

PAULO SERGIO TONELLO

**USO DAS TÉCNICAS 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.**

Tese apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte
dos requisitos para obtenção do título de
Doutor em Química

Orientador: Prof. Dr. André Henrique Rosa
Co-orientador: Prof. Dr. Amauri A. Menegário

Araraquara
2009

FICHA CATALOGRÁFICA

T685u	Tonello, Paulo Sergio Uso das técnicas 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 / Paulo Sergio Tonello. - Araraquara : [s.n], 2009 123 f. : il. Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química Orientador: André Henrique Rosa Co-orientador: Amauri Antônio Menegário 1. Química ambiental. 2. Química analítica. 3. Especificação. 4. DGT. 5. Ultrafiltração. I. Título.
-------	--

Elaboração: Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação do Instituto de Química de Araraquara

Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação

PAULO SERGIO TONELLO

Tese apresentada ao Instituto de Química,
Universidade Estadual Paulista, como parte
dos requisitos para obtenção do título de
Doutor em Química

Araraquara 14 abril de 2009.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. André Henrique Rosa (Orientador)
Unidade Diferenciada de Sorocaba – UNESP, Sorocaba

Prof. Dr. Leonardo Fernandes Fraceto
Unidade Diferenciada de Sorocaba – UNESP, Sorocaba

Prof. Dr. Roberto Naves Domingos
Instituto de Geociências e Ciências Exatas – IGCE – UNESP, Rio Claro

Prof. Dr. Cássio Hamilton Abreu Junior
Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA – USP, Piracicaba

Prof. Dr. Pedro Sergio Fadini
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia – UFSCar, São Carlos

DADOS CURRICULARES

PAULO SERGIO TONELLO

1. DADOS PESSOAIS

Nascimento: 30/10/1962

Nacionalidade: brasileiro

Naturalidade: Rio Claro – SP

Estado Civil: casado

Filiação Pai: Walter Santo Tonello

Mãe: Alice Adelaide Calore Tonello

Profissão: Professor

Documento de Identidade: RG 10.858.177

Cadastro de Pessoa Física: CPF 054.493.128-90

Endereço: Rua 4CJ nº 800, Cidade Jardim, Rio Claro, SP, CEP 13501-050

2. FORMAÇÃO ACADÊMICA

Licenciatura em Física

Curso de licenciatura em Física, concluído em dezembro de 1986, no Departamento de Física da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Rio Claro, SP.

Mestre em Conservação e Manejo de Recursos

Curso de Pós-Graduação do Centro de Estudos Ambientais – CEA - UNESP.
Área de concentração: Gestão Integrada de Recursos, concluído em junho de 2001, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Rio Claro, SP.

Doutor em Química

Curso de Pós-Graduação em Química.
Área de concentração: Química ambiental, concluído em abril de 2009, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Araraquara, SP.

3. ARTIGOS PUBLICADOS EM PERIÓDICOS DURANTE O CURSO

MENEGARIO, A. A.; SMICHOWSKI, P.; TONELLO, P. S.; POLLA, G.; OLIVEIRA, E.; SANTELLI, R. On-line redox speciation analysis of antimony using L-proline immobilized on controlled pore glass and hydride generation inductively coupled plasma optical emission spectrometry for detection. **Anal. Chim. Acta**, v. 625, n. 2, p. 131-136, Sept. 2008.

TONELLO, P. S.; ROSA, A. H.; ABREU JR., C. H.; MENEGÁRIO, A. A. Use of diffusive gradients in thin films and tangential flow ultrafiltration for fractionation of Al(III) and Cu(II) in organic-rich river waters. **Anal. Chim. Acta**, v. 598, n. 1, p. 162-168, Aug. 2007.

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

BISCARO, P. A.; MENEGÁRIO, A. A.; TONELLO, P. S.; CALDORIN, R. Pré-concentração de cádmio com *Saccharomyces cerevisiae* e determinação em águas fluviais usando espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado. **Quim. Nova**, v. 30, n. 2, p. 323-326, mar. 2007.

ROSA, A. H.; GOVEIA, D.; BELLIN, I. C.; TONELLO, P. S.; ANTUNES, M. L. P.; RODRIGUES FILHO, U. P. Estudo da labilidade de Cu(II), Cd(II), Mn(II) e Ni(II) em substâncias húmicas aquáticas utilizando-se membranas celulósicas organomodificadas. **Quim. Nova**, v. 30, n. 1, p. 59-65, jan. 2007.

4. TRABALHOS APRESENTADOS E/OU PUBLICADOS EM ANAIS DE CONGRESSOS

MENEGÁRIO, A. A.; TONELLO, P. S.; PESCIM, G. F.; MARTINHO, V. B. Uso da *Saccharomyces cerevisiae* imobilizada em géis de agarose como agente ligante na técnica de difusão em filmes finos por gradientes de concentração (DGT). In: ENCONTRO BRASILEIRO SOBRE ESPECIAÇÃO QUÍMICA, 1., 2008, São Pedro. **EspeQ Brasil 2008 - 1 Encontro Brasileiro sobre Especiação Química**. Campinas: Unicamp, 2008. v. 1. p. 12089A.

SILVA, M. V.; TONELLO, P. S.; ALMEIDA, A. F.; FRANCHI, M.; GARCIA, A. B.; MENEGÁRIO, A. A. Determinação de Sn(IV) e TBT em amostras

ambientais usando espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente, geração de hidretos e *Saccharomyces cerevisiae*. In: ENCONTRO BRASILEIRO SOBRE ESPECIAÇÃO QUÍMICA, 1., 2008, São Pedro. **EspeQ Brasil 2008 - 1 Encontro Brasileiro sobre Especiação Química**. Campinas: Unicamp, 2008. v. 1. p. 12063B.

TONELLO, P. S.; MENEGÁRIO, A. A.; ROSA, A. H.; DOMINGOS, R. N. Determination of labile inorganic and organically bound aluminum and copper species in organic-rich river waters using diffusive gradients in thin films. In: RIO SYMPOSIUM ON ATOMIC SPECTROMETRY, 10., 2008, Salvador. **Anais do Tenth Rio Symposium on Atomic Spectrometry**. Salvador: UFBA, 2008. v.1.

SILVA, M. V.; MENEGÁRIO, A. A.; TONELLO, P. S.; GARCIA, A. B. Determination of inorganic tin and tributyltin using baker's yeast and hydride generation inductively coupled plasma optical emission spectrometry. In: RIO SYMPOSIUM ON ATOMIC SPECTROMETRY, 10., 2008, Salvador. **Anais do Tenth Rio Symposium on Atomic Spectrometry**. Salvador: UFBA, 2008. v.1.

DOMINGOS, R. N.; SILVA, M. L.; GARCIA, A. B.; SILVA, M. S. R.; MENEGÁRIO, A. A.; TONELLO, P. S.; BRINGEL, S. R. B. Estudos preliminares sobre o uso da técnica de gradientes de difusão em filmes finos (DGT) para especiação de metais pesados em rios da bacia amazônica. In: WORKSHOP DE ECOTOXICOLOGIA, 3., 2008, Rio Claro. **Holos Environment - Suplemento 1: III Workshop de Ecotoxicologia**. Rio Claro: CEA - UNESP, 2008. v. 8. p. 2016.

TONELLO, P. S.; MENEGÁRIO, A. A.; ROSA, A. H.; SILVA, M. V. Coeficientes de difusão de complexos metal-substâncias húmicas em hidrogéis usados na técnica DGT. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE SUBSTÂNCIAS HUMÍCAS, 7., 2007, Florianópolis. **Anais do VII Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas**. Florianópolis: Departamento de Química UFSC, 2007. v. 1. p. 58.

MENEGÁRIO, A. A.; SMICHOWSKI, P.; TONELLO, P. S.; POLLÁ, G. On-line speciation analysis of Sb(III) and Sb(V) using L-proline immobilized on controlled pore glass and hydride generation inductively coupled plasma optical emission spectrometry for detection. In: RIO SYMPOSIUM ON ATOMIC SPECTROMETRY, 9., 2006, Barquisimeto. **Proceedings of Ninth Rio Symposium on Atomic Spectrometry**. Barquisimeto: 2006. v. 1.

ROSA, A. H.; GOVEIA, D.; BELLIN, I. C.; VAZ, S. S.; ROVEDA, J. A.; TONELLO, P. S.; RODRIGUES FILHO, U. P. Application of organommodified membranes in a study of the lability of metals complexed by aquatic humic substances. In: INTERNATIONAL MEETING OF IHSS HUMIC SUBSTANCES, 13., 2006, Karlsruhe. **Proceedings of the 13 th Meeting of the International Humic Substances Society**. Karlsruhe: Universität Karlsruhe, 2006.

TONELLO, P. S.; BÍSCARO, P. A.; MENEGÁRIO, A. A. Determinação seletiva de Cd(II) e Cd-Metalotioneína usando *Saccharomyces cerevisiae* e espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma (ICP OES). In: ENCONTRO NACIONAL DE QUÍMICA ANALÍTICA, 13., 2005, Niterói. **Anais do XIII Encontro Nacional de Química Analítica**. Niterói: 2005. v. 1, p. B068.

TONELLO, P. S.; MENEGÁRIO, A. A.; ROSA, A. H. Estudo comparativo para determinação da capacidade de complexação e labilidade de íons Cu (II) em substâncias húmicas aquáticas usando ultrafiltração, difusão em filmes finos e sorção em resina quelante. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS, 6., 2005, Rio de Janeiro. **Anais do VI Encontro Brasileiro de Substâncias Húmicas**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2005. v. 1, p. 260-262.

BÍSCARO, P. A.; MENEGÁRIO, A. A.; TONELLO, P. S. Pré-concentração de Cádmio em águas usando *Saccharomyces cerevisiae* e posterior determinação por ICP-OES. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 28., 2005, Poços de Caldas. **Anais da 28ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2005.

Dedico este trabalho

- A **DEUS** por permitir a realização deste sonho.
 - Ao meu pai Walter (*in memoriam*), que com sua sensibilidade me ensinou a sonhar
 - A minha mãe Alice que com sua determinação me ensinou como realizar meus sonhos.
- Obrigado por seu amor.

- Para minha esposa Rita pelo seu amor, companheirismo e dedicação.
- Para meu filho João Paulo, a razão de todo o meu empenho, por seu amor, amizade e paciência.

Obrigado por fazerem minha vida feliz.

- Para minha família, pelas palavras de incentivo, apoio e carinho em todos os momentos dessa caminhada.

Obrigado por estarem sempre comigo.

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores e amigos Prof. André e Prof. Amauri, por acreditarem em mim, pela amizade, por seus exemplos, e por me ajudarem a retomar o caminho dos meus sonhos.

Aos Professores Roberto Naves Domingos e Ana Luiza Brossi Garcia, pela amizade e por permitirem a realização deste trabalho no Centro de Estudos Ambientais.

Ao Professor Cássio Hamilton Abreu Junior pela amizade e por colaborar na realização de análises por ICP-MS no Centro de Energia Nuclear na Agricultura, CENA-USP.

Aos Professores Ademir dos Santos e Leonardo Fernandes Fraceto, pela amizade e sugestões feitas a este trabalho.

A Professora Raquel Fernandes Pupo Nogueira, pela realização das análises de carbono orgânico total, no Instituto de Química de Araraquara UNESP.

Ao Professor José Anchieta Gomes Neto, pela amizade, conselhos e orientação do estágio docência.

Aos Professores do departamento de química analítica do Instituto de Química de Araraquara, por tudo o conhecimento e amizade.

As amigas do Centro de Estudos Ambientais, Francisca Assis Mattioli Gonçalves e Eleni Nadai Malagutti, pela amizade, apoio e incentivo em mais este trabalho.

A todos os colegas de trabalho do Instituto de Química, do Centro de Estudos Ambientais, do Grupo de Estudos Ambientais de Sorocaba e do Grupo Biometal de Rio Claro, que de alguma forma contribuíram com este trabalho.

As funcionárias da secretaria de pós-graduação e da biblioteca do Instituto de Química de Araraquara, Célia, Sandra, Patrícia, Valéria e Cristina, pela ajuda e atenção.

Ao meu amigo e sobrinho Alexandre Vaz de Campos, pelo incentivo e ajuda com as traduções para o inglês.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de estudos e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo recurso financeiro para a realização do trabalho.

RESUMO

As técnicas de ultrafiltração com fluxo tangencial (UF-FT) e de difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT) foram empregadas no estudo da labilidade de Al e Cu em soluções modelo e em amostras de águas de dois rios do litoral do estado de São Paulo, rio Sorocabinha e rio Peropava. Como para técnica DGT, existe a necessidade de se conhecer o valor do coeficiente de difusão dos analitos em hidrogéis, foi construída uma câmara de difusão para a determinação desses coeficientes. As soluções modelo contendo diferentes concentrações de Al ou Cu, na presença de substâncias húmicas aquáticas (SHA), foram submetidas ao procedimento de UF-FT para a determinação das concentrações de metais livres e complexados. Com esses resultados e os coeficientes de difusão dos metais e seus complexos com substâncias húmicas, foram determinados coeficientes de difusão aparentes, específicos para cada solução modelo e/ou amostra. A técnica DGT convencional permitiu a determinação da fração lábil total dos analitos e, usando géis para difusão com diferentes porosidades, foi possível a determinação das frações inorgânicas e orgânicas dos analitos nas soluções modelo e/ou amostras. Para se verificar a exatidão dos resultados foi usado um procedimento de extração em fase sólida (EFS) com coluna preenchida com resina Chelex-100. Os resultados dos coeficientes de difusão de Al, Cu, Al-SH e Cu-SH, determinados através da câmara construída, foram similares aos encontrados na literatura para a mesma temperatura. Com os resultados

da UF-FT, foram determinadas as capacidades complexantes das SH para Al e Cu em 3,7 e 1,0 $\mu\text{mol mg}^{-1}$ de COT, para as SHA do rio Itapanhaú, e 3,9 e 7,4 $\mu\text{mol mg}^{-1}$ de COT para as SHA do rio Sorocabinha. Os resultados da UF-FT e da DGT usando o coeficiente de difusão aparente não diferiram estatisticamente dos encontrados com a EFS, permitindo assim a determinação das frações operacionalmente definidas como livre, lábil, lábil mais moderadamente lábil e inerte dos analitos nas soluções modelo e nas amostras. Os resultados das frações inorgânica e orgânica dos analitos, usando a DGT com diferentes tipos de géis, foram coerentes, sendo que a fração inorgânica foi similar a fração livre, determinada pela UF-FT, e a concentração total (fração inorgânica e fração orgânica) não diferiu estatisticamente do resultado obtido com a EFS para cada solução e/ou amostra. Assim, a técnica DGT associada à UF-FT se apresentou como uma interessante ferramenta para o estudo da labilidade de Al e Cu em sistemas aquáticos ricos em matéria orgânica dissolvida, permitindo a determinação das diversas frações dos analitos, inclusive as que são disponíveis aos constituintes do sistema aquático.

