

**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE RIO GRANDE  
CURSO DE PÓS GRADUÇÃO EM OCEANOGRAFIA FÍSICA-  
QUÍMICA-GEOLÓGICA**

**AVALIAÇÃO *IN SITU* DA ESPECIAÇÃO DE METAIS TRAÇO  
NO ESTUÁRIO DA LAGOA DOS PATOS UTILIZANDO O  
SISTEMA DGT**

Carlos Francisco Ferreira de Andrade

Dissertação apresentada à comissão de Curso de Pós-Graduação em Oceanografia Física, Química e Geológica da Universidade Federal de Rio Grande, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Oceanografia Física, Química e Geológica

Orientadora: Mônica Wallner-Kersanach

Co-orientador: Luis Felipe Hax Niencheski

Rio Grande, agosto de 2005.

*Dedico este trabalho a minha esposa Claudia,  
como retribuição ao seu apoio  
nesta etapa tão importante de nossas vidas  
e as minhas filhas Juliana e Bruna..*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me dar saúde e força de vontade.

A minha orientadora, Dra. Mônica Wallner-Kersanach, pela orientação, amizade e confiança.

Ao meu Co-orientador, Dr. Felipe Hax Niencheski, que acreditou em minha pessoa e pela confiança e amizade.

A Dra Hao Zang que auxiliou em muitos aspectos a execução deste trabalho.

Ao Laboratório de Hidroquímica pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

Aos funcionários Wanderlen e Lucia por toda atenção, amizade e aprendizado.

Ao Dr. Marcio Milani e Dr. Ralf Kersanach pelas discussões e valiosas contribuições que realizaram na parte analítica.

A Idel, Junior, Grazielle e Célia pela honra de trabalharmos juntos no laboratório de metais, pela amizade e por todo auxílio prestado.

Aos amigos Bira e Simoni pelo companheirismo e por poder ter tido o privilegio de ter trabalhado junto a vocês.

Aos amigos Rogério (Bóris), Luiz, Parceria, Luciano, João Pedro, Liziara, Karina, Fabiana, Luciano, Ana Renata, Ângela, Kleber e Márcio (Juquinha) por todos os momentos aos quais estive com vocês.

Ao amigo Cleber, motorista do micro-ônibus, pelos mais de 20000 Km rodados juntos nestas idas e vindas de Pelotas a Rio Grande.

A Capitânia dos Portos e ao Museu Oceanográfico, pela hospitalidade e por nos ceder o local para o experimento e por toda ajuda prestada durante o período em que nestes locais estivemos.

A minha esposa Claudia e as minhas filhas Juliana e Bruna pelo carinho, companheirismo, amor e pela felicidade que é estar ao lado de vocês.

Aos meus familiares por todo apoio e por sempre acreditarem em mim.

A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para este trabalho.

Cada linha deste trabalho está recheada do carinho e da amizade de todos vocês. Para mim, não são só palavras, são as feições de cada rosto e os gestos de cada um de vocês que estão gravados nas palavras e frases aqui escrita. Não vejo só uma Dissertação de Mestrado de conclusão de curso, vejo além, vejo nela a imagem de todos vocês.

Muito obrigado!

## RESUMO

A cidade de Rio Grande, localizada às margens do estuário da Lagoa dos Patos, possui uma intensa atividade portuária e industrial, fatores que promoveram nas últimas décadas, alterações significativas nas paisagens e na degradação dos recursos hídricos, incluindo a contaminação por nutrientes e por metais. Por ser um estuário semi-fechado, possui uma alta taxa hidrodinâmica, condicionada principalmente pela força e direção dos ventos. Os ciclos biogeoquímicos naturais dos metais na coluna d'água, podem ser alterados devido ao lançamento de metais oriundos das atividades humanas. Alterações na fração dos metais podem ocasionar uma maior biodisponibilidade destes elementos para os organismos. A determinação das espécies de metais biodisponíveis (lábil) por técnicas instrumentais ou analíticas, possuem implicações quanto à obtenção da concentração representativa do meio, por estar sujeita a erros de amostragem e preparo das amostras. Com o desenvolvimento da técnica de gradiente difusivo de membranas (DGT), obtem-se a concentração da fração lábil *in situ* em distintos ambientes sob diversas condições de pH, temperatura e salinidade. O presente trabalho tem como objetivo avaliar e aplicar a técnica DGT, para o monitoramento e detecção da concentração de elementos traço em distintos locais da área estuarina da Lagoa dos Patos. Para avaliar a aplicabilidade da técnica para o estuário, foram considerados dois períodos de exposição do sistema DGT em três locais: um com pouca influência (Ilha dos Marinheiros - IM) e dois com maior influência dos despejos industriais e urbanos (Capitania dos Portos - CP e Museu Oceanográfico - MO). Para o primeiro período de exposição (2, 6 e 10 dias) das unidades de DGT foram analisados Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn em DGT e água nos locais IM e CP. Para o segundo período de exposição (2, 4, 6 e 8 horas) DGT e água foram analisados para Cd, Cu, Pb e Zn no local MO em duas amostragens, uma com salinidade intermediária (MO1) e a outra com salinidade alta (MO2). Para ambos períodos de exposições, amostras de água analisadas para a fração lábil de metais com resina Chelex 100, demonstraram concentrações distintas em comparação ao DGT, evidenciando a diferença entre os dois métodos. Os resultados no DGT para o primeiro período de exposição (IM e CP) mostraram um decréscimo nas concentrações de todos os elementos, com o aumento do tempo de exposição. Isto provavelmente tenha ocorrido devido à baixa concentração de metais lábeis na água e/ou possível presença de *biofilm* nas unidades de DGT. Não foram reveladas concentrações significativas de Cu, Pb, Ni e Zn nos locais IM e CP. Para o segundo período de exposição, as concentrações de metais foram mais elevadas para Cd, Cu e Pb em alta salinidade (MO2), além de ter indicado aporte para este elementos no meio, quando comparado com outros estuários. Em consequência das variabilidades do estuário, conclui-se que uma resposta mais representativa para o sistema DGT, seria mantê-lo num período fixo de 8 a 48 horas em exposição no ambiente.

Palavras chaves: gradiente difusivo de membranas (DGT), metais traço e estuário.

## ABSTRACT

Rio Grande is a city located in the margin of the Patos Lagoon estuary and its maritime harbour and industries are very developed. During the last decades, these activities were responsible for many changes of the landscape and degradation of water resources, including contamination by nutrients and metals. This semi-closed estuary has a high hydrodynamic rate, which is determined mainly by the wind direction and strength. The natural biochemical cycles of metals can be modified by discharge of metals originated by human activities. Changes in the metal fractions can lead to a higher bioavailability of these elements to the organisms. The determination of bioavailable (labile) metals by instrumental or analytical techniques can have implications on the representative environmental concentration, since errors during sample collection and preparation can occur. The development of the diffusive gradient thin-films (DGT) technique made possible the determination of labile metals *in situ* in distinct environments with different conditions of pH, temperature and salinity. The main objective of the present study is to apply and to evaluate the DGT technique, for the monitoring and detection of trace elements concentrations in different areas of the Patos Lagoon estuary. To evaluate the applicability of this technique to the estuary, two deployment periods of the DGT units were considered in three areas: one with low antropogenic influence (Ilha dos Marinheiros – IM) and two in high urban and industrial discharge areas (Capitania dos Portos – CP – and Museu Oceanográfico – MO). For the first period of the DGT deployment (2, 6 and 10 days) DGT and water samples were analyzed for Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb and Zn at the IM and CP sites. For the second deployment period (2, 4, 6 and 8 hours), Cd, Cu, Pb e Zn were analyzed for DGT and water samples were collected at the MO point, during two different conditions of salinity, one with intermediate values (MO1) and the other with high salinity (MO2). For both deployment periods, water samples analyzed for labile fraction with Chelex-100 resin showed distinct concentrations, when compared with the DGT, indicating differences between the two methods. The DGT results showed for the first deployment period (IM and CP) a decrease with time in the concentration for all elements. Probably this had occurred due to variations on the labile form of the metals and/or the presence of biofilm. No significant differences were found in the concentration of Cu, Pb, Ni and Zn between IM and CP sites. For the second deployment period, trace metal concentrations showed higher values for Cd, Cu and Pb during high salinity (MO2) condition, as well as indicating input of these elements in the surroundings when compared with other estuaries. As a consequence of variability's in the estuary, it can be concluded that for a more representative result of the DGT units, these should be deployed during 8 to 48h on a fixed period in the environment.

Key words: diffusive gradients in thin-films (DGT), trace metals, estuary.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	iv
ABSTRACT .....	v
SUMÁRIO.....	vi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS .....	x
LISTA DE FIGURAS .....	xi
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Elementos traço e a sua quantificação.....	1
1.2 Sistema DGT .....	4
1.3 Caracterização dos metais .....	9
2. OBJETIVOS.....	13
2.1 Objetivo geral.....	13
2.2 Objetivos específicos.....	13
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1 Área de estudo .....	14
3.2 Procedimento em campo .....	16
3.3 Procedimento em laboratório .....	18
3.3.1 Preparação do material e das amostras.....	18
3.3.1.a Lavagem da vidraria e material de coleta.....	18
3.3.1.b Unidades de DGT .....	19
3.3.1.c Amostras de água.....	20
3.3.2 Metodologias analíticas.....	23
3.4 Análise estatística .....	27

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	28
4.1 Longo período de exposição das unidades de DGT .....	28
4.1.1 Salinidade e temperatura .....	28
4.1.2 Massa acumulada no sistema DGT .....	29
4.1.3 Concentração de metais no DGT e na água.....	31
4.1.4 Considerações sobre o longo período de exposição .....	37
4.2 Curto período de exposição das unidades de DGT .....	39
4.2.1 Salinidade, temperatura e turbidez .....	39
4.2.2 Massa acumulada no sistema DGT. ....	40
4.2.3 Concentração no DGT com curto e longo período de exposição .....	41
4.2.4 Considerações sobre os períodos de exposição .....	44
4.3 Especiação dos metais em água.....	45
5. O SISTEMA DGT E METAIS LÁBEIS NO ESTUÁRIO .....	51
6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES .....	55
5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	57
ANEXOS .....	64

## LISTA DE ABREVIATURAS

$A$  = área da janela de exposição do sistema

$C_b$  = concentração encontrada na solução

CLD = camada de limite difusivo

CP = Capitania dos Portos

$D$  = coeficiente de difusão (valor dado em tabela)

DGT = Gradiente difusivo de membrana

DMR = desvio médio relativo

EMR = erro médio relativo

$f_e$  = fator de eluição

GF-AAS = espectrometria de absorção atômica eletrotérmica, com forno de grafite

HDL = lipoproteína de alta densidade

ICP-MS = espectrometria de massa com plasma acoplado

IM = Ilha dos Marinheiros

L = ligante

$M$  = massa do metal acumulada na resina

M = metal

ML = metal complexado

MO = Museu Oceanográfico

MO1 = primeiro período de exposição no Museu oceanográfico em salinidade intermediária

MO2 = segundo período de exposição no Museu oceanográfico em salinidade alta

pH = potencial hidrogeniônico

$t$  = tempo de exposição



UV = ultra – violeta

$V_{HNO_3}$  = volume de ácido adicionado










$V_{gel}$  = volume do gel de resina

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Média das concentrações mundiais dos elementos Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn nas águas do oceano e rios e concentração média na água filtrada (filtro de 0,45 $\mu$ m) em um rio na Nova Escócia-Canadá em $\mu$ g.L <sup>-1</sup> .....	9
Tabela 2: Limite de detecção (LD) dos respectivos elementos e seu n° de leituras de brancos.....	24
Tabela 3: Valores de EMR e DMR para as leituras efetuadas, e valores médios ( $\mu$ g.L <sup>-1</sup> ) encontrados nas leituras e referendados para o padrão de água de rio SLRS-4 .....	25
Tabela 4: Percentual de recuperação na coluna Chelex 100 .....	45
Tabela 5: Concentrações obtidas ( $\mu$ g.L <sup>-1</sup> ) dos elementos Cd, Cu, Pb e Zn com aplicação e sem aplicação da radiação UV.....	47
Tabela 6: Concentrações ( $\mu$ g.L <sup>-1</sup> ) de metais para MO1 e MO2 com o sistema DGT através de 8 horas de exposição (média, n=3) e para a fração fração lábil-Chelex (mín. e máx.) e a fração total dissolvida obtida por irradiação com UV (mín. e máx.) através de amostras coletadas durante o período de exposição do sistema.....	50
Tabela 7: Comparação das concentrações médias ( $\mu$ g.L <sup>-1</sup> ) de Cd, Cu, Pb e Zn obtidas com o DGT no presente estudo com distintos ambientes e localidades e seus respectivos períodos de exposição em horas .....	51

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema dos constituintes do sistema DGT .....	5
Figura 2: Grupos ligantes da resina Chelex 100 ligados aos íons sódio.....	5
Figura 3: Representação esquemática do mecanismo de determinação de metais do sistema DGT. O íon livre de metal (M) e seus complexos (ML) com vários ligantes aqui representados ( $L_1$ , $L_2$ , $L_3$ e $L_4$ ). DGT mede espécies livres do íon metálico, M, complexos dissociáveis, $ML_1$ e $ML_2$ , modificados pela fase ligante. Complexos inertes a fase ligante, $ML_3$ , e grandes complexos, $ML_4$ , excluídos pela camada difusiva, não são mensuráveis (Li <i>et al.</i> , 2005).....	8
Figura 4: Localização geográfica dos locais de estudo na Capitania dos Portos (CP), Ilha dos Marinheiros (IM) e Museu Oceanográfico (MO) no estuário da Lagoa dos Patos .....	15
Figura 5: Representação do sistema DGT mostrando o gel da resina Chelex 100 e a eluição dos metais adsorvidos na mesma.....	20
Figura 6: Salinidade (●) e temperatura (■) na Capitania dos Portos (CP) e Ilha dos Marinheiros (IM) durante os 10 dias de exposição das unidades de DGT em julho/2003.....	28
Figura 7: Massa (ng) de metais acumulados no sistema DGT com 2, 6 e 10 dias de exposição nos locais IM (■) e CP(□). Valores médios $\pm$ desvio padrão, n=2-3.....	30
Figura 9: Concentração ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) de metais na água na fração total dissolvida (▨) (0 e 10 dias) e na fração lábil-Chelex (□) (2 e 6 dias) e no sistema DGT (■) com 2, 6 e 10 dias de exposição no local IM. Valores médios de DGT $\pm$ desvio padrão, n=2-3.....	34

Figura 10: Concentração ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) na água na fração total dissolvida  (0, 1, 9 e 10 dias) e na fração lábil-Chelex  (2 a 6 dias) e no sistema DGT  com 2,6 e 10 dias de exposição no local CP. Valores médios de DGT $\pm$ desvio padrão, n=2-3 .....	35
Figura 11: Correlação entre os elementos Co e Mn referentes a fração total dissolvida .....	36
Figura 12: Turbidez da água observada durante os períodos de exposição das unidades de DGT em salinidade intermediária (MO1) e alta (MO2).....	40
Figura 13: Massa acumulada (ng) no sistema DGT em salinidade intermediária (MO1  ) e salinidade alta (MO2  ) durante o período total de 8 h de exposição. Valores médios $\pm$ desvio padrão, n=2-3 .....	41
Figura 14: Concentração ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) para as unidades de DGT nos locais MO (MO1  e MO2  ) exposto durante 8 h, e IM (  ) e CP (  ) exposto durante 10 dias. Valores médios de DGT $\pm$ desvio padrão, n=2-3.....	43

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Elementos traço e a sua quantificação

A origem dos metais pesados nos corpos hídricos provém de fontes difusas, podendo ser dividida em natural (background) e cultural (de origem humana). Fontes industriais e urbanas foram identificadas como a causa primária da poluição por metais tóxicos (Clark, 1997). O lixiviamento dos solos urbanos e as emissões industriais são as mais significativas fontes deste elemento para corpos receptores de água nos arredores dos grandes centros urbanos e de zonas industriais (Bourg, 1995).

Os metais ocorrem naturalmente no meio ambiente através da desagregação das rochas. No entanto, a introdução destes elementos através das atividades antrópicas podem alterar enormemente os ciclos biogeoquímicos naturais dos mesmos em corpos hídricos (Salomons *et al.*, 1995).

Vários estudos têm demonstrado, que a forma lábil ou biodisponível desses metais possui maior toxicidade, do que a forma complexada por ligantes orgânicos ou adsorvida no material particulado (Kennish, 1992), porém a maioria destes elementos exerce um significativo papel biológico na construção de estruturas orgânicas e gerência dos fluxos de nutrientes e energia nos organismos (Andrade, 2003) e por tal relevância são classificados como essenciais e não-essenciais. Como condição, muitos elementos traço, por exemplo, boro, cobre, manganês e zinco, identificados como essenciais para as plantas podem ser tóxicos, quando acima de certos níveis de concentração (Pais *et al.*, 1997).

A composição natural das águas é o resultado de uma quantidade enorme de reações químicas e de processos físicos (Langston *et al.*, 1998). Os metais traço são geralmente elementos reativos e persistentes, que entrando nas águas dos rios e/ou estuários podem reagir com o material suspenso, com a matéria orgânica dissolvida e com ânions sendo, finalmente,

removidos para o sedimento de fundo (Niencheski *et al.*, 1994). Esta ligação de metais com a matéria orgânica dissolvida é uma ligação específica, e dependente da quantidade e grupamentos ligantes presentes nas moléculas orgânicas. Em águas marinhas e estuarinas, ligantes inorgânicos (ex: Cl<sup>-</sup>) estão também presentes fazendo a quantificação das espécies (especiação) mais complexa (Lores *et al.*, 1998).

A estabilidade dos complexos metálicos em solução aquosa pode ser determinada por um número bem conhecido de métodos experimentais, mas muitos não podem ser aplicados para uma investigação direta em águas naturais (Pesavento *et al.*, 2002). A concentração total dos metais traço podem ser elevadas e altamente variável em águas estuarinas. A amostragem necessária para uma boa aproximação e caracterização da concentração dos metais traço no ambiente estuarino requer um longo período e um grande número de amostras, o que torna este tipo de controle muito caro. Atualmente amostradores automáticos são utilizados para fazer coletas em intervalos pré-determinados de tempo ou em resposta a qualquer mudança ambiental (Dunn *et al.*, 2003). Além da amostragem, a preparação das amostra também requer atenção, estudos demonstraram que a filtração das amostras com equipamentos que utilizam pressão negativa ou positiva para a obtenção da fração dissolvida, podem interferir na concentração dos elementos traço tornando os resultados das análises e as predições sobre a concentração da fração lábil não representativa para o ambiente (Horowitz *et al.*, 1996).

As dificuldades e limitações no monitoramento da água devido à contaminação e à precisão das análises promovida por uma baixa concentração presente principalmente da fração lábil, aumentaram o uso de indicadores biológicos no monitoramento de metais nas últimas duas décadas que, além de acumular, informam exatamente a disponibilidade biológica dos metais na água (Wu *et al.*, 1996). A análise com os organismos é simples e sobretudo o resultado é integrado através do tempo.

Em particular, os mexilhões e ostras são amplamente utilizados para monitorar e comparar concentrações de metais em zonas costeiras, pois refletem melhor a biodisponibilidade de poluentes e exibem maiores concentrações em seus tecidos que a maioria dos organismos, além de não regularem as concentrações de metais acumulados (Rainbow *et al.*, 1993). Embora o uso de bioindicadores apresente vantagens óbvias sobre o monitoramento de metais na água e sedimento, bioindicadores apresentam dependência da bioacumulação frente a diversos fatores físicos e biológicos. Alguns fatores podem ser eliminados, mas para isto é importante conhecer-se a espécie a ser utilizada.

A quantificação de elementos traço na fração lábil, que é incorporada pelos organismos, ou seja, íons livres ou ligados fracamente a complexos, tem apresentado grande importância devido a sua elevada toxicidade. Entretanto, a necessidade de entendimento sobre a especiação desta fração, tem levado a utilização de diversas técnicas instrumentais como a voltametria (Twiss *et al.*, 2002) e separação de íons com resinas de troca iônica (Pesavento *et al.*, 2001).

Além das resinas serem utilizadas para estudos de especiação, para obtenção das formas lábeis, também são utilizadas para a eliminação da matriz salina (Pai, 1988) para a análise por espectrometria de absorção atômica com excitação eletrotérmica. A matriz salina interfere na avaliação correta das concentrações do metais. Esta técnica aplicada conjuntamente com o uso de irradiação ultra-violeta (UV) permite que a matriz orgânica, onde o metal está ligado, seja quebrada (Guéguen *et al.*, 1999; Cavicchioli *et al.*, 2003), possibilitando assim determinação da fração total do metal presente na amostra sem a matriz salina.

Estas técnicas, requerem que amostras de água sejam coletadas e transportadas ao laboratório, aumentando o risco de contaminação e de problemas relativos à mudança da matriz durante o seu manuseio e estocagem (Horowitz *et al.*, 1996).

De forma, a se contornar problemas de manuseio das amostras, atualmente estão sendo utilizadas resinas “in situ”. A recente técnica dos gradientes difusivos de membrana (DGT- diffusive gradients in thin films) para quantificação de metais traço na coluna d’água oferece uma forma de análise, que não está sujeita a mudanças físicas e biológicas e que é capaz de fornecer os resultados em um menor espaço de tempo.

