

Trabalho de Formatura

Curso de Graduação em Engenharia Ambiental

**USO DE AGENTES LIGANTES E DIFUSIVOS PARA DGT BASEADOS NO USO DA
AGAROSE**

Edson Geraldo de Oliveira Junior

Prof. Dr. Amauri Antonio Menegário

Rio Claro (SP)

2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
Instituto de Geociências e Ciências Exatas
Câmpus de Rio Claro

Edson Geraldo de Oliveira Junior

USO DE AGENTES LIGANTES E DIFUSIVOS PARA DGT
BASEADOS NO USO DA AGAROSE

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

Rio Claro - SP
2023

O48u Oliveira Junior, Edson Geraldo
Uso de agentes ligantes e difusivos para DGT baseados no uso da agarose / Edson Geraldo Oliveira Junior. -- Rio Claro, 2023
56 p. : tabs., fotos

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Engenharia Ambiental) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Rio Claro
Orientador: Amauri Antonio Menegário

1. engenharia ambiental. 2. dgt. 3. amostragem passiva. 4. agarose. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Edson Geraldo de Oliveira Junior

USO DE AGENTES LIGANTES E DIFUSIVOS PARA DGT BASEADOS NO USO DA AGAROSE

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

Comissão Examinadora

Amauri Antonio Menegário (orientador)

Melina Borges Teixeira Zanatta

Lucas Pellegrini Elias

Rio Claro, 26 de Maio de 2023.

Edson J. de Oliveira Junior

Assinatura do(a) aluno(a)

assinatura do(a) orientador(a)

Agradecimentos

A princípio, gostaria de agradecer a minha família, Veridiane Martins Cardoso, Ediane Cardoso de Oliveira e Edson Geraldo de Oliveira por todo o apoio antes e durante toda minha graduação, através deles pude me inspirar, atingir meus objetivos e a confiança de que posso ir além. Também gostaria de agradecer a minha segunda família, Gabriel Sterzeck Vittori, Caio Sterzeck Vittori, Andrea Sterzeck Vittori, Rafael Carlos Vittori e Cecília Viotti Sterzeck. Vocês também contribuíram com toda essa jornada, em especial o Gabriel, que me apresentou a área de estudo de Meio Ambiente e, principalmente, uma nova forma de ver o mundo, muito obrigado!

Agradeço ao Prof. Dr. Amauri Antonio Menegário pela orientação durante toda a iniciação científica e com todo trabalho de conclusão de curso. Seu voto de confiança foi um fator crucial para todo o desenvolvimento da pesquisa e como primeira experiência profissional. Agradeço também o GEMB, Grupo de Estudos e Desenvolvimento Metodológico em Biogeoquímica, em especial ao Carlos Eduardo Eismann, Lucas Pellegrine Elias, Luiz Felipe Pompeu Prado Moreira, Jorge Henrique Pedrobon. Estes foram meus mentores e parceiros durante toda a iniciação científica e, sem dúvida, pesquisadores incríveis que a ciência brasileira possui e deve valorizar.

Também agradeço a UNESP, Universidade Estadual Paulista, pela viabilização do acesso ao ensino superior de excelência e de forma gratuita. Com toda certeza, realizou não somente o meu, mas o sonho de muitos e mudou a vida de milhares de pessoas. Hoje, assumo o compromisso de contribuir para uma sociedade mais igualitária, pela expectativa de um novo horizonte e, futuramente, também contribuir com o ensino público.

Agradeço também à FAPESP pelo incentivo à pesquisa desde agosto de 2019 à Setembro de 2021 por meio do processo nº 2019/15246-1, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

Resumo

A técnica de difusão em filmes finos por gradientes de concentração (DGT) é utilizada para determinação de elementos-traço “*in situ*”. O dispositivo absorve os analitos no ambiente com o decorrer do tempo. Isso é realizado por meio do gel difusivo e de um gel ligante. No gel difusivo ocorre a migração do analito do ambiente para o gel ligante. E no gel ligante ocorre a retenção do analito para posterior determinação da massa acumulada com os devidos métodos analíticos. Em seguida, será determinada a concentração do analito no ambiente utilizando o tempo de imersão, janela de exposição, coeficiente de difusão e a espessura do gel difusivo. A técnica DGT atualmente comercializada pela empresa DGT® Research, proprietária da patente do Cross-Linker, substância a base de acrilamida. O uso da substância no meio ligante e difusivo contribuiu para uma maior estabilidade na coesão do gel. Os dispositivos DGT possuem um custo significativo considerando os preços dos géis e as taxas de importação, além de que, para a aplicação da técnica, é recomendado a utilização de um grande número de dispositivos na área a ser estudada. Por meio da agarose é possível produzir, em laboratório, um gel difusivo e imobilizar resinas ou sorventes, substituindo o uso de poliacrilamida. Os géis de agarose possuem um baixo custo de produção e substituiriam os géis comerciais, os quais são importados. O sorvente ou resina a ser retida no gel ligante variam de acordo com o elemento a ser retido. Para cátions é mais indicado o uso da Chelex-100 e para ânions o uso do ZrO_2 . O presente trabalho objetiva utilizar a agarose como gel difusivo e para imobilização de Chelex-100 e do ZrO_2 separadamente. Serão avaliados o coeficiente de difusão da agarose e a eficiência de retenção dos analitos em diferentes condições de pH e força iônica. A determinação das concentrações dos analitos será realizada por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Através dos resultados obtidos, é possível aferir a eficiência no uso da agarose como meio difusivo e ligante utilizando Chelex-100 e ZrO_2 como sorventes na técnica DGT pelo período de até 48 horas para Zn, Co, Ni, Cd, Mn, Mo, Se, As, V. A maioria dos elementos obtiveram coeficientes de difusão reais reproduzíveis, porém para a variação de pH e FI, alguns elementos se limitam a coeficientes de difusão aparentes, corrigidos conforme a variação apresentada na respectiva condição físico-química.

Palavras-chave: ZrO_2 . DGT. Agarose. Chelex-100

Abstract

The Diffusive Gradient in thin films Technique (DGT) is used for “*in situ*” determination of trace elements. The device absorbs the analytes in the environment over time. This is done using a diffusive layer and a binding layer. The migration of the analyte from the environment to the binding gel occurs in the diffusive gel. And in the binding gel, the analyte is retained for later determination of the accumulated mass with the appropriate analytical methods. Then, the concentration of the analyte in the environment will be determined using the immersion time, exposure window, diffusion coefficient and the thickness of the diffusive gel. The DGT technique currently commercialized by the company DGT® Research, owner of the Cross-Linker patent, a substance based on acrylamide. The use of the substance in the binding and diffusive layer contributed to greater stability in gel cohesion. DGT devices have a significant cost considering the prices of gels and import fees, in addition to the fact that, for the application of the technique, it is recommended to use a large number of devices in the area to be studied. Using agarose, it is possible to produce, in the laboratory, a diffusive gel and immobilize resins or sorbents, replacing the use of polyacrylamide. Agarose gels have a low production cost and would replace commercial gels, which are imported. The sorbent or resin to be retained in the binding gel varies according to the element to be retained. For cations, the use of Chelex-100 is more indicated and for anions, the use of ZrO_2 . The present work aims to use agarose as a diffusion gel and for immobilization of Chelex-100 and ZrO_2 separately. The agarose diffusion coefficient and the analyte retention efficiency will be evaluated under different conditions of pH and ionic strength. The determination of analyte concentrations will be performed by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Through the results obtained, it is possible to assess the efficiency in the use of agarose as a diffusive and binding medium using chelex-100 and ZrO_2 as sorbents in the DGT technique for a period of up to 48 hours for Zn, Co, Ni, Cd, Mn, Mo, Se, As, V. Most of the elements obtained reproducible real diffusion coefficients, however for the pH and FI variation, some elements are limited to apparent diffusion coefficients, corrected according to the variation presented in the respective physical-chemical condition.

Keywords: ZrO_2 . DGT. Agarose. Chelex-100

Sumário

1.	Introdução	8
2	Objetivos	11
3	Revisão Bibliográfica	11
3.1	Dispositivo DGT	11
3.1.1	Informações introdutórias da Técnica DGT	11
3.1.2	Princípio da Técnica DGT	12
3.2.1	Chelex-100 como Agente Ligante	13
3.2.2	ZrO ₂ como Agente Ligante.....	15
3.3	Agarose aplicada na técnica DGT	18
4	Materiais e Métodos.....	20
4.1	Materiais.....	20
4.1.1	Equipamentos e Acessórios	20
4.1.2	Reagentes e Soluções.....	20
4.2	Métodos	21
4.2.1	Preparo dos Géis e Montagem dos Dispositivos	21
4.2.2	Curva de Imersão de 48 horas.....	23
4.2.3	Fator de Eluição.....	25
4.2.4	Efeito do pH e força iônica.....	27
5.1	Curva de Imersão	30
5.2	Coeficiente de Difusão e Fator de Eluição	34
5.3	Curva de pH e Força iônica.....	36
5.3.1	Efeito do pH na capacidade de ligação da Chelex-100	36
5.3.2	Efeito da Força iônica na capacidade de ligação da Chelex-100	40
5.3.3	Efeito do pH na capacidade de ligação do ZrO ₂	44
5.3.4	Efeito da Força iônica na capacidade de ligação do ZrO ₂	48
6	Conclusão	52
7	Referências Bibliográficas.....	54

Introdução

A técnica de difusão de filmes finos por gradientes de concentração (DGT) desenvolvida por Zhang e Davison tem se demonstrado efetiva para amostragem “*in situ*” para ambientes aquáticos, solos e sedimentos. Zhang (1995) define que a técnica consiste na contínua difusão de espécies lábeis de elementos-traço pelo gel difusivo e sua acumulação no gel ligante. Em laboratório é recuperada a massa de elementos retidos no gel ligante e através disso, é possível determinar as concentrações dos analitos conforme os métodos analíticos apropriados. Utilizando da massa determinada, o tempo de imersão, janela de exposição, espessura da camada difusiva e o coeficiente de difusão é possível calcular a concentração do analito no meio onde o dispositivo foi inserido.

O dispositivo DGT é confeccionado a partir dos 5 componentes a seguir: uma base de polipropileno, uma capa de polipropileno com uma janela de 2,0 cm de diâmetro; uma membrana filtrante, um gel difusivo; e um gel ligante. A base e a capa atuam para fixação e proteção dos géis e do filtro. Em especial a capa, a qual possui uma janela para possibilitar a migração dos analitos do ambiente para os géis. No gel ligante ocorrerá a retenção do analito, no gel difusivo ocorrerá a migração do analito do ambiente para o gel ligante e a membrana filtrante atuará na proteção dos géis. A confecção do dispositivo ocorre da seguinte forma: é colocado um gel ligante sobre a base, sobre o gel ligante é colocado o gel difusivo, sobre o gel difusivo é colocada a membrana filtrante e, por último, é encaixada a capa na base polipropileno fixando todos os componentes.

A técnica DGT se destaca entre as técnicas convencionais, que são baseadas na retirada de amostras do meio a ser estudado. Diferentemente, a técnica DGT se destaca na praticidade e segurança da amostragem “*in situ*”. Segundo Buffle (2000), ela possibilita a retenção de concentrações de elementos traço no ambiente por um determinado período de tempo, sendo influenciada pelas variações da termodinâmica e cinética do meio. Destaca Turner (2015), que esses detalhes possibilitam contornar as desvantagens apresentadas pela amostragem “*ex situ*”, como a coleta de um grande volume de amostras, cuidado no transporte, procedimentos delicados e extensos, estando sujeito a imprecisões do método. Visualizando o site DGT® Research. Background and Theory of DGT (2022), verificamos que a técnica também

possibilita a determinação de uma variedade de elementos catiônicos, oxaniônicos e substâncias orgânicas. Isso se deve ao fato de que diversos sorvetes e modelos de dispositivo podem ser utilizados.

Conforme disponibilizado pela A DGT® Research About DGT (2022), verificamos que a empresa foi responsável pelo desenvolvimento e atual comercialização da técnica. Atualmente, a empresa realiza a fabricação e montagem dos dispositivos em laboratórios localizados na cidade de Nanjing, na China. A empresa comercializa uma variedade de dispositivos e agentes ligantes capazes de reter uma variedade de elementos traços, como espécies catiônicas, aniônicas e substâncias orgânicas. Os dispositivos DGT já foram utilizados em diversos estudos, empresas, laboratórios e agências reguladoras.

Os dispositivos, descritos anteriormente, utilizam um filtro de nitrato celulose para proteção dos géis. Como gel difusivo é utilizado o hidrogel de poliacrilamida, compostos por acrilamida e AcrylAide agarose cross-linker (Flow Gen Instruments Ltd.). E no gel ligante, usualmente utilizam a Chelex-100 como agente ligante, estando imobilizada na mesma solução do gel difusivo. Conforme descrito por Garmo *et al.* (2003), o amplo uso da Chelex-100 como agente ligante para amostragem é em função da variedade de elementos que a resina é capaz de reter e sua eficiência.

Atualmente, encontram-se dificuldades na aplicação da técnica no Brasil. Essas dificuldades estão relacionadas com os custos de aquisição dos dispositivos em função da inflação, taxas de importação para o país e impostos. Vale considerar que para um estudo criterioso, serão necessárias triplicatas para conformidade dos dados e de acordo com a área a ser estudada, a distribuição de pontos a serem amostrados para total abrangência. Desse modo, de acordo com o tamanho da área a ser estudada, exigirá uma grande quantidade de dispositivos, que por sua vez, aumentarão o custo da amostragem. Ressalta-se, que o Cross-linker, substância utilizada no gel difusivo e ligante, a qual atua na estabilização e coesão do gel, é patenteada pela DGT Research Ltd. Desse modo, é vedada sua produção em laboratório, contribuindo para o aumento dos custos para aplicação da técnica diante da necessidade de aquisição do reagente.

Diante disso, faz-se necessário o estudo de alternativas financeiramente mais acessíveis e com menor impacto no meio ambiente para aplicação na técnica DGT. Com este intuito, o trabalho objetiva a aplicação da agarose como meio difusivo e ligante na técnica, contribuindo com a redução de custos com a isenção de taxas de

importação e de patente e, além de não fazer uso de substâncias potencialmente cancerígenas e danosas ao meio ambiente.

Para avaliar a eficiência da agarose no meio difusivo e ligante e validar sua aplicação na técnica DGT, foram realizados três experimentos: a curva de imersão de 48 horas, o experimento para fator de eluição e o estudo do pH e Força Iônica.

A curva de imersão de 48 horas permite evidenciar a continuação difusão e retenção dos analitos pelo dispositivo, verificado pela linearidade da curva de imersão apresentada nos gráficos. Através desse experimento, também foi possível calcular o coeficiente de difusão aparente de cada analito. Este coeficiente em específico precisa ser corrigido utilizando o fator de eluição, que corresponde a eficiência de recuperação dos analitos no disco para posterior determinação. Desse modo, o coeficiente de difusão aparente pode ser utilizado como norteador, porém não é um valor de referência para o cálculo da concentração do analito no meio ambiente .

O experimento para fator de eluição consistiu na determinação da eficiência do método adotado para recuperação dos analitos do disco ligantes. Permitindo também, o cálculo do fator de eluição, utilizado para correção do coeficiente de difusão. Essa correção nos possibilita obter um coeficiente de difusão real, obtendo uma melhor reprodutibilidade nos resultados.

Por fim, o experimento para avaliação do efeito do pH e da força iônica. Este experimento permitiu avaliar o efeito do pH e da força iônica na difusão e retenção de analitos. Estas condições, variáveis no meio ambiente, podem interferir na disponibilidade e difusão do analito, sendo importante avaliar seu efeito através de um valor normatizado, ou seja, utilizando um coeficiente de difusão como referência o qual fora calculado com parâmetros de pH e força iônica conhecidos.

2 Objetivos

Este trabalho de conclusão de curso tem como objetivo produzir e avaliar géis difusivos de agarose e géis ligantes com Chelex-100 e Óxido de Zircônio (ZrO_2) imobilizados no mesmo meio do gel difusivo para técnica de difusão em filmes finos por gradiente de concentração para determinação multi-elementar “*in situ*”.

3 Revisão Bibliográfica

3.1 Dispositivo DGT

3.1.1 Informações introdutórias da Técnica DGT

A técnica de gradientes de difusão por filmes finos (DGT) foi desenvolvida por Zhang H. e Davison W., com intuito de realizar a amostragem “*in situ*” de espécies de elementos traço presente no meio ambiente. Conforme descreve Zhang (2000), a técnica DGT pode ser aplicada em águas superficiais, seja em água corrente como em rios ou lântica como em lagos, águas oceânicas e em sedimentos. A técnica também pode ser aplicada para diferenciar as espécies de elementos e de elementos lábeis orgânicos, associados a substâncias húmicas, e inorgânicos. Essa aplicação se deve a variedades de géis que possibilitam a absorção dos elementos traço associados a grandes moléculas.

