

Trabalho de Formatura

Curso de Graduação em ENGENHARIA AMBIENTAL

**AVALIAÇÃO DA MEMBRANA P 81 COMO AGENTE LIGANTE DA TÉCNICA
DE DIFUSÃO EM FILMES FINOS POR GRADIENTE DE CONCENTRAÇÃO
(DGT) PARA DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO EM SISTEMAS AQUÁTICOS**

Luiz Augusto Zaffalon

Rio Claro (SP)
2011

LUIZ AUGUSTO ZAFFALON

**AVALIAÇÃO DA MEMBRANA P 81 COMO AGENTE
LIGANTE DA TÉCNICA DE DIFUSÃO EM FILMES
FINOS POR GRADIENTE DE CONCENTRAÇÃO (DGT)
PARA DETERMINAÇÃO DE MERCÚRIO EM
SISTEMAS AQUÁTICOS**

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

Orientador: Prof. Dr. Amauri Antonio Menegário

Rio Claro (SP)
2011

577.14 Zaffalon, Luiz Augusto
Z18a Avaliação da membrana P 81 como agente ligante da
técnica de difusão em filmes finos por gradiente de
concentração para determinação de mercúrio em sistemas
aquáticos. / Luiz Augusto Zaffalon. - Rio Claro : [s.n.], 2011
46 f. : il., figs., tabs., fots., mapas

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

1. Química ambiental. 2. DGT. I. Título.

LUIZ AUGUSTO ZAFFALON

**AVALIAÇÃO DA MEMBRANA P 81 COMO AGENTE LIGANTE
DA TÉCNICA DE DIFUSÃO EM FILMES FINOS POR GRADIENTE
DE CONCENTRAÇÃO (DGT) PARA DETERMINAÇÃO DE
MERCÚRIO EM SISTEMAS AQUÁTICOS**

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

Comissão Examinadora
Prof. Dr. Amauri Antonio Menegário
Prof. Dr. Roberto Naves Domingos
Eng^a. Camila Destro Colaço

Rio Claro, 22 de novembro de 2011.

assinatura do(a) aluno(a)

assinatura do(a) orientador(a)

Dedico este trabalho a duas pessoas, Luiz Fernando e Rosemary, que em nenhum momento mediram esforços para realização dos meus sonhos. A eles devo a pessoa que me tornei, sou muito feliz e tenho muito orgulho por chamá-los de pai e mãe.
AMO VOCÊS!

AGRADECIMENTOS:

Agradeço primeiramente a Deus, que sempre me acompanha e ilumina todos os passos de minha vida.

Aos meus pais Luiz Fernando e Rosemary, pelo amor e carinho que eles têm por mim, que sempre me apoiaram e incentivaram em tudo que fiz em minha vida.

Aos meus irmãos Junior e Fernando, pelo amor, companheirismo e por sempre acreditarem em mim.

À minha querida avó Rosinha, pela sua preocupação, amor e carinho. Amo você!

À minha tia Rosa, pela atenção e carinho que tem por mim.

A todos os meus familiares, que sempre estiveram comigo nos momentos difíceis, me dando força para conseguir vencer, como também nas conquistas, comemorando e vibrando junto comigo. Muito obrigado!

Ao meu orientador Prof. Amauri Antonio Menegário, pela oportunidade de realização deste trabalho.

À Engenheira Ambiental Camila Destro Colaço, pela amizade e paciência. Sua colaboração na realização dos experimentos e das análises foi fundamental para a confecção deste trabalho. Sou muito grato a você!

Ao Prof. Roberto Naves Domingos, pela amizade, pelos ensinamentos, pela pessoa prestativa que é, sempre disposta em ajudar e também pela oportunidade de realizar meu primeiro estágio no Centro de Estudos Ambientais.

Aos amigos Centro de Estudos Ambientais, Francisca Assis Mattioli Gonçalves, Eleni Nadai Malagutti, Amanda Lodovico de Alcantra, Alex Fernando de Almeida, Dr Carlos Alfredo Suarez, Ana Marta C. M. Rolisola e Lauren N. M. Yabuki , pela amizade, pelos conselhos e ensinamentos transmitidos.

A todos meus amigos de infância pela amizade, pelos momentos e por fazerem parte de minha história.

A todos meus amigos unespianos, em especial da turma EA 2007, pela amizade e pelos momentos inesquecíveis que passamos juntos durante esses cinco anos de faculdade.

A todos os professores que tive até hoje, pois seus ensinamentos foram fundamentais para minha formação.

Enfim, agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

A degradação ambiental ao nível mundial é um subproduto indesejável do aumento pela demanda por recursos naturais da civilização moderna. Os recursos hídricos estão sofrendo intensa contaminação já que são o destino para a grande quantidade de efluentes domésticos e industriais, despejados na maioria das vezes sem o tratamento adequado, disponibilizando nesse compartimento ambiental, uma infinidade de poluentes, entre eles os metais pesados. O mercúrio é um metal de grande importância do ponto de vista toxicológico, pois, no ambiente aquático, sob determinadas condições físico-químicas, o íon Hg (II) se transforma em compostos metilados desse elemento, como o metilmercúrio CH_3Hg , que é muito tóxico para a comunidade aquática, na qual sofre bioacumulação. Atualmente, técnicas de amostragem passivas estão sendo desenvolvidas para viabilizar os procedimentos analíticos aplicados ao monitoramento ambiental. A técnica de difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT) tem se mostrado uma ferramenta interessante na determinação das espécies lábeis de metais, devido a sua aplicação *in situ*. A técnica DGT consiste em um dispositivo em forma de pistão sobre o qual é disposta a seguinte série de agentes: agente ligante (convencionalmente resina Chelex 100), agente difusivo, geralmente um gel de poliacrilamida e encerrando uma membrana filtrante. Porém os agentes convencionais utilizados na técnica não apresentam resultados satisfatórios na amostragem do mercúrio. O objetivo principal do trabalho foi avaliar a membrana de celulose tratada com fosfato (Whatman P 81), um material alternativo, como agente ligante da DGT para determinação da fração lábil do mercúrio em sistemas aquáticos. Nesse contexto, foi estudado o comportamento desse material em relação às variáveis do sistema, pH e força iônica. Posteriormente foram realizadas imersões dos dispositivos DGT em amostra real enriquecida e *in situ*, visando à determinação do mercúrio.

Palavras chaves: mercúrio, técnica de difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT), membrana de celulose tratada com fosfato.

ABSTRACT

Worldwide environmental degradation is an undesirable byproduct resulting from the increasing demand for natural resources. Water sources are suffering intense contamination since they usually receive a huge amount of domestic and industrial effluents - which are mostly wasted without proper treatment - inserting a large number of pollutants in the environment, heavy metals included. Mercury holds great toxicological importance because, under some physicochemical conditions in a water environment, Hg (II) ion turns into methylated compounds stemming from this element, such as methylmercury CH₃Hg, which is highly toxic for the aquatic community in which bioaccumulation occurs. Nowadays passive sampling techniques are being developed to enable the analytical procedures which are applied in environmental monitoring. Diffusive gradients in thin-films technique (DGT) has been proven an interesting tool for the determination of labile metal species due to its *in situ* application. The DGT technique consists of a piston-like device on which the following series of agents is disposed: a binding agent (conventionally Chelex 100 resin), a diffusive agent, usually a polyacrylamide gel, and a membrane filter. Nevertheless, the agents conventionally used for this technique don't usually show satisfactory results in mercury sampling. The main goal of this study was to evaluate the phosphate-treated cellulose membrane (Whatman P 81), an alternative material, as binding agent in the DGT to determine labile mercury fractions in aquatic systems. In this context, we conducted a study of the behavior of this material in relation with system variables, pH and ionic strength. Afterwards we performed immersions of the DGT devices in real and enriched samples and *in situ* aiming the determination of mercury.

Keywords: mercury, diffusive gradients in thin-films technique (DGT), phosphate-treated cellulose membrane.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo biogeoquímico do mercúrio.	17
Figura 2: Marcos no desenvolvimento de técnicas passivas de amostragem.	19
Figura 3: Foto e perfil esquemático de um dispositivo DGT	20
Figura 4: Representação gráfica da concentração de íons metálicos no interior de um hidrogel em contato com a solução.....	22
Figura 5: Foto dos dispositivos DGT montados.....	27
Figura 6: Tubos Falcon com membranas P 81 em agitação	29
Figura 7: Amostra do ribeirão Claro.....	32
Figura 8. Localização do ribeirão Claro na bacia do rio Corumbataí.....	34
Figura 9. Localização do ponto de imersão.	35
Figura 10: Foto apontando os dispositivos DGT imersos no ribeirão Claro.	35
Figura 11: Curva de imersão do mercúrio	37
Figura 12: Efeito do pH. Média $\pm$ sd.	38
Figura 13: Efeito da força iônica. Média $\pm$ sd.	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Fator de eluição das membranas P 81 e fator de eluição médio $\pm$ Sd.	36
Tabela 2: Massas retidas (ng) e respectivos intervalos de tempo de imersão (s).	37
Tabela 3: Características da amostra de água do ribeirão Claro.....	40
Tabela 4: Concentrações de Hg ($\mu\text{g L}^{-1}$) determinadas diretamente por AFS-CV (Hg total) e pela técnica DGT. Media $\pm$ sd	40
Tabela 5: Características da água do ribeirão Claro.	41
Tabela 6: Concentrações de Hg ($\mu\text{g L}^{-1}$) total e dissolvida determinadas diretamente por AFS-CV e pela técnica DGT nas imersões in situ. Media $\pm$ sd	41