A técnica DGT mostrou-se mais eficiente em diferenciar áreas poluídas para Cd, Cu, Pb e Zn, quando comparado com a acumulação destes elementos em mexilhões (*Mytilus galloprovincialis*) (Webb *et al.*, 2002a). A técnica tem sido recentemente aplicada em rios (Denney *et al.*, 1999), lagos (Torre *et al.*, 2000; Odzak *et al.*, 2002) e no oceano (Webb *et al.*, 2002a; 2002b) e poucos estudos foram realizados em estuário (Twiss *et al.*, 2002; Dunn *et al.*, 2003; Warnken, J. *et al.*, 2004).

Embora existam estudos com relação ao conteúdo de metais pesados na fração total em água no estuário da Lagoa dos Patos, a fração biodisponível ou lábil destes elementos medida diretamente na água é desconhecida.

## **1.2 Sistema DGT**

O sistema gradiente difusivo de membranas (DGT) utiliza um agente ligante, que acumula quantitativamente espécies solúveis, após a passagem através de uma membrana difusiva (Zhang *et al.*, 1995). Um filtro de 0,45 µm de nitrato de celulose (*Δg*) fraciona os elementos dissolvidos do material particulado. Um hidrogel de poliacrilamida, de espessura conhecida (*Δg*), é comumente utilizado como camada difusiva e outra camada de gel como agente ligante, que constitui a resina Chelex 100 conforme mostrado na Figura 1. As duas camadas de gel e o filtro são fechados em um pequeno compartimento plástico, constituindo a unidade de DGT.



O gel de poliacrilamida é um polímero preparado a partir de um monômero de acrilamida e um *crosslinker*. O gel hidratado contém aproximadamente 90 % de água. A porosidade do gel difusivo pode ser alterada modificando-se as proporções dos reagentes.

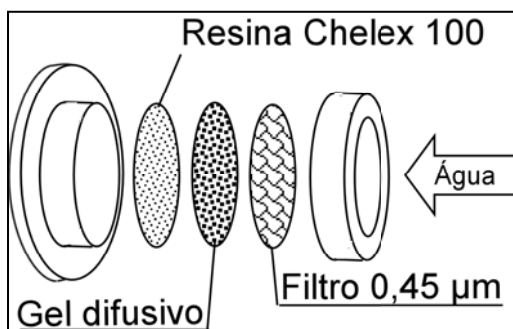


Figura 1: Esquema dos constituintes do sistema DGT

A resina Chelex 100 é um composto constituído por uma cadeia extensa de carbonos ( $\text{Ø}$ ) contendo como grupo ligante acetatos configurando um ligante bi-dentado (Figura 2). Esta resina é emulsionada em solução de poliacrilamida, que serve de meio para reter a resina e formar o disco de gel de resina.

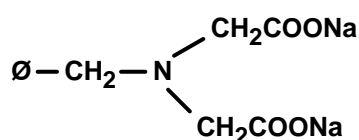


Figura 2: Grupos ligantes da resina Chelex 100 ligados aos íons sódio

Nesta técnica a quantidade do analito acumulado é proporcional a concentração externa da espécie lábil do analito, do tempo de exposição, da área superficial exposta e do coeficiente de difusão do analito e é inversamente proporcional a camada difusiva. O sistema é uma técnica mais cinética, do que de equilíbrio (Dunn *et al.*, 2003). A técnica DGT é aplicada diretamente *in situ*, exposta às reais alterações do ambiente sendo de baixo custo e

utilizada para a especiação de metais, ou seja, analisa apenas a fração catiônica dos metais traço.

O coeficiente de difusão ( $D$ ) do íon metálico, que passa através do gel difusivo, pode ser medido independentemente. A primeira lei de Fick pode ser utilizada para determinar a concentração ( $C_b$ ) do metal presente na solução através da massa ( $M$ ) de metal acumulado na resina, como mostrado nas equações (1) e (3):

$$F = \frac{D(C_b - C)}{\Delta g} \quad (1)$$

Onde  $F$  é o fluxo do íon metálico difundido através da camada de gel e  $C$  é a concentração do íon metálico presente junto a resina. Se os íons metálicos se ligarem rápida e eficientemente à resina,  $C$  é efetivamente zero, contanto que a resina não esteja saturada. Assim, a equação (1) pode ser simplificada para:

$$F = \frac{DC_b}{\Delta g} \quad (2)$$

O fluxo pode ser determinado diretamente pela medida de massa ( $M$ ) através da área ( $A$ ) de difusão após algum tempo ( $t$ ) ( $F = M/At$ ). Substituindo  $F$  por  $M/At$ , a equação (2) pode ser rearranjada para a equação (3), habilitando a determinação da taxa de concentração durante o período de exposição *in situ*.

$$C_b = \frac{M\Delta g}{DtA} \quad (3)$$

Na prática, uma outra camada pode surgir quando o sistema é exposto em solução. É uma região da solução adjacente ao dispositivo, conhecida como camada de limite difusivo

(CLD), onde o transporte é unicamente por difusão (Zhang *et al.*, 1998). Uma versão mais correta da equação (3) inclui um termo ( $\delta$ ), que representa a espessura efetiva da CLD, conforme a equação (4):

$$Cb = \frac{M(\Delta g + \delta)}{DtA} \quad (4)$$

A equação (3) pode sempre ser utilizada, quando a espessura da CLD for negligenciável comparado a espessura do gel difusivo, como para os casos em que a coluna d'água ou a solução apresente-se bem agitada (Zhang *et al.*, 1995).

Em geral o DGT é capaz de determinar multielementos. O sistema pré-concentra os metais solúveis, eliminando possíveis problemas de contaminação devido a baixa concentração de metal traço presente na coluna d'água. O tamanho do poro do gel difusivo utilizado para este trabalho permite a determinação de metais na forma de íons livres, inorgânicos e parte dos organometálicos que se difundem através do gel (Zhang *et al.*, 1995; 1999). Neste gel partículas e grandes colóides são excluídos. DGT mede espécies lábeis dissolvidas menores do que o tamanho de poro do hidrogel.

A figura 3 apresenta como as 5 formas de metais se comportam frente ao sistema DGT, quando de sua entrada pela camada difusiva.

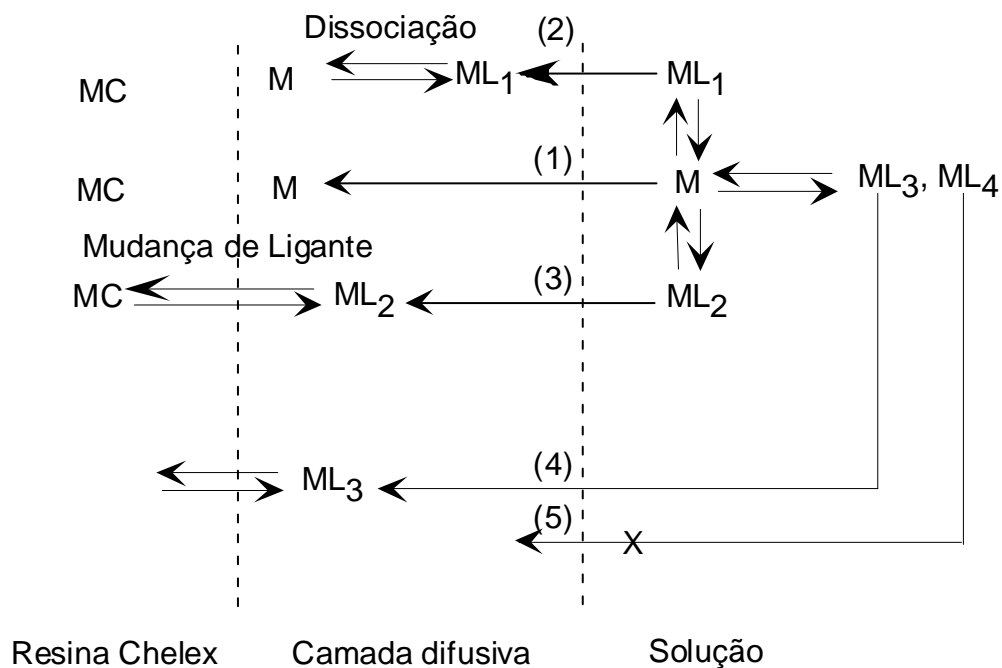


Figura 3: Representação esquemática do mecanismo de determinação de metais do sistema DGT. O íon livre de metal (M) e seus complexos (ML) com vários ligantes aqui representados ( $L_1$ ,  $L_2$ ,  $L_3$  e  $L_4$ ). DGT mede espécies livres do íon metálico, M, complexos dissociáveis,  $ML_1$  e  $ML_2$ , modificados pela fase ligante. Complexos inertes a fase ligante,  $ML_3$ , e grandes complexos,  $ML_4$ , excluídos pela camada difusiva, não são mensuráveis (Li *et al.*, 2005)

É possível observar na Figura 3, que o íon metálico livre (M), que normalmente é mais lábil em água (solução) devido a sua fraca ligação com ligantes orgânicos e inorgânicos, é o mais facilmente dissociado e acumulado no gel da resina Chelex (1). O íon metálico livre também pode se originar da dissociação do complexo  $ML_1$ , ao entrar na membrana difusiva (2). É possível que também ocorra reação de substituição do cátion metálico ligado ao  $ML_2$  com a resina Chelex (3). Complexos difusíveis,  $ML_3$ , são inertes aos grupos ligantes da resina não contribuindo para o acúmulo de massa do sistema (4). Grandes complexos como colóides e material particulado, não são capazes de permear através da camada difusiva e não são medidos através do sistema (5).

Metais lábeis na fração catiônica que são principalmente considerados na medida do DGT são a soma de M e  $ML_1$ . Entretanto, a reação de substituição do  $ML_2$  (3) compostos não

dissociáveis penetram no fel difusivo e próximos a resina Chelex competem com os grupos ligantes presentes na mesma.

### 1.3 Caracterização dos metais

Os metais são os elementos mais abundantes da natureza e muito presentes na forma solúvel ocorrendo em concentrações muito variáveis na crosta terrestre e na coluna d'água (Reimann *et al.*, 1998). Seus múltiplos usos para a humanidade remontam eras passadas. Muitos elementos são essenciais para a vida como o Cu, Co, Mn, Zn, Ni, porém outros como o Pb e Cd não possuem nenhuma função metabólica conhecida para os organismos até o presente momento.

A Tabela 1 apresenta a média das concentrações no mundo destes elementos em oceanos e rios, além de dados de um rio na Nova Escócia-Canadá em água filtrada com filtro de 0,45 $\mu$ m (Reimann *et al.*, 1998). É possível observar teores mais acentuados destes elementos para a água de rio, quando comparados aos valores no oceano.

Tabela 1: Média das concentrações ( $\mu$ g.L<sup>-1</sup>) mundiais dos elementos Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn nas águas de oceanos e rios

Elementos	Média em Oceanos	Média em Rios	Rio na Nova Escócia Canadá <0,45 $\mu$ m
Cd	0,1*	0,02*	0,05
Co	0,02*	0,2*	0,05
Cu	0,25*	3,0*	0,4
Mn	0,2*	4,0*	5,3
Ni	0,56*	0,3*	0,2
Pb	0,03*	3,0*	0,1
Zn	4,9*	15,0*	5,0

\* media estimada

### **Cádmio (Cd)**

O cádmio é um elemento de elevado potencial tóxico apresentando efeitos cumulativos nos organismos aquáticos e não-aquáticos com meia-vida da ordem de 10 anos, podendo portanto, integrar-se às cadeias alimentares. Normalmente está presente nas águas naturais em pequenas concentrações, geralmente inferiores a  $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ . A ocorrência de concentrações mais elevadas nas águas está relacionada ao uso de fertilizantes, lançamento de despejos industriais de galvanoplastia, de mineração e metalurgia do zinco assim como a processos de combustão. Em pequenas doses afeta os órgãos reprodutores de certos animais. No homem, provoca irritação gastrintestinal, ataca a medula óssea, conseqüentemente reduzindo os glóbulos vermelhos e gerando anemia, causa hipertensão, além de diminuir a capacidade excretora dos rins (Toxicological profile for cadmium, 1999).

### **Cobalto (Co)**

O cobalto é encontrado naturalmente na crosta terrestre em concentrações muito baixas agregado a outras substâncias. É um elemento com grande resistência a corrosão, por isto, adquire grande importância para o uso industrial. Também é utilizado para conferir cor a lentes de óculos. Possui usos na agricultura e na medicina (radioisótopo  $^{60}\text{Co}$ ). Geralmente os níveis de cobalto na água de regiões populosas gira em torno de  $1-10 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Tireoidismo e alterações na visão são alguns dos problemas ocasionados pela longa exposição a altas doses de cobalto (Toxicological profile for cobalt, 2004).

### **Cobre (Cu)**

O cobre em pequenas concentrações participa dos processos metabólicos e sua ausência causa anemia. Ocorre em águas naturais em pequenas concentrações. Maiores teores são geralmente decorrentes de despejos industriais e domésticos, ou devido sua utilização

como algicida. Em geral, a concentração deste elemento em rios e lagos pode variar entre 0,5 a 1000  $\mu\text{g.L}^{-1}$  possuindo uma média de concentração em torno de 10  $\mu\text{g.L}^{-1}$ . Concentrações elevadas são danosas para os organismos aquáticos. Para o homem, o excesso deste elemento pode ocasionar danos ao fígado e aos rins (Toxicological profile for copper, 2004).

### **Chumbo (Pb)**

O chumbo é um elemento tóxico ao homem e aos animais e quando ingerido é absorvido parcialmente pelo organismo. O chumbo particulado no ar quando aspirado é absorvido rapidamente pelos pulmões e distribui-se pela corrente sanguínea por todo o organismo. Em condições naturais apenas traços são encontrados nas águas. Maiores concentrações são decorrentes de processos corrosivos em encanamentos e soldas, tintas e por ação de indústrias como a metalúrgica ou a de mineração. Os efeitos da intoxicação por chumbo são: tontura, irritabilidade, dor de cabeça, perda de memória. A intoxicação aguda caracteriza-se pela sede intensa, sabor metálico na boca, inflamação gastro-intestinal, vômitos e diarreias. Em crianças, o chumbo provoca retardamento físico e mental, perda da concentração e diminuição da capacidade cognitiva. Em adultos são comuns problemas nos rins e aumento da pressão arterial (Toxicological profile for lead, 1999).

### **Manganês (Mn)**

O manganês está presente em quase todos os solos, principalmente na forma de dióxido de manganês. Sob condições anaeróbias o dióxido de manganês é reduzido para as formas solúveis. Em águas naturais pode ocorrer em pequenas concentrações devido a lixiviação de minerais no solo. Maiores concentrações decorrem das atividades industriais. O excesso de manganês pode causar distúrbios mentais e emocionais em trabalhadores da indústria de mineração (Toxicological profile for manganese, 2000).

### **Níquel (Ni)**

O níquel combinado com outros elementos ocorre naturalmente na crosta terrestre. Uma das principais fontes de níquel é a indústria mineradora, a galvanoplastia e as tintas. Sob condições ácidas o níquel adquire mais mobilidade no solo. Geralmente ocorre na coluna d'água em concentrações muito pequenas ( $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ ). A ingestão de sais solúveis de níquel pode provocar alergia, vômitos, diarreia e desordem respiratória (Toxicological profile for nickel, 2003).

### **Zinco (Zn)**

O zinco é um dos elementos mais comum na crosta terrestre sendo mais encontrado na natureza sob a forma de sulfeto de zinco. Os compostos de zinco são largamente utilizados pela indústria. Uma das principais fontes são as mineradoras de zinco, chumbo e cádmio. A ingestão prolongada de altos níveis de zinco pode provocar anemia, dano ao pâncreas, e decréscimo no nível de lipoproteína de alta densidade (HDL) colesterol (Toxicological profile for zinc, 2003).



## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Aplicação e avaliação da técnica de gradiente difusivo de membranas (DGT), para o monitoramento e detecção da concentração de elementos traço, em sua fração lábil na água, em área estuarina da Lagoa dos Patos.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Determinação da concentração dos elementos Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn na fração lábil obtida através do sistema DGT e em água, conjuntamente com os parâmetros físico-químicos obtidos *in situ* pH, temperatura, salinidade e turbidez;
- Avaliação das unidades DGT na coluna d'água em diferentes tempos de exposição em água estuarina (frente a distintas condições de salinidade);
- Determinação da especiação dos elementos Cd, Cu, Pb e Zn na água utilizando o tratamento das amostras com a resina Chelex-100 e irradiação UV e sua comparação com o sistema DGT.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Área de estudo**

A área de estudo compreende o estuário da Lagoa dos Patos na localidade da cidade de Rio Grande (Figura 4). O sistema formado pela Lagoa dos Patos e Lagoa Mirim é denominado complexo lagunar Patos-Mirim e foi influenciado pelo desenvolvimento de uma barreira múltipla resultante das mudanças eustáticas do nível do mar, durante o Quaternário. Pelo menos quatro ciclos transgressivos-regressivos sucessivos depositaram barreiras arenosas descontínuas paralelas à costa. Estudos evidenciaram, que processos erosivos e deposicionais resultantes da ação morfodinâmica Holocênica foram responsáveis pela atual configuração geomorfológica do estuário da Lagoa dos Patos (Calliari, 1998). Este complexo possui uma área total aproximada de 14.000 Km<sup>2</sup>.

O clima na região costeira, entre as latitudes de 29° e 34° S, está sob o controle do centro de alta pressão do anticiclone do Atlântico Sul. A marcada influência do anticiclone do Atlântico Sul resulta na dominância de ventos NE (velocidade média de 5 m.s<sup>-1</sup>) ao longo do ano, seguida por ventos SW (velocidade média de 8 m.s<sup>-1</sup>) durante a passagem de frentes frias, as quais são mais comuns no inverno, do que no verão. A precipitação pluviométrica anual varia marcadamente e está relacionada com a passagem de frentes frias, sendo normalmente maior durante o inverno e a primavera. As variações pluviométricas, com períodos de chuvas intensas e ou secas prolongadas, parecem ser consequência do El-Niño ou La-Niña. Este processo influencia diretamente a descarga de água doce continental e, conseqüentemente, os processos biogeoquímicos nos ecossistemas costeiros e marinhos do Atlântico sudoeste (Klein, 1998).

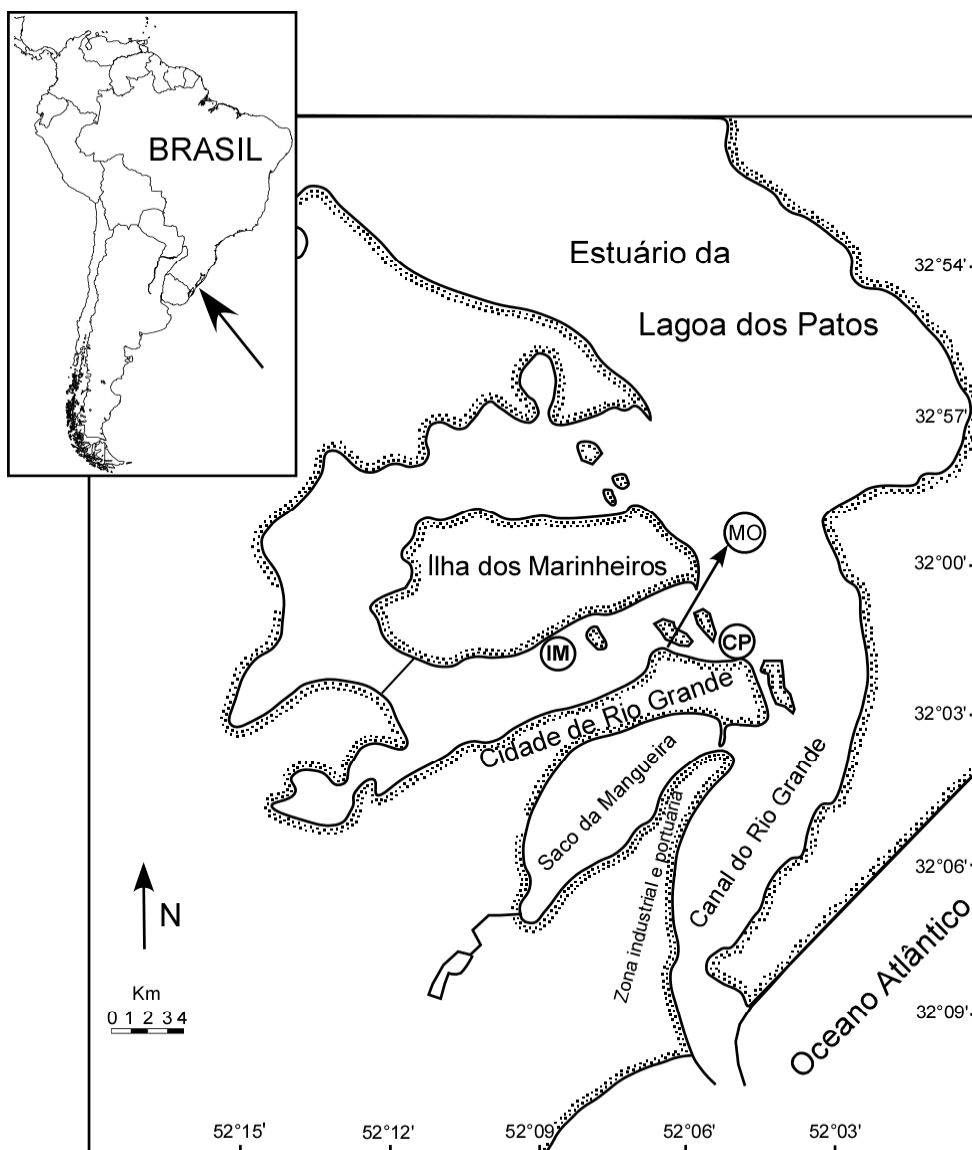


Figura 4: Localização geográfica dos locais de estudo na Capitania dos Portos (CP), Ilha dos Marinheiros (IM) e Museu Oceanográfico (MO) no estuário da Lagoa dos Patos

O estuário da Lagoa dos Patos possui uma alta hidrodinâmica devido aos ventos e a descarga fluvial (Garcia, 1998), que originam variações diárias de constituintes químicos e tornam o estuário altamente instável sob o ponto de vista químico (Niencheski *et al.*, 1998), afetando assim, a presença e a abundância das espécies dos organismos fixos bioindicadores. Este estuário possui um único contato com o Oceano Atlântico, através de um estreito canal

no extremo sul da Lagoa dos Patos. Atividades agrícolas, industriais e urbanas são acentuadas na bacia de drenagem da Lagoa dos Patos fazendo com que o estuário receba quase todo o tipo de contaminantes (Baumgarten *et al.*, 1990; Niencheski *et al.*, 1994). Estudos pretéritos evidenciaram níveis próximo ao limite permitido pela legislação para elementos como o Cu, Pb, e Zn no material em suspensão (Niencheski *et al.*, 2000) e identificaram enriquecimento no sedimento por metais como Cd, Cr, Cu, Fe, Pb e Zn em níveis de contaminação (França *et al.*, 2000).