ABSTRACT

The techniques of tangential flow ultrafiltration with (TF-UF) and diffusion gradients in thin films (DGT) were applied in the study of the lability of Al and Cu in model solutions and water samples from two rivers from the coast of the São Paulo state, the Sorocabinha and the Peropava River. As the DGT technique requires the values of the diffusion coefficients of the analytes in hydrogels, a diffusion chamber was built, in order to determine them. The model solutions, which contain different concentrations of Al and Cu when aquatic humic substances (AHS) are present, were submitted to the TF-UF procedure to determine the concentration of free and complexed metals. With these results and the diffusion coefficients of the metals and their complexes with humic substances, apparent diffusion coefficients, which are specific to every model solution and/or sample, were determined. The conventional DGT technique allowed the determination of the total labile fraction of the analytes and using diffusing gels with different pore size, the determination of the inorganic fractions of the analytes in the model solutions and/or samples was possible. To verify the accuracy of the results, a solid phase extraction procedure (SPE) was used, with the column filled with Chelex-100 resin. The results of the diffusion coefficients from Al(III), Cu(II), Al-HS and Cu-HS, determined through the built chamber, were similar to the ones found in the literature for the same temperature. With the TF-UF results the complexing capacities of the HS to Al and Cu were determined as 3.7 and 1.0 $\mu\text{mol mg}^{-1}$

TOC to the AHS of the Itapanhaú River, and 3.9 and 7.4 $\mu\text{mol mg}^{-1}$ TOC to the AHS of the Sorocabinha River. The TF-UF and DGT results using the apparent diffusion coefficients didn't differ statistically to the ones found with the SPE, allowing thus the determination of the free, labile, labile more moderately labile and inert operationally defined fraction of the analytes in the model solutions and the samples. The inorganic and organic fraction results of the analytes, using the DGT with different types of gels, were consistent, being the inorganic fraction similar to the free fraction, determined by the TF-UF, and the total concentration (inorganic fraction and organic fraction) it didn't differ statistically to the result obtained with the SPE to every solution and/or sample. Thus, the DGT technique associated with the TF-UF has presented itself as an interesting tool to the lability study of the Al and Cu in aquatic systems that are rich in dissolved organic matter, allowing the determination of the various fractions of the analytes, including the ones that are available to the constituents of the aquatic system.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Diagrama esquemático e foto do dispositivo DGT.....	35
Figura 2.	a) Esquema de um dispositivo DGT em secção transversal. b) Representação esquemática da concentração de íons metálicos livres no interior de um hidrogel em contato com a solução aquosa.....	43
Figura 3.	Esquema da câmara de difusão desenvolvida para se determinar o coeficiente de difusão dos analitos em cada solução	45
Figura 4.	Determinação da CC na abscissa do ponto de interseção da reta (círculos pretos) e o eixo x. Os círculos brancos formam a região com baixa concentração de metal lábil em solução e os círculos pretos a região onde existe excesso de metal lábil em solução (Adaptado de HAWKE; POWELL; GREGOR,1996, p.14).....	61
Figura 5.	Localização dos sítios de amostragens nos rios Sorocabinha e Peropava.	67
Figura 6.	(a) Esquema do sistema de UF-FT (b) Foto do sistema de UF-FT.....	69
Figura 7.	a) Câmara de difusão aberta b) Fechada contendo a solução fonte no compartimento A e a solução receptora no compartimento B.....	75
Figura 8.	Difusão de cádmio no gel de acrilamida (15%) agarose (0,3%). Dados obtidos com a câmara de difusão.....	85
Figura 9.	Capacidade complexante de substâncias húmicas extraídas do rio Itapanhaú, em relação a Al, medida por UF-FT. Condições: 1,5 mg L ⁻¹ de SH, pH 4,5 e I = 0,05 mol L ⁻¹	90
Figura 10.	Capacidade complexante de substâncias húmicas extraídas do rio Itapanhaú, em relação a Cu, medida por UF-FT. Condições: 15,0 mg L ⁻¹ de SH, pH 5,5 e I = 0,05 mol L ⁻¹	90

Figura 11.	Capacidade complexante de substâncias húmicas extraídas do rio Sorocabinha, em relação a Al, medida por UF-FT. Condições: 1,5 mg L ⁻¹ de SH, pH 4,5 e I = 0,05 mol L ⁻¹ .	91
Figura 12.	Capacidade complexante de substâncias húmicas extraídas do rio Sorocabinha, em relação a Cu, medida por UF-FT. Condições: 15 mg L ⁻¹ de SH, pH 5,5 e I = 0,05 mol L ⁻¹ .	91
Figura 13.	Comparação de resultados da técnica DGT com tempos de imersão de 24 e 72 horas para soluções contendo de 5 a 40 µmol L ⁻¹ de Al em solução de SH 1,5 mg L ⁻¹ do rio Itapanhaú, pH = 4,5 e I = 0,05 mol L ⁻¹ .	95
Figura 14.	Correlação entre os resultados obtidos para Al lábil pelas técnicas DGT e EFS. Soluções contendo de 5 a 50 µmol L ⁻¹ de Al total em solução de SH 1,5 mg L ⁻¹ do rio Itapanhaú, pH 4,5 e I = 0,05 mol L ⁻¹ .	96
Figura 15.	Correlação entre os resultados obtidos para Cu lábil pelas técnicas DGT e EFS. Soluções contendo de 5 a 100 µmol L ⁻¹ de Cu total em solução de SH 15 mg L ⁻¹ extraídas do rio Itapanhaú, pH 5,5 e I = 0,05 mol L ⁻¹ .	98
Figura 16.	Correlação entre os resultados obtidos para Al lábil pelas técnicas UF-FT e DGT usando gel restritivo e coeficiente de difusão para o íon Al livre. D _{Al} = 2,80 ± 0,14 (10 ⁻⁹ m ² s ⁻¹).	105
Figura 17.	Correlação entre os resultados obtidos para Cu lábil pelas técnicas UF-FT e DGT usando gel restritivo e coeficiente de difusão para o íon Cu livre. D _{Cu} = 3,73 ± 0,06 (10 ⁻⁹ m ² s ⁻¹).	105

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Valores de coeficientes de difusão para Al, Cu, substâncias húmicas e complexos Metal-SH, apresentados na literatura	38
Tabela 2.	Coeficientes de difusão (D) para Al(III), Cu(II), Al-SH e Cu-SH medidos em câmara de difusão a 23°C (0,05 mol L ⁻¹ NaNO ₃ , pH 4,5 para Al e 5,5 para Cu) para dois hidrogeis. Unidade dos valores encontrados (10 ⁻⁶ cm ² s ⁻¹)	87
Tabela 3.	Coeficiente de difusão aparente de Al e Cu em soluções modelo com SH do rio Itapanhaú	93
Tabela 4.	Capacidade complexante de substâncias húmicas extraídas do rio Itapanhaú determinadas por DGT e EFS para Al.	97
Tabela 5.	Capacidade complexante de substâncias húmicas extraídas do rio Itapanhaú determinadas por DGT e EFS para Cu.....	99
Tabela 6.	Concentração de Al (μmol L ⁻¹) total, ultrafiltrada, lábil e moderadamente lábil para amostras de águas dos rios Sorocabinha e Peropava	102
Tabela 7.	Concentração de Cu (μmol L ⁻¹) total, ultrafiltrado, lábil e moderadamente lábil para amostras de águas dos rios Sorocabinha e Peropava	102
Tabela 8.	Frações de alumínio livre, lábil inorgânico, lábil orgânico e lábil total, obtidas por UF-FT, DGT com géis restritivos e difusivos e EFS, em soluções modelo.....	108
Tabela 9.	Frações de cobre livre, lábil inorgânico, lábil orgânico e lábil total, obtidas por UF-FT, DGT com géis restritivos e difusivos e EFS em soluções modelo.....	108

Tabela 10.	Concentrações de alumínio lábil inorgânico e orgânico em amostras de água dos rios Sorocabinha e Peropava, determinadas em laboratório	110
Tabela 11.	Concentrações de cobre lábil inorgânico e orgânico em amostras de água dos rios Sorocabinha e Peropava, determinadas em laboratório	110
Tabela 12.	Concentrações de alumínio lábil inorgânico e orgânico em amostras de água dos rios Sorocabinha e Peropava, com imersões “ <i>in situ</i> ”	112
Tabela 13.	Concentrações de cobre lábil inorgânico e orgânico em amostras de água dos rios Sorocabinha e Peropava, com imersões “ <i>in situ</i> ”	112

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DGT – Diffusion gradients in thin films

UF-FT – Ultrafiltração com fluxo tangencial

EFS – Extração em fase sólida

FIA - Flow injection analysis

CC – Capacidade de complexação

COD – Carbono orgânico dissolvido

COT – Carbono orgânico total

SH – Substâncias húmicas

AH – Ácido húmico

AF – Ácido fúlvico

Metal-SH – Complexo de metal com substâncias húmicas

Al-SH – Complexo de alumínio com substâncias húmicas

Cu-SH – Complexos de cobre com substâncias húmicas

Cu-AH – Complexo de cobre com ácido húmico

Pb-AF – Complexos de chumbo com ácido fúlvico

DBL - Diffusive boundary layer

CONAMA – Conselho nacional do meio ambiente

CHEAQS - Chemical equilibria in aquatic systems

MWCO – Molecular weight cut-off

CLE-ACSV - competitive ligand exchange-adsorptive cathodic stripping voltammetry

EIS – Eletrodo de íon seletivo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	24
2. REVISÃO DA LITERATURA	33
2.1 A técnica de difusão em filmes finos por gradiente de concentração	33
2.2 Coeficiente de difusão	36
2.3 Uso da técnica DGT com dispositivos contendo diferentes tipos de géis	39
2.4 Fundamentações teóricas	40
2.4.1 Labilidade de íons metálicos pela técnica DGT	40
2.4.2 Coeficiente de difusão	44
2.4.3 Fracionamento entre espécies lábeis inorgânicas e orgânicas usando a técnica DGT	45
2.5 Uso da técnica DGT em estudos envolvendo Al	49
2.6 Uso da técnica DGT em estudos envolvendo Cu	52
2.7 Capacidade de complexação (CC)	59
3. OBJETIVOS	62
4. MATERIAL E MÉTODOS	63
4.1 Equipamentos e acessórios	63
4.2 Reagentes e soluções	64
4.3 Amostras	66
4.4 Procedimentos	68

4.4.1 Ultrafiltração com fluxo tangencial (UF-FT)	68
4.4.2 Extração em fase sólida usando resina Chelex-100 (EFS)	70
4.4.3 Difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT)	71
4.4.4 Câmara de difusão	73
4.4.5 Determinação dos coeficientes de difusão de Al, Cu, Al-SH e Cu-SH	76
4.4.6 Determinação dos coeficientes de difusão aparente	77
4.4.7 Determinação das concentrações de Al e Cu lábeis	79
4.4.7.1 Estudo da labilidade de Al e Cu – Soluções modelo	79
4.4.7.2 Estudo da labilidade de Al e Cu – Amostras de águas de rios	81
4.4.7.3 Estudo da labilidade de Al e Cu – Medidas “in situ”	81
4.4.8 Comparação entre DGT “restritivo” e UF-FT	82
4.4.9 Fracionamento de Al e Cu inorgânicos e organicamente complexados	83
4.4.10 Tratamento estatístico dos dados	84
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	85
5.1 Coeficientes de difusão dos íons metálicos em hidrogeis	85
5.1.1 Avaliação do desempenho da câmara de difusão	85
5.1.2 Coeficientes de difusão de Al, Cu, Al-SH e Cu-SH	86
5.2 Determinação das frações lábeis de Al e Cu	88

5.2.1 Capacidades complexantes de substâncias húmicas por	
 Al e Cu determinadas por UF-FT.....	88
5.2.2 Coeficientes de difusão aparentes obtidos com	
 soluções modelo	92
5.2.3 Determinação da fração lábil de Al em soluções modelo	94
5.2.4 Determinação da fração lábil de Cu em soluções modelo	98
5.2.5 Determinação das frações lábeis de Al e Cu em	
 amostras de águas de rios	99
5.3 Determinação das frações lábeis de Al e Cu inorgânicas e	
 organicamente complexadas	103
5.3.1 Comparação entre DGT “restritivo” e UF-FT	103
5.3.2 Fracionamento de Al e Cu em soluções modelo.....	106
5.3.3 Fracionamento de Al e Cu em amostras de águas de rios.....	109
5.3.4 Fracionamento de Al e Cu em águas de rios com	
 imersão “in situ”	111
6. CONCLUSÕES	114
REFERÊNCIAS	116

1. INTRODUÇÃO

A ampliação das áreas urbanas, motivada pelo crescimento populacional, e o aumento da produção industrial e agrícola, fundamentadas no desenvolvimento tecnológico e resultante da necessidade crescente de bens de consumo, resultaram em um aumento na taxa de transferência de elementos entre os diferentes compartimentos que compõem o nosso planeta. Associados a esses processos de transferências, surgiram a deterioração e a contaminação dos recursos naturais. Pensando na qualidade de vida e preservação ambiental, tem-se discutido muito a sustentabilidade dos sistemas produtivos e formas mais adequadas de urbanização nos grandes centros para atender as crescentes necessidades da população.