Conforme descreve Zhang (1995), o dispositivo DGT é composto por um pistão e uma capa de polipropileno, um gel ligante, um gel difusivo e uma membrana filtrante. O pistão é utilizado como suporte para os filmes finos. Inicialmente, sobre o pistão é colocado uma camada ligante, onde será realizada a retenção dos elementos traço pelo agente ligante imobilizado. Sobre a camada ligante é colocado uma camada difusiva, a qual consiste em um gel onde é realizada a difusão do elemento traço do ambiente para o interior do dispositivo. Em seguida, é colocada uma membrana filtrante para a proteção dos géis durante o período de amostragem. Por último, é

encaixada uma capa com uma janela de 2 cm de diâmetro para possibilitar a difusão dos elementos traço do ambiente para membrana ligante.

A técnica DGT contém diversas vantagens quando comparada com técnicas convencionais de amostragem, como coleta pontuais de um volume de água. Davison (2012) ressalta a vantagem da técnica se deve a pré concentração de analitos através da amostragem por longo período de tempo e baixo potencial à riscos de contaminação e perda da amostra. Porém, existem incertezas associadas a técnica, como o “*Diffusive Boundary Layer*” (DBL), evidente em ambientes lênticos em virtude do processo de difusão. Porém, em soluções devidamente agitadas ou em água corrente, a DBL pode ser negligenciada para aplicação da técnica. Outras imprecisões estão associadas às características físico-químicas do ambiente, como por exemplo: salinidade, temperatura, força iônica e interferência biológica (formação de biofilme).

3.1.2 Princípio da Técnica DGT

A técnica DGT se baseia na primeira lei da difusão de Fick, onde o analito difundirá pela camada de gel difusivo até a camada do gel ligante, segundo a definição de Zhang e Davison (1995, p.2), a Eq. 1 do fluxo (**F**):

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

Onde o coeficiente de difusão no gel é expresso por **D**, a concentração lábil do analito na solução é expressa por **C_b**, a concentração do analito no gel ligante por **C'** e **Δg** é a espessura do gel difusivo (incluindo) da membrana de filtração. Caso o analito entre rapidamente em equilíbrio com a resina da membrana ligante e mantenha o gradiente de concentração sem haver a saturação do ligante, a concentração **C'** tenderá a zero. Obtendo-se a Eq. 2:

$$F = DC_b. \Delta g^{-1} \quad (2)$$

De acordo com a definição de fluxo ($F = M. At^{-1}$), sendo **M** a massa, **A** a área do disco difusivo e **t** o tempo, obtemos a Eq.3:

$$M = DC_b t A. \Delta g^{-1} \quad (3)$$

A concentração do analito no eluido (**C_a**) é determinada mediante a métodos analíticos apropriados e, sabendo-se o volume utilizado na determinação (**V_a**), é possível obter a massa **M** com a Eq. 4:

$$M = C_a. V_a \quad (4)$$

Com **M**, **D**, **t**, **A** e **Δg** conhecidos, a concentração (**C_b**) do analito da solução de imersão pode ser calculada através da Eq. 5:

$$C_b = M \Delta g \cdot DtA^{-1} \quad (5).$$

Desse modo, estruturando a base matemática para desenvolvimento da técnica DGT. Isso possibilita também a aplicação da técnica com diferentes componentes e sorventes, abrindo uma infinidade de aplicações a técnica e elementos a serem amostrados.

3.2 Sorventes Aplicáveis a Técnica DGT

Diversos sorventes podem ser empregados na técnica DGT de acordo com o analito ser amostrado. Portanto, esta revisão bibliográfica dos sorventes aplicáveis a Técnica DGT será direcionada a Chelex-100 e ao ZrO_2 , porém abordando ocasionalmente outros sorventes presentes nos artigos. Essa priorização é função da aplicação desse dois sorventes citados neste presente estudo, endossando a eficácia da técnica DGT.

3.2.1 Chelex-100 como Agente Ligante

A Chelex-100 é uma resina convencionalmente utilizada na técnica DGT. Segundo o manual, Bio-Rad (2000, p.2), empresa em posse da patente da Chelex-100, a define como uma resina de troca catiônica. No manual citado, é reportada uma variedade de informações que auxiliam na utilização comercial e neste presente trabalho. São eles: os valores correspondentes a seletividade para uma variedade de elementos e sua variação conforme o pH; instruções de uso para diferentes métodos de amostragem (coluna, imersão e troca iônica); estabilidade em pH; taxa de fluxo; e outras informações. Conforme descreve Baatar *et al* (2008), a resina possui uma eficiência comprovada para retenção de uma variedade de cátions como Pb, Zn, Co, Ni, Cu, Cd, Al, Mn, e possivelmente, Ga, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Tb, Lu e Y.

Abaixo, foram selecionados os artigos mais recentes sobre o uso da técnica DGT utilizando Chelex-100 como agente ligante. Os trabalhos comparam a eficiência da Chelex-100 com variados tipos de agentes e com diferentes métodos de amostragem.

Umbreia-Salinas *et al* (2021), realizou a determinação das concentrações de Cu em ambientes estuarinos. Esses ambientes estão vulneráveis para metais em função das atividades de industriais e de navegação. O estudo utilizou dois parâmetros para determinação, o de Cu lábil e de Cu dissolvido. Para determinação de Cu lábil, foi utilizada a técnica DGT com emprego da resina Chelex-100 como agente ligante, imobilizada em gel de poliacrilamida. Foram selecionados dois ambientes estuarinos do sudeste e sul do Brasil. A primeira área selecionada foi a Baía de Guanabara, em Niterói, Rio de Janeiro, no estaleiro de médio porte localizado na ilha de Conceição. A segunda área foi no rio Itajaí-Açu em Santa Catarina, no estaleiro de médio-grande porte. E na terceira área foram amostrados 3 pontos, duas em um estaleiro de médio porte e uma em uma área como referência, ambos no estuário da Lagoa dos Patos no Rio Grande do Sul. A determinação da fração lábil (DGT) foi realizada por Espectrometria de Absorção Atômica com forno de Grafite (GF-ASS). Através dos resultados, o autor compara a concentração de Cu lábil e a concentração de Cu dissolvido. O autor evidencia a relação direta da contração de Cu em relação as atividades de aplicação de tintas anti-incrustantes e a manutenção de embarcações nas áreas portuárias. Foi observado que nas áreas de intensa atividade portuária, a concentração de Cu lábil representando mais de 93% do total da fração dissolvida. O autor conclui que a liberação de Cu pelas atividades portuárias e sugere a possibilidade de liberação de outros metais, como o Ni, Zn e Cr. A determinação desses metais é fundamental, uma vez que coloca em risco todo ecossistema marinho e terrestre.

Desaulty *et al* (2020) desenvolveu uma nova técnica para determinação de isótopos de Pb utilizando a técnica DGT com Chelex-100 como agente ligante. O teste foi realizado em laboratório, com intuito de desenvolver uma forma mais eficiente para determinação de isótopos de Pb nas águas naturais. O método consiste no uso do DGT para pré concentração dos metais por um período de tempo e, em seguida, a determinação por laser ablation multi-collector inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-MC-ICP-MS). Desse modo, contornando a necessidade de um

processo químico, diminuindo o risco de contaminação, tempo de preparação e problemas de armazenamento. Foram necessários os ajustes de diversos parâmetros em virtude da heterogeneidade dos discos e como parâmetro para determinação das amostras, foi imerso um dispositivo em solução padrão para determinação no LA-MC-ICP-MS. Os resultados se demonstraram promissores, visto que a técnica possibilitou a determinação dos isótopos de Pb em águas naturais com boa precisão, auxiliando na identificação assertiva de contaminantes.

Zhao *et al* (2020) desenvolveu um método para normalizar os dados adquiridos com a técnica DGT como referência. O objetivo era utilizar a referência como um padrão para aplicação em amostras com analitos em concentrações desconhecidas. O experimento foi aplicado para especiação de urânio em soluções aquosas com variação de parâmetros como pH, força iônica, complexantes inorgânicos e o efeito de competitividade de Cu e U. Esses parâmetros podem influenciar nas espécies de U que podem ser encontradas na solução. O experimento foi realizado em laboratório, utilizando a Chelex-100 como agente ligante. Para determinação das concentrações de U foi utilizado o An Elan 6100 DRC ICP-MS. Os resultados evidenciam que em baixos Phs o urânio se encontra na forma UO_2^{2+} , a qual possui um coeficiente de difusão maior quando comparada com as outras espécies do elemento. A força iônica e a presença de carbonatos influenciaram a especiação de U de forma pontual. O autor conclui analisando os resultados que a normalização das concentrações medidas pela técnica DGT está otimizada, portanto, próximo aos valores de referência. Concluindo assim uma abordagem mais assertiva para aplicação da técnica DGT. Mais trabalhos serão necessários para aplicar essa abordagem para especiação de outros metais e investigar a relação da fração lábil determinada pela técnica DGT com a biodisponibilidade e toxicidade dos metais.

3.2.2 ZrO_2 como Agente Ligante

O ZrO_2 é um sorvente preparado do zircônio amorfo utilizando os métodos químicos apropriados. Ding *et al* (2016) descreve o preparo e aplicação na técnica DGT com zircônio em membrana mista. Desde então, o sorvente vem sendo estudado na técnica DGT, e conforme descrito por Wang *et al* (2016), já possui eficiência comprovada para retenção de uma variedade de ânions, como P(V), As(V), Cr(VI),

Mo(VI), Sb(V), Se(VI), V(V), e W(VI). Abaixo, foram selecionados os artigos mais recentes sobre o uso da técnica DGT utilizando ZrO_2 como agente ligante. Os trabalhos comparam a eficiência do ZrO_2 com variados tipos de agentes e com diferentes métodos de amostragem.

Ren *et al* (2021) desenvolveu uma nova metodologia para a técnica DGT, aplicando a resolução bidimensional em escala submilimétrica (2D) para avaliação da labilidade espacial das substâncias químicas como sulfetos, metais catiônicos e aniônicos. Intitulada como HR-ZCA DGT, foi utilizado um dispositivo com formato plano, composto por gel de agarose como camada difusiva, membrana Durapore® PVDF e uma nova camada ligante. A camada ligante foi preparada com um método de dupla precipitação utilizando $AgNO_3$ (AgL) e ZrO_2 depositados em um gel de poliacrilamida com Chelex-100 imobilizada. Nesse estudo, foram avaliados S, Cd, Co, Fe, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn, As, Cr, Mo, Sb, Se, V, P e W. Foram realizados os experimentos para avaliação da nova camada ligante e definido o processo de eluição mais eficiente. A determinação foi realizada utilizando a técnica de Ablação a Laser Associada com um Espectrômetro de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (LA-ICP-MS). Avaliando os resultados, obteve-se uma razão linear, com $R^2 > 0.99$, entre a massa acumulada na camada ligante para os 17 elementos químicos e a correspondência do padrão utilizando ablação a laser, indicando a eficácia do método de determinação. Com os resultados das imagens de dispersão espacial dos analitos, observou-se um padrão de dispersão similar para P, W, As, Fe e Mn. Foram observados também, aumentos pontuais para Ni, Zn, Mo e Sb ou S, V, Co e Zn. Conclui-se que o uso da nova técnica HR-ZCA DGT pode ser aplicado para estudos com intuito de compreender a geoquímica dos sedimentos.

Rougerie *et al* (2021) estudou a performance de amostragem da técnica DGT, comparando-a com as técnicas convencionais. Para isso, levou em conta a reprodutibilidade dos resultados e os custos para aplicação das técnicas. Foram definidos 10 elementos para quantificação, sendo eles: Al, Zn, Ni, Cd, Cu, Pb, Cr, As, Se e Sb. Os dispositivos foram confeccionados utilizando os suportes padrão de polipropileno, gel de poliacrilamida como gel difusivo, filtro de nitrato celulose e um gel ligante. No gel ligante, foram utilizando dois sorventes separadamente, sendo a Chelex-100 e o ZrO_2 , com intuito de reterem cátions e ânions respectivamente. A área de estudo foi a bacia hidrográfica de AdourGaronne, localizada no sudoeste da

França. Nela foram selecionados 17 pontos para amostragem que compreendem uma variedade de rios, geologia e infraestruturas locais como agricultura e indústrias. A determinação foi realizada utilizando o Espectrômetro de Massas com Plasma indutivamente Acoplado (ICP-MS). Analisando os resultados, o autor conclui que a amostragem “*in situ*” utilizando a técnica DGT para o monitoramento de metais em cursos d’água é financeiramente e tecnicamente viável, destacando que foi utilizado o Euro como moeda de câmbio para essa conclusão. A técnica DGT permite avaliar os analitos lábeis por um período prolongado, contribuindo para captação de variações nas concentrações. Enquanto as técnicas convencionais permitem determinar somente frações de tempo pontuais do rio. Desse modo, a técnica se demonstra promissora, utilizando em estratégias de monitoramento que combinem a amostragem passiva e convencionais para avaliação da qualidade da água de ambientes estuarinos, águas marinhas ou bacias hidrográficas.

Gao *et al* (2020) investigou a mobilidade de P no sedimento utilizando a técnica DGT com a Chelex-100 e ZrO_2 como agentes ligantes. O dispositivo empregado no estudo é diferente do modelo convencional, esse dispositivo possui uma janela de exposição de 18 por 150mm, possibilitando analisar a distribuição espacial do analito. A área de estudo foi no delta do rio das Pérolas, localizado ao Sul da China. O entorno do estuário possui uma intensa atividade de navegação por estar próximo das cidades de Shenzhen e Hong Kong. Concomitantemente, caracterizando se como uma área de susceptibilidade ambiental, podendo estar sujeita a poluição das grandes cidades. Foram coletadas amostras de água e sedimentos, e implantados os dispositivos DGTs. Para determinação de P, foi utilizada a técnica de colorimetria objetivando a determinação espacial do analito no sedimento. Com os resultados obtidos, verificou-se uma distribuição irregular para o P na área do estuário. Porém, através da técnica DGT, foi possível obter a imagem de distribuição espacial em escala submilimétrica, que revelou uma heterogeneidade de P lábil em locais específicos. Verificou-se também a correlação de P e Fe lábil, consequentemente, confirmado uma interação e mobilização destes analitos. Esse efeito pode estar relacionado com a presença de SO_4^{2-} nos sedimentos de fundo, contribuindo para mobilização de P. Analisando essa dinâmica no estuário, o autor constata a presença excessiva de matéria orgânica, o que interfere diretamente na físico-química e labilidade dos elementos, visto que cria uma zona hipóxia. Desse modo, foi recomendada a redução e controle de

lançamentos de efluentes, com intuito de reduzir a presença de matéria orgânica e consequentemente a estabilidade de oxigênio dissolvido no ambiente, preservando a qualidade da água.

3.3 Agarose aplicada na técnica DGT

Os géis de agarose são rígidos, capazes de reter sorventes e propiciar a difusão de substâncias dissolvidas. O preparo do gel é realizado através do aquecimento de Agar em água e seu posterior resfriamento. Segundo ARNOTT *et al* (1974) O agar é obtido de algas marinhas, especificamente da espécie *Rhodophyceae*. A estruturação da agarose ocorre a partir de ligações cruzadas, não covalentes em formação ordenada. Esse comportamento da agarose é aplicado na físico-química, virologia e bacteriologia.

Os dispositivos da técnica DGT usualmente utilizam do hidrogel de poli(acrilamida) como meio difusivo e imobilizante do meio ligante. Este tipo de gel utiliza acrilamida e AcrylAide agarose cross-linker (Flow Gen Instruments Ltd.). Para evitar a necessidade de importação dessa substância em razão do custo e tempo para transporte, vem sendo estudada uma alternativa para imobilização e preparo de géis difusivos através da agarose. Abaixo, foram selecionados artigos que endossam a eficiência da agarose como meio difusivo e imobilizante do agente ligante.

Yabuki *et al* (2019) avaliou a aplicação da técnica DGT utilizando biomassa de café como agente ligante para retenção de Cd, Cu, Ni, Pb e Zn. Como meio difusivo foi utilizado o gel de poli(acrilamida) e o gel de agarose como imobilizante da biomassa de café (meio ligante). Os dispositivos foram imersos em soluções contendo $500 \mu\text{g L}^{-1}$ do analito e nas águas dos rios Corumbataí e Piracicaba (Rio Claro/SP e Piracicaba/SP, Brasil; respectivamente). Para determinação, os discos foram lavados com água ultrapura e, em seguida, eluídos com HCl 2 mol.L^{-1} . A determinação dos analitos foi realizada em Espectrômetro de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES). Os resultados obtidos confirmam a aplicação da técnica para mensurar espécies lábeis do analito com força iônica variando de $0,005 \text{ mol L}^{-1}$ a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e pH variando entre 3,5 até 8. Desse modo, conclui-se que foi desenvolvido um novo agente ligante para aplicação na técnica

DGT. Tendo um agente com baixo custo, que abre oportunidades para uso de outras biomassas residuais e contribui para aplicação de tecnologias mais sustentáveis.

