

APLICAÇÃO DA ANÁLISE ISOTÓPICA DE COMPOSTO ESPECÍFICO (TÉCNICA CSIA) EM PERÍCIAS AMBIENTAIS PARA DISTINGUIR DIFERENTES FONTES DE CONTAMINAÇÃO

Luiz Guilherme Poggio TEIXEIRA

Ana Elisa Silva de ABREU

RESUMO

A Análise Isotópica de Composto Específico (CSIA, do inglês *Compound Specific Isotope Analysis*) é uma técnica analítica para determinar razões de isótopos estáveis com ampla aplicação no campo das ciências forenses, incluindo, drogas ilícitas, explosivos, *doping* de atletas e, mais recentemente, no estudo da contaminação da água subterrânea. O presente artigo discorre sobre o emprego da referida técnica como uma importante ferramenta para diferenciar plumas distintas de contaminantes em estudos de perícia ambiental, enfatizando-se aqui compostos organoclorados. Com base em revisão bibliográfica são apresentados os princípios básicos da técnica, os processos naturais que causam o fracionamento isotópico e casos reais onde a técnica CSIA foi empregada. Tendo como base o modelo hidrogeológico/hidroquímico, a conjugação desta técnica, especialmente quando empregada com isótopos de mais de um elemento numa mesma área, aliada aos métodos tradicionais como análise físico-química e modelagem computacional, aumenta significativamente as chances de sucesso para distinção da origem dos contaminantes e imputação de responsabilidades em contendas judiciais.

Palavras-chave: DNAPL; CSIA; Organoclorados; Áreas contaminadas; Ciência forense.

ABSTRACT

APPLICATION OF COMPOUND-SPECIFIC ISOTOPE ANALYSIS (CSIA) IN ENVIRONMENTAL SURVEYS TO DISTINGUISH DIFFERENT SOURCES OF CONTAMINATION. Compound-Specific Isotope Analysis (CSIA) is an analytical method that measures the ratios of stable isotopes and has been widely applied as an environmental forensic tool including, but not limited to, illicit drugs, explosives, drug control, and more recently contaminated groundwater studies. The current paper provides a brief description of how useful this technique can be as a powerful tool to distinguish different groundwater plumes (mainly chlorinated hydrocarbons) in an environmental forensic study. Based on a literature review, the basic principles of the technique, the isotope fractionation for chlorinated hydrocarbons in the environment, the equipment and real applications of the technique are all shown here. The combination of this technique with traditional methods, especially when isotopes of more than one element are analyzed, significantly increases the success of determining the origin of contaminants and identifying responsible parties in judicial disputes.

Keywords: DNAPL; CSIA; Chlorinated hydrocarbons; Contaminated sites; Environmental forensics.

1 INTRODUÇÃO

Solventes orgânicos clorados (ou simplesmente organoclorados) são contaminantes do tipo DNAPL (*dense non-aqueous phase liquid*), comumente encontrados na água subterrânea

(PANKOW & CHERRY 1996). A abundância e a persistência destes compostos no meio ambiente atraiu a atenção de autoridades científicas e jurídicas, pois estes compostos podem representar risco considerável à saúde humana. Além do risco à saúde, eles persistem no meio ambiente por longo

tempo (PETRISOR & WELLS 2008) e dão origem a plumas dissolvidas de tamanho considerável (PANKOW & CHERRY 1993, HUNKELER *et al.* 2004). Avaliar e remediar áreas afetadas por estes compostos não é uma tarefa simples e a complexidade pode aumentar quando mais de uma fonte estiver envolvida ou quando houver associação de organoclorados com outros hidrocarbonetos menos densos que a água (PETRISOR & WELLS 2008).

Determinar a origem das fontes da contaminação e buscar a separação das plumas é de grande interesse em litígios ambientais para que a culpa pelo lançamento do contaminante no meio ambiente possa ser devidamente imputada ao poluidor (ou poluidores).

Porém, até o início deste século esta era uma tarefa árdua diante do conhecimento acumulado e da tecnologia empregada, que consistia basicamente de análises físicas e químicas de compostos de interesse, determinação de parâmetros geoquímicos e, eventualmente, geração de modelos computacionais de fluxo de transporte.

Avanços tecnológicos ocorridos no final da década de 1990 permitiram a evolução de técnicas analíticas mais refinadas para uso comercial, cujos resultados passaram a apresentar precisão suficiente para distinguir pequenas variações nas razões isotópicas de determinados elementos em diferentes compostos. Todos estes avanços culminaram com o desenvolvimento da técnica analítica denominada CSIA – Compound Specific Isotope Analysis (Análise Isotópica de Composto Específico). Esta técnica tem revolucionado os estudos ambientais sobre contaminação, em especial no monitoramento da degradação natural de contaminantes, na diferenciação de plumas e na identificação da origem das fontes (HUNKELER *et al.* 2008), incluindo aquelas ligadas a contendas judiciais (SLATER 2003).

O emprego da técnica CSIA foi testado e comprovado em diferentes situações de laboratório e de campo na década passada. Atualmente, pode-se afirmar que a técnica está amplamente difundida nos países mais avançados do Hemisfério Norte, sendo correntemente aceita como instrumento jurídico para a solução de litígios ambientais (BENSON *et al.* 2006, HUNKELER *et al.* 2008, ECCARIUS *et al.* 2012).

Entretanto, embora a técnica CSIA tenha se mostrado uma poderosa ferramenta na investigação e avaliação de aquíferos contaminados, ela está longe de ser a solução para todas as questões.