Dos recursos naturais, a qualidade dos recursos hídricos tem sido muito alterada como consequência dos referidos processos de transferência. Em muitas regiões densamente povoadas, os rios ainda são o destino para os efluentes domésticos e muitas vezes para o lixo urbano e agrícola.

Os efluentes industriais e domésticos, a aplicação de pesticidas e herbicidas às lavouras e os remanescentes de poluentes do ar, são fatores que têm contribuído para a poluição dos ambientes aquáticos (AZEVEDO; CHASIN, 2003; HOLT, 2000; REBOUÇAS, 1997). Os metais potencialmente tóxicos representam um grupo importante de poluentes nesses ambientes, pois não são degradados por processos químicos ou biológicos (ALLOWAY, 1993). Em concentrações elevadas podem causar a morte de peixes, de

seres fotossintetizantes (LACERDA, 1997) e, por efeito acumulativo, quando introduzidos no organismo humano através da alimentação, podem originar doenças e/ou até levar a morte (CHAPMAN, et al., 1996).

O alumínio é o elemento metálico mais abundante da crosta terrestre. Em função de suas características de leveza, condutividade elétrica, resistência à corrosão e baixo ponto de fusão, ele é componente de produtos industrializados como a estrutura de aviões, barcos e automóveis, de embalagens para alimentos e bebidas, de produtos usados na construção civil, de utensílios de cozinha, de ferramentas e de linhas de transmissão elétrica (AZEVEDO; CHASIN, 2003). O alumínio também está presente nas indústrias químicas ligadas a higiene, saúde e no processo de purificação da água potável, onde esse metal aparece na forma de sulfato de alumínio, $\text{Al}(\text{SO}_4)_3$ usado para captura e retirada de partículas coloidais da água, sendo freqüentemente descarregado nos corpos aquáticos sob a forma de lodo, contendo $\text{Al}(\text{OH})_3$ (s), após o processo físico-químico de tratamento da água bruta (BAIRD, 2002).

Assim, pela sua intensa utilização, o alumínio é um exemplo de metal que apresenta risco de contaminação ao meio ambiente. Nos cursos de água, sua ocorrência natural provém de formações geológicas do solo e/ou da deposição de partículas de poeira, suspensas na atmosfera, provenientes de minérios e materiais rochosos da superfície terrestre. Sua concentração nos corpos d'água pode aumentar devido a várias atividades antrópicas, como o processo de erosão das superfícies de solos cultivados, promovido por

chuvas ácidas, pelos efluentes provenientes das indústrias de borracha, lubrificante, cimento e medicamento, pelos efluentes domésticos ou ainda pelos resíduos do tratamento de água para consumo humano (AZEVEDO; CHASIN, 2003; HOLT, 2000).

O cobre é possivelmente o metal mais antigo conhecido pela humanidade, sua utilização é conhecida desde 8700 a.C. Por ter elevada condutibilidade elétrica e térmica, sua aplicação por excelência é na produção de fios e cabos para condução de energia elétrica (AZEVEDO; CHASIN, 2003).

Na agricultura, o cobre é considerado um micronutriente para as plantas por estar presente em enzimas e ser essencial às suas atividades. Ele participa nos processos de fotossíntese, respiração, regulação hormonal, fixação de nitrogênio e metabolismo de compostos secundários (MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, 1997) e, por isso, é um elemento presente na composição de fertilizantes agrícolas. O controle da população de algas em lagoas eutrofizadas, em águas destinadas ao abastecimento público e em águas de recreação, pode ser feito através de compostos a base de cobre. Assim, como o alumínio, sua intensa utilização, também faz do cobre um elemento com potencial de contaminação ambiental.

Estima-se que grande quantidade de cobre seja liberada para o ambiente, principalmente, por ações antrópicas. Sua ocorrência pode ser proveniente de emissões nas atividades de mineração e fundição, da queima de carvão como fonte de energia, da emissão dos incineradores de resíduos

municipais, de seu uso na agricultura e pecuária, de excretas de animais e de efluentes domésticos. As atividades de mineração e purificação do metal são as fontes emissoras mais importantes, entretanto, o uso de resíduos sólidos como o lixo doméstico e restos de culturas em processos de compostagem, também são fontes ricas desse elemento, que se lixiviado, pode chegar aos corpos de água, produzindo a contaminação dos mesmos (AZEVEDO; CHASIN, 2003).

Apesar da exceção feita a alguns elementos, onde se deve determinar a fração livre ou dissolvida, como descrito na resolução CONAMA 357 de março de 2005, a maior parte das normas usadas em programas de monitoramento ambiental em sistemas aquáticos, tem requisitado a determinação da quantidade total dos elementos químicos, particularmente para metais. Apesar de importantes, essas determinações não fornecem todas as informações para tomada de decisões, pois a (bio-)disponibilidade de metais é influenciada principalmente pela espécie química encontrada na natureza e não somente pela concentração total (BERNHARD; BRINCKMAN; SADLER, 1986; MORRISON; BATLEY; FLORENCE, 1989). Também, o comportamento metabólico, a biomagnificação na cadeia alimentar e a toxidez estão diretamente associados às espécies presentes nos sistemas biológicos (DONARD; CARUSO, 1998; SANZ-MEDEL, 1998).

Tessier, Campbell e Bisson (1979) mostraram que os metais ocorrem nos ambientes naturais em diferentes formas químicas como: sais inorgânicos, óxidos, hidróxidos, espécies organometálicas, complexados com

substâncias húmicas (SH) e integrando estruturas de aminoácidos, proteínas e enzimas. O estudo da distribuição dos metais entre várias espécies químicas bem definidas e como essas espécies influenciam o meio é denominado, segundo o “Guia de recomendações 2000” da *International Union for Pure and Applied Chemistry* (IUPAC), por “especação” e as atividades analíticas de identificação e medida dessas espécies, necessárias ao estudo da especação, são designadas por “análises de especação”. A especação é influenciada por diversos fatores como o pH, potencial redox, tipos e concentração de ligantes orgânicos e inorgânicos, material particulado e coloidal (ROCHA; ROSA, 2003; TEMPLETON, et al., 2000).

Em alguns casos, como o de metais em águas com alto teor de matéria orgânica dissolvida, apenas a classificação do analito, segundo alguma propriedade física ou química, denominada neste caso por “fracionamento”, pode ser suficiente para a avaliação do potencial contaminante deste no sistema (TEMPLETON, et al., 2000).

Assim, entende-se que existe a necessidade de se estabelecer e implementar métodos analíticos capazes de fornecer informações consistentes sobre as espécies ou grupos de espécies de Al e Cu em sistemas aquáticos, para estudos ambientais, principalmente, levando-se em consideração que suas concentrações devem ser ínfimas em sistemas aquáticos naturais (Al dissolvido $< 0,1 \text{ mg L}^{-1}$ ($3,71 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) e Cu dissolvido $< 0,009 \text{ mg L}^{-1}$ ($0,14 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) – CONAMA 357).

No estabelecimento de um método analítico, as fases de coleta, preservação e preparo das amostras são críticas, pois podem ocorrer alterações das condições originais de equilíbrio, resultando em espécies químicas diferentes daquelas que realmente ocorrem no sistema monitorado (DONARD; CARUSO, 1998). O grau de dificuldade para manter a integridade da espécie de interesse depende de suas propriedades físico-químicas. Por exemplo, as condições analíticas exigidas para determinação de compostos organometálicos de estanho, termodinamicamente estáveis e cineticamente inertes, são menos rigorosas do que as necessárias para a determinação de espécies ou grupos de espécies fracamente ligadas e não inertes, como o alumínio lábil (SANZ-MEDEL, 1998).

Outra dificuldade encontrada na determinação de espécies de elementos traços é a interferência ocasionada pela complexidade da matriz durante as etapas de separação e/ou detecção do analito. Deste modo, na análise de especiação, os métodos desenvolvidos geralmente envolvem várias etapas, incluindo a extração, separação, pré-concentração e detecção (SANZ-MEDEL, 1998).

A detecção direta e específica da espécie e as técnicas hífenadas (ou híbridas) são as estratégias analíticas mais usadas para análise de especiação (DONARD; CARUSO, 1998; SANZ-MEDEL, 1998; VANLOON; BAREFOOT, 1992). A conveniência e o desempenho de cada técnica dependem, dentre outros fatores, das espécies de interesse e do tipo de amostra a ser analisada.

Os métodos de detecção direta e específica são, em princípio, ideais para análise de especiação, pois proporcionam a determinação de uma dada espécie sem nenhum tratamento preliminar. Nesta condição são evitadas alterações no equilíbrio do sistema ou na natureza da espécie de interesse.

Técnicas eletroquímicas como a potenciometria com eletrodo de íon seletivo (EIS), vêm sendo empregadas na detecção direta e específica de espécies. Métodos voltamétricos têm sido úteis para distinguir formas metálicas estáveis e lábeis em soluções aquosas (VANLOON; BAREFOOT, 1992). Contudo, as sensibilidades dos EIS são insuficientes para a determinação de traços e ultra traços de Hg, Cd, Pb e, mesmo as técnicas eletroquímicas mais sensíveis, como a voltametria de redissolução, em alguns casos, têm sensibilidade e seletividade insuficientes para detecção direta e específica de espécies de vários elementos traços (SANZ-MEDEL, 1998). Além disso, a detecção *"in-situ"*, ideal para avaliação de espécies lábeis, é inviável devido à necessidade das medidas serem realizadas sob condições controladas, diferentemente do que ocorre nos sistemas aquáticos.

A técnica da ultrafiltração (UF) tem sido usada com sucesso na distinção entre complexos orgânicos e metais livres nos sistemas aquáticos contendo substâncias húmicas (SH - ácidos húmicos e ácidos fúlvicos) (BURBA, et al., 1998; DENNEY; SHERWOOD; LEYDEN, 1999; HASSAN, et al., 2006; NIFANT'EVA, et al., 2001; POKROVSKY; SCHOTT; DRUPÉ, 2006; ROMÃO, et al., 2003). O princípio da técnica é a separação de colóides da solução usando uma membrana de porosidade muito pequena (geralmente 1

kDa). As concentrações dos metais determinadas no filtrado, representam convencionalmente as concentrações dos metais livres, embora se reconheça que uma pequena porção de metais complexados com matéria orgânica com pequeno tamanho molecular (<1 kDa) possa ser incluída. As concentrações dos metais complexados com SH são determinadas pela diferença entre o total dissolvido e os valores encontrados para os metais livres. Essa técnica é aplicável a uma ampla faixa de elementos, não existindo limitações de força iônica e pequena alteração do equilíbrio dos complexos. Entretanto, este procedimento analítico não é facilmente aplicável para diferenciação *“in situ”* de espécies lábeis ou inertes em sistemas aquáticos.

Técnicas que permitam a detecção direta e específica de metais traços e que envolvam o uso de amostradores passivos, com aplicação *“in situ”*, podem resolver a maior parte dos problemas encontrados em outras técnicas como a baixa sensibilidade, seletividade e dificuldade de aplicação. A técnica de difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT) é um exemplo, e tem se apresentado como uma boa opção.

A técnica DGT tem por base um amostrador passivo simples, que imerso em um meio líquido, permite a difusão controlada de íons metálicos através de um meio poroso, que geralmente é um gel, até um material ligante, que na maior parte das aplicações é a resina Chelex-100. O material ligante retém os íons metálicos para posterior determinação em laboratório sob condições bem controladas.

Quando o dispositivo da DGT é imerso em regimes de convecção descontrolados, como as águas de rios e mares, as medidas realizadas são independentes das variações do fluxo (DAVISON; ZHANG, 1994; ZHANG; DAVISON, 1995).

Entre as principais vantagens da técnica DGT, podem ser mencionadas: a discriminação das espécies “*in-situ*”, a simplicidade do dispositivo usado e de sua aplicação, a possibilidade de separação e diferenciação de analitos, determinações de concentrações médias por tempo e pré-concentração dos analitos (ZHANG; DAVISON, 1995, 2000).

Assim, dadas as características das técnicas de UF e DGT, foi proposta uma investigação sobre a labilidade de Al e Cu em sistemas aquáticos com alta concentração de matéria orgânica, usando as técnicas de UF e DGT de forma complementar. Foram discriminadas as principais frações: fração livre, cineticamente lábil, moderadamente lábil e inerte. Foi proposta uma forma de determinação da fração lábil total dos metais usando um coeficiente de difusão aparente, obtido com os dados da UF. A exatidão dos resultados foi verificada através de um procedimento de extração em fase sólida (EFS). E a técnica DGT também foi usada com diferentes tipos de meios para a difusão dos analitos, para a distinção entre as frações lábeis inorgânicas e orgânicas dos metais, com os resultados também comparados ao procedimento EFS.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A técnica de difusão em filmes finos por gradiente de concentração

A técnica DGT, apresentada por Davison e Zhang (1994), permite medidas de íons metálicos livres e/ou espécies cineticamente lábeis presentes em ambientes aquáticos. Esta técnica, baseada na primeira lei de Fick para difusão, utiliza um amostrador passivo, composto por uma peça plástica em forma de pistão sobre a qual é colocado um disco de gel, normalmente de acrilamida/agarose, impregnado com resina Chelex-100. Este disco é sobreposto por outro disco do mesmo gel, com porosidade controlada, que tem a finalidade de imprimir ao analito que entra no dispositivo, uma difusão constante. Dependendo da porosidade do segundo disco de gel, ele recebe o nome de “difusivo” ou “restritivo”. O gel convencionalmente chamado de difusivo é formado por poros de grande diâmetro, que permitem a passagem de íons metálicos livres e de complexos orgânicos (Metal-SH). O gel chamado de restritivo é composto por poros de pequeno diâmetro, que restringem a passagem dos complexos orgânicos de elevada massa molecular.

