
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

THAYS VALENTIM DE SIMONE

**Avaliação da membrana de troca aniônica DE 81 como
ligante na técnica de difusão em filmes finos
por gradientes de concentração (DGT)
para a determinação de Cromo VI.**

Thays Valentim de Simone

Avaliação da membrana de troca aniônica DE 81 como ligante na técnica de difusão em filmes finos por gradientes de concentração (DGT) para a determinação de Cromo VI.

Orientador: Dr. Amauri Antonio Menegário

:

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto de Biociências da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho” - Câmpus de Rio Claro,
para obtenção do grau de Licenciada e
Bacharela Ciências Biológicas.

Rio Claro
2012

621 Simone, Thays Valentim de
S598a Avaliação da membrana de troca aniônica DE 81 como
ligante na técnica de difusão em filmes finos por gradientes
de concentração (DGT) para a determinação de Cromo VI /
Thays Valentim de Simone. - Rio Claro : [s.n.], 2012
42 f. : il., figs., gráfs., tabs., fots., mapas

Trabalho de conclusão de curso (Ciências Biológicas) -
Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de
Rio Claro
Orientador: Amauri Antonio Menegário

1. Física aplicada. 2. DGT. 3. Química analítica. 4. Metais
tóxicos. I. Título.

DEDICATÓRIA

Como não poderia ser diferente, dedico este trabalho as duas pessoas que são os meus alicerces, os melhores exemplos que tive, tenho e sempre vou ter em minha vida: meus pais. Rafael de Simone Neto e Amarilis Valentim de Simone, sem vocês, eu não teria forças, coragem e nem sabedoria para seguir em frente. Se já percorri um longo caminho, e se continuarei a ir cada vez mais longe, é porque sempre caminharei ao lado de vocês.

“O amor é o único nexo permanente válido nas relações familiares. Amar e ser amado é um desejo de todos. E também um direito que a sociedade deveria proteger e estimular.” (Knobel, 1992).

AGRADECIMENTOS

Primeiramente e principalmente quero agradecer a minha família. Pai e Mãe o meu mais sincero OBRIGADA, vocês são o exemplo de educadores que eu almejo ser um dia: amáveis, compreensivos e companheiros para todos os momentos, novamente friso que sem vocês nunca teria nunca conseguido realizar esse sonho. Aos meus amados irmãos Ricardo e Yago, sinônimos de amizade, companheirismo e força, sem vocês minha vida não teria a menor graça. Agradecer ao carinho e a motivação que sempre encontrei no colo do meu avô Ricardo e minhas avós Vera e Dirce, assim como com minha querida tia Rosana.

Ao professor Amauri Antonio Menegário não somente por toda orientação na elaboração deste trabalho, mas por todos os ensinamentos profissionais e pessoais, pela amizade e paciência que com certeza será exemplo seguido ao longo de todo meu futuro profissional.

A todos os amigos do Centro de Estudos Ambientais: Amanda, Francisca, Monizze, Lais, Camila, Ana Marta, Lauren e em especial ao Alfredo por toda orientação, apoio, sugestões, conhecimento e incentivo.

Um agradecimento muito especial a minha amiga, irmã, mãe e “moradora junta”. Marília (Pedrita) obrigada por fazer esses cinco anos um período de extrema aprendizagem, mostrando como diferenças e semelhanças podem conviver lado a lado todo dia da maneira mais prazerosa possível e se tornarem um misto de amor, respeito e companheirismo. Você personifica a expressão “verdadeira amizade”, você e nossa amada Gaya.

A todos os amigos que fiz durante essa jornada, só tenho a agradecer por cada momento de risada, por cada ensinamento, por cada superação. Vocês fizeram com que o eu nunca deixasse “a graduação atrapalhar minha faculdade”, foram muitos momentos que ficarão para sempre em minha memória. Gabriela, Luiza, Jamille, Bruno, Gustavo, Gabriel,

Ana Cláudia entre outros que passaram e por algum motivo saíram, porém não deixaram de ficar marcados e fazer parte dessa história, meu profundo agradecimento. Em especial agradecer ao Ítalo, por todo carinho, paciência e companheirismo que mesmo com uma maior aproximação somente no final desta etapa, foi de grande importância para concluí-la.

Por fim agradecer as “velhas amizades” que fizeram, fazem e sempre irão fazer com que cada período da minha vida seja mais agradável. Hoje tenho a certeza que verdadeiras amizades tendem a se fortalecer e crescer ao longo do tempo, mesmo com todas as dificuldades e a distância. Amo vocês: Larissa, Danyelle, Aline, Débora, Andréa, Renata, Fernanda, Jania, Flávia, Gustavo, Andréa de Paula.

**“A gente quer ter voz ativa, no nosso destino mandar.
Mas eis que chega a roda viva e carrega o destino prá lá...”**

Chico Buarque

RESUMO

Sabe-se que existe uma grande variedade de traços de metais biodisponíveis nos sistemas aquáticos, e sua determinação é fundamental para prever impactos para os organismos destes ambientes. Porém, a determinação da concentração total de elementos químicos em sistemas aquáticos, apesar de sua relevância, não proporciona informações necessárias para uma tomada de decisões ou até mesmo, podem conduzir a interpretações errôneas dos processos e potenciais riscos ao sistema em questão. O presente trabalho teve como objetivo utilizar a técnica de difusão em filmes finos por gradientes de concentração (DGT) para avaliar a membrana de troca aniônica Whatman DE 81 como ligante alternativo na determinação de Cr(VI). Foram realizados experimentos para determinar os coeficientes de difusão em relação ao material de difusão utilizado (gel de agarose). O comportamento dos agentes ligantes foram analisados perante as principais variáveis dos sistemas, tempo de imersão, pH e força iônica. Em seguida, foi feita a avaliação dos potenciais interferentes, para finalmente prosseguir com a realização de testes empregando amostras reais em laboratório e in situ.

Palavras-chave: DGT, Cromo hexavalente, DE81

ABSTRACT

It is known that there is a wide variety of bioavailable trace metals in aquatic systems, and its determination is fundamental to predict impacts to organisms in these environments. However, the determination of the total concentration of chemicals in aquatic systems, despite its importance, does not provide necessary information for decision making or even may lead to misinterpretation of the procedures and potential risks to the system in question. This study aimed to use the technique of diffusion in thin films by concentration gradients (DGT) to evaluate the anion exchange membrane Whatman DE 81 as binder alternative in determining Cr (VI). Experiments were carried out to determine the diffusion coefficients for the material used diffusion (agarose gel). The behaviors of the binders were analyzed before the main variables of the systems, immersion time, pH and ionic strength. Then was made the assessment of potential interferences, to finally proceed with testing using actual samples in the laboratory and in situ.

Keywords: DGT, Hexavalent Chromium, DE81

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Esquema de um dispositivo DGT e representação gráfica do gradiente de concentração de íons metálicos lábeis no interior de um hidrogel em contato com a solução em estudo.....	17
Figura 2. Mapa da bacia hidrográfica do Ribeirão Claro.....	20
Figura 3. Indica o ponto de coleta de amostras e imersão dos dispositivos DGT, Ribeirão Claro – SP.....	21
Figura 4. Preparo do gel de agarose.....	23
Figura 5. Experimento Curva de imersão em andamento.....	24
Figura 6. Experimento Câmara de Difusão em andamento.....	25
Figura 7. Experimento Força iônica em andamento.....	26
Figura 8. Da esquerda para a direita: Membrana DE 81, Agarose 1,5% (m/v) depois de seccionados, Membrana Filtro – acetato de celulose.....	27
Figura 9. Dispositivos DGTs montados e prontos para imersão.....	28
Figura 10. A esquerda estrutura hexagonal montada, a figura da direita é um esquema que representa a estrutura imersa em campo.....	29
Figura 11. Da esquerda para direita: Local da imersão dos DGTs, DGTs montados na armação hexagonal, DGTs imersos em campo.....	30
Figura 12. Curva câmara de difusão. Apresenta a relação das massas de Cr(VI) difundida pelo tempo.....	31
Figura 13. Curva de imersão com Agarose como agente difusivo para Cr(VI).....	32
Figura 14. Apresenta a relação [DGT]/[solução] diante da variação de pH.....	33
Figura 15. Relação [DGT]/[solução] para diferentes valores de força iônica.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Espécies químicas de Cr no ambiente.....	14
Tabela 2. Efeito interferente na retenção de Cr(VI). Média $\pm$ Sd.....	35
Tabela 3. Valores médios de pH, força iônica e temperatura obtidos na água do Ribeirão Claro.....	35
Tabela 4. Valores da concentração de massa de Cr(IV) na solução e na membrana.....	36

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVO	11
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
3.1. Recursos Hídricos	11
3.2. O Cromo hexavalente	12
3.3. A técnica difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT)	15
3.4. Local de estudo: Ribeirão Claro – bacia do rio Corumbataí, SP.	19
4. MATERIAIS E MÉTODOS	21
4.1. Materiais	21
4.2. Métodos	22
4.2.1. <u>Princípios da técnica do DGT</u>	22
4.2.2. <u>Preparo do agente difusivo</u>	23
4.2.3. <u>Preparo da solução-estoque de Cromo VI</u>	24
4.2.4. <u>Preparo da solução-estoque de NaNO_3 2 mol L⁻¹</u>	24
4.2.5. <u>Preparo das soluções para os experimentos</u>	24
4.2.6. <u>Preparação do agente ligante</u>	26
4.2.7. <u>Procedimento de montagem e imersão dos dispositivos</u>	27
4.2.8. <u>Parte experimental</u>	27
4.2.9. <u>Procedimento de eluição e de determinação</u>	30
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5.1. Géis de agarose	30
5.2. Câmara de Difusão	30
5.3. Curva de Imersão com Agarose	31
5.4. Efeito do Potencial Hidrogeniônico na capacidade de ligação da membrana DE 81.	32
5.5. Efeito da Força Iônica na capacidade de ligação da membrana DE 81.	33
5.6. Efeito de potenciais interferentes na capacidade de retenção de Cr(VI) pela membrana DE 81	34
5.7. Imersão in situ Ribeirão Claro – bacia do Rio Corumbataí, SP	36
6. CONCLUSÃO	36
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

1. INTRODUÇÃO

Em um mundo em onde parece que quase todos os ecossistemas naturais estão sob estresse, os ecossistemas de água doce, aparecem como os mais ameaçados. Vários problemas afetam a qualidade das águas fluviais: esgotos domésticos tratados de forma inadequada, efluentes industriais, perda e destruição das bacias de captação, a localização errônea das unidades industriais e o desmatamento. Segundo o Plano Nacional de Recursos Hídricos (2006, p.58) o índice de qualidade das águas (IQA) é empregado em sete das 12 regiões hidrográficas brasileiras (Atlântico Sul, Paraguai, Atlântico Sudeste, São Francisco, Paraná, Atlântico Leste e Amazônica), tornando a elaboração de um diagnóstico nacional de qualidade das águas limitado, devido à insuficiência das redes de monitoramento em grande parte do país.