A Cidade de Rio Grande apresenta um grande parque industrial, formado principalmente por indústrias de processos químicos (fertilizantes, petroquímica, extração de óleo vegetal) potencialmente poluidoras, além disso, o tratamento ineficiente de esgotos doméstico também aparece como possível fonte de contaminantes. Estas possíveis fontes estão relacionadas a muitos problemas relativos à presença de um excesso de nutrientes e de metais na coluna d'água (Niencheski *et al.*, 1994; Santos *et al.*, 1997).

### **3.2 Procedimento em campo**

Os locais de exposição das unidades de DGT e de amostragens de água no estuário da Lagoa dos Patos foram a Capitania dos Portos (CP), Ilha dos Marinheiros (IM) e Museu Oceanográfico (MO) (Figura 4).

O estudo foi realizado através de uma avaliação *in situ* em duas etapas. A primeira etapa foi realizada no período de 8 a 18 de julho de 2003. Nesta etapa foram realizadas as exposições das unidades de DGT em dois pontos do estuário, recebendo influências distintas de aportes antropogênicos. Um dos locais, próximo ao porto mais antigo da cidade de Rio Grande na Capitania dos Portos (CP), sob influência de aportes urbanos e industriais e outro na Ilha dos Marinheiros (IM) possuindo influência da atividade agrícola. Nesta etapa o sistema DGT foi exposto *in situ*, por um tempo de 10 dias verificando a resposta do sistema

aos diferentes metais na coluna d'água, e frente às variações naturais da salinidade no meio. Neste experimento foram colocadas um total de 9 unidades tanto na estação CP, como na estação IM. As unidades foram retiradas com 2, 6 e 10 dias de exposição, no mesmo horário, sendo retiradas três unidades a cada período de exposição.

A segunda etapa foi realizada nos dias 8 de outubro, 19 de novembro e 29 de dezembro de 2004 em dois pontos distintos onde se levaram em consideração os resultados obtidos através do primeiro experimento. Neste segundo experimento foi criado um plano de amostragem estabelecendo dois intervalos de salinidade, no qual as unidades DGT foram expostas em períodos com uma salinidade alta constante, em torno de 25, e uma salinidade intermediária constante, em torno de 5. Os experimentos com salinidade alta e intermediária foram realizados no Museu Oceanográfico, dentro de uma área urbanizada, próxima ao Iate Clube e ao Porto Velho da cidade de Rio Grande. Os pontos também foram escolhidos considerando a disponibilidade de espaço e energia elétrica para a montagem de um pequeno laboratório no local de amostragem, para a realização das filtragens de água *"in situ"*.

Neste segundo experimento as unidades de DGT foram expostas "in situ" por um período menor de 8 horas, sendo retiradas três unidades a cada 2 horas, totalizando doze unidades por amostragem. Este experimento de menor tempo de exposição visou eliminar as grandes variabilidades de salinidade, facilitando a interpretação dos dados e verificar a resposta do sistema num menor tempo de exposição *"in situ"*.

Nestes três locais experimentais, as unidades foram fixas em uma corda de polietileno de 4 mm, presa em um trapiche e com um peso no fundo, ficando as unidades a uma profundidade de 0,5 m. As unidades de DGT foram colocadas e retiradas com o auxílio de luvas plásticas, a fim de evitar qualquer contato, que ocasionasse a contaminação das mesmas. As unidades de DGT foram, então, acondicionadas sob refrigeração em caixas de isopor até a chegada ao laboratório.

Durante ambos experimentos foram realizadas coletas de água para análise de metais na fração dissolvida. As amostras de água foram coletadas com garrafa de Niskin a mesma profundidade, na qual se localizavam as unidades de DGT (0,5 m).

No primeiro experimento de 10 dias, as coletas de água no ponto CP ocorreram a cada 24 horas e no ponto IM apenas a cada retirada das unidades. Para o segundo experimento, as coletas de água ocorreram em intervalos de meia-hora.

Amostras de água no ponto IM e CP, foram filtradas em laboratório e as amostras de água do local MO foram filtradas “*in situ*” todas utilizando filtro Nucleopore 0,45 µm de porosidade e imediatamente após a coleta. Em seguida as amostras foram mantidas em frascos de polietileno de alta densidade, acidificadas com 1 mL de HNO<sub>3</sub> Suprapur<sup>TM</sup> por litro de amostra e refrigeradas para o transporte até o laboratório, onde foram mantidas a 4°C.

As análises dos parâmetros físicos-químicos pH, temperatura, condutividade e salinidade da água foram realizadas em todos os experimentos, junto com cada amostragem de água e com o auxílio de um pHmetro marca Mettler Toledo modelo DM e um termosalinômetro marca YSI 30/50 FT. Como complemento, análises de turbidez com um turbidímetro da marca Policontrol foram realizadas no segundo experimento. Também foram anotados dados com base na observação visual como a direção de corrente, regime hidrológico e ventos.

### **3.3 Procedimento em laboratório**

#### **3.3.1 Preparação do material e das amostras**

##### **3.3.1.a Lavagem da vidraria e material de coleta**

Ao trabalhar com concentrações muito baixas, um cuidado maior na limpeza é exigido com a vidraria de laboratório, além do preparo das soluções padrões, e no manuseio de material de referência. Toda a vidraria e materiais utilizados para a análise de metais foram

lavados abundantemente com água destilada antes de serem colocados numa solução de ácido nítrico, utilizando concentrações de 20% para material de amostragem e 5 M para vidrarias de uso em análises. Toda vidraria esteve por um tempo mínimo de três dias em imersão na solução de ácido nítrico, sendo o período ideal em torno de cinco dias. Após este período, este material foi enxaguado com água Milli-Q e colocado de molho nesta água de alta pureza por três dias, quando foi retirado novamente, enxaguado, seco em capela de fluxo laminar e finalmente embalado em sacos plásticos.

### **3.3.1.b Unidades de DGT**

As unidades de DGT, logo após a chegada no laboratório, foram abertas em capela de fluxo laminar. De cada unidade, retirou-se o gel de resina colocando-os individualmente em tubos de reação de capacidade de 2 mL imersos em uma solução de 1 mL de HNO<sub>3</sub> 1 M (Figura 5). A leitura da concentração de metais acumulada na resina só pode ser realizada no mínimo 24 horas após este procedimento para garantir que todo os elementos acumulados na resina sejam eluídos pela solução ácida. Todo o manuseio do material foi realizado com luvas plásticas descartáveis e no interior da capela de fluxo laminar.

Desta solução ácida foi retirada uma alíquota e apropriadamente diluída para a leitura das amostras. As concentrações dos elementos Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn da primeira etapa foram lidas por Hao Zhang e Brenda Cookson da Universidade de Lancaster (UK).

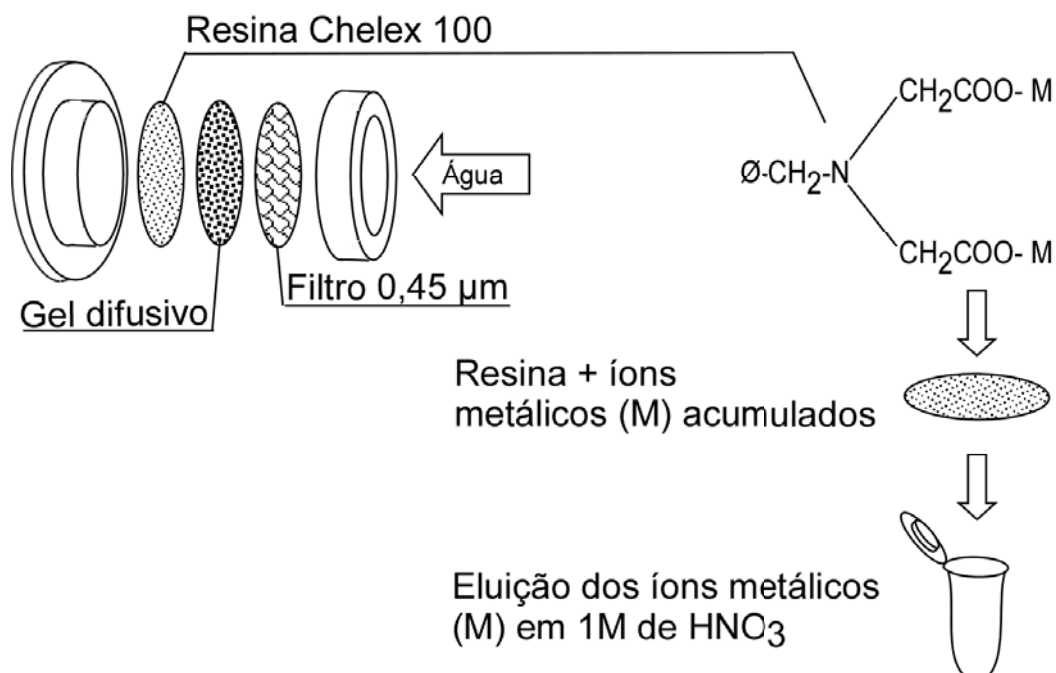


Figura 5: Representação do sistema DGT mostrando o gel da resina Chelex 100 e a eluição dos metais adsorvidos na mesma

### 3.3.1.c Amostras de água

Na primeira etapa experimental de 10 dias de exposição das unidades de DGT, as amostras de água referentes aos dois primeiros e dois últimos dias para o local CP e ao primeiro e último dia do local IM foram analisadas para a obtenção de metais traço na fração total dissolvida, enquanto, que as amostragens intermediárias foram submetidas a um fracionamento com a coluna Chelex 100, sendo denominadas de fração lábil-Chelex de metais traço que oferece a fração de íons livres ou fracamente adsorvido a matéria orgânica.

As amostras referentes à segunda etapa, de 8 horas de exposição das unidades de DGT, foram todas permeadas na coluna Chelex, para fornecer também a fração lábil-Chelex dos elementos traço. Utilizou-se uma coluna de polietileno preenchida com resina Chelex 100 (200-400 Mesh) para tratamento das amostras.



## Preparo da Coluna

Em uma microcoluna de polipropileno (11 cm de comprimento e 0,7 cm de diâmetro), foram adicionados 3 a 4 g de resina Chelex 100 na forma sódica (forma comercial) com granulometria entre 200-400 Mesh. A coluna foi conectada em sua parte superior a um funil de separação de 125 mL de volume, através de uma mangueira de polietileno. Esta mangueira foi adaptada de um sistema de aplicação de soro fisiológico, no qual existe um dispositivo de controle de vazão. Após, o sistema foi preenchido totalmente com água Milli-Q. Foi evitada a formação de bolhas, principalmente na hora de montagem do sistema, para garantir o funcionamento da coluna. Surgindo bolhas, algumas batidas suaves e inversões na coluna foram necessárias, para que houvesse o desprendimento das mesmas aderidas à resina e para que se deslocassem para a parte superior da microcoluna. Após o desprendimento das bolhas, as mesmas ficavam acumuladas na parte superior da coluna formando uma grande bolha que era retirada pela desconexão da parte superior da micro-coluna com a mangueira efetuando o preenchimento deste espaço com água Milli-Q, proveniente do funil através da mangueira, para preencher a coluna até o transbordamento. A coluna, quando desconectada foi estancada na parte inferior, para evitar que toda água saísse da coluna, enquanto mais água era adicionada para o total preenchimento da coluna. Em seguida o sistema foi reconectando. A partir daí obteve-se o sistema pronto para a transformação da resina da forma sódica para a forma amoniacal.

Após o empacotamento da coluna passou-se pela mesma um volume de 10 mL de  $\text{HNO}_3$  2 M. O ácido adicionado passou a resina para forma ácida. Para eliminar todo ácido que não reagiu, passou-se 50 mL de água Milli-Q através do sistema. Após, deixou-se passar 10 mL de  $\text{NH}_4\text{OH}$  2 M pela coluna. O amônio desloca o  $\text{H}^+$  ligado à resina tomando o lugar deste íon, transformando a resina para a forma amoniacal. Em seguida, passou-se em torno de 50 mL de água Milli-Q pela coluna para neutralizar todo o sistema e deixá-lo dentro de sua

faixa ótima de trabalho (pH de 4 a 9). Essa condições era confirmada pelo uso de um papel indicador pH 1-14 da Merck.

### **Passagem da amostra de água pela coluna**

Antes de passar as amostra de água pela coluna, as mesmas foram neutralizadas com  $\text{NH}_4\text{OH}$  Suprapur , pois a resina opera em um intervalo de pH entre 4 e 9. Cada amostra, após a neutralização, foi transferida num volume de 100 mL para um funil de separação e liberada continuamente com uma velocidade máxima de  $2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  através da coluna de resina Chelex 100. Após, foram adicionados mais 10 mL de água Milli-Q, garantindo que o volume de amostra retido entre a coluna e o funil, em torno de 6 mL, passa-se totalmente através da coluna. Os cátions de metais da amostra retidos na coluna Chelex 100 foram eluídos com 20 mL de uma solução 2M de  $\text{HNO}_3$  Suprapur<sup>TM</sup> com fluxo de  $2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . Como utilizou-se 100 mL de amostra e 20 mL de eluente, houve uma preconcentração de cinco vezes do teor de metais. Após foram passados 50 mL de água Milli-Q para a retirada de todo o ácido presente no sistema e adicionados 10 mL de uma solução 2 M de  $\text{NH}_4\text{OH}$  Suprapur para regenerar a resina na forma amoniacal (Anexo 1).

Em seguida a este tratamento, cada amostra de água foi analisada. O resultado desta análise fornece a fração dissolvida lábil de metais traço nas amostras, ou seja, íons livres ou fracamente adsorvidos à matéria orgânica.

Foi efetuado um teste de recuperação da coluna com soluções de  $1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  dos metais Cd, Cu e Pb.

### **Aplicação do UV na determinação da fração total dissolvida**

Para verificar a especiação de metais na água, foram escolhidas, aleatoriamente, 7 amostras de água de ambos períodos de 8 horas de exposição (MO1 e MO2) das unidades de DGT. Estas amostras foram irradiadas por 3 horas com fonte de UV, de 550 W de potência

(Milani, 2004), passadas na coluna. As amostras irradiadas foram passadas pela micro-coluna de Chelex 100 para a eliminação da matriz salina e obtenção da fração total dissolvida (Anexo 1).

Os elementos analisados foram Cd, Cu, Pb e Zn, resultando na fração total dissolvida destes elementos (lábil e inerte). A fração inerte refere-se aos metais fortemente complexados com a matéria orgânica presente na água. Os dados foram comparados com amostras que não sofreram o processo de destruição da matriz orgânica, mas que também foram passadas pela coluna que, além de eliminar o efeito matriz da água salgada, permite determinar a fração lábil dos elementos acima citados.

### **3.3.2 Metodologias analíticas**

#### **Determinação da turbidez**

A determinação da turbidez foi realizada em laboratório, logo após a chegada das amostras em laboratório. Foi utilizado o equipamento POLICONTROL AP 2000 seguindo as recomendações do fabricante.

#### **Preparo das soluções padrões**

O preparo das soluções padrões foi realizado por diluição apropriada para cada elemento, conforme especificações do aparelho e a faixa de leitura. Utilizou-se uma solução estoque de  $1000 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  de multielementos, que foi preparada a partir de uma ampola de Titrisol<sup>®</sup> da Merck, assim como padrões de elementos individuais da Assurance<sup>™</sup> da Spex Certiprep.

### **Limite de Detecção**

A determinação do limite de detecção foi realizada através das leituras de branco e calculada segundo (Chistian, 1994). Foi estabelecido o valor de três vezes o desvio padrão populacional ( $\sigma$ ) para um número de 8 a 10 leituras de branco para cada elemento.

O limite de detecção (LD) encontrado para as condições de trabalho, conforme a leitura de amostras em branco pode ser observado na Tabela 2. Os valores encontrados demonstraram uma boa sensibilidade da técnica e resolução do equipamento GF-AAS para as condições de trabalho.

Tabela 2: Limite de detecção (LD) dos respectivos elementos e seu nº de leituras de brancos

	<b>Cd (n=10)</b>	<b>Cu (n=10)</b>	<b>Pb (n=10)</b>	<b>Zn (n=8)</b>
<b>LD <math>3.\sigma</math> (<math>\mu\text{g.L}^{-1}</math>)</b>	0,0065	0,0218	0,0473	0,0025

### **Exatidão Relativa e Precisão**

O controle analítico e instrumental foi realizado através do uso do material de referência certificado de água de rio (SLRS-4) proveniente do National Research Council Canada. A exatidão foi obtida através do cálculo do erro médio relativo (EMR) e a precisão através do cálculo do desvio médio relativo (DMR), utilizando o mesmo material de referência certificado.

A Tabela 3 indica a exatidão e a precisão da metodologia analítica empregada através dos valores obtidos de erro médio relativo (EMR) e desvio médio relativo (DMR) respectivamente, obtidos do padrão certificado de água de rio SLRS-4. O Cd, Cu, e Zn

demonstram uma maior exatidão enquanto que, Cd e Pb demonstraram maior precisão. O fator de recuperação demonstrou excelentes valores para o Cd, Cu e Zn sendo, que para o elemento Pb, houve um decréscimo na recuperação.

Tabela 3: Valores de EMR e DMR para as leituras efetuadas, e valores médios ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) encontrados nas leituras e referendados para o padrão de água de rio SLRS-4

	<b>Cd (n=7)</b>	<b>Cu (n=7)</b>	<b>Pb (n=6)</b>	<b>Zn (n=7)</b>
<b>EMR</b>	0,0036	0,05	0,3471	0,026
<b>DMR</b>	0,0004	0,96	0,0036	0,693
<b>Média obtida (<math>\mu\text{g.L}^{-1}</math>)</b>	0,012	1,72	0,056	0,95
<b>SLRS-4</b>	0,012 $\pm$ 0,002	1,81 $\pm$ 0,08	0,086 $\pm$ 0,007	0,93 $\pm$ 0,10
<b>Fator de Recuperação</b>	100 %	95 %	65 %	102 %

Apesar do Pb não demonstrar uma boa recuperação, suas leituras oscilaram muito pouco em relação aos demais elementos, conforme mostram os resultados do DMR. Provavelmente a causa para este resultado seja a proximidade do valor obtido com o limite de detecção (Tabelas 1 e 2).

### **Leitura das Concentrações dos Metais nas Amostras**

Para as amostras de água e DGT, as concentrações dos elementos Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn da primeira etapa foram lidas na Universidade de Lancaster (UK) em equipamento de espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). As análises dos elementos Cd, Cu, Pb e Zn da segunda etapa foram lidas por espectrometria de absorção atômica eletrotérmica, com forno de grafite (GF-AAS), marca Zeiss- modelo 5EA (Anexo 2).

## Amostras de DGT

Os resultados foram expressos em termos de massa (ng) e concentração ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) do metal acumulado no gel de resina.

A concentração encontrada na solução,  $C_b$ , é utilizada para o cálculo de acúmulo de massa ( $M$ ) que é expresso em ng:

$$M = \frac{C_b(V_{HNO_3} + V_{gel})}{f_e}$$

onde:

$V_{HNO_3}$  = volume de ácido adicionado (mL);

$V_{gel}$  = volume do gel de resina (mL);

$f_e$  = fator de eluição (valor adimensional fornecido pelo DGT Research Ltda correspondente a 0,8)

A concentração do elemento expressa em  $\mu\text{g.L}^{-1}$  e fornecida pela técnica DGT, ( $C_{DGT}$ ) é dada pela seguinte fórmula:

$$C_{DGT} = \frac{M \cdot \Delta g}{D \cdot t \cdot A}$$

Onde:

$M$  = massa do metal acumulada na resina (ng);

$\Delta g$  = é a soma da espessura do gel com a espessura do filtro (cm);

$D$  = coeficiente de difusão (valor dado em tabela oferecida pelo DGT Research Ltda) ( $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ );

$t$  = tempo de exposição (s);

$A$  = área da janela de exposição do sistema ( $\text{cm}^2$ ).

