coleta do rio Pequeno, é possível observar um aumento na intensidade de fluorescência bem como a presença de um pico relacionado a proteínas bem distinguível, com EX/EM em 300/320 nm (FIGURA 8 e FIGURA 9). Esses dois pontos de coleta, diferentemente do primeiro, encontram-se no perímetro urbano da Região Metropolitana de Curitiba e drenam algumas áreas de ocupação irregular, muitas delas sem saneamento. Tais áreas podem estar contribuindo com o despejo de águas residuárias nesse ambiente, alterando as características naturais da matéria orgânica dissolvida.



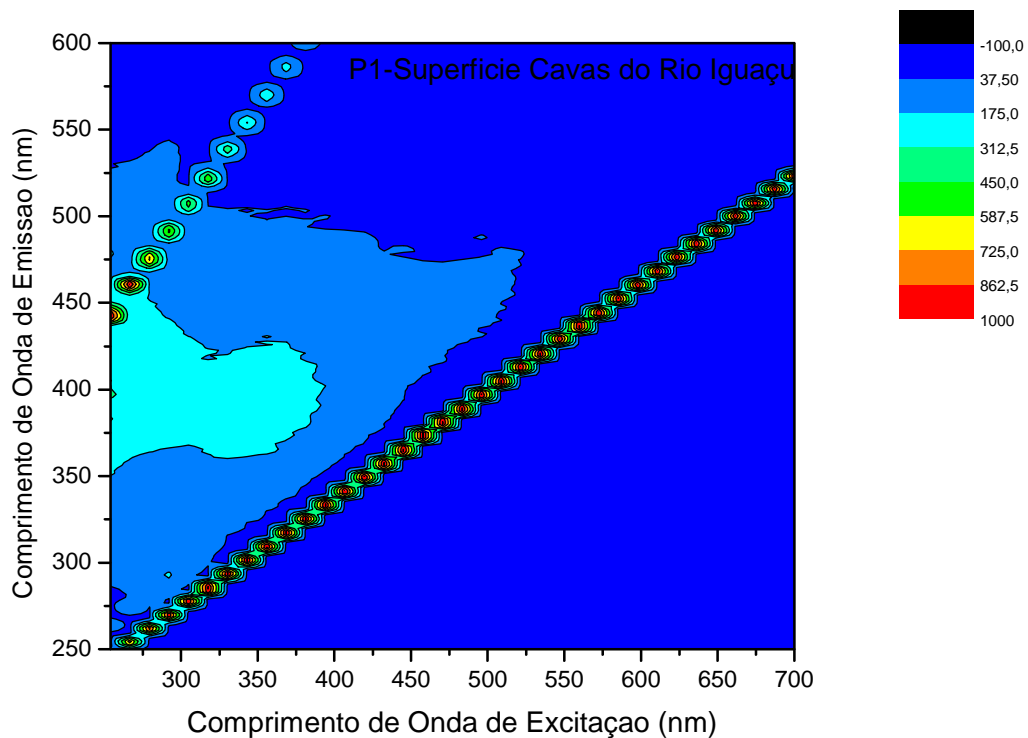
**Figura 8:** Gráfico de contorno da MEE, P2- Rio Pequeno.



**Figura 9:** Gráfico de contorno da MEE, P3-Rio Pequeno.

Para o ponto de amostragem situado em uma das cavas do Rio Iguaçu, ambiente lântico em que a produtividade primária seria favorecida, não foi possível observar um pico distinguível relacionado a proteínas (FIGURA 10). Somente fluoróforos associados a substâncias húmicas como ácidos fúlvicos e ácidos húmicos. Dessa forma, a presença de sinais de fluorescência semelhantes a proteínas em

ambientes lóticos da região foi um indicativo da contaminação por fontes antrópicas ao invés de um sinal da produtividade primária dos ambientes.



## CONCLUSOES

A utilização de técnicas de espectroscopia molecular de fluorescência pode ser uma abordagem eficiente na caracterização da matéria orgânica dissolvida em ambientes aquáticos de água doce. Especialmente a utilização de matrizes e excitação-emissão (MEE), por permitirem uma avaliação mais completa da fluorescência das amostras e por poder ser facilmente utilizada, não necessitando de muitas etapas de preparo e podendo ser realizada de uma forma barata.

A análise das MEE dos rios da Bacia do Alto Iguaçu, através dos gráficos de contorno, sugere que os ambientes aquáticos da região podem estar sofrendo com a influência antrópica, o que pode ser a origem do pico de fluorescência relacionado a proteínas em muitas das amostras analisadas. A técnica de fluorescência molecular poderia ser utilizada, portanto, para o monitoramento da qualidade da água nesses ambientes.

## REFERÊNCIA

ANDREOLI, C. V.; DALARMI, O.; LARA, A.I.; ANDREOLI, F.N. **Os Mananciais de Abastecimento do Sistema Integrado da Região Metropolitana de Curitiba - RMC** – SANARE – Revista Técnica da Sanepar, vol. 12, n. 12, 1999.

ANDREOLI, C. V; HOPPEN, C.; PEGORINI, E. S. e DALARMI, O. “A crise da água e os mananciais de abastecimento”. In: ANDREOLI, C. V. (org.). **Mananciais de abastecimento: planejamento e gestão – estudo de caso do Altíssimo Iguaçu. Curitiba**, Companhia de Saneamento do Paraná – Sanepar; Financiadora de Estudos e Projetos – Finep, p. 33-84, 2003.

BAGHOTH,S.A.;SHARMA,S.K.;AMY,G.L. **Tracking natural organic matter(NOM) in a drinking water treatment plant using fluorescence excitation-emission matrices and PARAFAC**. WATER RESEACH, 45, 797-809, 2011.

BAKER, A. Fluorescence **Excitation-Emission Matrix Characterization of some Sewage-Impacted Rivers**. Environmental Science and Technology, 35, 948-953, 2001.

BAKER, A. **Spectrophotometric discrimination of river dissolved organic matter**. HYDROLOGICAL PROCESS, 16 ,3203-3213, 2002.

COBLE, P.G., **Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation – emission matrix spectroscopy**. MARINE CHEMISTR,. 51, 325– 346.1996

HENDERSON,R.K.;BAKER,A.;MURPHY,K.R.;HAMBLY,A.;STUETZ R.M.;KHAN,S.J. **Fluorescence as a potential monitoring tool for recycled water systems: A review**. WATER RESEARCH, 43, 863-881.2009

MOSTOFA,K,M.G.;WU, F.;LIU,C.;FANG,W.L.;YUAN,J.;YING,W.L.;WEN,L.;YI,M. **Characterization of Nanming River (southwest China) sewerage-impacted pollution using an excitation-emission matrix and PARAFAC.** LIMNOLOGY, 11, 217-231.2010.

PEURAVUORI,J.,KOIVIKKO,R.,PIHLAJA,K.. **Characterization, differentiation and classification of aquatic humic matter separated with different sorbents: synchronous scanning fluorescence spectroscopy.** WATER RESEACH, 36, 4552–4562. 2002.