UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
INSTITUTO DE GEOCIÊNCIAS E CIÊNCIAS EXATAS

Trabalho de Formatura

Curso de Graduação em ENGENHARIA AMBIENTAL

DETERMINAÇÃO DE METAIS EM ÁGUA PRODUZIDA DE PETRÓLEO

Gabriela Marrach Coutinho

Rio Claro (SP)

2011

unesp
Campus de Rio Claro

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
Instituto de Geociências e Ciências Exatas
Curso de Graduação em Engenharia Ambiental



GABRIELA MARRACH COUTINHO

DETERMINAÇÃO DE METAIS EM ÁGUA PRODUZIDA DE PETRÓLEO

Trabalho de Formatura apresentado ao Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Campus de Rio Claro (SP), da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, para obtenção do grau de Engenheiro Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Amauri Antonio Menegário

Rio Claro (SP)
2011

543.31 Marrach,Gabriela
M358d Determinação de metais em água produzida de petróleo / Gabriela Marrach. - Rio Claro : [s.n.], 2011
53 f. : il., figs., gráfs., tabs.

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Engenharia Ambiental) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Geociências e Ciências Exatas
Orientador: Prof. Dr. Amauri Antonio Menegário

1. Água – Composição. 2. DGT. 3. Fração lábil. 4. Extração em fase sólida. 5. Reuso. 6. In situ. I. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP
Campus de Rio Claro/SP

unesp
Campus de Rio Claro

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
Instituto de Geociências e Ciências Exatas
Curso de Graduação em Engenharia Ambiental

GABRIELA MARRACH COUTINHO

DETERMINAÇÃO DE METAIS EM ÁGUA PRODUZIDA DE PETRÓLEO

Trabalho de Formatura apresentado ao Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Campus de Rio Claro (SP), da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, para obtenção do grau de Engenheiro Ambiental.

Comissão Examinadora
Prof. Dr Amauri Antonio Menegário (orientador)
Prof. Dr. Roberto Naves Domingos
Prof. Dr. Marcelo L. Garcia

Rio Claro, 21 de novembro de 2011.

Gabriela Marrach Coutinho

Prof. Dr Amauri A. Menegário

Aos meus avós, Elias Marrach Netto e Hercília de Carvalho Marrach, que me deram muito mais do que eu poderia desejar.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, que me permitiu cumprir mais esta etapa da vida.

Agradeço a minha família, por todo o suporte, sempre.

E agradeço a todos do Centro de Estudos Ambientais da UNESP que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Visando possibilitar o reuso do grande volume excedente de água produzida de petróleo para irrigação de culturas não comestíveis, a avaliação da qualidade desta água é muito importante. Este trabalho teve como principal objetivo avaliar a eficiência da técnica de difusão em filmes finos por gradientes de concentração (DGT) para a determinação da fração lábil de Cu (II), Mn(II) e Zn(II) em águas produzidas de petróleo destinadas a reuso em agricultura. Foram coletadas amostras na saída da estação de tratamento de efluentes - ETE (após separação água/óleo e flotação) de uma região de produção "onshore" da Petrobrás. Basicamente, os experimentos em laboratório com os dispositivos DGT envolveram a avaliação do comportamento das principais variáveis da técnica para determinações dos analitos nas amostras (coeficientes de difusão, tempo de imersão, fracionamento de espécies orgânicas e inorgânicas, desempenho dos géis de difusão com porosidades diferentes, entre outras). Também foram conduzidos experimentos baseados na extração em fase sólida (SPE) com a resina Chelex-100 usando protocolos previamente estabelecidos para suportar o estudo. Durante o projeto foi avaliada a possibilidade de imersões *in situ* em estações de tratamento de água para irrigação. A técnica DGT apresentou resultados satisfatórios para determinação de Mn em água produzida, podendo ser utilizada para determinações *in situ*. Contudo, os resultados obtidos para Cu e Zn mostram a necessidade de estudos adicionais.

Palavras-chave: Água produzida de petróleo, DGT, fração lábil, Estação de tratamento de efluentes, Extração em fase sólida.

ABSTRACT

In order to enable the reuse of the large surplus volume of petroleum produced water for irrigation of crops inedible, the quality evaluation of this water is very important. This work aimed to evaluate the effectiveness of the diffusive gradient in thin films technique (DGT) for the determination of labile Cu (II), Mn (II) and Zn (II) in petroleum produced water destined to reuse in agriculture. Samples were collected at the exit of the wastewater treatment plant (WWTP) (after separation oil/water and flotation) of a Petrobrás onshore production region. Basically, the laboratory experiments with DGT devices involved the evaluation of the behavior of the main variables of the technique for determination of analytes in the samples (diffusion coefficients, immersion time, fractionation of organic and inorganic species, and performance of diffusion gels with different porosities, among others). Also, experiments were conducted based on the solid phase extraction (SPE) protocol with Chelex-100 resin using previously established protocols to support the study. During the project the possibility of in situ immersions in water treatment plants was evaluated. The DGT technique presented satisfactory results for determination of Mn in produced water, and can be used for in situ determinations. However, the results obtained for Cu and Zn show the need of additional studies.

Key-words: *Petroleum produced water, DGT, labile, wastewater treatment plant, solid phase extraction.*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Principais partes do dispositivo de amostragem da técnica de difusão em filmes finos por gradiente de concentração 23
Figura 2 – Foto ilustrativa do dispositivo DGT 24
Figura 3 - Curva de extração em fase sólida Cu na amostra 02 34
Figura 4 - Curva de extração em fase sólida Mn na amostra 02 35
Figura 5 - Curva de extração em fase sólida Zn na amostra 02 36
Figura 6 - Curva de imersão Cu na amostra 02 (Gel difusivo) 37
Figura 7 - Curva de imersão Cu na amostra 02 (Gel restritivo) 37
Figura 8 - Curva de imersão de Mn na amostra 01 (Gel difusivo) 39
Figura 9 - Curva de imersão Mn na amostra 02 (Gel difusivo) 40
Figura 10 - Curva de imersão Mn na amostra 02 (Gel restritivo) 40
Figura 11 - Curva de imersão de Zn na amostra 01 (Gel difusivo) 42
Figura 12 - Curva de imersão Zn na amostra 02 (Gel difusivo) 43
Figura 13 - Curva de imersão Zn na amostra 02 (Gel restritivo) 44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Padrões de qualidade das águas salobras de Classe 1.....19
Tabela 2 – Principais funções dos micronutrientes de plantas.....19
Tabela 3 – Níveis adequados de Cu, Mn e Zn nos tecidos requeridos pelas plantas.....20
Tabela 4 - Coeficientes de difusão dos Analitos (*D*) no gel difusivo (Gel de difusão de poliacrilamida-agarose).....31
Tabela 5 - Coeficientes de difusão dos Analitos (*D*) no gel restritivo (Gel de difusão de poliacrilamida-agarose).....32
Tabela 6 - Fatores de eluição dos Analitos (f_e).....32
Tabela 7 – Recuperação de Cu, Mn e Zn das soluções-padrão multielementar submetidas ao procedimento de extração em fase sólida 01.....33
Tabela 8 – Concentrações e recuperação de Cu, Mn e Zn das amostras sintética e de água produzida enriquecida submetida ao procedimento de extração em fase sólida 01.....33
Tabela 9 – Concentração de Cu, Mn e Zn da amostra de água produzida submetida ao procedimento de extração em fase sólida 01 (Limite de Quantificação, critério 10 sigma).....34
Tabela 10 – Massas de Cu na amostra 02 de água produzida determinadas pelas técnicas DGT e extração em fase sólida.....38
Tabela 11 - Massas de Mn na amostra 01 de água produzida determinadas pelas técnicas DGT e extração em fase sólida.....39
Tabela 12 - Massas de Mn na amostra 02 de água produzida determinadas pelas técnicas DGT e extração em fase sólida.....41
Tabela 13 - Massas de Zn na amostra 01 de água produzida determinadas pelas técnicas DGT e extração em fase sólida.....42
Tabela 14 - Massas de Zn na amostra 02 de água produzida determinadas pelas técnicas DGT e extração em fase sólida.....44
Tabela 15 - Concentrações de Cu, Mn e Zn na amostra 01 de água produzida determinadas pelas técnicas DGT e extração em fase sólida.....45
Tabela 16 - Concentrações de Cu na amostra 02 de água produzida determinadas pelas técnicas DGT e extração em fase sólida.....46
Tabela 17 - Concentrações de Mn na amostra 02 de água produzida determinadas pelas técnicas DGT e extração em fase sólida.....47
Tabela 18 - Concentrações de Zn na amostra 02 de água produzida determinadas pelas técnicas DGT e extração em fase sólida.....48

ABREVIATURAS E SIGLAS

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

DBO – Demanda bioquímica de oxigênio

DGT – Difusão em filmes finos por gradientes de concentração

ETE – Estação de tratamento de efluentes

ICP MS – Espectrômetro de massa com plasma acoplado indutivamente

ICP OES – Espectrômetro de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente

LQ – Limite de quantificação

RPM – Rotações por minuto

SPE – Extração em fase sólida

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO....13
2. OBJETIVO....15
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA....16
3.1 Água Produzida....16
3.2 Legislação ambiental e o reuso de água produzida para irrigação....17
3.3 Toxicidade de Cu, Mn e Zn em plantas....19
3.4 A técnica de difusão em filmes finos por gradientes de concentração....22
4. MATERIAIS E MÉTODOS....27
4.1 Materiais....27
Equipamentos e acessórios....27
Reagentes e soluções....28
Soluções-padrão....28
Amostras....28
4.2 Métodos....28
Procedimento de extração em fase sólida usando a resina Chelex-100....28
Procedimento de montagem e de imersões dos dispositivos....29
Procedimento de imersão dos dispositivos nas amostras de água produzida....30
Procedimento para recuperação e determinação das massas dos analitos no agente ligante através da eluição do analito....30
Cálculos das concentrações obtidas com a extração em fase sólida....31
Cálculos das massas retidas (esperada e obtida) nos dispositivos....31
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO....33
5.1 Determinações de Cu, Mn e Zn lábeis através da extração em fase sólida....33
Determinação de Cu....34
Determinação de Mn....35
Determinação de Zn....36
5.2 Curvas de imersão nas amostras de água produzida....36
Curvas de imersão de Cu....36
Curvas de imersão de Mn....39
Curvas de imersão de Zn....42
5.3 Concentrações de Cu, Mn e Zn na água produzida determinadas pela técnica DGT e pela extração em fase sólida....45

Concentração de Cu.....46
Concentração de Mn.....47
Concentração de Zn.....47
6. CONCLUSÕES.....49
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....51

1. INTRODUÇÃO

Nos processos de separação existentes nas estações coletoras e de tratamento na produção de petróleo o principal resíduo produzido é a água, que, na maioria das vezes está associada ao óleo extraído. Este efluente é considerado, no segmento representado pela Extração de Petróleo, o poluente mais relevante, principalmente pelo volume envolvido, que é expressivo e sempre crescente devido à maturação das jazidas e da utilização de processos de recuperação secundários (Re-injeção de água para aumento da pressão interna do reservatório) (SILVA, 2000).

Silva (2000, p. 2) descreve: "A água produzida contém geralmente alta salinidade, partículas de óleo em suspensão, produtos químicos adicionados nos diversos processos de produção, metais e por vezes alguma radioatividade". Devido à sua composição e conseqüente alta capacidade contaminante, esse efluente tem efeitos nocivos ao meio ambiente, sendo então importante o seu tratamento antes do descarte adequado ou outro uso que lhe poderá ser dado.

Atualmente estudos vêm sendo conduzidos para que o grande volume excedente de água produzida seja reutilizado na agricultura para irrigação de culturas não comestíveis. Para possibilitar este reuso é necessário que a água atenda à padrões de qualidade, os quais já estão em parte definidos na Resolução CONAMA nº 357 de 2005, e que são críticos para o entendimento de processos e gerenciamento de questões fundamentais ambientais, de saúde e de produtividade agrícola. Visando atender a esses padrões, o efluente, que apresenta alta carga poluidora, precisa ser tratado.

Portanto, a avaliação da qualidade da água de irrigação é muito importante. Os elementos químicos nela presentes podem ser nutrientes primários (C, O, H, N, K), secundários (Ca, Mg, S), micronutrientes (ex: Cu, Cl, Fe, Mn, Mo e Zn). Porém, diversos desses elementos, por exemplo, Cu, Mn e Zn, podem se tornar tóxicos dependendo da concentração em que se encontram, afetando assim o desenvolvimento das plantas.