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo geral	15
2.2	Objetivos específicos	15
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1	Contaminação do meio ambiente e o mercúrio	16
3.2	Técnicas passivas de amostragem aplicadas ao monitoramento de poluentes nas águas.....	18
3.3	A técnica de difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT).....	19
3.4	Princípio da técnica de difusão em filmes finos por gradiente de concentração	20
3.5	Coeficiente de difusão do mercúrio em agarose	22
3.6	Aplicação da membrana P 81 com a técnica DGT para determinação de metais.....	23
3.7	Uso da técnica DGT em estudos envolvendo Hg	23
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4.1	Equipamentos e acessórios	25
4.2	Reagentes e soluções	25
4.3	Procedimentos em laboratório	25
4.3.1	Preparo do gel difusivo de agarose 1,5% mV	25
4.3.2	Preparo do agente ligante	26
4.3.3	Preparo da membrana filtrante de acetato de celulose	26
4.3.4	Procedimento de montagem dos dispositivos da DGT.....	26
4.3.5	Procedimento para o cálculo do fator de eluição (f_e) da P 81	27
4.3.6	Procedimento de imersão para o cálculo do coeficiente de difusão do Hg em agarose.....	29
4.3.7	Procedimento de imersões em diferentes valores de pH	30
4.3.8	Procedimento de imersões em diferentes forças iônicas	30
4.3.9	Procedimento de imersão em amostra real enriquecida (“Spike”).....	31
4.3.10	Determinações utilizando a técnica DGT	32
4.4	Imersão <i>in situ</i> e coleta de amostras	32
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1	Fator de eluição da membrana P 81 para o mercúrio	36
5.2	Coeficiente de difusão do mercúrio em agarose 1,5%.....	36

5.3	Efeito do pH.....	37
5.4	Efeito da Força Iônica.....	39
5.5	Determinação do Hg (II) na amostra real enriquecida.....	40
5.6	Determinação da fração lábil do Hg no ribeirão Claro (<i>in situ</i>)	41
6	CONCLUSÃO.....	43
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
8	BIBLIOGRAFIAS CONSULTADAS	46

1 INTRODUÇÃO

O aumento da produção industrial e agrícola, ligada ao desenvolvimento tecnológico, para atender a necessidade crescente de bens de consumo de uma população em expansão resultou em um aumento da taxa de transferência de elementos entre os diferentes compartimentos que compõem o planeta. A contaminação e deterioração dos recursos naturais, principalmente os recursos hídricos, está relacionada aqueles processos de transferência, já que em muitos locais os rios ainda são o destino para os efluentes domésticos e industriais, e muitas vezes para o lixo urbano. (LACERDA e MALM, 2008).

Os metais pesados são substâncias altamente tóxicas e na maioria das vezes, os processos físicos e biológicos aplicados ao tratamento de efluentes não são capazes de remover esses elementos. O descarte de efluentes industriais contendo esses metais não deve ser realizado em rede pública para o tratamento em conjunto com o esgoto doméstico. Além dos efluentes industriais, efluentes de mineradoras e das lavouras são importantes fontes de poluição por metais pesados.

O mercúrio, cujo símbolo químico é Hg, é um elemento que ocorre naturalmente no ambiente, podendo adquirir várias formas decorrentes dos seus três estados iônicos: Hg^0 ; Hg^+ e Hg^{++} . O metilmercúrio (CH_3Hg) e o dimetilmercúrio ($(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$), são compostos desse metal e possuem a capacidade de serem bioacumulados e biomagnificados na cadeia trófica, o que lhes confere grande importância do ponto de vista toxicológico (HERRMANN, 2008; BAIRD, 2002; CLARRISSE e HINTELMANN, 2006)

A ocorrência do mercúrio na natureza está ligada tanto fontes naturais quanto a atividades antrópicas. A desgaseificação da crosta terrestre, as emissões vulcânicas e evaporação natural de corpos aquáticos correspondem às principais fontes naturais. Emissões procedentes de grandes operações industriais, atividades mineradoras de ouro e prata, a combustão de carvão e óleo combustível e a incineração de lixo municipal são consideradas fontes antropogênicas do metal mercúrio (AZEVEDO e CHASIN, 2003).

Assim como todo elemento, o mercúrio possui um ciclo biogeoquímico constituído principalmente por dois ciclos de distribuição: um global, influenciado pelas fontes naturais do mercúrio para o ambiente; e um mais local relacionado principalmente com as fontes antropogênicas desse elemento, os quais fazem com que ele esteja presente na atmosfera, biosfera e litosfera. Porém, é no ambiente aquático que esse elemento encontra condições físico-químicas para se transformar em compostos orgânicos, os quais são preocupantes do ponto de vista ambiental.

A interconversão, metilação/desmetilação, realizadas por microrganismos nos sistemas aquáticos pode estabelecer-se em um sistema ecologicamente dinâmico produzindo concentrações equilibradas do metal e suas formas metiladas no ambiente. Contudo o aporte adicional do mercúrio em decorrência de atividades antropogênicas pode desfazer tal equilíbrio (AZEVEDO e CHASIN, 2003).

A formação do dimetilmercúrio, $\text{Hg}(\text{CH}_3)_2$, que ocorre nos sedimentos de rios e lagos é realizada por bactérias, as quais convertem os íons Hg^{2+} em $\text{Hg}(\text{CH}_3)_2$ em condições anaeróbias. Em função de sua volatilidade este composto evapora-se da água rapidamente, a menos que seja transformado em outras formas monometílicas mistas menos voláteis, como o CH_3HgCl e CH_3HgOH chamados metilmercúrio (conjunto CH_3HgX). Em condições ácidas, a produção de metilmercúrio, que ocorre de maneira similar ao dimetilmercúrio, prevalece sobre este. O metilmercúrio é mais tóxico que os sais de Hg^{2+} uma vez que é solúvel no tecido gorduroso dos animais no qual ocorre a bioacumulação e biomagnificação (BAIRD, 2002).

O mercúrio é considerado um poluente de alto risco, sendo regulado pela US EPA (United States Environmental Protection Agency). A preocupação a respeito da poluição do mercúrio, surge dos efeitos à saúde decorrentes da exposição por mercúrio metilado (que é extremamente tóxico) encontrado na água e alimentos aquáticos. A concentração desse elemento nas águas dos rios normalmente é muito baixa, geralmente $< 0,2 \mu\text{g L}^{-1}$ ou até mesmo não detectáveis, ao passo que nos peixes que vivem nessas águas, a concentração pode ser de 100 a 100.000 vezes maiores, ou seja, de 20 a 20.000 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ (CASTRO, 2002).

No ambiente aquático, os metais pesados ocorrem sob diversas formas como: em solução na forma iônica (íon livre hidratado) ou na forma de complexos solúveis orgânicos e inorgânicos; formando ou ficando retidos a partículas coloidais minerais ou orgânicas; ficando retidos ao sedimento ou incorporados a biota. A biodisponibilidade, toxicidade e mobilidade dos íons metálicos estão diretamente ligados a sua especiação e não a concentração total ou dissolvida. O íon metálico livre e as espécies metálicas na solução são as formas de metal frequentemente acumuladas por organismos aquático.

Uma vez que a presença desses poluentes no ambiente passou a representar uma ameaça tanto para a saúde humana quanto para os ecossistemas em geral, programas de monitoramento ambiental estão sendo desenvolvidos para auxiliar a tomada de decisão por parte de órgãos ambientais responsáveis. Na maioria dos casos, nesses programas os procedimentos analíticos envolvem etapas de coleta de amostras, as quais podem alterar as condições reais do meio analisado.

Normas relacionadas com o monitoramento ambiental, como a Resolução CONAMA 357 de março de 2005, tem requisitado, com exceção a alguns elementos, a determinação da fração total dos metais. Embora importante, essas determinações não fornecem informações por completo, já que a biodisponibilidade de metais está relacionada com a espécie química encontrada no ambiente e não somente pela concentração total.

Nas últimas décadas, métodos passivos de amostragem têm-se mostrado uma alternativa interessante para determinar a concentração em solução de uma grande variedade de metais, já que a amostragem do analito é realizada *in situ*.

A técnica de difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT) tem sido desenvolvida por pesquisadores a fim de fornecer um método para determinação *in situ* de espécies metálicas lábeis em águas naturais. Uma vez que a fração lábil do metal é a considerada biodisponível para organismos aquáticos, a DGT passa a ser uma importante ferramenta para análises toxicológicas e ambientais. Assim como a análise *in situ*, a capacidade de pré-concentração do analito, o baixo risco de contaminação e a facilidade no manuseio são alguns dos diferenciais dessa técnica. (ZHANG e DAVISON, 1999)

A técnica DGT tem por base um amostrador passivo simples, que quando imerso em uma solução, permite a difusão controlada dos íons metálicos através de um meio poroso, que na maioria das vezes é um gel de poliacrilamida até um material ligante, que convencionalmente é a resina Chelex 100. Os íons metálicos são retidos no material ligante e posteriormente determinados em laboratório sob condições bem definidas.

Os materiais convencionalmente utilizados na técnica DGT, gel de acrilamida (ou compostos de poliacrilamida) como agente difusivo e a resina Chelex100 (que é imobilizada em um composto de acrilamida) como agente ligante não apresentaram resultados satisfatórios para a determinação de alguns elementos, como o mercúrio, uma vez que os íons Hg(II) se ligam covalentemente ao grupo amida desses géis, tornando-os inadequados para determinações do elemento mercúrio pela técnica DGT (DOCEKALOVÁ e DIVIS, 2004).

A partir da primeira publicação elucidando a aplicação da técnica de difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT) realizada por Zhang e Davison em 1994, uma infinidade de novos trabalhos estão sendo publicados, mas com o diferencial de envolverem novas abordagens como, por exemplo, utilização de novos agentes difusivos e ligantes, detecção da concentração de elementos traços em área estuarina e avaliação de riscos ambientais em emissário de rejeitos marinhos.

A membrana de celulose tratada com fosfato (Whatman P 81) tem sido avaliada recentemente como agente ligante alternativo da técnica DGT em alguns trabalhos. Li. et al.

(2000) investigou a capacidade de ligação da Whatman 81 com vários metais e concluiu que esta membrana faz ligação preferencialmente com metais de transição, não apresentando boa capacidade com metais alcalinos e alcalinos terrosos. Foram levantadas também algumas vantagens de se utilizar esse material como a simplicidade de sua preparação, facilidade no manuseio e capacidade de reutilização.