### 3.4 Análise estatística

A análise estatística utilizada para os resultados do DGT foi testar, inicialmente, três requisitos para determinar a distribuição normal, homoscedasticidade e correlação abaixo de 50 % de média por desvio padrão para todos os dados. Foi exigida uma concordância mínima de um dos requisitos para a execução do teste de ANOVA. Não havendo concordância, os dados foram transformados aplicando  $\log(1+X)$ . Seguido do teste de ANOVA foi realizado o teste de Fisher-LSD ( $p=0,05$ ). Foi verificado se ocorreram alterações significativas entre os diferentes períodos de exposição e entre os locais de estudo, a fim de verificar a resposta do sistema frente a distintas condições do meio.

Foi aplicado teste de correlação não paramétrica Spearman a fim de verificar a correlação entre:

- a) os elementos analisados na coluna d'água;
- b) os elementos Co e Mn analisados da fração total dissolvida dos locais IM e CP;
- c) as amostras irradiadas com UV e não-irradiadas do local MO.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Longo período de exposição das unidades de DGT

#### 4.1.1 Salinidade e temperatura

As análises realizadas durante os 10 dias no mês de julho na coluna d'água, revelaram algumas variações de temperatura e uma grande variação de salinidade para o referido período em ambos locais, na Capitania dos Portos (CP) e na Ilha dos Marinheiros (IM) (Figura 6).

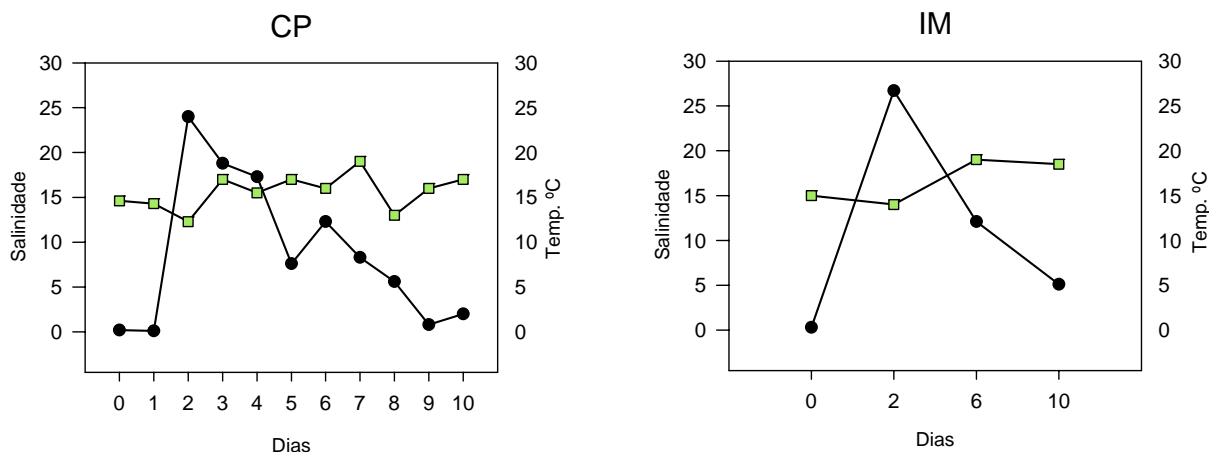


Figura 6: Salinidade (●) e temperatura (■) na Capitania dos Portos (CP) e Ilha dos Marinheiros (IM) durante os 10 dias de exposição das unidades de DGT em julho/2003

A salinidade mostrou-se bastante baixa no início e no final deste período, indicando aporte de água doce proveniente da Lagoa dos Patos. Também foi verificada uma entrada de frente fria com vento sul, durante o terceiro dia, o que provocou a entrada de água do mar no estuário. Esta variação aliada a fortes ventos pode gerar, no estuário, um aumento na quantidade de material em suspensão e elementos dissolvidos pela ressuspensão do material particulado sedimentado.



#### 4.1.2 Massa acumulada no sistema DGT

A exposição do sistema DGT realizado no local CP demonstrou um acúmulo constante de massa para Cd, Co, Cu, Mn, Ni e Zn, com exceção do Pb, que não demonstrou a mesma tendência (Figura 7).

No local IM, o mesmo padrão acumulativo foi verificado para os elementos Cd, Co, Cu, Mn e Ni com um aumento linear através do tempo, porém não demonstrou a mesma tendência para o Pb e Zn. Também foi notado, que houve uma diminuição nas taxas de acúmulo de massa do Pb no local IM ao longo do tempo de exposição.

Um aumento linear é esperado quando a concentração do metal presente em solução é constante. O acúmulo em geral crescente de massa de metais traço mostrou um bom funcionamento do sistema DGT, comparado com outras exposições do DGT “in situ” e em laboratório (Davison *et al.*, 1994), ou mesmo com soluções sintéticas bicomponentes, em laboratório, formada por uma concentração conhecida de metal e outro cátion (ex: Na) (Gimpel *et al.*, 2001).

Um acúmulo não linear também foi verificado por (Denney *et al.*, 1999) aplicando a técnica em rios e estuários. Uma variação temporal da concentração pode ocasionar tais modificações. Pode-se notar na Figura 7 uma variação durante o período de exposição, indicando que modificações ocorreram no ambiente, alterando a resposta do sistema.

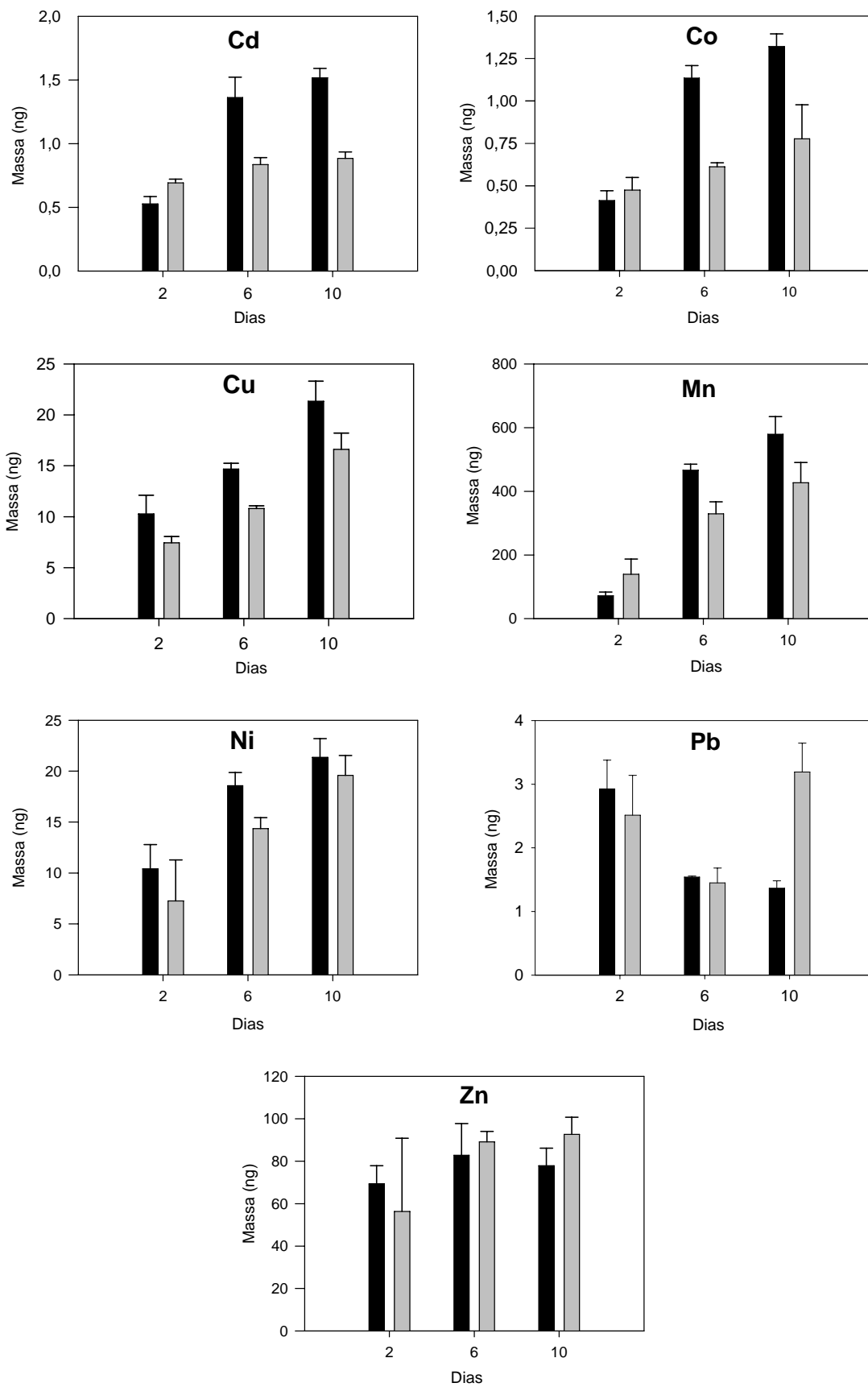


Figura 7: Massa (ng) de metais acumulados no sistema DGT com 2, 6 e 10 dias de exposição nos locais IM (■) e CP(□). Valores médios ± desvio padrão, n=2-3

A oscilação acentuada ocorrida na massa acumulada do elemento Pb pode estar relacionada a uma resposta à variação da mistura de águas, provocando modificações por processos convectivos e difusivos na quantidade dos constituintes dissolvidos e particulados. Em um estudo realizado com compostos colóidais, material em suspensão e compostos orgânicos dissolvidos presentes em estuário, identificou que o Pb reage fortemente com compostos dissolvidos, quando comparado com Cd e Cu, variando muito a sua concentração lábil (Muller, 1996). Com base nesta característica do elemento Pb e sabendo-se do princípio acumulativo, sugere-se, que em consequência do tamanho da fração orgânica dissolvida, alguns destes compostos dissolvidos poderiam permear a camada de gel íon-difusivo competindo com os sítios de adsorção da resina, desagregando o metal acumulado. Esta hipótese é teorizada pela técnica, conforme mostra o esquema demonstrado na Figura 3.

#### **4.1.3 Concentração de metais no DGT e na água**

Os resultados das concentrações médias de Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn analisados nas unidades de DGT no local IM e CP, são mostrados na Figura 8.

A concentração média dos elementos Cu, Pb, Ni e Zn no DGT apresentaram diferença significativas ( $p < 0,05$ ) nas concentrações do período entre 2 dias para os demais dias de exposição no local IM e CP (Figura 8).

Para o local IM, foram observadas variações significativas de Cd entre os períodos de 6 e 10 dias de exposição. Entretanto, o Co mostrou diferença significativa para todos os períodos de exposição. Já para o Mn, foram verificadas diferenças significativas entre 2 e 6 dias, como também entre 6 e 10 dias.

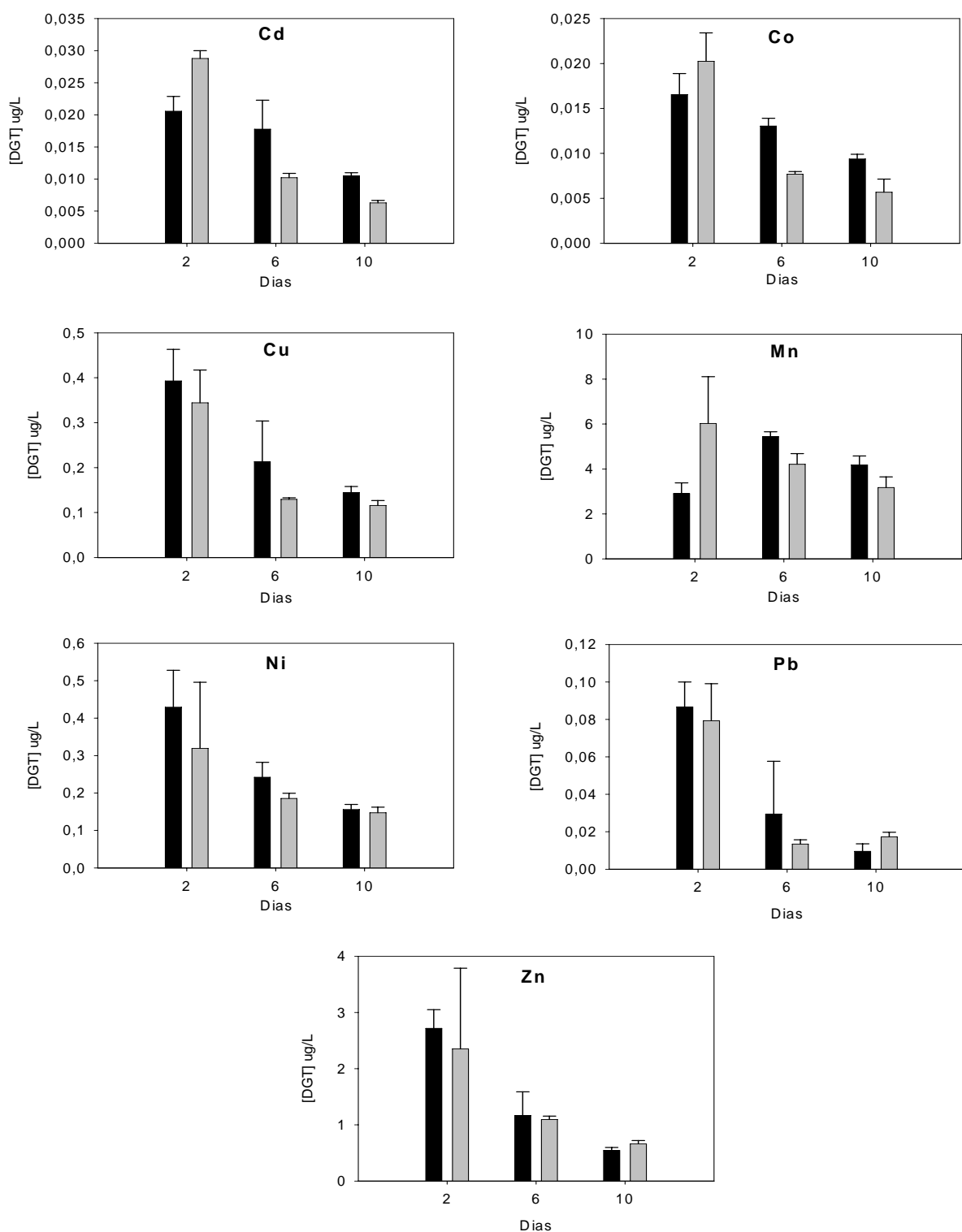


Figura 8: Concentração ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) para o sistema DGT nos locais IM (■) e CP (▒) relativo aos dias de exposição. Valores médios de DGT $\pm$  desvio padrão, n=2-3

No local CP, variações significativas nas concentrações do Cd foram observadas entre os períodos de 2 e 6 dias de exposição, como também entre 2 e 10 dias. Diferentemente do local IM, o Co e o Mn apresentaram em geral, variações significativas em suas concentrações no local CP, com excessão dos períodos entre os dias 6 e 10 de exposição.

Comparando os dois locais, IM e CP (Figura 8), os elementos Cu, Pb, Ni e Zn no DGT apresentaram a mesma faixa de concentrações, portanto, não mostrando diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) para todos os períodos de exposição. O elemento Mn teve diferença significativa entre os locais, apenas com 2 dias de exposição das unidades de DGT. Os elementos Co e Cd no DGT apresentaram distinto comportamento entre os locais, indicando que a fração lábil destes elementos está provavelmente condicionada a alguma fonte ou outro fator no ambiente.

Durante o período de exposição do sistema DGT por 10 dias, pode-se notar a grande variação na salinidade (Figura 6) do estuário ocasionada pela entrada de uma frente fria. Esta variação no regime hídrico pode ocasionar processos de mistura, estratificação e/ou formação de cunha salina no estuário (Kantin *et al.*, 1982; Hartmann *et al.*, 1991). Estas variações ocorridas podem ser distintas entre os dois locais em função da morfologia, que por sua vez podem alterar a concentração dos materiais suspensos e dissolvidos, e ocasionar ainda alterações na forma combinada destes compostos entre os dois locais. Aliados a isto, fortes ventos também ocasionam ressuspensão do sedimento. No estuário da Lagoa dos Patos, a concentração dos metais particulados é fortemente dependente dos processos de ressuspensão do sedimento de fundo (Niencheski *et al.*, 1997).

A fração total dissolvida de metais e a fração lábil-Chelex em água, assim como o sistema DGT analisados nos locais IM (Figura 9) e CP (Figura 10), mostraram resultados relativos a diferentes estratégias de especiação.

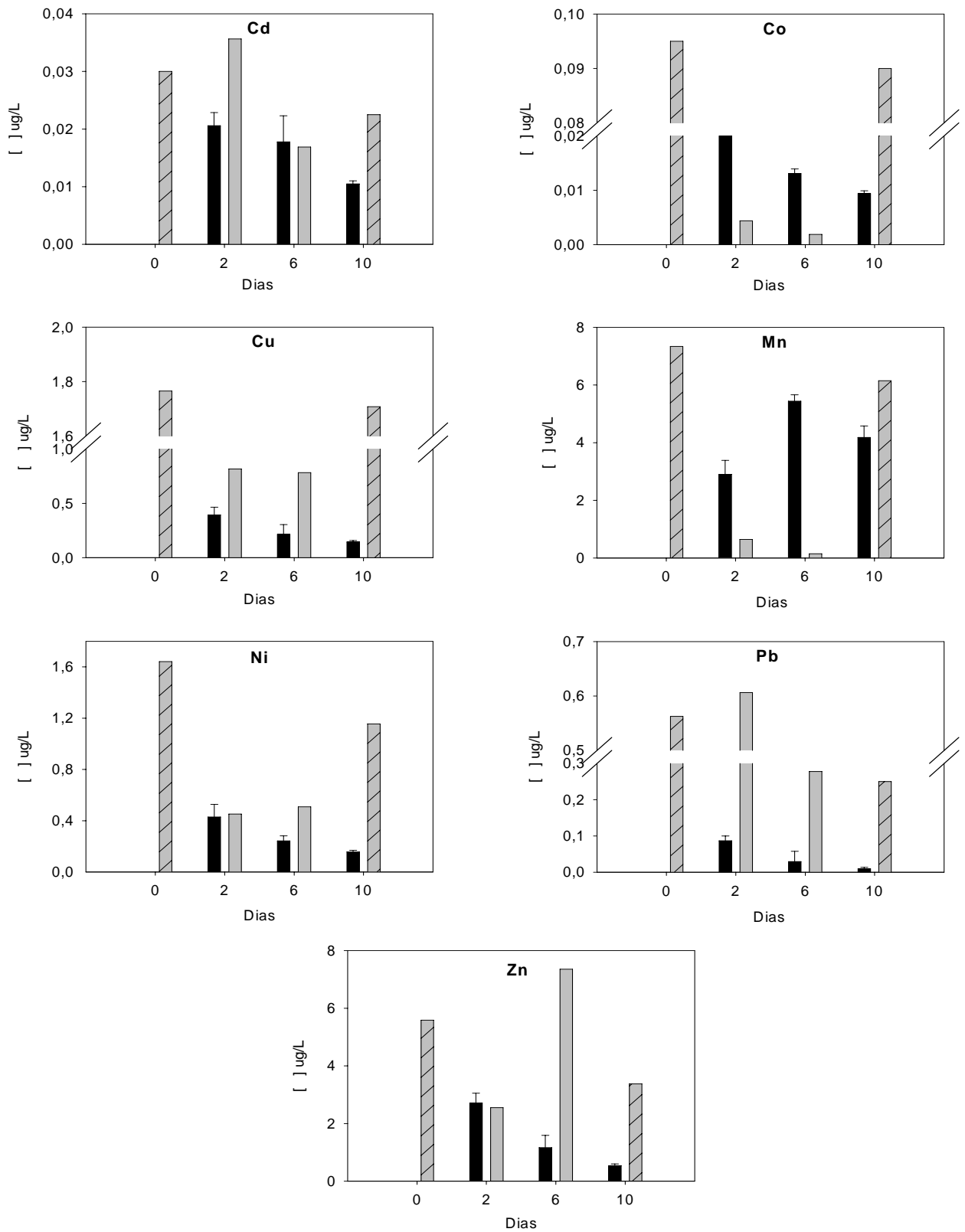


Figura 9: Concentração ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) de metais na água na fração total dissolvida (hatched) (0 e 10 dias) e na fração lábil-Chelex (grey) (2 e 6 dias) e no sistema DGT (black) com 2, 6 e 10 dias de exposição no local IM. Valores médios de DGT  $\pm$  desvio padrão, n=2-3