Quase todos os metais presentes no ambiente são biogeoquimicamente ciclados desde a formação do planeta e, por isso, são de ocorrência natural. Entretanto, recentemente, tem sido observada a introdução desses elementos no ambiente devido às atividades de origem antrópica (GUEDES, 2008).

Conforme as pesquisas de Baird (1995), os metais pesados são substâncias químicas inorgânicas que se destacam entre os poluentes do meio aquático. O crescente incremento de metais pesados nos diversos ecossistemas terrestres tem sido acompanhado pela preocupação com a disseminação desses elementos, em concentrações que podem comprometer a qualidade dos ecossistemas. Contudo, segundo Duffus (2002), o termo “metal pesado” não é o mais adequado quando se refere à poluição e toxicidade, mesmo sendo frequentemente utilizado, isso porque “pesado” é convencionalmente aplicado para indicar alta densidade. O conhecimento da densidade contribui pouco para avaliar os efeitos biológicos.

Sabe-se que existe uma grande variedade de traços de metais na forma orgânica e inorgânica em sistemas aquáticos, e sua determinação é fundamental para prever impactos para os organismos destes ambientes. Porém, a determinação da concentração total de elementos químicos em sistemas aquáticos, apesar de sua relevância, não proporciona informações necessárias para uma tomada de decisões ou até mesmo, podem conduzir a interpretações errôneas dos processos e potenciais riscos ao sistema em questão. Hoje é amplamente discutido que assistimos a uma explosão demográfica que parece não ter controle. Em constante crescimento, ela trás resultados negativos que afetam o planeta, tanto nas questões voltadas á proteção ambiental, quanto nos campos econômico e social. Neste contexto, intensifica-se a necessidade de desenvolver novas técnicas analíticas que

possibilitem a determinação de espécies químicas, principais responsáveis pela contaminação dos recursos naturais.

2. OBJETIVOS

Os experimentos visaram, principalmente, avaliar a eficiência da retenção de Cr (VI) pelo agente ligante DE 81, em relação às principais variáveis da técnica DGT (pH e força iônica) e potenciais íons interferentes. Também, avaliou-se o uso da agarose como agente difusivo para dispositivos contendo a membrana de troca aniônica Whatman DE81. Em seguida, o dispositivo foi testado para determinação de Cr (VI) realizando-se imersões em amostras reais (água de rio) em laboratório e “in situ”.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Recursos Hídricos

A água potável é de fundamental importância para a conservação da vida no planeta Terra. Sua distribuição pela superfície terrestre é desigual, possui uma quantidade invariável e seu ciclo natural é renovável, porém suas reservas hídricas são limitadas, pois há variação da sua forma, duração dos circuitos que é levada a seguir bem como sua qualidade pode ser afetada (COLAÇO, 2012).

O território brasileiro possui uma grande extensão que juntamente com sua posição no globo terrestre resultam em variações sazonais. São caracterizadas principalmente pelas estações do ano e pelos regimes de chuvas a elas associados, variando os períodos de estiagem e cheia nas diversas regiões de formas diferentes. Essa variação ocasiona uma grande diversidade no ciclo hidrológico médio das diversas regiões do país.

A disponibilidade hídrica no Brasil é privilegiada, porém, cerca de 70% da água doce do país encontra-se na região amazônica, que é habitada por menos de 5% da população. Sendo assim, uma mentalidade de abundância tornou-se um pensamento equivocado na sociedade brasileira que por muito tempo serviu como suporte à cultura do desperdício da água, à sua pouca valorização como recurso finito e ao adiamento dos investimentos necessários à otimização de seu uso. Os problemas de escassez hídrica no Brasil decorrem, fundamentalmente, da combinação entre o crescimento exagerado das demandas localizadas e da degradação da qualidade das águas. Esse quadro é consequência dos desordenados

processos de urbanização, industrialização e expansão agrícola (Agencia Nacional de Energia Elétrica, 2000).

Um dos aspectos críticos da introdução de substâncias químicas em sistemas aquáticos é a sua bioacumulação, principalmente, no que se refere à contaminação por metais (MARKERT, 1998). Alguns metais como o cromo, o cobre e o zinco, encontrados na natureza em solos, ar e água, além dos alimentos, são considerados microelementos essenciais ao metabolismo dos organismos vivos. Entretanto, o excesso ou carência desses elementos pode levar a distúrbios no organismo e, em casos extremos, até a morte (VIRGA, GERALDO e SANTOS, 2007).

Yabe e Oliveira (1998) relatam que atualmente uma grande quantidade de pesquisas procura quantificar poluição por metais pesados em bacias hidrográficas, buscando agrupar dados sobre o impacto ambiental e relações com as atividades econômicas, além de atribuir soluções para o controle da poluição.

3.2. O Cromo hexavalente

Os impactos de metais pesados no ecossistema dependem da sua concentração e especiação. Geralmente, espécies iônicas livres são consideradas a principal forma, uma vez que são biodisponíveis e bioreativas. Nos sistemas aquáticos muitas substâncias estão presentes tanto na forma inorgânica como orgânica, que formam complexos com íons metálicos dissolvidos influenciando em sua biodisponibilidade (NEUBECKER e ALLEN, 1983).

A partir deste pensamento pesquisadores ressaltam que nas pesquisas na área ambiental, por exemplo, tem sido essencial a determinação de espécies redox e orgânicas de Sb, As, Fe, I, Pb, Hg, Pt e Se; de complexos de Cd ou metaloproteínas de Cd, de espécies redox de Cr, Cu, e espécies de Sn (DONARD e CARUSO, 1998).

Nos últimos anos a contaminação do ambiente por Cr, especialmente hexavalente, tornou-se uma área de importante preocupação. Geralmente o Cr encontrado no ambiente é de origem antrópica, utilizado em larga escala em diferentes indústrias (produção de tintas e pigmentos, preservação de madeiras, produção de celulose e papel, etc.) e é recomendado para uso como uma referência em testes de toxicidade padrão (DORN et al., 1987) (SALUNKHE, DHAKEPHALKAR e PAKNIKAR, 1998).

Locais de lixiviação e percolação de Cr (VI) a partir do solo para as águas subterrâneas representam um risco sanitário considerável. A indústria de curtumes (processamento de

couro cru) é um contribuinte particularmente elevado de poluição dos recursos hídricos com Cr, com grade ressalva para países como a Índia (CHANDRA, SINHA e RAI, 1997).

O cromo hexavalente [Cr (VI)] está geralmente presente no ambiente aquático como HCrO_4^- ; $\text{HCr}_2\text{O}_7^{2-}$; $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ e CrO_4^{2-} , podendo estar associado a efeitos biológicos adversos em todos os níveis de organização biológica (MISHRA e MOHANTY, 2009). Estes compostos não são biodegradáveis e se acumulam no ambiente, resultando em diretos e indiretos efeitos tóxicos para a vida aquática. As concentrações de Cr(VI) recomendadas para a vida em água doce são $1 \mu\text{g L}^{-1}$, $1 \mu\text{g L}^{-1}$ para vida em água salgada, $8 \mu\text{g L}^{-1}$ em águas de irrigação e $50 \mu\text{g L}^{-1}$ em águas para beber.

Tabela 1. Espécies químicas de Cr no ambiente

<i>Espécies Químicas</i>	<i>Estado de Oxidação</i>	<i>Exemplos</i>	<i>Observações</i>
Cr elementar	Cr(0)		Não ocorre naturalmente
Cr bivalente	Cr(II)	CrBr ₂ , CrCl ₂ , CrF ₂ , CrSe, Cr ₂ Si	Relativamente instável e é facilmente oxidado para o estado trivalente
Cr trivalente	Cr(III)	CrB, CrB ₂ , CrBr ₃ , CrCl ₃ .6H ₂ O, CrCl ₃ , CrF ₃ , CrN, KCr(SO ₄) ₂ .12H ₂ O	Forma compostos estáveis e ocorre na natureza em minérios, tais como cromatoférrico (FeCr ₂ O ₄)
Cr tetravalente	Cr(IV)	CrO ₂ , CrF ₄	Não ocorrem naturalmente e representa um importante intermediário que influenciam a taxa de redução da forma Cr (V). Cromo (IV) os compostos são menos comuns. O Cr (IV) de íons e seus compostos não são muito estáveis e por causa de meia-vida curta, desafiam a detecção de intermediários de reação entre Cr (VI) e Cr (III).
Cr pentavalente	Cr(V)	CrO ₄ ³⁻	Não ocorrem naturalmente e representa um importante intermediário que influenciam a taxa de redução da forma Cr (VI). Cromo (V) as espécies são derivados do ânion CrO ₄ ³⁻ e são de longa vida o suficiente para ser observado diretamente. No entanto, existem relativamente poucos compostos estáveis contendo Cr (V).
Cr hexavalente	Cr(VI)	(NH ₄) ₂ CrO ₄ , BaCrO ₄ , CaCrO ₄ , K ₂ CrO ₄ , K ₂ Cr ₂ O ₇	O segundo estado mais estável de Cr. No entanto, Cr (VI) raramente ocorre naturalmente, mas é produzido a partir de fontes antrópicas. Ela ocorre naturalmente em minerais raros (PbCrO ₄)

Fonte: Adel M. Zayed & Norman Terry (2003).

Em altas taxas o Cr^{6+} é considerado tóxico para humanos, se tornando altamente carcinogênico. Essa forma atravessa as membranas celulares prontamente. Dentro da célula, o Cr é reduzido para a forma trivalente que em associação com macromoléculas intracelulares, incluindo o material genético, formam complexos responsáveis pelas capacidades tóxicas e mutagênicas do cromo (DORN et al., 1987).

Tendo em vista a importância da preservação dos recursos hídricos e a gravidade da poluição destes por metais, destacando o Cr neste trabalho, técnicas têm sido elaboradas visando desenvolver métodos adequados que poderão identificar, monitorar e posteriormente remediar ambientes contaminados.

Na literatura é possível encontrar pesquisas de monitoramento de Cr em meios aquáticos através de uma das mais importantes propriedades dos poluentes: a bioacumulação em tecidos do organismo. Durante um longo período, os poluentes presentes no ambiente em níveis muito baixos podem acumular-se dentro do corpo de espécies aquáticas por diversos mecanismos na medida exercendo efeitos tóxicos (PALANIAPPAN e KARTHIKEYAN, 2009).