O segundo disco de gel (difusivo ou restritivo) é então sobreposto por uma membrana de nitrato de celulose (diâmetro de poros de 0,45 μm) para evitar entupimento do gel por material particulado suspenso.

Todo o sistema de géis e membrana é fechado por uma tampa plástica contendo um orifício, por onde os íons metálicos existentes na amostra

podem entrar no dispositivo, se difundindo através do disco de gel puro, até serem adsorvidos pela resina Chelex-100 (**Figura 1**).

Durante a imersão do dispositivo, os íons metálicos se difundem de maneira controlada através da primeira camada de gel em direção ao agente ligante, estabelecendo no interior do gel um gradiente constante de concentração. Após um tempo pré-determinado de imersão, o dispositivo é recolhido, aberto, a quantidade total de íons metálicos acumulados no agente ligante é recuperada e determinada por uma técnica analítica apropriada. Esse valor é então usado na quantificação das concentrações das espécies lábeis no sistema através da 1ª Lei de Fick para a difusão.

A técnica DGT pode ser aplicada em meios aquáticos com grande variabilidade no fluxo hídrico, como é o caso das águas de rios e mares, pois estas variações não alteram os resultados das medidas (DAVISON; ZHANG, 1994; ZHANG; DAVISON, 1995).

A principal vantagem da técnica DGT é a sua capacidade de discriminação das espécies “*in-situ*”, permitindo que apenas a quantificação dos metais seja realizada no laboratório, sob condições bem controladas.

Outros atrativos da 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, permitindo determinar as espécies em baixíssimos níveis (ZHANG; DAVISON, 2000).

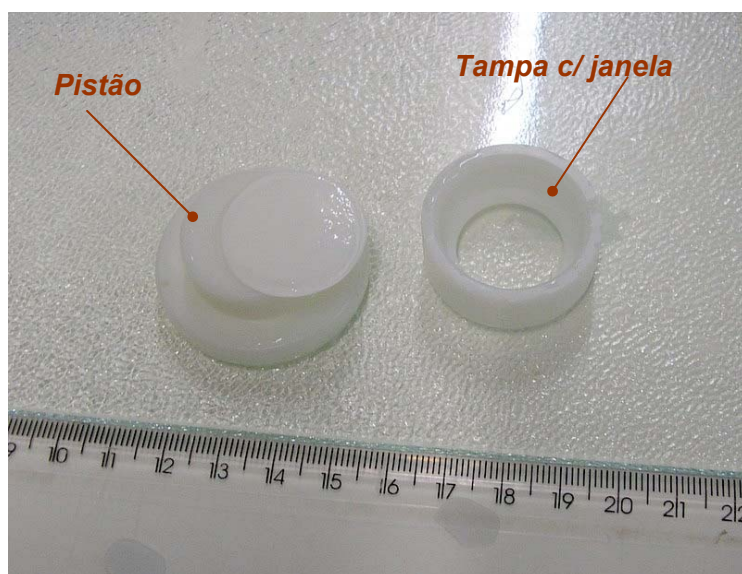
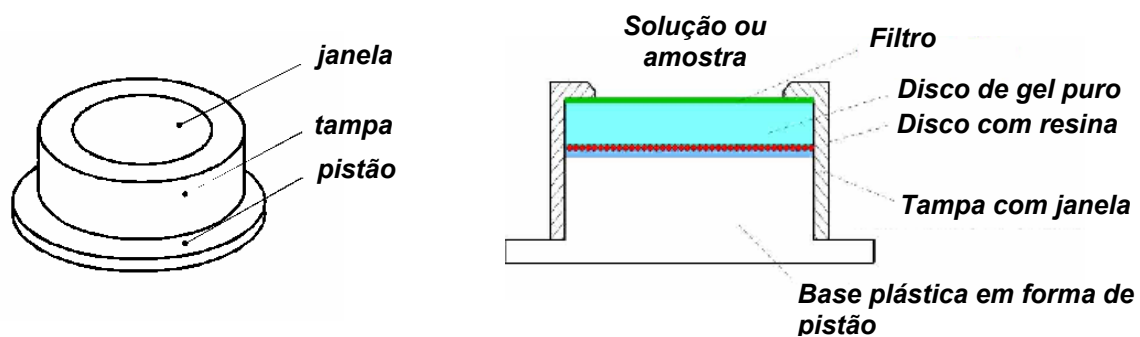


Figura 1. Diagrama esquemático e foto do dispositivo DGT.

2.2 Coeficiente de difusão

Como a técnica DGT é fundamentada na taxa de difusão das espécies químicas em um filme fino, é necessário se conhecer o coeficiente de difusão (D) dessas espécies no meio de difusão.

O coeficiente de difusão pode sofrer significativas variações com o tipo de analito, com as características do filme fino, geralmente um gel, e com a temperatura do sistema estudado. Amostras com valores de força iônica inferiores a $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ podem produzir aumento no valor do coeficiente de difusão. Porém, como a faixa de trabalho é muito extensa, aproximadamente de 1 a $10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, os resultados finais normalmente não são afetados de forma significativa (ZHANG; DAVISON, 1995, 1999, 2000, 2001). Assim, determinado o valor para o coeficiente de difusão de um analito num determinado gel em uma dada temperatura de trabalho, esse valor poderá ser empregado em diferentes sistemas, desde que mantidos o mesmo gel e a mesma temperatura.

Coeficientes de difusão absolutos de íons metálicos, de algumas SH e de alguns complexos Metal-SH, para géis de várias composições, são encontrados na literatura (AUNG; NAKAJIMA; FURUMAI, 2008; SCALLY; DAVISON; ZHANG, 2006; ZHANG, 2004; ZHANG; DAVISON, 1999; WARNKEN, et al., 2007) e no manual da DGT Research Ltd. (2008). Sistemáticamente tem-se verificado que os coeficientes de difusão para SH e complexos Metal-SH são similares, porém, consideravelmente inferiores aos dos íons metálicos livres (ZHANG; DAVISON, 1999).

A **Tabela 1** apresenta resultados de alguns autores para coeficientes de difusão de íons livres e complexos orgânicos. Os valores estão apresentados na unidade $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$, pois é como são comumente encontrados na literatura.

Tabela 1. Valores de coeficientes de difusão para Al, Cu, substâncias húmicas e complexos Metal-SH, apresentados na literatura

Autor	Solução	Método	$\theta(^{\circ}\text{C})$	Gel	Analito($\text{D} \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$)
ZHANG, DAVISON, (1999)	Água sintética de lago, $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaNO}_3$, pH 6	C.D.	16	D	Ag(11,7), Ba(6,47), Cd(5,37), Co(5,47), Cr(4,50) Cu(5,48), Ni(5,28), Pb(7,17), Sr(6,42), Zn(5,54)
	Água sintética de lago $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaNO}_3$, pH 2	C.D.	17	D	Ag(12,6), Al(4,51), Ba(6,55), Cd(5,59), Co(5,49), Cr(4,73) Cu(5,88), Mn(5,52), Ni(5,52), Pb(7,23), Sr(6,36), Zn(5,81)
	90 mg L^{-1} AH e AF $0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaNO}_3$ pH 7,8	C.D.	20	D	Cd(6,18), Cu(6,28), AF água(1,15), AH água(0,60), AH solo(0,35), Cu-AF(0,57)
				R	Cd(4,43), Cu(4,50), AF água(0,37), AH água(0,18)
DOWNARD, et al., (2003)	$0,01 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaNO}_3$ pH 4,6 (Al) e pH 5,1(Cu)	C.D.	23	D	Al(4,4), Cu(6,94), AF(1,72)
SCALLY, et al., (2006)	$0,1 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaNO}_3$ pH>5	C.D.	25	D	Pb(8,00), Ni(5,77), Cd(6,09), Cu(6,42)
				R	Pb(5,39), Ni(3,87), Cd(3,96), Cu(4,41)
	$0,01 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaNO}_3$ pH>5	C.D.	25	D	Pb(8,48), Ni(6,18), Cd(6,45), Cu(6,30), Pb-AF(1,70)
				R	Pb(6,14), Ni(4,28), Cd(4,02), Cu(4,40), Pb-AF(0,52)
	$0,001 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaNO}_3$ pH>5	C.D.	25	D	Pb(8,22), Ni(6,04), Cd(6,52), Cu(6,45)
				R	Pb(5,58), Ni(4,01), Cd(3,87), Cu(4,18)
DGR Research Ltd. (2008)	$0,01 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaNO}_3$ pH>5	C.D.	23	D	Ag(13,36), Al(4,50), Cd(5,77), Co(5,63), Cr(4,78), Cu(5,90), Fe(5,79), Mn(5,54), Ni(5,47), Pb(7,61), Zn(5,76)
				R	Ag(9,35), Al(3,15), Cd(4,04), Co(3,94), Cr(3,35), Cu(4,13), Fe(4,05), Mn(3,88), Ni(3,83), Pb(5,32), Zn(4,03)

C.D. – Câmara de difusão

D – gel difusivo, R – gel restritivo

2.3 Uso da técnica DGT com dispositivos contendo diferentes tipos de géis

Estudos utilizando dispositivos DGT equipados com filmes finos de diferentes porosidades ou diferentes espessuras permitem não somente a determinação da labilidade total do analitos, mais também informações complementares sobre as espécies inorgânicas e orgânicas existentes no sistema aquático.

Informações sobre a distribuição de íons metálicos entre espécies inorgânicas e orgânicas com elevada massa molecular podem ser obtidas através da técnica DGT, fazendo uso de dispositivos equipados com géis para a difusão dos analitos, tendo a mesma espessura, porém apresentando diferentes distribuições de poros (SCALLY; ZHANG; DAVISON, 2004; ZHANG, 2004; ZHANG; DAVISON, 2000, 2001). Usando a DGT com os diferentes tipos de géis, Scally, Zhang e Davison (2004) estudaram a distribuição de Pb entre espécies formadas por complexos inorgânicos e complexos orgânicos. Foram usadas soluções contendo Pb e um dos ligantes: ácido fúlvico, ácido húmico e ácido nitriloacético. Três dispositivos DGT com géis de diferentes porosidades foram usados. Os resultados encontrados foram concordantes com aqueles propostos pelos programas de especiação ECOSAT e WHAM.

Foram determinados nas águas do rio Tama em Tokyo, Japão, complexos lábeis inorgânicos e orgânicos de Ni, Cu, Zn, Cd e Pb através de dispositivos DGT com dois diferentes tipos de géis, um com poros de grande

diâmetro, gel difusivo e outro com poros de pequeno diâmetro, gel restritivo. A concentração total de metais dissolvidos foi determinada em intervalos de uma hora durante o tempo de imersão dos dispositivos DGT e os valores comparados proporcionalmente aos valores encontrados com a técnica DGT. Os resultados do DGT foram comparados ao programa computacional WHAM VI (AUNG; NAKAJIMA; FURUMAI, 2008).

Estudos semelhantes envolvendo a determinação de complexos lábeis inorgânicos e orgânicos pela técnica DGT usando diferentes tipos de géis, foram realizados em amostras de água do rio Wyre, UK. Foram determinadas as frações lábeis inorgânicas e orgânicas para os íons de Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Cd e Pb. Nestes trabalhos os autores também realizaram estudos “*in situ*” sobre a cinética de dissociação de complexos. Usando dispositivos DGT contendo géis de acrilamida/agarose com espessuras de 0,3; 0,54; 1,34 e 2,14 mm, foram avaliadas as taxas de dissociação dos complexos formados por Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Cd e Pb com ácidos fúlvicos (WARNKEN; DAVISON; ZHANG, 2008; WARNKEN, et al., 2007).

2.4 Fundamentações teóricas

2.4.1 Labilidade de íons metálicos pela técnica DGT

A técnica DGT é fundamentada na 1ª Lei de Fick para difusão, deve existir um fluxo de íons metálicos que se difundem da solução/amostra para a resina adsorvente através de uma camada de gel de acrilamida/agarose,

formando no interior do gel um gradiente constante de concentração (**Figura 2**).

O fluxo de íons metálicos através do gel pode ser determinado pela expressão matemática:

$$F = \frac{DC_s}{\Delta g} \quad (1)$$

- **D** é o coeficiente de difusão do íon no interior do gel.
- **C_s** é a concentração da solução da amostra.
- **Δg** é a espessura do gel por onde o íon se difunde.

Como o fluxo pode ser definido em relação à massa (**M**) de íons metálicos que atravessam a área (**A**) do gel durante um intervalo de tempo (**t**), pode-se escrever:

$$F = \frac{M}{At} \quad (2)$$

Comparando as expressões (1) e (2), explicitando a expressão resultante para a concentração da solução da amostra, tem-se:

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

A massa do íon metálico que difunde pela camada de gel pode ser obtida pela medida direta da concentração desse íon retido na camada de resina (C_E). Deve-se considerar o volume de ácido usado na eluição do íon (V_{Ac}), o volume do gel que contém a resina (V_{Gel}) e a fração de metal ligado a resina que pode ser removida para solução através do ácido - fator de eluição (f_e).

$$M = \frac{C_E (V_{Gel} + V_{Ac})}{f_e} \quad (4)$$

Para os metais capazes de serem adsorvidos pela resina Chelex-100, quando eluidos com solução de HNO_3 1 mol L^{-1} , o fator de eluição assume valor próximo a 0,8 (DGT RESEARCH LTD., 2008).