Wang *et al* (2016) realizou um estudo utilizando o hidrogel de agarose como meio difusivo. O estudo avaliou a performance de oito cátions, Fe(II), Mn(II), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II), Pb(II) e Cd(II) e oito ânions (P(V), As(V), Cr(VI), Mo(VI), Sb(V), Se(VI), V(V) e W(VI)). O gel difusivo foi preparado segundo a literatura, com a razão de 1,5% (m/v) de agarose e dois géis ligantes, um com ZrO₂ e outro com Chelex-100. A amostragem foi realizada em águas naturais de rios e marinhas, e em soluções com variação da força iônica de 0 à 1,0 mol.L⁻¹, pH de 2 à 11 e temperatura de 4 à 40 °C. A água doce foi coletada no lago de Xuanwu, na cidade de Nanjing, China. E a água do mar foi coletada no mar Yellow, ao leste da Província de Jiangsu. Os resultados obtidos endossaram a eficiência da técnica, onde os coeficientes de difusão variaram na faixa de 6,56 a 8,64 10⁻⁶ cm² s⁻¹ 25°C para ânions e 5,91 a 8,64 10⁻⁶ cm² s⁻¹ 25°C para cátions. A comparação dos resultados obtidos na determinação dos analitos nas águas naturais utilizando a técnica DGT e a concentração da solução evidenciou uma variação entre 0,9 à 1,11 (em até 11%), resultado referente a ambos os discos. Portanto, conclui-se que a técnica DGT com uso da agarose como meio difusivo foi efetivo para amostragem de águas naturais dentro da faixa de pH e força iônica avaliados no estudo.

Luko *et al* (2017) realizou a determinação de Vanádio (V) utilizando a técnica DGT. O meio difusivo foi preparado segundo a literatura, utilizando agarose 1,5% (m/v) e o gel ligante foi utilizado 2,0 g de resina amberlite IRA-410 imobilizada em agarose 3,0% (m/v). A resina possui uma forte capacidade de troca aniônica em pH básico e é comercializada na forma de Cl⁻. O estudo avaliou também os efeitos do pH, força iônica e temperatura. Os dispositivos DGT foram imersos no rio Piracicaba, na bacia do PCJ, São Paulo, Brasil. A determinação do analito foi realizada em Espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Através dos resultados obtidos, foi calculado um coeficiente de difusão de 7,13 ± 0,6 10⁻⁶ cm² s⁻¹ para vanádio. A determinação “*in situ*” utilizando IRA-410 para V (V) resultou em uma razão de 95% do V dissolvido quando comparado com a determinação direta. Desse modo, conclui-se a aplicabilidade da técnica para determinação de V(V) em águas naturais, validando a retenção de V(V) para toda faixa de pH estudada.

4 Materiais e Métodos

4.1 Materiais

4.1.1 Equipamentos e Acessórios

- Espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS, iCAP RQ, Thermo);
- Espectrômetro de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP-OES, iCAP, Thermo);
- Dispositivos DGT de polipropileno (pistão e anel) (DGT Research Ltda, UK)
- Vidrarias e acessórios de laboratório;
- Agarose; Chelex-100; Oxicloreto de zircônio - $\text{ZrOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$;
- Membrana filtrante de nitrato de celulose;
- Sistema de purificação de água com resistividade final de $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ (Milli-Q, Millipore, USA)
- Balança analítica (AG 200, Gehaka, Brazil)
- Equipamento de rotina em laboratórios de química analítica, Pipetas Automáticas, pHmetros, agitadores, chapas de aquecimento, balanças analíticas, termômetros e capela de fluxo laminar;

4.1.2 Reagentes e Soluções

- A solução estoque de 125 mL de HNO_3 20% (v/v) foi preparada diluindo 25 mL de ácido nítrico concentrado bidestilado em 100 mL de água ultrapura com resistividade menor que $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$.
- A solução estoque de 125 mL de 1 mol L^{-1} NaOH foi preparada a partir do composto sólido. Foram dissolvidos 5 g de NaOH (MERCK) em 125 mL de água ultrapura.

- A solução estoque de 125 mL de $1 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$ foi preparada diluindo 8,9 mL de ácido nítrico concentrado bidestilado em 116,1 mL de água ultrapura.
- A solução monoelementar de V de 25 mL de 200 mgL^{-1} foi preparada dissolvendo 0,0114 g de $\text{H}_4\text{NO}_3\text{V}$ (metavanadato de amônio) em 25 mL de água ultrapura.

4.2 Métodos

4.2.1 Preparo dos Géis e Montagem dos Dispositivos

4.2.1.1 Preparo do Disco de Agarose

O gel difusivo foi preparado dissolvendo 0,30 g de agarose (1,5% m/v) em 20 mL de água ultrapura. A solução foi agitada com espátula e aquecida na chapa. Em seguida, foi vertida em um fundidor com espessura padrão, onde permaneceu em repouso até atingir a temperatura ambiente. O gel foi cortado em discos de 25 mm de diâmetro e, conforme delimitado pelo fundidor, com 0,8 mm de espessura. Os discos foram armazenados em solução de $0,05 \text{ mol.L}^{-1} \text{ NaNO}_3$.

4.2.1.2 Preparo do Zircônio Amorfo

O Zircônio Amorfo (ZrO_2) foi sintetizado de acordo com Ding *et al* (2010), diluindo 25,0 g de $\text{ZrOCl}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ (SIGMA-ALDRICH) em 600 mL de água purificada. Esta solução foi titulada com amônia 25% (v/v) até estabilizar em pH próximo a $7 \pm 0,1$. O precipitado foi lavado com água e centrifugado 10 vezes por 5 minutos há 4500 RPM para retirar a solução. O material sólido foi seco em estufa á 60 C° até atingir a massa com 50% (m/m) de umidade.

4.2.1.3 Preparo dos Discos de Zircônio

O gel ligante com ZrO_2 foi preparado adicionando 0,15 g de agarose (1,5% m/v) em um béquer contendo 7 mL de água e, em outro béquer 3 g de zircônio sintetizado em 3 mL de água. As misturas foram aquecidas em chapa e agitadas com uma espátula até dissolução da agarose e do zircônio. As soluções foram misturadas e vertidas em um fundidor, onde foram mantidas em repouso até atingir temperatura ambiente. A lâmina de gel obtida no fundidor foi cortada em discos de 25 mm de diâmetro e 0,6 mm de espessura. Os discos foram armazenados a 15°C em água purificada.

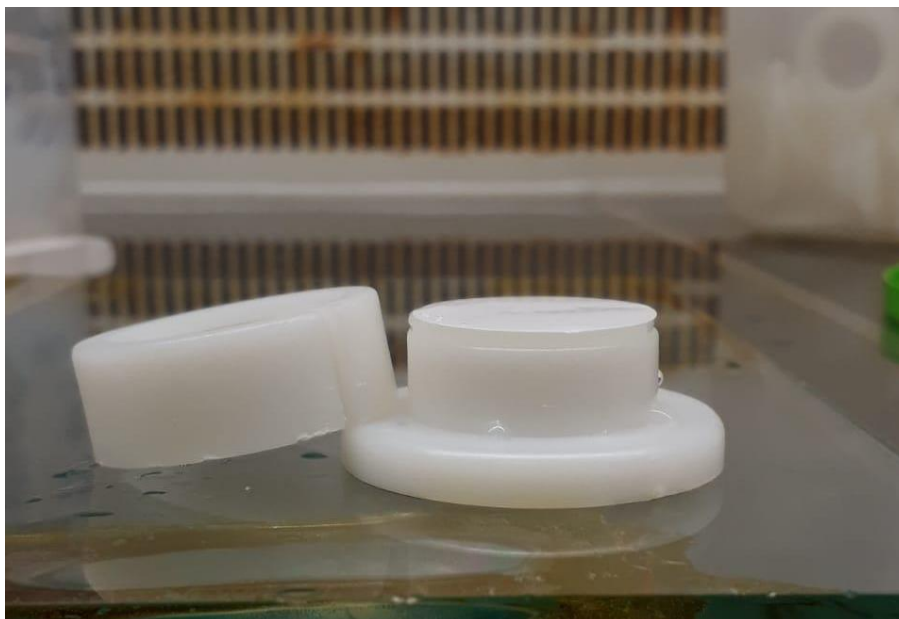
4.2.1.4 Preparo dos Discos de Chelex-100

O gel ligante com Chelex-100 foi preparado dissolvendo 0,15 g de agarose (1,5% m/v) em 10 mL de água ultrapura. Na solução adicionou-se 3 g de chelex-100, em seguida agitada com espátula e aquecida em chapa. A suspensão foi vertida para um fundidor, onde permaneceu em repouso até atingir a temperatura ambiente. O gel foi cortado em discos de 25 mm de diâmetro e 0,6 mm de espessura. Os discos foram armazenados a 15°C em água ultrapura.

4.2.1.5 Montagem dos dispositivos

Os dispositivos foram montados colocando sobre um pistão de polipropileno o disco de agarose com o ZrO_2 (gel ligante). Em seguida, foi colocado o disco de agarose (gel difusivo) e por último a membrana de nitrato celulose. Uma capa de polipropileno com uma janela de 2 cm de diâmetro foi usada para fixar os discos e viabilizar a difusão dos elementos pelo dispositivo, conforme na figura 1. O mesmo procedimento foi adotado para os discos de agarose com Chelex-100, apenas alterando o gel ligante.

Figura 1 - Imagem do dispositivo desmontado com os géis e o filtro.



Fonte: elaborado pelo autor.

4.2.2 Curva de Imersão de 48 horas

4.2.2.1 Preparo da solução de Imersão de 48 horas

Foram preparadas três soluções de imersão de 4 litros, pH 6,5 e força iônica de $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. A solução para Chelex-100 foi preparada com padrão multielementar G2V (SpecSol) contendo os elementos Zn, Co, Ni, Cd e Mn, e com padrões monoelementares (SpecSol) de Pb, Cu e Al. Foram utilizados 10 mL do padrão multielementar e 0,8 mL dos padrões monoelementares para obter a concentração de $200 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. A solução para zircônio foi preparada com padrões monoelementares (SpecSol) de Cr, Mo, Sb, Se e As, e utilizando da solução de metavanadato de amônio dissolvido para obtenção de V. Foram utilizados 0,8 mL dos padrões monoelementares e 4 mL da solução com V preparada para obter a concentração de $200 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$. Também foi preparada uma solução para zircônio contendo somente P com padrão monoelementar (MERCK) de PO_4^{3-} . Foram utilizados 0,8 mL do padrão para obtenção da concentração de $200 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.

4.2.2.2 Procedimento do experimento da Imersão de 48 horas

Para cada solução de Imersão de 48 horas, apresentadas no tópico 4.2.2.1, foram imersos 12 dispositivos em 4 L de solução com os elementos traço citados anteriormente, possuindo um pH de 6,5 ajustado com NaOH e Força Iônica de 0,05 mol L⁻¹ ajustada com NaNO₃. Os dispositivos permaneceram imersos e a solução mantida sob agitação e temperatura constante de 25°C.

Nos períodos de 4, 12, 24, 48 horas, foram retirados 3 dispositivos e uma alíquota da solução de imersão. Os dispositivos foram desmontados, o filtro e o disco difusivo foram descartados. Os discos de ligação foram inseridos em tubos Falcon de 15 mL, contendo um disco por tubo. Em seguida, foram adicionados 2 mL de 1 mol L⁻¹ HNO₃ nos discos de Chelex-100 para eluição e 2 mL de 1 mol L⁻¹ NaOH nos discos de zircônio para eluição. Os tubos permaneceram em agitação durante 24 horas para que os analitos retidos no disco fossem eluídos. Após o processo de eluição, os discos foram retirados, descartados e pela presença de pequenas partículas que se romperam do disco, o eluído foi centrifugado por 5 minutos há 4500 RPM. Foram retirados 150 µL da solução centrifugada e transferida para outro tubo de 15 mL. Os eluídos foram diluídos 100 vezes (150 µL da solução eluída + 0,3 mL de HNO₃ concentrado + 14,55 mL de água) para a determinação da concentração por ICP-MS. Com exceção para P, o qual foi determinado no ICP-OES com objetivo de obter uma menor quantidade de interferentes para determinação.

4.2.2.3 Procedimento de Cálculo do Coeficiente de Difusão

O coeficiente de difusão foi calculado segundo Colaço (2012) a partir da equação:

$$D = (k\Delta G) \cdot (C_b A)^{-1}$$

Sendo **D** o coeficiente de difusão (cm² s⁻¹); **k** é o coeficiente angular da reta definida pela razão de massa do elemento-traço retido por tempo (ng s⁻¹); **ΔG** é a espessura do gel difusivo (cm); **C_b** é a concentração do elemento-traço na solução de imersão (mg L⁻¹) e **A** é a área do orifício da câmara (cm²).

A Correção do coeficiente de difusão para diferentes temperaturas também foi calculado segundo Colaço (2012):

$$(D_1\mu_1).(T_1)^{-1}=(D_2\mu_2).(T_2)^{-1}$$

Onde **D** é o coeficiente de difusão do analito no gel ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$); **μ** a viscosidade do solvente ($\text{kg} (\text{ms})^{-1}$) e **T** é a temperatura relativa ao coeficiente e a viscosidade ($^{\circ}\text{C}$). No intuito de facilitar a comparação dos resultados, será utilizada a viscosidade da água para ajuste do coeficiente de difusão á 25°C . Pela similaridade do coeficiente de difusão da água e da agarose, a viscosidade da água será adotada para agarose.

4.2.3 Fator de Eluição

4.2.3.1 Preparo da solução de Imersão do Fator de Eluição

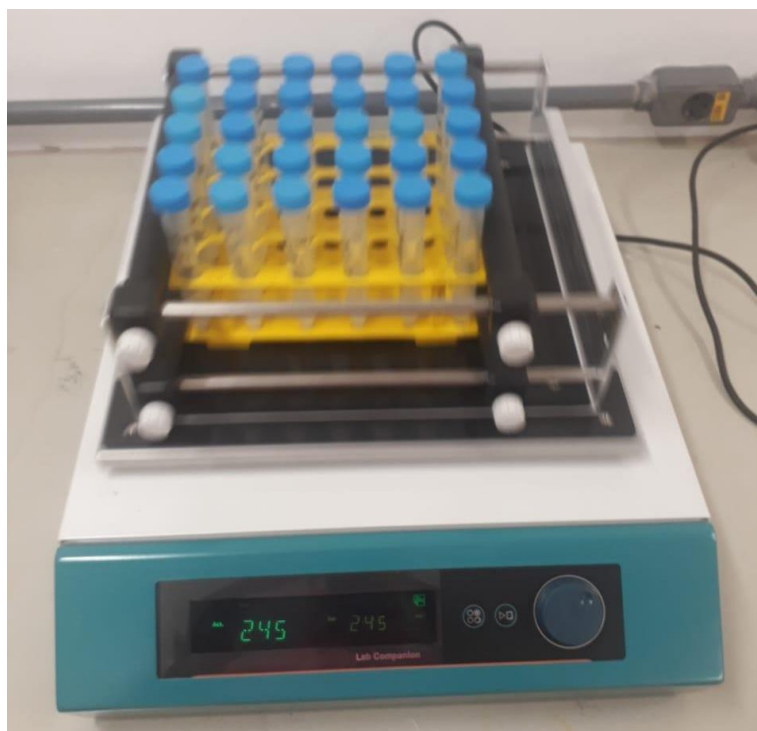
Preparou-se duas Soluções de imersão de 250 mL, pH 6,5 e força iônica de $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Para Chelex-100, foi preparada uma solução com padrão multielementar G2V (SpecSol) contendo os elementos Pb, Zn, Co, Ni, Cu, Cd, Al, Mn. Foram utilizados 0,5 mL do padrão para obter concentração de $200 \mu\text{g L}^{-1}$. A solução para zircônio foi preparada com um padrão multielementar G2V (SpecSol) contendo P, Cr, Mo e V, e três padrões monoelementares contendo Se, As e Sb (SpecSol). Foram utilizados 0,5 mL do padrão multielementar e 0,05 mL dos padrões monoelementares para obter concentração de $200 \mu\text{g L}^{-1}$ de P, As, Sb, Se, Cr, Mo e V.

4.2.3.2 Procedimento do experimento do Fator de Eluição

As soluções preparadas anteriormente foram dispostas em tubos de 50 mL. Foram realizadas tréplicas para cada tipo de ligante (Chelex-100 e ZrO_2), totalizando 6 tubos. Foi retirado, de cada tubo, uma alíquota inicial e imerso um gel ligante respectivo ao analito presente na solução. Em seguida, os tubos foram mantidos em agitação durante 24 horas para retenção dos analitos no disco. Ao fim da agitação, foi retirada uma alíquota final e os discos de ligação inseridos em tubos de 15 mL (um disco por tubo). Para eluição foram adicionados 5 mL de $1 \text{ mol L}^{-1} \text{HNO}_3$ para disco

ligante com Chelex-100 e 5 mL de 1 mol L⁻¹ NaOH para disco ligante com zircônio. Em seguida, foram mantidos em agitação durante 24 horas para que os analitos retidos nos discos fossem eluídos, conforme na figura 2.

Figura 2 - Mesa agitadora com os discos em solução.



Fonte: elaborado pelo autor.

Após esse período, os discos foram retirados e descartados. Pela presença de partículas de pequeno porte que se romperam do disco, foi adicionado 10 mL de água ultrapura na solução de 5 mL do eluído. Em seguida, foi retirado 1 mL dessa solução inserindo-a em outro tubo de 15 mL. Para determinação da concentração por ICP-MS, os eluídos foram diluídos 15 vezes (1 mL da solução eluída + 0,3 mL de HNO₃ concentrado + 14,7 mL de água). Para mensurar o fator de eluição do P, a determinação foi excepcionalmente realizada no ICP-OES para obter uma melhor precisão, contornando transtornos com interferentes da amostra.