Neste trabalho, visando à determinação da fração lábil de mercúrio em sistemas aquáticos, dois materiais, o gel difusivo de agarose 1,5% e a membrana de celulose tratada com fosfato (Whatman P 81) foram avaliados como agentes difusivos e ligantes, respectivamente, para a DGT. Para a avaliação desses materiais, foram realizados alguns experimentos fundamentais como: cálculo do fator de eluição do mercúrio para membrana P 81; cálculo do coeficiente de difusão do mercúrio no gel de agarose 1,5%; imersão dos dispositivos em soluções-padrão de Hg (II) com diferentes pH e força iônica. Finalmente, foram realizadas determinações *in situ* e em amostra real enriquecida com Hg .

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo principal do trabalho foi avaliar a membrana de celulose tratada com fosfato (Whatman P 81) como agente ligante da técnica de difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT) para determinação da fração lábil do mercúrio em sistemas aquáticos.

2.2 Objetivos específicos

No contexto de avaliação da membrana P 81 como agente ligante da técnica DGT, estiveram envolvidos alguns experimentos básicos, visando a:

- Determinação do fator de eluição da membrana P 81 (agente ligante);
- Determinação do coeficiente de difusão do mercúrio em agarose 1,5% (agente difusivo);
- Avaliação o desempenho da membrana P 81 em diferentes valores de pH e força iônica.

Finalmente, objetivou-se a avaliar o desempenho do dispositivo desenvolvido para análise em laboratório de uma amostra real enriquecida com o analito e para a análise *in situ*.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Contaminação do meio ambiente e o mercúrio

A poluição ambiental é um fenômeno que está ocorrendo desde o surgimento das sociedades humanas, pois essas passaram a interferir no ambiente e gerar focos localizados de contaminação. A civilização moderna com sua demanda crescente por recursos naturais fez com que os níveis de poluição atingissem escalas globais, já que praticamente todos os ambientes do planeta encontram-se sob graus variados de contaminação. Exemplo é o que está ocorrendo no continente antártico, uma área que embora distante e praticamente livre da pressão humana, apresenta concentrações de contaminantes como mercúrio e chumbo acima de níveis esperados, possivelmente em virtude do transporte atmosférico.

Segundo Lacerda e Malm (2008), os poluentes que mais causam danos ambientais podem ser divididos em dois grupos. O primeiro corresponde a substâncias presentes nos efluentes de áreas urbanas, em especial aquelas associadas à disposição imprópria dos resíduos sólidos e ao tratamento inadequado dos esgotos sanitários. As principais substâncias nesse grupo são a matéria orgânica e os nutrientes como o nitrogênio e fósforo, responsáveis principalmente pela degradação dos ambientes aquáticos. O segundo grupo, composto por poluentes de origem industrial e da mineração, inclui substâncias tóxicas como os metais (como o mercúrio e o chumbo), gases do efeito estufa e poluentes orgânicos gerados pela queima do petróleo. Diferentemente dos elementos do primeiro grupo, cujo efeito é local ou, no máximo, regional, elementos do segundo grupo tem o poder de afetar o ambiente em escala global. Para os autores, embora os efeitos desses contaminantes sejam menos visíveis, eles são de difícil remediação, especialmente os metais, que não são degradados e acumulam-se progressivamente nos ecossistemas naturais. Alguns metais como o arsênio (As) e o mercúrio (Hg) são elementos capazes de apresentar espécies químicas estáveis em solução, o que pode resultar em uma acumulação na coluna d'água. O mercúrio é, dentre os metais aquele que apresenta maior toxicidade, uma vez que é capaz de sofrer bioacumulação em quase todas as cadeias alimentares.

O mercúrio dificilmente é encontrado como elemento livre na natureza, mas é amplamente distribuído pela crosta terrestre, porém em baixas concentrações. Uma das fontes mais importantes são as do minério cinábrio (HgS) localizado em rochas próximas a áreas de atividade vulcânica recente, em veios ou fraturas minerais e em locais de fontes de águas termais (AZEVEDO e CHASIN, 2003).

3.2 Técnicas passivas de amostragem aplicadas ao monitoramento de poluentes nas águas

O reconhecimento do perigo representado pela presença dos poluentes no meio ambiente nas últimas décadas levou muitos países do mundo todo a adotar legislações ambientais mais rígidas e a alterar processos tecnológicos altamente poluidores.

A Agência de Proteção Ambiental Americana (EPA) e a Directiva Quadro da Água da União Européia mencionaram uma série de substâncias tóxicas que são classificados como poluentes prioritários, como: compostos orgânicos (por exemplo, clorofenóis, pesticidas organoclorados, hidrocarbonetos, etc) e inorgânicos (por exemplo, metais pesados e compostos organometálicos). O monitoramento ambiental desses poluentes, através da amostragem e análise é de fundamental importância para a manutenção dos padrões de qualidade da água estabelecidos pelas legislações.

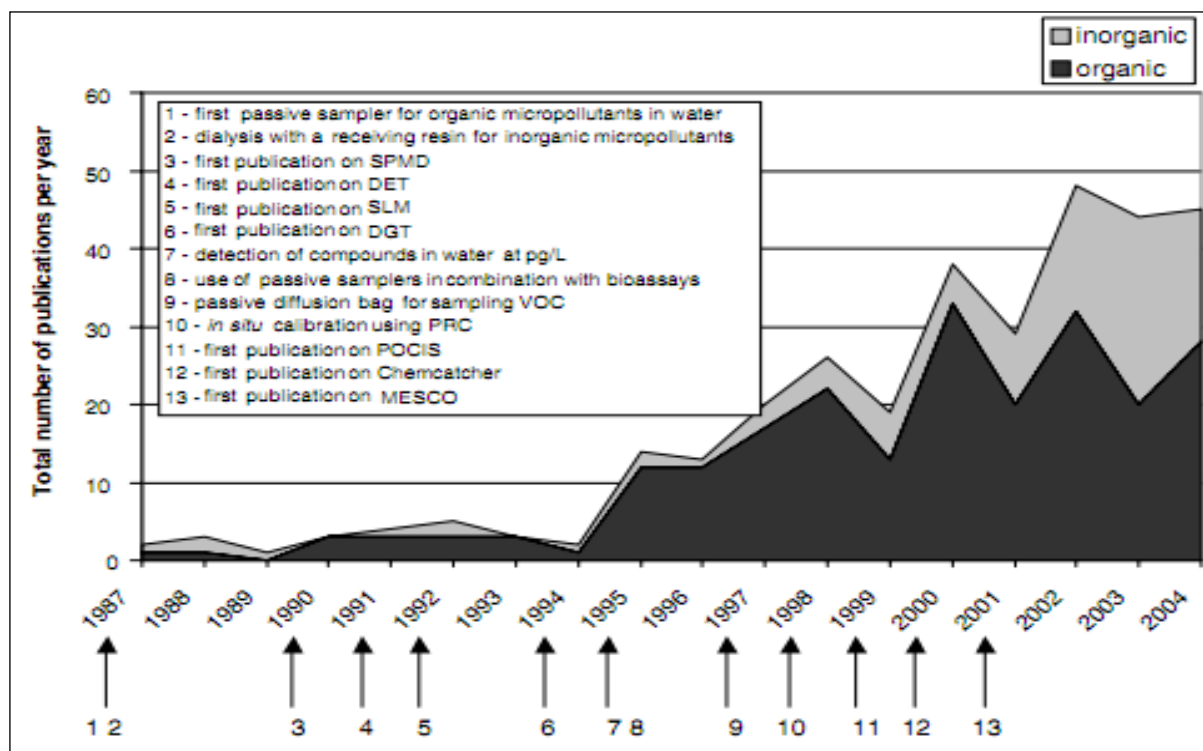
Vrana et al. (2005) diz que muitos programas de monitoramento dependem da coleta discreta de amostras, o que requer um volume suficientemente grande se os poluentes de interesse estiverem presentes em níveis traços no ambiente aquático. As análises laboratoriais posteriores fornecem resultados instantâneos, ou seja, as informações das condições do meio estudado que se apresentam no momento da coleta da amostra.

Recentemente, técnicas passivas de amostragem estão sendo estudadas e aplicadas como ferramentas para determinar a concentração em solução de uma gama de poluentes ambientais (como, por exemplo, metais traços). Os dispositivos passivos evitam uma série de interferências, pois o analito é amostrado *in situ* o que não altera as condições da solução analisada. Dependendo da configuração do amostrador, a massa do poluente acumulada pode refletir tanto a concentração de equilíbrio no dispositivo, como também a concentração média no tempo para o qual o dispositivo foi exposto.

A amostragem passiva pode ser definida como uma técnica de livre fluxo do analito do meio analisado para uma fase de recepção instalada em um dispositivo de amostragem, como consequência da diferença de concentração do analito nos dois meios (VRANA et al., 2005).

A Figura 2 a seguir mostra o número anual de publicações sobre o desenvolvimento e a aplicação de amostradores passivos para o monitoramento de contaminantes orgânicos e inorgânicos em água.

Figura 2: Marcos no desenvolvimento de técnicas passivas de amostragem.



Fonte: Vrana et. al. (2005).

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

A técnica DGT recentemente desenvolvida por Davison e Zhang (1994) possibilita a determinação de espécies metálicas cineticamente lábeis nos sistemas aquáticos. Esta técnica utiliza uma peça de polipropileno em forma de pistão, chamado de amostrador passivo, sobre o qual é disposto primeiramente um disco de gel (ou membrana) normalmente de acrilamida/agarose, impregnado com resina Chelex 100 (Figura 3). Este disco é sobreposto por outro disco de gel, na maioria das vezes de poliácrlamida, convencionalmente chamado de “difusivo”, cuja finalidade é imprimir ao analito uma difusão constante devido a sua porosidade.

O segundo disco de gel é finalmente sobreposto por uma membrana de acetato de celulose cuja porosidade é de 0,45 μm para garantir a integridade do sistema. O conjunto de géis e membrana é fechado por uma luva de polipropileno dotada de uma abertura, a qual possibilita a difusão do analito.