Diversos são os documentos técnicos, artigos científicos e relatos em congressos sobre as vantagens e as limitações da técnica, mas raros são os casos documentados, pois muitas vezes o sigilo processual impede a divulgação dos dados. Dentre estas experiências, aquelas que foram apresentadas em meios de divulgação de domínio público foram analisadas e estão reunidas no presente artigo, com o intuito de se apresentar as tendências recentes na aplicação desta técnica em assuntos forenses.

2 ISÓTOPOS ESTÁVEIS DE INTERESSE E RELAÇÕES ISOTÓPICAS

Isótopos são definidos como átomos de um mesmo elemento que possuem diferentes quantidades de nêutrons no núcleo e, portanto, diferem entre si no número de massa. Estimativas indicam a existência de 339 isótopos de ocorrência natural, sendo que 269 deles são estáveis (DALRYMPLE 1991), ou seja, não apresentam desintegração nuclear (decaimento) em escala de tempo geológico. No estudo de contaminações de águas subterrâneas causadas por organoclorados é corrente o emprego de um pequeno grupo de elementos químicos que apresenta isótopos estáveis de interesse, a saber: o hidrogênio, o carbono, o nitrogênio, o oxigênio e o cloro. Neste grupo de cinco elementos todos os isótopos mais leves predominam na natureza por larga diferença, como apresentado na tabela 1.

A análise de isótopos estáveis envolve a determinação da razão de dois isótopos presentes num mesmo composto. Razões isotópicas são geralmente expressas pelo símbolo (R), considerando-se a abundância relativa do isótopo pesado em relação ao isótopo leve.

Variações de isótopos estáveis em relação à abundância de um meio considerado como padrão natural são expressas pela notação delta (δ) e o número é expresso em partes por mil (‰). Valores de δ podem ser calculados pela seguinte fórmula:

$$\delta (\text{‰}) = [(R_{\text{amostra}} - R_{\text{padrão}}) / R_{\text{padrão}}] \times 1000$$

Sendo R_{amostra} a razão entre o isótopo pesado e o isótopo leve da amostra e $R_{\text{padrão}}$ a razão equivalente para o padrão internacionalmente aceito do elemento em análise. Por se tratar de um número muito pequeno o valor é multiplicado por mil (1000).

Convenções internacionais definiram diferentes padrões para diferentes elementos para que resultados de amostras realizadas em diferentes laboratórios espalhados pelo mundo pudessem

TABELA 1 – Principais isótopos estáveis empregados em estudos ambientais e suas características.

<i>Elemento</i>	<i>Isótopo</i>	<i>Abundância relativa (%)</i>	<i>Padrão Internacional</i>	<i>Razão isotópica do material de referência</i>
Hidrogênio (H)	¹ H	99,984	VSMOW	² H/ ¹ H = 0,00015576
	² H	0,0156		
Carbono (C)	¹² C	98,892 1,108	VPDB	¹³ C/ ¹² C = 0,0112372
	¹³ C			
Nitrogênio (N)	¹⁴ N	99,635 0,365	AIR	¹⁵ N/ ¹⁴ N = 0,0036765
	¹⁵ N			
Oxigênio (O)	¹⁶ O	99,759	VPDB ou	¹⁸ O/ ¹⁶ O = 0,0020671
	¹⁸ O	0,0204	VSMOW	¹⁸ O/ ¹⁶ O = 0,0020052
Cloro (Cl)	³⁵ Cl	75,76	SMOC	³⁷ Cl/ ³⁵ Cl = 0,324
	³⁷ Cl	24,24		

*VSMOW (Vienna Standard Mean Ocean Water), VPDB (Vienna Pee Dee Belemnite), AIR (Atmospheric Nitrogen), SMOC (Standard Mean Ocean Chloride). Modificado de BENSON *et al.* (2006).

ser comparados. Duas instituições internacionais produzem estes padrões que são distribuídos para os principais centros de pesquisa em isótopos e laboratórios comerciais: a Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA, na sigla em inglês) e o National Bureau of Standards (estado de Maryland, EUA). Os mesmos são apresentados na tabela 1, juntamente com suas razões isotópicas. Alguns elementos, como o caso do oxigênio, possuem mais de um padrão. Os valores de δ não são valores absolutos, mas sim diferenças entre o valor da amostra e do padrão que, por definição, é igual a 0‰ (AELION *et al.* 2010). Valores positivos para δ indicam que a razão isotópica de uma determinada amostra é maior (mais enriquecida) que o padrão e no caso de valores negativos a razão isotópica é menor (mais empobrecida) que o padrão. É comum o uso do símbolo positivo (+) para amostras com valor de δ acima do padrão (exemplo, $\delta = +21,1\text{‰}$) e negativo no caso contrário (AELION *et al.* 2010).

3 EQUIPAMENTO E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

Até o início da década de 1980 eram rotineiramente empregadas para análises de isótopos estáveis, em especial para isótopos de carbono, tanto a técnica de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas no modo de monitoramento seletivo de íons (*Gas Chromatography/Mass Spectrometry/Selected Ion Monitoring – GC/MS/SIM*), como a técnica por espectrometria de massas para razões isotópicas com dupla admissão (de um lado são admitidas as amostras e no ou-

tro o gás padrão) (*Dual Inlet Isotope Ratio Mass Spectrometers – DI-IRMS*).

A vantagem da primeira (GC/MS/SIM) estava na utilização de quantidades pequenas de amostras, mas a precisão das medidas não era satisfatória. Por outro lado a técnica DI-IRMS fornecia valores bastante precisos para diferentes aplicações, mas necessitava de grandes quantidades de amostras que tinham que ser convertidas em gás simples (comumente feita “*off line*”) antes da análise (BARRIE *et al.* 1984). Também demandavam tempo considerável no preparo das amostras e existia um risco considerável de contaminação destas em cada uma das etapas de preparação (BENSON *et al.* 2006).