3.3. A técnica difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT)

Devido a toda problemática ecológica que envolve o ecossistema de água doce, somos levados a refletir sobre a necessidade de desenvolver novas técnicas analíticas que possibilitem a determinação de espécies químicas, principais responsáveis pela contaminação dos recursos naturais. A partir deste pensamento, pesquisadores ressaltam que em pesquisas na área ambiental, por exemplo, tem sido essencial a determinação de espécies redox e orgânicas de Sb, As, Fe, I, Pb, Hg, Pt e Se; de complexos de Cd ou metaloproteínas de Cd, de espécies redox de Cr, Cu, e espécies de Sn (DONARD e CARUSO, 1998).

As técnicas que utilizam amostradores passivos para amostragens in situ têm se destacado por sua fidelidade a realidade na obtenção de resultados sobre os sistemas em estudo. A técnica desenvolvida por Zhang e Davison (ZHANG e DAVISON, 1995) conhecida como difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT), tem se mostrado de grande valia para a determinação de espécies lábeis, com amostragem in situ em meios aquáticos, sedimentos e em solos. Desde a primeira publicação descrevendo o uso da técnica, muitos trabalhos com novas abordagens para a aplicação da (DGT) foram publicados nos últimos anos. As novas pesquisas envolviam, por exemplo, novos agentes ligantes, novos agentes

difusivos, monitoramento e detecção da concentração de elementos, avaliando os riscos ambientais.

DGT é uma técnica relativamente recente que não apresenta dificuldades em sua utilização. Além de possibilitar medições diretas *in situ*, apresenta características atrativas como a pré-concentração, que permite a determinação de elementos em níveis de traços. Nesta técnica, um dispositivo é imerso em sistema a ser monitorado (por exemplo, no mar ou em um rio) durante um intervalo de tempo definido. A quantidade dos íons acumulados é recuperada do dispositivo, determinada por uma técnica analítica apropriada e usada para quantificar as concentrações das espécies lábeis no sistema. O dispositivo DGT pode ser imerso em regimes de convecção descontrolados, como águas de rios e mares, pois as medidas são independentes das variações do fluxo. Além do mais, esta técnica fornece a concentração média em intervalos de tempo pré-estabelecidos e não apenas a concentração instantânea da espécie de interesse.

Quando associada a técnicas analíticas como a espectrometria de emissão óptica ou de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP OES, ICP-MS, respectivamente), também permite determinações multielementares. Outra vantagem da DGT é que a técnica fornece a concentração média por tempo e não apenas a concentração da espécie de interesse no momento da coleta (ZHANG e DAVISON, 1995).

O dispositivo DGT é formado basicamente por uma peça plástica de polipropileno (pistão e tampa), sobre a qual é colocada uma camada de material ligante. Convencionalmente utiliza-se a resina Chelex-100, imobilizada em um gel de acrilamida-agarose. Sobre este, se coloca uma camada de material permeável com porosidade controlada (material difusivo), geralmente um gel de acrilamida-agarose. Para evitar entupimento por material particulado, é adicionada sobre o material difusivo uma membrana de nitrato de celulose (0,45 μm). Estes componentes são fixados ao pistão através de um anel de polipropileno (tampa), o qual possui uma abertura de 20 mm de diâmetro por onde ocorre a difusão dos analitos da solução para o interior do dispositivo.

A Figura 1 mostra um esquema do dispositivo DGT e seus componentes além de um diagrama do gradiente de concentração que se estabelece no interior do dispositivo.

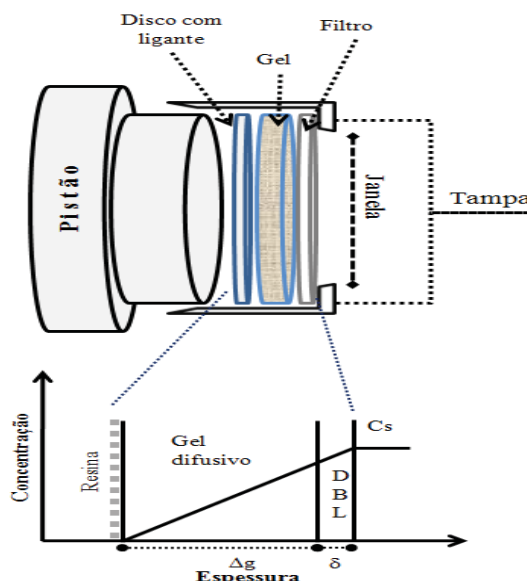


Figura 1. Esquema de um dispositivo DGT e representação gráfica do gradiente de concentração de íons metálicos lábeis no interior de um hidrogel em contato com a solução em estudo. (Adaptado de Technical Documentation, DGT Research web Page – ZHANG,1993)

O procedimento convencional do DGT baseia-se na difusão de espécies de metal dissolvido em um hidrogel de poliacrilamida e sua imobilização em uma resina quelante, a Chelex-100 (ZHANG e DAVISON, 1995). Apesar de abrangente, a resina Chelex-100 mostrou-se inadequada para a determinação de uma série de elementos: Li, Na, K, Rb, Mg, Ca, B, Tl, P, S, As, Bi, Se, Si, Sn, Sb, Te, Zr, Nb, Hf, Ta, W, Th e Ag. Uma avaliação desta resina como agente ligante na técnica DGT revelou que, somente 24 dos 55 elementos estudados permitiram a determinação quantitativa dos mesmos (GARMO, ROYSET, STEINNES e FLATEN, 2003).

Em 2007, Tonello e colaboradores realizaram a primeira publicação por grupos de pesquisa brasileiros aplicando esta técnica (TONELLO, ROSA, ABREU e MENEGARIO, 2007). A partir de então vem crescendo no país o interesse em estudar a técnica DGT, para sua potencial aplicação em monitoramento tanto de ambientes aquáticos como também de efluentes industriais (TONELLO, 2011).

Visando obter agentes ligantes complementares de custo mais baixo ou com melhor desempenho que a resina Chelex-100, novos materiais foram propostos para serem utilizados na DGT. A membrana Whatman DE 81 e a resina Dowex 2X8-400 foram utilizadas para a determinação de espécies aniônicas de U em amostras sintéticas de água de rio (LI e ZHAO, CORNETT, 2007). A resina de troca catiônica AG50W-X8 foi proposta para determinação de Cs e Sr (CHANG, 2008). Para a determinação de Se aniônico (SOGN, 1998) e P dissolvido

(ZHANG, 1998) foi usado como ligante o composto $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$. AgI(s) foi proposto como agente ligante para a determinação de sulfito dissolvido (TEASDALE, HAYWARD e DAVISON, 1999) e hidróxido de ferro para a quantificação de As total dissolvido (PANTHER et al., 2008).

Posteriormente foi avaliada uma mistura de $5\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ e da resina Chelex-100 para reter cátions e ânions, mostrando um resultado eficiente na retenção de todos os elementos testados: Cd, Cu, Mn, Mo, P, e Zn e usando HNO_3 1 mol L^{-1} como eluente, todos os elementos foram eficientemente eluídos da mistura (fator de eluição 0,92), exceto para Mo que apresentou fator de eluição de 0,7. Constatando que o novo agente ligante foi adequado para ser utilizado na DGT (MASON, 2005).

Outros pesquisadores avaliaram a especiação de Cd e Cu em água usando uma fase ligante líquida de poliestireno sulfonato nos dispositivos da DGT, obtendo uma boa concordância com modelagem feita por computador (Li et al., 2005). Li et al. (2002) utilizaram a membrana de troca iônica, fosfato de celulose (Whatman P 81), para retenção Cu(II), Cd(II), Zn(II), Mn(II), Ni(II), K(I), Na(I), Ca(II) e Mg(II). Os autores avaliaram a membrana P 81 como vantajosa perante o material convencional, pela a reutilização de até quatro vezes do material e simplicidade de preparo e utilização. Porém foi dito como desvantagem ser um forte trocador de cátions, fazendo com que esta membrana fique facilmente saturada pelos cátions na solução da amostra.

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* foi utilizada como um material sorvente em vários métodos de extração em fase sólida para a separação e pré-concentração de diversos metais, como o Fe, Ni, Cd, Zn, Cu e Pb (MAQUIEIRA et al., 1994; BAG et al., 1998; 1999; BISCARO et al., 2007). A levedura também foi aplicada para a determinação seletiva de espécies de metais e metalóides, como As(III) e As(V) (SMICHOWSKI et al., 2000; KOH et al., 2005), Cd(II) e Cd-MT (MENEGARIO et al., 2007), Cr(III) e Cr(VI) (MENEGARIO et al., 2005), metilmercúrio e Hg(II) (MADRID et al., 1995; PEREZ-CORONA et al., 1998), Sb(III) e Sb(V) (MENEGARIO et al., 2006), Sn(IV) e Sn(II) (CALDORIN E MENEGARIO, 2007) e entre Se(IV) e Se(VI) (PEREZCORONA et al., 1997), mediante a retenção quantitativa de uma espécie na presença da outra espécie. Com base nestes trabalhos, Menegário (2010) e colaboradores demonstraram mais tarde a viabilidade desta levedura impregnada em gel de agarose como agente ligante na técnica DGT para a determinação de Cd(II).

3.4. Local de estudo: Ribeirão Claro – bacia do rio Corumbataí, SP.

O maior afluente do rio Corumbataí na margem esquerda é o rio Ribeirão Claro, enfoque para a determinação da fração lábil, teor total e teor dissolvido de Cr(VI) in situ deste trabalho. Sua nascente se situa próxima a Ajapi no município de Corumbataí e tem sua bacia de drenagem localizada em uma região formada por colinas suavizadas com altitude de cerca de 700m, cortando o perímetro urbano da cidade de Rio Claro antes de tributar suas águas no rio Corumbataí (PINTO, 1993).

A bacia do Corumbataí é uma alternativa de abastecimento de água para vários municípios, mostrando-se importante regionalmente por ainda possuir águas de boa qualidade e por apresentar ecossistemas pertencentes a fragmentos situados na topografia acidentada da cuesta do arenito Botucatu, com elementos raros na paisagem do interior do Estado de São Paulo (VIANA E MENDES, 1997). O Ribeirão Claro supre cerca de 50% da demanda de água para a cidade de Rio Claro, sendo captada na Estação de Tratamento e Abastecimento (ETA-1).