Portanto, substituindo-se na expressão (3) o valor da massa do íon metálico retido pelo dispositivo DGT e determinado pela expressão (4), obtêm-se a concentração dos íons cineticamente lábeis (C_S) existentes na solução da amostra em estudo.

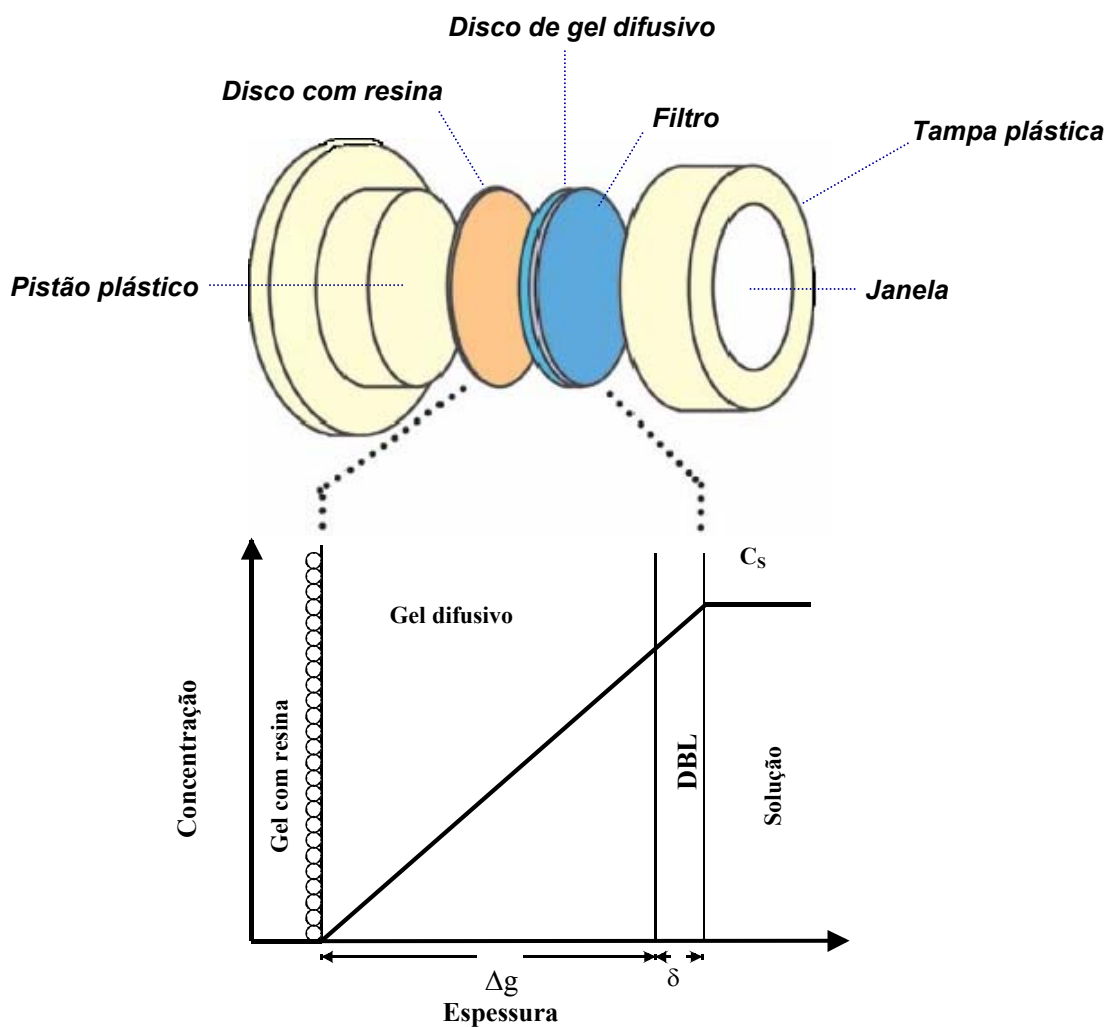


Figura 2. Esquema de um dispositivo DGT e representação gráfica da concentração de íons metálicos lábeis no interior de um hidrogel em contato com a solução aquosa

2.4.2 Coeficiente de difusão

O coeficiente de difusão de um analito que se difunde através de um filme fino (geralmente um gel de acrilamida/agarose) pode ser determinado através de uma câmara de difusão semelhante a da **Figura 3**. Ela é formada por dois compartimentos de mesmo volume (A e B) separados por uma parede fixa contendo um orifício que permite a interligação dos compartimentos e onde é fixado o filme fino, gel de acrilamida/agarose.

No compartimento A é colocado uma solução contendo o analito, chamada de solução “fonte”. O compartimento B recebe o mesmo volume de uma solução com mesma composição da solução fonte, porém sem o analito – solução “receptora”. As soluções nos compartimentos devem permanecer sob constante agitação. Em intervalos de tempo pré-estabelecidos, alíquotas de mesmo volume são retiradas dos dois compartimentos e a concentração do analito determinada.

Conhecendo a temperatura das soluções, a massa do analito que difundiu para o compartimento B através do gel, a espessura e área do gel exposta às soluções e considerando que a concentração do analito no compartimento A se manteve praticamente inalterada, o coeficiente de difusão (**D**) será calculado segundo a expressão (ZHANG; DAVISON, 1999):

$$D = \frac{a\Delta g}{C_A S} \quad (5)$$

- a é o coeficiente angular da relação linear entre a massa do analito determinada para o compartimento B e o intervalo de tempo de amostragem.
- Δg é a espessura do gel por onde se difunde o analito.
- C_A é a concentração do analito no compartimento A.
- S é a área do gel exposta às soluções ou a área do orifício na parede entre os compartimentos.

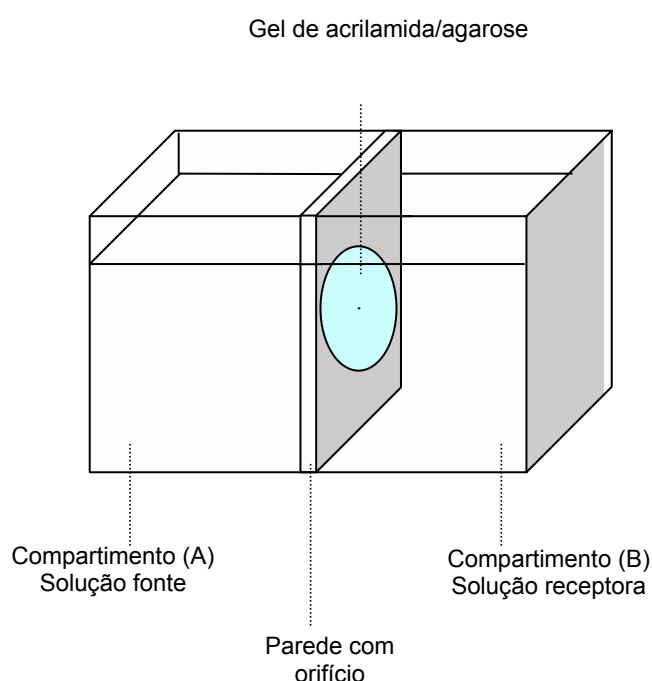


Figura 3. Esquema da câmara de difusão desenvolvida para se determinar o coeficiente de difusão dos analitos em cada solução.

2.4.3 Fracionamento entre espécies lábeis inorgânicas e orgânicas usando a técnica DGT

O método usado para o fracionamento entre as espécies lábeis inorgânicas e orgânicas, pressupõe que em águas naturais: (*i*) a maior parte

dos complexos orgânicos lábeis (Metal-SH) são moléculas razoavelmente grandes e que (ii) os complexos orgânicos lábeis de moléculas pequenas, tem concentrações desprezíveis quando comparadas ao total das espécies inorgânicas do analito (M). As condições impostas são muito aceitáveis para sistemas aquáticos onde se observam altas concentrações de substâncias húmicas aquáticas (ZHANG, 2004).

Assim, dispositivos DGT contendo diferentes tipos de géis, com diferentes tamanhos de poros devem ser imersos em uma mesma solução/amostra e sob as mesmas condições. A massa de metal acumulada em cada dispositivo (M_{DGT}) será a soma das contribuições de cada espécie lábil, inorgânica (M_{inorg}) e orgânica (M_{org}) como apresentado pela expressão (6).

$$M_{DGT} = M_{inorg} + M_{org} \quad (6)$$

As massas de cada fração lábil podem ser calculadas pelas expressões (7) e (8).

$$M_{inorg} = \frac{(D_{inorg} C_{inorg} At)}{\Delta g} \quad (7)$$

$$M_{org} = \frac{(D_{org} C_{org} At)}{\Delta g} \quad (8)$$

onde C_{inorg} e C_{org} são, respectivamente, as concentrações das espécies lábeis inorgânicas e orgânicas presentes na solução/amostra.

Assumindo que para os analitos, as espécies inorgânicas tenham o mesmo coeficiente de difusão do íon livre (D_{inorg}), que as espécies orgânicas tenham difusões representadas por um valor médio (D_{org}), o que é razoável para as SH, e que os dispositivos DGT são idênticos na área superficial, na espessura do gel e no tempo de imersão, a massa do analito retido na resina poderá ser calculada pela expressão (9).

$$M_{DGT} = \frac{(D_{inorg}C_{inorg} + D_{org}C_{org})At}{\Delta g} \quad (9)$$

Como o termo $At/\Delta g$ é constante para todos os dispositivos DGT usados, poderá ser representado por uma constante k . A equação anterior pode então ser escrita da forma:

$$\frac{M_{DGT}}{(kD_{inorg})} = C_{inorg} + \left(\frac{D_{org}}{D_{inorg}} \right) C_{org} \quad (10)$$

Da reta obtida pelo gráfico $M_{DGT}/(kD_{inorg})$ em função de D_{org}/D_{inorg} , o coeficiente linear será a concentração das espécies lábeis inorgânicas e o coeficiente angular a concentração das espécies lábeis orgânicas (ZHANG, 2004; ZHANG; DAVISON, 2000, 2001).

O fracionamento das espécies lábeis pode ser conduzido usando-se dispositivos DGT com apenas dois tipos de géis, um difusivo (poros de grande diâmetro) que deve permitir a difusão livre das espécies lábeis tanto

inorgânicas como orgânicas e outro restritivo (poros de pequeno diâmetro) que deve restringir a difusão da maior parte dos complexos orgânicos, principalmente os formados com substâncias húmicas. Assim, as concentrações das espécies inorgânicas e organicamente complexadas presentes na solução/amostra, podem ser determinadas pelas expressões (11) e (12).

$$C_{inorg} = \frac{\left({}^oM / {}^oD_{org} - {}^rM / {}^rD_{org} \right)}{\left[k \left({}^oD_{inorg} / {}^oD_{org} - {}^rD_{inorg} / {}^rD_{org} \right) \right]} \quad (11)$$

$$C_{org} = \frac{\left({}^oM / {}^oD_{inorg} - {}^rM / {}^rD_{inorg} \right)}{\left[k \left({}^oD_{org} / {}^oD_{inorg} - {}^rD_{org} / {}^rD_{inorg} \right) \right]} \quad (12)$$

em que oM , ${}^oD_{inorg}$ e ${}^oD_{org}$ representam a massa do metal acumulado no dispositivo DGT contendo gel difusivo e os coeficientes de difusão das espécies inorgânicas e orgânicas para esse gel, respectivamente. Os termos com índice “*r*” são equivalentes para o gel restritivo (ZHANG; DAVISON, 2000).

2.5 Uso da técnica DGT em estudos envolvendo Al

A técnica DGT foi comparada a técnica de diálise para a determinação de Al, Fe e Zn em 4 amostras de solos ácidos. Foram preparadas soluções aquosas contendo 20 ou 75 mg de C por litro, com pH ajustado em 4,0 e 7,0. Para as soluções com pH 4,0 não foram verificadas diferenças significativas entre os resultados das técnicas, para o teor de metais livres. Para as soluções em pH 7,0 foi observada diferença apenas em relação ao Zn, com os valores determinados pela DGT superiores aos obtidos pela diálise (JANSEN et al., 2001). Os resultados da técnica DGT também foram comparados aos resultados obtidos com os programas de especiação V e VI. Foram determinados Al(III) e Fe(III) em soluções contendo matéria orgânica e pH com valores 3,5; 4,0 e 4,5. Uma boa correlação foi verificada entre os valores preditos pelos programas de especiação para Al e os resultados obtidos pela DGT. Para soluções com baixas relações [Al]:[C], a técnica DGT apresentou valores superiores aos programas de especiação, indicando a presença de complexos orgânicos lábeis menores que 1 kDa, detectados pela DGT. Para Fe, a fração inorgânica dissolvida prevista pelo programa V apresentou boa correlação com a concentração determinada pela DGT (JANSEN; MULDER; VERSTRATEN, 2003).

Um estudo conduzido em amostras de águas ácidas de rio relacionou a concentração de Al lábil determinado pela DGT nas amostras com o estresse dos peixes desse rio (trutas) causado pelo acúmulo de Al em suas brânquias. Foi verificado que a concentração de Al lábil determinada pela DGT é

comparável a quantidade de Al necessária para se induzir os peixes ao estresse (ROYSET, et al., 2005).

Na baía Brown e baía O'Brien do continente Antártico, dispositivos DGT para água e sedimento foram usados na avaliação das condições ambientais daqueles ecossistemas. Foram determinadas as concentrações lábeis de, Cd, Fe, Ni, Sn, Pb, Al, Cr, Mn, Co, Cu, Zn e As tanto nas águas como nos sedimentos. Verificou-se que, mesmo sendo a baía Brown ambientalmente impactada e a baía O'Brien preservada, as concentrações dos metais determinadas nas águas das duas baías foram equivalentes. Também foram observadas apenas pequenas diferenças entre as concentrações de Cd, Al, Cr, Co, Ni e Cu para as amostras dos sedimentos. Entretanto foram determinadas concentrações de Pb, Mn, Fe e As consideravelmente superiores na baía Brown (LARNER; SEEN; SNAPE, 2006).