Além da concentração, as formas químicas com que os nutrientes, micronutrientes e elementos não-essenciais se encontram na água produzida afetam significativamente a sua disponibilidade para plantas (ZHANG et al., 2004; NOLAN et al., 2005). Neste contexto, torna-se extremamente importante a determinação da fração lábil dos metais, particularmente, na água produzida tratada.

Os monitoramentos ambientais químicos atuais necessitam de coletas de um número relativamente grande de amostras para análise posterior em laboratório. Essa metodologia

retrata apenas características momentâneas do ambiente, além de apresentar problemas de contaminação, necessidade de preservação das amostras e alterações das formas químicas das espécies a serem analisadas (KOT-WASIK et al., 2007).

Como alternativa as técnicas analíticas convencionais, vêm sendo utilizados amostradores passivos, mais práticos, confiáveis e caracterizados pela determinação de poluentes em suas formas orgânicas e inorgânicas em meios aquáticos, solos e sedimentos. Dentre os vários tipos de amostradores passivos, o que mais se destaca para análise de metais e nutrientes são os baseados em difusão em filmes finos por gradientes de concentração – DGT (KOT-WASIK et al., 2007).

A técnica DGT supre determinações de espécies lábeis em escala laboratorial e *in situ*, protegendo os analitos contra decomposição durante o transporte e estocagem, mostrando-se uma promissora ferramenta para realizar fracionamento químico em sistemas aquosos. Na sua concepção convencional, a DGT permite a determinação de metais livres na forma iônica, complexos inorgânicos e compostos orgânicos de baixo peso molecular contendo o metal, excluindo partículas e colóides, que não são quantificados (GIMPEL et al., 2003).

A técnica também é capaz de fornecer concentração média por tempo e realizar a pré-concentração, permitindo assim seu uso para a determinação de traços ou ultra-traços. Quando associada a técnicas analíticas, como a espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES), possibilita determinações multielementares (DAVISON; ZHANG, 1994; FORSBERG et al., 2006; ZHANG; DAVISON, 1999).

2. OBJETIVO

O principal objetivo deste projeto foi avaliar a técnica de difusão em filmes finos por gradientes de concentração (DGT) para determinação da fração lábil de Cu (II), Mn(II) e Zn(II) em águas produzidas de petróleo. Foram analisadas amostras de água produzida coletadas na saída da Estação de Tratamento de Efluentes - ETE (após separação água/óleo e flotação) visando, principalmente, avaliar a eficiência do processo e conseqüentemente a possibilidade de utilização do efluente em irrigação de culturas não comestíveis.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Água Produzida

A água produzida é gerada quando grandes quantidades de água contidas nas rochas subterrâneas são produzidas junto com o petróleo, e é o maior subproduto da produção de óleo e gás. Ela pode ser a água existente no reservatório de óleo desde a sua formação (água conata), ou a sua mistura com a água subterrânea, que pode estar sendo utilizada em processos de recuperação secundária (denominada água de injeção). A água destinada à injeção pode ter variada composição, uma vez que se pode utilizar água doce captada em poços executados para este fim, água do mar ou a própria água produzida (SILVA, 2000).

A água conata, também conhecida como água de formação, é a água presente em área de acumulação fóssil que se formou em sistema hidráulico fechado sem contato com a atmosfera desde a sua acumulação. Sua composição química difere da água do mar, pois ocorreram consideráveis modificações químicas após o soterramento. Normalmente, tais águas têm baixas concentrações de bicarbonato e sulfato, e a concentração dos íons aumenta com a profundidade e a idade (HUNT, 1995 apud OLIVEIRA, 2011).

> A origem básica da água produzida juntamente com o petróleo está relacionada às condições ambientais existentes durante a gênese deste óleo. Um ambiente geológico marinho ou lacustre, em que tenha havido intensa deposição de matéria orgânica, associada com posterior soterramento, e condições físico-químicas apropriadas tende a reunir os condicionantes necessários para o aparecimento do petróleo nas rochas matrizes. O petróleo gerado migra então para rochas permeáveis adjacentes que, trapeadas estruturalmente por rochas impermeáveis, resultam em acumulações nas rochas reservatório. Durante milhares de anos o petróleo se concentra, segregando-se da água, mas, mantendo muitas vezes, contato com os aqüíferos (SILVA, 2000, p. 4).

Segundo Silva (2000) os riscos ambientais associados à água produzida podem variar em função das características do local em que ela ocorre, da sua disposição final e da sua composição. Seus componentes são oriundos do reservatório, da água do mar injetada e das substâncias químicas usadas na produção, como inibidores de corrosão, desemulsificantes, biocidas, sequestrantes de H_2S, entre outros.

Os componentes da água produzida geralmente incluem minerais dissolvidos gerados na formação produtora, constituintes oleosos dissolvidos e dispersos, produtos químicos empregados durante o processo de produção, sólidos e gases dissolvidos, além de metais

pesados e por vezes alguma radioatividade (OLIVEIRA, 2000; SILVA, 2000). A salinidade depende das características e profundidade do campo produtor de petróleo, chegando até quatro vezes mais que a salinidade da água do mar (GOMES, 2009).

3.2 Legislação ambiental e o reuso de água produzida para irrigação

Atualmente não existe legislação, política ou parâmetros estabelecidos para a prática de reuso de água no Brasil. No entanto, o reuso especificamente agrícola deve obedecer a padrões mínimos físicos, químicos e microbiológicos que garantam a segurança agroalimentar das comunidades (BERNARDI, 2003). Estes padrões já estão em parte definidos na Resolução CONAMA nº 357 de 17/03/05.

Esta normativa estabelece a classificação das águas com base nos usos preponderantes e prioritários (sistema de classes de qualidade), estabelecendo o nível de qualidade (através de parâmetros e limites) a ser alcançado e/ou mantido em um trecho do corpo hídrico ao longo do tempo.

De acordo com a resolução as águas são divididas em três categorias: doces (salinidade $\leq$ 0,5%), salobras (salinidade entre 0,5% e 30%) e salinas (salinidade $\geq$ 30%). Suas subdivisões são feitas em treze classes: cinco para águas doces (classe especial, classes 1, 2, 3 e 4); quatro para águas salinas (classe especial, classes 1, 2 e 3); e quatro para águas salobras (classe especial, classes 1, 2 e 3).

As classes que podem ser utilizadas para reuso são as classes 1, 2, 3 e 4 no caso de águas doces, e a classe 1 no caso de águas salobras. No caso específico de reuso de água para irrigação, tem-se que:

Águas doces:

• As águas de classe 1 podem ser utilizadas para reuso indireto na irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película;

• As águas de classe 2 podem ser utilizadas para reuso indireto na irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto;

• As águas de classe 3 podem ser utilizadas para reuso indireto na irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras;

• As águas de classe 4 podem ser utilizadas para reuso indireto na harmonização paisagística.

Águas salobras:

• As águas de classe 1 podem ser utilizadas para reuso indireto na irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película, e à irrigação de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto;

A salinidade das amostras de água produzida coletadas na saída da estação de tratamento de efluentes - ETE (após separação água/óleo e flotação) está em torno de 3% (m/v). Deste modo, de acordo com a resolução CONAMA 357/05 estas águas são classificadas como salobras, e, considerando o seu uso para irrigação, elas devem atender os níveis de qualidade exigidos para a Classe 1 de águas salobras. Algumas condições e parâmetros estão descritos abaixo.

Condições de qualidade para águas salobras de Classe 1:

• Não verificação de efeito toxico crônico a organismos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido;

• Carbono orgânico total: ate 3 mg/L, como C;

• OD, em qualquer amostra, não inferior a 5 mg/ L O_2;

• pH: 6,5 a 8,5;

• Óleos e graxas: virtualmente ausentes;

• Materiais flutuantes: virtualmente ausentes;

• Substancias que produzem cor, odor e turbidez: virtualmente ausentes;

• Resíduos sólidos objetáveis: virtualmente ausentes; e

• Coliformes termo tolerantes: para a irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película, bem como para a irrigação de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o publico possa vir a ter contato direto, não deverá ser excedido o valor de 200 coliformes termo tolerantes por 100 mL. A *E. coli* poderá ser determinada em substituição ao parâmetro coliformes termo tolerantes de acordo com limites estabelecidos pelo órgão ambiental competente.

Padrões de qualidade para águas salobras de Classe 1 (Tabela 1):

Tabela 1 - Padrões de qualidade das águas salobras de Classe 1

Parâmetros inorgânicos	Valor máximo
Cobre dissolvido	0,005 mg/L Cu
Manganês total	0,1 mg/L Mn
Zinco total	0,09 mg/L Zn

Fonte: CONAMA nº 357 (2005).

3.3 Toxicidade de Cu, Mn e Zn em plantas

Os micronutrientes (B, Cl, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni e Zn) são requeridos pelas plantas em concentrações muito baixas para o adequado crescimento e reprodução. Eles são fundamentais para o crescimento e o desenvolvimento das plantas, agindo como constituintes das paredes celulares e das membranas celulares, como constituintes de enzimas, como ativadores de enzimas e na fotossíntese, como pode ser observado na Tabela 2 (KIRKBY; ROMHELD, 2007).

Tabela 2 – Principais funções dos micronutrientes de plantas

Micronutriente	Função
Cu, Fe, Mn, Ni	Constituinte de enzimas
Mn, Zn	Ativação de enzimas
(Cl), Cu, Fe, Mn	Envolvimento no transporte de elétrons na fotossíntese
Mn, Mo, Zn	Envolvimento na tolerância ao estresse
B, Cu, Mn, Zn	Envolvimento no crescimento reprodutivo (indução ao florescimento, polinização, estabelecimento do fruto)
B, Zn	Constituinte de paredes celulares e membranas

Fonte: Kirkby, Romheld (2007).

Os micronutrientes ocorrem em teores muito baixos no solo e a quantidade total varia com o material de origem e o grau de intemperização dos solos. Solos derivados de basalto são mais ricos em micronutrientes, especialmente em Mn, Fe e Zn que os derivados de

arenitos. A disponibilidade dos micronutrientes para as plantas é influenciada pelas características do solo, como à textura e mineralogia, teor de matéria orgânica, umidade, pH, condições de oxi-redução e interação entre nutrientes. A Tabela 3 apresenta as concentrações adequadas de Cu, Mn e Zn requeridas pelas plantas.

Tabela 3 – Níveis adequados de Cu, Mn e Zn nos tecidos requeridos pelas plantas

Elemento	Conteúdo mineral (mg kg^{-1} peso seco)
Cu	6
Mn	50
Zn	20

Fonte: Adaptado de Epstein, Bloom (2004) apud Kirkby et al. (2007).

De acordo com Yruela (2005) o Cu é um micronutriente essencial para o crescimento e desenvolvimento normal de plantas, tendo papel importante na fotossíntese, respiração mitocondrial, nas respostas ao estresse oxidativo, na redução, além de ter um papel essencial na sinalização e transcrição de proteínas. Inclusive, os íons de Cu atuam como co-fatores em muitas enzimas. A principal forma iônica absorvida pelas plantas é Cu^{2+}.

Segundo Pedrozo et al. (2001) o Cu é requerido em pequenas quantidades para o crescimento normal da planta: 5 a 20 mg kg^{-1}. Menos que 4 mg kg^{-1} é considerado deficiente e mais que 20 mg kg^{-1}, tóxico. A concentração de Cu nas células precisa ser mantida em níveis baixos, uma vez que ele é extremamente tóxico. O teor médio de Cu no tecido da planta é de 10 $\mu g.g^{-1}$ peso seco (BAKER; SNEF, 1995 apud YRUELA, 2005). A concentração crítica de Cu livre em meio nutriente (abaixo da qual ocorre deficiência de Cu) varia de 10^{-14} a 10^{-16} mol L^{-1}.

Em concentrações acima das exigidas para o crescimento ótimo das plantas o Cu inibe o crescimento e interfere em processo celulares importantes como a fotossíntese e a respiração (MARSCHNER, 1995 apud YRUELA, 2005; PRASAD; STRZALKA, 1999 apud YRUELA, 2005). Plantas cultivadas na presença de altos níveis de Cu normalmente apresentam biomassa reduzida e sintomas cloróticos, além de sofrerem de estresse oxidativo (YRUELA, 2005).