Esse rio é o principal tributário pela margem esquerda do Rio Corumbataí, que por sua vez se destaca como uma sub-bacia do rio Piracicaba em território paulista. Drenando uma área de aproximadamente 270 km² (Figura 2), a bacia hidrográfica do Ribeirão Claro, aloja-se em setor ocidental da média Depressão Periférica Paulista, dispondo-se pelos tenros depósitos estruturais desta província geomorfológica, com a orientação da drenagem subsequente de NE-SW desde as cabeceiras junto ao “front” das cuestas areníticos-basálticas até a confluência com o rio Corumbataí. Considerando a extensão linear, o eixo principal desta bacia, perfaz 70 km. Atravessando o território dos seguintes municípios: Corumbataí no alto curso, Rio Claro e Santa Gertrudes no médio e baixo curso fluvial; seccionam ainda, através de alguns tributários que infletem para a margem esquerda do principal coletor, parcelas do município de Leme e Araras (VIADANA e BRITO CAVALCANTI, 2006).

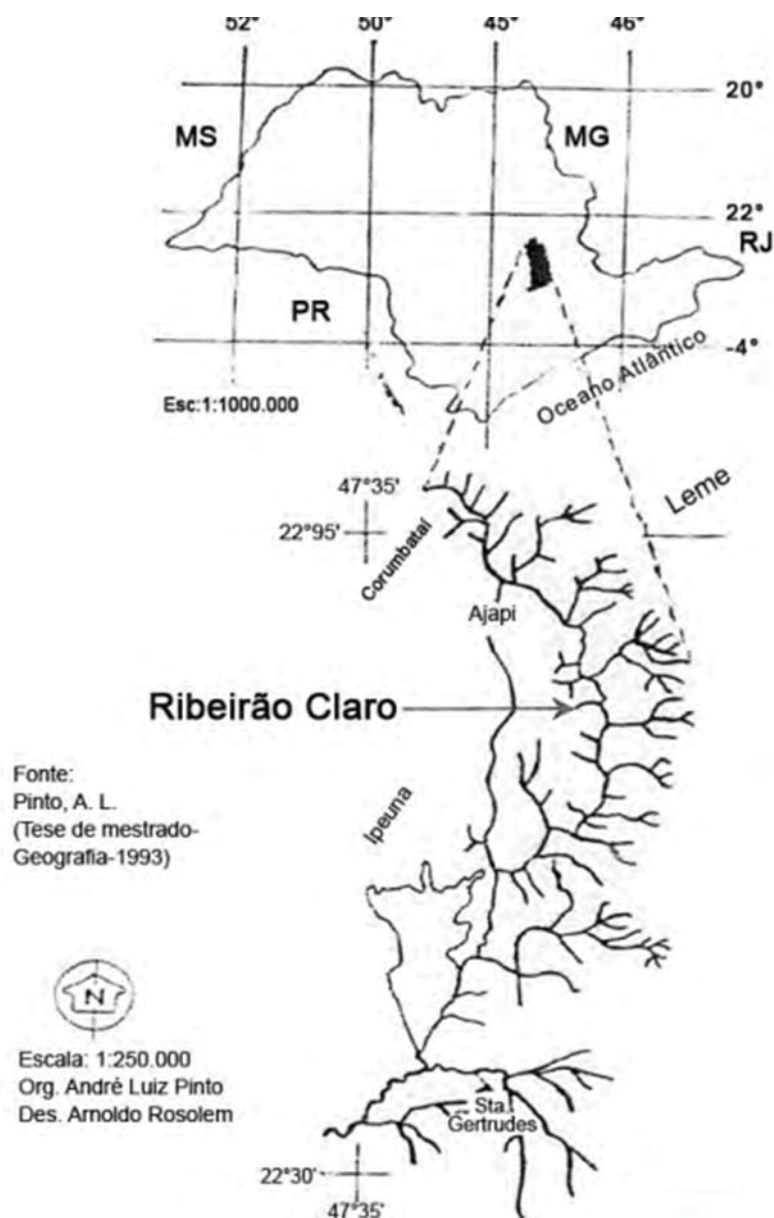


Figura 2. Mapa da bacia hidrográfica do Ribeirão Claro.

Especificamente o local de estudo localiza-se na Floresta Estadual “Edmundo Navarro de Andrade” (FEENA), no planalto meridional do Estado de São Paulo dentro do município de Rio Claro (Figura 2). Abrange uma área de 2.222,80 ha e trata-se de um local de plantio de árvores exóticas, principalmente do gênero *Eucalyptus* (cerca de 180 espécies). O conjunto de águas da FEENA é composto por pequenos cursos d’água pertencentes à bacia hidrográfica do rio Corumbataí, sendo o principal deles o Ribeirão Claro, cortando-a no sentido norte-sul (MACHADO, 1978).

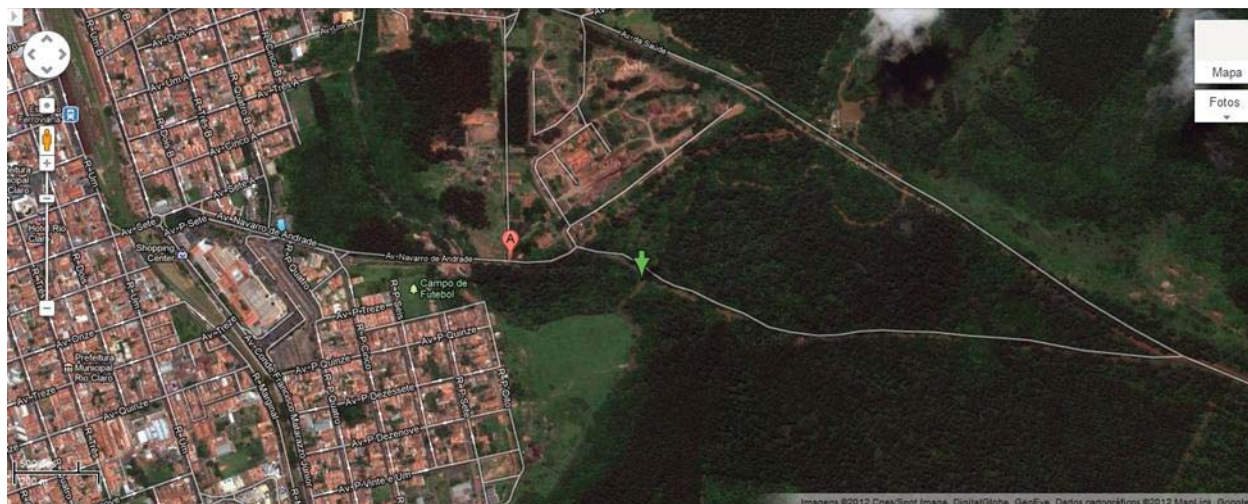


Figura 3. Indica o ponto de coleta de amostras e imersão dos dispositivos DGT, Ribeirão Claro – SP (Fonte: Google Maps, data da imagem 31/08/2012).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

Os principais equipamentos e acessórios utilizados foram:

- Espectrômetro de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (GBC modelo integra XL) equipado com câmara de nebulização do tipo ciclônica e nebulizador concêntrico;
- Vidrarias e acessórios de laboratório;
- Equipamentos de uso rotineiro em laboratórios de química analítica, como sistemas purificadores de água, termômetro, agitadores e balanças analíticas;
- Medidor de pH e condutividade (Jenway – modelo 430, Starffordshire, Reino Unido);
- Estufa: B. O. D. – Biologic Oxygen Demand – TE -391 (TecNal);
- Dispositivos da técnica DGT: pistão e presilha (anel em polipropileno, adquiridos da DGT Research Ltd (Lancaster, Reino Unido);
- Agarose NA (Pharmacia Biotech AB, Canadá);
- Membrana filtrante de acetato de celulose (Sartorius Stedim Biotech Ltda);
- Membrana de troca aniônica DE 81 (dietilaminoetilcelulose) (Whatman - GE Healthcare);
- Reagentes de uso geral

4.2. Métodos

4.2.1. Princípios da técnica do DGT

A técnica DGT tem por princípio a 1ª lei de difusão de Fick para a difusão [2]. Por esta lei, temos que o fluxo (F) dos íons que se difundem através da camada de material difusivo (gel ou celulose), em direção ao material ligante é calculado pela expressão (1).

$$F = D(C_b - C') / \Delta g \quad (1)$$

Sendo que D é o coeficiente de difusão do analito no material difusivo, C_b é a concentração do analito lábil na solução/amostra, C' é a concentração do analito livre na interface com o material ligante (resina) e Δg é a espessura da camada de material difusivo, normalmente, gel de acrilamida/agarose.

Quando o equilíbrio entre os íons da solução/amostra e o material ligante é obtido rapidamente, e se a ligação entre eles for intensa, a concentração C' será zero, caso não ocorra saturação do ligante. Temos que a expressão (1) poderá ser escrita da forma:

$$F = DC_b / \Delta g \quad (2)$$

Como o fluxo dos analitos pode ser calculado por $F = M / At$, onde M é a massa do analito, A é a área da janela do dispositivo e t seu tempo de imersão, podemos reescrever a expressão (2) explicitando a massa M .

$$M = DC_b t A / \Delta g \quad (3)$$

Determinada a massa M do analito retida no dispositivo DGT, pode-se então calcular a concentração C_b do analito na solução/amostra através da expressão (4).

$$C_b = M \Delta g / Dt A \quad (4)$$

Todos os utensílios utilizados nesse trabalho inclusive as partes de polipropileno do dispositivo DGT passaram por um processo de descontaminação que envolveu a imersão

desses materiais em solução de ácido nítrico (HNO_3) 20% (v/v) durante um período de 4 horas. Em seguida, esses materiais foram lavados com água desionizada e água purificada.

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

4.2.2. Preparo do agente difusivo

Os géis de agarose foram preparados em uma relação de 0,6g de agarose para 40 ml de água purificada (composição de 1,5%, m/v). Após a pesagem da agarose na balança analítica, foram colocados aproximadamente 20 mL de água purificada em um béquer sobre o aquecedor. Uma vez atingida à temperatura de ebulição foi adicionando aos poucos agarose e agitando até que fosse totalmente dissolvida. Após toda agarose ser dissolvida, os 20 mL foram colocados em um tubo Falcon de 50 ml e avolumado com água purificada aquecida para 40 ml. Com uma seringa a solução de agarose foi colocada entre duas placas de vidro (20x20 cm) aquecidas, separadas entre si com um espaçador plástico de 0,8 mm e, fixadas aos lados com prendedores de pressão. Foram necessárias quarenta minutos para a secagem completa da agarose dentro do fluxo laminar. Depois de frio, o gel foi seccionado em forma de discos com 2,5 cm de diâmetro. Usando tempos de secagem maiores (acima de uma hora) o gel desidrata em excesso dificultando a desmontagem das placas e, apresentando maior fragilidade ao manuseio.