BARRIE *et al.* (1984) introduziram entre o cromatógrafo de gás e o DI-IRMS uma interface de combustão. Essa interface, um forno de alta temperatura, convertia a amostra num gás simples. No caso dos isótopos de carbono o gás é o CO₂. Desta maneira o espectrômetro de massas podia ser calibrado para a leitura de apenas algumas moléculas de interesse (AELION *et al.* 2010). A água gerada no processo é eliminada, pois a formação de HCO²⁺ pode interferir nas análises de ¹³CO₂ (MEIER-AUGENSTEIN 1999). O gás simples gerado (isotopicamente representativo da amostra original) era então introduzido na fonte de íons do IRMS. Em função dessa modificação a técnica passou a ser conhecida como GC-C-IRMS (*Gas Chromatography – Combustion Interfaced – Isotope Ratio Mass Spectrometers*), acrônimo empregado até os dias atuais. Na figura 1 é apresentado o arranjo geral esquemático do equipamento GC-C-IRMS.

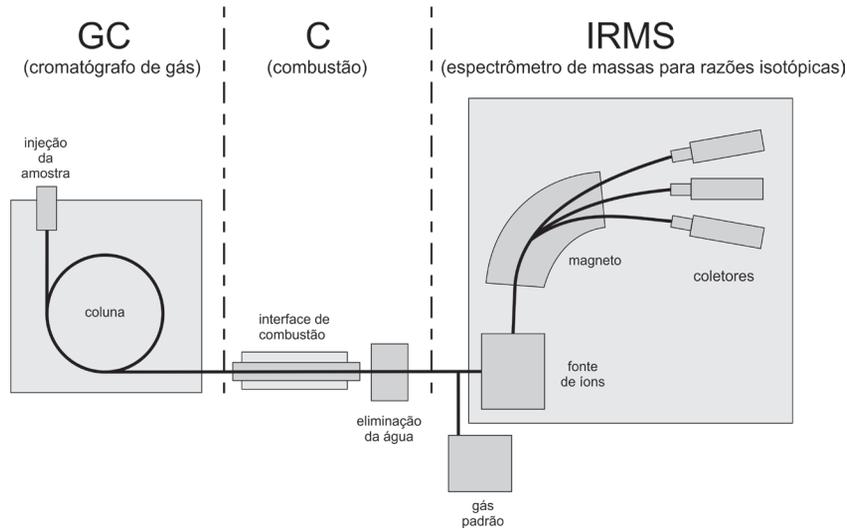


FIGURA 1 – Arranjo geral esquemático do equipamento GC-C-IRMS.

Como o GC-C-IRMS é um processo automatizado e linear ele também é conhecido como *Continuous Flow IRMS* (CF-IRMS). Em função das vantagens apresentadas a técnica CF-IRMS tem sido a mais empregada para análise de razões de isótopos em estudos de perícias ambientais (BENSON *et al.* 2006).

A técnica de introdução de amostra CF-IRMS ainda pode ser subdividida em função das técnicas de preparação de amostras, dentre as quais duas se destacam: *Bulk Stable Isotopic Analysis* (BSIA) e *Compound Specific Isotope Analysis* (CSIA). Na primeira os valores isotópicos obtidos são resultados da soma de todos os componentes presentes na amostra. Já na CSIA as composições isotópicas são avaliadas individualmente para cada composto e por este motivo tem sido empregada em avaliações ambientais.

Além do carbono, outros elementos comumente analisados pela técnica CSIA são: nitrogênio, oxigênio, hidrogênio e cloro. De modo geral, o processo segue os passos descritos acima para o carbono, mas com pequenas variações nos procedimentos em função de peculiaridades intrínsecas de cada um desses elementos.

No entanto, é importante destacar que razões isotópicas de carbono e nitrogênio não podem ser obtidas a partir da mesma amostra. Quando as razões isotópicas de nitrogênio são analisadas, o CO₂ deve ser removido da fonte uma vez que os íons formados a partir do CO₂ interferem na leitura das razões isotópicas do nitrogênio (BENSON *et al.* 2006).

Para a análise de isótopos de cloro, emprega-se comumente o cloreto de metila (também conhe-

cido como clorometano) como o gás simples a ser analisado pelo IRMS. Neste caso não há necessidade da interface de combustão (AELION *et al.* 2010).

4 MECANISMOS DE FRACIONAMENTO ISOTÓPICO EM COMPOSTOS ORGANOCLORADOS

Qualquer processo que altera a abundância relativa de isótopos estáveis de uma determinada molécula é chamado de fracionamento isotópico (BENSON *et al.* 2006). Estritamente falando, o fracionamento isotópico não ocorre entre diferentes isótopos, mas sim entre moléculas com composições isotópicas distintas denominadas isotopólogos. A figura 2 apresenta um exemplo do conjunto de isotopólogos para o composto tricloroetileno (TCE). Uma vez que a composição química é a

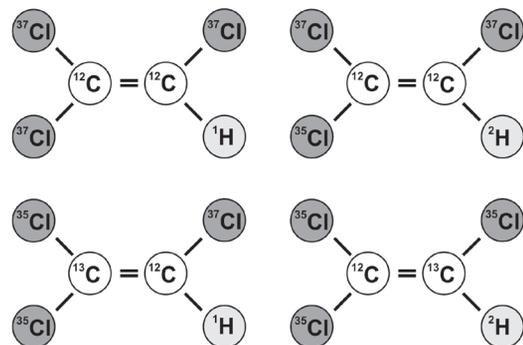


FIGURA 2 – Exemplo de conjunto de isotopólogos para o composto tricloroetileno (TCE).

mesma (C_2HCl_3), a variação se dá na composição isotópica.