4.2.3.3 Procedimento do cálculo do Fator de Eluição

A porcentagem de retenção (%R) é definida pela eq. (1):

$$\%R = (C_i - C_f / C_i) * 100 \quad (1)$$

Onde, **C_i** é a concentração inicial dos analitos antes da imersão dos géis e **C_f** é a concentração final, após retirada dos géis da solução.

Conforme descrito por Eismann *et al.* (2017), o fator de eluição (**F_e**) dos elementos-traço foram calculados segundo a eq. (2):

$$F_e = M_e / M_r \quad (2)$$

Onde, **M_e** é a massa eluída e **M_r** é a massa retida no gel ligante. A massa retida é calculada pela diferença da concentração inicial e final.

4.2.4 Efeito do pH e força iônica

4.2.4.1 Preparo da Solução de Imersão de 6 horas

Para o estudo do efeito da Força Iônica (FI) na retenção dos analitos pela Chelex-100, foram preparadas quatro soluções de imersão de 2 litros, com pH de 5,5 e temperatura de 25°C. As soluções continham uma concentração dos analitos (Pb, Zn, Co, Ni, Cu, Cd, Al e Mn) de 300 µg L⁻¹, obtida através do padrão multi-elementar G2V (SpecSol). As soluções foram preparadas através do sal NaNO₃ com as seguintes forças iônicas: 0,005 mol L⁻¹, 0,01 mol L⁻¹, 0,05 mol L⁻¹ e 0,1 mol L⁻¹.

Para o estudo do efeito do pH na retenção dos analitos pela Chelex-100, foram preparadas quatro soluções de imersão de 2 litros, com força iônica de 0,05 mol L⁻¹ e temperatura de 25°C. As soluções continham uma concentração dos analitos (Pb, Zn, Co, Ni, Cu, Cd, Al e Mn) de 300 µg L⁻¹, obtida através do padrão multi-elementar G2V (SpecSol). As soluções foram ajustadas com 1 mol L⁻¹ de HNO₃, obtendo os seguintes pHs: 3,5, 5,0, 6,5 e 8,0.

Para o estudo do efeito da Força Iônica (FI) na retenção dos analitos pelo ZrO_2 , foram preparadas quatro soluções de imersão com 2 litros, pH de 5,5 e temperatura de 25°C . As soluções continham uma concentração dos analitos (P, As, Cr, Mo, Sb, Se, Al e V) de $300 \mu\text{g L}^{-1}$, obtida através de uma série de padrões monoelementares. As soluções foram preparadas através de sal de NaNO_3 com as seguintes forças iônicas: $0,005 \text{ mol.L}^{-1}$, $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$, $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ e $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$.

Para o estudo efeito do pH na retenção dos analitos pelo ZrO_2 , foram preparadas 4 soluções de imersão de 2 litros, com força iônica de $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ e a temperatura de 25°C . As soluções continham uma concentração de $300 \mu\text{g L}^{-1}$ de analitos (P, As, Cr, Mo, Sb, Se, Al e V) de $300 \mu\text{g L}^{-1}$, obtida através de uma série de padrões monoelementares. As soluções foram ajustadas com 1 mol.L^{-1} de HNO_3 , obtendo os seguintes pH: 3,5, 5,0, 6,5 e 8,0.

Todas as soluções permaneceram em agitação durante 24 horas para estabilização e em temperatura constante de 25°C .

4.2.4.2 Procedimento do Experimento de Imersão de 6 horas

O procedimento do experimento de imersão de 6 horas foi o mesmo para os dois sorventes, somente alterando as soluções com os analitos, preparada no item 4.2.4.1. Inicialmente, em cada uma das soluções foram imersos 3 dispositivos DGT. Os dispositivos permaneceram imersos durante 6 horas com agitação constante, sendo retirado após o período, conforme na figura 3. No decorrer do experimento, foram retiradas alíquotas iniciais e finais das soluções para controle da concentração dos analitos. Após a retirada dos dispositivos, eles foram desmontados, tendo os filtros de nitrato celulose e os géis difusivos descartados. Os géis ligantes foram inseridos em tubos de 15 mL vazios, sendo um gel por tubo.

Figura 3 - Experimento com imersão de 6 horas para pH e FI.



Fonte: elaborado pelo autor.

Com a inserção de todos os géis nos tubos, para ambos os experimentos (força iônica e pH). Para os géis com Chelex-100, foram adicionados 2 mL de 1 mol L⁻¹ HNO₃ em cada tubo. Para os géis contendo ZrO₂, foram adicionados 2 mL de 1 mol L⁻¹ NaOH em cada tubo. Em seguida, os tubos permaneceram sobre agitação durante 24 horas para eluição dos analitos retidos no gel. Após esse processo, os géis foram retirados e descartados. Pela presença de pequenas partículas que se desprenderam do gel, as soluções no tubo foram centrifugadas por 5 minutos à 4500 RPM e retirados 150 µL de cada, inserindo-os em outro tubo de 15 mL. Para a determinação da concentração por ICP-MS, os eluídos foram diluídos 100 vezes (150 µL da solução eluída + 0,3 mL de HNO₃ concentrado + 14,55 mL de água).

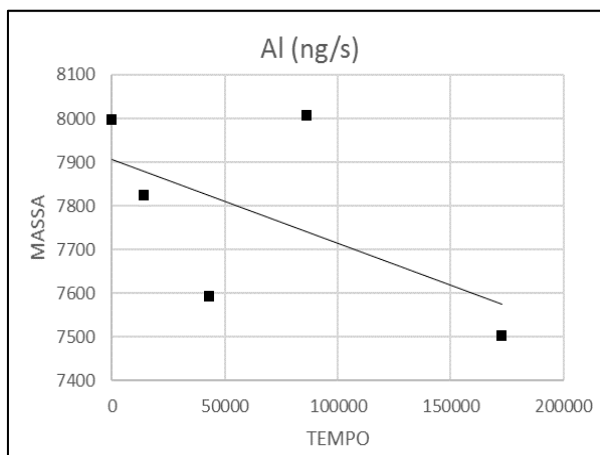
Esse procedimento descrito anteriormente foi aplicado criteriosamente para ambos os experimentos, sendo para os estudos da variação da força iônica e do pH.

5 Resultados e Discussão

5.1 Curva de Imersão

A seguir, são apresentadas as curvas de imersão referentes ao experimento de 48 horas para Al, Pb, Cd, Mn, Co, Ni, Cu e Zn, respectivamente nas figuras 4 – 11, obtidas com o disco de Chelex-100.

Figura 4 - Curva de imersão para Alumínio.

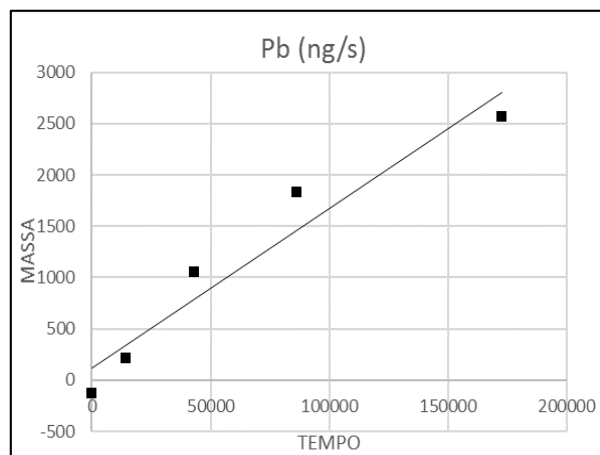


Fonte: elaborado pelo autor.

$$Y = -0,0019x + 7905,9$$

$$R^2 = 0,3362$$

Figura 5 - Curva de imersão para Chumbo.

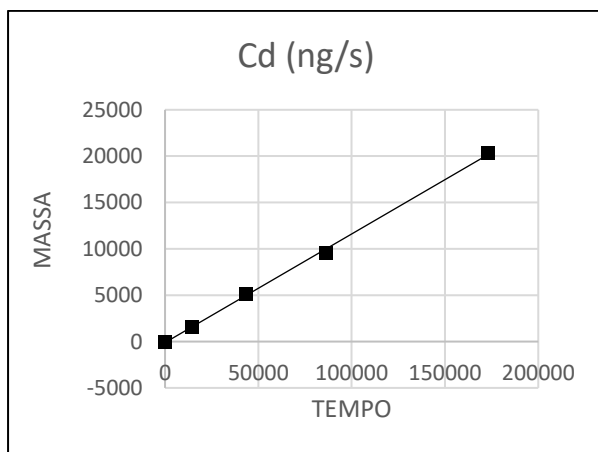


Fonte: elaborado pelo autor.

$$Y = 0,0155x + 119,64$$

$$R^2 = 0,932$$

Figura 6 - Curva de imersão para Cádmio.

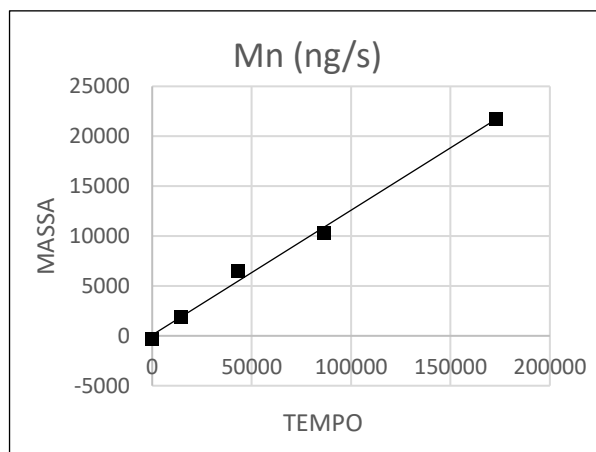


Fonte: elaborado pelo autor.

$$Y = 0,1171x - 109,45$$

$$R^2 = 0,9987$$

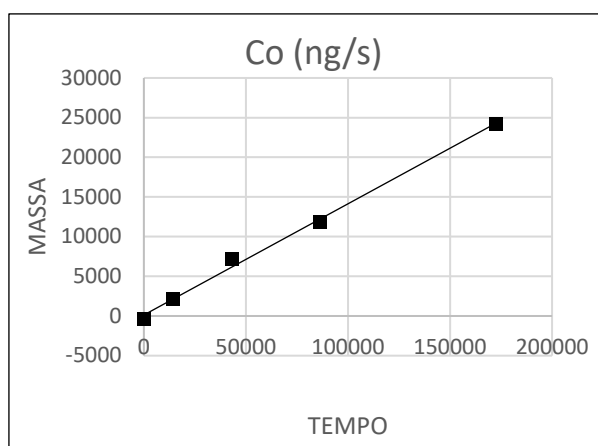
Figura 7 - Curva de imersão para Manganês..



Fonte: elaborado pelo autor.

$$Y = 0,125x + 82,548$$

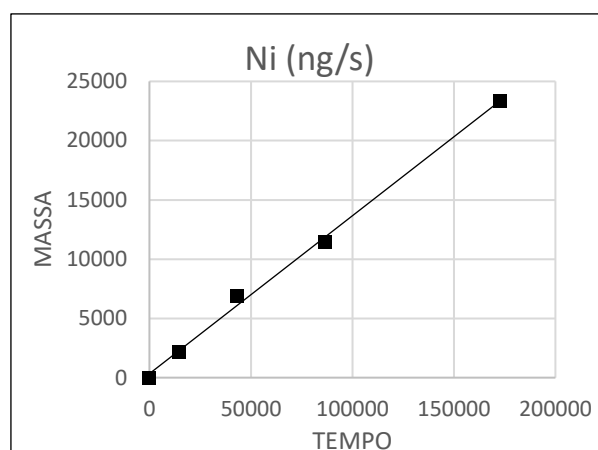
$$R^2 = 0,9949$$

Figura 8 - Curva de imersão para Cobalto

Fonte: elaborado pelo autor.

$$Y = 0,1401x + 127,31$$

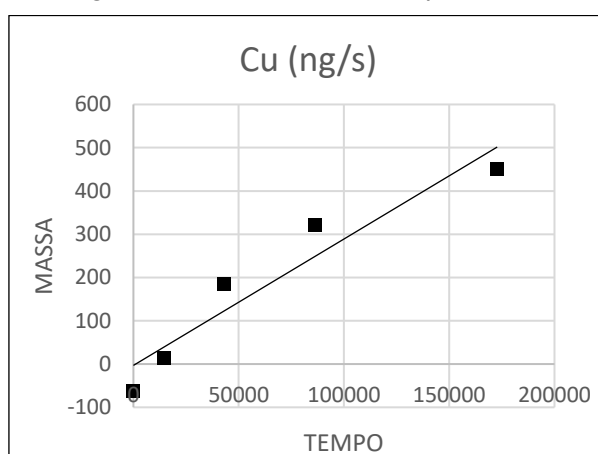
$$R^2 = 0,9964$$

Figura 9 - Curva de imersão para Níquel.

Fonte: elaborado pelo autor.

$$Y = 0,1333x + 335,22$$

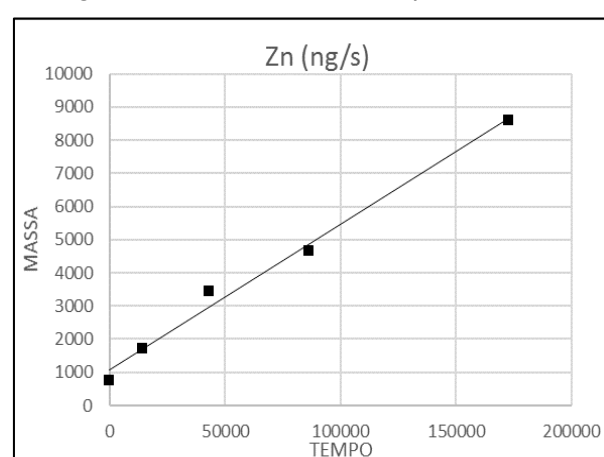
$$R^2 = 0,9974$$

Figura 10 - Curva de imersão para Cobre.

Fonte: elaborado pelo autor.

$$Y = 0,0029x - 3,1858$$

$$R^2 = 0,9137$$

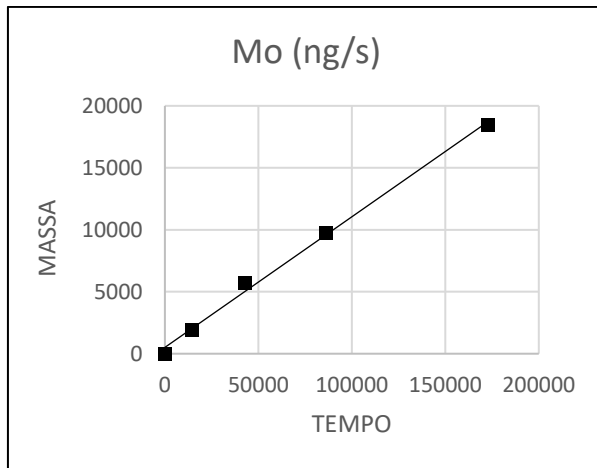
Figura 11 - Curva de imersão para Zinco.

Fonte: elaborado pelo autor.

$$Y = 0,0155x + 119,64$$

$$R^2 = 0,932$$

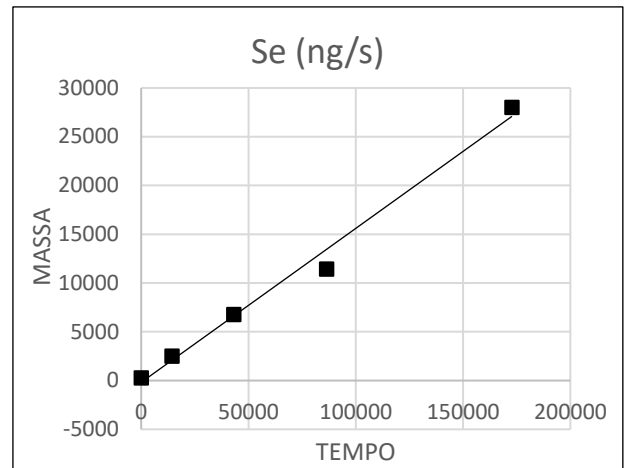
A seguir, são apresentadas as curvas de imersão referentes ao experimento de 48 horas para Mo, Se, As, P, Sb, V, e Cr, respectivamente nas figuras 12 - 18 obtidas com os discos de ZrO_2 .

Figura 12 - Curva de imersão para Molibdênio.

Fonte: elaborado pelo autor.

$$Y = 0,1054x + 510$$

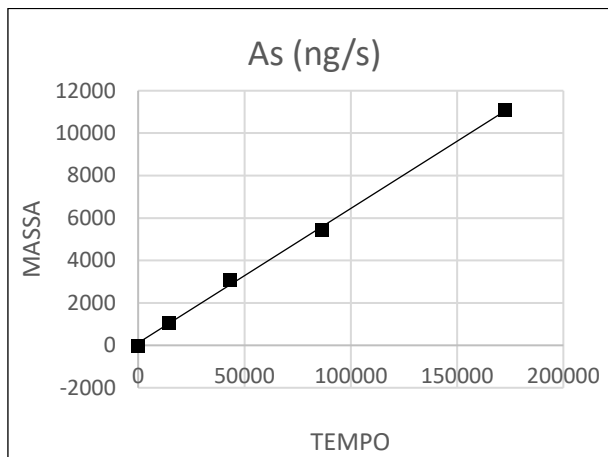
$$R^2 = 0,9963$$

Figura 13 - Curva de imersão para Selênio.