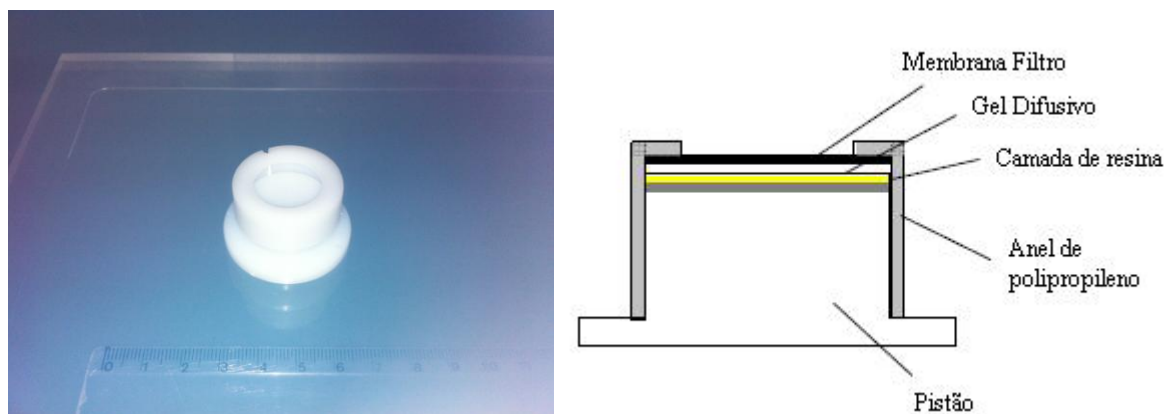
Quando o dispositivo é imerso na amostra, os íons metálicos se difundem da camada de gel difusivo até o agente ligante de modo que no gel se estabelece um gradiente constante de concentração. Decorrido um intervalo de tempo pré-estabelecido de imersão, o dispositivo

é recolhido, desmontado, a quantidade dos íons metálicos adsorvidas pelo agente ligante é recuperada e determinada em laboratório por técnica analítica apropriada.

Um dos diferenciais que a técnica DGT possui é a sua capacidade de discriminação das espécies *in situ*, já que apenas a quantificação dos metais é feita no laboratório.

Outras vantagens dessa técnica são a sua simplicidade, possibilidade de separação e diferenciação multielementar, habilidade para fornecer concentrações médias por tempo e pré-concentração do analito. Imersões de um dia resultam em fatores de pré-concentração com cerca de 300 vezes, possibilitando a determinação de espécies metálicas em baixíssimos níveis. (ZHANG e DAVISON, 2000)

Figura 3: Foto e perfil esquemático de um dispositivo DGT



Fonte: Adaptado de Zhang e Davison (1995).

3.4 Princípio da técnica de difusão em filmes finos por gradiente de concentração

A técnica DGT é baseada na 1ª lei de Fick para difusão (DAVISON, 1995; TONELLO, 2009). Nesta técnica, o transporte do metal em solução até o agente ligante se dá através de um gel difusivo, no qual se estabelece um fluxo com gradiente de concentração constante (Figura 4). Esse fluxo de íons no interior do gel é determinado pela seguinte expressão matemática:

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

Onde D é o coeficiente de difusão do metal no gel, C_b a concentração do metal livre ou lábil na solução externa, C' a concentração livre do metal no agente ligante e Δg a espessura do gel de difusivo. Contanto que ocorra o rápido equilíbrio dos íons do metal com o

agente ligante e uma forte ligação, a C' é efetivamente zero, a menos que ocorra saturação da membrana ligante. Simplificando a expressão 1, temos:

$$F = (D.C_b) / \Delta g \quad (2)$$

Como o fluxo é a medida de taxa de difusão, ele pode ser expresso como a massa, M do metal em difusão que atravessa a área A durante um intervalo de tempo t . Assim temos:

$$F = M / (A.t) \quad (3)$$

A comparação entre as expressões 2 e 3 resulta na expressão para determinação da concentração na solução ou amostra, definida como:

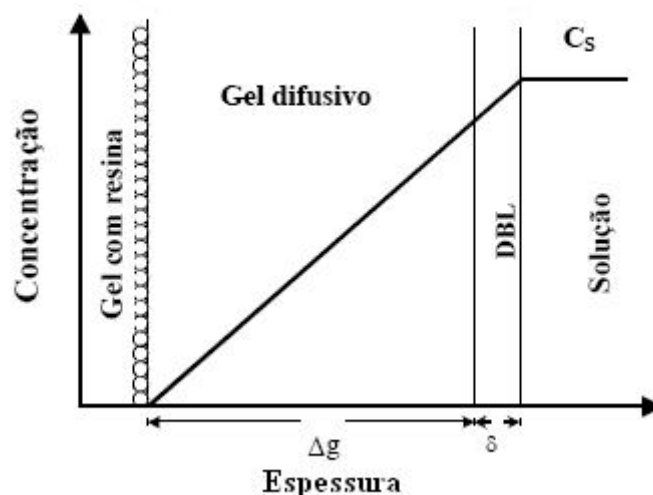
$$C_b = (M.\Delta g) / (D.t.A) \quad (4)$$

A massa do metal que difunde pela camada do gel pode ser obtida pela medida direta da concentração desse metal retido no agente ligante (C_e). Considera-se o volume do ácido usado na eluição do metal (V_{ac}), o volume do agente ligante (V_{al}) e a fração do metal ligado a resina que pode ser removida para a solução através do ácido, conhecida como fator de eluição (f_e).

$$M = C_e . (V_{ac} + V_{al}) / f_e \quad (5)$$

Portanto, substituindo-se na expressão 4 o valor da massa do íon metálico retido pelo dispositivo DGT que foi determinada pela expressão 5, obtêm-se a concentração dos íons cineticamente labéis (C_b) existentes na solução em estudo.

Figura 4: Representação gráfica da concentração de íons metálicos no interior de um hidrogel em contato com a solução



Fonte: Zhang e Davison (2000).

A DBL (Diffusive boundary layer) consiste em uma camada que se forma na frente do dispositivo durante as imersões, a qual se comporta como sendo uma extensão do agente difusivo.

3.5 Coeficiente de difusão do mercúrio em agarose

DoceKalová e Divis (2004) investigaram e utilizaram a técnica DGT para mensurar a concentração de mercúrio em água de rio. Testes com dois géis difusivos, o de poliacrilamida e o de agarose foram realizados para estabelecer se o mercúrio estava se ligando a esses géis e os resultados mostraram que a poliacrilamida, devido à presença do grupo amida em sua composição, compete com o agente ligante pelo mercúrio, o que torna duvidosa a interpretação dos resultados. Nesse estudo, foi calculado também o coeficiente de difusão do mercúrio em agarose com o uso de duas resinas, a Chelex 100 e a Spheron thiol pela imersão direta em uma solução de $\text{Hg } 100 \mu\text{g L}^{-1}$, $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 e temperatura de $22,5^\circ\text{C}$. Os valores encontrados foram $8,86 \pm 0,11 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ para a Chelex 100 e $9,86 \pm 0,13 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ para a Spheron thiol. A agarose apresentou desempenho satisfatório na determinação de mercúrio enquanto a Spheron thiol foi bem sucedida na determinação de espécies de mercúrio que são mais estáveis e não mensuráveis pela Chelex 100.

3.6 Aplicação da membrana P 81 com a técnica DGT para determinação de metais

Li et al. (2002) demonstraram pela primeira vez o uso da membrana de celulose tratada com fosfato (Whatman P 81) como agente ligante em análises com a técnica DGT para determinação de Cu e Cd lábeis em amostras simples e soluções multielementares. Nesse estudo foram avaliadas as capacidades de ligação dos metais Zn, Cu, Cd, Mn, Ni, Mg, Ca, K e Na e os resultados indicaram uma maior afinidade da membrana P 81 por íons de metais de transição do que por íons de metais alcalinos e alcalinos terrosos. Na faixa de pH ótimo para a membrana (4,0 a 9,0) foram calculadas as máximas capacidades ligantes: $3,22 \mu\text{mol cm}^{-2}$ para Cu (II) e $3,07 \mu\text{mol cm}^{-2}$ para Cd (II). Os autores levantaram algumas vantagens da utilização da membrana P 81 em relação ao material convencional como maior resistência ao manuseio, ser reutilizável e possuir uma capacidade de retenção que viabiliza seu uso na determinação de metais em água de rio. Apontaram como desvantagem a rapidez com que a membrana P 81 se torna saturada com os íons da solução da amostra, por ser um forte trocador de cátions.

Oliveira (2011) aplicou a membrana de celulose tratada com fosfato (Whatman P 81) com a técnica DGT para determinar a fração lábil de bário (Ba) em água produzida de petróleo em regiões de produção onshore e/ou offshore da Petrobras, visando sua reutilização para irrigação. Nesse estudo, foi avaliada a capacidade de uso da membrana P 81 como agente ligante da técnica DGT para determinar a concentração de bário e foi determinado também o coeficiente de difusão do bário através do agente difusivo 3MM. O valor do coeficiente de difusão do bário encontrado foi de $3,22 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. Os resultados obtidos pelo autor em amostras de água produzida mostraram que extrações onshore podem ser aplicadas na irrigação, ao passo que a amostra offshore apresentou concentração de bário superior a permitida, o que torna inviável sua aplicação na irrigação.

3.7 Uso da técnica DGT em estudos envolvendo Hg

Docekalova e Divis (2004) utilizaram a técnica DGT para determinar a concentração de mercúrio *in situ*, no rio Svitava, na República Tcheca. Os autores utilizaram a resina Chelex 100 e a Spheron-Thiol, ambas incorporadas em um gel de poliácridamida como agente ligante e o gel de agarose com espessura de 0,55 mm como agente difusivo. A concentração de mercúrio determinada diretamente ($0,088 \pm 0,012$) $\mu\text{g L}^{-1}$ Hg foi consideravelmente maior do que a concentração medida pela DGT com a Chelex 100 ($0,0042 \pm 0,0005$) $\mu\text{g L}^{-1}$ como também para a Spheron-Thiol ($0,0166 \pm 0,0009$) $\mu\text{g L}^{-1}$. A diferença entre as concentrações

determinadas diretamente e pela DGT, segundo os autores, reside no fato de a técnica DGT medir apenas o mercúrio iônico e espécies lábeis do mercúrio não incluindo espécies orgânicas inertes e grandes colóides. Concluíram também que a Spherol Thion possui uma maior afinidade com o mercúrio do que a Chelex 100, já que a primeira é capaz de reagir com o mercúrio ligado a complexos fortes.