Porém, como se mede a composição média da molécula e não a abundância dos diferentes isotópicos é comum referir-se ao fracionamento apenas em termos de isótopos (AELION *et al.* 2010). As moléculas que contêm isótopos pesados são mais estáveis (isto é, têm uma maior energia de dissociação) do que as moléculas que contêm isótopos mais leves. Assim, o fracionamento isotópico pode ser explicado pelas diferenças em suas ZPE (*Zero Point Energy*) ou energias de ponto zero (KENDALL & MCDONNELL 1998 *apud* AELION *et al.* 2010). A ZPE é definida como o mais baixo nível de energia de vibração e pode ser explicado pelo princípio da mecânica quântica conhecido como princípio da incerteza de Heisenberg (AELION *et al.* 2010). Durante o processo de fracionamento isotópico os isótopos mais leves de uma molécula reagem relativamente mais rápido do que os isótopos mais pesados. Isto ocorre, pois há uma diferença de energia necessária para romper as ligações (ΔZPE), sendo que nos isótopos mais pesados a energia necessária é maior. Como resultado, há um enriquecimento de isótopos mais pesados no reagente e o produto torna-se relativamente mais pobre.

O fracionamento isotópico pode ocorrer sob duas formas: em condições de equilíbrio (reações reversíveis) ou como resultado de reações cinéticas (reações irreversíveis). Em ambos os casos a ZPE dos isótopos atua de forma decisiva nos processos de fracionamento.

A chave para o correto entendimento da aplicabilidade das análises de isótopos, neste caso com ênfase nas análises isotópicas de compostos organoclorados, requer o conhecimento dos processos ambientais que influenciam o fracionamento isotópico. SLATER (2003) cita, por exemplo, os trabalhos de VAN WARMERDAM *et al.* (1995), SHERWOOD LOLLAR *et al.* (1999) *apud* SLATER (2003) e BLOOM *et al.* (2000) *apud* SLATER (2003) como estudos pioneiros na caracterização dos processos ambientais e seus efeitos isotópicos em diferentes compostos.

Os conhecimentos atuais permitem afirmar que os processos que controlam o transporte de compostos como advecção, dispersão e difusão possuem pouca ou nenhuma influência no fracionamento isotópico. Não se espera que a advecção conduza ao fracionamento isotópico uma vez que as moléculas são simplesmente transportadas juntamente com a fase aquosa em movimento (AELION

et al. 2010). De forma análoga, esse raciocínio é válido para o processo de dispersão.

Quanto à difusão, os estudos demonstram que as condições hidrogeológicas do meio exercem um papel primordial no processo de fracionamento isotópico. Para AELION *et al.* (2010) a atuação da difusão no fracionamento isotópico na zona vadosa é superestimada. BOUCHARD *et al.* (2008) afirmam que na zona vadosa o fracionamento isotópico por difusão da fase gasosa pode ocorrer em pequena escala (na casa do milhar após a vírgula) e só deve ser considerado se este processo tiver importância para o transporte de contaminantes em análise. HUNKELER *et al.* (2011) confirmaram estas conclusões a partir de estudos de campo. No entanto, estudos recentes apontam para uma influência considerável da difusão no fracionamento isotópico em aquíferos e ambientes de baixa permeabilidade. WANNER & HUNKELER (2015) e WANNER *et al.* (2016) demonstraram através de simulações e dados de campo esta possibilidade.

Nos mecanismos de transferência de fase o fracionamento de isótopos em compostos organoclorados é geralmente pequeno (AELION *et al.* 2010). Estudos desenvolvidos por HARRINGTON *et al.* (1999) demonstraram que o fracionamento de isótopos de carbono associados à volatilização de hidrocarbonetos voláteis é positivo e da ordem de 0,2‰ para temperaturas entre 5 e 70 °C. No entanto, para SLATER (2003) seria necessária uma volatilização superior a 90% de determinado composto volátil (utilizando tricloroetileno como exemplo) para que as razões isotópicas do carbono superassem 1,0‰. Embora possível, esta é uma situação muito remota para a maioria das situações de campo.

HARRINGTON *et al.* (1999) também sugerem que o efeito de processos de adsorção no solo deva ser pequeno. No entanto, considerações teóricas apontam no sentido de que este mecanismo de transferência de fase possa influir nas razões isotópicas na porção frontal de plumas de contaminação em movimento, mas a relevância desse processo ainda não foi demonstrada em campo (AELION *et al.* 2010).

Tratando-se dos processos de transformação, sejam eles de caráter biótico ou abiótico, a presença de isótopos pesados em relação aos seus pares mais leves numa determinada molécula possui efeito significativo. A degradação química abiótica envolve a transformação química espontânea de um contaminante, sendo que ela não é influenciada por muitas das condições geoquímicas ambientais

(como presença ou ausência de oxigênio), mas pode ser influenciada por fatores como temperatura (KUDER *et al.* 2014) e outros. Já a biodegradação ocorre de diferentes maneiras em diferentes ambientes. Ambos os processos frequentemente se distinguem pelo efeito isotópico cinético (*Kinetic Isotope Effect – KIE*). A magnitude do KIE pode ser quantificada pela comparação das constantes de velocidade (constantes cinéticas) para moléculas com e sem isótopos pesados (AELION *et al.* 2010). LIANG *et al.* (2007) demonstraram que o padrão de fracionamento isotópico é distinto em processos bióticos e abióticos de degradação, sendo que a técnica CSIA é uma ferramenta importante para distingui-los. A técnica CSIA também foi empregada na distinção de processos bióticos e abióticos por LOJKASEK-LIMA *et al.* (2012a).