Fonte: elaborado pelo autor.

$$Y = 0,1578x - 183,68$$

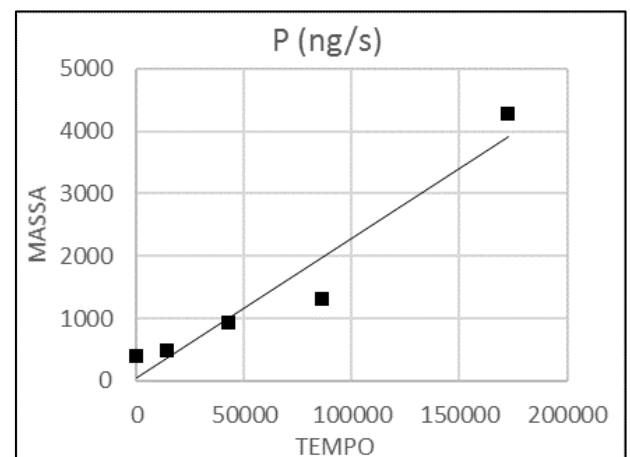
$$R^2 = 0,9892$$

Figura 14 - Curva de imersão para Arsênio.

Fonte: elaborado pelo autor.

$$Y = 0,0634x + 113,35$$

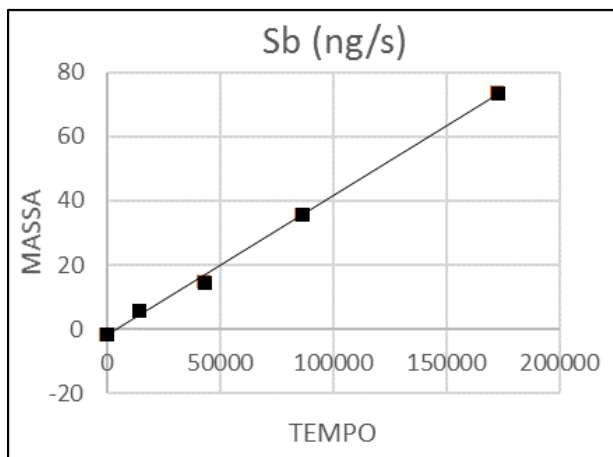
$$R^2 = 0,9988$$

Figura 15 - Curva de imersão para Fósforo.

Fonte: elaborado pelo autor.

$$Y = 0,0223x + 61,405$$

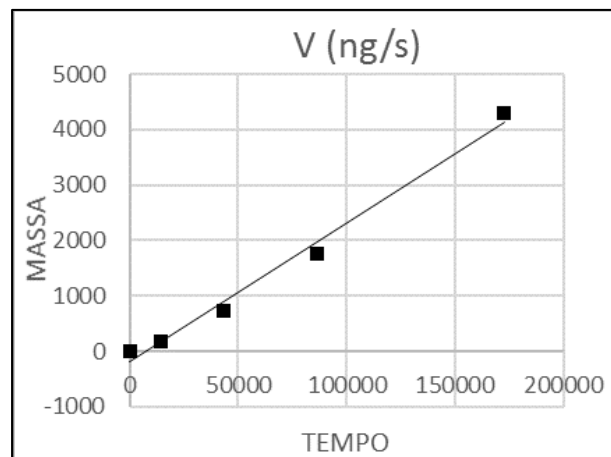
$$R^2 = 0,9301$$

Figura 16 - Curva de imersão para Antimônio.

Fonte: elaborado pelo autor.

$$Y = 0,0004x - 2,1388$$

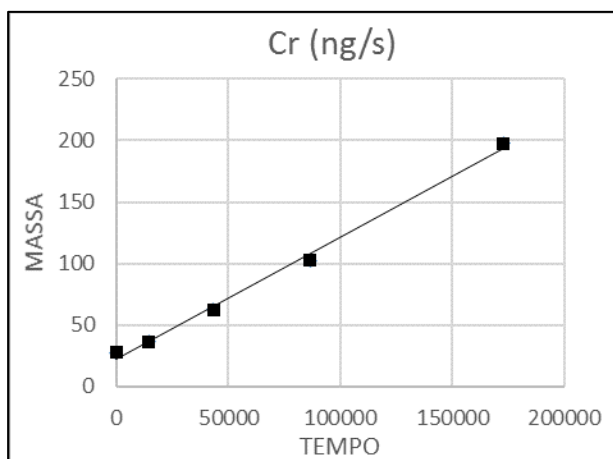
$$R^2 = 0,9981$$

Figura 17 - Curva de imersão para Vanádio.

Fonte: elaborado pelo autor.

$$Y = 0,0251x - 200,81$$

$$R^2 = 0,989$$

Figura 18 - Curva de imersão para Cromo.

Fonte: elaborado pelo autor.

$$Y = 0,001x + 22,488$$

$$R^2 = 0,9957$$

Evidencia-se a linearidade nas curvas de imersão para a maioria dos elementos (Zn, Co, Ni, Cd, Mn, Pb, Cu, Cr, Mo, Sb, Se, As e V). Os resultados confirmam o princípio da lei de Fick, validando o desempenho da técnica DGT pelo período de 48 horas para a maioria dos elementos.

Constata-se que para Al, não houve retenção linear pelo agente ligante Chelex-100. Para melhor compreensão, foi realizada a especiação de Al na solução de imersão. A modelagem das espécies de Al foi realizada pelo programa CHEAQS-Pro (Chemical Equilibria in Aquatic Systems, (versão P9006.1)), Verweij (1999).

A modelagem seguiu os parâmetros físicos e químicos da solução, conforme mencionado, uma solução de 4 litros com os respectivos analitos, pH em 6,5 e força iônica de $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Realizado a modelagem, para Al constatou-se uma variedade de espécies catiônicas, aniônicas e neutras, distribuídas respectivamente: $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ com percentual de 4,93% e concentração de $3,001 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$; $\text{Al}(\text{OH})^3$ com percentual de 5,13% e concentração de $3,805 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$; $\text{Al}(\text{OH})_4^-$ com percentual de 19,89% e concentração de $1,212 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; e $\text{Al}_{13}\text{O}_4(\text{OH})_{24}^{7+}$ com percentual de 69,45% e concentração de $2,648 \cdot 10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$. Portanto, para os géis com a resina Chelex-100, justifica a falta de linearidade na curva em decorrência de espécies de Al não lábeis, sendo elas poliméricas ou inertes.

5.2 Coeficiente de Difusão e Fator de Eluição

Apresenta-se na tabela 1 os fatores de eluição (FE) calculados para todos os elementos traços do processo de eluição. Esse fator corresponde uma fração da quantidade do analito que foi eluído do disco, visto que o procedimento não recupera 100% do analito. Zhang *et al.* (1995), reportou fatores de eluição para uma variedade de elementos catiônicos. O autor utilizou 2 mol.L^{-1} de HNO_3 para eluição dos discos ligantes, obtendo recuperações no entorno de 80%. O menor valor reportado foi para Fe, sendo de 70% de recuperação. Desse modo, para o presente estudo, adotaremos como critério de aprovação o fator de eluição superior a 50%. Valores inferiores irão requerer ajustes ou novos métodos de eluição respectivos aos sorventes utilizados nos discos ligantes.

Concomitantemente, são apresentados os coeficientes de difusão da literatura e os coeficientes de difusão reais para 25°C . Os coeficientes de difusão reais foram calculados através do experimento de imersão por 48 horas e, em seguida, corrigidos com os fatores de eluição.

Tabela 1 - Coeficientes de Difusão Calculados para 25°C corrigidos com o Fator de Eluição.

Elemento	Fator de Eluição (%)	Coeficiente de Difusão em $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ (encontrado)	Coeficiente de Difusão em $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ (Literatura) ^a
Cd	67,01%	$7,7781 \cdot 10^{-6}$	$6,38 \pm 0,09 \cdot 10^{-6}$
Mn	83,92%	$6,6672 \cdot 10^{-6}$	$5,91 \pm 0,11 \cdot 10^{-6}$
Co	80,27%	$6,8509 \cdot 10^{-6}$	$6,53 \pm 0,08 \cdot 10^{-6}$
Ni	81,91%	$6,8738 \cdot 10^{-6}$	$6,54 \pm 0,18 \cdot 10^{-6}$
Cu	39,79%	$3,8881 \cdot 10^{-7}$	$6,59 \pm 0,12 \cdot 10^{-6}$
Zn	57,19%	$7,1376 \cdot 10^{-6}$	$6,89 \pm 0,43 \cdot 10^{-6}$
Mo	83,50%	$6,1186 \cdot 10^{-6}$	$6,90 \pm 0,31 \cdot 10^{-6}$
Se	72,21%	$1,0390 \cdot 10^{-5}$	$6,75 \pm 0,17 \cdot 10^{-6}$
V	42,72%	$6,8440 \cdot 10^{-6}$	$8,64 \pm 0,21 \cdot 10^{-6}$
As	41,26%	$7,5995 \cdot 10^{-6}$	$6,56 \pm 0,12 \cdot 10^{-6}$
P	169,94%	$2,7084 \cdot 10^{-6}$	$6,86 \pm 0,03 \cdot 10^{-6}$
Pb	19,98%	$2,1597 \cdot 10^{-5}$	$8,41 \pm 0,15 \cdot 10^{-6}$
Sb	1,81%	$2,4690 \cdot 10^{-6}$	$6,69 \pm 0,26 \cdot 10^{-6}$
Cr	2,08%	$1,3546 \cdot 10^{-5}$	$7,95 \pm 0,32 \cdot 10^{-6}$

a-(Wang. Y et al. (2016))

Fonte: elaborado pelo autor.

Os coeficientes de difusão reais a 25°C do Cd, Mn, Co, Ni, Zn, Mo, V e As quando comparados com os coeficientes de difusão da literatura, Wang (2016), apresentaram concordância, visto que a diferença dos coeficientes, real e encontrados na literatura, evidenciaram uma variação inferior $\pm 2,00.10^{-06}$. Desse modo, revelando a eficiência da agarose como meio difusivo e como meio imobilizante do agente ligante.

Os fatores de eluição do Cu e Pb, 39,79% e 19,98% respectivamente, apresentam valores inferiores a 50% de recuperação. Esse comportamento é justificado pela alta seletividade da resina Chelex-100 pelo Cu e Pb, reportada no manual, Bio-Rad (2000, p.2). Dessa forma, justificando a dificuldade ($FE < 0,50$) de eluição dos analitos.

A linearidade na curva de imersão durante 48 horas foi comprovada para Pb e Cu. Entretanto, o coeficiente de difusão do Pb foi superior e Cu inferior quando comparado com a literatura. Esse efeito se atribui a diferença dos lotes das agaroses utilizadas nos experimentos.

Para P verificou-se a linearidade na curva de imersão, porém seu coeficiente de difusão foi inferior ao da literatura. Essa diferença é justificada pelo erro é atribuído a imprecisão na determinação do analito em ICP-OES pela diluição excessiva das amostras e do elevado limite de detecção. Esse erro influenciou no cálculo do fator de eluição e, conseqüentemente, no cálculo do coeficiente de difusão.

Foram obtidos fatores de eluição pouco efetivos para Cr e Sb, 2,08% e 1,81% respectivamente. Sugestionando uma ineficácia no processo de eluição. Ainda para Cr, Sb e Se, foram obtidas curvas de imersão lineares, porém, quando comparado com a literatura, evidencia-se que os coeficientes de difusão obtidos para Cr e Se foram superiores, e moderadamente inferior para Sb. Esse efeito se atribui novamente a diferença dos lotes das agaroses utilizadas nos experimentos.

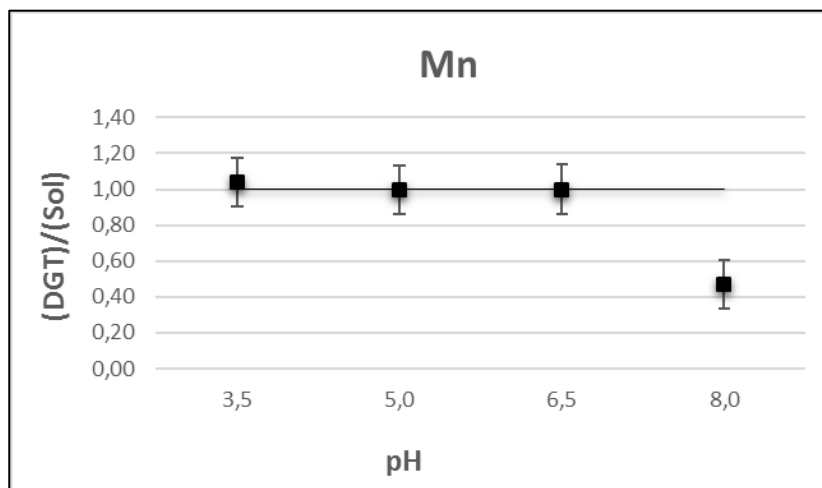
5.3 Curva de pH e Força Iônica

5.3.1 Efeito do pH na capacidade de ligação da Chelex-100

A seguir, são apresentadas as razões entre as concentrações de Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Cd e Pb, nas figuras 19 - 25, medidas usando a técnica DGT e com soluções em

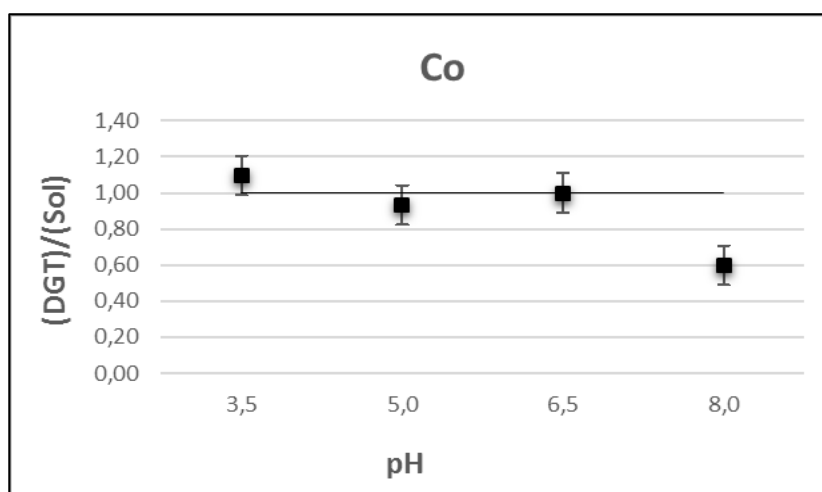
diferentes pHs (Força iônica de $0,05 \text{ mol L}^{-1}$). Para uma melhor avaliação dos resultados, as razões foram normalizadas para o pH de 6,5.

Figura 19 – Efeito do pH na capacidade de retenção de Mn pela Chelex-100.



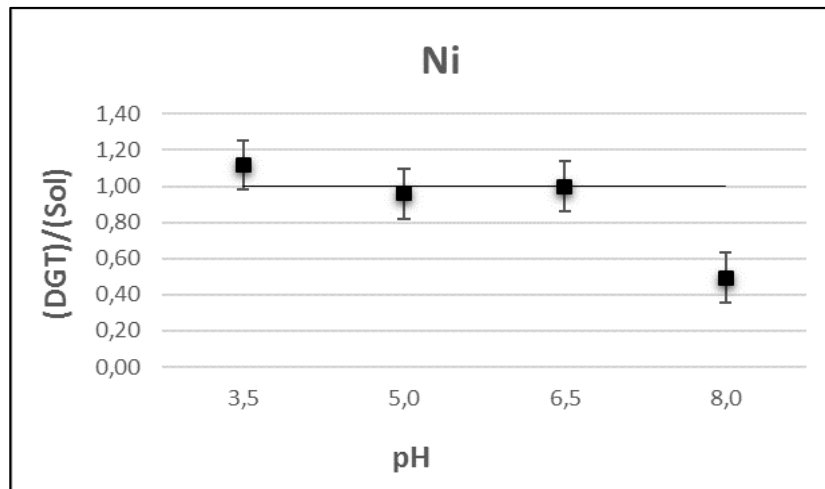
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 20 – Efeito do pH na capacidade de retenção de Co pela Chelex-100.