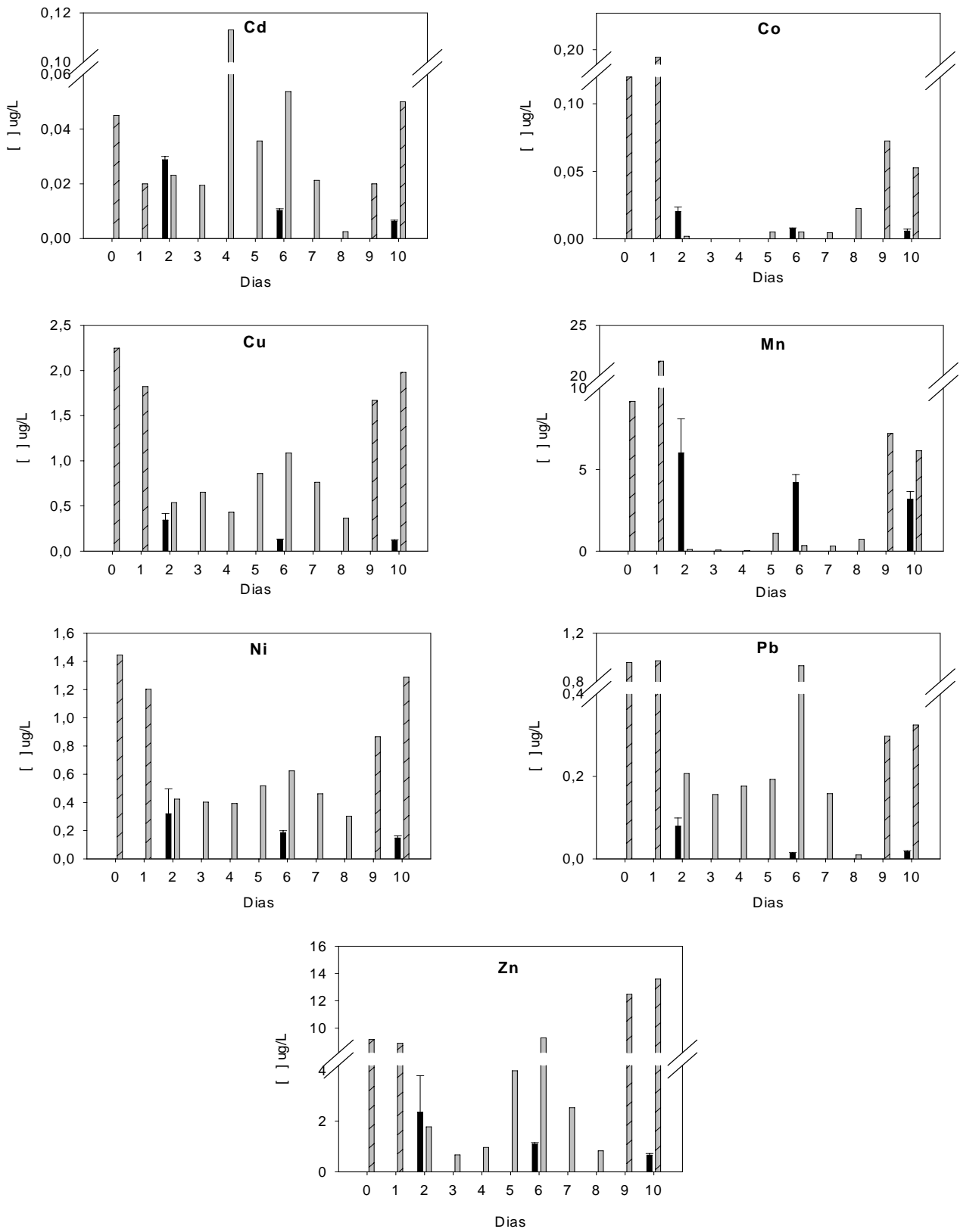


Figura 10: Concentração ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) na água na fração total dissolvida (hatched) (0, 1, 9 e 10 dias) e na fração lábil-Chelex (grey) (2 a 6 dias) e no sistema DGT (black) com 2,6 e 10 dias de exposição no local CP. Valores médios de DGT $\pm$  desvio padrão, n=2-3

Como esperado, diferenças foram observadas havendo uma tendência da fração total dissolvida na água ser superior a fração lábil-Chelex. Analisando os resultados de uma forma geral para ambos locais IM e CP, Co e Mn mostraram maiores concentrações no DGT, enquanto, que Cd, Cu, Ni, Pb e Zn indicaram maiores concentrações na fração lábil- Chelex (Figuras 9 e 10). As concentrações de Cd na água apresentaram algumas exceções, indicando uma grande variação entre as técnicas obtendo-se valores lábil-Chelex superiores aos da fração dissolvida ao longo do período de amostragem do sistema DGT (Figuras 9 e 10). Embora o sistema DGT ofereça a fração lábil, estas espécies obtidas diferem das espécies da fração lábil-Chelex devido a diferença cinética dos íons metálicos, em função da espessura da camada difusiva do sistema DGT (Zang, H. comunicação pessoal).

O Co e o Mn apresentaram uma tendência muito semelhante na coluna d'água para a fração total dissolvida e fração lábil-Chelex, em ambos locais. Para estes locais foi realizada uma correlação entre as amostras correspondentes a fração total dissolvida (Figura 11), entre estes dois elementos, demonstrando um alto grau de afinidade (Spearman  $R=0,82$ ).

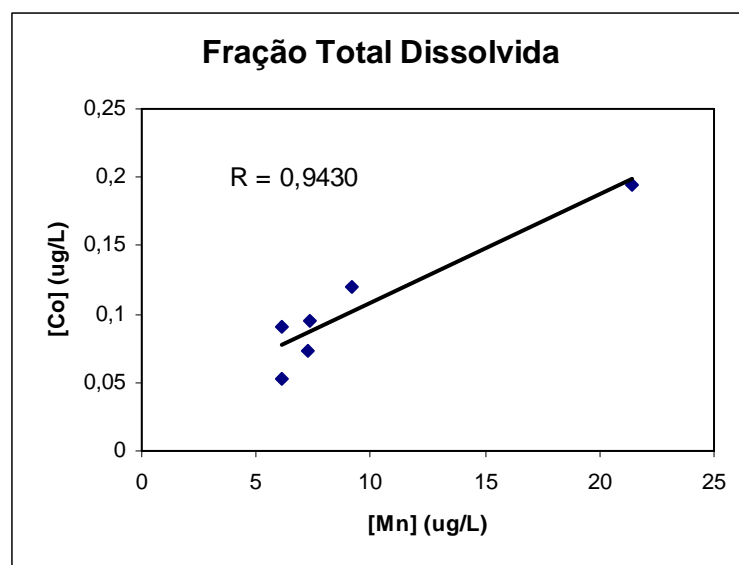


Figura 11: Correlação entre os elementos Co e Mn referentes a fração total dissolvida



Este resultado mostra a mesma correspondência entre estes dois elementos. Em um estudo realizando um perfil vertical no Lago Paul (Michigan, USA) (Lienemann *et al.*, 1997), onde evidenciou-se, que os ciclos biogeoquímicos liminológicos do Co e Mn estão interligados e isto acontece, por que ocorre uma adsorção específica entre o Co e óxido de manganês. É estabelecido que o óxido de manganês formado na superfície de bactérias são ricos em Co, quando comparado ao valor observado na coluna d'água, ou que ainda o Co é bioacumulado por óxido de manganês contido na superfície dos microorganismos. Embora seja um ambiente distinto (água doce), pode-se supor que a diferença entre ambientes não seja capaz de alterar esta afinidade entre estes dois elementos.

As alterações ocorridas na coluna d'água, através das mudanças de salinidade, demonstraram seu grau de influência para os dois locais. Para estes locais, através das observações, é possível perceber a correspondência entre ambos na alteração nas medições realizadas para a água e o DGT para estes elementos.

Portanto, sugere-se que as altas taxas de variação climatológicas de salinidade presenciadas durante o período de exposição podem ter influenciado mais expressivamente nas concentrações encontradas através do sistema DGT.

Como os dados fornecidos para a água (lábil-Chelex) e DGT representam os primeiros efetuados para a fração lábil torna-se importante a assimilação das respostas em função da discussão entre os trabalhos anteriores realizados no estuário que, mesmo correspondendo a fração do material suspenso ou a fração total forneçam embasamento para as respostas apresentadas pelo sistema, corroborando para um maior entendimento da aplicação da técnica para o estuário.

#### **4.1.4 Considerações sobre o longo período de exposição**

Um logo período de exposição pode provocar alterações no acúmulo de metais no sistema DGT. A variação no acúmulo é associada a formação de *biofilm*.

O *biofilm* ocorre em todas as classes de águas, quando organismos se aderem e crescem sobre a membrana da camada difusiva. O *biofilm* pode ocasionar dois efeitos. Primeiramente, a presença de uma camada de organismos pode diminuir as propriedades difusivas do DGT. E, por último, alguns dos organismos podem adsorver e acumular alguns íons metálicos, removendo-os da solução e tornando a leitura dos elementos imensuráveis (Li *et al.*, 2005). Os efeitos ocasionados sobre a membrana de acetato de celulose são muito menores, quando comparados com os que podem acontecer ao gel íon-permeável, isto ocorre porque o gel é muito hidrofílico (Bitter, 1991) e não possui resistência ao *biofilm*.

Durante o período de exposição entre 6 a 10 dias no estuário, foi observado material aderido em algumas unidades do sistema DGT, mas não foi possível demonstrar a formação de *biofilm* nas unidades de DGT.

Estudos recentes realizados em estuários na Austrália, detectaram intensa formação de *biofilm* com 3 semanas (Schleich., 2002 apud (Li *et al.*, 2005) e com 1 semana (Dunn *et al.*, 2003) de exposição do sistema. Para o estuário da Lagoa dos Patos, a formação de *biofilm* já é observada a partir de 2 dias de exposição (Abreu, P. comunicação pessoal). Recentes estudos no canal de acesso do estuário, durante o verão de 2005, mostraram que em 10 dias de exposição das unidades de DGT, ocorre visivelmente a presença da macroalga *Enteromorpha sp* e início de fixação de alguns organismos. Isto demonstra, que durante o verão torna-se inviável a exposição de 10 dias (Marchese *et al.*, dados não publicados).

Um fator que pode interferir nas leituras realizadas através do sistema DGT é o tipo de constituinte associado ao metal. O coeficiente de difusão de cada elemento metálico é diferente e, estando estes agregados a compostos orgânicos, podem acarretar em uma maior influência na determinação da concentração através do sistema DGT por um acúmulo menor de massa devido ao maior tamanho e conseqüentemente, maior peso molecular. Em soluções sintéticas, quando os elementos metálicos estão agregados a complexos como ácidos húmicos

e fúlvicos assim como em ambientes com alta carga iônica, sua difusão é reduzida (Zhang *et al.*, 1999). Entretanto, também é descrito pela teoria que muitos dos compostos que permeiam a resina têm seus ligantes dissociados logo ao penetrarem no gel difusivo, em face disto, é difícil prever o grau de influência destes compostos para a determinação da concentração com o sistema DGT, principalmente por um longo período onde maior é o contato do sistema com a coluna d'água.

#### **4.2 Curto período de exposição das unidades de DGT**

No curto período de exposição (8 h) das unidades de DGT na água, os elementos Cd, Cu, Pb e Zn foram escolhidos para serem analisados por terem apresentado as maiores concentrações na fração total dissolvida em água em estudos pretéritos no estuário (Niencheski *et al.*, 1997; França *et al.*, 2000).

Embora os experimentos de curto período de exposição do DGT tenham sido realizados no Museu Oceanográfico (MO1 e MO2), local distinto no estuário com relação ao longo período de exposição do DGT, os resultados foram comparados em termos do comportamento do DGT para estes diferentes locais de exposição. São apresentados também o controle analítico do método das análises para este curto período de exposição.

##### **4.2.1 Salinidade, temperatura e turbidez**

A salinidade manteve-se constante, com leves oscilações para a exposição das unidades de DGT no Museu Oceanográfico, durante a salinidade intermediária (MO1) e a salinidade alta (MO2). A temperatura para ambos períodos também foi constante, enquanto, que a turbidez sofreu variações principalmente durante o experimento MO2 (Figura 12), onde foram observadas altas taxas de material em suspensão próximo as últimas horas de exposição.

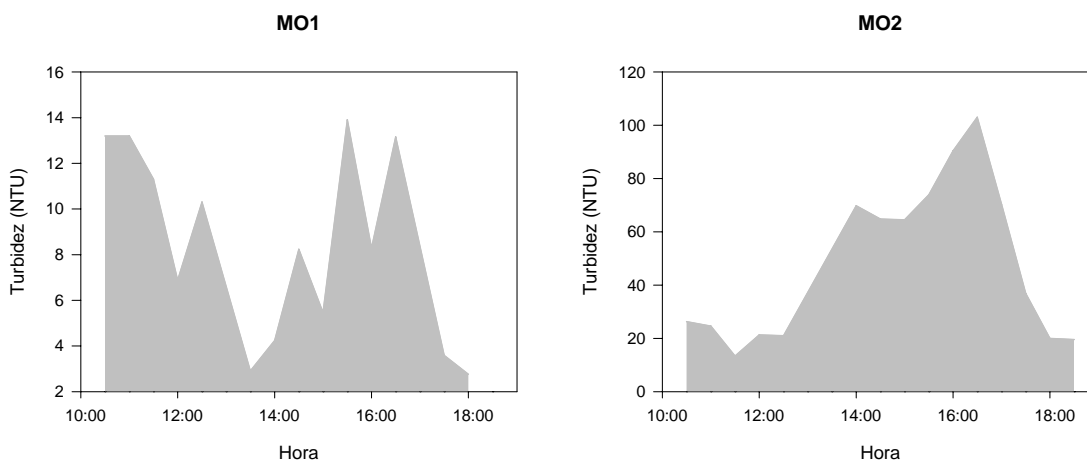


Figura 12: Turbidez da água observada durante os períodos de exposição das unidades de DGT em salinidade intermediária (MO1) e alta (MO2)

#### 4.2.2 Massa acumulada no sistema DGT.

Para os períodos de exposição em diferentes salinidades, o sistema DGT apresentou diferentes respostas para a massa de metais acumulada (Figura 13).

A massa dos elementos Cd, Cu e Pb mostraram uma tendência de acréscimo no período de exposição com salinidade intermediária (MO1), enquanto que o Zn demonstrou um decréscimo na massa acumulada ao longo das 8 horas de exposição das unidades de DGT para este mesmo período.

Durante a salinidade alta (MO2) as variações em massa foram semelhantes para todos os elementos analisados. Houve um aumento em massa após 2 h de exposição, com um declínio após 4 h e, então, novamente um acréscimo gradativo ao longo dos demais períodos de exposição.

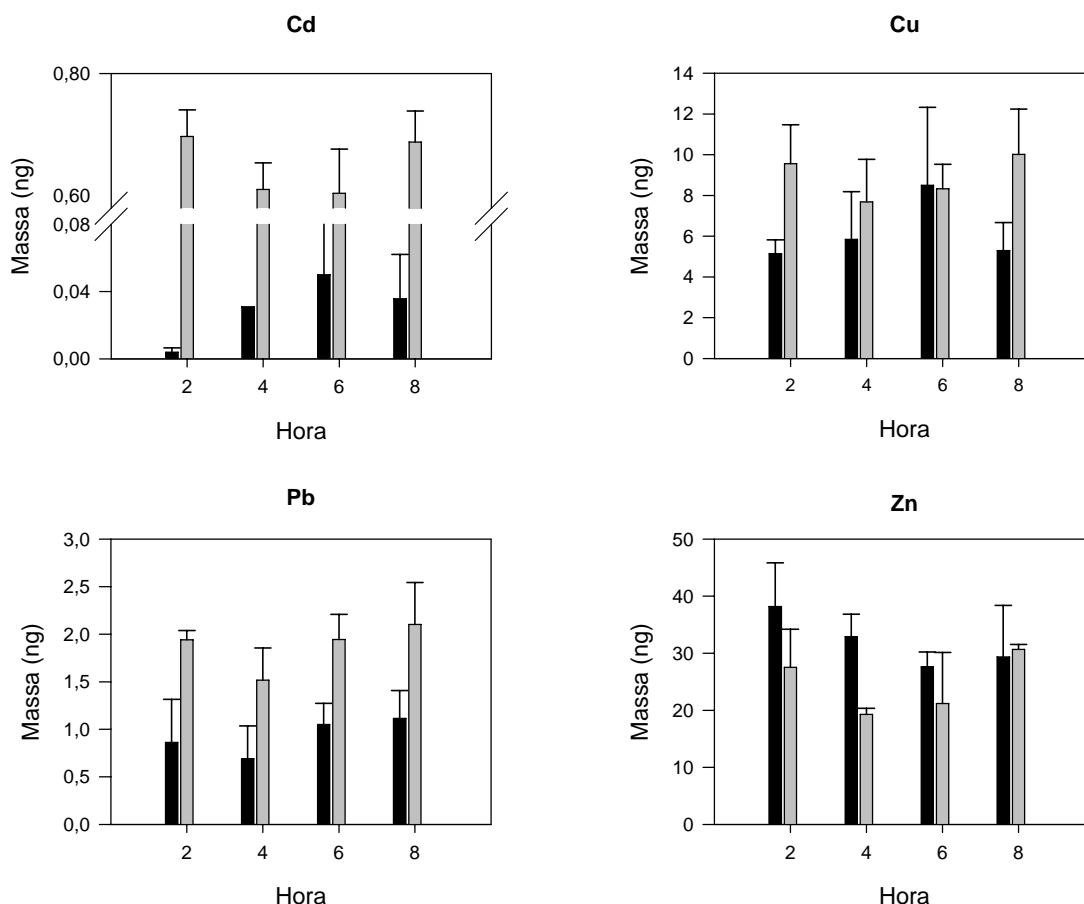


Figura 13: Massa acumulada (ng) no sistema DGT em salinidade intermediária (MO1 ■) e salinidade alta (MO2 ▒) durante o período total de 8 h de exposição. Valores médios  $\pm$  desvio padrão, n=2-3

#### 4.2.3 Concentração no DGT com curto e longo período de exposição

A concentração obtida para o sistema DGT, para o curto (8 horas) e longo período de exposição (10 dias), é apresentada na Figura 14.

A análise estatística para o curto período de exposição revelaram que para o MO1 (salinidade intermediária) não demonstrou diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os períodos de exposição para Pb e Cd. Decréscimo significativo ( $P < 0,05$ ) nas concentrações de Cu foram observadas entre 2 e 8 horas de exposição, e para o Zn entre 2 e 4 horas com os demais períodos de exposição.

Para o MO2 (salinidade alta) um decréscimo significativo nas concentrações de Cu, Cd, Pb e Zn foi evidenciado após 2 horas de exposição, não apresentando grandes variações entre os períodos subsequentes. Para o Cd ainda foi evidenciada uma diminuição significativa de 4 horas de exposição para as últimas horas de exposição.

A diferença de concentrações obtidas para um intervalo de 8 h de exposição (MO1 e MO2) foram comparadas entre si e com o experimento anterior (IM e CP), com 10 dias de exposição (Figura 14).

Algumas diferenças em termos de acúmulo de metais nas unidades de DGT foram observadas entre a salinidade intermediária (MO1) e alta (MO2), mais evidentes para os elementos Cd e Pb, que foram mais elevados durante a salinidade alta. Em função de o sistema DGT ter sido exposto em áreas relativamente rasas no estuário, a entrada de água no estuário aliado ao vento favorece a resuspensão dos sedimentos de fundo, podendo tornar os elementos traço disponíveis na coluna d'água. O aumento da salinidade pode também alterar a concentração das frações lábeis na água ocasionando dessorção do metal retido na matéria orgânica dissolvida e por consequência aumento da concentração do metal na fração lábil, conforme estudos observados para os elementos Cd, Cu e Zn (Lores *et al.*, 1998).