A partir de análises de isótopos é possível também distinguir entre diferentes processos de biodegradação. ABE *et al.* (2009) demonstraram com sucesso a possibilidade de distinguir a degradação biótica em condições aeróbicas de oxidação e em condições redutoras, empregando isótopos de dois elementos distintos (no caso, carbono e cloro).

Em resumo, os efeitos dos processos ambientais tais como volatilização, dissolução, difusão e sorção no fracionamento isotópico em compostos orgânicos voláteis são pequenos ou desprezíveis (HUNKELER *et al.* 2008). No entanto, estudos realizados por HUNKELER *et al.* (2011) sugerem que o empobrecimento das razões isotópicas na zona saturada possa estar associado a processos de difusão. Por outro lado, processos de transformação (abióticos ou bióticos) são os principais responsáveis pelo fracionamento isotópico.

Para ilustrar de forma simplificada um processo de fracionamento isotópico, é apresentada uma situação fictícia (Figura 3) onde a fonte de contaminação é representada pelo composto percloroetileno (PCE). Este composto originou uma pluma de contaminação que, com o passar do tempo, migrou para jusante e sofreu um processo de degradação. Durante o processo o composto sofreu fracionamento isotópico, dando origem a produtos filho e se enriquecendo no isótopo mais pesado.

5 CSIA COMO FERRAMENTA PARA DISTINGUIR DIFERENTES FONTES DE CONTAMINAÇÃO

Embora a literatura científica sobre razões isotópicas e sobre a técnica CSIA seja vasta, a divulgação

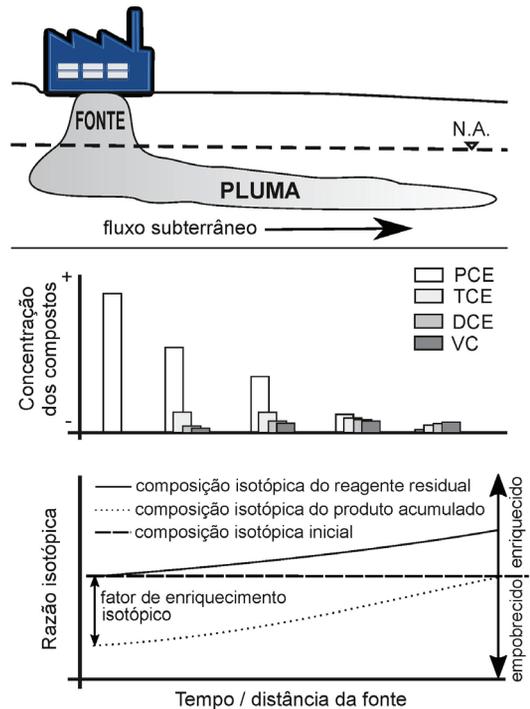


FIGURA 3 – Esquema da variação da razão isotópica ao longo da evolução da pluma de contaminação do composto percloroetileno (PCE).

pública de casos reais onde a mesma foi empregada para distinguir diferentes fontes de contaminação por compostos organoclorados é relativamente restrita e isso se deve, em parte, ao sigilo ao qual os casos estão submetidos.

O trabalho de VAN WARMERDAM *et al.* (1995) pode ser considerado como um dos pioneiros na proposição do emprego de razões isotópicas como método para distinguir diferentes fontes de contaminação de plumas de compostos organoclorados.

Posteriormente, HUNKELER *et al.* (1999) sugeriram que as razões isotópicas de contaminantes organoclorados próximas das fontes tendiam a preservar a mesma composição dos valores iniciais da fonte. Estes estudos associaram trabalhos de campo e de laboratório, tendo como objetivo avaliar o comportamento da razão isotópica de ^{13}C proveniente de amostras de PCE presentes na água subterrânea. Em trabalho posterior, HUNKELER *et al.* (2002) demonstraram a potencialidade da técnica CSIA na avaliação da origem e do destino do cloreto de vinila em áreas com combinações complexas de contaminantes.

HUNKELER *et al.* (2004) estudaram duas diferentes áreas no Canadá que apresentavam contaminação por TCE e PCE. O objetivo foi determi-

nar, por meio da técnica CSIA, se as razões de isótopos de carbono destes compostos permaneciam constantes durante a migração dos contaminantes e procurar estabelecer um vínculo com as fontes de contaminação. Também foram realizados estudos laboratoriais a partir de amostras coletadas em campo para avaliar o fracionamento isotópico durante a dissolução. Esses autores concluíram que as razões isotópicas para ^{13}C se mantêm constantes no núcleo da pluma mesmo em distâncias que superam duas centenas de metros. No entanto, variações dessas razões foram encontradas nas zonas onde as condições ambientais favoreciam os processos de biodegradação.

BLESSING *et al.* (2009) estão entre os pioneiros no emprego da técnica CSIA em aquíferos fraturados para identificação e separação de diferentes fontes de contaminantes organoclorados em litígios ambientais. A região avaliada neste estudo estava situada em uma zona industrial na Alemanha com um longo histórico de contaminação de solo e água subterrânea. Pelo menos cinco diferentes poluidores potenciais foram identificados segundo a documentação histórica analisada. Através da associação de dados hidrogeológicos, geoquímicos, análises de concentrações, histórico da área e razões isotópicas pela técnica CSIA foi possível determinar as fontes dos contaminantes e os caminhos de migração dos mesmos.

Estes autores também chamaram a atenção para a ocorrência de pequenas diferenças (em grande parte causada por processos de biodegradação) nas assinaturas isotópicas, sugerindo o emprego de razões isotópicas de mais de um elemento (além de $\delta^{13}\text{C}$, a utilização $\delta^{37}\text{Cl}$ ou mesmo $\delta^2\text{H}$) a fim de evitar questionamentos quanto à real caracterização de diferentes fontes. Segundo AELION *et al.* (2010), o emprego de razões isotópicas de mais de um elemento também auxilia na separação das variações das razões isotópicas causadas pela biodegradação das variações oriundas de fontes diferentes.