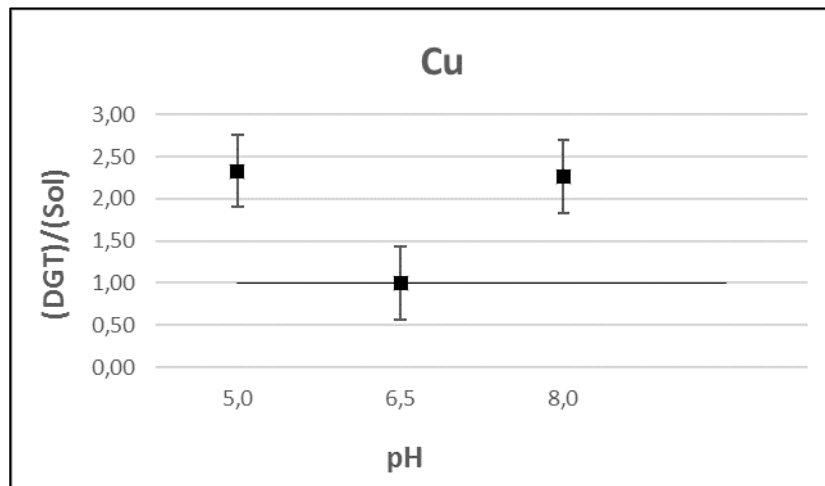
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 21 – Efeito do pH na capacidade de retenção de Ni pela Chelex-100.



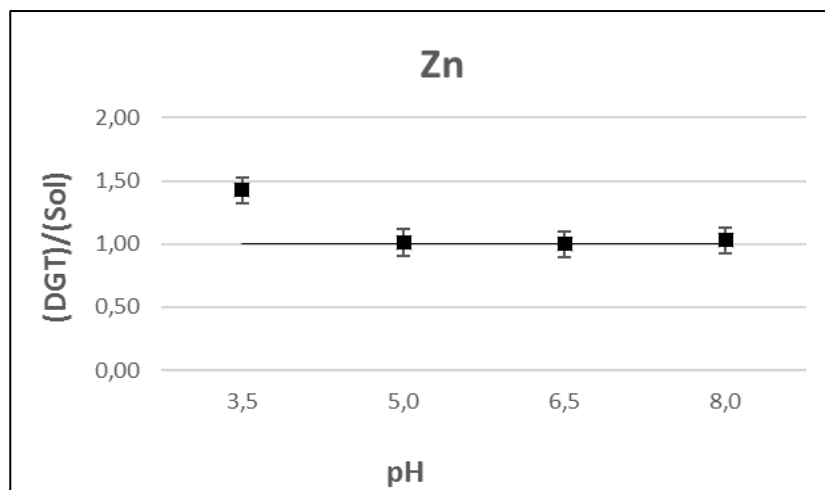
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 22 – Efeito do pH na capacidade de retenção de Cu pela Chelex-100.

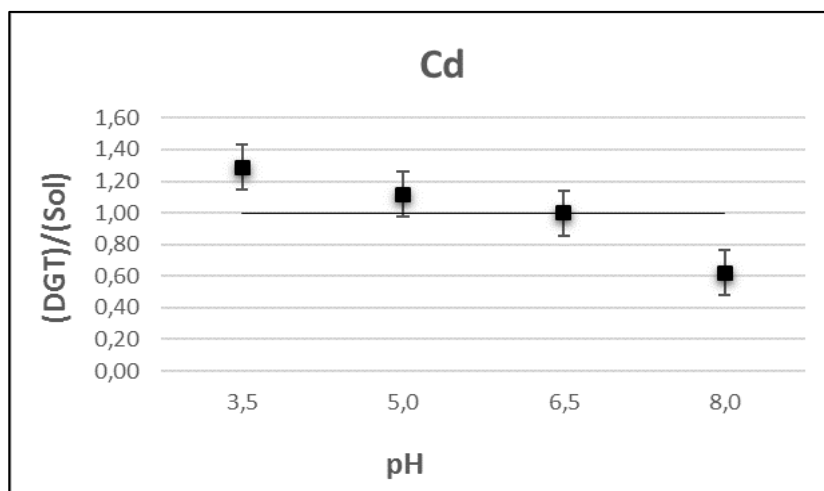


Fonte: elaborado pelo autor.

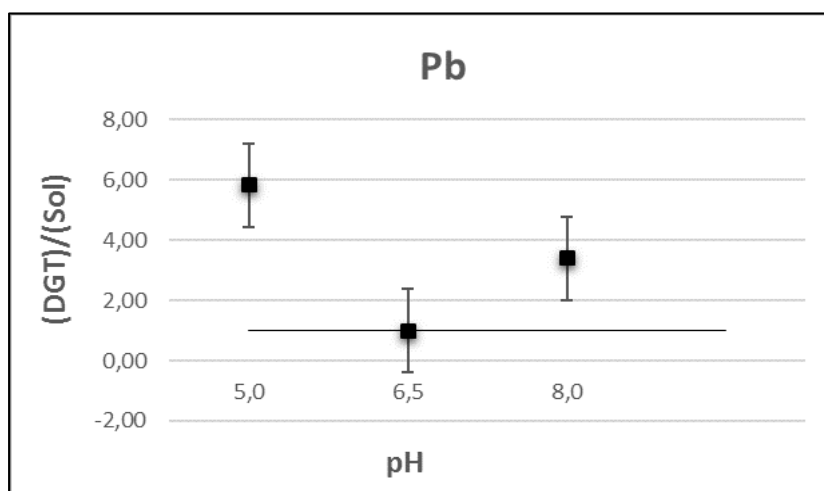
Figura 23 – Efeito do pH na capacidade de retenção de Zn pela Chelex-100.



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 24 – Efeito do pH na capacidade de retenção de Cd pela Chelex-100.

Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 25 – Efeito do pH na capacidade de retenção de Pb pela Chelex-100.

Fonte: elaborado pelo autor.

Avaliando os gráficos apresentados do efeito do pH na capacidade de ligação da Chelex-100, nota-se que para Mn, Co, Ni e Cd houve um comportamento similar na capacidade de retenção. Na solução de pH 8,0, verificou-se uma queda na capacidade de retenção, apresentando uma diferença de valores muito expressiva, inferior a 60%. Foi observada uma diferença pouco significativa dos valores para as outras soluções (pHs de 3,5; 5,0; e 6,5), com uma diferença de valores inferiores a 15%. Com exceção de Cd, que apresentou uma diferença entre valores inferior a 30% na solução com pH de 3,5, um pouco superior aos outros elementos. Para Zn foi observado um comportamento distinto dos outros elementos, uma pequena influência do pH na capacidade de retenção da Chelex-100, com uma diferença entre os valores inferior a

3%. Com exceção do pH 3,5, o qual apresentou uma diferença muito expressiva, com a diferença dos valores inferior a 45%.

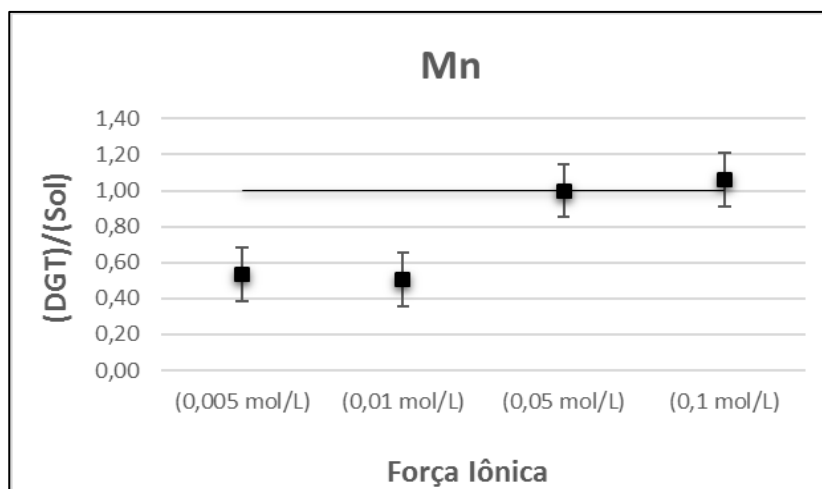
Comparando os resultados com a literatura, Wang (2016), verifica-se uma divergência entre o comportamento dos analitos com a variação dos valores de pH. Na literatura, reporta que os valores da razão da massa retida no gel se comportam em uma relação direta com o aumento dos valores de pH. Há uma relação inversa dos resultados obtidos, apresentando uma queda dos valores da razão da massa retida com pH 8,0. Possivelmente, esse comportamento se deve a presença de uma fração de espécies inertes dos analitos em solução, não havendo a retenção pela resina. O efeito também pode estar relacionado à seletividade da resina Chelex-100.

Para Cu e Pb, os valores obtidos nos pontos referentes ao pH de 3,5 foram retirados dos gráficos para possibilitar uma visualização mais detalhada dos outros pontos (pH 5,0 – 6,5 – 8,0). Os valores retirados eram dezenas de vezes superiores aos outros, e se mantidos, aumentariam a escala do eixo das ordenadas (DGT/Sol), o que ocasionaria a perda de detalhe na visualização gráfica. Esse efeito está possivelmente vinculado à uma contaminação pontual das amostras. Desse modo, considerando somente os pontos de pH 5,0, 6,5 e 8,0, nota-se uma divergência expressiva de valores, estando até 2 vezes superior ao valor normatizado. Também não é evidenciado um padrão no comportamento dos analitos, estando em discordância com a literatura, Wang (2016). Essa divergência exacerbada de valores da razão da massa retida obtida nos experimentos para Cu e Pb pode estar relacionada com as espécies presentes no padrão multi-elementar e da dinâmica de seletividade da resina Chelex-100.

5.3.2 Efeito da Força Iônica na capacidade de ligação da Chelex-100

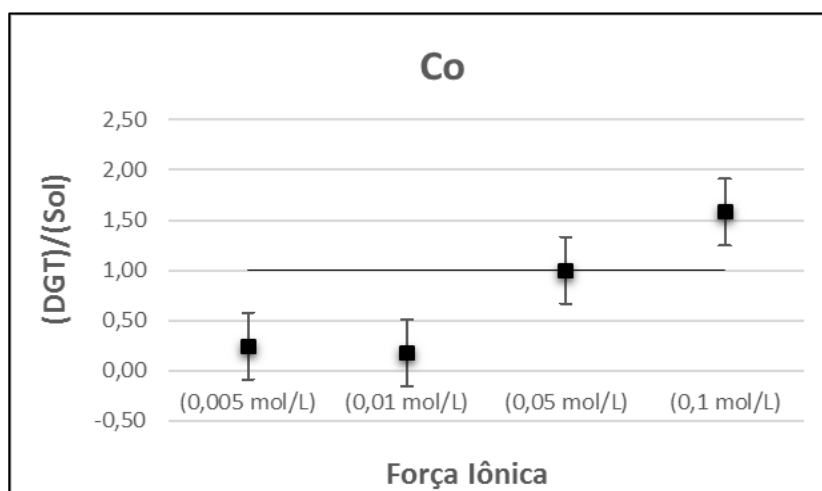
A seguir, são apresentadas as razões entre as concentrações de Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Cd e Pb, nas figuras 26 - 32, medidas usando a técnica DGT e com soluções em diferentes valores de força iônica (pH de 5,5). Para uma melhor avaliação dos resultados, as razões foram normatizadas para a FI de 0,05 mol L⁻¹.

Figura 26 – Efeito da FI na capacidade de retenção de Mn pela Chelex-100.



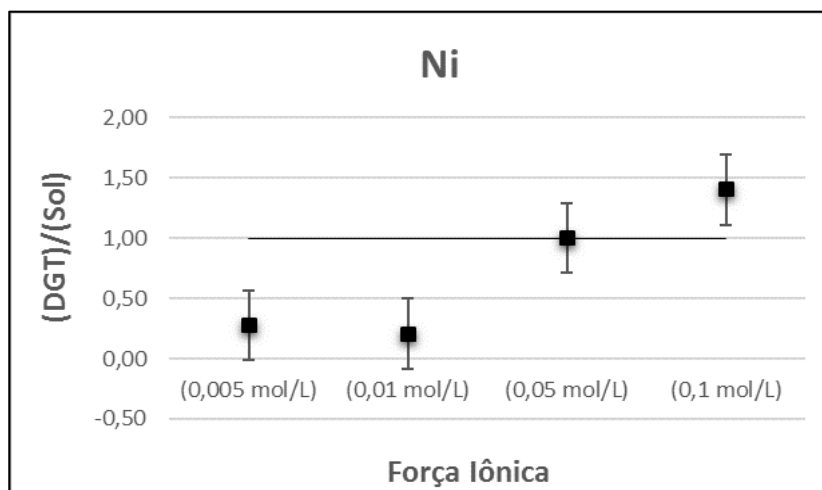
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 27 – Efeito da FI na capacidade de retenção de Co pela Chelex-100.



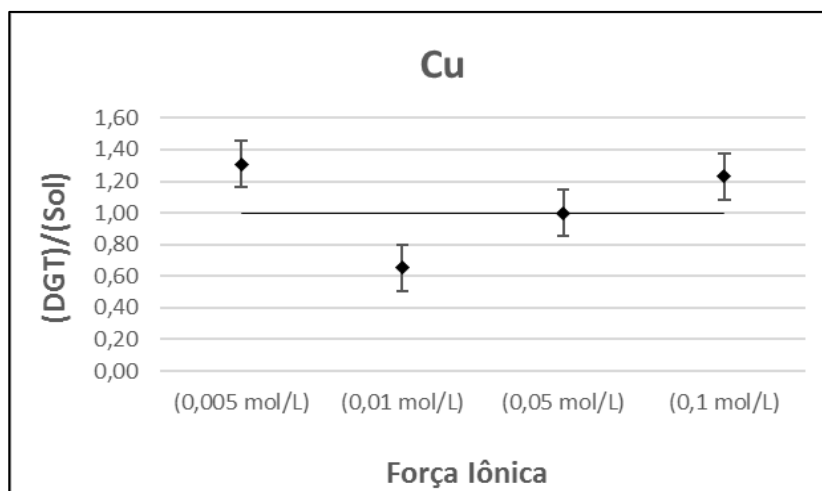
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 28 – Efeito da FI na capacidade de retenção de Ni pela Chelex-100.



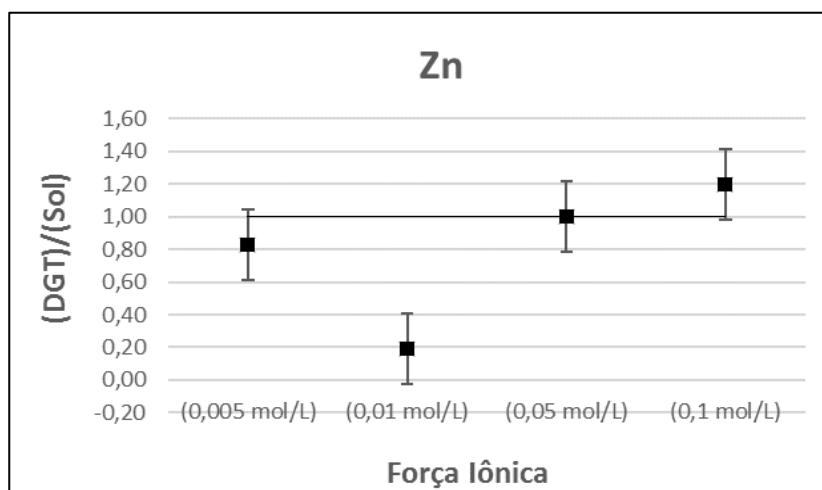
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 29 – Efeito da FI na capacidade de retenção de Cu pela Chelex-100.



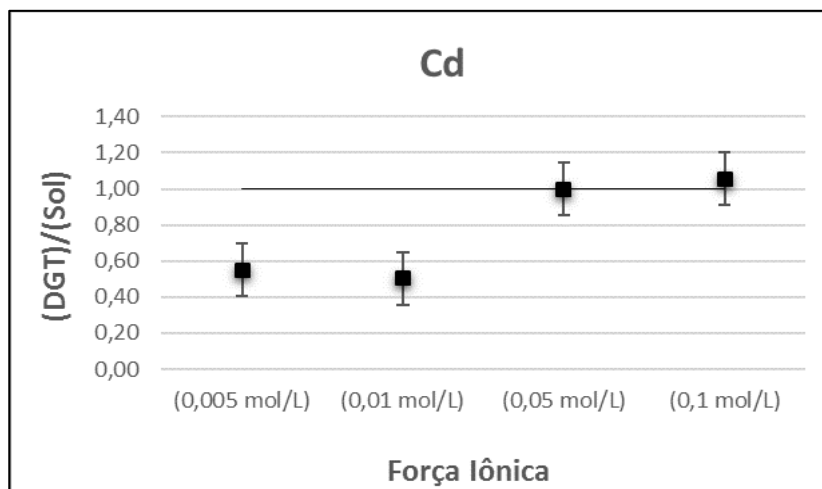
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 30 – Efeito da FI na capacidade de retenção de Zn pela Chelex-100.



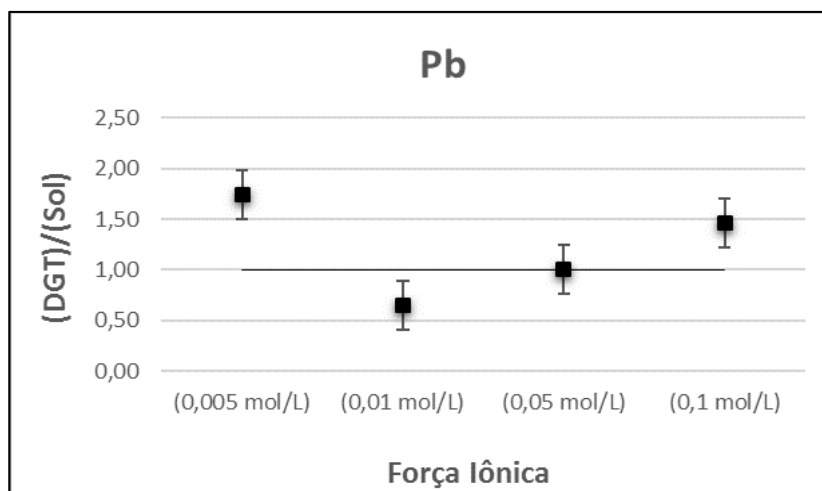
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 31 – Efeito da FI na capacidade de retenção de Cd pela Chelex-100.