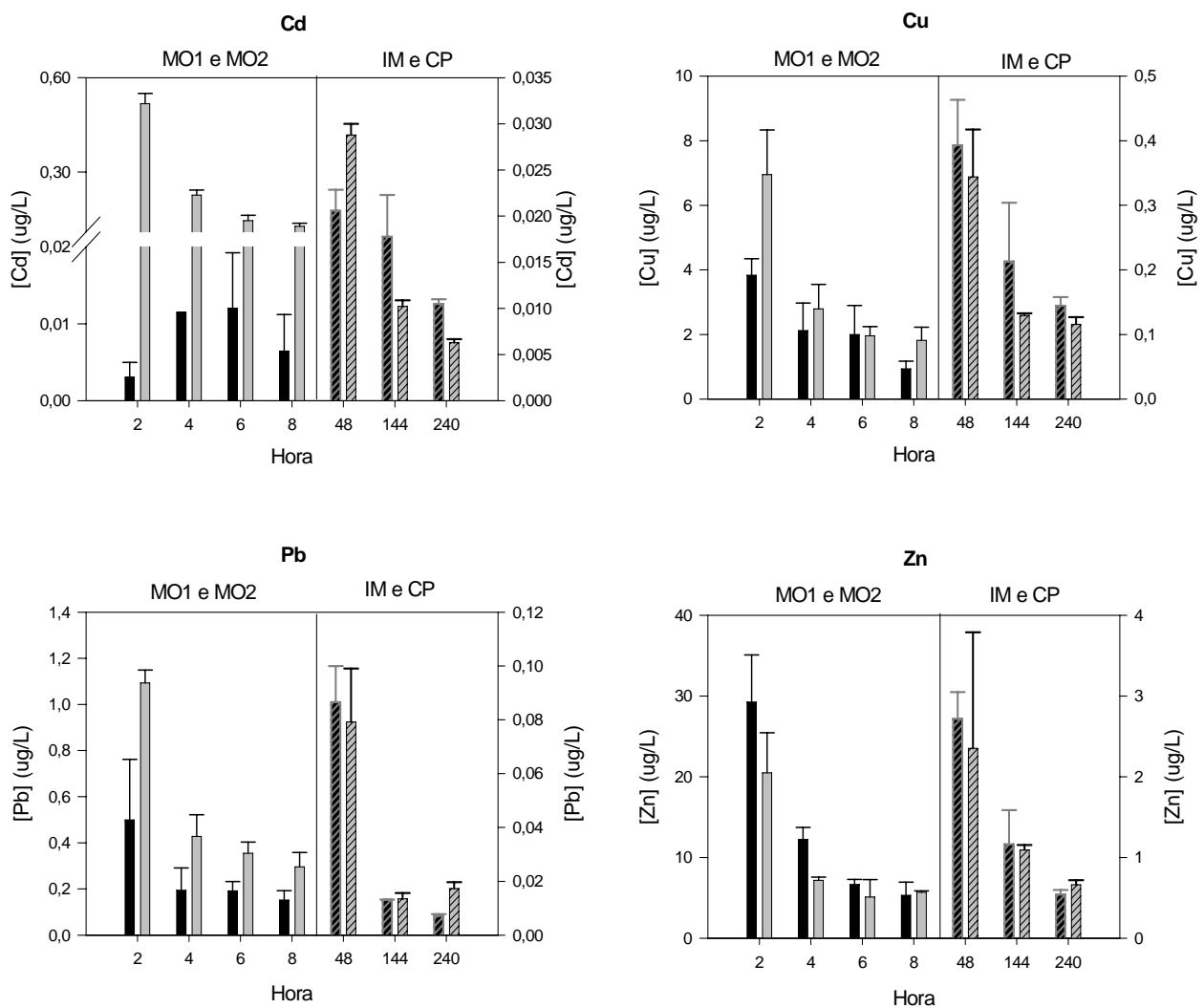


Figura 14: Concentração ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) para as unidades de DGT nos locais MO (MO1  e MO2 ) exposto durante 8 h, e IM () e CP () exposto durante 10 dias. Valores médios de DGT $\pm$  desvio padrão, n=2-3

É possível observar, que os resultados de Cd, Cu, Pb e Zn em sua fração lábil foram bem mais elevados nos locais do Museu Oceanográfico (MO) independentemente da salinidade, do que nos locais da Capitania dos Portos (CP) e da Ilha dos Marinheiros (IM). Estes resultados podem ser comprovados, pelo fato, da área do local MO estar mais próxima de várias fontes de despejos de esgoto sem tratamento provenientes da cidade, conforme evidenciado em trabalhos pretéritos (Almeida *et al.*, 1993; Santos *et al.*, 1997). Este fato pode estar também aliado à ressuspensão de sedimento ocorrida durante este período. Isto indica, que o sistema DGT conseguiu distinguir bem locais com diferentes aportes de metais traço.

Os resultados indicaram que houve uma tendência semelhante de decréscimo geral das concentrações no DGT ao longo do curto tempo de exposição. O mesmo foi evidenciado anteriormente para os locais IM e CP. Este fato se deve, provavelmente, a pouca variação de metais traço na coluna d'água ao longo de exposição no estuário das unidades de DGT. Isto é evidenciado através dos resultados de massa (ng) nas unidades (Figura 13), que apresentaram em geral um pequeno aumento gradativo depois da quarta até a oitava hora de exposição, mas não mostrando um aumento proporcional com o tempo de exposição. Com isto, na equação do cálculo da concentração, enquanto a massa não aumenta proporcionalmente, o tempo aumenta, de forma que no cálculo final ocorreu um decréscimo da concentração nas unidades de DGT. Esta hipótese foi confirmada com um dos elaboradores do sistema DGT (Zhang H., comunicação pessoal).

Recente estudo em laboratório indica, que o coeficiente de difusão ( $D$ ) tende a diminuir com o aumento da salinidade (Li *et al.*, 2005), podendo diminuir o acúmulo de massa de metais no gel da resina e conseqüentemente diminuindo, assim, a resposta da concentração. O cálculo da concentração leva em consideração o coeficiente de difusão do íon livre, que é maior que o coeficiente de difusão de um metal complexado. O número utilizado no denominador como coeficiente de difusão para o cálculo da concentração é correspondente apenas a uma fração, ao íon livre. Entretanto, no presente estudo a variabilidade do coeficiente de difusão com relação a salinidade não foi considerada, visto que a tendência dos resultados não mudaria.

#### **4.2.4 Considerações sobre os períodos de exposição**

A pouca variabilidade de metais na coluna d'água nos locais estudados refletiu na baixa concentração de metais na fração lábil amostrado pelo sistema DGT.



Devido a estas baixas concentrações o período de 8 h de exposição pode ser considerado muito curto e o longo período de 10 dias pode trazer problemas com o *biofilm*, principalmente na época do verão.

Um tempo maior de exposição pode ser capaz de aumentar a sensibilidade do método (Webb *et al.*, 2002; Warnken *et al.*, 2004; Warnken *et al.*, 2004), quando as concentrações de metais forem muito baixa. As unidades de DGT poderiam ser expostas no estuário da Lagoa dos Patos por um período de alguns dias, sem necessidade de se retirar algumas unidades ao longo do período de exposição. Isto pode minimizar os problemas de interpretação dos resultados, devido a complexidade do sistema estuarino, reduzir o número de amostragens e o custo das próprias unidades de DGT utilizadas.

#### 4.3 Especificação dos metais em água

Algumas amostras de água coletadas entre os experimentos MO1 e MO2 foram submetidas a dois tratamentos distintos. Estas amostras apresentavam diferenças quanto à salinidade e material em suspensão.

As amostras de água filtradas e passada na micro-coluna Chelex 100 forneceram a fração lábil e as amostras previamente irradiada com UV, antes de passar pela micro-coluna, quantificou a fração total dissolvida (lábil e inerte).

Apesar da coluna de resina Chelex-100 já possuir sua eficácia comprovada e ser largamente utilizada, o novo sistema montado para o presente estudo foi testado. A eficiência da coluna foi testada em termos de recuperação para Cd, Cu e Pb (Tabela 3).

Tabela 4: Percentual de recuperação na coluna Chelex 100

	<b>Cd</b>	<b>Cu</b>	<b>Pb</b>
<b>Fator de Rec.(%)</b>	95,57	88,70	111,00

Os resultados demonstraram que Cd, Cu e Pb possuem um bom percentual de recuperação, quando comparado a outro estudo realizado com a resina (Pai, 1988).

Na Tabela 5 podemos observar a concentração dos elementos Cd, Cu, Pb e Zn antes e após a aplicação do UV. Amostras submetidas à radiação UV, e passadas pela coluna, possuíram em geral elevação da fração de metais na fração total dissolvida (lábil e inerte), indicando que grande parte destes elementos se encontravam ligados a outras moléculas inertes e/ou complexos orgânicos.

Tabela 5: Concentrações obtidas ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) dos elementos Cd, Cu, Pb e Zn com aplicação e sem aplicação da radiação UV

Amostras	Cd		Cu		Pb		Zn	
	Chelex ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	UV Chelex ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Chelex ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Chelex ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	UV Chelex ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Chelex ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	UV Chelex ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	UV Chelex ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )
1	0,06	0,13	0,91	0,47	0,65	6,82	27,80	1,15
2	0,02	0,09	1,06	0,42	0,43	28,67	24,28	1,68
3	0,06	0,06	0,79	0,25	0,42	2,92	26,40	1,55
4	0,05	0,07	0,76	-	-	4,13	23,85	1,23
5	0,01	0,08	0,62	0,09	0,65	4,55	30,39	1,41
6	0,07	0,10	0,42	0,35	0,47	1,80	13,37	1,09
7	0,05	0,05	0,72	0,45	0,40	15,18	26,34	2,36

A Figura 15 demonstra os resultados das concentrações obtidas dos metais Cd, Pb, Cu e Zn para amostras de água irradiadas e não-irradiadas, que foram submetidos à análise estatística de correlação pelo método de Spearman.

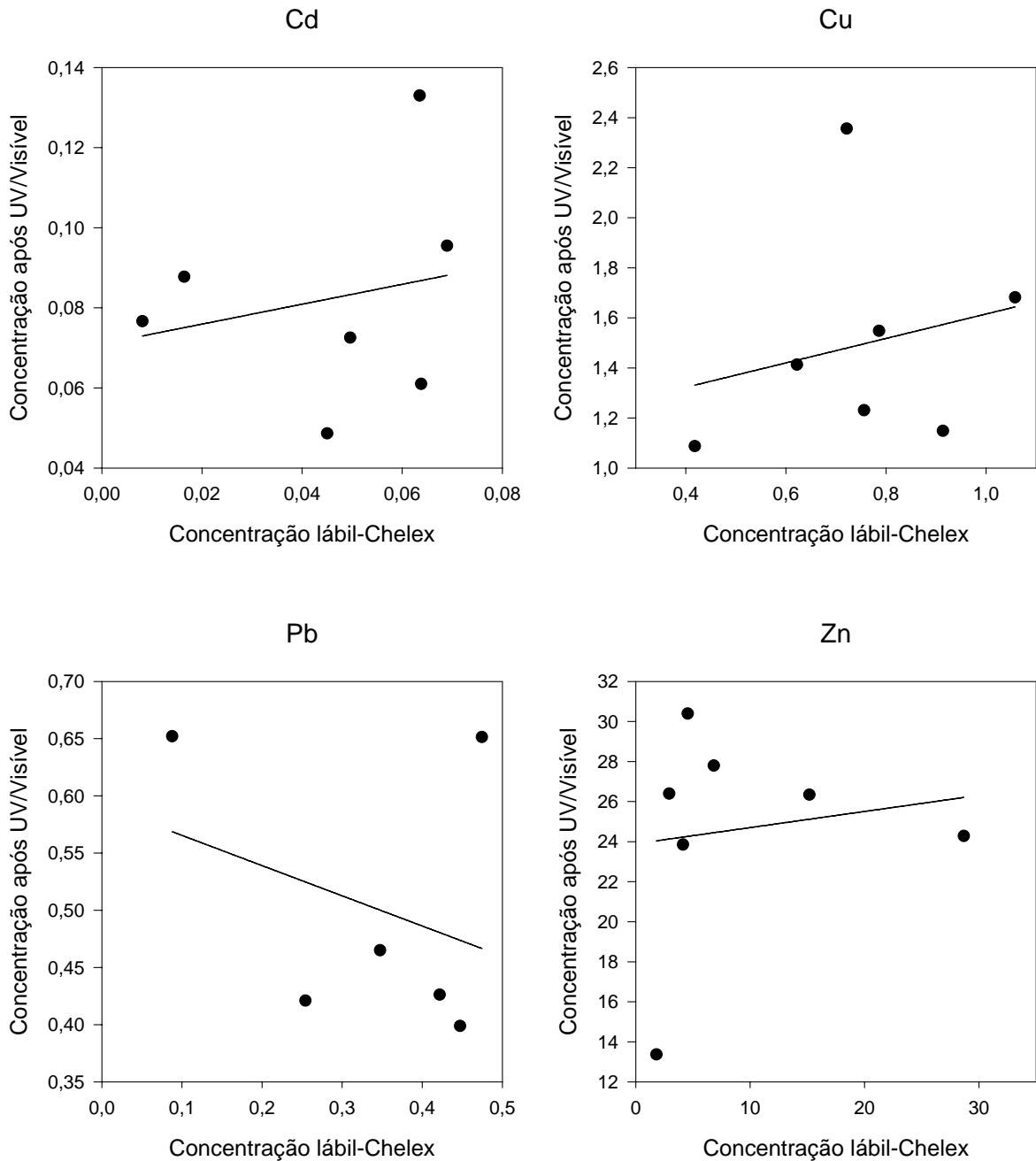


Figura 15: Correlação entre a concentração ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) das amostras irradiadas (UV) e não-irradiadas (lábil-Chelex)

A análise revelou que os tratamentos não demonstraram nenhuma correlação significativa (Spearman  $R \leq 0,50$ ) como mostra a Figura 15. Isto indica que as concentrações entre estas duas frações ocorrem em proporções muito variáveis para o estuário. Porém, outros fatores não considerados como salinidade e a quantidade de material em suspensão na água podem estar refletindo nos resultados encontrados.

A aplicação da irradiação UV na análises de Pb e Cu em águas oceânicas (Helmers, 1991) indicaram que para o Pb não houve variação nas concentrações deste elemento depois da irradiação da amostra. Já para o Cu, houve uma diminuição em suas concentrações após a irradiação. Provavelmente, a diferença destes resultados com o presente estudo esteja relacionada com a quantidade distinta de complexos orgânicos existentes em água oceânica e estuarina e dos distintos processos biogeoquímicos entre estes ambientes.

Comparando os resultados com o de outro trabalho realizado em águas doces e estuarinas (Bond *et al.*, 1986), foi verificada uma proporcionalidade semelhante para os valores obtidos antes do UV e após o UV para os elementos Cd, Cu e Pb. Porém, as frações de zinco, no presente estudo, tendem a ser mais elevadas do que a observada no estuário citado.

As diferentes formas de especiação dos metais, na Tabela 6, referentes as coletas realizadas nas exposições em salinidade intermediária (MO1) e salinidade alta (MO2), indica as concentrações obtidas em  $\mu\text{g.L}^{-1}$  pelo sistema DGT (com 8 horas de exposição), lábil-Chelex e da fração total dissolvida obtida por tratamento UV e também passada pela coluna.

Tabela 6: Concentrações ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) de metais para MO1 e MO2 com o sistema DGT através de 8 horas de exposição (média, n=3) e para a fração fração lábil-Chelex (mín. e máx.) e a fração total dissolvida obtida por irradiação com UV (mín. e máx.) através de amostras coletadas durante o período de exposição do sistema

	MO1			MO2		
	DGT (n=3)	Lábil-Chelex (mín. e máx.)	Fração total dissolvida (UV) (mín. e máx.)	DGT (n=3)	Lábil-Chelex (mín. e máx.)	Fração total dissolvida (UV) (mín. e máx.)
<b>Cd</b>	0,01	0,008 - 0,077	0,06 - 0,13	0,19	0,009 - 0,083	0,05-0,10
<b>Cu</b>	1,96	0,62 - 1,06	1,15 - 1,68	3,32	0,42 - 5,83	1,09 - 2,36
<b>Pb</b>	0,20	0,09 - 0,54	0,42 - 0,65	0,42	0,35 - 0,45	0,40 - 0,47
<b>Zn</b>	8,52	1,93 - 28,67	23,85 - 30,40	9,13	1,80 - 21,71	13,37 - 26,34

Através da Tabela 6, é possível observar que as concentrações obtidas através do sistema DGT para os metais Cd, Pb e Zn para o MO1, e Pb e Zn, para o MO2, estiveram na mesma faixa dos valores obtidos para a concentração lábil-Chelex e a fração total dissolvida, obtidas com o tratamento UV. Concentrações mais elevadas para o DGT, em relação as demais frações, foram encontradas para o elemento Cu, para o período de exposição MO1, e Cu e Cd, para o período de exposição MO2. Para o elemento Cu, é possível que a presença de um número maior de complexos de baixo peso molecular tenha refletido no resultado observado como já relatado por trabalho pretérito com o sistema DGT (Gimpel *et al.*, 2003). É possível que para o elemento Cd o mesmo possa ocorrer.

Os métodos aplicados de especiação, DGT e Chelex, atuam de forma diferente. O sistema DGT possui um gel difusivo que seleciona a fração lábil, enquanto que a Chelex oferece uma maior variabilidade dos resultados devido o processo de manipulação da amostra, como a filtração, acidificação e a passagem pela coluna e, por isto, a especiação com Chelex proporciona resultados que podem distinguir dos obtidos com o sistema DGT.

## 5. O SISTEMA DGT E METAIS LÁBEIS NO ESTUÁRIO

Apesar das variabilidades dos parâmetros físico-químicos e conseqüentemente dos elementos metálicos em água, que ocorrem normalmente em estuários, o sistema DGT mostrou ser uma técnica sensível para a quantificação de metais traço lábeis no estuário da Lagoa dos Patos.

Os dados obtidos do DGT para os elementos Cd, Cu, Pb e Zn foram comparados com outros locais e ambientes considerando-se o tempo de exposição para cada um dos locais (Tabela 7). Em geral as concentrações dos elementos nos locais da Ilha dos Marinheiros (IM) e da Capitania dos Portos (CP) estão dentro da faixa de concentrações encontradas para outros estuários.

Tabela 7: Comparação das concentrações médias ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) de Cd, Cu, Pb e Zn obtidas com o DGT no presente estudo com distintos ambientes e localidades e seus respectivos períodos de exposição em horas

Locais e exposições	Cd ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Cu ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Pb ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Zn ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Fonte
IM 48 h	0,018	0,36	0,102	2,43	Presente estudo
CP 48 h	0,026	0,28	0,093	2,09	Presente estudo
MO1 8 h	0,011	1,96	0,200	8,52	Presente estudo
MO2 8 h	0,195	3,32	0,420	9,13	Presente estudo
Savage River 24 h	0,045	7,30	-	-	(Denney <i>et al.</i> , 1999)
Pier Four 24 - 96 h (a)	-	2,45	-	-	(Twiss <i>et al.</i> , 2002)
Vineyard Sound, MA 24 - 96 h (b)	-	0,85	-	-	(Twiss <i>et al.</i> , 2002)
Lake Greiften 48 ou 36 h	0,001	0,42	0,006	0,28	(Odzak <i>et al.</i> , 2002)
Horseshoe Bay 24 h	-	0,31	0,017	38,40	(Warnken, J. <i>et al.</i> , 2004)
Marine Stadium 24 h	-	0,45	0,032	7,30	(Warnken, J. <i>et al.</i> , 2004)

(a) área impactada

(b) área não impactada

Por ser um ambiente do qual se tem um maior conhecimento, podemos inferir sobre algumas características do estuário da Lagoa dos Patos, referentes ao período de exposição de 48 horas das unidades de DGT (IM e CP).

O local CP está inserido em uma região de grande fluxo de embarcações (Porto Velho) dentro de uma área urbanizada e próxima a indústrias de pescado. O local IM, bem diferente do local CP, possui uma pequena população que vive da pesca e da agricultura familiar. A diferença entre as localidades, quanto ao aporte de resíduos, contradiz o observado para os elementos Cu, Pb e Zn que apresentaram para o local IM, valores médios da concentração do sistema DGT superiores ao local CP (Tabela 7). Entretanto, os despejos urbanos, industriais e oriundos da atividade portuária da cidade de Rio Grande podem ser mascarados pela alta ressuspensão do sedimento de fundo (Niencheski e Windom, 1994) o que pode ter ocorrido para estes elementos no local CP. Embora este último estudo seja referente à fração particulada, a afirmação pode ser relevante para a método DGT devido à interação existente entre o material particulado e fração lábil dissolvida (Lead *et al.*, 1999).

No local do Museu Oceanográfico (MO) além das concentrações obtidas para todos elementos no DGT terem sido mais elevadas em alta salinidade (MO2), do que em salinidade intermediária (MO1), o Cu e o Pb mostraram valores mais elevados, quando comparados com outras áreas estuarinas. Como mencionado previamente, em águas salinas ocorrem processos de dessorção, que podem liberar íons metálicos aderidos a matéria orgânica dissolvida (Lores *et al.*, 1998), podendo explicar as diferenças nas concentrações de Cd, Cu, Pb e Zn entre as exposições MO1 e MO2.

A presença do Cu na água é bem comum em localidades próximas a despejos domésticos, devido a sua grande afinidade com a matéria orgânica (Roux *et al.*, 1998), o que pode indicar a fonte de Cu na área de estudo, sob influência de intensa contribuição de despejos residuais urbanos. Estudos realizados com o sistema DGT em um estuário impactado



e outro não impactado (Twiss *et al.*, 2002), revelaram uma concentração similar ao observado nas exposições MO1 e MO2. Outra influência que pode ocasionar um acréscimo de Cu na coluna d'água principalmente em marinas e zonas portuárias, ou próximo a elas, são as tintas a base de epóxi utilizadas como antiincrustante no casco de embarcações, estas contém em sua fórmula o elemento Cu na forma de óxido de cobre, podendo este ser disponibilizado para a coluna d'água ocasionando um acréscimo como observado em alguns estudos (Valkirs *et al.*, 2003; Schiff *et al.*, 2004). Possivelmente alguma influência na resposta do DGT para o Cu se deva à localização do MO estar entre o Iate Clube e a zona portuária da cidade do Rio Grande. Um fato também a se considerar para o local MO, é a maré enchente, que pode ressuspender o sedimento de fundo, principalmente em áreas rasas como a do local de estudo, alterando a concentração dos elementos dissolvidos.

Para o local MO e suas referidas exposições do sistema DGT (MO1 e MO2) o elemento Pb demonstrou valor mais elevado para o MO2 (salinidade alta), do que os observados para o MO1 (salinidade intermediária). Em estudos anteriores para o estuário da Lagoa dos Patos (Windom *et al.*, 1999) foram encontrados altos valores de Pb aliados a altas salinidades podendo estes estarem relacionados a ressuspensão de fundo.

Outro fator importante em questão é a poluição atmosférica. Estudos realizados sobre a poluição do ar na Cidade de Rio Grande e São José do Norte, evidenciaram um processo de contaminação atmosférica por chumbo na cidade de Rio Grande e na região estuarina ao redor da cidade (Vanz *et al.*, 2003).