Um dos primeiros trabalhos empregando razões isotópicas de mais de um elemento para identificar a origem e o destino de compostos organoclorados foi publicado por LOJKASEK-LIMA *et al.* (2012b). Foram utilizados valores de $\delta^{13}\text{C}$ e de $\delta^{37}\text{Cl}$ para avaliar a contaminação em um poço de abastecimento público no Canadá. A análise separada dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e de $\delta^{37}\text{Cl}$ não permitiu uma boa distinção entre as fontes, uma vez que o efeito da biodegradação gerava faixas amplas de razão isotópica que se superpunham. Porém, quan-

do confrontados num mesmo gráfico os valores de $\delta^{13}\text{C}$ versus os valores de $\delta^{37}\text{Cl}$ e valores de $\delta^{37}\text{C}$ versus a proporção molar do composto alvo permitiram a separação desses isótopos em domínios principais e a exclusão de uma das fontes como possível responsável pela contaminação.

Abordagem semelhante à empregada por LOJKASEK-LIMA *et al.* (2012b) foi empregada por ECCARIUS *et al.* (2012) para identificar cinco fontes distintas de PCE numa área industrial na Alemanha. Além disso, foi possível determinar que uma das plumas era originária de uma outra área, do qual não se suspeitava originalmente. Estes autores também associaram os dados de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{37}\text{Cl}$ com a razão isotópica cumulativa (multiplicação da concentração molar de cada eteno clorado pela sua respectiva assinatura isotópica) para determinar a origem das fontes.

A técnica CSIA tem provado o seu valor em estudos ambientais não apenas na Europa Ocidental e na América do Norte. Em trabalho recente, KAOWN *et al.* (2016) demonstraram a aplicabilidade da técnica em áreas contaminadas por organoclorados no distrito industrial de Asan, na República da Coreia (Coreia do Sul).

No Brasil o uso da técnica CSIA ainda é restrito por diversos fatores, incluindo o desconhecimento das suas potencialidades e a ausência de laboratórios certificados para realização das análises e preparações de amostras. JACOBS *et al.* (2012) empregaram com sucesso esta técnica em uma área na cidade de São Paulo. No referido caso as ferramentas tradicionais como resultados analíticos e modelagem computacional não foram conclusivas. Porém, os resultados obtidos com a técnica CSIA permitiram, em conjunto com outros dados, definir a existência de duas fontes distintas. Este pode ser considerado o primeiro caso com divulgação de domínio público do emprego da técnica no Brasil para dirimir litígios ambientais.

A tabela 2 resume as principais características de trabalhos onde a distinção de diferentes plumas de contaminação foi importante para a elucidação dos casos. Observa-se que nos trabalhos mais recentes foram empregadas razões isotópicas de mais de um elemento. Diante das vantagens expostas, a técnica ainda poderia ser aplicada em inúmeros outros casos no Brasil para auxiliar na identificação e na separação de diferentes fontes de contaminantes organoclorados. Apenas como exemplo, uma dessas áreas poderia ser a região do entorno do Canal do Jurubatuba, na zona sul do município de São Paulo. Esta é uma das seis áreas críticas do estado de São

TABELA 2 – Principais características de trabalhos empregando a técnica CSIA para diferenciar plumas de contaminação.

REFERÊNCIA	LOCAL DA ÁREA INVESTIGADA	CARACTERÍSTICAS DA(S) ÁREA(S)	ORGANOCLORADOS ANALISADOS	ISÓTOPOS ANALISADOS	OUTROS MÉTODOS EMPREGADOS	AValiação / RESULTADO
Hunkeler <i>et al.</i> (2004)	Ontario, Canadá	Zona Industrial / Zona mista	PCE; TCE	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	análise química e parâmetros geoquímicos	Divisão da pluma de contaminação em diferentes domínios, onde cada um representa um possível episódio de lançamento do contaminante no meio ambiente.
Blessing <i>et al.</i> (2009)	Stuttgart, Alemanha	Zona Industrial	PCE; TCE; cDCE; VC	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	análise química e parâmetros geoquímicos	Separação de múltiplas fontes em aquíferos livre e fraturado.
Eccarius <i>et al.</i> (2012)	Alemanha	Zona Mista (Industrial e residencial)	PCE; TCE; cDCE; VC; TCA	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	análise química, parâmetros geoquímicos e razão isotópica cumulativa	Identificação de cinco diferentes fontes, sendo que uma delas foi caracterizada como oriunda de uma área adjacente.
Lojkasek-Lima <i>et al.</i> (2012b)	Ontario, Canadá	Zona Industrial / Zona mista	TCE; cDCE	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ $^{37}\text{Cl}/^{35}\text{Cl}$	análise química, parâmetros geoquímicos	Comparativo das razões isotópicas entre uma fonte de contaminação e um poço de abastecimento em um aquífero fraturado.
Jacobs <i>et al.</i> (2012)	Brasil	não informado	PCE; TCE; cDCE; tDCE; VC	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ $^{37}\text{Cl}/^{35}\text{Cl}$	análise química, parâmetros geoquímicos e modelagem computacional	Caracterização de duas fontes distintas e comparação dos resultados com os valores encontrados em poço profundo.
Kaown <i>et al.</i> (2016)	Asan, Coreia do Sul	Zona Industrial	PCE; TCE; DCE; cDCE; tDCE; VC; TCA; DCA	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ $^{37}\text{Cl}/^{35}\text{Cl}$	análise química e parâmetros geoquímicos	Identificação das fontes de contaminação em aquíferos livre e fraturado.