Figura 4. Preparo do gel de agarose (Fonte: Autor, 2012).

4.2.3. Preparo da solução-estoque de Cromo VI

Em um tubo Falcon de 50 mL foi adicionado 0,2831 g $\text{Cr}_2\text{O}_7\text{K}_2$ em 50 mL de água purificada, atingindo-se a concentração de 2000 mg L^{-1} de Cr(VI) intitulada solução estoque.

4.2.4. Preparo da solução-estoque de NaNO_3 2 mol L^{-1}

A solução-estoque 2 mol L^{-1} de NaNO_3 foi preparada a partir do sal (Merck, Darmstadt, Germany), pesando-se 169,96 g do composto e diluindo para 1000 mL com água.

4.2.5. Preparo das soluções para os experimentos

Para o teste de imersão, retirou-se 1000 μL da solução estoque que foi adicionado a um recipiente contendo 3939 mL de água purificada em sistema milli-Q e 60 mL da solução de 2 mol L^{-1} de NaNO_3 , totalizando 4000 mL de solução com força iônica de $0,03 \text{ mol L}^{-1}$ e o pH foi ajustado para 5,6.



Figura 5. Experimento da curva de imersão em andamento (Fonte: Autor, 2012).

O experimento da câmara de difusão foi realizado a partir do preparo de duas soluções A e B, com o mesmo valor de força iônica ($0,03 \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3). A solução A não continha Cr(VI) e foi preparada a partir de 98,5 mL de água purificada, 1,5 mL da solução de 2 mol L^{-1} de NaNO_3 e o pH foi ajustado para 5,6. Para a solução B usou-se 0,25 mL da solução estoque de Cr(VI), 98,25 mL de água purificada, 1,5 mL da solução de 2 mol L^{-1} de NaNO_3 e o pH foi ajustado para 5,6. Para cada compartimento da câmara de difusão foram usados 70 mL das soluções preparadas.



Figura 6. Experimento Câmara de Difusão em andamento (Fonte: Autor, 2012).

Na realização do teste para avaliar o efeito do pH foram usados cinco recipientes com capacidade de 1000 mL preparados de igual forma, apenas variando o ajuste do pH. Cada recipiente continha 150 μL da solução estoque de Cr(VI), 15 mL da solução de 2 mol L^{-1} de NaNO_3 , 984,85 mL de água purificada. Os valores do pH foram 3,0; 5,0; 6,0; 7,0; 9,0.

Para testar o efeito da força iônica (I), também foram usados cinco recipientes mantendo o volume final de 1000 mL fixados com 150 μL da solução estoque de Cr(VI) e pH 5,6 apenas variando a quantidade de nitrato de sódio de acordo com a força iônica desejada. Na $I=0,005 \text{ mol L}^{-1}$ foram adicionados 2,5 mL da solução de 2 mol L^{-1} de NaNO_3 ; $I= 0,01 \text{ mol L}^{-1}$, 5 mL; $I= 0,03 \text{ mol L}^{-1}$, 15 mL; $I= 0,1$, 50 mL e para $I= 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ 250 mL.



Figura 7. Experimento Força iônica em andamento (Fonte: Autor, 2012).

As soluções de imersão utilizadas para os testes de interferentes foram preparadas em potes mantendo o volume final de 1000 mL. Solução 25 mg L^{-1} de Mg e Ca, $44 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de Cl em $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(VI), pH 5,6 e $I = 0,03 \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 .

Para o teste de recuperação, foi preparada uma amostra de água de rio de 3000 mL enriquecidas com $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(VI). A amostra de água de rio foi coletada no Ribeirão Claro localizado dentro da Floresta Estadual Edmundo Navarro de Andrade (Latitude S $22^\circ 24' 45.98''$, Longitude O $47^\circ 32' 41.41''$).

4.2.6. Preparação do agente ligante

A metodologia para descontaminação da membrana Whatman DE 81 (dietilaminoetilcellulose) usada durante todo experimento foi à mesma usada por Li et al. (2006), que consiste em uma imersão da membrana em 10% de ácido nítrico por 24 horas antes de serem lavadas e estocadas em água purificada para remover qualquer elemento que ela pudesse estar contaminada.

4.2.7. Procedimento de montagem e imersão dos dispositivos

Os dispositivos DGT foram montados dentro de uma capela de fluxo laminar, colocando-se sobre o pistão de polipropileno primeiramente a membrana Whatman DE 81 (agente ligante) e sobre esta um disco de material difusivo (gel de agarose). Por último a membrana filtrante de acetato de celulose ($0,45\mu\text{m}$ de porosidade), utilizada para proteção do gel. Os discos foram fixados por uma luva de polipropileno, a qual possui uma janela de 20 mm de diâmetro que permite a difusão dos íons para dentro do dispositivo.



Figura 8. Da esquerda para a direita: Membrana DE 81, Agarose 1,5% (m/v) depois de seccionados, Membrana Filtro – acetato de celulose (Fonte: Autor, 2012).

4.2.8. Parte experimental

A fim de testar a viabilidade da agarose como agente difusivo, o coeficiente de difusão do Cr (VI) no gel foi calculado por dois métodos distintos: método da câmara de difusão e imersão com dispositivos DGT.

Para o método da câmara de difusão utilizou-se uma câmara construída inteiramente de acrílico que possui dois compartimentos de igual volume. Estes compartimentos são separados por duas placas de acrílico ambas com um orifício de 1,5 cm de diâmetro. Uma placa é fixa à câmara de difusão e a outra placa é móvel para facilitar a inserção do agente difusível a ser estudado.

O gel de agarose e o filtro de acetato foram colocados entre as duas placas na área seccionada de modo a que ficasse exposto para a solução B o filtro de acetato e a agarose para a Solução A. As duas soluções foram colocadas simultaneamente, mantendo-se ambas as soluções em agitação constante. Aliquotas de igual volume (1 mL) foram retiradas dos dois compartimentos a cada 15 minutos durante um período de 2 horas. A temperatura foi

analisada periodicamente ($\pm 23^{\circ}\text{C}$). Para todos os experimentos, as alíquotas da solução A foram preservadas em 10% (v/v) HNO_3 para análise posterior.

Posteriormente foi realizado o procedimento de imersão dos dispositivos. Foi calculado a partir da equação 01, o número de dispositivos que poderiam ser colocados nas soluções durante 2h, 4h, 6h, 8h, 10h, 12h, 20h, 22h, 24h sem que a concentração inicial da solução fosse alterada devido ao acúmulo dos analitos nos dispositivos DGT. Os cálculos mostraram que conduzindo imersões em um recipiente de plástico com o volume aproximado de 4000 mL de solução $500\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(VI), a redução da concentração inicial seria muito pequena, sendo assim foram colocados 9 dispositivos. A temperatura e o pH (23°C ; $5,6 \pm 0,5$, respectivamente) foram mantidos constantes. As soluções foram mantidas sob agitação para que uma camada, denominada DBL (Diffusive boundary layer), que se forma na frente do dispositivo e se comporta como sendo uma extensão do agente difusivo, fosse reduzida o máximo e não retardasse a difusão dos analitos para a superfície do ligante (ZHANG e DAVISON, 1995).



Figura 9. Dispositivos DGTs montados e prontos para imersão (Fonte: Autor, 2012).

Para a avaliação do efeito das variantes da técnica DGT, os testes se iniciaram com a alteração do potencial Hidrogeniônico (pH). Em cada um dos 5 recipientes contendo 1000 mL de uma solução de $100\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(VI) com $I = 0,03$ foram colocados 2 dispositivos DGT e

ajustados os diferentes pH 4,0; 5,0; 7,0; 8,0 e 9,0. Foram mantidos sobre temperatura e agitação constante durante 8 horas. Posteriormente, foi avaliado o efeito da força iônica mantendo constante o valor do pH (5,6) com imersões de 6 horas.

No teste de interferentes, as imersões foram realizadas na soluções contendo 44 mg L^{-1} de Cl, 25 mg L^{-1} de Mg e Ca em $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(VI) respectivamente. Em cada uma das duas soluções foram imersos dois dispositivos por um período de 6 horas, mantendo constante o valor do pH (5,6); $I=0,03$ e temperatura 23°C .

Para realizar a imersão no laboratório em amostras reais, foram coletados em um recipiente plástico cinco litros de água do rio. Posteriormente foram realizadas imersões nestas amostras de água do rio Ribeirão Claro, enriquecidas com $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(VI). Dois dispositivos foram imersos na amostra (tempo de imersão de 6 horas e temperatura de $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$). Foram medidos a força iônica ($0,0007$) mol L^{-1} e pH (7,36) que se mantiveram constantes durante o experimento.

A imersão in situ foi realizada em um ponto do Ribeirão Claro (Latitude S $22^{\circ} 24' 45.98''$, Longitude O $47^{\circ} 32' 41.41''$), que encontra-se na bacia do Corumbataí. Os dispositivos, contendo a membrana de troca aniônica Whatman DE 81 foram colocados em uma armação hexagonal (Figura 10), e essa foi amarrada a um peso e uma boia com fio de nylon.

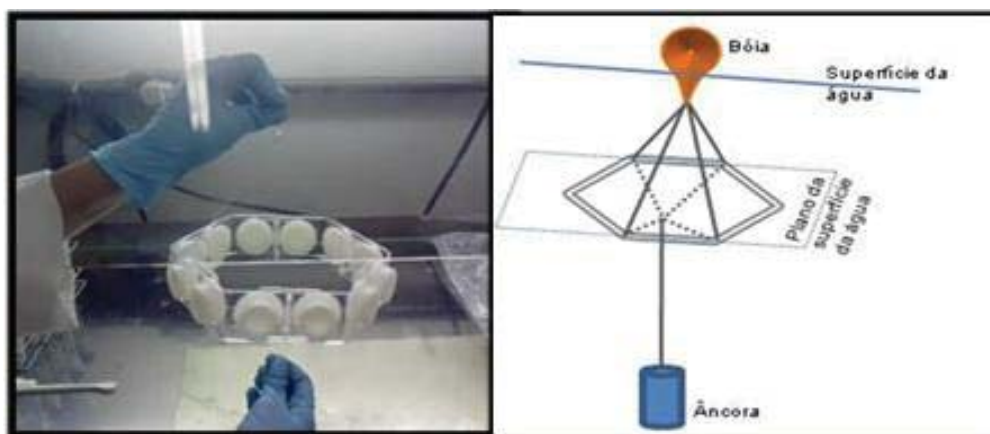


Figura 10. A esquerda estrutura hexagonal montada, a figura da direita é um esquema que representa a estrutura imersa em campo (Foto e esquema cedidos por Carlos Alfredo Suárez).