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 32 – Efeito da FI na capacidade de retenção de Pb pela Chelex-100.



Fonte: elaborado pelo autor.

Através dos gráficos apresentados do efeito da Força Iônica, verificou-se que para Cd, Zn e Mn, houve uma queda expressiva, em até 50% na capacidade de retenção em relação a valor normalizado para os valores de força iônica de 0,005 e 0,01 mol.L⁻¹. Destacou-se também o ponto de 0,01 mol.L⁻¹ para Zn, que apresentou uma queda extrema em até 80% em relação ao valor normalizado.

Para os valores de força iônica de 0,05 e 0,1 mol.L⁻¹ verificou-se uma boa capacidade de ligação em função da pequena diferença em relação ao valor normalizado, estando inferior a 15%. Somente para Ni e Co foi observada uma relação direta entre o aumento da força iônica e da capacidade de ligação da Chelex-100. Para os menores valores de força iônica, 0,005 e 0,01 mol.L⁻¹, foi observada uma diferença exacerbada em relação ao valor normalizado, estando inferior em até 80%. E para os maiores valores de força iônica, 0,05 e 0,1 mol.L⁻¹, houve uma diferença entre os valores em até 60%, estando superior em relação ao valor normalizado.

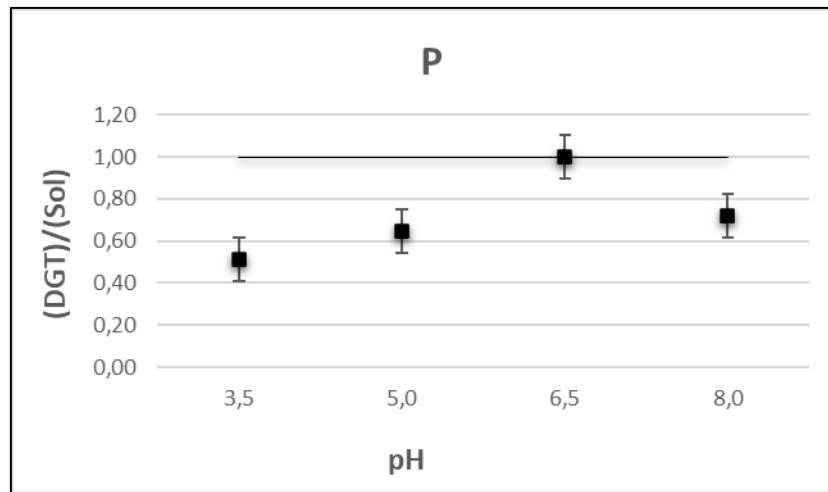
Comparando os resultados com a literatura, Wang (2016), observou-se que os analitos se comportaram de forma oposta ao aumento dos valores de força iônica. De acordo com os resultados reportados no artigo, nota-se uma tendência decrescente da razão da massa até o valor de FI de 0,002 mol.L⁻¹, onde se estabiliza. Nos resultados obtidos, verificou-se uma tendência de crescimento e estabilização em até 0,05 mol.L⁻¹. Desse modo, é definido o valor de 0,05 mol.L⁻¹ como FI mínimo para aplicação da técnica. Salienta-se que o agente difusivo e os filtros utilizados nos experimentos coincidem com a metodologia abordada.

O Cu e Pb apresentaram um comportamento semelhante. No ponto com menor valor de força iônica ($0,005 \text{ mol.L}^{-1}$) a diferença dos valores em relação ao valor normalizado foi expressiva, estando superior em 70% e 30%, respectivamente para Pb e Cu. Para o valor de FI de $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$ foi observada uma diferença significativa, sendo inferior em até 40% em relação ao valor normalizado. Também para FI de $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ foi observada uma diferença notória, estando superior, respectivamente para Pb e Cu, em até 45% e 25% em relação ao valor normalizado.

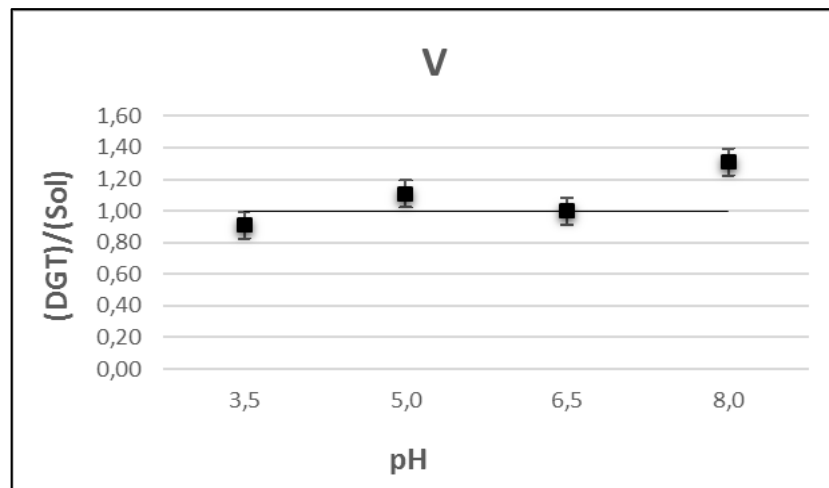
Os resultados da razão da massa dos analitos para os menores valores de força iônica ($0,005$ e $0,01 \text{ mol L}^{-1}$), que estão majoritariamente inferiores aos valores normalizados, podem estar associados a efeitos de condicionamento e lavagem dos géis difusivos. Como consta no artigo de Warnken (2005), a lavagem dos discos difusivos (agarose com acrilamida) para amostragem em soluções com valores de força iônica de $0,0001$ e $0,001 \text{ mol L}^{-1}$ contribuem para uma maior acurácia dos resultados. O mesmo procedimento aplicado para valores inferiores de FI ($0,1 \text{ mmol L}^{-1}$) ocasiona a perda de acurácia nos resultados, obtendo valores 50% inferiores aos valores normalizados. Portanto, a lavagem dos discos de agarose antes da confecção dos dispositivos DGT podem contribuir para uma maior acurácia para amostragem na faixa de FI do presente estudo. Outro método que contribuiria para acurácia dos resultados seria o acondicionamento dos discos difusivos após confecção em soluções com Força Iônica correspondente à da solução de amostragem.

5.3.3 Efeito do pH na capacidade de ligação do ZrO_2

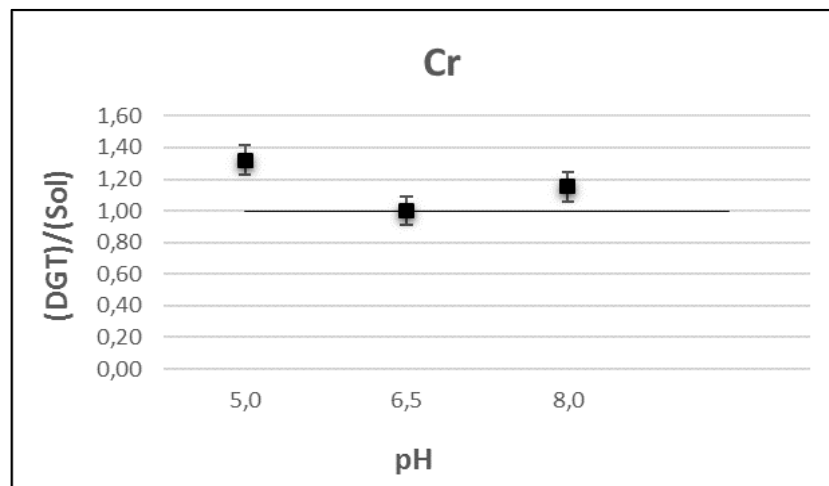
A seguir, são apresentadas as razões entre as concentrações de P, V, Cr, As, Se e Mo, nas figuras 33 - 38, medidas usando a técnica DGT com ZrO_2 como agente ligante e com soluções em diferentes pHs (força iônica de $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$). Para uma melhor avaliação dos resultados, as razões foram normalizadas para o pH de 6,5.

Figura 33 – Efeito do pH na capacidade de retenção de P pelo ZrO_2 .

Fonte: elaborado pelo autor.

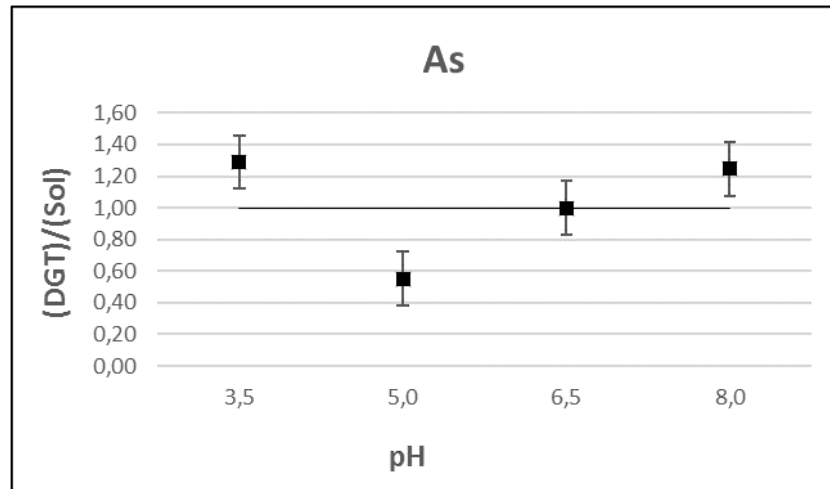
Figura 34 – Efeito do pH na capacidade de retenção de V pelo ZrO_2 .

Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 35 – Efeito do pH na capacidade de retenção de Cr pelo ZrO_2 .

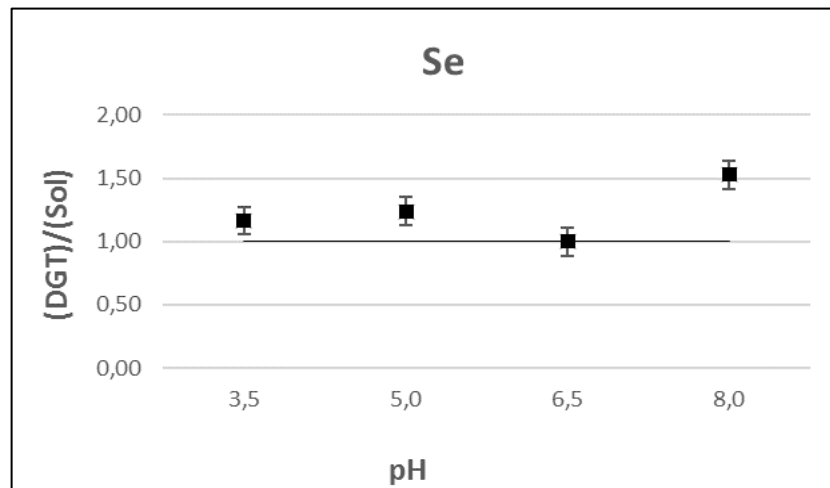
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 36 – Efeito do pH na capacidade de retenção de As pelo ZrO_2 .

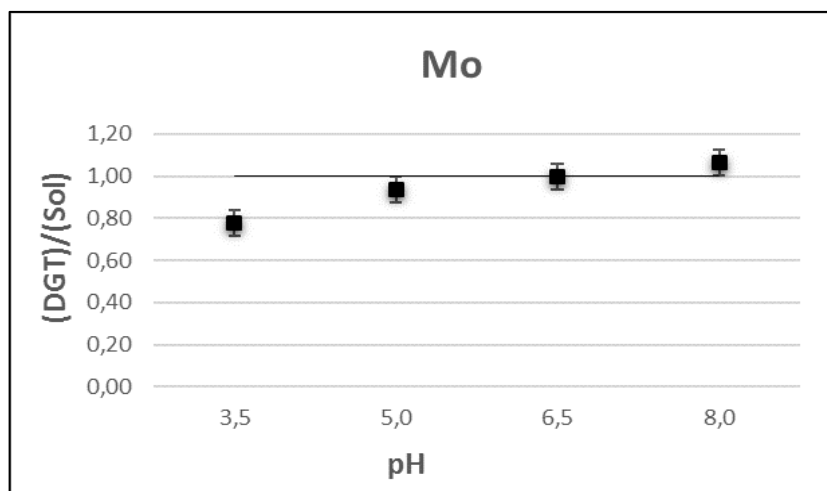


Fonte: elaborado pelo autor

Figura 37 – Efeito do pH na capacidade de retenção de Se pelo ZrO_2 .



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 38 – Efeito do pH na capacidade de retenção de Mo pelo ZrO_2 .

Fonte: elaborado pelo autor.

Avaliando os gráficos apresentados, observa-se um sutil efeito do pH na capacidade de ligação do ZrO_2 para a maioria dos elementos. Para V, Cr, As, Mo e Se, observou-se um comportamento com uma leve influência do pH na retenção, verificada pela pequena diferença dos valores em relação ao valor normalizado, estando inferior a 20%. Para Cr, o valor obtido no ponto referente ao pH 3,5 foi retirado do gráfico para preservar a visualização dos resultados (pH 5,0 - 6,5 - 8,0), visto que o ponto retirado apresentava um valor dezenas de vezes superior aos outros. Esse efeito se deve a uma contaminação das amostras e/ou materiais, ocasionando essa deformação no eixo DGT/Sol. Para P, também foi verificada uma sutil influência do pH na retenção. Somente com exceção para o ponto de pH 3,5, que apresentou uma diferença expressiva em relação ao valor normatizado, estando inferior em 60%.

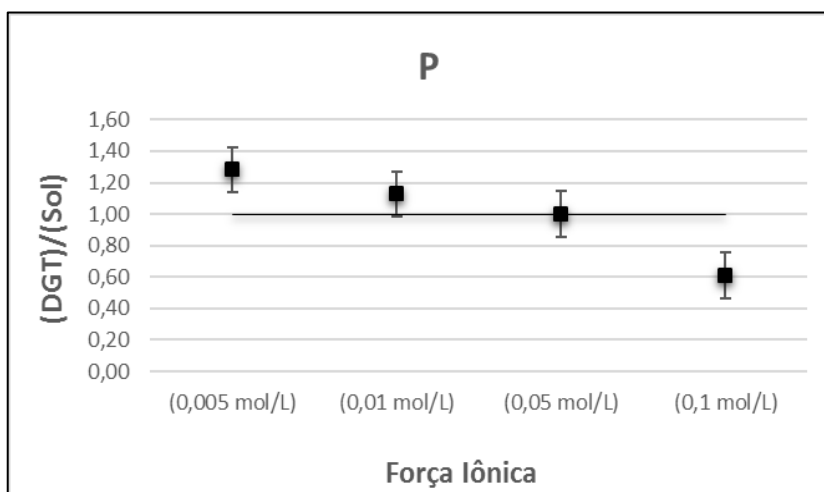
Comparando os resultados com a literatura de Wang (2016), verifica-se uma conformidade entre o comportamento dos analitos perante a variação dos valores de pH, com exceção para P. Na literatura, os valores da razão da massa retida no gel ligante se mantêm constantes durante toda a faixa de pH do presente estudo, apresentando uma variação máxima nos valores de até 10%. Somente no ponto de pH 10 foi verificada uma queda dos valores de massa retida. Portanto, pode se afirmar que os resultados obtidos nos experimentos para o gel ligante de ZrO_2 imobilizado em agarose se encontram em consonância com a literatura ao apresentar uma variação em até 30% para V, Cr, Se, Mo e As. Porém, como mencionado anteriormente, o P apresentou uma variação de 60%, estando em discordância com a literatura. Efeito

possivelmente relacionado as espécies de P que se formaram em solução de pH mais básico.

5.3.4 Efeito da Força Iônica na capacidade de ligação do ZrO_2

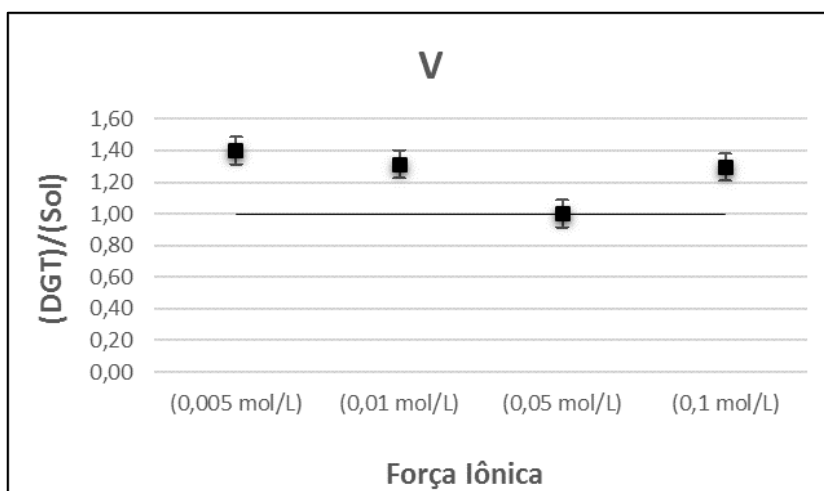
A seguir, são apresentadas as razões entre as concentrações de P, V, Cr, As, Se e Mo, nas figuras 39 - 44, medidas usando a técnica DGT com ZrO_2 como agente ligante e com soluções em diferentes valores de força iônica (pH 5,5). Para uma melhor avaliação dos resultados, as razões foram normalizadas para a FI de 0,05 mol.L⁻¹.