A toxicidade do Cu disposto no solo é influenciada pelo pH e pela quantidade de matéria orgânica contida no mesmo. Muito embora possa ser absorvido e concentrado nos

sistemas radiculares, o Cu não é transportado em altas concentrações para a parte aérea das plantas (DRIVER et al., 1972 apud PAGANINI et al., 2004; MATIAZZO-PREZOTTO apud PAGANINI et al., 2004).

Kirkby et al. (2007) afirmam que o Mn desempenha um papel importante nos processos redox, tais como no transporte de elétrons na fotossíntese e na desintoxicação de radicais livres de oxigênio. O Mn é um componente integrante de somente duas enzimas, e ativador de várias enzimas, atuando também na síntese da clorofila e participando do metabolismo energético. Os óxidos e sulfetos de manganês são as formas mais comuns nos solos, e a principal forma iônica absorvida pelas plantas é Mn^{2+}.

A toxicidade do Mn geralmente afeta mais severamente a parte aérea da planta do que as raízes. Aparentemente, as plantas absorvem e transportam esse nutriente em excessivas quantidades, o que resulta em acúmulo nas folhas. (FOY, 1973 apud VELOSO, 1995; PAVAN; BINGHAM, 1981 apud VELOSO, 1995). Entretanto, o excesso de Mn também pode causar sintomas de toxidez nas raízes, ocorrendo em geral após as folhas terem sido danificadas (FOY, 1976 apud VELOSO, 1995; FOY et al., 1978 apud VELOSO, 1995).

Foy (1976 apud VELOSO, 1995) verificou que o Mn quando acumulado em excesso na planta promove, primeiramente, a inibição do crescimento da parte aérea das plantas e, como conseqüência, também do sistema radicular. Os sintomas dessa redução da parte aérea são cloroses marginais e entre as nervuras das folhas, com pequenos pontos necróticos no limbo, aparecendo inicialmente nas folhas mais novas e progredindo para as mais velhas. O Mn quando em excesso na solução do solo promove reduções nas quantidades absorvidas de cálcio, ferro e magnésio pelas plantas (FOY et al., 1978 apud VELOSO, 1995).

De acordo com Foy et al. (1978 apud VELOSO, 1995), a toxidez de Mn é difícil de ser estudada isoladamente, devido as interações existentes entre ele e outros elementos, tais como P, Ca, Fe, Al e Si. Tais interações podem ser responsáveis pela diversidade de sintomas em plantas e pelas reduções produzidas no crescimento pelo excesso de manganês em diferentes espécies. Ainda segundo Foy et al. (1988 apud MILLALEO et al., 2010) há uma grande variação entre os níveis de Mn que induzem à toxicidade, assim como entre os sintomas da toxidez em espécies de plantas.

Estudos conduzidos por Veloso et al. (1995) sobre a influência do Mn na nutrição mineral e no crescimento da pimenta do reino mostraram que a partir da concentração de 20 mg Mn L^{-1} na solução nutritiva os sintomas de toxidez de Mn foram observados. No estudo de Millaleo et al. (2010) é apresentada uma tabela com as concentrações tóxicas de Mn para

10 espécies de plantas (arroz, cevada, azevém, soja, canola, entre outras), apresentando uma média de 140 mg Mn L^{-1}.

A presença do Zn nas plantas exerce diversas funções no metabolismo, como atuar na síntese do AIA, síntese do RNA e redução de nitrato, e ainda, opera como constituinte enzimático (PRADO, 2008 apud SILVA et al., 2010). Além disso, o Zn é ativador enzimático de diversos processos metabólicos, como na produção do triptofano que é precursor das auxinas responsáveis pelo crescimento de tecidos da planta (MENGEL; KIRKBY, 1987 apud SILVA et al., 2010). Segundo Kirkby et al. (2007 apud SILVA et al., 2010) o Zn ocorre nas plantas somente como Zn^{+2}, e é também fundamental para o desenvolvimento das partes florais, produção de grãos e sementes.

A exigência em Zn para a maioria das culturas não atinge 1 kg ha^{-1}, sendo que os teores de Zn adequados no solo variam de 1-10 mg kg^{-1} de solo, enquanto que os tóxicos variam de 40-110 mg kg^{-1} de solo. Na planta, os teores adequados e tóxicos variam, respectivamente de 18-67 e 100-673 mg kg^{-1} de matéria seca da parte aérea (Fageria, 2000 apud SILVA et al., 2010).

Devido ao baixo requerimento desse micronutriente, elevadas doses podem causar toxicidade às plantas, no qual o principal sintoma é o aparecimento de um pigmento pardo-avermelhado nas folhas, um fenol que acumulado no xilema resulta em tampões "plugs" contendo o elemento, que dificultam a ascensão da seiva bruta (MALAVOLTA et al.,1997 apud SILVA et al., 2010), diminuindo a concentração de clorofila e proteínas solúveis nas plantas (KHURANA; CHATTERJEE, 2001 apud SILVA et al., 2010).

Prado (2008 apud SILVA et al., 2010) descreve que a toxicidade do Zn em plantas ocasiona a diminuição do crescimento das plantas e da matéria seca, além de induzir danos oxidativos em várias espécies de plantas, dando inicio à peroxidação de lipídios e à degradação de outros compostos na planta.

De acordo com Driver et al. (1972 apud PAGANINI et al., 2004) o Cu e o Zn teoricamente em concentrações acima de 10 mg/L podem vir a ser tóxicos às plantas.

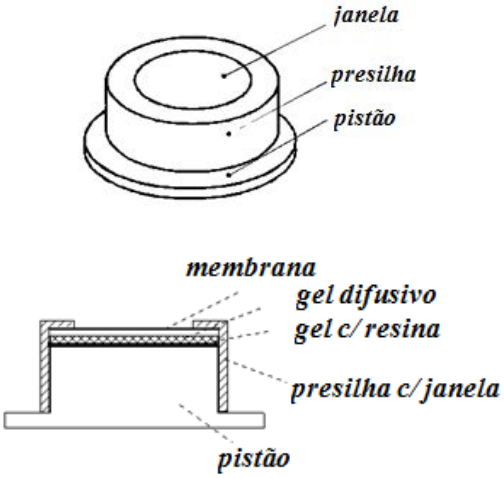
3.4 A técnica de difusão em filmes finos por gradientes de concentração

Na aplicação da técnica de difusão em filmes finos por gradientes de concentração, um dispositivo é imerso em um sistema monitorado durante um intervalo de tempo definido. Os íons metálicos são continuamente acumulados no dispositivo proporcionalmente à sua

concentração no meio. A quantidade total dos íons acumulados é recuperada do dispositivo, determinada e utilizada para quantificar as concentrações das espécies lábeis no sistema. Como um gel de espessura apropriada é usado no sistema DGT (gel de difusão), a massa dos íons metálicos acumulada não depende das variações do fluxo. Portanto o dispositivo DGT pode ser imerso em regimes de convecção descontrolados, como rios e superfícies bem misturadas de lagos e mares (ZHANG; DAVISON, 1995).

O dispositivo DGT é composto por três camadas posicionadas sobre um pistão de polipropileno e fixadas a este por uma luva também de polipropileno, que possui uma janela, geralmente, de 20mm de diâmetro (como nas Figuras 1 e 2). A camada diretamente sobre o pistão é um gel ligante de poliacrilamida-agarose, que contém uma resina quelante, convencionalmente, a resina Chelex-100, onde as espécies presentes na solução são retidas e pré-concentradas. Sobre esta camada existe um gel de difusão, constituído também por poliacrilamida-agarose. Sobre essas duas camadas é colocada uma membrana (geralmente, um filtro de acetato de celulose), cuja função é proteger o gel de difusão. O processo de difusão das espécies entre a solução e a camada ligante se mantém até que o sistema seja retirado do meio ou até que a capacidade da resina ligante seja atingida.

Figura 1 - Principais partes do dispositivo de amostragem da técnica de difusão em filmes finos por gradiente de concentração



A resina ligante convencional do dispositivo DGT, Chelex-100, foi testada com relação ao seu desempenho para determinação de 55 elementos. Os resultados mostraram a capacidade da resina em reter quantitativamente pelo menos 24 dos elementos estudados: Pb, Zn, Co, Ni, Cu, Cd, Al, Mn, Ga, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Lu, Y (GARMO et al., 2003).

Figura 2 – Foto ilustrativa do dispositivo DGT



Buzier et al. (2006a) avaliaram a performance da técnica DGT como ferramenta para a especiação de metais em efluentes (em sua maioria doméstico com uma de contribuição de 25 % de industrial) de duas plantas de tratamento perto de Paris, França. A planta 1 é projetada para remover biologicamente C, Ni e P (baixa proporção de carga orgânica) e precipitá-lo por adição de cloreto de ferro na zona aeróbia. A planta 2 é projetada para remover biologicamente somente C (alta proporção de carga orgânica). Amostras foram coletadas em cada planta na entrada, após o tratamento primário (efluente bruto), e na saída (efluente tratado).

A DGT foi usada em paralelo com o teste de toxidade aguda com *Daphnia Magna* para obter informações relativas às espécies de Cu e Cd em efluentes diluídos e filtrados (tratados e brutos). A combinação dos dois métodos permitiu o fracionamento dos metais em inorgânicos, orgânicos lábeis e orgânicos inertes. O Cu foi encontrado principalmente na forma de complexos orgânicos inertes, enquanto a maior parte do Cd estava na forma complexos orgânicos lábeis. A proporção de complexos inorgânicos de cobre foi maior na presença do efluente tratado do que do bruto. Os autores afirmaram que a DGT é uma ferramenta consistente para avaliar a reatividade de metais em efluentes.

Buzier et al. (2006b) usaram a técnica DGT para determinar a fração dissolvida inerte e a fração lábil de 7 metais (Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb) em cada estágio de tratamento de uma planta de tratamento de efluentes domésticos localizada no rio Seine (Paris, França). A planta é organizada em linhas de lodo e estágios adicionais de tratamento. Após o pré-tratamento e mistura inicial o efluente é dividido em quatro linhas paralelas, onde é submetido à

decantação e tratamento biológico. Durante climas secos o efluente resultante é lançado diretamente no rio ou é dirigido para uma unidade de floculação (tratamento terciário). Durante climas úmidos o tratamento terciário é utilizado para tratar o excesso de efluente do sistema combinado de encanamentos parisiense, e parte do efluente do tratamento biológico é lançado no rio. O estudo foi realizado em clima seco.

Amostras compostas de 24 h foram coletadas em cinco pontos da planta de tratamento: efluente bruto após pré-tratamento, efluente decantado após a decantação (na maior linha biológica), efluente biologicamente tratado após tratamento biológico (na maior linha biológica), efluente biologicamente tratado na entrada do tratamento terciário (uma vez que o efluente biologicamente tratado pode vir de qualquer linha), e efluente terciariamente tratado após unidade de floculação. Metais particulados e dissolvidos foram medidos em todas as amostras.

O fluxo dos metais (concentrações totais) foi extremamente reduzido por toda a planta de tratamento para Cd, Cr, Cu e Pb e, em menor extensão, para Co e Ni. No entanto, o fluxo das frações lábeis foi pobremente decrescido para Cu (18%), não significantemente decrescido para Ni e aumentou para Fe. As frações lábeis de Cd, Co e Cr não foram detectáveis em nenhum estágio da planta. O fluxo das frações lábeis descartadas, pelo menos para Ni, foram consideráveis quando comparados aos fluxos de metais lábeis inicialmente presentes no rio. Os autores concluíram que a descarga de efluentes urbanos tratados deve ser cuidadosamente considerada como uma possível fonte de metais traço biodisponíveis.

Luo et al. (2010) basearam seu trabalho na hipótese de que a captação de metais por uma planta hiper-acumuladora (HA) é mais propensa a ser limitada pela difusão do que por uma não hiper-acumuladora (NHA). Dois solos com diferentes conteúdos de matéria orgânica (0,8 e 5,8%), foram alterados com Cd (0,5 a 5 mg kg^{-1}) e Ni (10 a 100 mg kg^{-1}). Uma planta hiper-acumuladora de Cd, *Thlaspi caerulescens*, cresceu em vasos contendo solos adubados com Cd, e uma planta hiper-acumuladora de Ni, *Thlaspi goesingense,* cresceu em vasos contendo solos adubados com Ni. Uma planta não hiper-acumuladora, da mesma família *Thlaspi arvense*, foi plantada nos mesmos tipos de solos. Os metais foram medidos nas raízes e brotos de todas as plantas. As concentrações de Cd e Ni foram medidas no solo usando a técnica de difusão em filmes finos por gradientes de concentração (DGT).