A técnica DGT foi usada para o estudo da cinética de troca de complexos metálicos em águas de rios. Dispositivos DGT com géis difusivos de espessuras variando de 0,16 a 2,0 mm foram usados "*in situ*" nas águas de um rio contendo 15 mg L⁻¹ de carbono orgânico dissolvido (COD). Através do gráfico que representa a relação entre o inverso da massa determinada pela DGT com a espessura do gel, determinou-se a constante de dissociação dos complexos orgânicos de Cd, Pb, Zn, Mn, Co, Ni, Cu, Al e Fe. O valor determinado foi superior ao obtido em laboratório por técnicas tradicionais, indicando que os complexos de metais traços, na realidade devem ser mais lábeis do que se previa (WARNKEN, 2007).

Sondergaard (2007) avaliou a técnica DGT para determinação de Al e Mn em condições com baixos valores de pH, característicos das águas de drenagem em mineração. Foram usadas soluções ácidas e amostras de águas residuárias de mineração. Para Al e Mn, os resultados mostraram que a DGT pode ser usada em amostras com valores de pH tão baixos como 3,0 e 4,0 respectivamente. Para amostras *“in situ”*, o uso de um fator de correção associado ao pH, permite a determinação de 84 a 100% (m/m) do total de Al e Mn dissolvidos nas amostras. Os resultados foram conferidos pelo programa de especiação WHAM VI. Em outro estudo, Sondergaard et al. (2008), usando a técnica DGT, avaliaram as frações lábeis e (bio-)disponíveis de Al e Cu em águas ácidas de drenagem provenientes de uma mina de carvão desativada. Foi verificado que a maior concentração dos metais dissolvidos foi determinada nas amostras com os menores valores de pH e que a maior fração (bio-)disponível dessas amostras foi determinada no início da primavera (96% de todo o material analisado no ano). Este resultado foi atribuído a deposição de poluentes durante o período do inverno.

Elevadas concentrações de Al no solo podem influenciar a mineralização de carbono pela formação de precipitados ou pela redução da atividade microbológica. A técnica DGT foi usada para avaliação desses dois processos em soluções ácidas de amostras de solos de floresta (40 mg L⁻¹ de C e 1,6 a 24 mg L⁻¹ de Al em pH 3,8 e 4,5). A estabilização do carbono foi atribuída não a efeitos tóxicos, mais a redução de sua (bio-)disponibilidade

devido à precipitação causada pela adição crescente de Al nas soluções (SCHEEL, et al., 2008).

2.6 Uso da técnica DGT em estudos envolvendo Cu

O primeiro estudo sobre especiação de metais em águas de rios e estuários usando a técnica DGT foi realizado por Denney, Sherwood e Lleyden (1999). Foram determinadas as concentrações lábeis de Cu, Cd e Mn “*in situ*” nos rios Ring, Stitt, Cue e Savage. Verificou-se que, para sistemas aquáticos considerados simples, pois não são poluídos e contém pequena concentração de matéria orgânica dissolvida, as medidas realizadas com a DGT são precisas. Os dispositivos DGT permitiram determinações de Cd inferiores ao limite de detecção obtido com GF-AAS. As concentrações de Cu e Cd lábil foram comparadas as concentrações dos metais dissolvidos. Para os rios Ring e Stitt, as concentrações lábeis e totais dissolvidas foram iguais, para o rio Cue os lábeis representaram 50% (m/m) do total dissolvido e para o rio Savage, representaram apenas 30% (m/m). Diferentes espécies de Mn foram determinadas com a aplicação de dispositivos DGT em diferentes profundidades em águas de estuário.

A técnica DGT foi comparada a CLE-ACSV (competitive ligand exchange-adsorptive cathodic stripping voltammetry) na determinação de cobre lábil em águas de rios ambientalmente impactados, rios preservados, estuários e portos. Os resultados obtidos com a DGT apresentaram-se altamente precisos, com acentuada diferença entre águas ambientalmente

impactadas e preservadas. A comparação entre os resultados fornecidos pela DGT e CLE-ACSV indicou que entre 10 e 35% (m/m) do Cu organicamente complexado determinado pela CLE-ACSV foi considerado lábil pela DGT. Medidas “in situ” do coeficiente de difusão do Cu organicamente complexado variaram de $0,77 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ a $2,16 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. A taxa de acumulação de Cu foi substancialmente superior nas águas contaminadas em comparação as águas sem contaminação (TWISS; MOFFETT, 2002).

A membrana de troca iônica Whatman p81 foi proposta como material ligante no dispositivo DGT para determinação de Cu e Cd lábeis em soluções com padrões simples dos metais e com padrões multielementares. Foi determinado que a p81 tem maior afinidade por metais de transição do que para íons metálicos comuns nas matrizes das amostras de água como potássio, sódio, cálcio e magnésio. Na faixa de pH ótimo para a membrana (4,0 a 9,0), foram determinadas 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). Em comparação com os valores teóricos previstos, os resultados obtidos com a DGT usando a membrana p81 apresentaram excelente concordância. O uso da membrana como material ligante apresenta ainda facilidade de preparação e uso do dispositivo DGT e a possibilidade de reaproveitamento da membrana de até 4 vezes (Li et al., 2002).

Dispositivos DGT foram usados para monitoramento de Zn, Mn, Co, Cu, Cd e Pb em águas do litoral da Austrália. Foram realizadas medidas em laboratório e “in situ”. O emprego dos dispositivos DGT por 3 dias forneceu

valores adequados à detecção dos analitos, os resultados apresentaram exatidão e precisão suficientes para o monitoramento de Mn, Co, Cu, Cd e Pb lábeis em níveis compatíveis com águas não poluídas. A razão entre os valores lábeis determinados pela DGT e os valores totais, determinados após filtração, variaram de 0,44 a 0,63 para Cu e assumiram valor 1 para Co e Cd. O elevado nível de partículas suspensas ($57,3 \text{ mg L}^{-1}$) não afetou os resultados obtidos com a DGT (MUNKSGAARD; PARRY, 2003).

As técnicas EIS e DGT foram usadas para a determinação de Cu lábil presente em amostras de água contendo de 0 a $5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu, acrescido de matéria orgânica (MO) extraída das águas de rio contendo 10 mg L^{-1} de C. Os resultados foram usados para avaliação da biodisponibilidade do metal em sistemas aquáticos através da comparação com o Cu acumulado nas brânquias de peixes (truta arco-iris). Verificou-se que a presença de MO reduziu a quantidade de Cu presente nas brânquias dos peixes, bem como a concentração lábil determinada pelas técnicas EIS e DGT. A natureza da MO também alterou a quantidade de Cu presente nas brânquias. Os resultados determinados pelas técnicas EIS e DGT foram similares aos determinados nas brânquias dos peixes (LUIDER et al., 2004).

A DGT foi usada para determinação do potencial tóxico de Cu em relação à *Daphnia magna*. Foram usadas amostras de água mineral contendo Cu acrescido de 3 tipos de ligantes artificiais: EDTA, NTA e glicina ou 3 tipos de ligantes naturais: ácidos húmicos, extrato de algas frescas e extrato de algas envelhecidas. A DGT pode determinar apenas a toxicidade para

soluções com EDTA, pois os complexos Cu-EDTA são totalmente inertes. Para as soluções com ligantes naturais os complexos formados com Cu não são tóxicos para *Daphnia magna* e são parcialmente lábeis. O uso de dispositivos DGT com géis restritivos permitiu a determinação da fração biodisponível de Cu nas amostras (TUSSEAU-VUILLEMIN, 2004).

O efeito da concentração de SH sobre a labilidade de Cd, Cu, Ni e Pb foi estudado usando a técnica DGT. Foram usadas soluções contendo 50 $\mu\text{mol dm}^{-3}$ dos metais, concentrações de SH variando de 0 a 316 mg dm^{-3} , NaNO_3 0,05 mol dm^{-3} , em pH 6,8, com temperatura de 26 °C e 32 horas de imersão dos dispositivos DGT. Foi verificado que o aumento da concentração de AH reduz consideravelmente a concentração de metais lábeis determinados pela DGT. Esse efeito de redução depende não somente da concentração de AH, mais também do metal analisado, sendo que a redução é crescente segundo a ordem $\text{Cd} < \text{Ni} < \text{Pb} < \text{Cu}$ (DOCEKAL; REZACOVA-SMETKOVA; DOCEKALOVA, 2005).

Uma comparação entre a técnica DGT e a ultrafiltração com duplo estágio (1 kDa e 10 kDa) foi realizada usando imersões “*in situ*” nas águas do mar Báltico. Foram determinadas as concentrações de Cd, Cu, Mn, Ni e Zn. Boa correlação foi obtida entre as concentrações de Mn, Zn e Cd determinadas pela DGT e pela ultrafiltração com membrana de porosidade de 1 kDa. Para Cu e Ni as concentrações determinadas pela ultrafiltração excederam os valores dos metais lábeis determinadas pela DGT. A pré-

concentração obtida com a DGT é uma vantagem analítica sobre a ultrafiltração (FORSBERG, 2006).

Uma estação de tratamento de esgoto urbano recebeu dispositivos DGT para avaliação das frações lábeis e inertes de Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ni e Pb. De forma geral, o tratamento do esgoto reduziu a concentração total de metais. O fluxo de metais lábeis foi pouco reduzido para Cu, não foi reduzido para Ni e foi aumentado para Fe. As frações lábeis de Cd, Co e Cr não foram detectáveis. O fluxo de metais lábeis descarregados no rio a jusante da estação de tratamento foi significante comparado a concentração de metais lábeis no rio. Assim, a estação de tratamento de esgoto urbano deve ser considerada como uma possível fonte de metais traços (bio-)disponíveis (BUZIER et al., 2006).

Dispositivos DGT e bolsas contendo o musgo *Fontinalis Antipyretica* foram imersos no rio Svitava, na República Tcheca para comparação entre metais lábeis e biodisponíveis. Foram analisados Cd, Cu, Cr, Pb, Ni e Zn, sendo que as concentrações determinadas pela DGT foram comparadas as concentrações biodisponíveis obtidas através da massa de metal acumulado pelo musgo. As concentrações de Cd, Pb, Cr e Zn determinadas pela DGT apresentaram boa correlação com as concentrações biodisponíveis, porém não foram verificadas correlações para Cu e Ni. A concentração de Cu biodisponível apresentou correlação com o total de Cu dissolvido (DIVIS et al., 2007).

Testes de toxicidade usando *Ceriodaphnia dubia* foram associados à fração lábil de Cu determinada pela técnica DGT em águas de um lago impactado (East Lake, ON, Canadá) e em um fluxo de água a jusante do lago. Foram determinados níveis de Cu de até 50 mg L⁻¹ e COD na faixa de 7 a 17 mg L⁻¹. Determinou-se que 74 a 100 % (m/m) do Cu total está na forma filtrável. A DGT determinou que de 9 a 24 % (m/m) do Cu está na forma biodisponível e a baixa concentração de Cu lábil está relacionada a alta concentração de COD. Valores de Cu que conduziram a 50% de mortalidade ou 25% de infertilidade da *Ceriodaphnia dubia* apresentaram correlação com a concentração de Cu lábil determinada pela DGT (MARTIN; GOLDBLATT, 2007).

As técnicas de amostragem passiva DGT e Chemcatcher foram comparadas a procedimentos de monitoramento tradicionais de água e ao programa de especiação Visual MINTEQ para a determinação de concentrações temporais de Cd, Cu, Ni, Pb, e Zn em águas superficiais. Foram realizadas imersões e coletadas amostras de água do rio Meuse nos Países Baixos no período de 7 a 28 dias. Para Cd e Zn as concentrações determinadas através da filtração das amostras foram similares as concentrações obtidas com os amostradores passivos, mas para Cu e Ni, as concentrações da amostragem passiva foram consistentemente inferiores aos valores determinados com a filtração, porém foram consistentes com o programa de especiação. Durante os primeiros 14 dias de amostragem, elevadas concentrações de Cd somente foram observáveis pela técnica DGT.

A amostragem passiva permite obter informações temporais, que somente poderiam ser observadas com uma frequência de amostragem extremamente elevada (ALLAN et al., 2008).

Na Than Lagoon, França, importante região de cultivo de moluscos, as técnicas DGT e CLE-ACSV foram usadas na avaliação de Pb, Cd, Cu e Ni lábeis e (bio-)disponíveis em amostras de sedimento e em água. A contaminação do sedimento persistiu desde a segunda metade do século 19 até o final do século 20. Na água, a intensa complexação de espécies de Cu dissolvido reduziu a sua (bio-)disponibilidade. A concentração de Cu determinada pelas técnicas foi muito pequena para causar efeitos tóxicos nos moluscos, porém as concentrações mais elevadas, como $5,29 \text{ pmol L}^{-1}$, podem potencialmente influenciar a comunidade de fitoplâncton (KAWAKAMI et al., 2008).

Dispositivos DGT contendo géis difusivos com espessuras de 0,40, 0,80 e 1,60 mm foram usados na determinação de Cd, Cu, Ni, Pb, Co e Zn presentes em amostras de esgoto municipal e efluentes de mineração. Os resultados obtidos com a DGT foram comparados às concentrações previstas pelo programa de especiação WHAN VI. Os resultados da DGT e do programa WHAM VI apresentaram boa similaridade. A técnica DGT foi considerada simples e útil na investigação de especiação de metais traços em amostras de esgoto municipal e de efluentes líquidos de minas (YAPICI et al., 2008).