O período de imersão foi de 72 horas, com temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$. O acondicionamento dos dispositivos, antes e após a imersão, foi feito em sacos plásticos contendo um pequeno volume de água purificada para manutenção da umidade.



Figura 11. Da esquerda para direita: Local da imersão dos DGTs, DGTs montados na armação hexagonal, DGTs imersos em campo. (Fonte: Autor, 2012).

4.2.9. Procedimento de eluição e de determinação

Os dispositivos foram abertos e as membranas DE81 colocadas em frascos tipo Falcon de 15mL contendo 3mL de ácido nítrico 10 % (volume/volume). Em seguida, foram colocados em agitação durante um período de 24h. Posteriormente, foi realizada a determinação da massa dos analitos por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. *Géis de agarose*

Os géis preparados com composição de agarose 1,5% (m/v) apresentaram boa resistência à ruptura e consistência satisfatória para serem utilizados nos dispositivos DGT. Sendo assim, se mostrou uma alternativa viável para a metodologia.

5.2. *Câmara de Difusão*

Os valores calculados da massa de Cr(VI) difundidas no gel de agarose pelo tempo de amostragem, para cálculo do coeficiente de difusão pelo método da câmara estão apresentados na Figura 12.

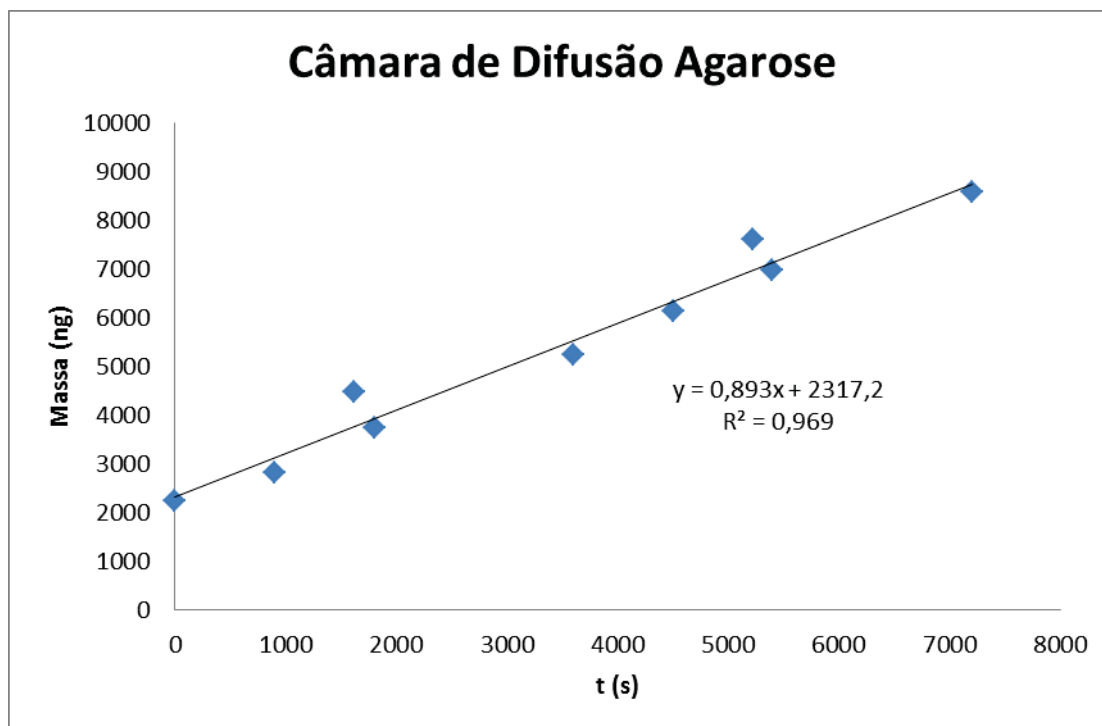


Figura 12. Curva câmara de difusão. Apresenta a relação das massas de Cr(VI) difundida pelo tempo.

A curva da câmara de difusão apresenta um comportamento linear satisfatório, caracterizado por $R^2=0,969$, resultado em um coeficiente de difusão para o Cr(VI) igual a $4,88 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$.

Pelo comportamento do Cr (VI) em relação ao gel de agarose, pode-se concluir que não há interação significativa entre o analito e o meio difusivo estudado. Assim, não há limitações em utilizar a agarose como meio difusivo para a análise de Cr (VI).

5.3. Curva de Imersão com Agarose

Para a realização do teste da curva de imersão com Agarose como agente difusivo, foi utilizada uma solução de $500 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(VI) em 4000 mL. Foram imersos 9 dispositivos para serem retirados nos seguintes períodos: 2h, 4h, 6h, 8h, 10h, 12h, 20h, 22h e 24h.

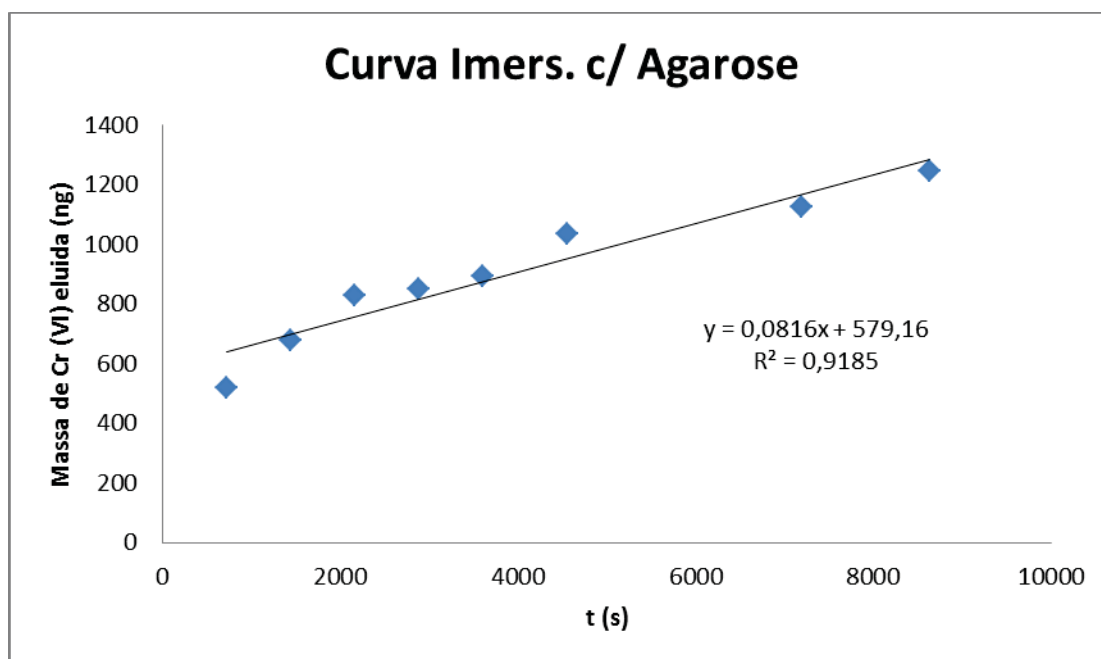


Figura 13. Curva de imersão com Agarose como agente difusivo para Cr(VI).

A curva de imersão do Cr(VI) (Figura 13) apresentou um comportamento linear caracterizado por $R^2 = 0,9185$, sendo considerado um resultado satisfatório para o estudo. Com os dados da curva e através da fórmula (3) é possível calcular o coeficiente de difusão (D) de $3,6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. O valor obtido para o CD é muito próximo ao valor obtido com a câmara de difusão.

Outros autores como Panther et al. (2008) averiguaram que o coeficiente de difusão do As(III) e As(V) em gel de poliacrilamida com os métodos dos dispositivos DGT e da câmara de difusão tiveram valores dos coeficientes concordantes, assim como o presente trabalho.

O valor do coeficiente de difusão encontrado ($3,6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$) foi utilizado para o cálculo da concentração de Cr(VI) em todos os experimentos seguintes.

5.4. Efeito do Potencial Hidrogeniônico na capacidade de ligação da membrana DE 81.

A Figura 14 representa a relação [DGT]/[solução] para diferentes valores de pH. Na faixa de pH entre 5 e 6 não foram observadas significativas alterações na retenção de Cr(VI) pela membrana DE 81 (temperatura 23 °C, força iônica 0,03 mol L⁻¹).

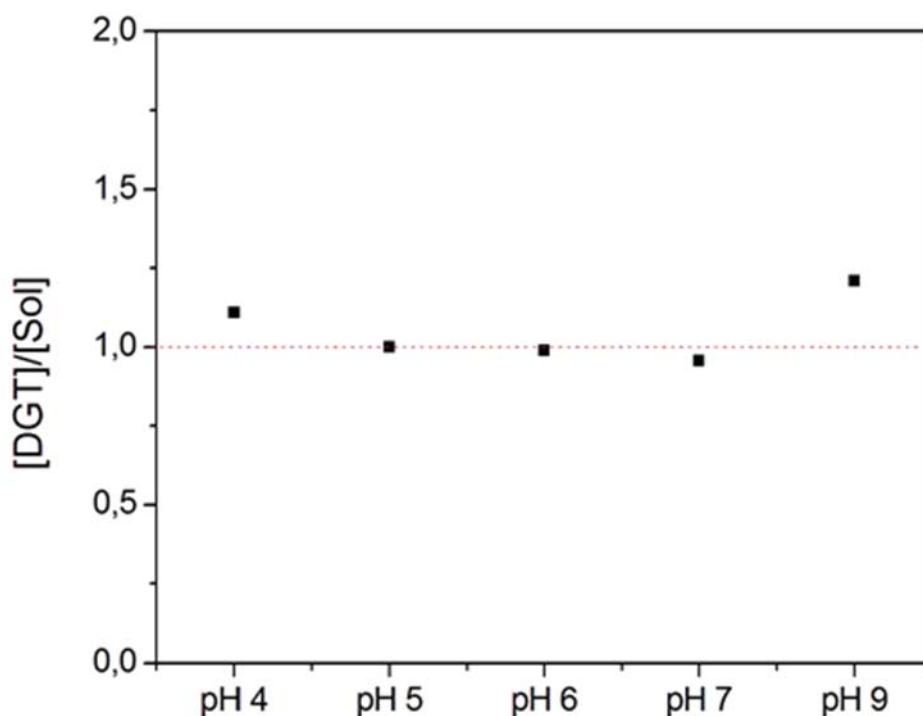


Figura 14. Apresenta a relação $[DGT]/[solução]$ diante da variação de pH.