As dependências do metal medidas pela DGT e a concentração do metal no solo, considerando a adubação, foram consistentes com um rápido suprimento de Cd, mas uma taxa de liberação mais lenta de Ni da fase sólida para a solução adubada com baixas concentrações de Ni. Considerações detalhadas da dependência de Ni e Cd em brotos e raízes permitiram a

avaliação do mecanismo de suprimento. O peso da evidencia sugere que a limitação da difusão se aplica para a captação de Cd por ambas hiper-acumuladoras e não hiper-acumuladoras, e para a captação de Ni por plantas hiper-acumuladoras. Entretanto, a captação de Ni por plantas não hiper-acumuladoras não é limitada pela difusão, e o modelo do ligante biótico é provavelmente apropriado.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

Equipamentos e acessórios

Foi utilizado um espectrômetro de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (GBC modelo integra XL) equipado com câmara de nebulização ciclônica (Glass Expansion) e nebulizador micro-concêntrico (50 μL min^{-1}, Micromist, Glass Expansion) ou nebulizador ultra-sônico (CETAC - U5000AT^{+}), um espectrômetro de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (Thermo Scientific modelo ICAP - 6300) e um espectrômetro de massa com plasma acoplado indutivamente (Thermo Scientific modelo X Series 2). Abaixo são descritas as condições de operação do ICP OES (GBC) equipado com nebulizador micro-concêntrico e equipado com nebulizador ultra-sônico, do ICP OES (CETAC) e ICP MS respectivamente:

Potência incidente: 1200 W; gás do plasma: 10 L min^{-1}; gás auxiliar: 0,5 L min^{-1}; gás de nebulização: 0,7 L min^{-1}; modo de observação: radial; altura de observação: 10 mm; linhas de emissão: Cu 324,754 nm; Mn 257,61 nm; Zn 213,856.

Potência incidente: 1200 W; gás do plasma: 10 L min^{-1}; gás auxiliar: 0,5 L min^{-1}; gás de nebulização: 0,65 L min^{-1}; modo de observação: radial; altura de observação: 12 mm; temperatura de aquecimento (nebulizador ultra-sônico): 142^{0}C, temperatura de refrigeração (nebulizador ultra-sônico): 3°C; linhas de emissão: Cu 324,754 nm; Mn 257,61 nm; Zn 213,856.

Potência incidente: 1150 W; gás do plasma: 0,22 L min^{-1}; gás auxiliar: 0,5 L min^{-1}; modo de observação: axial; linhas de emissão: Cu 324,7 nm; Mn 257,6 nm; Zn 206,2.

Potência incidente: 1150 W; gás do plasma: 0,85 L min^{-1}; isótopos: Cu 65; Mn 55; Zn 68.

Outros equipamentos e acessórios utilizados no trabalho foram:

- Equipamentos de uso rotineiro em laboratórios de química analítica, como sistemas purificadores de água, medidores de pH, termômetro, agitadores e balanças analíticas;
- Estufa projetada para análise de DBO com temperatura controlada (Tecnal – TE-391);
- Pistões e presilhas dos dispositivos DGT (obtidos da DGT Research Ltd);
- Tubos de centrífuga;
- Vidrarias e acessórios de laboratório;

Reagentes e soluções

O agente ligante utilizado foi o gel de poliacrilamida-agarose com a resina quelante Chelex-100. O agente difusivo foi o gel de poliacrilamida-agarose (com porosidades convencional e restritiva), e a membrana filtrante foi de acetato de celulose.

Todas as soluções foram preparadas usando água purificada a uma resistividade de 18 Ωcm.

Soluções-padrão

As soluções-padrão de trabalho contendo Cu, Mn e Zn (0,5, 1, 2, 10, 50, 100, 200, 500 e 1000 μg L^{-1}) foram preparadas a partir de uma solução-estoque multielementar (100 mg L^{-1}) obtida da Specsol, em HNO_3 2,0 % (destilado) ou alternativamente, em HNO_3 1,0 mol L^{-1} (destilado).

Amostras

As duas amostras de água produzida utilizadas são provenientes de regiões de produção "onshore" da Petrobrás em Mossoró, RN, e foram coletadas na saída da Estação de Tratamento de Efluentes – ETE, após passarem por separação água/óleo e flotação.

4.2 Métodos

Procedimento de extração em fase sólida usando a resina Chelex-100

Visando avaliar o desempenho do estudo desenvolvido, foram estabelecidos procedimentos de extração em fase sólida (SPE) usando a resina Chelex-100 para determinação de Cu, Mn e Zn nas amostras de água produzida, baseados em procedimentos já existentes. Após o teste de vários procedimentos e seleção do melhor, foram realizadas duas extrações em fase sólida, com diferentes amostras de água produzida coletadas na saída da ETE, descritas abaixo.

Extração em fase sólida 01 (usando a amostra 01 de água produzida): adicionaram-se 0,8 mL de uma suspensão de resina Chelex-100 (200-400 *mesh*) 10% (m/v) em tubos de centrífuga contendo 14 mL de soluções-padrão multielementar (0, 50, 100 e 200 μg L^{-1}), amostra sintética multielementar (100 μg L^{-1} + NaCl 3%) e amostras de água produzida não enriquecidas e enriquecidas com solução multielementar (100 μg L^{-1}). Os valores do pH das amostras e dos padrões foram ajustados a 8,0 ± 0,5 (com NH_3). Os tubos foram agitados em agitador orbital por 60 minutos. Em seguida, foram centrifugados a 4000 RPM por 5 minutos e o sobrenadante foi descartado. Depois de uma etapa de lavagem da resina com água, a eluição dos analitos foi feita adicionando-se 1,4 mL de HNO_3 1 mol L^{-1} seguida de agitação em agitador orbital por 30 minutos, centrifugação e recuperação do sobrenadante (1 mL) para posterior análise.

Extração em fase sólida 02 (usando a amostra 02 de água produzida): adicionaram-se 0,8 mL de uma suspensão de resina Chelex-100 (200-400 *mesh*) 10% (m/v) em tubos de centrífuga contendo 14 mL de soluções-padrão multielementar (0, 0,5, 1, 2, 10 e 50 μg L^{-1} μg L^{-1}) e amostras de água produzida. Os valores do pH das amostras e dos padrões foram ajustados a 8,0 ± 0,5 (com NH_3). Os tubos foram agitados em agitador orbital por 60 minutos. Em seguida, foram centrifugados a 4000 RPM por 5 minutos e o sobrenadante foi descartado. Depois de uma etapa de lavagem da resina com água, a eluição dos analitos foi feita adicionando-se 1,4 mL de HNO_3 1 mol L^{-1} seguida de agitação em agitador orbital por 30 minutos, centrifugação e recuperação do sobrenadante (1 mL) para posterior análise.

Procedimento de montagem e de imersões dos dispositivos

Todos os dispositivos foram montados colocando-se sobre o pistão de polipropileno o disco de gel ligante de poliacrilamida-agarose com resina quelante Chelex-100, seguido de uma camada de agente de difusão de poliacrilamida-agarose (gel difusivo ou gel restritivo), e, por último, uma camada filtrante de acetato de celulose. Os discos foram fixados por uma luva de polipropileno, a qual possui uma janela de 20 mm de diâmetro, permitindo assim a difusão dos íons para dentro do dispositivo.

Durante todas as imersões as temperaturas foram mantidas constantes a 23 ^{0}C (na estufa de DBO) em todas as soluções para que não existisse variação dos coeficientes de difusão dos analitos (***D***). As soluções foram mantidas sob agitação para que a camada que se forma na frente do dispositivo (denominada *Diffusive Boundary Layer*), se comportando

como uma extensão do agente difusivo, fosse reduzida ao máximo e não retardasse a difusão dos analitos para o ligante (ZHANG; DAVISON, 1995).

Procedimento de imersão dos dispositivos nas amostras de água produzida

Foram realizadas imersões dos dispositivos em diferentes amostras de água produzida coletadas na saída da ETE, descritas abaixo.

Imersão na amostra 01: em um recipiente de amostra de água produzida (3,5 L) foram colocados 8 dispositivos (com gel difusivo) que ficaram imersos em curta imersão (2, 4, 6 e 8h) e em longa imersão (22, 24, 26 e 28h).

Imersão na amostra 02: em um recipiente de amostra de água produzida (7,5L) foram colocados 16 dispositivos (8 com gel difusivo e 8 com gel restritivo) que ficaram imersos em curta imersão (4, 6 e 8h) e em longa imersão (24, 28, 48, 72 e 168h).

Durante as imersões o valor do pH das soluções foi mantido nas condições originais das amostras.

Procedimento para recuperação e determinação das massas dos analitos no agente ligante através da eluição do analito

Os analitos retidos no agente ligante foram recuperados através de um procedimento previamente estabelecido. Neste procedimento, a eluição do analito do agente ligante foi realizada adicionando-se 2,0 mL de HNO_3 1,0 mol L^{-1} ao material para extração dos metais da resina. A solução foi então mantida sob agitação durante 24 horas e, posteriormente, introduzida no ICP OES utilizando um nebulizador micro-concêntrico, ICP OES ou ICP-MS. No caso do ICP OES utilizando um nebulizador micro-concêntrico, optou-se pela análise pela nebulização pneumática para evitar a diluição das amostras. As concentrações dos analitos foram estimadas através de curvas analíticas construídas com soluções-padrão preparadas em HNO_3 1 mol L^{-1}.

Cálculos das concentrações obtidas com a extração em fase sólida

As determinações das concentrações dos analitos nas amostras de água produzida através da extração em fase sólida 02 foram realizadas através da equação de reta obtida por um gráfico de Concentração x Contagens por Segundo para cada metal, como mostra a equação (1):

$$X = (Y - b) / a \qquad (1)$$

onde ***X*** é a concentração do analito na amostra ($\mu g\ L^{-1}$), ***Y*** são as contagens por segundo determinadas pelo ICP-MS e ***a*** e ***b*** são parâmetros da equação da reta.

A curva foi obtida submetendo soluções-padrão dos analitos ao mesmo procedimento de SPE utilizado para as amostras de água produzida.

Cálculos das massas retidas (esperada e obtida) nos dispositivos

As determinações das massas retidas esperadas (*ng*) para as amostras foram realizadas através da equação (2):

$$M = DC_b tA / \Delta g \qquad (2)$$

onde ***D*** é o coeficiente de difusão do gel ($10^{-6}\ cm^2\ s^{-1}$), $\boldsymbol{C_b}$ é a concentração do metal lábil na solução determinada pela SPE ($ng\ mL^{-1}$) e ***t*** é o tempo (*s*). Foi considerada uma área da janela do dispositivo (***A***) de 3,14 cm^2 e uma espessura (***Δg***) de 0,08 cm para ambos os agentes de difusão. Os coeficientes de difusão (***D***) para cada metal no gel difusivo (Gel de difusão de poliacrilamida-agarose) e no gel restritivo (Gel de difusão de poliacrilamida-agarose) foram previamente determinados e são apresentados nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4 - Coeficientes de difusão dos Analitos (***D***) no gel difusivo (Gel de difusão de poliacrilamida-agarose)

Analitos	D (10^{-6} cm^2 s^{-1}, 23°C)
Cu	5,90
Mn	5,54
Zn	5,76

Fonte: Zhang (2011).

Tabela 5 - Coeficientes de difusão dos Analitos (***D***) no gel restritivo (Gel de difusão de poliacrilamida-agarose)

Analitos	D (10^{-6} cm^2 s^{-1}, 23°C)
Cu	4,13
Mn	3,88
Zn	4,03

Fonte: Zhang, Davison (1995).