A técnica DGT foi usada para determinação de Cd, Co, Cu, Mn, Ni e Zn lábeis “*in situ*” no estuário da lagoa dos Patos, Brasil. Os resultados da DGT foram comparados a frações lábeis determinadas em coluna com resina Chelex-100. Os resultados para Cd, Cu, Ni e Zn lábeis pela DGT foram inferiores aos obtidos com a coluna de resina. Os resultados do DGT indicaram um decréscimo nas concentrações de todos os elementos, indicando trocas entre as espécies dos metais em solução resultantes da redução da salinidade e associado a mudanças de pH no estuário (WALLNER-KERSANACH et al., 2009).

2.7 Capacidade de complexação (CC)

No estudo de íons metálicos em ambientes aquáticos, são importantes as informações sobre as características e concentrações dos íons, assim como a presença de matéria orgânica dissolvida, pois através da formação de complexos, ela pode alterar a labilidade, (bio-)disponibilidade e toxicidade desses metais nos ambientes.

A capacidade de complexação (CC) da matéria orgânica em relação a um determinado íon é um importante parâmetro de qualidade de água e é amplamente empregado em estudos de especiação. A CC foi definida por Hawke, Powell e Gregor (1996, p. 14) como a capacidade da água natural ou solução de solo em reduzir a toxicidade de um metal adicionado a eles. Outros autores definiram a CC como a concentração de íon metálico que poderá ser adicionado a um corpo aquático sem que a espécie iônica seja

predominante (FLORENCE, 1986 apud ROMÃO, 2003, p.48) ou a concentração disponível de sítios ligantes (MORRISON; FLORENCE, 1989 apud ROMÃO, 2003, p.48).

A determinação da CC é freqüentemente baseada em métodos gráficos nos quais regiões lineares são usadas. O método de Perdue (1988) baseia-se na relação entre a concentração do metal $[M]$ não lábil versus $[M]$ lábil, na qual uma regressão linear de declividade (coeficiente angular) zero fornece o valor da CC no ponto onde $[M]$ não lábil $\geq$ CC. O método publicado por Hart (1981) e Ružić (1982) baseia-se na relação entre $([M] \text{ lábil}):([M] \text{ não lábil})$ em função da $[M]$ lábil, na qual a declividade da região linear fornece $1/CC$. Esses dois métodos são limitados, pois o valor máximo que a declividade dos gráficos pode assumir é 1, enquanto que freqüentemente esse valor é superior a 1 para amostras reais (PERDUE, 1988).

Rosenthal, Jones e Megargle (1971) apresentaram um método baseado na relação gráfica entre $[M]$ lábil em função da $[M]$ total. Este gráfico apresenta duas regiões lineares distintas, a primeira formada por valores muito baixos de concentração de metal e a segunda formada por valores onde existe excesso de metal em solução. Uma reta é traçada em cada região do gráfico e a CC é determinada pelo valor da abscissa no ponto de interseção das retas.

Uma simplificação do método de Rosenthal, Jones e Magargle foi proposta por Hawke, Powell e Gregor (1996, p. 14), para amostras onde predominam ligantes fortes, como as SH. Para estas amostras, a CC pode ser

determinada de maneira mais simples, usando o valor da abscissa do ponto de interseção entre o eixo x (eixo da $[M]$ total) e a extrapolação da reta da região formada pelo excesso de metal na solução, segunda região do gráfico (**Figura 4**). Apesar de a simplificação apresentar resultados ligeiramente inferiores aqueles determinados pelo método original, seus valores são bastante aceitáveis, principalmente quando usados para comparações entre diferentes amostras.

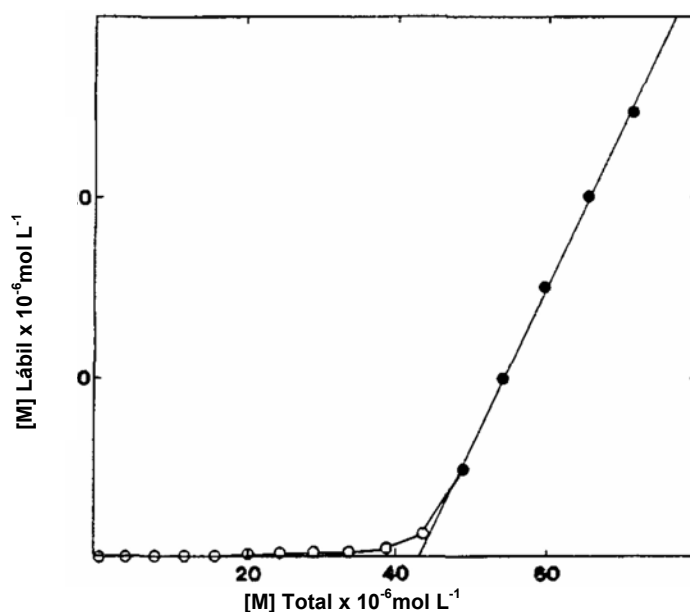


Figura 4. Determinação da CC na abscissa do ponto de interseção da reta (círculos pretos) e o eixo x. Os círculos brancos formam a região com baixa concentração de metal lábil em solução e os círculos pretos a região onde existe excesso de metal lábil em solução (Adaptado de HAWKE; POWELL; GREGOR, 1996, p.14).

3. OBJETIVOS

Este trabalho teve como principal objetivo avaliar a labilidade de Al e Cu em amostras de águas ricas em matéria orgânica, utilizando a técnica de difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT) em associação com a técnica de ultrafiltração com fluxo tangencial (UF-FT).

Dentro deste contexto foram avaliados:

- 1) O desempenho da câmara de difusão desenvolvida para a determinação do coeficiente de difusão dos íons metálicos e seus complexos orgânicos;
- 2) O procedimento para a determinação dos coeficientes de difusão aparentes de íons metálicos em soluções contendo metais livres e complexos Metal-SH;
- 3) A exatidão dos resultados obtidos com a associação das técnicas DGT e UF-FT através de um procedimento de extração em fase sólida (EFS) usando uma coluna com resina Chelex-100;
- 4) A capacidade complexante das SH usadas nos experimentos através dos resultados obtidos com a UF-FT, DGT e EFS;
- 5) A capacidade das técnicas de UF-FT e DGT em determinar as frações livre, lábil, moderadamente lábil e inerte em soluções modelo e em amostras de águas de rios;
- 6) A capacidade da técnica DGT com diferentes tipos de géis em diferenciar as frações lábeis inorgânicas e lábeis orgânicas em soluções modelo e em amostras de águas de rios.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Equipamentos e acessórios

Para a determinação de Al e Cu em soluções modelo e em amostras, foi usado um espectrômetro de emissão óptica seqüencial com plasma indutivamente acoplado, marca GBC, modelo Integra XL (Melbourne, Austrália) e um espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado, marca Agilent, modelo 7500ce (Mizonkuchi, Japão).

Para o procedimento de EFS foi construída uma coluna usando tubo de polietileno, com 80 mm de comprimento e 5 mm de diâmetro interno. A coluna foi preenchida com 2,0 g de resina Chelex-100 (massa seca) e suas extremidades fechadas com tela de poliéster para evitar a perda de parte da resina.

Para o procedimento UF-FT foi usado um sistema de ultrafiltração marca Sartorius Ultrasart X equipado com membrana do tipo polietersulfônica com 47 mm de diâmetro e tamanho de poro (MWCO) de 1 kDa (Gelman Pall-Filtron Omega). Bomba peristáltica marca Gilson (Villiers-le-Bel, França) e tubos Tygon de diversos diâmetros foram usados tanto para o procedimento EFS como para UF-FT.

Para a técnica DGT foram usados dispositivos plásticos em forma de pistão, próprios para a técnica. Também foram usados discos de gel puro, formados com acrilamida 15 % (m/m) e agarose 0,3 % (m/m), gel difusivo, com tamanho de poro > 5 nm, discos de gel puro de acrilamida 15 % (m/m) e

agarose 0,8 % (m/m), gel restritivo, com tamanho de poro pequeno <1 nm e discos de gel de acrilamida/agarose, porém impregnados com resina Chelex-100. Todos os materiais foram adquiridos na DGT Research Inc. (Lancaster, UK).

Para a determinação dos coeficientes de difusão, foi construída uma câmara de difusão em acrílico, similar à proposta por Scally, Davison e Zhang (2006) e por Zhang e Davison (1999). A câmara é formada por dois compartimentos com capacidade para 85 mL cada, conectados por um orifício com 1,5 cm de diâmetro onde é fixado um disco de gel por onde se difundem os analitos (**Figura 3**).

Outros equipamentos utilizados foram um medidor de pH marca Digimed (São Paulo, Brasil), um agitador com movimento orbital e temperatura controlada marca Marconi modelo MA 420 (Piracicaba, Brasil), agitadores magnéticos, micropipetas de diversos volumes marca Gilson, vidraria em geral, gases argônio e nitrogênio.

4.2 Reagentes e soluções

Em todos os experimentos realizados, os reagentes usados foram de grau analítico, a água usada no preparo das soluções foi purificada em sistema deionizador Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA) com resistividade de 18,2 M Ω cm e o ácido nítrico utilizado foi purificado por destilação “sub-boiling”.

Para os experimentos foram preparadas soluções modelo usando soluções de padrões simples contendo $37,06 \text{ mmol L}^{-1}$ (1000 mg L^{-1}) de Al (Carlo-Erba, Chaussé Du Vexin, França), $15,74 \text{ mmol L}^{-1}$ (1000 mg L^{-1}) de Cu (High-Purity Standard, Charleston, USA) e soluções contendo 653 mg L^{-1} ou 1170 mg L^{-1} de substâncias húmicas aquáticas (SH), expressas como carbono orgânico total (COT) extraídas dos rios Itapanhaú e Sorocabinha, respectivamente. O rio Itapanhaú localiza-se no Parque Estadual da Serra do Mar, situando-se na 7ª Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos (UGRHs) - Baixada Santista, município de Bertioga, SP e o rio Sorocabinha localiza-se próximo à Estação Ecológica da Juréia, situando-se na 11ª Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos - Ribeira do Iguape-litoral Sul, município de Iguape, SP. O procedimento de extração das substâncias húmicas aquáticas foi o recomendado pela International Humic Substances Society - IHSS (ROCHA; ROSA, 2003).

Os valores de pH das soluções modelo foram ajustados em 4,5 e 5,5 para Al e Cu respectivamente, usando soluções tampão de acetato/ácido acético preparadas com $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2$ (Quimis, São Paulo, Brasil) e $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ (Merck, Darmstadt, Alemanha). Para ajuste da força iônica foi utilizada solução de NaNO_3 1 mol L^{-1} (Synth, São Paulo, Brasil). Evitando a contaminação por Al(III) e Cu(II) as duas soluções acima foram purificadas com a adição de resina Chelex-100 na forma sódica, segundo recomendação do fabricante da resina (Bio-Rad Labs, Richmond, CA, USA).

As soluções modelo contendo Al foram preparadas variando a concentração de 0 a 80 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Al, acrescido de 1,5 mg L^{-1} de SH (expressas como COT) em pH $4,5 \pm 0,1$ e força iônica 0,05 mol L^{-1} . As soluções contendo Cu, variaram a concentração de 0 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para Cu, acrescido de 15 mg L^{-1} de SH também expressas como COT em pH $5,5 \pm 0,1$ e força iônica 0,05 mol L^{-1} .

4.3 Amostras

Foram feitos experimentos “*in situ*” e em laboratório com amostras de água de dois rios do estado de São Paulo, Sorocabinha (SO) e Peropava (PE), ambos localizados no Parque Estadual da Serra do Mar, contendo elevadas concentrações de matéria orgânica dissolvida (**Figura 5**).

Para medidas “*in situ*” foram imersos nos rios dispositivos DGT equipados com dois tipos de géis (difusivo e restritivo). Após intervalo de tempo de 50 horas, os dispositivos foram recolhidos, desmontados e após eluição dos íons Al e Cu da resina utilizando-se 2 mL de uma solução de HNO_3 1 mol L^{-1} (v/v), estes foram determinados por ICP OES ou ICP MS.

Para os estudos em laboratório, foram coletadas amostras de água dos dois rios. As amostras foram armazenadas sob refrigeração a 4 °C em garrafas de polietileno, previamente descontaminadas com solução ácida de HCl 20% (v/v), e sem o acréscimo de preservantes que poderiam ocasionar diferenças nas determinações. Os procedimentos UF-FT, EFS e DGT foram realizados em até 48 horas após sub-amostragens.