5.5. Efeito da Força Iônica na capacidade de ligação da membrana DE 81.

Diferentes quantidades de íons são encontradas dissolvidas em águas de rios. Sendo assim, a variabilidade da força iônica para a difusão na agarose e a retenção de Cr(IV) pela membrana DE 81 foi avaliada nesse estudo.

Para uma imersão de seis horas foram colocados em cinco recipientes de 1000 mL diferentes forças iônicas ($I = 0,005 \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 , $I = 0,01 \text{ mol L}^{-1}$, $I = 0,03 \text{ mol L}^{-1}$ e $I = 0,5 \text{ mol L}^{-1}$), com $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(VI), dois dispositivos de DGT. Foram mantidos constante a temperatura 23° e o $\text{pH} = 5,6$.

A figura 15 representa apresenta a relação $[DGT]/[solução]$ para diferentes valores de força iônica.

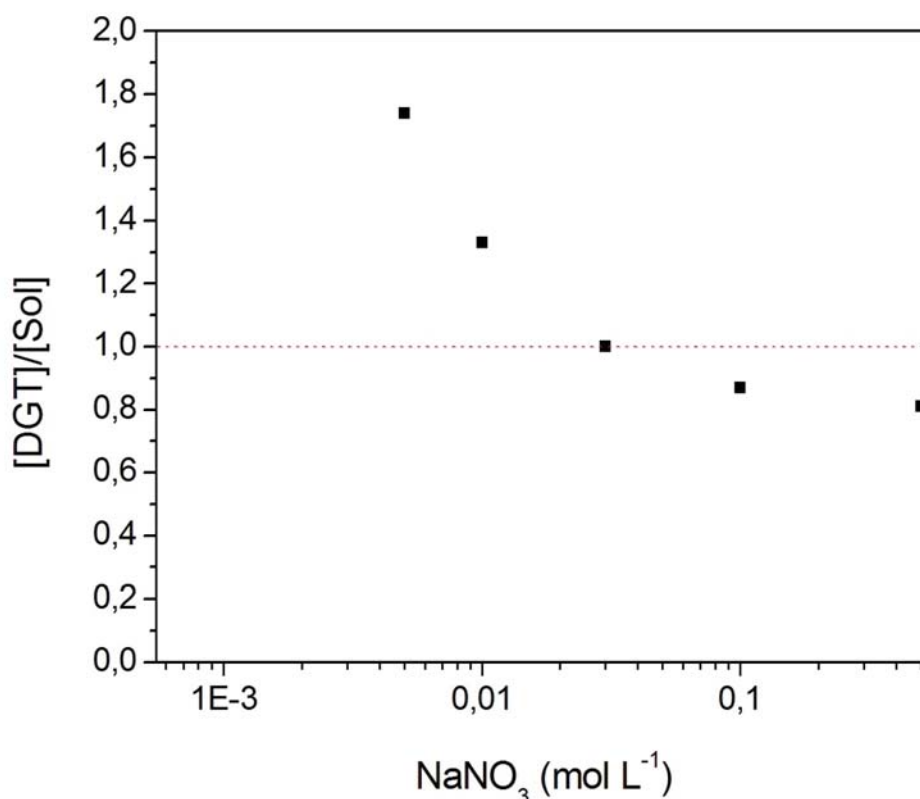


Figura 15. Relação $[\text{DGT}]/[\text{solução}]$ para diferentes valores de força iônica.

Os resultados mostraram que para valores de forças iônicas muito baixas ($I = 0,005 \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3), possivelmente, a difusão do Cr (VI) é alterada, provocando um aumento de sua concentração ($[\text{Cr}] > 170\%$). Resultados semelhantes foram relatados por Larner e Seen (2005). Para valores de forças iônicas muito altas (até $0,5 \text{ mol L}^{-1}$), o excesso de íons NO_3^- passou a competir com o Cr(VI) pelo sítio de ligação da membrana DE 81, ocasionando uma queda da concentração do Cr(VI) retido na membrana. Contudo, a magnitude deste efeito é relativamente pequena (menor que 20 %) para I até $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, possibilitando assim, a utilização do método proposto para amostras contendo força iônica entre $0,01$ a $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, sem calibrações específicas (usando coeficientes de difusão específicos para os valores da força iônica).

5.6. Efeito de potenciais interferentes na capacidade de retenção de Cr(VI) pela membrana DE 81.

Considerou-se como potenciais interferentes elementos contidos em concentrações maiores em águas fluviais como Cl^- , Mg^{2+} e Ca^{2+} , além de Na^+ e NO_3^- já presentes na solução

para o ajuste da força iônica ($0,03 \text{ mol L}^{-1}$). A recuperação de Cr(VI) do agente ligante no teste dos interferentes é exibida na Tabela 2. Observa-se a partir desta Tabela que as interferências devido a presença de Cl^- , Mg^{2+} e Ca^{2+} foram desprezíveis nas condições do experimento.

Tabela 2. Efeito interferente na retenção de Cr(VI). Média $\pm$ Sd.

<i>Interferentes</i>	<i>[Cr (VI)], $\mu\text{g L}^{-1}$</i>	<i>[Interf.], mg L^{-1}</i>	<i>Rec. de Cr(VI), %</i>
Mg^0 e CaCl_2	100	25 (Mg^{2+}), 25 (Ca^{2+}), 44 (Cl^-)	$105 \pm 7,8 \%$

5.7. Imersão em amostra de água coletada Ribeirão Claro – bacia do Rio Corumbataí, SP.

Uma amostra de 5000 mL foi retirada do rio Ribeirão Claro com um frasco de plástico transparente para posterior medida dos valores do pH, condutividade elétrica e temperatura, conforme indicados na Tabela 3

Tabela 3. Valores médios de pH, força iônica e temperatura obtidos.

<i>pH</i>	<i>Força iônica*</i> <i>(mmol L^{-1})</i>	<i>Condutividade</i> <i>Elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1}$)</i>	<i>Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)</i>
7,46	0,0007	0,05	22

* Valores da força iônica foram calculados segundo Griffin e Jurinak (1973).

Foram realizadas imersões nas amostras de água do rio Ribeirão Claro enriquecidas com $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cr (VI), força iônica = $0,0007 \text{ mol L}^{-1}$ e pH= 7,36 que se mantiveram constantes durante o experimento (6 horas).

A Tabela 4 mostra a concentração de Cr(VI) na solução (spike), a concentração de massa Cr(VI) obtida com o DGT (usando a membrana DE81) e a relação em porcentagem entre ambas.

Tabela 4. Valores da concentração de massa de Cr(IV) na solução e na membrana.

<i>[Cr(VI)] na solução em $\mu\text{g L}^{-1}$</i>	<i>[Cr(VI)] na membrana em $\mu\text{g L}^{-1}$</i>	<i>Relação Concentração calculada/ Concentração real</i>
138,48	212,717	1,54

De acordo com o teste da força iônica, o resultado obtido para a concentração de Cr(IV) foi o esperado para o experimento, uma vez que a água do Ribeirão Claro apresentou uma $I < 0,005 \text{ mol L}^{-1}$ (era aguardado que houvesse um maior acúmulo de Cr(VI) na membrana devido a alteração em sua difusão, como foi anteriormente explicado). Assim, para análise destas amostras, os dispositivos DGT devem ser calibrados especificamente para a força iônica de $I = 0,0007 \text{ mol L}^{-1}$. Contudo, uso de CD obtido em $I = 0,005 \text{ mol L}^{-1}$ já resulta em valores bastante próximos ao valor esperado.

5.8. Imersão *in situ* Ribeirão Claro – bacia do Rio Corumbataí, SP.

Em nenhum dos métodos foram determinadas as concentrações total, dissolvida e lábil de Cr(VI). Não foram encontrados valores acima do limite de detecção (LD) do método. Considerando um tempo de imersão 72 h e um LD de $3 \mu\text{g L}^{-1}$ para determinações diretas por ICP-OES estimou-se um LD de $3,39 \mu\text{g L}^{-1}$ para determinações usando DGT. Neste momento, o método vem sendo empregado em outras áreas.

6. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo mostraram que a agarose 1,5% (m/v), juntamente com a membrana de troca aniônica Whatman DE 81 são viáveis para serem utilizadas como material alternativo na técnica de difusão em filmes finos por gradientes de concentração (DGT) para a determinação Cr(VI), desde que respeitados os limites das variáveis da técnica, particularmente, a força iônica ($> 0,01 \text{ mol L}^{-1}$).

O uso dos dispositivos contendo a membrana em estudo para a determinação de Cr(VI) em águas fluviais foi limitado aos baixos valores de força iônica e do analito nas amostras. Os resultados obtidos mostram ser necessário a calibração dos dispositivos para forças iônicas iguais ou menores $0,005 \text{ mol L}^{-1}$.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAG, H. LALE, et al. Determination of iron and nickel by flame atomic absorption spectrophotometry after preconcentration on *Saccharomyces cerevisiae* immobilized sepiolite. *Talanta*, v.47, n.3, p.689-696. 1998.

BAG, H., M. LALE, et al. Determination of Cu, Zn and Cd in water by FAAS after preconcentration by baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) immobilized on sepiolite. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, v.363, n.3, p.224-230. 1999.

BAIRD, C. *Química Ambiental*. Porto Alegre:Bookman, 2002.

BISCARO, P. A.; MENEGARIO A. A et al. Preconcentration of cadmium with *Saccharomyces cerevisiae* and determination in river water using inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Química Nova*, v.30, n.2, p.323-326. 2007.

CALDORIN, R.; MENEGARIO, A. A. Speciation analysis of Sn(II) and Sn(IV) using baker's yeast and inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Microchimica Acta*, v.157, n.3-4, p.201-207. 2007.

CHANDRA P.; SINHA S.; RAI U.N. Bioremediation of Cr from water and soil by vascular aquatic plants. In: KRUGER, E. L.; ANDERSON T. A.; COATS J. R. *Phytoremediation of Soil and Water Contaminants*. ACS Symposium Series, v. 664, Washington: American Chemical Society, 1997. p. 274-282.

CHANG, L. Y.; DAVISON, W. et al. Performance characteristics for the measurement of Cs and Sr by diffusive gradients in thin films (DGT). *Analytica Chimica Acta*, v.368, n.3, p.243-253. 1998.

COLAÇO, C. D. Determinação da fração lábil de mercúrio (II) em águas fluviais. 2012. 73f. Dissertação (Mestrado em Geociências e Meio Ambiente) – Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2012.

DONARD, O. F. X.; CARUSO, J. A. Trace metal and metalloid species determination: evolution and trends. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy*, v. 53, p. 157-163, 1998.