Para o cálculo da massa retida obtida (*ng*) utilizou-se a equação (3):

$$M = C_e.V_f/f_e \qquad (3)$$

onde C_e é a concentração determinada através do ICP ($ng\ mL^{-1}$), V_f é o volume de HNO_3 1 M utilizado na eluição (*mL*) e f_e é o fator de eluição do analito, previamente determinados no Centro de Estudos Ambientais e apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Fatores de eluição dos Analitos (f_e)

Analitos	f_e
Cu	0,75 ± 0,12
Mn	0,91 ± 0,03
Zn	0,89 ± 0,02

Fonte: Centro de Estudos Ambientais.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Determinações de Cu, Mn e Zn lábeis através da extração em fase sólida

A Tabela 7 apresenta a recuperação dos analitos contidos nas soluções-padrão multielementar submetidas ao procedimento de SPE 01.

Tabela 7 – Recuperação de Cu, Mn e Zn das soluções-padrão multielementar submetidas ao procedimento de extração em fase sólida 01

Concentração (μg L^{-1})	Recuperação (%)		
	Cu	Mn	Zn
50	58,22 ± 7,28	90,52 ± 3,84	48,36 ± 4,63
100	68,62 ± 0,92	82,29 ± 1,21	65,16 ± 1,69
200	63,87 ± 10,18	80,84 ± 0,84	66,25 ± 4,12

Observa-se a partir da Tabela 7 que a retenção dos analitos em todas as soluções-padrão não foi quantitativa, evidenciando a existência uma fração inerte dos analitos nas condições do teste. Principalmente para as soluções 100 e 200 μg L^{-1}, as frações retidas foram semelhantes.

A Tabela 8 apresenta as concentrações esperadas e obtidas e a recuperação dos analitos contidos nas amostras sintéticas multielementares e nas amostras de água produzida 01 enriquecidas com solução multielementar.

Tabela 8 – Concentrações e recuperação de Cu, Mn e Zn das amostras sintética e de água produzida enriquecida submetida ao procedimento de extração em fase sólida 01

Amostra	Concentração Esperada (μg L^{-1})			Concentração Obtida (μg L^{-1})			Recuperação (%)		
	Cu	Mn	Zn	Cu	Mn	Zn	Cu	Mn	Zn
Sintética multielementar	100	100	100	57,02 ± 0,14	70,70 ± 0,34	62,85 ± 1,09	57,02	70,70	62,85
Água produzida enriquecida	100	100	100	66,78 ± 6,58	84,38 ± 2,98	69,68 ± 2,84	66,78	84,38	69,68

Os resultados apresentados mostram que as frações retidas de Cu, Mn e Zn na amostra sintética (Tabela 8) foram semelhantes às soluções-padrão (Tabela 7).

A Tabela 9 apresenta a concentração dos analitos na amostra de água produzida 01.

Tabela 9 – Concentração de Cu, Mn e Zn na amostra de água produzida 01 submetida ao procedimento de extração em fase sólida 01 (Limite de Quantificação, critério 10 sigma)

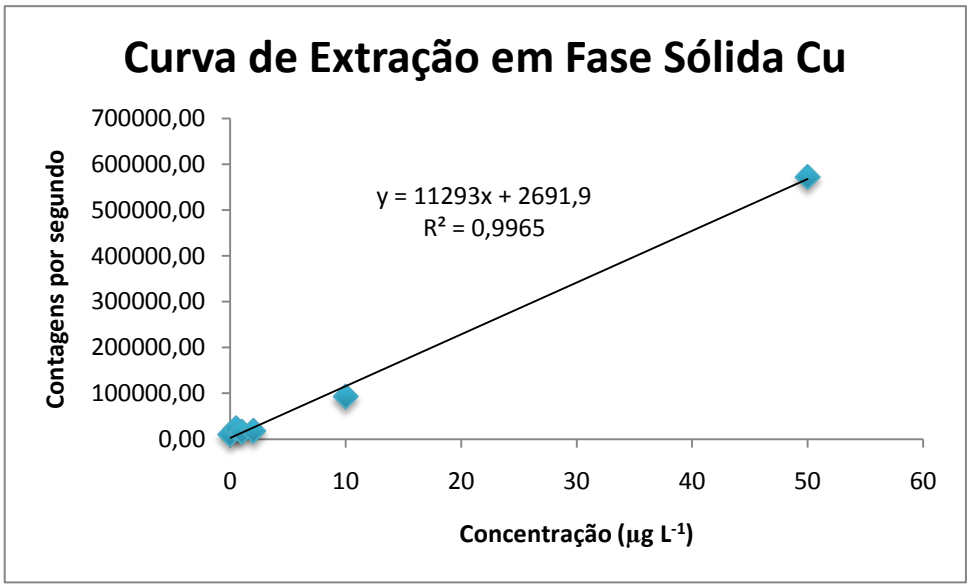
Amostra	Concentração Obtida (μg L^{-1})		
	Cu	Mn	Zn
Água Produzida (Saída de ETE)	< 2,7	1,50	2,71

De acordo com a tabela 9, devido ao limite de quantificação (LQ) para o Cu na SPE (LQ = 2,7) não foi possível determinar o analito nas amostras.

Determinação de Cu

Abaixo é apresentada a curva de extração em fase sólida (Figura 3) para o Cu na amostra 02 de água produzida.

Figura 3 - Curva de extração em fase sólida Cu na amostra 02

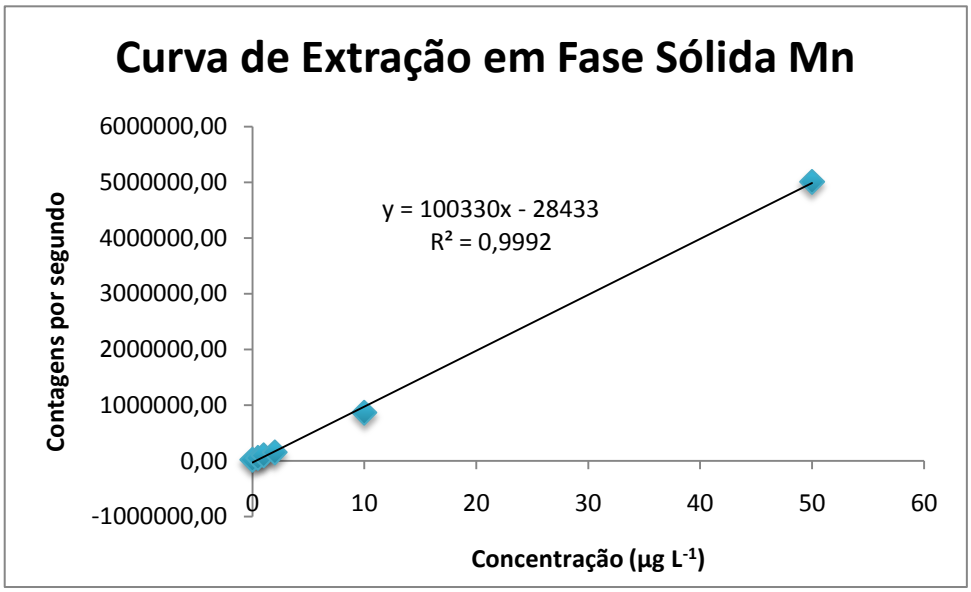


A concentração de Cu lábil na amostra 02 de água produzida determinada pela equação de reta da Figura 3 foi 1,98 μg L^{-1}.

Determinação de Mn

Abaixo é apresentada a curva de extração em fase sólida (Figura 4) para o Mn na amostra 02 de água produzida.

Figura 4 - Curva de extração em fase sólida Mn na amostra 02

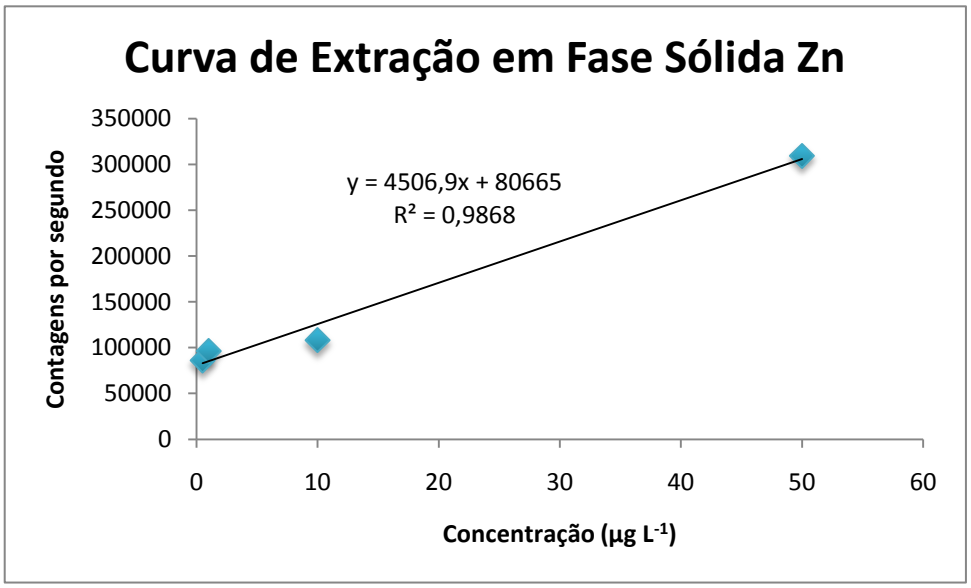


A concentração de Mn lábil na amostra 02 de água produzida determinada pela equação de reta da Figura 4 foi 6,38 µg L^{-1}.

Determinação de Zn

Abaixo é apresentada a curva de extração em fase sólida (Figura 5) para o Zn na amostra 02 de água produzida.

Figura 5 - Curva de extração em fase sólida Zn na amostra 02



A concentração de Zn lábil na amostra 02 de água produzida determinada pela equação de reta da Figura 5 foi 18,06 µg L^{-1}.

5.2 Curvas de imersão nas amostras de água produzida

Curvas de imersão de Cu

Devido ao LQ para o Cu no ICP OES equipado com nebulizador micro-concêntrico (LQ = 74), não foi possível determinar o analito nas imersões na amostra 01.

Abaixo são apresentadas as curvas de imersão obtidas com o gel difusivo (Figura 6) e o gel restritivo (Figura 7) para o Cu na amostra 02 de água produzida.

Figura 6 - Curva de imersão Cu na amostra 02 (Gel difusivo)

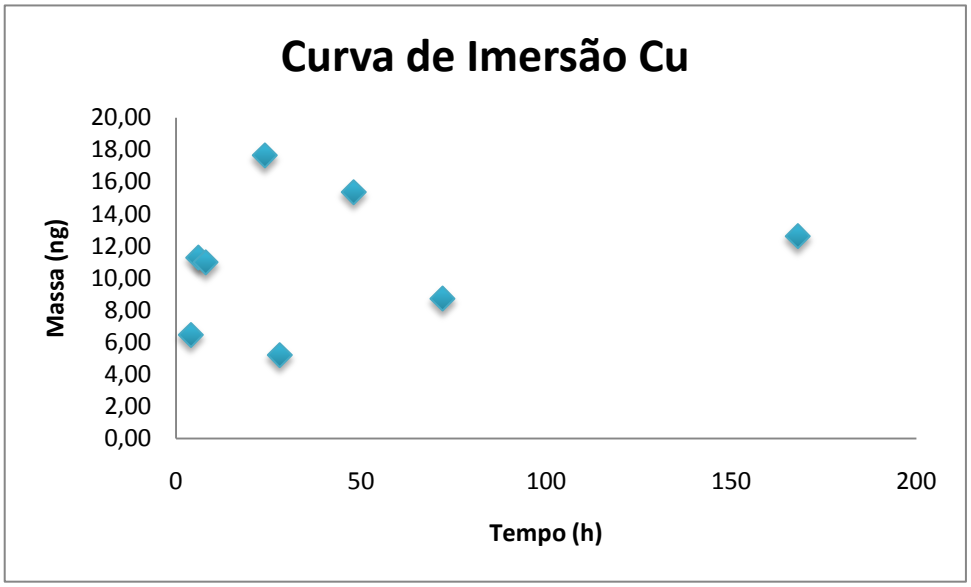
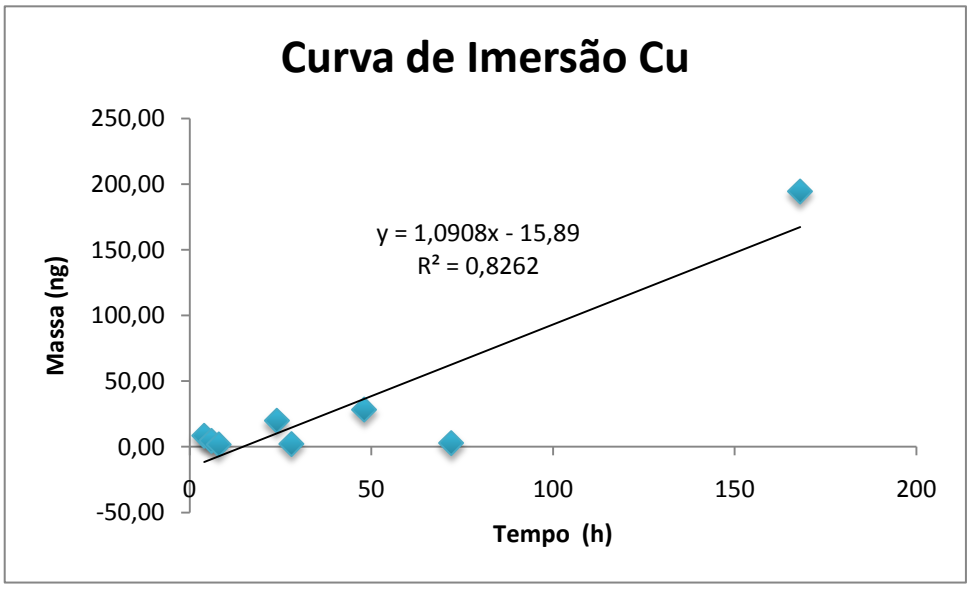


Figura 7 - Curva de imersão Cu na amostra 02 (Gel restritivo)



A curva de imersão do gel difusivo (Figura 6) apresenta um padrão não linear, que pode ser atribuído a uma possível contaminação dos dispositivos DGT (filtro, resina, entre outros).