Figura 39 – Efeito da FI na capacidade de retenção de P pelo ZrO_2 .

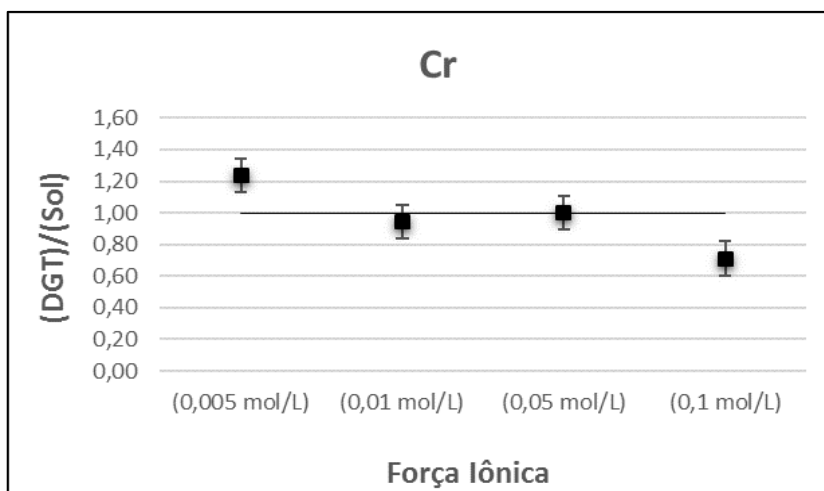


Fonte: elaborado pelo autor.

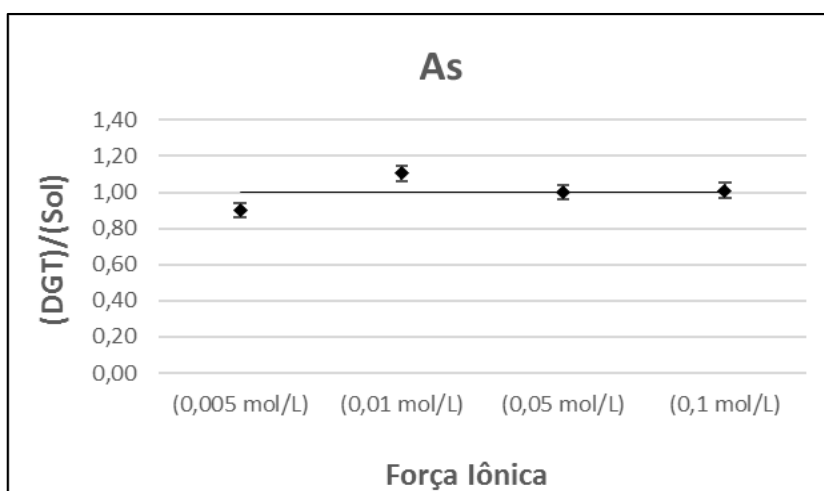
Figura 40 – Efeito da FI na capacidade de retenção de V pelo ZrO_2 .



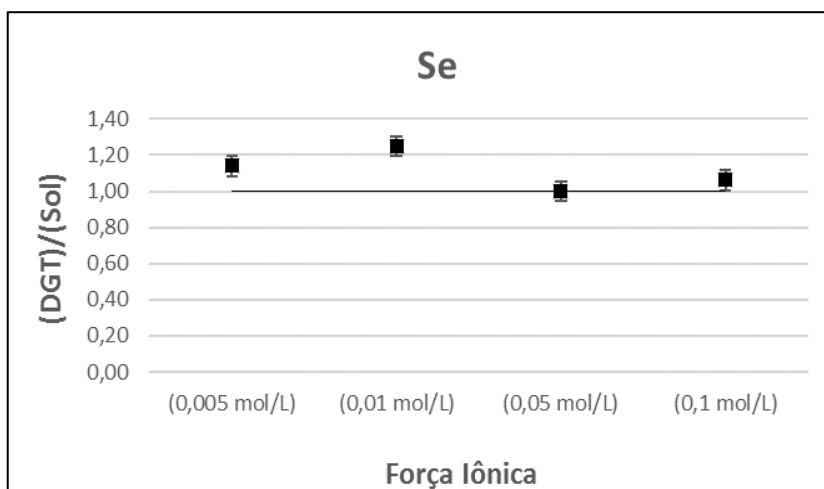
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 41 – Efeito da FI na capacidade de retenção de Cr pelo ZrO_2 .

Fonte: elaborado pelo autor.

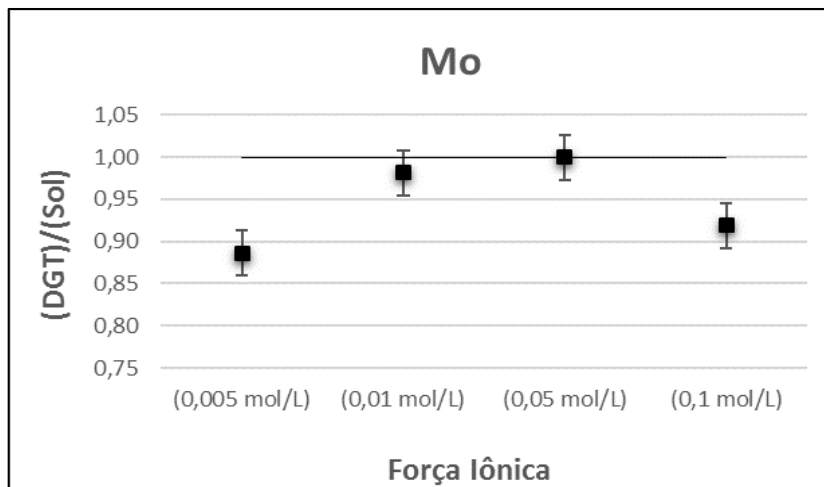
Figura 42 – Efeito da FI na capacidade de retenção de As pelo ZrO_2 .

Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 43 – Efeito da FI na capacidade de retenção de Se pelo ZrO_2 .

Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 44 – Efeito da FI na capacidade de retenção de Mo pelo ZrO₂.



Fonte: elaborado pelo autor.

Avaliando os gráficos apresentados, observa-se uma interferência pouco significativa da Força Iônica na capacidade de ligação do ZrO₂. P e V foram os analitos que apresentaram maior variação, apresentando uma variação inferior a 30% em relação ao valor normalizado. Nota-se que para P, há uma pequena redução na diferença dos valores com o aumento do valor da força iônica. Para Cr e Se, verificou-se uma diferença inferior a 20% para todos os valores de FI. E para Mo e As, obteve-se a menor variação, apresentando uma diferença de valores em relação ao normalizado inferior a 10%.

Quando comparados os resultados com a literatura, Wang (2016), observa-se uma conformidade no comportamento da capacidade de retenção com crescimento dos valores de Força Iônica, com exceção para P. Os resultados para V, Cr, Se, Mo e As, apresentaram uma variação nos valores de massa em até 10%. Essa variação corresponde aos dados reportados na literatura. Entretanto, para P, o comportamento observado a partir dos dados obtidos com o crescimento dos valores de força iônica é o oposto aos dados reportados na literatura. De acordo com os dados reportados no artigo, observa-se a linearidade dos valores da razão da massa para todos os valores de força iônica. Desse modo, conclui-se que a força iônica entre 0,0001 e 0,75 mol.L⁻¹ não afeta a capacidade de migração e retenção do analito. Apesar de os resultados obtidos apresentarem um declínio dos valores da razão da massa, a variação ainda se encontra em um limite aceitável para aplicação da metodologia, estando inferior em até 30%. Para P, a variação dos valores da razão da massa para

os diferentes valores de força iônica ainda pode ser utilizada como parâmetro para condicionamento do coeficiente de difusão. Desse modo, sendo um parâmetro para correção e possibilitando a amostragem para faixa de força iônica de 0,005 a 0,1 mol L⁻¹.

6 Conclusão

Pode-se aferir que a metodologia da técnica DGT com gel difusivo de agarose e gel ligante com Chelex-100 ou ZrO_2 imobilizada em agarose está validada para maioria dos elementos (Zn, Co, Ni, Cd, Mn, Mo, Se, As, V), pelo período de 48 horas. Estes apresentam os respectivos coeficientes de difusão de cada analito, fator de eluição, e para alguns elementos em específico, parâmetros de correção do coeficiente de difusão em diferentes propriedades físico-químicas de solução.

Os coeficientes de difusão reais a 25 °C do Cd, Mn, Co, Ni, Zn, Mo, V e As quando comparados com a literatura apresentaram concordância. Para Cu e Pb foram obtidos baixos valores de recuperação (<50%), justificado pela alta seletividade da resina Chelex-100 para estes elementos. Para P concluiu-se que, ao apresentar um coeficiente de difusão inferior ao da literatura, a diferença se deve à imprecisão na determinação do analito em ICP-OES em função da excessiva diluição das amostras e o elevado limite de detecção. Porém, o coeficiente de difusão obtido ainda é aplicável a metodologia. Para Cr e Sb foi obtido um fator de eluição pouco efetivo, sugestionando uma ineficácia no processo de eluição deste analito. E para Cr e Se, foram obtidos coeficientes de difusão superiores quando comparados com o da literatura, vide na tabela 1. Esse efeito se atribui a diferentes lotes de agarose usados nos experimentos.

Através dos resultados obtidos, conclui-se que a capacidade de aplicação do método é validada em uma faixa de pH de pH de 3,5 a 8,0 para V, As, Se e Mo utilizando ZrO_2 e Zn para Chelex-100; E da faixa de 3,5 a 6,5 para Mn, Co, Ni e Cd utilizando Chelex-100 e Cr para ZrO_2 . Em especial para P, a metodologia é validada somente para faixa de pH de 5,0 a 8,0, utilizando ZrO_2 .

Portanto, vale ressaltar que para Mn, Co, Ni, Cd, Cr e P, apresentaram uma expressiva variação nos valores para os diferentes pHs, em sua maioria no ponto de pH 8,0 (exceto P), limitando a aplicação da metodologia ao uso de coeficientes de difusão aparente. Desse modo, utilizando os resultados como um parâmetro para correção do coeficiente de difusão, possibilitando a amostragem em toda faixa de pH (3,5 a 8,0).

Também se conclui que a capacidade de aplicação do método é validada em uma faixa de força iônica de 0,005 a 0,1 mol L⁻¹ para P, V, Cr, As, Se e Mo utilizando ZrO_2 . E da faixa de 0,05 a 0,1 mol L⁻¹ para Cd, Zn, Mn, Ni e Co utilizando Chelex-100.

Para Cd, Zn, Mn, Ni e Co, como mencionado anteriormente, limita-se a aplicação da metodologia ao uso de coeficientes de difusão aparentes para os pontos de força iônica de 0,005 e 0,01 mol L⁻¹. Atribuindo-se como um parâmetro aplicável para correção dos coeficientes de difusão dos analitos, possibilitando a amostragem em toda faixa de força iônica (0,005 a 0,1 mol L⁻¹).

Para Cu, Pb e Al, não foi evidenciada uma reprodutibilidade nos resultados para aplicação do método através do gel ligante utilizando Chelex-100 como sorvente. E não obteve uma reprodutibilidade nos resultados para Sb utilizando ZrO₂ como sorvente no gel ligante. Desse modo, é verificada sob respectivas circunstâncias a aplicação da técnica para V, As, Mo, P, Se e Cr utilizando ZrO₂ e Zn, Mn, Co, Ni e Cd utilizando Chelex-100.

7 Referências Bibliográficas

ARNOTT, Struther et al. The agarose double helix and its function in agarose gel structure. *Journal of molecular biology*, v. 90, n. 2, p. 269-284, 1974.

BAATAR, Undrakh-Od. Development of a novel DGT binding layer for simultaneous measurements of anions and cations. *na*, 2008.

BIO-RAD, L. Chelex®-100 and Chelex®-20 Chelating Ion Exchange Resin Instruction Manual. Bio-Rad Laboratories, 2000.

BUFFLE, Jacques; HORVAI, George. In situ monitoring of aquatic systems. *Chemical analysis and speciation*, 2000.

COLAÇO, Camila Destro et al. Coeficientes de difusão de metais em materiais não convencionais (agarose e acetato de celulose) usados na técnica de difusão em filmes finos por gradientes de concentração. *Química Nova*, p. 1360-1364, 2012.

DAVISON, William; ZHANG, Hao. Progress in understanding the use of diffusive gradients in thin films (DGT)–back to basics. *Environmental Chemistry*, v. 9, n. 1, p. 1-13, 2012.

DESAULTY, Anne-Marie; LACH, Philippe; PERRET, Sébastien. Rapid determination of lead isotopes in water by coupling DGT passive samplers and MC-ICP-MS laser ablation. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2020.

DGT® Research. Background and Theory of DGT. Disponível em: <https://www.dgtresearch.com/background-and-theory-of-dgt/> Acesso em: 19 de fevereiro de 2023.

DGT® Research. About DGT. Disponível em: <https://www.dgtresearch.com/about-dgt/> Acesso em: 19 de fevereiro de 2023.

DING, Shiming et al. Measurement of dissolved reactive phosphorus using the diffusive gradients in thin films technique with a high-capacity binding phase. *Environmental science & technology*, v. 44, n. 21, p. 8169-8174, 2010.

DING, Shiming et al. . Simultaneous measurements of eight oxyanions using high-capacity diffusive gradients in thin films (Zr-oxide DGT) with a high-efficiency elution procedure. *Environmental science & technology*, v. 50, n. 14, p. 7572-7580, 2016.

EISMANN, Carlos Eduardo. Avaliação in situ da biogeodisponibilidade de metais em área de mineração usando as técnicas de peixes transplantados e DGT. 2017.

GARMO, Øyvind Aaberg et al. Performance study of diffusive gradients in thin films for 55 elements. *Analytical chemistry*, v.75, n14, p.3573-3580, 2003.

GAO, Lei et al. Remobilization mechanism and release characteristics of phosphorus in saline sediments from the Pearl River Estuary (PRE), South China, based on high-resolution measurements. *Science of The Total Environment*, v. 703, p. 134411, 2020.

LUKO, Karen Silva et al. . In situ determination of V (V) by diffusive gradients in thin films and inductively coupled plasma mass spectrometry techniques using amberlite IRA-410 resin as a binding layer. *Analytica chimica acta*, v. 950, p. 32-40, 2017.

REN, Mingyi et al. A new DGT technique comprising a hybrid sensor for the simultaneous high resolution 2-D imaging of sulfides, metallic cations, oxyanions and dissolved oxygen. *Journal of Hazardous Materials*, v. 403, p. 123597, 2021.

ROUGERIE, Juliette et al. Diffusive gradients in thin films (DGT): A suitable tool for metals/metalloids monitoring in continental waterbodies at the large network scale. *Science of The Total Environment*, v. 754, p. 142147, 2021.

TURNER, G. S. C.;BRUNETT J.L.; AMOS, S.; Fones G. R. Evaluation of diffusive gradients on thin-films using a Diphonix® resin for monitoring dissolved uranium in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, Netherlandsm, v.854, p.78-85, 2015.

UMBRÍA-SALINAS, Karelys et al. Copper ecological risk assessment using DGT technique and PNEC: A case study in the Brazilian coast. *Journal of Hazardous Materials*, v. 403, p. 123918, 2021.

VERWEIJ, W.; CHEAQS, PRO. A program for calculating chemical equilibria in aquatic systems. 1999.

WANG, Yan et al. Diffusion characteristics of agarose hydrogel used in diffusive gradients in thin films for measurements of cations and anions. *Analytica chimica acta*, v. 945, p. 47-56, 2016.

WARNKEN, Kent W.; ZHANG, Hao; DAVISON, William. Trace metal measurements in low ionic strength synthetic solutions by diffusive gradients in thin films. *Analytical chemistry*, v. 77, n. 17, p. 5440-5446, 2005.

YABUKI, Lauren NM et al. Residual biomass of coffee as a binding agent in diffusive gradients in thin-films technique for Cd, Cu, Ni, Pb and Zn measurement in waters. *Talanta*, v. 205, p. 120148, 2019.

ZHANG, Hao; DAVISON, William. 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, Hao; DAVISON, William. Direct in situ measurements of labile inorganic and organically bound metal species in synthetic solutions and natural waters using diffusive gradients in thin films. *Analytical chemistry*, v. 72, n. 18, p. 4447-4457, 2000.

ZHAO, Jiujiang; CORNETT, R. J.; CHAKRABARTI, C. L. Assessing the uranium DGT-available fraction in model solutions. *Journal of hazardous materials*, v. 384, p. 121134, 2020.