Clarisse e Hintelmann (2006) aplicaram a técnica DGT para determinar a concentração de metilmercúrio (MeHg) em águas naturais. Nesse estudo um novo agente ligante, a 3-mercaptopropil imobilizada em um gel de sílica foi calibrada e testada para pré-concentrar o metilmercúrio. Os testes básicos realizados com o novo material comprovaram a aplicabilidade da 1ª lei de Fick para difusão em determinações com a técnica DGT, e o coeficiente de difusão do metilmercúrio no gel de poliacrilamida foi de $5 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. Os resultados mostraram que a técnica DGT é um método alternativo para amostragem *in situ* do metilmercúrio uma vez que as concentrações medidas diretamente e as realizadas pela técnica DGT estiveram próximas. Concentrações mais baixas de MeHg podem ser determinadas pela técnica DGT se aplicados maiores tempos de imersão ou utilizando agentes difusivos mais finos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Equipamentos e acessórios

- Espectrômetro de fluorescência atômica (OS Analytical modelo Millenium Merlin);
- Fundidor de gel, projetado no CEA/UNESP;
- Vidrarias e acessórios de laboratório;
- Equipamentos de uso rotineiro em laboratórios de química analítica, como sistemas purificadores de água, medidores de pH, termômetro, agitadores e balanças analíticas;
- Pistões e as luvas dos dispositivos DGT (obtidos da DGT Research Ltd);
- Agarose NA (Pharmacia Biotech AB);
- Membrana de celulose tratada com fosfato, Whatman P 81 (Whatman);
- Membrana filtrante de acetato de celulose (Sartorius Stedim Biotech).

4.2 Reagentes e soluções

- Solução-padrão estoque contendo 1000 mg L^{-1} de Hg (II), obtida da SpecSol, para preparo das soluções-padrão de trabalho;
- Solução de HNO_3 sub-boiling nas concentrações 14 mol L^{-1} , 2 mol L^{-1} e 1 mol L^{-1} ;
- Solução de HCl sub-boiling nas concentrações 12 mol L^{-1} e 1 mol L^{-1} ;
- Solução de NaOH 1 mol L^{-1} ;
- Solução de NaNO_3 1 mol L^{-1} ;
- Reagente KBrO_3 $0,2 \text{ mol L}^{-1}$;
- Reagente KBr $0,2 \text{ mol L}^{-1}$;
- Reagente OHNH_3Cl 12 % (m/v);
- Reagente SnCl_2 2 % (m/v).

4.3 Procedimentos em laboratório

4.3.1 Preparo do gel difusivo de agarose 1,5% mV

Para o preparo do gel difusivo foi colocado sobre o bloco aquecedor um béquer com aproximadamente 30 mL de água purificada. Assim que a água entrou em ebulição adicionou-

se 0,6g de agarose, a mistura resultante permaneceu sob agitação com bastão de vidro até a dissolução total da agarose e, em seguida, a mesma foi diluída para 40 mL. Após alguns minutos, a mistura foi prensada entre duas placas de vidro e deixada em repouso até seu resfriamento para a formação do gel.

A lâmina de gel formada, depois de fria, foi cortada em discos de 2,4 cm de diâmetro e em seguida os discos foram imersos em água purificada. Os géis apresentaram espessura de $1\text{mm} \pm 0,05$.

Na preparação do gel difusivo de agarose, todo material utilizado foi descontaminado com HNO_3 20% (v/v) por 4 horas.

4.3.2 Preparo do agente ligante

A membrana de celulose tratada com fosfato (Whatman P 81) é fornecida em discos de aproximadamente 2,5 cm de diâmetro e 0,2 mm de espessura. A descontaminação dos discos da membrana P 81 foi realizada utilizando-se uma solução de HNO_3 1 mol L^{-1} por 24 horas.

Para a utilização na montagem dos dispositivos DGT, as membranas P 81 foram lavadas com água purificada até o pH dessa água atingir valor próximo de 5.

4.3.3 Preparo da membrana filtrante de acetato de celulose

A membrana filtrante é também fornecida em discos de aproximadamente 2,5 cm de diâmetro e espessura de aproximadamente 0,13mm. Em sua descontaminação, foi utilizada uma solução de HNO_3 1 mol L^{-1} por 24 horas.

O procedimento de lavagem da membrana filtrante foi semelhante ao do agente ligante descrito acima.

4.3.4 Procedimento de montagem dos dispositivos da DGT

Os dispositivos da DGT passaram por um processo de descontaminação que consiste na imersão em HNO_3 20% (v/v) por um período de 24 horas. Decorrido esse tempo, os dispositivos foram lavados repetidas vezes com água purificada para remoção de qualquer resquício de ácido.

A montagem dos dispositivos foi feita em câmara de fluxo laminar e procedeu da seguinte maneira: Sobre o pistão de polipropileno (parte inferior do dispositivo) foi colocado 1 disco de membrana P 81, sobre este 1 disco de agarose 1,5 % e sobre este 1 disco de membrana filtrante de acetato de celulose. O conjunto foi fixado no pistão por uma luva de polipropileno com abertura de 20 mm de diâmetro.

Figura 5: Foto dos dispositivos DGT montados



Fonte: Zaffalon (2011)

4.3.5 Procedimento para o cálculo do fator de eluição (f_e) da P 81

Para este experimento, foram preparados 250 mL de solução $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg . O volume desta solução foi dividido igualmente em 5 tubos tipo Falcon de volume de 50 mL.

Em 4 tubos com a solução de Hg, foi colocada uma membrana P 81 descontaminada (Figura 6). O conjunto de tubos foi mantido sob agitação por um período de 6 horas. Após esse período, as membranas P 81 foram retiradas e colocadas em tubos Falcon de 15 mL para posterior eluição do analito.

Alíquotas foram retiradas no início e no final do experimento para observar a variação da concentração de mercúrio nas soluções.

O procedimento de eluição foi realizado pela adição de 5 mL de HNO_3 2 mol L^{-1} em cada tudo contendo a membrana.

O fator de eluição da membrana P 81 foi calculado utilizando-se a expressão a seguir:

$$f_e = m_{\text{elu}} / m_{\text{ret}} \quad (6)$$

A massa retida e massa eluída de cada membrana P 81 foram calculadas após a determinação da concentração das alíquotas pela técnica Espectrometria de Fluorescência Atômica com geração de vapor frio. (AFS-CV).

A massa retida foi calculada pela diferença entre as massas das soluções no início e no fim do experimento e a massa eluída calculada pelo produto do volume de eluição pela concentração da solução de eluição.

Figura 6: Tubos Falcon com membranas P 81 em agitação



Fonte: Zaffalon (2011)

4.3.6 Procedimento de imersão para o cálculo do coeficiente de difusão do Hg em agarose

Para este experimento, foram preparados 4 L de solução-padrão $500 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg, com força iônica $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 e pH ajustado para próximo de 5,5. Antes de se realizar as imersões, a solução foi mantida sob agitação constante dentro de uma estufa a 23°C durante um período de 24 horas para a estabilização da concentração de mercúrio. De acordo com Docekalova e Divis (2004), a concentração do analito sofre um decréscimo de 10 % durante as primeiras horas em função da absorção do metal pelas paredes do frasco.

Após o período de estabilização, foram imersos 8 dispositivos DGT na solução-padrão de imersão a qual foi mantida integralmente sob agitação e a temperatura constante de 23°C . O primeiro dispositivo foi retirado após 6 horas de imersão e os seguintes em intervalos de 3 horas, sendo os dois últimos retirados com 24 horas de imersão.

Alíquotas foram retiradas no início, durante e no final do experimento de imersão para se observar o comportamento da concentração do analito na solução.

À medida que os dispositivos eram retirados da solução de imersão e desmontados dentro da câmara de fluxo laminar, as membranas P 81 eram colocadas em um tubo Falcon de 15 mL para posterior eluição.

Após a eluição, a concentração das amostras foi determinada pela AFS-CV. Conhecendo a concentração e o volume de eluição, calculou-se a massa retida pela expressão 5 descrita no item 3.4.

Foi plotado em um gráfico a massa retida em função do tempo de imersão. A linearização desses pontos forneceu o coeficiente angular (“slope”) da reta. O coeficiente de difusão, D (cm^2s^{-1}) do mercúrio foi calculado pela expressão 7:

$$D = (\text{slope} \cdot \Delta g) / (A \cdot C) \quad (7)$$

Onde, A (cm^2) é área exposta do gel, Δg (cm) a espessura (agente difusivo + filtro) e C (ng cm^{-3}) a concentração da solução.

4.3.7 Procedimento de imersões em diferentes valores de pH

O experimento de imersão dos dispositivos DGT em soluções-padrão com diferentes valores de pH visou avaliar o desempenho da membrana P 81 nessas condições.

Foram preparadas separadamente 4 soluções-padrão de imersão de 2 L contendo $200 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg e força iônica $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 . O pH das soluções foi ajustado para valores entre 3,5 e 7,5. As soluções foram colocadas em agitação por 24 horas a uma temperatura de 23°C dentro de uma incubadora para estabilização da concentração. Após esse período os dispositivos DGT foram imersos nas soluções e decorridas 6 horas de imersão, retirados, desmontados e as membranas P 81 colocadas para eluir.

Alíquotas foram retiradas no início e no final de cada experimento para observar a variação da concentração do mercúrio na solução.

4.3.8 Procedimento de imersões em diferentes forças iônicas

O experimento de imersão dos dispositivos DGT em soluções-padrão com diferentes valores de força iônica visou avaliar o desempenho da membrana P 81 nessas condições.

Foram preparadas separadamente 4 soluções-padrão de imersão de 2 L contendo $200 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg e pH ajustado para próximo de 5,5. A força iônica atribuída às soluções variou entre $0,005$ e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3 .

Para o experimento de força iônica, foi adotado o mesmo procedimento aplicado no experimento do pH descrito acima.