A curva de imersão do gel restritivo (Figura 7) apresenta um padrão linear, no entanto os resultados são mais satisfatórios para longas imersões.

A Tabela 10 mostra a comparação das massas obtidas pela DGT com os géis difusivos e restritivos (amostra 02) e as massas esperadas lábeis previstas pela SPE 02.

Tabela 10 – Massas de Cu na amostra 02 de água produzida determinadas pelas técnicas DGT e extração em fase sólida

Tempo (h)	Massa Obtida com Gel Difusivo (ng)	Massa Esperada Lábil (Gel Difusivo) (ng)	Massa Obtida com Gel Restritivo (ng)	Massa Esperada Lábil (Gel restritivo) (ng)
4	6,46	6,60	8,64	4,62
6	11,27	9,90	4,66	6,93
8	10,98	13,21	1,87	9,24
24	17,65	39,62	20,05	27,73
28	5,19	46,22	2,28	32,35
48	15,35	79,23	28,46	55,46
72	8,72	118,85	2,94	83,19
168	12,61	277,31	194,51	194,12

A comparação das massas obtidas com o gel difusivo e restritivo com as respectivas massas lábeis esperadas sugere uma diferença sistemática (Teste *t*, nível 95%) positiva em favor dos dados obtidos com a SPE 02, principalmente para longas imersões. Porém há uma correlação significativa entre os pares de conjuntos de dados.

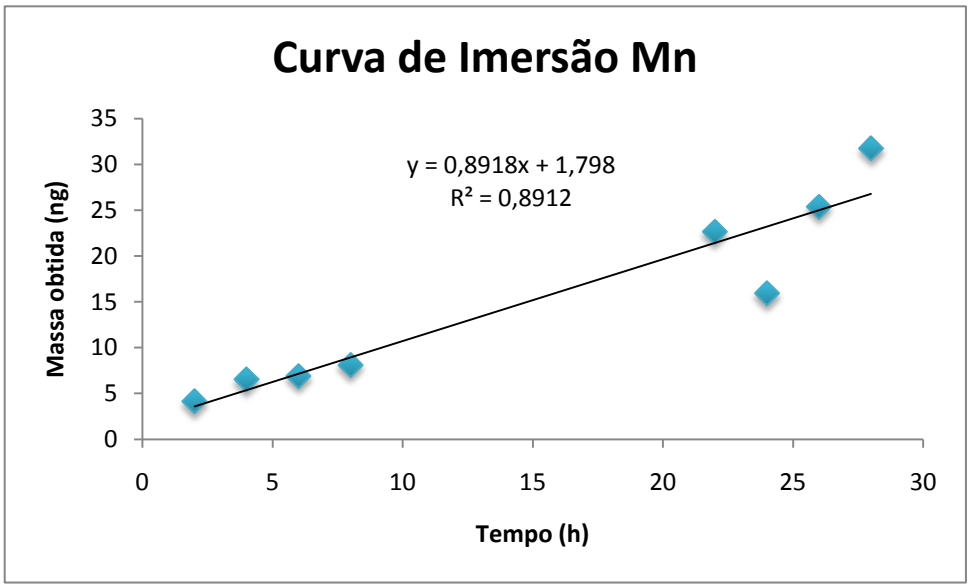
As possíveis causas de maiores valores de massa determinados pela SPE em relação à DGT são diferenças inerentes entre as técnicas, como por exemplo, a escala de tempo, que afeta a cinética de troca do analito. Contudo, ressalta-se que, talvez, o principal fator para a diferença dos resultados obtidos com a SPE e DGT esteja no sistema de quantificação utilizado para cada técnica.

Na SPE 02 o procedimento de cálculo para determinação das concentrações (baseado em uma curva construída com soluções-padrão também submetidas ao processo) corrige a eficiência das retenções dos analitos pela resina na amostra baseando-se na eficiência de retenção de soluções-padrão. Também, a labilidade dos analitos na amostra é relativa a soluções-padrão. No procedimento de cálculo utilizado no DGT, esses fatores não são considerados.

Curvas de imersão de Mn

Abaixo é apresentada a curva de imersão (Figura 8) para o Mn na amostra 01 de água produzida.

Figura 8 - Curva de imersão de Mn na amostra 01 (Gel difusivo)



Pode-se observar um padrão satisfatoriamente linear (Figura 8), sem diferença entre curtas e longas imersões, sugerindo a presença de uma única espécie lábil de Mn.

A Tabela 11 mostra a comparação das massas obtidas pela DGT (amostra 01) e as massas esperadas lábeis previstas pela SPE 01.

Tabela 11 - Massas de Mn na amostra 01 de água produzida determinadas pelas técnicas DGT e extração em fase sólida

Tempo (h)	Massa Obtida (ng)	Massa Esperada Lábil (ng)
2	4,14	2,35
4	6,55	4,69
6	6,90	7,04
8	8,10	9,38
22	22,65	25,80
24	15,94	28,14
26	25,38	30,49
28	31,74	32,83

A avaliação dos resultados através de um Teste *t* (nível de 95%) mostra que não há diferença significativa entre as massas obtidas e as massas lábeis esperadas (Tabela 8).

Abaixo são apresentadas as curvas de imersão obtidas com o gel difusivo (Figura 9) e o gel restritivo (Figura 10) para o Mn na amostra 02 de água produzida.

Figura 9 - Curva de imersão Mn na amostra 02 (Gel difusivo)

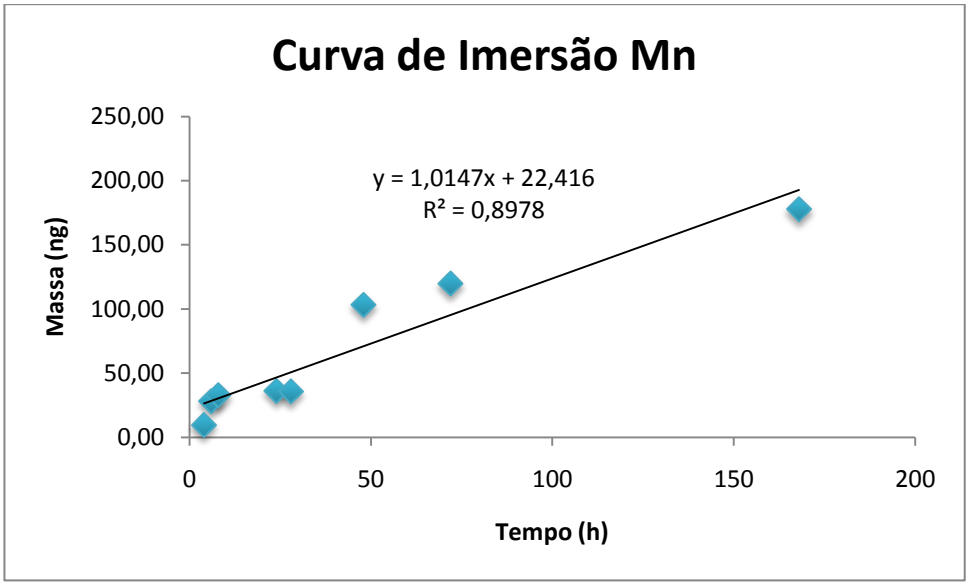
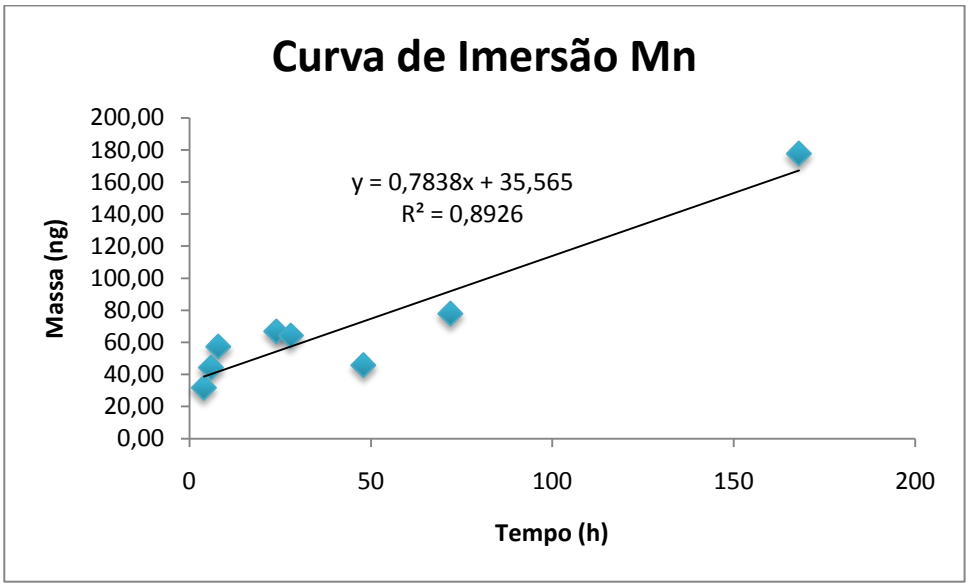


Figura 10 - Curva de imersão Mn na amostra 02 (Gel restritivo)



Pode-se observar um padrão satisfatoriamente linear nas Figuras 9 e 10, sem diferença entre curtas e longas imersões, tanto para o gel difusivo como para o gel restritivo, sugerindo que a fração lábil orgânica de Mn é insignificante na amostra.

A Tabela 12 mostra a comparação das massas obtidas pela DGT com os géis difusivo e restritivo (amostra 02) e as massas esperadas lábeis previstas pela SPE 02.