O alcance da pluma formada pela emissão das fábricas presentes na cidade de Rio Grande ainda não foram determinadas, assim como a sua relação com a concentração dos elementos traço na coluna d'água. Entretanto, é importante ressaltar este fato, pois talvez muitos dos problemas de contaminação encontrados possam estar de alguma forma também relacionados a estas emissões atmosféricas.

De uma maneira geral, a técnica do DGT conseguiu identificar áreas no entorno da cidade de Rio Grande com distintos aportes de metais traço, o que indica que esta técnica possui boa sensibilidade e pode ser aprimorada, para ser aplicada em futuros estudos no estuário.

Embora a composição da água e os processos biogeoquímicos possam diferir entre ambientes aquáticos distintos, a principal vantagem do sistema DGT é ser uma ferramenta importante para ser aplicada em estudos de monitoramento de regiões geograficamente distintas.

## 6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

A avaliação da técnica de DGT no estuário da Lagoa dos Patos indicou o melhor tempo de exposição das unidades em água, provando a aplicabilidade deste sistema de acúmulo passivo de metais lábeis em água estuarina. Esta técnica de especiação também demonstrou ser distinta das demais técnicas de extração de metais realizadas em laboratório.

Através das comparações efetuadas entre amostras de água irradiadas e não irradiadas com UV, conclui-se que a técnica de especiação de metais com o uso da resina Chelex 100 é altamente seletiva para a fração lábil na coluna d'água. Destacando-se também a importância da utilização do UV/Visível na determinação de metais na fração total, caso a água apresente altas concentrações de compostos orgânicos.

Para os resultados demonstrados entre a fração lábil-Chelex e DGT, recomenda-se que cuidados devam ser tomados na interpretação de resultados, por serem técnicas distintas, não fornecendo assim resultados comparáveis.

Longos períodos de exposição podem interferir na sensibilidade da técnica DGT, caso o ambiente apresente variações diárias e até horárias de salinidade. A formação do *biofilm*, principalmente no verão, deve ser considerada por poder também subestimar os dados obtidos com a técnica.

Condições de pouca variabilidade de salinidade, como o demonstrado para o curto período de exposição, favorecem a interpretação dos resultados conforme o aumento do intervalo de exposição das unidades de DGT.

Considera-se para o presente estudo, que o intervalo de exposição das unidades de DGT que melhor possa refletir as condições do ambiente, corresponda a um período de tempo fixo entre 8 e 48 horas, desde que não exponha o sistema a altas taxas de variabilidade.

Este trabalho de especiação de metais com a técnica DGT no estuário da Lagoa dos Patos fornece os primeiros dados a respeito da concentração destes elementos para a fração

lável. Tendo em vista, o aumento do parque industrial promovido por instalações de estaleiros na Cidade de Rio Grande, estes dados obtidos servem de base comparativa para estudos futuros, a fim, de avaliar o comportamento destes elementos frente a possíveis aportes no estuário da Lagoa dos Patos. Atenção deve ser dada aos elementos Cd, Cu, Pb e Zn, para obter maior entendimento sobre o comportamento destes elementos, principalmente durante alta salinidade no estuário.

Sugere-se que mais estudos devem ser conduzidos no estuário, para se obter um melhor entendimento da técnica, devido ao baixo custo da mesma e por ser capaz de oferecer resultados mais reais em termos de biodisponibilidade dos metais traço.

## 5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, M. T. D. A., Baumgarten, M. G. Z. e Rodrigues, R. M. D. S. Fontes de contaminação das águas que margeiam a cidade do Rio Grande. Fundação Universidade Federal de Rio Grande. Rio Grande. 1993
- Andrade, C. F. F. D. Uma Introdução à Bioinorgânica. Instituto de Química e Geociências, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2003. 46 p.
- Baumgarten, M. G. Z. e Niencheski, L. F. H. O Estuário da Laguna dos Patos: variação de alguns parâmetros físico químicos da água e metais associados ao material em suspensão. Ciência e Cultura, v.42(5/6), p.390-396. 1990.
- Bitter, J. G. A. Transport Mechanisms in Membrane Separation Processes. New York: Plenum Press. 1991
- Bond, A. M. e Luscombe, D. L. The influence of ultra-violet irradiation on the determination of nickel and cobalt in natural waters by adsorption voltammetry. Electroanalytical Chemistry, v.214, p.21-29. 1986.
- Bourg, A. C. M. Speciation of Heavy Metals in Soils and Groundwater and Implications for Their Natural and Provoked Mobility. In: W. Salomons, U. Förstner e P. Mader (Ed.). Heavy Metals Problems and Solutions. Germany: Springer, 1995. Speciation of Heavy Metals in Soils and Groundwater and Implications for Their Natural and Provoked Mobility, p.412
- Calliari, L. J. O Ambiente e a Biota do Estuário da Lagoa dos Patos: Características Geológicas. In: U. Seeliger, C. Odebrecht e J. P. Castello (Ed.). Os Ecossistemas Costeiros e Marinheiros do Extremo Sul do Brasil. Rio Grande: Ecocientia, 1998. p. 341
- Cavicchioli, A. e Gutz, I. G. R. O uso de radiação ultravioleta para o pré tratamento de amostras em análise inorgânica. Química Nova, v.26, 2003, p.913-921. 2003.
- Chistian, G. D. Analytical Chemistry: John Wiley & Sons, Inc. 1994
- Clark, R. B. Marine Pollution. U.K.: Clarendon Press. 1997. 161 p.
- Davison, W. e Zhang, H. In situ speciation measurements of trace components in natural waters using thin-film gels. Nature, v.367, 10 february 1994, p.546-548. 1994.

- Denney, S., Sherwood, J. e Leyden, J. In situ measurements of labile Cu, Cd and Mn in river waters using DGT. The Science of The Total Environment, v.239, n.1-3, 1999/10/1, p.71-80. 1999.
- Dunn, R. J. K., Teasdale, P. R., Warnken, J. e Schleich, R. R. Evaluation of the Diffusive Gradient in a Thin Film Technique for Monitoring Trace Metal Concentrations in Estuarine Waters. Environmental Science & Tecnology, v.37, n.12, 2003, p.2794-2800. 2003.
- França, R. G., Niencheski, L. F. H. e Baraj, B. Normalizantes Geoquímicos Para a Região Estuarina da Lagoa dos Patos. XIII Semana Nacional de Oceanografia. 2000
- Garcia, C. A. E. Características Hidrológicas. In: U. Seeliger, C. Odebrecht e J. P. Castello (Ed.). Os Ecossistemas Costeiro e Marinho do Extremo Sul do Brasil. Rio Grande, RS: Editora Ecoscientia, 1998. Características Hidrológicas, p.18-21
- Gimpel, J., Zhang, H., Davison, W. e Edwards, A. C. In Situ Trace Metal Speciation in Lake Surface Waters Using DGT, Dialysis, and Filtration. Environmental Science & Tecnology, v.37, p.138-146. 2003.
- Gimpel, J., Zhang, H., Hutchinson, W. e Davison, W. Effect of solution composition, flow and deployment time on the measurement of trace metals by the diffusive gradient in thin films technique. Analytica Chimica Acta, v.448, n.1-2, 2001/12/3, p.93-103. 2001.
- Guéguen, C., Belin, C., Thomas, B. A., Monna, F., Favarger, P.-Y. e Dominik, J. The effect of freshwater UV-irradiation prior to resin preconcentration of trace metals. Analytica Chimica Acta, v.386, 1999, p.155-159. 1999.
- Hartmann, C. e Shettini, C. A. F. Aspéctos Hidrológicos na Desembcadura da Laguna dos Patos, RS. Revista Brasileira de Geociência, v.21, 1991, p.371-377. 1991.
- Helmerts, E. Untersuchungen zur horizontalen Verteilung ausgewählter Spurenmetalle im Atlantischen Ozean. Universiade de Bremen, 1991. 272 p.
- Horowitz, A. J., Lum, K. R., Garbarino, J. R., Hall, G. E. M., Lemieux, C. e Demas, C. R. Problems Associated with Using Filtration To Define Dissolved Trace Element Concentrations in Natural Water Samples. ENVIRONMENTAL SCIENCE & TECHNOLOGY, v.30, n.3, 1996, p.954-963. 1996.
- Kantin, R. e Baumgarten, M. G. Z. Observações hidrográficas no estuário da Lagoa dos Patos: distribuição e flutuação dos sais nutrientes. Revista Atlântica, v.5, p.76-92. 1982.

Kennish, M. J. Ecology of Estuaries: Anthropogenic Effects: CRC Press. 1992. 494 p.

Klein, A. H. F. Clima Regional. In: U. Seeliger, C. Odebrecht e J. P. Castello (Ed.). Os Ecossistemas Costeiros e Marinhos do Extremo Sul do Brasil. Rio Grande: Ecoscintia, 1998. Clima Regional, p.341

Langston, W. J. e Bebianno, M. Metal Metabolism in Aquatic Environments: Chapman & Hall Ltda. 1998

Lead, J. R., Hamilton-Taylor, J., Davison, W. e Harper, M. Trace metal sorption by natural particles and coarse colloids. Geochimica et Cosmochimica Acta, v.63, n.11-12, 1999/6, p.1661-1670. 1999.

Li, W., Zhao, H., Teasdale, P. R., John, R. e Wang, F. Metal speciation measurement by diffusive gradients in thin films technique with different binding phases. Analytica Chimica Acta, v.In Press, Corrected Proof. 2005.

Lienemann, C.-P., Taillefert, M., Perret, D. e Gaillard, J.-F. Association of cobalt and manganese in aquatic systems: Chemical and microscopic evidence. Geochimica et Cosmochimica Acta, v.61, n.7, 1997/4, p.1437-1446. 1997.

Lores, E. M. e Pennock, J. R. The Effect of Salinity on Binding of Cd, Cr, Cu and Zn to Dissolved Organic Matter. Chemosphere, v.37, n.5, 1998, p.861-874. 1998.

Milani, I. C. B. Determinação polarográfica de metais em ambientes do sistema Patos-Mirim. Fundação Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, 2004.

Muller, F. L. L. Interactions of copper, lead and cadmium with the dissolved, colloidal and particulate components of estuarine and coastal waters. Marine Chemistry, v.52, n.3-4, 1996/5, p.245-268. 1996.

Niencheski, L. F. e Baumgarten, M. G. Z. Environmental Chemistry. In: U. Seeliger, C. Odebrecht e J. P. Castello (Ed.). Subtropical Convergence Environments. New York: Springer, 1997. Environmental Chemistry, p.23

Niencheski, L. F. e Baumgarten, M. G. Z. Química Ambiental. In: U. Seeliger, C. Odebrecht e J. P. Castello (Ed.). Os Ecossistemas Costeiros e Marinhos do Extremo Sul do Brasil. Rio Grande: Ecoscintia, 1998. Química Ambiental

- Niencheski, L. F. e Baumgarten, M. G. Z. Distribution of particulate trace metal in the southern part of the Patos Lagoon estuary. Aquatic Ecosystem Health and Management, v.3, n.4, 2000/12, p.515-520. 2000.
- Niencheski, L. F. e Windom, H. L. Nutrient flux and budget in Patos Lagoon estuary. The Science of The Total Environment, v.149, n.1-2, 1994/6/13, p.53-60. 1994.
- Niencheski, L. F., Windom, H. L. e Smith, R. Distribution of particulate trace metal in Patos Lagoon estuary (Brazil). Marine Pollution Bulletin, v.28, n.2, 1994/2, p.96-102. 1994.
- Niencheski, L. F. H. e Baumgarten, M. G. Z. Hidroquímica. In: (Ed.). Relatório final-Estudos de impacto ambiental do porto de Rio Grande. Rio Grande: FURG, v.2, 1997. Hidroquímica, p.490-544
- Odzak, N., Kistler, D., Xue, H. e Sigg, L. In situ trace metal speciation in a eutrophic lake using the technique of diffusion gradients in thin films (DGT). Aquatic Sciences - Research Across Boundaries, v.64, n.3, 2002/10//, p.292-299. 2002.
- Pai, S.-C. Pre-concentration efficiency of Chelex-100 resin for heavy metals in seawater. Analytica Chimica Acta, v.211, 1988, p.271-280. 1988.
- Pais, I. e Jones, J. B. The Handbook of Trace Elements. Delray Beach, FL: St. Lucie Press. 1997
- Pesavento, M., Biesuz, R., Gnecco, C. e Magi, E. Investigation of the metal species in seawater by sorption of the metal ion on complexing resins with different sorbing properties. Analytica Chimica Acta, v.449, n.1-2, 2001/12/10, p.23-33. 2001.
- Pesavento, M., Biesuz, R., Riva, F. D. e Alberti, G. Investigation of the complexation properties of a natural water towards copper(II), manganese(II) and aluminium(III), based on sorption of metal ions on a complexing resin. Polyhedron, v.21, n.14-15, 2002/6/15, p.1343-1350. 2002.
- Rainbow, P. S. e Phillips, D. J. H. Cosmopolitan biomonitors of trace metals. Marine Pollution Bulletin, v.26, n.11, p.593-601. 1993.
- Reimann, C. e Caritat, P. Chemical Elements in the Environment. Verlag Berlin Heidelberg: Springer. 1998. 381 p.



Roux, L. H. L., Roux, S. L. e Apriou, P. Behaviour and Speciation of Metallic Species Cu, Cd, Mn and Fe During Estuarine Mixing. Marine Pollution Bulletin, v.36, 1998, p.56-64. 1998.

Salomons, W., Förstner, U. e Mader, P. Heavy Metals Problems and Solutions: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 1995. 19, 33 e 41 p.

Santos, E. D. D., Abreu, P. C., Thompson, F. L., Hickenbick, G. R., Almeida, M. T. D. A. e Baumgarten, M. G. Z. Poluição orgânica e condições sanitárias das águas próximas a cidade do Rio Grande - RS, Brasil. Atlântica, v.19, p.5-18. 1997.

Schiff, K., Diehl, D. e Valkirs, A. O. Copper emissions from antifouling paint on recreational vessels. Marine Pollution Bulletin, v.48, p.371-377. 2004.

Torre, M. C. A.-D. L., Beaulieu, P.-Y. e Tessier, A. In situ measurement of trace metals in lakewater using the dialysis and DGT techniques. Analytica Chimica Acta, v.418, n.1, 2000/8/1, p.53-68. 2000.

Toxicological profile for cadmium. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta. 1999

Toxicological profile for cobalt. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta. 2004

Toxicological profile for copper. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta. 2004

Toxicological profile for lead. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta. 1999

Toxicological profile for manganese. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta. 2000

Toxicological profile for nickel. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta. 2003

Toxicological profile for zinc. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta. 2003

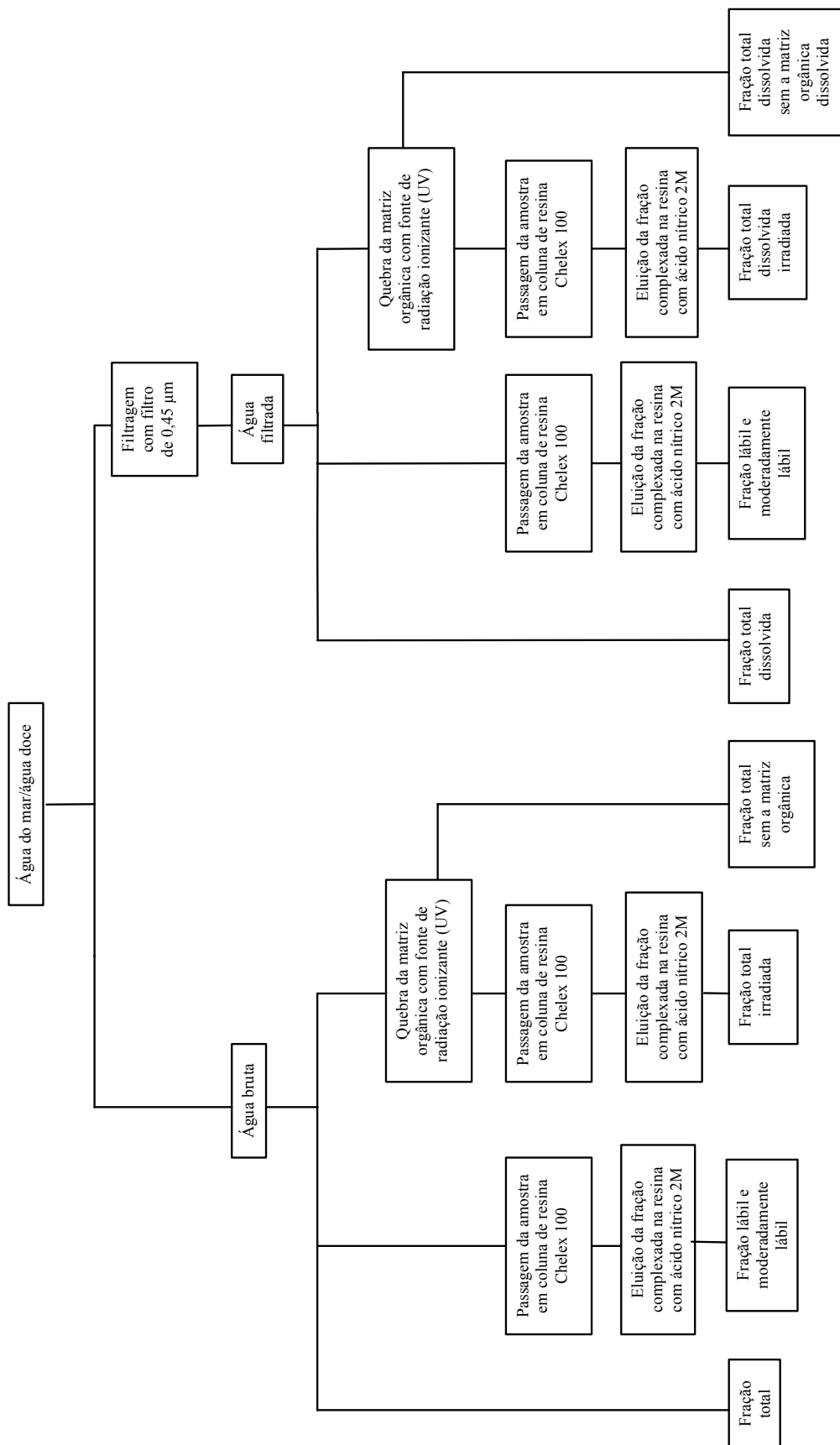
- Twiss, M. R. e Moffet, J. Comparison of copper speciation in coastal marine waters measured using analytical voltammetry and diffusion gradient in thin-film techniques. Environmental Science and Technology, v.36, p.1061-1068. 2002.
- Valkirs, A. O., Seligman, P. F., Haslbeck, E. e Caso, J. S. Measurement of copper release rates from antifouling paint under laboratory and in situ conditions: implications for loading estimation to marine water bodies. Marine Pollution Bulletin, v.46, n.6, p.736-779. 2003.
- Vanz, A., Mirlean, N. e Baisch, P. Avaliação de poluição do ar por chumbo particulado: uma abordagem geoquímica. Química Nova, v.vol.26, n.no.1, p.p.25-29. Jan 2003.
- Warnken, J., Dunn, R. J. K. e Teasdale, P. R. Investigation of recreational boats as a source of copper at anchorage sites using time-integrated diffusive gradients in thin film and sediment measurements. Marine Pollution Bulletin, v.49, n.9-10, 2004/11, p.833-843. 2004.
- Warnken, K. W., Zhang, H. e Davison, W. Performance characteristics of suspended particulate reagent-iminodiacetate as a binding agent for diffusive gradients in thin films. Analytica Chimica Acta, v.508, n.1, 2004/4/15, p.41-51. 2004.
- Webb, J. A. e Keough, M. J. Measurement of environmental trace-metal levels with transplanted mussels and diffusive gradients in thin films (DGT): a comparison of techniques. Marine Pollution Bulletin, v.44, n.3, 2002/3, p.222-229. 2002.
- Webb, J. A. e Keough, M. J. Measurement of environmental trace-metal levels with transplanted mussels and diffusive gradients in thin films (DGT): a comparison of techniques. Marine Pollution Bulletin, v.44, n.3, 2002/3, p.222-229. 2002a.
- Webb, J. A. e Keough, M. J. Quantification of copper doses to settlement plates in the field using diffusive gradients in thin films. The Science of The Total Environment, v.298, n.1-3, 2002/10/21, p.207-217. 2002b.
- Windom, H. L., Niencheski, L. F. e Smith, J., R. G. Biogeochemistry of Nutrients and Trace Metals in the Estuarine Region of the Patos Lagoon (Brazil). Estuarine, Coastal and Shelf Science, v.48, n.1, 1999/1, p.113-123. 1999.
- Wu, R. S. S. e Lau, T. C. Polymer-ligands: a novel chemical device for monitoring heavy metals in the aquatic environment? Marine Pollution Bulletin, v.32, n.5, 1996/5, p.391-396. 1996.
- Zhang, H. e Davison, W. Performance characteristics of diffusion gradients in thin films for the in situ measurement of trace metals in aqueous solution. Analytical Chemistry, v.67, p.3391-3400. 1995.

Zhang, H. e Davison, W. Diffusional characteristics of hydrogels used in DGT and DET techniques. Analytica Chimica Acta, v.398, n.2-3, 1999/10/22, p.329-340. 1999.

Zhang, H., Davison, W., Gadi, R. e Kobayashi, T. In situ measurement of dissolved phosphorus in natural waters using DGT. Analytica Chimica Acta, v.370, n.1, 1998/8/31, p.29-38. 1998.