4.3.9 *Procedimento de imersão em amostra real enriquecida (“Spike”)*

Nesse experimento, 5 dispositivos DGT montados de acordo com o item 4.2.4 foram imersos em 3 L de amostra do ribeirão Claro enriquecida com $50 \mu\text{g L}^{-1}$ Hg (Figura 7). A amostra foi mantida sob agitação em uma incubadora e teve sua temperatura monitorada durante o experimento, sendo que a mesma esteve sempre em $23,2 \pm 2,17 \text{ }^\circ\text{C}$. O pH e a condutividade também foram aferidos no decorrer do experimento.

No decorrer do experimento, alíquotas de 10 mL foram amostradas da solução com intuito de se analisar a variação da concentração do Hg total na solução, antes e depois do Spike, antes e depois da imersão dos dispositivos DGT.

Atingido o tempo de imersão previamente estipulado em 92 horas, os dispositivos foram recolhidos da amostra, lavados e desmontados. As membranas P 81 foram colocadas para eluir conforme procedimento descrito no item 4.2.5.

Figura 7: Amostra do ribeirão Claro



Fonte: Zaffalon (2011)

4.3.10 Determinações utilizando a técnica DGT

As concentrações de Hg (II) nas soluções-padrão, amostras da água do rio Ribeirão Claro e imersões *in situ* foram determinadas a partir da expressão fundamental da técnica, expressão 4 descrita no item 3.4.

Para o cálculo da massa retida, M , utilizou-se a expressão 5, descrita no item 3.4 .

4.4 Imersão *in situ* e coleta de amostras

A aplicação da técnica DGT *in situ* e a coleta de amostras para imersão em laboratório foram realizadas em um ponto do ribeirão Claro, afluente da margem esquerda do Rio Corumbataí, no município de Rio Claro, SP. A bacia do rio Corumbataí está situada na porção centro-leste do estado de São Paulo e possui uma área de aproximadamente 170.000 ha (Figura 8).

As coordenadas geográficas do ponto de imersão (Figura 9) foram aferidas através de um instrumento GPS e estão apresentadas a seguir:

- 22° 24' 38,66'' S
- 47° 32' 19,45'' W

Utilizou-se de uma sonda de campo (Jenway 430 Medidor de pH / Condutividade) para fazer a medição de alguns parâmetros físico-químicos do curso d'água no instante da imersão. Os valores encontrados foram:

- pH: 7,14
- Condutividade: 46 μS
- Temperatura: 21,4° C

O valor da força iônica (I), em mmol L^{-1} , foi determinado substituindo o valor da condutividade (CE), em μS , na expressão 8 (GRIFFIN e JURINAK, 1973):

$$I = 0,0127.CE \quad (8)$$

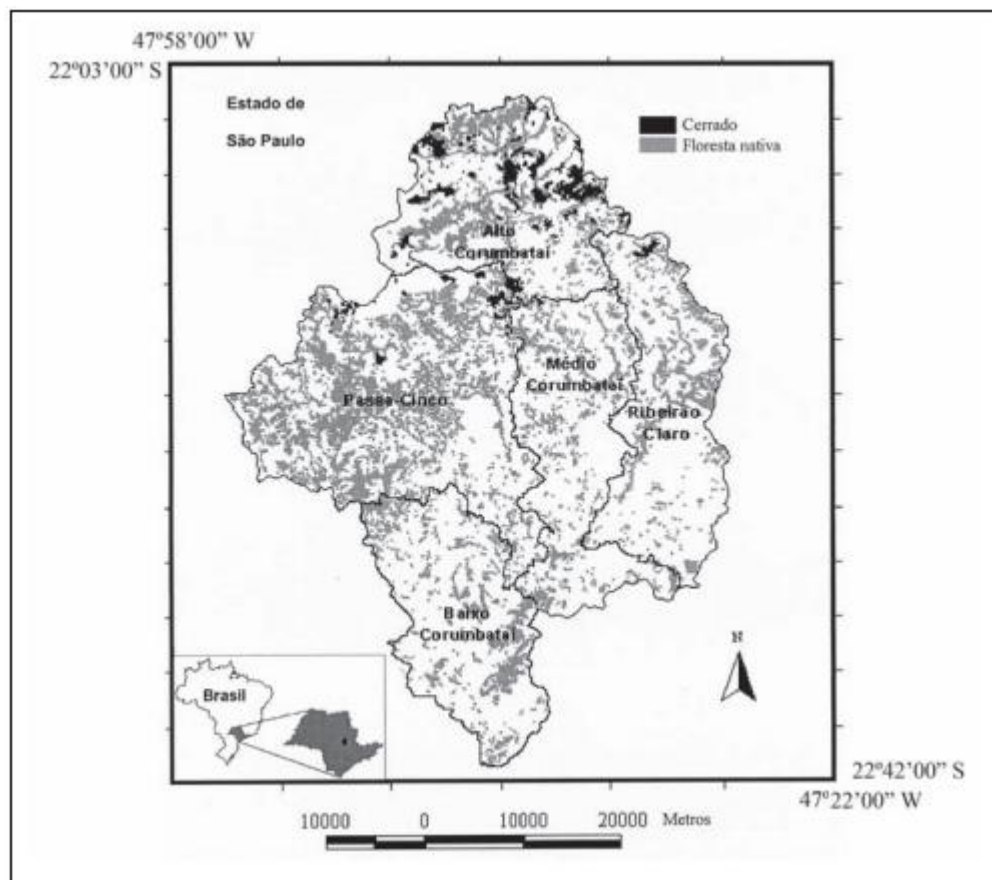
Para medidas *in situ* foram imersos no rio 5 dispositivos da técnica DGT montados conforme descrito no item 4.2.4. No momento da imersão, duas alíquotas de 50 mL devidamente acidificadas foram coletadas para análise direta do Hg total e dissolvido.

Após um período de tempo de 120 horas (5 dias), os dispositivos foram recolhidos para o laboratório onde foram desmontados. As membranas P 81 dos 5 dispositivos, supostamente impregnadas com o metal Hg foram colocadas para eluir, seguindo o procedimento descrito no item 4.2.5.

Para os experimentos em laboratório foram coletadas amostras de água do rio, as quais foram armazenadas sob refrigeração a 4° C em garrafas de polietileno previamente limpas e sem acréscimo de preservantes.

As concentrações de Hg total e dissolvido das alíquotas de 50 mL amostradas em campo foram determinadas pela AFS-CV, depois de digeridas de acordo com o método descrito no manual de instruções do aparelho (PSA Customer Technical Information File).

Figura 8. Localização do ribeirão Claro na bacia do rio Corumbataí.



Fonte: Adaptado de Valente e Vettorazzi (2005).

Figura 9. Localização do ponto de imersão.



Fonte: Adaptado do Google Earth (2010).

Figura 10: Foto apontando os dispositivos DGT imersos no ribeirão Claro.



Fonte: Zaffalon (2011)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Fator de eluição da membrana P 81 para o mercúrio

Após a análise das soluções de eluição e das alíquotas, foi calculado o fator de eluição (f_e) do Hg (II) na membrana P 81. A Tabela 1 apresenta os valores dos fatores de eluição de cada uma das membranas (Tubo 1, 2 e 3), o fator de eluição médio e o desvio padrão.

Tabela 1: Fator de eluição das membranas P 81 e fator de eluição médio $\pm$ Sd.		
Tubo	Fator de eluição	Fator de eluição médio $\pm$ Sd
1	1,06	1,05 $\pm$ 0,06
2	1,11	
3	0,97	

Um dos valores para o fator de eluição foi desconsiderado devido discrepância em relação aos demais, o que pode indicar possível contaminação da membrana P 81 durante o experimento.

Nesse estudo para efeitos de cálculos, foi adotado sempre o valor igual a 1,00 para o fator de eluição (f_e).

Larner e Seen (2005) determinaram a eficiências de eluição dos metais Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn para a membrana P 81 e encontraram valores de recuperação superiores a 96% para todos os elementos, após simples extração.

Zhang e Davison (1995) calcularam a eficiência de eluição dos metais Zn, Cd, Cu, Ni, Mn e Fe para a Chelex 100 e considerando os desvios, todos os metais, exceto o Fe, apresentaram eficiências de eluição próximas de 80 %. Desde então, o valor 0,8 para fator de eluição tem sido adotado em muitos trabalhos que utilizam a resina Chelex 100 com agente ligante.

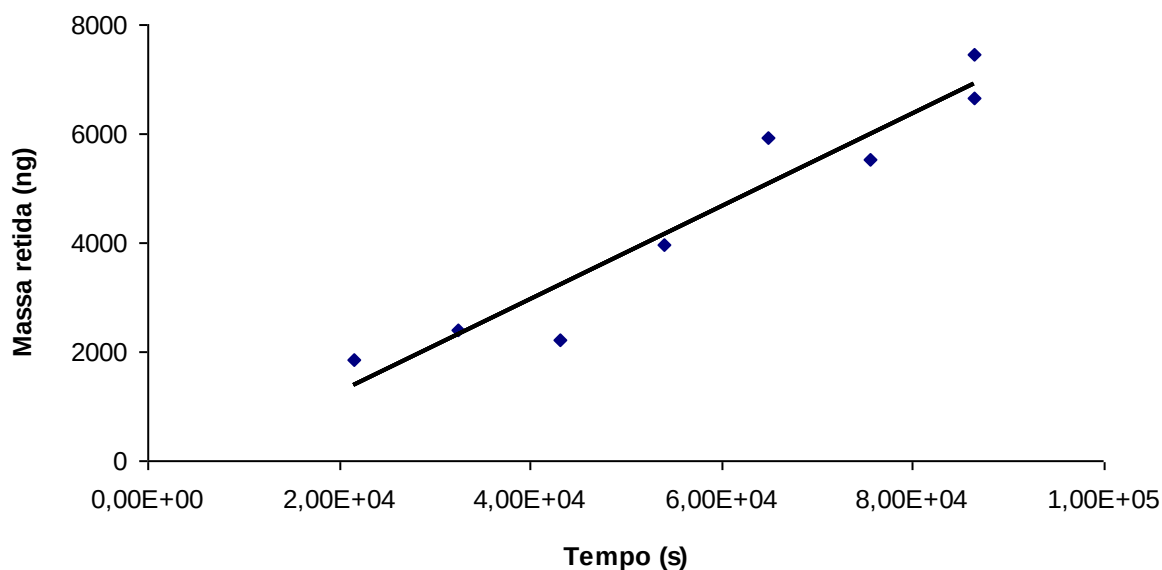
5.2 Coeficiente de difusão do mercúrio em agarose 1,5%

Após a determinação das concentrações envolvendo os experimentos da curva de imersão, foram calculadas as massas retidas na membrana P 81. A Tabela 2 relaciona as massas retidas com o tempo de imersão.