Paulo (SMA/SSE 2009) no que diz respeito à contaminação por organoclorados com contribuição de diferentes poluidores.

6 CONCLUSÕES

Nos últimos 20 anos a técnica CSIA tornou-se uma importante ferramenta em diversos campos da ciência. A técnica tem se mostrado viável para a distinção de um grande número de contaminantes, enfatizando-se aqui os compostos organoclorados. Uma área onde a análise isotópica de composto específico tem sido usada é na identificação e na separação de diferentes fontes de contaminação que envolvam plumas de organoclorados em contendas judiciais.

A correta compreensão dos resultados da técnica CSIA é altamente dependente do estabelecimento de modelos conceituais hidrogeológicos/hidroquímicos e modelos conceituais de transporte que realmente traduzam as condições do meio. Ou seja, os resultados gerados através da técnica CSIA funcionam como uma importante ferramenta auxiliar nas tomadas de decisão e no entendimento do contexto ambiental.

A interpretação dos dados gerados pela técnica CSIA depende, dentre outros fatores, da avaliação dos processos que influenciam o fracionamento isotópico. Processos naturais de degradação biótica e abiótica podem causar mudanças nas razões isotópicas, sendo que aqueles que mais influenciam o fracionamento isotópico (em especial de organoclorados) são os de transformação, destacando-se a biodegradação. Processos de transporte tais como advecção, dispersão e difusão, em geral, pouco influem no fracionamento isotópico de compostos organoclorados e a influência deles deve ser avaliada caso a caso.

Há ainda um reduzido número de relatos na literatura internacional sobre o emprego da técnica CSIA na diferenciação de fontes de contaminação em casos de litígios judiciais. Entretanto, estes relatos têm demonstrado como a técnica CSIA tem auxiliado na elucidação de casos e como as autoridades estão aceitando estes resultados. A questão do sigilo judicial e dos interesses econômicos eventualmente acaba impedindo a divulgação destes resultados de forma mais ampla, entretanto está claro que o emprego da técnica CSIA no Brasil é viável e parece ter um caminho promissor para casos de ciência forense.

7 AGRADECIMENTOS

Aos revisores da Revista do Instituto Geológico pelas sugestões apresentadas.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE, Y.; ARAVENA, R.; ZOPFI, J.; SHOUAKAR-STASH, O.; COX, E.; ROBERTS, J.D.; HUNKELER, D. 2009. Carbon and Chlorine Isotope Fractionation during Aerobic Oxidation and Reductive Dechlorination of Vinyl Chloride and cis-1,2-Dichloroethene. *Environmental Science Technology*, 43: 101-107.
- AELION, C.M.; HOHENER, P.; HUNKELER, D.; ARAVENA, R. 2010. Environmental Isotopes in Biodegradation and Bioremediation. CRC Press, Boca Raton, 451 p.
- BARRIE, A.; BRICOUT, J.; KOZIET, J. 1984. Gas Chromatography - Stable Isotope Ratio Analysis at Natural Abundance Levels. *Biological Mass Spectrometry*, 11: 583-588.
- BENSON, S.; LENNARD, C.; MAYNARD, P.; ROUX, C. 2006. Forensic applications of isotope ratio mass spectrometry - A review. *Forensic Science International*, 157: 1-22
- BLESSING, M.; SCHIMIDT, T.C.; DINKEL, R.; HADERLEIN, S.B. 2009. Delineation of Multiple Chlorinated Ethene Sources in an Industrialized Area – A Forensic Field Study Using Compound-Specific Isotope Analysis. *Environmental Science Technology*, 43: 2701-2707.
- BOUCHARD, D.; HUNKELER, D.; GAGANIS, P.; ARAVENA, R.; HOHENER, P.; BROHOLM, M.M.; KJELDSSEN, P. 2008. Carbon Isotope Fractionation during Diffusion and Biodegradation of Petroleum Hydrocarbons in the Unsaturated Zone: Field Experiment at Værlose Airbase, Denmark, and Modeling. *Environmental Science Technology*, 42: 596-601.
- DALRYMPLE, G.B. 1991. The Age of Earth. Stanford University Press, Stanford, 478 p.
- ECCARIUS, B.; DESERY, U.; WANTY, D.; SACCO, S. 2012. Differentiation of Several PCE Plumes in Groundwater by CSIA. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON REMEDIATION OF CHLORINATED AND RECALCITRANT COMPOUNDS, 8, Monterey. Disponível em <http://www.battelle.org/newsroom/conferences/chlorcon/publications>.
- HARRINGTON, R.R.; POULSON, S.R.; DREVER, J.I.; COLBERG, P.J.S.; KELLY, E.F. 1999. Carbon isotope systematics of monoaromatic hydrocarbons: vaporization and adsorption experiments. *Organic Geochemistry*, 30: 765-775.
- HUNKELER, D.; ARAVENA, R.; BUTLER, B.J. 1999. Monitoring Microbial Dechlorination of Tetrachloroethene (PCE) in Groundwater Using Compound-Specific Stable Carbon Isotope Ratios: Microcosm and Field Studies. *Environmental Science Technology*, 33: 2733-2738.
- HUNKELER, D.; ARAVENA, R.; COX, E. 2002. Carbon Isotopes as a Tool To Evaluate the Origin and Fate of Vinyl Chloride: Laboratory Experiments and Modeling of Isotope Evolution. *Environmental Science Technology*, 33: 2733-2738.
- HUNKELER, D.; CHOLLET, N.; PITTET, X.; ARAVENA, R.; CHERRY, J. A.; PARKER, B. L. 2004. Effect of source variability and transport processes on carbon isotope ratios of TCE and PCE in two sandy aquifers. *Journal of Contaminant Hydrology*, 74: 265-282.
- HUNKELER, D.; MECKENSTOCK, R.; LOLLAR, B.; SCHMIDT, T.; WILSON, J. 2008. A Guide for Assessing Biodegradation and Source Identification of Organic Ground Water Contaminants using Compound Specific Isotope Analysis (CSIA). United States Environmental Protection Agency, EPA 600/R-08/148, 68 p.
- HUNKELER, D.; ARAVENA, R.; STASH, O.S.; WEISBROD, N.; NASSER, A.; NETZER, L.; RONEN, D. 2011. Carbon and Chlorine Isotope Ratios of Chlorinated Ethenes