Tabela 12 - Massas de Mn na amostra 02 de água produzida determinadas pelas técnicas DGT e extração em fase sólida

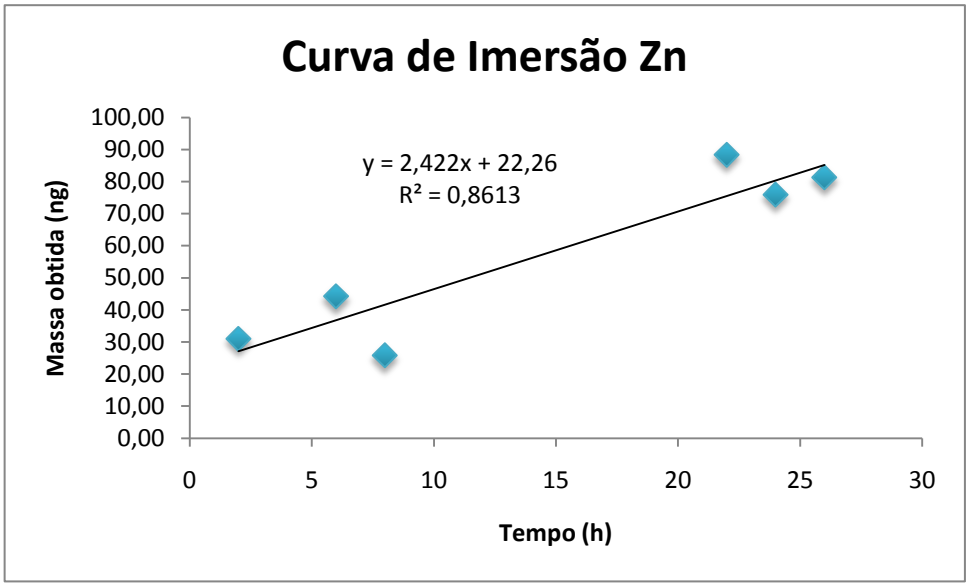
Tempo (h)	Massa Obtida com Gel Difusivo (ng)	Massa Esperada Lábil (Gel Difusivo) (ng)	Massa Obtida com Gel Restritivo (ng)	Massa Esperada Lábil (Gel restritivo) (ng)
4	9,50	19,98	31,63	13,99
6	28,07	29,97	44,18	20,99
8	32,78	39,95	57,30	27,98
24	36,03	119,86	66,79	83,95
28	35,63	139,84	64,11	97,94
48	103,08	239,73	45,69	167,89
72	119,79	359,59	77,85	251,84
168	177,72	839,04	177,58	587,63

Os resultados apresentados pela Tabela 12 permitem as mesmas conclusões feitas para as determinações de Cu (Tabela 10).

Curvas de imersão de Zn

Abaixo é apresentada a curva de imersão (Figura 11) para o Zn determinado na amostra 01 de água produzida.

Figura 11 - Curva de imersão de Zn na amostra 01 (Gel difusivo)



A curva de imersão da Figura 11 apresenta resultados semelhantes aos resultados obtidos para o Mn (retenções semelhantes para curtas e longas imersões).

A Tabela 13 mostra a comparação das massas obtidas pela DGT (amostra 01) e as massas esperadas lábeis previstas pela SPE 01.

Tabela 13 - Massas de Zn na amostra 01 de água produzida determinadas pelas técnicas DGT e extração em fase sólida

Tempo (h)	Massa Obtida (ng)	Massa Esperada Lábil (ng)
2	30,96	4,41
4	< 23	8,82
6	44,25	13,23
8	25,85	17,64
22	88,37	48,52
24	75,96	52,93
26	81,31	57,34
28	< 23	61,75

A comparação entre os dois conjuntos de dados sugere uma diferença sistemática (Teste *t*, nível 95%) positiva em favor dos dados obtidos com a DGT. Por outro lado há uma correlação significativa ($p < 0,05$) entre os dois conjuntos de dados ($y = 0,7843x - 12,972$, $R^2 = 0,8613$).

As possíveis causas de maiores valores de massa determinados pela DGT em relação à SPE são diferenças inerentes entre as técnicas ou a ocorrência de contaminações dos dispositivos DGT (filtro, resina, entre outros).

Abaixo são apresentadas as curvas de imersão obtidas com o gel difusivo (Figura 12) e o gel restritivo (Figura 13) para o Zn na amostra 02 de água produzida.

Figura 12 - Curva de imersão Zn na amostra 02 (Gel difusivo)

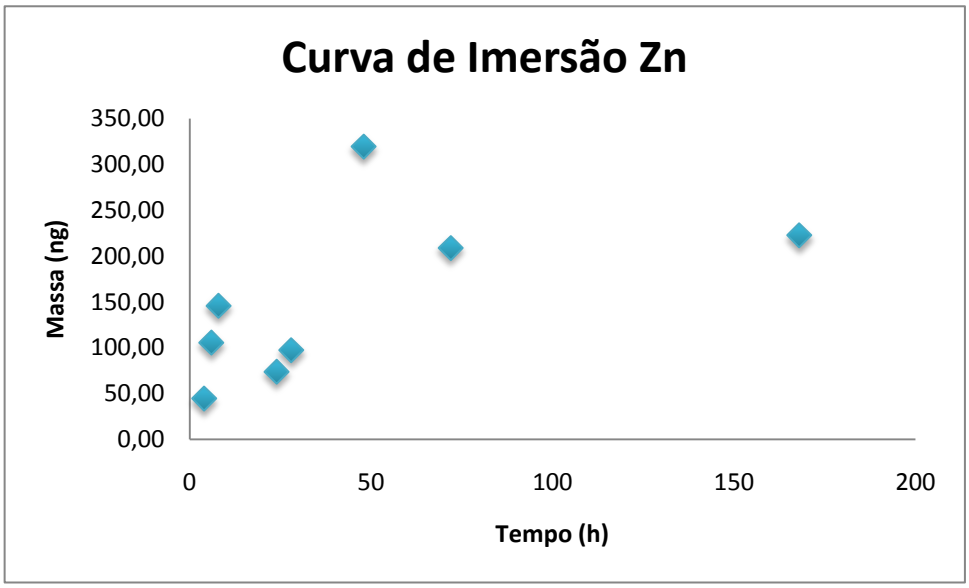
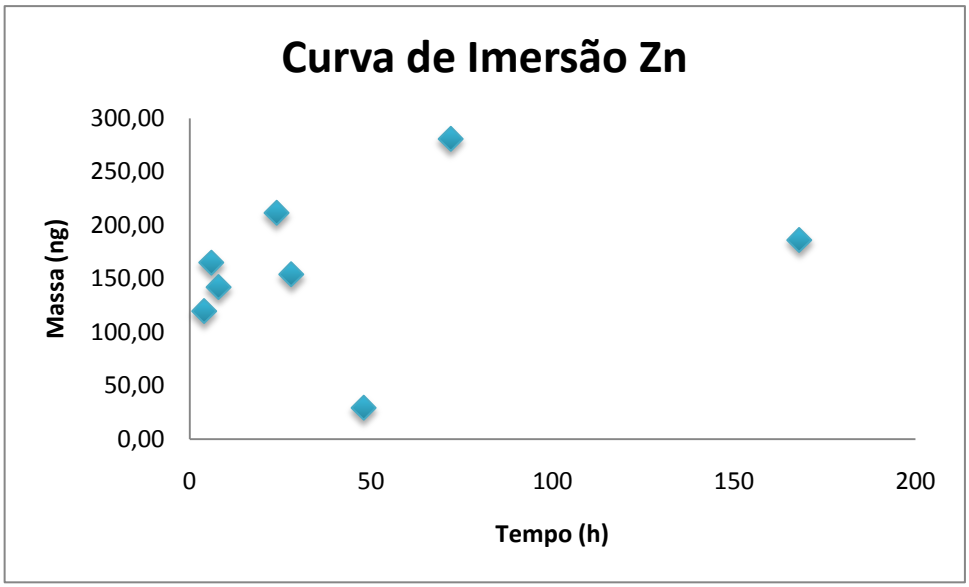


Figura 13 - Curva de imersão Zn na amostra 02 (Gel restritivo)



As curvas apresentam um padrão não linear (Figuras 12 e 13), que pode ser atribuído a uma possível contaminação dos dispositivos DGT (filtro, resina, entre outros) ou do recipiente de imersão.

A Tabela 14 mostra a comparação das massas obtidas pela DGT com os géis difusivo e restritivo (amostra 02) e as massas esperadas lábeis previstas pela SPE 02.

Tabela 14 - Massas de Zn na amostra 02 de água produzida determinadas pelas técnicas DGT e extração em fase sólida

Tempo (h)	Massa Obtida com Gel Difusivo (ng)	Massa Esperada Lábil (Gel Difusivo) (ng)	Massa Obtida com Gel Restritivo (ng)	Massa Esperada Lábil (Gel restritivo) (ng)
4	44,41	58,80	119,76	41,14
6	105,42	88,19	165,13	61,70
8	145,63	117,59	142,12	82,27
24	73,65	352,77	211,65	246,82
28	97,18	411,57	154,10	287,95
48	319,42	705,54	29,31	493,45
72	208,64	1058,31	280,86	740,45
168	222,57	2469,40	186,26	1727,72

A comparação das massas obtidas com o gel difusivo e restritivo com as respectivas massas lábeis esperadas sugere uma diferença sistemática (Teste *t*, nível 95%) positiva em favor dos dados obtidos com a SPE, principalmente para longas imersões. Porém há uma correlação significativa entre os pares de conjuntos de dados.

As possíveis causas de maiores valores de massa determinados pela SPE em relação à DGT são semelhantes às previamente discutidas para Cu e Mn.

5.3 Concentrações de Cu, Mn e Zn na água produzida determinadas pela técnica DGT e pela extração em fase sólida

A Tabela 15 mostra a comparação das concentrações obtidas pela DGT com os géis difusivos e pela SPE na amostra 01, considerando tempos de longa imersão, minimizando assim possíveis erros por contaminação (em tempos de curta imersão, onde normalmente as concentrações dos analitos no DGT são baixas, as contaminações são mais significativas).

Tabela 15 - Concentrações de Cu, Mn e Zn na amostra 01 de água produzida determinadas pelas técnicas DGT e extração em fase sólida

Tempo (h)	Concentração Obtida com Gel Difusivo ($\mu g\ L^{-1}$)			Concentração Obtida com a SPE ($\mu g\ L^{-1}$)		
	Cu	Mn	Zn	Cu	Mn	Zn
28	-	1,31	4,94			
48	-	0,85	3,89			
72	-	1,25	3,84	-	1,5	2,71
168	-	1,45	-			
Média ± SD	-	1,22 ± 0,26	4,22 ± 0,62			

Nota: Devido ao limite de quantificação (LQ) para o Cu nas técnicas DGT e SPE não foi possível determinar sua concentração na amostra, ocorrendo o mesmo para o Zn no tempo 168h.

As concentrações de Mn determinadas pelas técnicas DGT e SPE não são significativamente diferentes. No entanto, a comparação entre as concentrações de Zn determinadas pelas técnicas DGT e SPE sugere uma diferença sistemática positiva em favor

dos dados obtidos com a DGT. As possíveis causas são diferenças inerentes entre as técnicas ou a ocorrência de contaminações dos dispositivos DGT (filtro, resina, entre outros).

Concentração de Cu

A Tabela 16 mostra a comparação das concentrações obtidas pela DGT com os géis difusivo e restritivo e pela SPE na amostra 02, considerando tempos de longa imersão, minimizando assim possíveis erros por contaminação (em tempos de curta imersão, onde normalmente as concentrações dos analitos no DGT são baixas, as contaminações são mais significativas).

Tabela 16 - Concentrações de Cu na amostra 02 de água produzida determinadas pelas técnicas DGT e extração em fase sólida

Tempo (h)	Concentração Obtida com Gel Difusivo ($\mu g\ L^{-1}$)	Concentração Obtida com Gel Restritivo ($\mu g\ L^{-1}$)	Concentração Obtida com a SPE ($\mu g\ L^{-1}$)
28	0,22	0,14	
48	0,38	1,02	
72	0,15	0,07	1,98
168	0,09	1,98	
Média ± SD	0,21 ± 0,13	0,80 ± 0,90	

A comparação entre as concentrações obtidas com gel difusivo e restritivo através de um Teste *t* (nível 95%) mostra que há uma correlação significativa entre os conjuntos, sugerindo que não existem quantidades significativas de compostos na forma orgânica na amostra.

Por outro lado, a comparação dos resultados obtidos com DGT e a SPE são sistematicamente diferentes**.** As possíveis causas de maiores valores de massa determinados pela SPE em relação à DGT são diferenças inerentes entre as técnicas, como por exemplo, a escala de tempo, que afeta cinética de troca do analito. Contudo, ressalta-se que, talvez, o principal fator para a diferença dos resultados obtidos com a SPE e DGT esteja no sistema de quantificação utilizado para cada técnica.

Na SPE o procedimento de cálculo para determinação das concentrações (baseado em uma curva construída com soluções-padrão também submetidas ao processo) corrige a

eficiência das retenções dos analitos pela resina na amostra baseando-se na eficiência de retenção de soluções-padrão. Também, a labilidade dos analitos na amostra é relativa a soluções-padrão. No procedimento de cálculo utilizado no DGT, esses fatores não são considerados.