Tabela 2: Massas retidas (ng) e respectivos intervalos de tempo de imersão (s).								
Tempo	21600	32400	43200	54000	64800	75600	86400	86400
Massa	1860,95	2406,17	2232,12	3975,77	5913,75	5533,75	6643,00	7448,00

A Figura 11 apresenta o gráfico da massa retida em função do tempo de imersão.

Figura 11: Curva de imersão do mercúrio



A curva de imersão do mercúrio evidencia a linearidade existente entre os pontos plotados, sendo que o coeficiente de correlação linear (R^2) encontrado foi igual a 0,9234. A equação da reta, $y = 0,0855x - 460,82$, gerada por regressão linear forneceu o coeficiente angular utilizado no cálculo do coeficiente de difusão.

Com os valores da espessura (Δg) 0,113 cm; área A 3,14 cm²; coeficiente angular da reta obtida 0,0855 e concentração da solução 449,45 ug.L⁻¹ foi possível calcular o coeficiente de difusão do mercúrio em agarose 1,5 %. O valor encontrado foi de $6,85 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$.

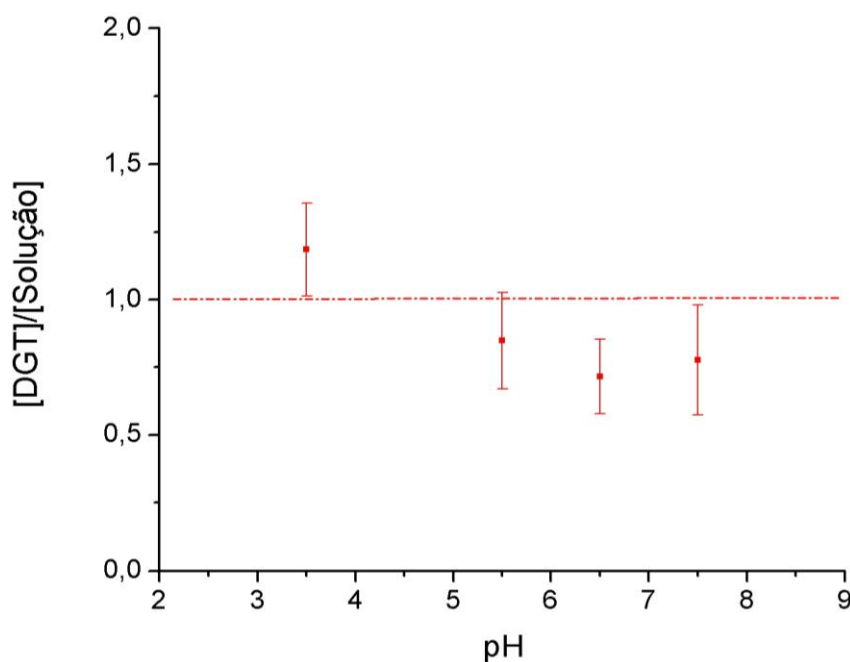
O coeficiente de difusão do mercúrio em agarose 1,5 % com o uso da membrana P 81 está próximo dos valores encontrados por Docekalova e Divis (2005), que foram de $8,86 \pm 0,11 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ para a Chelex 100 e de $9,86 \pm 0,13 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ para a Spheron-Thiol.

5.3 Efeito do pH

Foi calculada a concentração medida pelo dispositivo DGT e em seguida plotado um gráfico da relação $[DGT]/[Solução]$ em relação a variação do pH.

A Figura 12 representa a relação entre as concentrações de Hg determinada pela DGT e a concentração do analito ($200 \mu\text{g L}^{-1}$) em soluções de pH variando de 3,5 a 7,5.

Figura 12: Efeito do pH. Média $\pm$ sd.



Na faixa de pH de 3,5 a 7,5, embora tenha ocorrido uma aparente queda na relação $[DGT]/[Solução]$, é possível dizer que a retenção do mercúrio pelo agente ligante avaliado (membrana P 81) apresentou bom desempenho, uma vez que alguns valores amostrais estiveram próximos da relação ideal representada pela linha tracejada no gráfico.

Li et al. (2002) estudou a capacidade de ligação dos metais Cu (II) e Cd (II) na membrana P 81 na faixa de pH de 0-12. A faixa ótima de pH encontrada para a ligação dos metais com a membrana P 81 foi de $4 < \text{pH} < 9$, o que a torna adequada a aplicação desta membrana com a DGT em águas naturais. Segundo o autor, o pH afeta tanto as formas químicas dos íons metálicos como também dos grupos funcionais da membrana P 81. Em pH menor do que 4, o grupo fosfato, o principal constituinte ligante da membrana P 81 está presente em sua forma ácida (ácido fosfórico) e possui uma capacidade de ligação menor. À medida que o pH se eleva o fosfato se encontra em sua forma básica na membrana P 81, que possui uma capacidade de ligação maior. Já em pH maior do que 9, a diminuição da capacidade de ligação ocorre devido a mudanças na especiação dos íons metálicos, de íons metálicos livres para espécies hidróxicas do metal, que são menos solúveis.

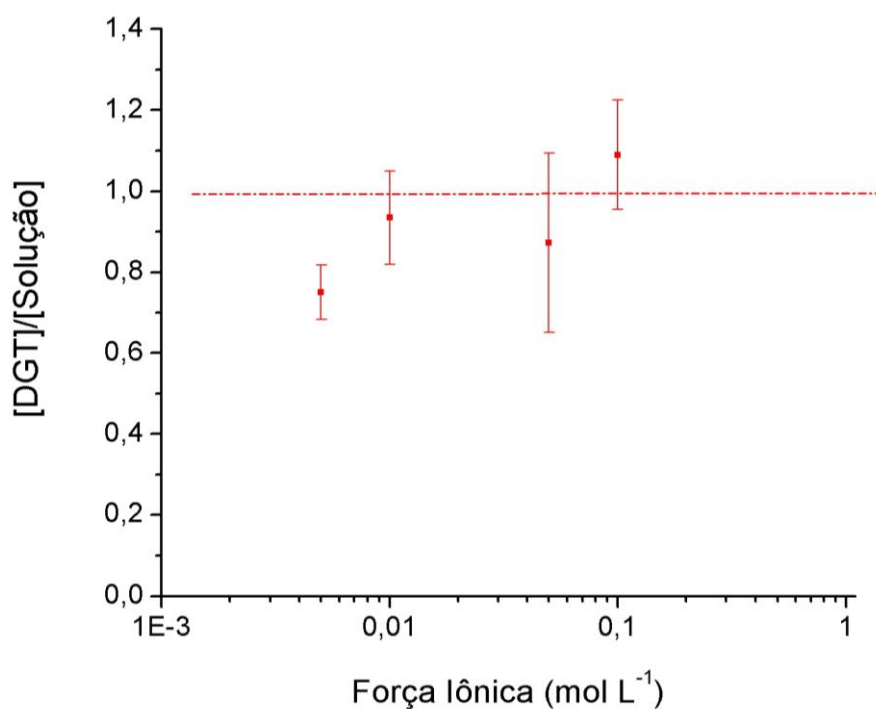
Logo, para a faixa de pH estudada neste trabalho, o agente ligante avaliado pode ser aplicado na determinação da concentração de mercúrio em águas fluviais.

5.4 Efeito da Força Iônica

Para avaliação do efeito da força iônica, foi adotado o mesmo procedimento realizado para avaliação do efeito de pH, no que diz respeito a construção do gráfico $[DGT]/[Solução]$.

A Figura 13 mostra a relação entre as concentrações de Hg determinadas usando a DGT e a concentração do analito ($200 \mu\text{g L}^{-1}$) em soluções com diferentes valores de força iônica.

Figura 13: Efeito da força iônica. Média $\pm$ sd.



Não foi observada diferença significativa para medidas entre $0,01$ e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$. Houve um pequeno decréscimo da concentração determinada pela DGT (25 %) para medidas realizadas em força iônica igual a $0,005 \text{ mol L}^{-1}$. Ressalta-se que interferências positivas e negativas foram previamente relatadas para valores de força iônica menor ou igual a $0,005 \text{ mol L}^{-1}$, para agentes difusivos de celulose e poliacrilamida (LI et al., 2002; LARNER et al., 2005). Isto, contudo não representa um problema prático para medidas usando DGT, pois valores superiores a esse limite são encontrados em sistemas aquáticos naturais.

Segundo Larner e Seen (2005) os resultados irregulares apresentados para o coeficiente de difusão do Cd no gel de poliacrilamida em baixa força iônica tornam dúbia a reprodutibilidade da técnica DGT nessas condições. Já que os materiais podem apresentar comportamentos distintos frente à variante força iônica, é possível dizer que não existe ainda um consenso de como ela interfere nas determinações pela técnica DGT.

5.5 Determinação do Hg (II) na amostra real enriquecida

Na amostra de água do ribeirão Claro enriquecida com $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Hg, foram determinadas a concentração total e a concentração da fração lábil, sendo esta última calculada pela técnica DGT.

Substituindo o valor médio da condutividade, $40,7 \mu\text{S}$ aferido durante o experimento de imersão, na expressão 8 citada no item 4.3, temos a medida da força iônica média da amostra. As características da amostra estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3: Características da amostra de água do ribeirão Claro		
Amostra	Força iônica (mmol L^{-1})	pH
Ribeirão Claro	0,52	7,19

A Tabela 4 a seguir mostra a concentração total de Hg determinada diretamente por AFS-CV e a concentração de Hg determinada pela DGT.

Tabela 4: Concentrações de Hg ($\mu\text{g L}^{-1}$) determinadas diretamente por AFS-CV (Hg total) e pela técnica DGT. Média $\pm$ sd		
Amostra	AFS-CV	DGT
Ribeirão Claro	$28,00 \pm 11$	$0,022 \pm 0,0053$

A análise da Tabela 4 permite dizer que foi possível determinação da concentração de Hg pela técnica DGT. No entanto essa concentração esteve muito abaixo da concentração de Hg determinada diretamente por AFS-CV na amostra enriquecida.