# ANEXOS

ANEXO 1: Esquema para a separação e obtenção da fração lábil para água doce e salgada.



A filtração com filtro de 0,45 µm atua na separação da fração particulada e dissolvida, retendo a fração de tamanho maior do que o tamanho do poro do filtro.

A aplicação do tratamento UV quebra a matriz orgânica liberando os metais presentes nestes compostos, tornando-os lábeis e, por isto, mais reativos.

O sistema de resina Chelex 100 retém os cátions devido à presença de grupos ligantes negativos. Ela retém o metal lábil presente na amostra e o torna mensurável após a eluição dos mesmos com solução ácida.

O esquema aplicado para a água do mar e água doce fornece 8 frações distintas:

- fração total, para amostras sem os processos de irradiação e passagem pela coluna porém, com salinidade elevada para amostras de água do mar;

- fração total irradiada, que corresponde a fração lábil pré-existente mais a liberada pela quebra da matriz orgânica. Serve para amostras tratadas com o processo de irradiação, podendo ainda serem passadas pela coluna, onde é possível eliminar a matriz salina para a água do mar;

- fração total dissolvida, para amostras somente filtradas porém, com salinidade elevada para amostras de água do mar;

- fração total dissolvida irradiada, que corresponde a fração lábil pré-existente mais a liberada pela quebra da matriz orgânica. Serve para amostras filtradas e tratadas pelo processo de irradiação podendo ainda ser passadas pela coluna, onde é possível eliminar a matriz salina para a água do mar;

- fração lábil ou moderadamente lábil, que por ser esta a fração totalmente dissolvida e mais reativa é capaz de permear o filtro, considerando-se assim que, tanto o processo de filtragem como o de não filtragem da amostra, corresponda à fração total lábil quando passadas pela coluna de Chelex 100 e que seja por ela complexada e eluída posteriormente com ácido nítrico 2 M;

- fração total sem a matriz orgânica e fração total dissolvida sem a matriz orgânica dissolvida, na qual a quebra da matriz orgânica é efetuada pelo processo de irradiação da amostra com fonte de UV;

A água bruta do mar, por possuir uma baixa concentração de metais e de matéria orgânica é preferencialmente passada através da coluna de Chelex 100 para evitar a matriz salina. O processo de filtragem poderia acarretar em contaminação da amostra e por isto é descartado para este tipo de amostra.

O emprego de cada técnica depende da necessidade da obtenção de cada fração assim como o conhecimento da procedência da amostra.

ANEXO 2: Metodologia operacional e curvas obtidas como o equipamento de espectrometria de absorção atômica eletrotérmica com forno de grafite para os elementos cádmio, cobre, chumbo e zinco.

### Cádmio

```

----- AAS 5 - EA Parameters ----- 27.09.2005
Cd Standard calibration
SPECTROMETER:
Line = 228.8 nm Int. mode= PKH Statistics = Sigma
Slit = 0.8 nm Int. time= 2.2 s Runs/Sample = 2
Lamp = HCL/ 6.0 mA AZ time = 3.0 s Conf. level = 99.7 %

EHT = 273 V Sample vol. = 20 µL
D2 curr = 27 mA Smooth = 25 Speed level = 3
D2 gain = Middle Tube depth = 0.0 mm

FURNACE: Tube type= Wall Tube runs = 105
Form fac.= -4.1 % Life time = 2095
---Gas--- ----Actions----
No Form Temp Ramp Hold Time Int Add AZ Run Pip Enr
 °C °/s s s s
1 Drying 105 7 25 37.1 Max Stop
2 Pyrolysis 400 20 20 34.8 Max Stop
3 AZ* 400 0 6 6.0 Stop Stop 1.0 5.8
4 Atomize 1600 2000 3 3.6 Stop Stop
5 Cleanout 2000 1000 4 4.4 Max Stop

AUTOSAMPLER:
Modifier: off Dilution = if overfl. Wash mode :betw.meas.
Method = in Tube Wash cycl.: 2
New vol. = 4 µL Enrichment:off
Dil.from = Dil. posit.
-----

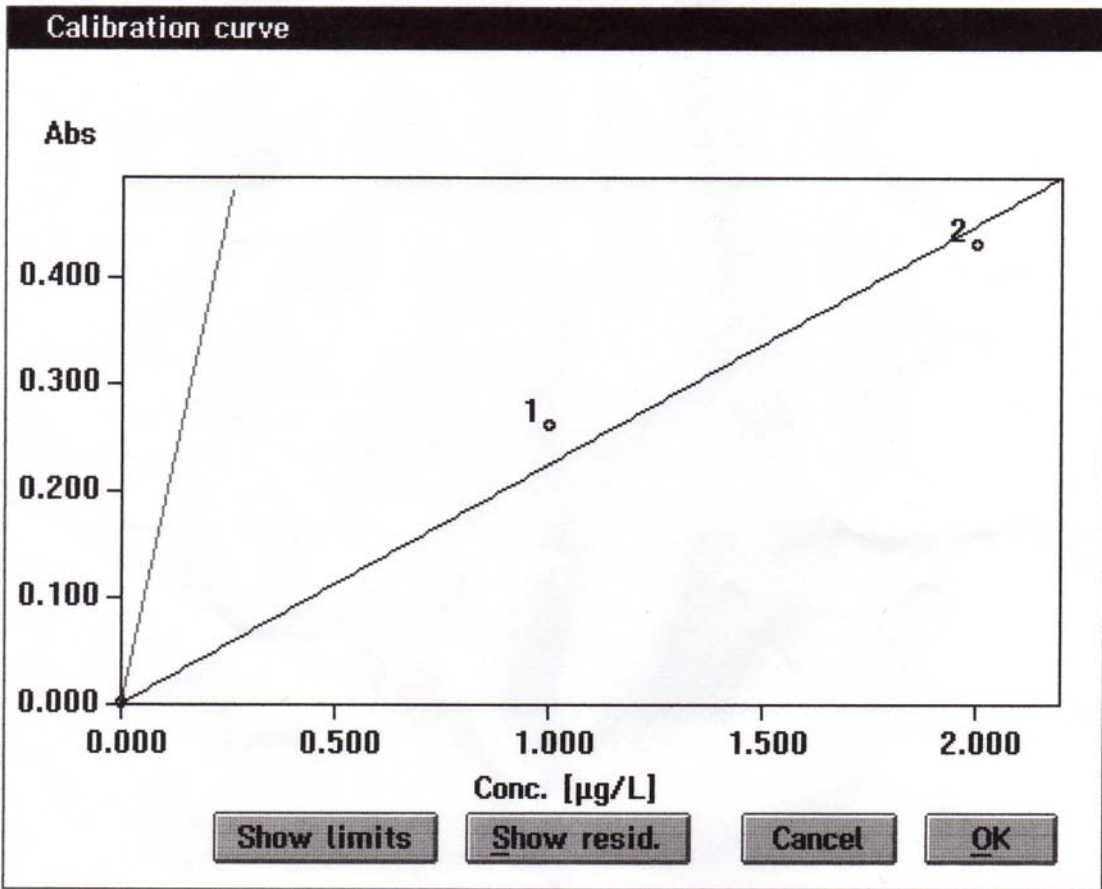
BLANK Absorbance values Abs/BG:
0.0010/0.0002 0.0015/- .0010
Abs=0.0012 RSD=30.6 %

STD 1 Absorbance values Abs/BG:
0.1682/0.0009 0.1643/0.0010
Abs=0.1663 RSD=1.63 %

STD 2 Absorbance values Abs/BG:
0.2755/0.0027 0.2830/0.0021
Abs=0.2793 RSD=1.89 %

Calibration:----- 17.05.05 09:55 -----
Name Conc. Abs f(Conc) Diff. R² (adju.)=0.972336645
[µg/L] Slope Low=0.1442 A/µg/L
STD BLANK 0.0000 0.0012 0.0012 0.0000 SD calib.=0.1613 µg/L
STD 1 1.0000 0.1663 0.1455 0.0208 Char mass=0.6102 pg/1%A
STD 2 2.0000 0.2793 0.2897 -.0104
-----

```





**Cobre**

----- AAS 5 - EA Parameters ----- 27.09.2005

Cu Standard calibration

SPECTROMETER:

Line = 324.8 nm Int. mode= PkH Statistics = Sigma  
 Slit = 0.8 nm Int. time= 4.0 s Runs/Sample = 2  
 Lamp = HCL/ 3.0 mA AZ time = 3.5 s Conf. level = 99.7 %

EHT = 297 V Sample vol. = 20 µL  
 D2 curr = 23 mA Smooth = 25 Speed level = 3  
 D2 gain = Max Tube depth = 0.0 mm

FURNACE: Tube type= Wall Tube runs = 105  
 Form fac.= -9.9 % Life time = 3925

-----Gas-----Actions-----  
 No Form Temp Ramp Hold Time Int Add AZ Run Pip Enr  
 °C °/s s s s s s s s  
 1 Drying 90 5 10 19.8 Max Stop  
 2 Drying 120 2 25 40.0 Max Stop  
 3 Pyrolysis 650 400 2 3.3 Max Stop  
 4 AZ\* 650 0 6 6.0 Stop Stop 1.0 5.8  
 5 Atomize 2100 1700 4 4.9 Stop Stop  
 6 Cleanout 2200 1000 4 4.1 Max Stop

AUTOSAMPLER:

Modifier: off Dilution = if overfl. Wash mode :betw.meas.  
 Method = in Tube Wash cycl.: 2  
 New vol. = 5 µL Enrichment:off  
 Dil.from = Dil. posit.

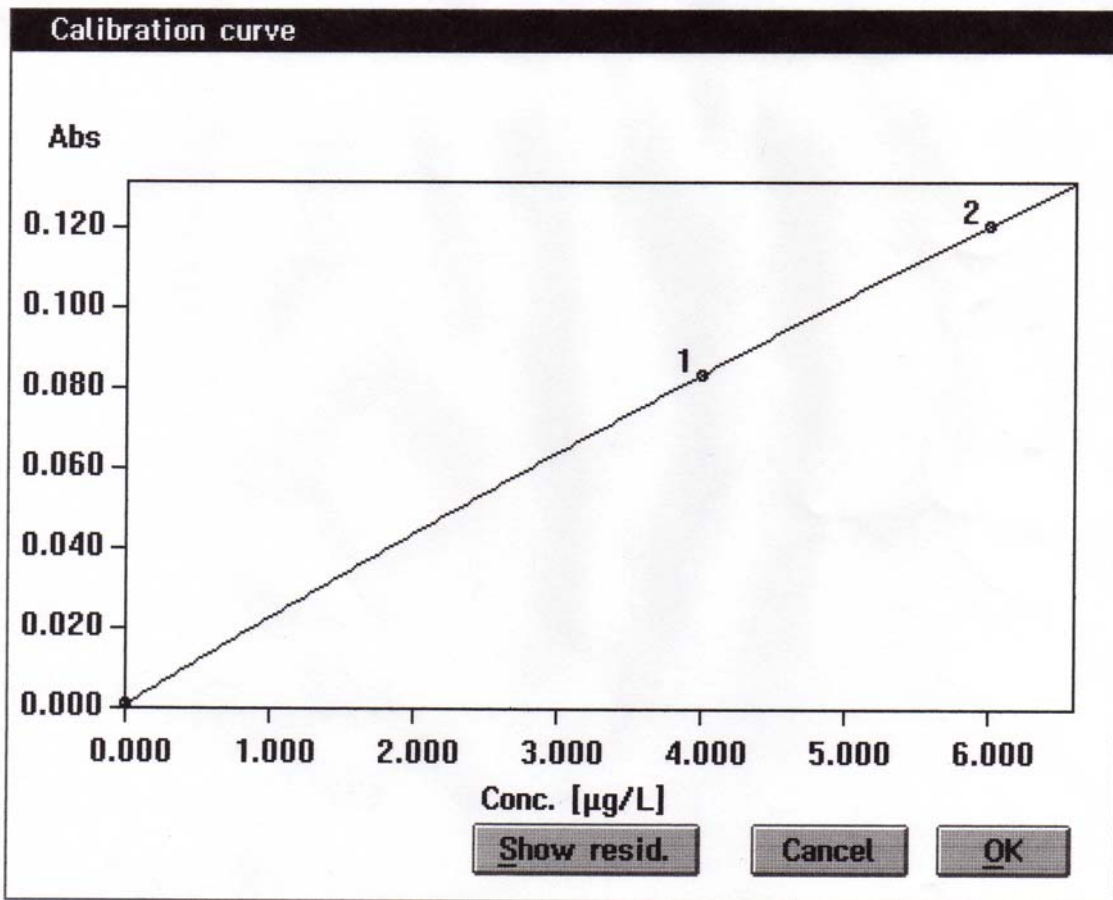
BLANK Absorbance values Abs/BG:  
 0.0010/-0.0006 0.0009/-0.0010  
 Abs=0.0010 RSD=7.70 %

STD 1 Absorbance values Abs/BG:  
 0.0830/0.0011 0.0841/0.0006  
 Abs=0.0836 RSD=0.97 %

STD 2 Absorbance values Abs/BG:  
 0.1216/0.0009 0.1198/0.0005  
 Abs=0.1207 RSD=1.02 %

Calibration:----- 16.05.05 16:38 -----

Name	Conc. [µg/L]	Abs	f(Conc)	Diff.	R <sup>2</sup> (adju.)=1.000000000
STD BLANK	0.0000	0.0010	0.0010	0.0000	Slope Low=0.0222 A/µg/L SD calib.= ----
STD 1	4.0000	0.0836	0.0836	0.0000	Char mass=3.9640 pg/1%A
STD 2	6.0000	0.1207	0.1207	0.0000	



**Chumbo**

----- AAS 5 - EA Parameters ----- 06.05.2005

Pb Standard calibration

SPECTROMETER:

Line = 217.0 nm Int. mode= PkH Statistics = Sigma  
 Slit = 0.8 nm Int. time= 3.2 s Runs/Sample = 2  
 Lamp = HCL/ 6.5 mA AZ time = 2.5 s Conf. level = 99.7 %

EHT = 320 V Sample vol. = 20 µL  
 D2 curr = 22 mA Smooth = 25 Speed level = 3  
 D2 gain = Min Tube depth = 0.0 mm

FURNACE: Tube type= Wall Tube runs = 384  
 Form fac.= -8.8 % Life time =95225

---Gas--- -----Actions-----

No	Form	Temp °C	Ramp °/s	Hold s	Time s	Int	Add	AZ s	Run s	Pip	Enr
1	Drying	90	5	10	19.4	Max	Stop				
2	Drying	105	2	20	27.5	Max	Stop				
3	Pyrolysis	600	40	10	22.4	Max	Stop				
4	AZ*	600	0	5	5.0	Stop	Stop	1.0	4.8		
5	Atomize	1800	2000	3	3.6	Stop	Stop				
6	Cleanout	2100	1000	5	5.3	Max	Stop				

AUTOSAMPLER:

Modifier: off Dilution = if overfl. Wash mode :betw.meas.  
 Method = in Tube Wash cycl.: 2  
 New vol. = 8 µL Enrichment:off  
 Dil.from = Dil. posit.

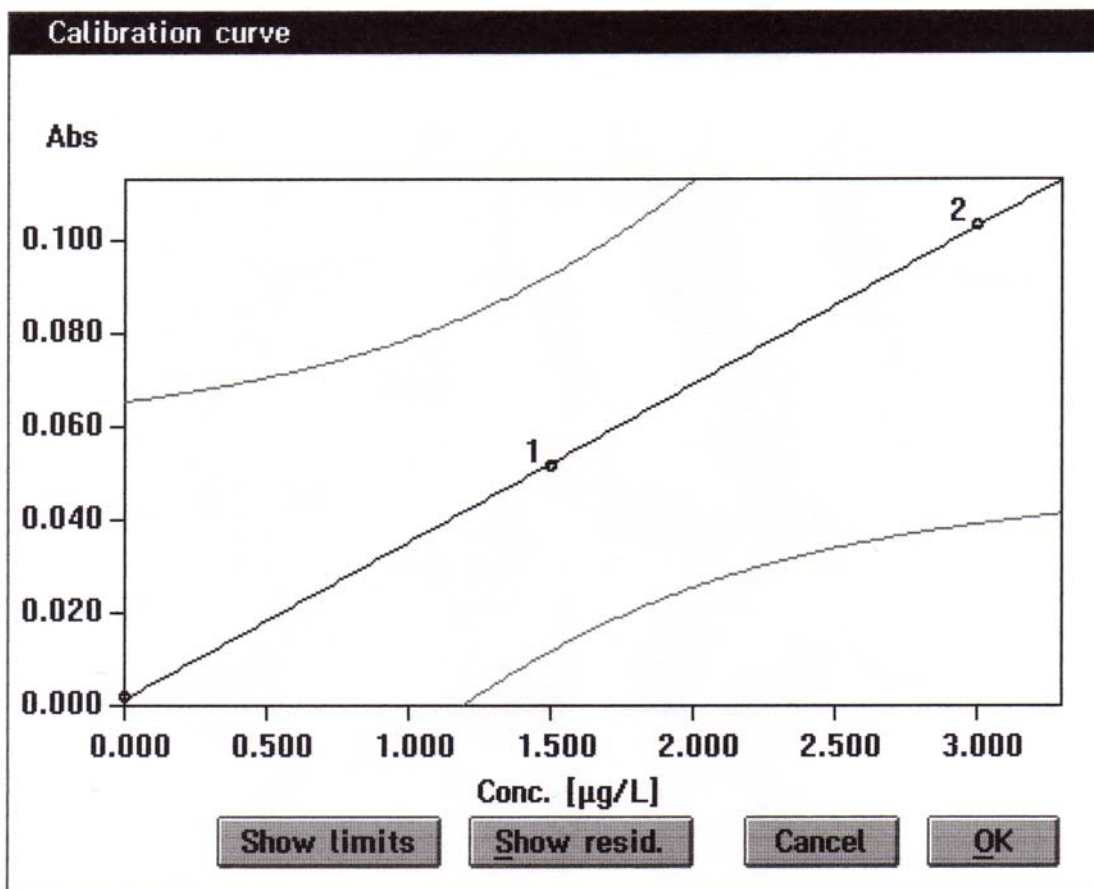
BLANK Absorbance values Abs/BG:  
 0.0019/- .0009 0.0017/- .0001  
 Abs=0.0018 RSD=8.31 %

STD 1 Absorbance values Abs/BG:  
 0.0519/0.0009 0.0513/0.0002  
 Abs=0.0516 RSD=0.76 %

STD 2 Absorbance values Abs/BG:  
 0.1028/0.0011 0.1038/0.0004  
 Abs=0.1033 RSD=0.69 %

Calibration:----- 03.05.05 15:23 -----

Name	Conc. [µg/L]	Abs	f(Conc)	Diff.	R <sup>2</sup> (adj.)=0.999768027
STD BLANK	0.0000	0.0018	0.0014	0.0003	Slope Low=0.0339 A/µg/L
STD 1	1.5000	0.0516	0.0522	-.0006	SD calib.=0.0228 µg/L
STD 2	3.0000	0.1033	0.1030	0.0003	Char mass=2.5994 pg/1%A



Zinco

----- AAS 5 - EA Parameters ----- 04.10.2005

Zn Standard calibration

SPECTROMETER:

Line = 213.9 nm Int. mode= PkH Statistics = Sigma  
 Slit = 0.8 nm Int. time= 2.5 s Runs/Sample = 2  
 Lamp = HCL/ 5.0 mA AZ time = 2.0 s Conf. level = 95.4 %

EHT = 296 V Sample vol. = 20 µL  
 D2 curr = 25 mA Smooth = 25 Speed level = 3  
 D2 gain = Middle Tube depth = 0.0 mm

FURNACE: Tube type= Wall Tube runs = 230  
 Form fac.= 0.0 % Life time = 7763

---Gas--- ----Actions----

No	Form	Temp °C	Ramp °/s	Hold s	Time s	Int	Add	AZ s	Run s	Pip	Enr
1	Drying	110	6	30	45.0	Max	Stop				
2	Pyrolysis	500	50	20	27.8	Max	Stop				
3	AZ*	500	0	4	4.0	Stop	Stop	1.0	3.8		
4	Atomize	1600	2000	2	2.5	Stop	Stop				
5	Cleanout	2000	1000	6	6.4	Max	Stop				

AUTOSAMPLER:

Modifier: off Dilution = if overfl. Wash mode :betw.meas.  
 Method = in Tube Wash cycl.: 2  
 New vol. = 4 µL Enrichment:off  
 Dil.from = Dil. posit.

BLANK Absorbance values Abs/BG:  
 0.0035/- .0013 0.0037/- .0009  
 Abs=0.0036 RSD=2.56 %

STD 1 Absorbance values Abs/BG:  
 0.5399/- .0004 0.5393/0.0003  
 Abs=0.5396 RSD=0.09 %

STD 2 Absorbance values Abs/BG:  
 0.7627/0.0013 0.7675/0.0023  
 Abs=0.7651 RSD=0.44 %

5 13:21 -----

Name	Conc. [µg/L]	Abs	f(Conc)	Diff.	R <sup>2</sup> (adju.)=0.873976791
STD BLANK	0.0000	0.0036	0.0036	0.0000	Slope Low=0.3432 A/µg/L
STD 1	1.2000	0.5396	0.4154	0.1242	SD calib.=0.4046 µg/L
STD 2	2.4000	0.7651	0.8272	-.0621	Char mass=0.2564 pg/1%A