Concentração de Mn

A Tabela 17 mostra a comparação das concentrações obtidas pela DGT com os géis difusivo e restritivo e pela SPE na amostra 02, considerando tempos de longa imersão, minimizando assim possíveis erros por contaminação (em tempos de curta imersão, onde normalmente as concentrações dos analitos no DGT são baixas, as contaminações são mais significativas).

Tabela 17 - Concentrações de Mn na amostra 02 de água produzida determinadas pelas técnicas DGT e extração em fase sólida

Tempo (h)	Concentração Obtida com Gel Difusivo ($\mu g\ L^{-1}$)	Concentração Obtida com Gel Restritivo ($\mu g\ L^{-1}$)	Concentração Obtida com a SPE ($\mu g\ L^{-1}$)
28	1,63	4,18	
48	2,74	1,74	
72	2,13	1,97	6,38
168	1,35	1,93	
Média ± SD	1,96 ± 0,61	2,46 ± 1,15	

A Tabela 17 apresenta resultados semelhantes aos resultados obtidos para o Cu na Tabela 16 (correlação significativa entre as concentrações obtidas com gel difusivo e restritivo, e resultados sistematicamente diferentes obtidos com DGT e SPE).

Concentração de Zn

A Tabela 18 mostra a comparação das concentrações obtidas pela DGT com os géis difusivo e restritivo e pela SPE na amostra 02, considerando tempos de longa imersão, minimizando assim possíveis erros por contaminação (em tempos de curta imersão, onde

normalmente as concentrações dos analitos no DGT são baixas, as contaminações são mais significativas).

Tabela 18 - Concentrações de Zn na amostra 02 de água produzida determinadas pelas técnicas DGT e extração em fase sólida

Tempo (h)	Concentração Obtida com Gel Difusivo ($\mu g\ L^{-1}$)	Concentração Obtida com Gel Restritivo ($\mu g\ L^{-1}$)	Concentração Obtida com a SPE ($\mu g\ L^{-1}$)
28	4,26	9,66	
48	8,18	1,07	
72	3,56	6,85	18,06
168	1,63	1,95	
Média ± SD	4,41 ± 2,75	4,88 ± 4,08	

A Tabela 18 apresenta resultados semelhantes aos resultados obtidos para o Cu e Mn nas Tabelas 16 e 17 (correlação significativa entre as concentrações obtidas com gel difusivo e restritivo, sugerindo que não existem quantidades significativas de compostos na forma orgânica na amostra, e resultados sistematicamente diferentes obtidos com a DGT e com a SPE).

6. CONCLUSÕES

De acordo com as concentrações obtidas de Cu, Mn e Zn com os géis difusivo e restritivo pode-se concluir que não existem quantidades significativas de compostos na forma orgânica nas amostras de água produzida analisadas.

Pode-se afirmar que a técnica DGT possibilita resultados satisfatórios para determinação de Mn em amostras de água produzida oriundas de extração "on shore", podendo ser utilizada para determinações *in situ*.

No entanto, para o Zn e Cu, não se obtendo curvas de imersão lineares são necessários estudos adicionas para esclarecer os resultados obtidos. A condução de experimentos em salas limpas, não disponíveis no Centro de Estudos Ambientais, poderá estabelecer as possíveis fontes de contaminações.

Para utilizar a água produzida na irrigação deve-se considerar a fração lábil dos metais nela presentes, uma vez que esta é a fração do metal que estará disponível para os organismos, e é também esta fração que em determinadas concentrações no solo pode ser tóxica às plantas.

De acordo com estudos citados anteriormente, o Cu e o Zn podem vir a ser tóxicos às plantas em concentrações acima de 10 mg L^{-1}. Como para estes metais são necessários mais estudos com a técnica DGT, os valores utilizados para comparação são as concentrações determinadas através da extração em fase sólida: 0,00198 mg Cu L^{-1} (SPE na amostra 02) e 0,01039 mg Zn L^{-1} (média das duas SPE).

Também de acordo com estudos citados anteriormente, a concentração tóxica média de Mn para plantas é 140 mg Mn L^{-1}. A concentração do metal determinada nas amostras de água produzida da saída da ETE através da técnica DGT foi 0,00188 mg Mn L^{-1} (média de todas as imersões, com géis difusivos e restritivos), e a concentração determinada pela SPE foi 0,00394 mg Mn L^{-1} (média das duas SPE).

Comparando-se as concentrações de Cu, Mn e Zn determinadas com as técnicas DGT e SPE com as concentrações tóxicas desses metais para as plantas, a água produzida da saída da ETE não causa toxicidade, e pode ser usada para irrigação.

Porém, os limites máximos de Cu (0,005 mg L^{-1}), Mn (0,1 mg L^{-1}) e Zn (0,09 mg L^{-1}) para águas salobras de Classe 1 (enquadramento da água produzida da saída da ETE) estabelecidos pela resolução CONAMA 357/2005 são menores do que as concentrações tóxicas dos metais, e devem ser respeitados.

Embora as concentrações dos metais obtidas com as técnicas DGT e SPE sejam menores que os valores estabelecidos em lei, elas não representam o teor total dos analitos na

amostra, mas a fração lábil. Portanto, para se determinar a possibilidade de utilização da água produzida da saída da ETE para irrigação é igualmente necessário estudar os teores totais de Cu, Mn e Zn na amostra.

Outros parâmetros de qualidade, como carbono orgânico total, OD, presença de óleos e graxas, entre outros, também deverão ser analisados para identificar a real possibilidade de seu uso na irrigação.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERNARDI, C. C. Reuso de água para irrigação. 2003. Monografia (Pós Graduação em Gestão Sustentável da Agricultura Irrigada) - ISEA, FGV, 2003.

BUZIER, R., TRUSSEAU-VUILLEMIN, M., MOUCHEL, J. Evaluation of DGT as a metal speciation tool in wastewater. Science of Total Env., v. 358, p. 277-285, 2006.

BUZIER, R., TRUSSEAU-VUILLEMIN, M., MERIADEC, C., ROUSSELOT, O., MOUCHEL, J. Trace metal speciation and fluxes within a major French wastewater treatment plant: Impact of successive treatment stages. Chemosphere, v. 65, p 2419-2426, 2006.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005.

DAVISON, W., ZHANG, H. In situ speciation measurements of trace components in natural waters using thin-film gels. Nature, v. 367, p. 546-548, 1994.

FORSBERG, J., DAHLQVIST, R., GELTING-NYSTROM, J., INGRI, J. Trace metal speciation in brackish water using diffusive gradient in thin films and ultrafiltration: Comparison of techniques. Environ. Sci. Technol., v. 40, n. 12, p. 3901-3905, 2006.

GAABASS, I., MURIMBOH, JD., JOHN, D., HASSAN, NM. A study of diffusive gradients in thin films for the chemical speciation of Zn(II), Cd(II), Pb(II), and Cu(II): The role of kinetics. Water Air Soil Pollut., v. 202, p. 131-140, 2009.

GARMO, O. A., ROYSET, O., STEINNES, E., FLATEN, T. P. Performance study of diffusive gradients in thin films for 55 elements. Anal. Chem., v. 75, p. 3573-3580, 2003.

GIMPEL, J., ZHANG, H., DAVISON, W. In situ trace metal speciation in lake surface waters using DGT, dialysis and filtration. Environ. Sci. Technol., v. 37, p. 138-146, 2003.

GOMES, E. A. Tratamento combinado de água produzida de petróleo por eletroflotação e processo fenton. 2009. Monografia (Pós Graduação em Engenharia de Processos) – Universidade Tiradentes, Aracaju, 2009.

ICP – OES with the CETAC DSX – 100 preconcentration / Matrix Elimination System. Omaha: CETAC Technologies.

KIRKBY, E. A., ROMHELD, V. Micronutrientes na fisiologia de plantas: funções, absorção e mobilidade. Encarte Técnico do Informações Agronômicas, n. 118, 2007.

KOT-WASIK, A., ZABIEGALA, B., URBANOWICZ, M., DOMINIAK, E., WASIK, A., NAMIESNIK, J. Advances in passive sampling in environmental studies. Anal. Chim. Acta., v. 602, p. 141-163, 2007.

KUHN, M., KRIEWS, M. Fresenius J. Anal. Chem., v. 367, p. 440-444, 2000.

LUO, J., ZHANG, H., ZHAO, F., DAVIDSON, W. Distinguishing diffusional and plant control of Cd and Ni uptake by hyperaccumulator and nonhyperaccumulator plants. Environ. Sci. Technol., v. 44, p. 6636-6641, 2010.

MARTINS, I., LIMA, I. V. Ecotoxicologia do manganês e seus compostos. Cadernos de Referência Ambiental, v. 7, 2001.

MILLALEO, R., REYES-DÍAZ, M., IVANOV, A. G., MORA, M. L., ALBERDI, M. Manganese as essential and toxic element for plants: transport, accumulation and resistance mechanisms. J. Soil Sci. Plant. Nutr., v.10, p. 476-494, 2010.

NOLAN, A., ZHANG, H. AND MCLAUGHLIN, M. J. Prediction of zinc, cadmium, lead and copper availability to wheat in contaminated soils using chemical speciation, diffusive gradients in thin-films, extraction, and isotopic dilution techniques. J. Environ. Qual., v. 34, p. 496-507, 2005.

OLIVEIRA, R. C. G., OLIVEIRA, M. C. K. Remoção de contaminantes tóxicos dos efluentes líquidos oriundos da atividade de produção de petróleo no mar. Bol. Téc. PETROBRÁS, v. 43, p. 129-136, 2000.

OLIVEIRA, W. Determinação da fração lábil de Ba em água produzida de petróleo utilizando a técnica de difusão em filmes finos por gradientes de concentração com a membrana fosfato de celulose (P81) como agente ligante. 2011. Dissertação (Pós Graduação em Geociências e Meio Ambiente) – Instituto de Geociências e Ciências Exatas – Universidade Estadual Paulista, 2011.

PAGANINI, W. S., SOUZA, A., BOCCHIGLIERI, M. M. Avaliação do comportamento de metais pesados no tratamento de esgotos por disposição no solo. Eng. Sanit. Ambient., v. 9, n. 3, P. 225-239, 2004.

PEDROZO, M. F. M., LIMA, I. V. Ecotoxicologia do cobre e seus compostos. Cadernos de Referência Ambiental, v. 2, 2001.

SILVA, C. R. R. Água produzida na extração de petróleo. 2000. Monografia (Curso de Especialização em Gerenciamento e Tecnologias Ambientais na Indústria) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, 2000.

SILVA, T. M. R., PRADO, R. M., VALE, D. W., AVELHÃES, C. C., PUGA, A. P., FONSECA, I. M. Toxicidade do zinco em milheto cultivado em latossolo vermelho distrófico. Rev. Bras. Ciên. Agrár., v. 5, n. 3, p. 336-340, 2010.

SFREDO, G. J., BORKET, C. M. Deficiências e toxicidades de nutrientes em plantas de soja: Descrição dos sintomas e ilustração com fotos. 1ª. ed. Londrina: Embrapa Soja, 2004. 44 p.

USE of the SPR – IDA reagent for the determination of trace metals in a coastal seawater reference material. Omaha: CETAC Technologies.

VELOSO, C. A. C., MURAOKA, T., MALAVOLTA, E., CARVALHO, J. G. Influência do manganês sobre a nutrição mineral e o crescimento da pimenta do reino. Sci. Agric., v. 52, p. 376-383, 1995.

YRUELA, I. Copper in plants. Braz. J. Plant Physiol., v.17, n.1, p. 145-156, 2005.

ZHANG, H., DAVISON, W. Performance characteristics of diffusion gradients in thin films for the in situ measurements of trace metals in aqueous solution. Anal. Chem., v. 67 p. 3391-3400, 1995.

ZHANG, H., DAVISON, W. Diffusional characteristics of hydrogels used in DGT and DET techniques. Anal. Chim. Ata, v. 398, p. 329-340, 1999.

ZHANG, H., LOMBI, E., SMOLDERS, E., MCGRATH, S. Zn availability in field contaminated and spiked soils. Env. Sci. Technol., v. 38, p. 3608-3613, 2004.

ZHANG, H. DGT – for measurements in waters, soils and sediments. Lancaster, 2003. DGT Research. Disponível em: <http://www.dgtresearch.com/dgtresearch/dgtresearch.pdf>. Acesso em: 25 mar. 2011.