Observa-se ainda pela tabela que a concentração total do Hg na amostra variou muito durante o experimento, o que fica comprovado pelo alto desvio em relação à concentração média do analito. Como foi relatado no item 4.3.6, uma porcentagem do Hg fica aderida as paredes do frasco o que diminui sua concentração na solução.

Outro fato que pode ter ocorrido é a transformação do Hg^{+2} em outras formas, como Hg^0 , sendo esta última não detectável pela técnica DGT.

A baixa força iônica aferida na amostra real também pode ser a causa da baixa concentração do analito determinada pela DGT, já que aquela pode ter interferido de maneira negativa na difusão do Hg (II) até o agente ligante.

Outra explicação para a baixa concentração obtida com a DGT pode ser a presença de material orgânico na amostra suficiente para complexar os íons Hg (II) e dificultar a sua difusão.

5.6 Determinação da fração lábil do Hg no ribeirão Claro (*in situ*)

A Tabela 5 a seguir apresenta os valores de pH e força iônica aferidos no rio Ribeirão Claro durante a imersão dos dispositivos DGT *in situ*.

Tabela 5: Características da água do ribeirão Claro.		
Ponto	Força iônica (mmol L ⁻¹)	pH
22°24'38,66'' S 47°32'19,45''W	0,58	7,14

O limite de detecção (LD) do Hg (n=10, critério 3 σ) utilizando a espectrometria de fluorescência atômica com geração de vapor frio (AFS-CV) foi de 0,020 $\mu\text{g L}^{-1}$ para análise das frações total e dissolvida. Com o emprego da técnica DGT, em imersões de 120 horas, foi obtido um fator de pré-concentração de 12,5. Assim estimou-se um LD para determinações *in situ* (imersões 120 horas) de 0,0016 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Os resultados para as frações de Hg total, dissolvido e lábil (utilizando a membrana P 81 como agente ligante) obtidos em um ponto (coordenadas geográficas 22° 24' 38,66'' S e 47° 32' 19,45'' W) do ribeirão Claro (bacia do Corumbataí), estão apresentados na Tabela 6. Não foi possível quantificar a fração total e dissolvida do analito, pois as concentrações determinadas por AFS-CV estiveram abaixo do limite de detecção (LD).

Por outro lado, a utilização da técnica DGT possibilitou a quantificação da fração lábil no mesmo ponto do ribeirão Claro.

Tabela 6: Concentrações de Hg ($\mu\text{g L}^{-1}$) total e dissolvida determinadas diretamente por AFS-CV e pela técnica DGT nas imersões <i>in situ</i> . Média $\pm$ sd.			
Ponto	Fração total	Fração dissolvida	DGT
22°24'38,66'' S 47°32'19,45'' W	< 0,020	< 0,020	0,0023 $\pm$ 0,0014

A determinação da fração lábil do Hg no ribeirão Claro foi possível graças à pré-concentração do analito no sistema DGT, já que a concentração desse metal em sistemas aquáticos geralmente é muito baixa.

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos dos experimentos realizados com a membrana P 81, como o cálculo do fator de eluição e o cálculo do coeficiente de difusão do mercúrio Hg (II) em agarose 1,5% foram satisfatórios.

Os testes frente a principais variáveis do sistema, pH, realizado na faixa de 3,5 a 7,5, e força iônica, entre 0,005 e 0,1mol L⁻¹, mostraram uma ligeira variação nas determinações do analito nas faixas estudadas. Como as relações [DGT]/[Solução] estiveram próximas ou superiores a 75%, conclui-se que a membrana P 81 apresenta bom desempenho para determinação do Hg (II) nessas condições.

A determinação da concentração de Hg (II) pela técnica DGT em amostra real (do ribeirão Claro) enriquecida com 50 µg L⁻¹ foi realizada, mas possíveis interferências como a baixa força iônica da amostra, a presença de material orgânico e também a transformação do analito para outra espécie não detectável pela DGT fizeram com que a concentração determinada pela técnica DGT fosse bastante inferior a concentração determinada diretamente na amostra.

A utilização da membrana P 81 com a técnica DGT para determinação da fração lábil do mercúrio no ribeirão Claro (aplicação *in situ*) foi realizada com sucesso, uma vez que foi detectada uma pequena concentração do Hg (II), 0,0023 ± 0,0014 µg L⁻¹. Como a concentração desse elemento em cursos d'água é muito baixa, possivelmente o tempo de imersão associado à característica de pré-concentração que a técnica DGT apresenta foi fundamental na quantificação da fração lábil do mercúrio ribeirão Claro.

Logo a membrana de celulose tratada com fosfato, Whatman P 81, pode ser aplicada como agente ligante da técnica DGT para determinação da fração lábil do mercúrio em sistemas aquáticos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEVEDO, F. A. Dinâmica ambiental e riscos do mercúrio. **TECBAHIA R. Baiana Tecnol**, v. 1, n. 1, p. 32-48, 1993.

AZEVEDO, F. A; CHASIN, A. A. M. **Metais: gerenciamento da toxicidade**. São Paulo: Atheneu, 2003. 554 p.

BAIRD, C. **Química Ambiental**. 2. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 622p.

CASTRO, N. **Cádmio, chumbo, cromo, mercúrio e níquel nos rios do Estado de São Paulo e em peixes do rio Sorocaba**. 2002. Dissertação (Mestrado em Conservação e Manejo de Recursos). 107f. Centro de Estudos Ambientais, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2002.

CLARISSE, O.; HINTELMANN, H; Measurements of dissolved methylmercury in natural waters using diffusive gradients in thin film (DGT). **Journal of Environmental Monitoring**. n. 8, p. 1242-1247, Oct. 2006

DOCEKALOVA, H.; DIVIS, P. Application of diffusive gradient in thin films technique (DGT) to measurement of mercury in aquatic systems. **Talanta**. v. 65, p. 1174-1178, 2005.

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

HERRMANN, J. C. **Mercúrio em solos da sub-bacia do rio Corumbiara/RO: Análise do padrão espacial da dispersão**. 2008. 88 f. Tese (Doutorado em Geociências e Meio Ambiente). Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, 2008.

LACERDA, L. D.; MALM, O. Contaminação por mercúrio em sistemas aquáticos: uma análise das áreas críticas. **Estudos Avançados**. São Paulo, v.22, n.63, p.173-190. 2008.

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

LI, W; ZHAO, H; TEASDALE, P. R; JOHN, R; ZHANG, S. 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, p. 331-339, 2002.

OLIVEIRA, W. **Determinação da fração lábil de Ba em água produzida de petróleo utilizando a técnica de difusão em filmes finos por gradiente de concentração com membrana fosfato de celulose (P 81) como agente ligante**. 2011. 89 f. Dissertação (Mestrado em Geociências e Meio Ambiente) – Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, 2011.

SOUZA, J. R.; BARBOSA, A. C. Contaminação por mercúrio e o Caso da Amazônia. **Química Nova na Escola**, n. 12. p. 3-7, 2000.

TONELLO, P. S; **Uso das técnica de difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT) e ultrafiltração com fluxo tangencial no estudo da labilidade de Al(III) e Cu(II) em sistemas aquáticos**. 2009. 116 f. Tese (Doutorado em Química). Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2009.

VALENTE, R. O. A.; VETORAZZI, C. A. Avaliação da estrutura florestal na bacia hidrográfica do Rio Corumbataí, SP. **Scientia Forestalis**, n. 68, p. 45-57, 2005.

VRANA, B.; MILLS, G. A.; ALLAN, I. J.; DOMINIAK, E.; SVENSSON, K.; KNUTSSON, J.; MORRISON, G.; GREENWOOD, R. Passive sampling techniques for monitoring pollutants in water. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, n. 10, p. 845-868, 2005

ZHANG, H.; DAVISON. W. Performace Characteristics of Diffusion Gradients in Thin Films for the in situ Measurement of Trace Metals in Aqueous Solution. **Anal. Chem.** v. 67. p. 3391-3400, 1995.

ZHANG, H.; DAVISON.W. Diffusional characteristics of hydrogels used in DGT and DET techniques. **Analytica Chimica Acta**. v. 398, p. 329–340, 1999.

ZHANG, H.; DAVISON. W. Direct In Situ Measurements of Labile Inorganic and Organically Bound Metal Species in Synthetic Solutions and Natural Waters Using Diffusive Gradients in Thin Films. **Anal. Chem.** v. 72. n. 18. p. 4447-4457, 2000.

8 BIBLIOGRAFIAS CONSULTADAS

ANJOS, V. E; ABATE, G; GRASSI, M. G. Comparação da labilidade de metais empregando voltimetria, difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT) e modelo computacional. **Quim. Nova**, v. 33, n. 6, p. 1307 – 1312, 2010.

CAI, Y. Speciation and analysis of mercury, arsenic, and selenium by atomic fluorescence spectrometry. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 19, n. 01, 2000.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. **Resolução 357**: classificação dos corpos de água, diretrizes ambientais para o seu enquadramento, condições e padrões de lançamento de efluentes. Brasília, 2005. 23 p.

GARMO, O.A; ROYSET, O; STEINNES, E; FLATEN, T. P. Performance Study of Diffusive Gradients in Thin Films for 55 Elements. **Anal. Chem**, v. 75, p.3573 – 3580, 2003.

GOMES, C. F.; DIMOCK, B.; HINTELMANN, H. DÍEZ, S. Development of the DGT technique for Hg measurement in water: Comparison of three different types of samples in laboratory assays. **Chemosphere (2011)**, DOI: 10.1016/j.chemosphere.2011.07.080.

MARINS, R. V.; PARAQUETTI, H. H. M.; AYRES, G. A. Alternativa analítica para especiação físico-química de mercúrio em águas costeiras tropicais. **Quim. Nova**, v. 25, n. 3, p. 372-378, 2002.

MEYER, J. S. The utility of the terms “bioavailability” and “bioavailable fraction” for metals. **Marine Environmental Research**, v. 53. p. 417 – 423, 2002.