DORN, P.B.; RODGERS, J.H.; JOP, K.M.; RAIA, J.C.; DICKSON, K.L. Hexavalent chromium as a reference toxicant in effluent toxicity tests. *Environ. Toxicol. Chem.*, v. 6, p. 435-444, 1987.

DUFFUS, J. H. "Heavy metals" - A meaningless term. *Pure Appl. Chem.*, v. 74, n. 5, p. 793-807, 2002.

GARMO, O. A.; ROYSET O. et al. Performance study of diffusive gradients in thin films for 55 elements. *Analytical Chemistry*, v.75, n.14, p.3573-3580. 2003.

GRIFFIN, R.A.; JURINAK, J.J. Estimation of activity-coefficients from electrical conductivity of natural aquatic systems and soil extracts. *Soil Science*, v. 116(1), p. 26-30, 1973.

GUEDES, I. M.R. Metais pesados em solos: Metais como poluentes ambientais, 2008. Disponível em: <<http://scienceblogs.com.br/geofagos/2008/08/metais-pesados-em-solos-metais-como-poluentes-ambientais/>> Acesso em: 30 Ago. 2012.

KOH, J.; KWON, Y. et al. Separation and sensitive determination of arsenic species ($\text{As}^{3+}/\text{As}^{5+}$) using the yeast-immobilized column and hydride generation in ICP-AES. *Microchemical Journal*, v.80, n.2, p.195-199. 2005.

LARNER, B.L.; SEEN, A.J. Evaluation of paper-based diffusive gradients in thin film samplers for trace metal sampling. *Analytica Chimica Acta*, v. 539(1-2), p. 349-355, 2005.

LI, W.; ZHAO H., et al. Application of a cellulose phosphate ion exchange membrane as a binding phase in the diffusive gradients in thin films technique for measurement of trace metals. *Analytica Chimica Acta*, v.464, n.2, p.331-339. 2002.

LI, W. J.; LI, C. S., et al. Diffusive gradients in thin films technique for uranium measurements in river water. *Analytica Chimica Acta*, v.592, n.1, p.106-113. 2007.

LI, W. J.; ZHAO, H. J. et al. Trace metal speciation measurements in waters by the liquid binding phase DGT device. *Talanta*, v.67, n.3, p.571-578. 2005.

LI, W. J.; ZHAO, J. J. et al. Speciation measurements of uranium in alkaline waters using diffusive gradients in thin films technique. *Analytica Chimica Acta*, v.575, n.2, p.274-280. 2006.

MACHADO, I.L., O Horto Florestal “Navarro de Andrade”. Rio Claro Sesquicentenária. Rio Claro: Museu de História e Pedagogia “Amador Bueno Veiga”, 1978. p. 350.

MADRID, Y.; CABRERA, C. et al. Speciation of Methylmercury and Hg(II) using bakers-yeast biomass (*Saccharomyces-Cerevisiae*) - Determination by continuous-flow Mercury cold vapor generation atomic-Absorption Spectrometry. *Analytical Chemistry*, v.67, n.4, p.750-754. 1995.

MAQUIEIRA, A.; ELMAHADI, H. A. M. et al. Use of *Saccharomyces-Cerevisiae* in flow-injection atomic-absorption spectrometry for trace-metal preconcentration. *Analytical Chemistry*, v.66, n.9, p.1462-1467. 1994.

MARKERT, B. Distribution and Biogeochemistry of Inorganic Chemicals in the Environment. Inc and Spektrum Akademischer Verlag, Germany, v. 2, p. 165-199, 1998.

MASON, S.; HAMON, R. et al. Performance of a mixed binding layer for measuring anions and cations in a single assay using the diffusive gradients in thin films technique. *Analytical Chemistry*, v.77, n.19, p.6339-6346. 2005.

MENEGARIO, A. A.; SILVA, A. J. et al. On-line determination of Sb(III) and total Sb using baker's yeast immobilized on polyurethane foam and hydride generation inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy*, v.61, n.9, p.1074-1079. 2006.

MENEGARIO, A. A.; SMICHOWSKI, P. et al. On-line preconcentration and speciation analysis of Cr(III) and Cr(VI) using baker's yeast cells immobilised on controlled pore glass. *Analytica Chimica Acta*, v.546, n.2, p.244-250. 2005.

MENEGARIO, A. A.; TONELLO, P. S. et al. Determination of Cd(II) and Cd-metallothioneins in biological extracts using baker's yeast and inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Microchimica Acta*, v.159, n.3-4, p.247-254. 2007.

MENEGARIO, A. A.; TONELLO, P. S. et al. Use of *Saccharomyces cerevisiae* immobilized in agarose gel as a binding agent for diffusive gradients in thin films. *Analytica Chimica Acta*, v.683, n.1, p.107-112. 2010.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, SECRETARIA DE RECURSOS HÍDRICOS. Plano Nacional de Recursos Hídricos, 2006. Disponível em: http://www.integracao.gov.br/c/document_library/get_file?uuid=c37feae3-8169-4049-900b-e8160661f541&groupId=66920 Acesso em: 31 Ago. 2012.

MISHRA, A.K.; MOHANTY, B. Effect of hexavalent chromium exposure on the pituitary-interrenal axis of a teleost. *Channa punctatus* (Bloch). *Chemosphere*, v. 76, p. 982–988, 2009.

NEUBECKER, T.A.; ALLEN, H.E. The Measurement of Complexation Capacity and Conditional Stability Constants for Ligands in Natural Waters. *Water Research*. v. 17, n. 1, p. 1-14, Jan., 1983.

PALANIAPPAN PL. RM.; KARTHIKEYAN S.; Bioaccumulation and depuration of chromium in the selected organs and whole body tissues of freshwater fish *Cirrhinus mrigala* individually and in binary solutions with nickel, *Journal of Environmental Sciences*, v. 21, p. 229–236, 2009.

PANTHER, J.G.; et al. Development and application of the diffusive gradients in thin films technique for the measurement of total dissolved inorganic arsenic in waters. *Analytica Chimica Acta*, v. 622(1-2), p. 133-142, 2008.

PANTHER, J. G.; STILLWELL, K. P. et al. Development and application of the diffusive gradients in thin films technique for the measurement of total dissolved inorganic arsenic in waters. *Analytica Chimica Acta*, v.622, n.1-2, p.133-142. 2008.

PINTO, A. L. Vamos conhecer Rio Claro: Importância do ribeirão claro para o abastecimento urbano de rio claro – SP. Coletânea 002, Rio Claro, 1993.

PEREZ-CORONA, T.; MADRID-ALBARRAN, Y. et al. Living organisms as an alternative to hyphenated techniques for metal speciation. Evaluation of baker's yeast immobilized on silica gel for Hg speciation. *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy*, v.53, n.2, p.321-329. 1998.

PEREZCORONA, T.; MADRID, Y. et al. Evaluation of selective uptake of selenium (Se(IV) and Se(VI)) and antimony (Sb(III) and Sb(V)) species by baker's yeast cells (*Saccharomyces cerevisiae*). *Analytica Chimica Acta*, v.345, n.1-3, p.249-255. 1997.

SALUNKHE P. B.; DHAKEPHALKAR P. K.; PAKNIKAR K. M. Bioremediation of hexavalent Cr in soil microcosms. *Biotechnol. Lett.*, v 20, p. 749–751, 1998.

SETTI, A.A.; LIMA, J.E.F.W.; CHAVES, A.G.M.; PEREIRA, I.C. Introdução ao gerenciamento de recursos hídricos. 2. ed. Brasília: Agência Nacional de Energia Elétrica, Superintendência de Estudos e Informações Hidrológicas, 2000.

SMICHOWSKI, P.; MARRERO, J. et al. Speciation of As(III) and As(V) in aqueous solutions using baker's yeast and hydride generation inductively coupled plasma atomic emission spectrometric determination. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, v.15, n.11, p.1493-1497. 2000.

SOGN, T. A.; EICH-GREATOREX, S. et al. Use of diffusive gradients in thin films to predict potentially bioavailable selenium in soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v.39, n.3-4, p.587-602. 2008.

TEASDALE, P. R.; HAYWARD, S. et al. In situ, high-resolution measurement of dissolved sulfide using diffusive gradients in thin films with computer-imaging densitometry. *Analytical Chemistry*, v.71, n.11, p.2186-2191. 1999.

TONELLO, P.; GOVEIA, D. et al. Determination of labile inorganic and organic species of Al and Cu in river waters using the diffusive gradients in thin films technique. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v.399, n.7, p.2563-2570. 2011.

TONELLO, P. S.; ROSA, A. H. et al. Use of diffusive gradients in thin films and tangential flow ultrafiltration for fractionation of Al(III) and Cu(II) in organic-rich river waters. *Analytica Chimica Acta*, v.598, n.1, p.162-168. 2007.

VIADANA, A. G.; BRITO CAVALCANTI, A.P. Estudo biogeográfico da *Anacharis Canadensis* na avaliação da qualidade ambiental do Ribeirão Claro no município de Rio Claro – São Paulo. *Mercator - Revista de Geografia da UFC*, Fortaleza, v. 5, n. 10, p. 111-129, 2006.

VIANA, V.M.; MENDES, J.C.T. Recuperação da Cobertura Florestal da Bacia do Rio Corumbataí. Piracicaba: SEMAE, 1997. p 8-11. Recuperação da cobertura florestal da bacia do rio Corumbataí.

VIRGA, R.H.P.; GERALDO, L. P.; SANTOS, F.H. Avaliação de contaminação por metais pesados em amostras de siris azuis. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v. 27(4), p. 779-785, out.-dez., 2007.

YABE, M. J. S.; OLIVEIRA, E. Metais pesados em águas superficiais como estratégia de caracterização de bacias hidrográficas. *Quimica Nova*, v. 21, n. 5, p. 487 – 495, 1998.

ZAYED A.M.; TERRY N. Chromium in the environment: factors affecting biological remediation, *Plant and Soil*, v. 249, p. 139–156, 2003.

ZHANG, H. DGT –for measurements in waters, soils and sediments. Lancaster-UK. 2010 2003.

ZHANG, H.; 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, n.19, p.3391-3400. 1995.

ZHANG, H.; DAVISON, W. et al. In situ measurement of dissolved phosphorus in natural waters using DGT. *Analytica Chimica Acta*, v.370, n.1, p.29-38. 1998.

ZHAO, F. J.; ROONEY, C. P. et al. Comparison of soil solution speciation and diffusive gradients in thin-films measurement as an indicator of copper bioavailability to plants. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v.25, n.3, p.733-742. 2006.

Aluna: Thays Valentim de Simone

Orientador: Dr. Amauri Antonio Menegário

Rio Claro - Dezembro, 2012