- Migrating through a Thick Unsaturated Zone of a Sandy Aquifer. *Environmental Science Technology*, 45: 8247-8253.
- JACOBS, P.; ERTL, S.; ENGELHARDT, R.; VOLKERING, F.; ROZA, T.; RAMER, S. NAGATA, A. 2012. Compound Specific Stable Isotope Analyses (CSIA) -Identification of multiple sources of chlorinated solvents of a groundwater plume. *In: INSTITUTO EKOS BRASIL, SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE REMEDIAÇÃO E REVITALIZAÇÃO DE ÁREAS CONTAMINADAS*, 8, São Paulo. Disponível em http://seminario.ekosbrasil.org/wp-content/uploads/2016/02/Compound_Specific_Stable_Isotope.pdf. Acessado em 23 nov. 2016.
- KAOWN, D.; JUN, S.; KIM, R.; WOOSIK, S. LEE, K. 2016. Characterization of a site contaminated by chlorinated ethenes and ethanes using multi-analysis. *Environmental Earth Science*, 75: 1-13.
- KUDER, T.; PHILP, P.; VAN BRUKELLEN, B.; THOUEMENT, H.; VAMDERFORD, M.; NEWELL, C. 2014. Integrated Stable Isotope – Reactive Transport Model Approach for Assessment of Chlorinated Solvent Degradation. ESTCP Project ER-201029, Arlington, Virginia, 245 p.
- LIANG, X.; DONG, Y.; KUDER, T.; KRUMHOLZ, L.; PHILP, PAUL; BUTLER, E. 2007. Distinguishing Abiotic and Biotic Transformation of Tetrachloroethylene and Trichloroethylene by Stable Carbon Isotope Fractionation. *Environmental Science & Technology*, 41: 7094-7100.
- LOJKASEK-LIMA, P.M.; ARAVENA, R.; SHOUAKAR-STASH, O.; FRAPE, S.; MARCHESI, M.; FIORENSA S.; VOGAN, J. 2012a. Evaluating TCE Abiotic and Biotic Degradation Pathways in a Permeable Reactive Barrier Using Compound Specific Isotope Analysis. *Groundwater Monitoring & Remediation*, 32(4): 53-62.
- LOJKASEK-LIMA, P.M.; ARAVENA, R.; PARKER, B.L. CHERRY, J.A. 2012b. Fingerprinting TCE in a Bedrock Aquifer Using Compound-Specific Isotope Analysis. *Ground Water*, 50(5): 754-764.
- MEIER-AUGENSTEIN, W. 1999. Applied Gas Chromatography Coupled to Isotope Ratio Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 842(1-2): 351-371.
- PANKOW, J.F.; CHERRY, J.A. 1996. Dense Chlorinated Solvents and other DNAPLs in Groundwater: History, Behavior, and Remediation. Waterloo Press, Portland, 522 p.
- PETRISOR, I.G.; WELLS, J.T. 2008. Tracking Chlorinated solvents in the environment. *In: R.E. Hester & R.M. Harrison (eds.) Environmental Forensics*. Cambridge, RSC Publishing, p. 130-152.
- SLATER, G.F. 2003. Stable Isotope Forensics – When Isotopes Work. *Environmental Forensics*, 4: 13-23.
- SMA – SECRETARIA DE ESTADO DO MEIO AMBIENTE/ SSE – SECRETARIA DE ESTADO DE SANEAMENTO E ENERGIA. 2009. Projeto Jurubatuba: restrição e controle de uso de água subterrânea. Cadernos do Projeto Estratégico Aquíferos, nº 1, 109 p.
- VAN WARMERDAM, E.M.; FRAPE, S.K.; ARAVENA, R.; DRIMMIE, R.J.; FLATT, H.; CHERRY, J.A. 1995. Stable chlorine and carbon isotope measurements of selected chlorinated organic solvents. *Applied Geochemistry*, 10: 547-552.
- WANNER, P.; RUNKELER, D. 2015. Carbon and chlorine isotopologue fractionation of chlorinated hydrocarbons during diffusion in water and low permeability sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 157: 198-212.
- WANNER, P.; PARKER, B.; CHAPMAN, C.; ARAVENA, R.; HUNKELER, D. 2016. Quantification of Degradation of Chlorinated Hydrocarbons in Saturated Low Permeability Sediments Using Compound-Specific Isotope Analysis. *Environmental Science Technology*, 50: 5622-5630.

Endereço dos autores:

Luiz Guilherme Poggio Teixeira – Rua C, 186, Alto da Boa Vista, CEP: 13.550-000, Analândia, SP, Brasil.
E-mail: pogeologia@gmail.com

Ana Elisa Silva de Abreu – Instituto de Geociências, Universidade Estadual de Campinas, Rua Carlos Gomes, 250, Barão Geraldo, CEP: 13.083-855, Campinas, SP, Brasil. *E-mail:* anaelisa@ige.unicamp.br

Artigo submetido em 13 de dezembro de 2017, aceito em 10 de abril de 2018.