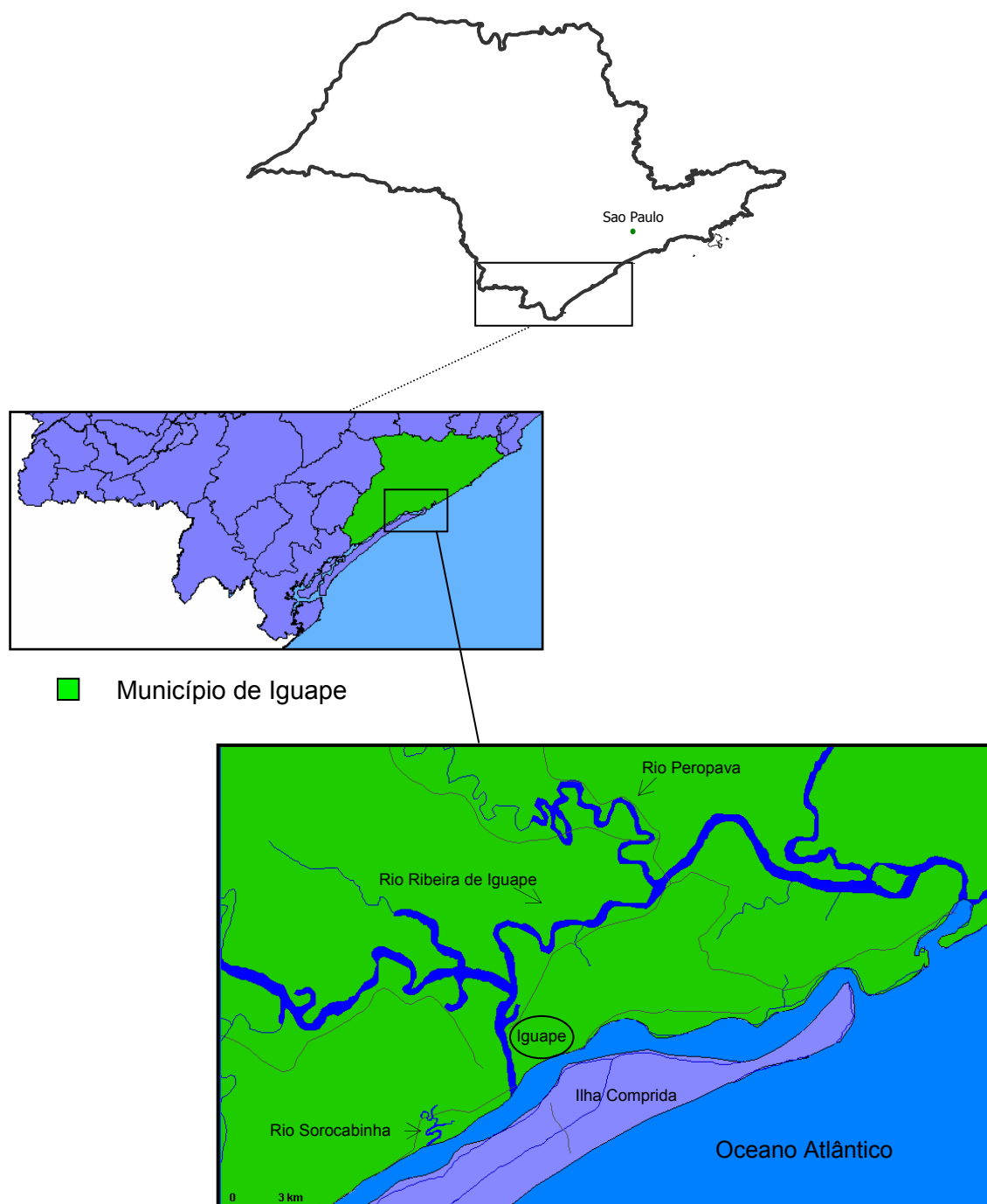


Figura 5. Localização dos sítios de amostragens nos rios Sorocabinha e Peropava.

As concentrações de carbono orgânico dissolvido das amostras foram determinadas através de analisador por combustão catalítica em corrente de oxigênio e subsequente detecção por IR (Shimadzu TOC-5000A). Os valores obtidos foram de 47,4 mg L⁻¹ para SO e 14,1 mg L⁻¹ para PE. O pH medido nas amostras foram de 4,3 e 5,5 para SO e PE, respectivamente.

As concentrações totais de Al e Cu dissolvidos nas amostras foram mensuradas após filtração e digestão das amostras com ácido nítrico concentrado, segundo descrição do Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (EATON, et al., 2005).

4.4 Procedimentos

4.4.1 Ultrafiltração com fluxo tangencial (UF-FT)

O sistema de UF-FT foi limpo com solução de NaOH 0,1 mol L⁻¹, seguida de solução de HNO₃ 0,1 mol L⁻¹ e enxaguado com água deionizada. A seguir, o sistema foi montado colocando-se em seu interior uma membrana filtrante com poros de 1 kDa (MWCO 1 kDa).

Para a separação dos analitos em fração inorgânica ou íons metálicos livres (filtrado) e fração orgânica (não filtrado), 200 mL de amostra ou solução modelo foram bombeadas e passadas através do sistema contendo a membrana de filtração. Após 5 minutos de recirculação das soluções pelo sistema, para sua estabilização, 2 mL de filtrado foram recolhidos, acidificados a 2% (v/v) de HNO₃, sendo analisados Al e Cu. A **Figura 6** apresenta um esquema e uma fotografia do sistema UF-FT.

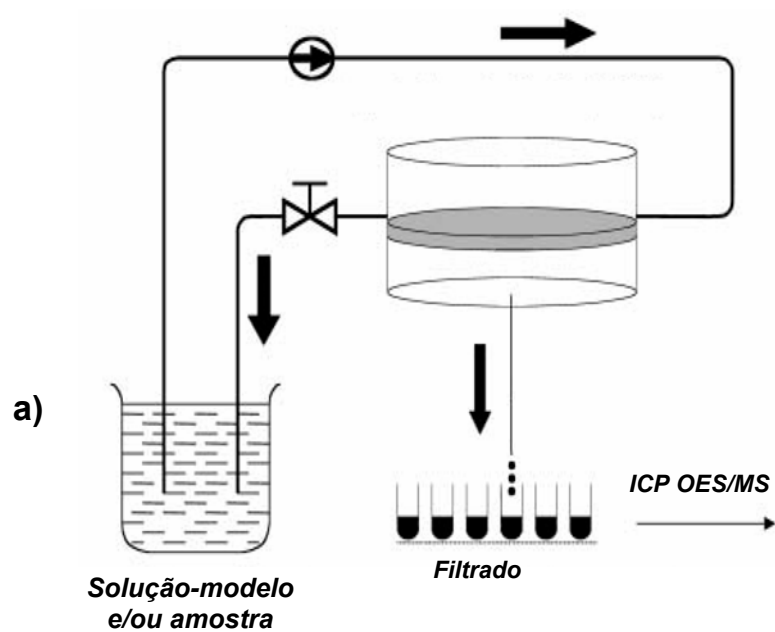


Figura 6. (a) Esquema do sistema de UF-FT (b) Foto do sistema de UF-FT.

4.4.2 Extração em fase sólida usando resina Chelex-100 (EFS)

O procedimento usado na EFS foi similar aquele proposto por Alvarez et al. (2004), sendo que a extração foi dividida em duas etapas, a primeira com o uso de uma coluna contendo material adsorvente, resina Chelex-100, e a segunda em batelada, com a adição do mesmo material adsorvente ao efluente da primeira extração.

Esse procedimento forneceu informações cinéticas do fracionamento dos íons metálicos. As frações do metal foram definidas operacionalmente como fração lábil, obtida na etapa em fluxo do procedimento e fração moderadamente lábil, obtida na etapa realizada em batelada. Essas definições de labilidade, segundo Figura e Mcduffie (1980), dependem das escalas de tempo características das técnicas usadas nas medidas de labilidade.

A fração lábil foi determinada pela passagem de 50 mL de solução modelo ou amostra através da coluna de resina a uma taxa de $1,5 \text{ mL min}^{-1}$, que correspondeu a 47s de tempo de contato. O analito retido na coluna foi eluído, a mesma vazão, com 5 mL de solução de HNO_3 $2,0 \text{ mol L}^{-1}$, seguido de sua análise em ICP OES ou ICP MS.

A determinação da fração moderadamente lábil foi realizada pela adição de 0,5 g de resina Chelex-100 ao efluente dos 50 mL que percolaram através da coluna na etapa anterior. Antes da adição, a resina foi descontaminada com solução de HNO_3 $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ e condicionada a pH 5,5 para Cu e 4,5 para Al com tampão acetato. Após 72 horas de tempo de contato e sob agitação, a

resina foi removida do efluente e deixada em 5 mL de solução de HNO_3 2,0 mol L^{-1} por 24 horas sob agitação para eluição do analito que foi então, determinado também por ICP OES ou por ICP MS.

4.4.3 Difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT)

Os dispositivos usados na técnica DGT foram montados como descrito por Zhang e Davison (1995). Na base de uma peça plástica em forma de pistão, foi colocado um disco de gel de acrilamida/agarose, impregnado com resina Chelex-100. Este disco foi sobreposto por outro disco de gel de acrilamida/agarose puro, com porosidade controlada, tendo características difusivas ou restritivas. Este segundo gel foi sobreposto por uma membrana de nitrato de celulose (diâmetro de poro de 0,45 μm) para evitar saturação do gel por material particulado suspenso. O dispositivo foi então fechado com a tampa plástica em forma de anel, contendo a janela de entrada dos analitos, a tampa selou o sistema de forma a impedir a entrada dos íons metálicos por qualquer outro lugar (**Figuras 1 e 2**).

Nos experimentos conduzidos no laboratório, os dispositivos DGT foram mergulhados em frascos de polietileno contendo 1000 mL de solução modelo ou amostra de água dos rios que foram previamente ambientadas na temperatura de 23 ± 1 °C. Essa temperatura se manteve constante durante todos os experimentos. Os intervalos de tempo para as imersões dos dispositivos DGT de 24, 30 e 72 horas, foram calculados pela 1ª lei de Fick sendo suficientes para a difusão dos analitos através dos géis difusivos ou

restritivos em função da concentração total de analitos. Após as imersões, os dispositivos foram recolhidos, lavados com água milli-Q e desmontados. Os discos contendo a resina com os analitos extraídos foram colocados em tubos de centrífuga de 15 mL acrescidos de 2,0 mL de solução de HNO_3 1,0 mol L⁻¹. Os tubos foram agitados por 24 horas para eluição dos analitos, que foram então determinados por ICP OES ou ICP MS, levando-se em consideração o fator de eluição previamente determinado para Al e Cu. O fator de eluição para cada analito foi determinado em experimento anterior como a razão entre a massa de analito eluída de um disco de gel com resina imerso em uma solução com concentração conhecida de analito, pela massa do analito adsorvida pelo mesmo disco de gel com resina quando ele foi imerso na solução. Os valores encontrados foram 0,83 e 0,75 para Al e Cu, respectivamente.

Durante o período de coleta das amostras nos rios Sorocabinha e Peropava, foram realizadas imersões “*in-situ*”, de dispositivos DGT com géis difusivos e restritivos. Durante o período das imersões, as temperaturas das águas dos rios foram monitoradas, obtendo-se um valor médio igual para os dois rios de 23 ± 1 °C.

Após 50 horas de imersão, os dispositivos DGT foram recolhidos, lavados com água deionizada e levados ao laboratório, onde foram desmontados e os analitos determinados.

Os cálculos das concentrações de Al e Cu nas soluções modelo e/ou amostras, tanto para os procedimentos em laboratório como para as imersões “*in situ*”, são idênticos e já foram apresentados anteriormente.

4.4.4 Câmara de difusão

O cálculo das concentrações de Al e Cu lábeis nas soluções modelo e nas amostras pela técnica DGT, envolve o conhecimento dos valores dos coeficientes de difusão dos metais e de seus complexos através dos géis de acrilamida-agarose. Os valores desses coeficientes de difusão foram obtidos através de uma câmara de difusão, similar àquela descrita na literatura (SCALLY; DAVISON; ZHANG, 2006; ZHANG; DAVISON, 1999).

A câmara de difusão foi construída com dois compartimentos (A e B) de volume 80 mL separados por uma parede formada por duas placas de acrílico, sendo uma fixa e outra móvel. Nas placas foi feito um orifício de 1,5 cm de diâmetro, para conectar os dois compartimentos (**Figura 7**).

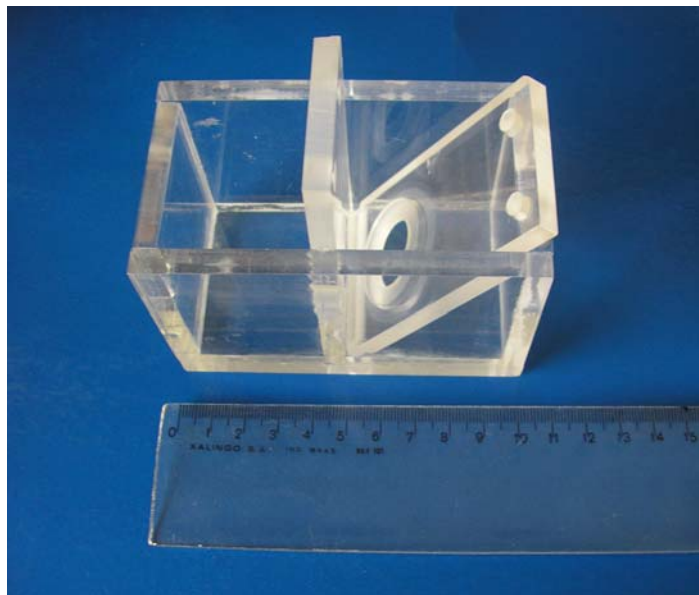
De forma geral, para todas as determinações dos coeficientes de difusão absolutos, um disco do gel de acrilamida-agarose (difusivo ou restritivo) foi colocado no centro da placa fixa, sobre o orifício e fixado pela placa móvel. Assim, uma área de 1,77 cm² do gel ficou exposta aos dois compartimentos. No primeiro compartimento (A) colocou-se a solução fonte e no segundo compartimento (B), a solução receptora. Em tempos pré-determinados segundo o tipo de gel e de analito, alíquotas foram retiradas dos dois compartimentos, a concentração do analito determinada por ICP OES ou

ICP MS e os valores dos coeficientes de difusão absolutos, foram determinados como descrito no item **2.4.2 da Revisão da Literatura**.

Para confirmar o bom funcionamento da câmara, seu desempenho foi avaliado medindo-se o coeficiente de difusão de Cd(II) em um disco de gel difusivo de acrilamida 15% (m/m) – agarose 0,3% (m/m) com espessura de 0,08 cm. O resultado foi comparado a valores fornecidos pela DGT Research Ltd. (2008) e pela literatura (ZHANG; DAVISON, 1999).

Após ter fixado o disco de gel na câmara de difusão, foram adicionados 70 mL de solução de NaNO_3 0,1 mol L^{-1} em cada um dos compartimentos. O sistema foi deixado em repouso durante 4 horas, a 24 °C, com agitação constante nos dois compartimentos. Posteriormente, foi adicionado ao compartimento A 1,2 mL de uma solução padrão 0,89 mmol L^{-1} (100 mg L^{-1}) de Cd(II) em HNO_3 0,2 % (v/v). O compartimento B recebeu igual volume (1,2 mL) de solução de HNO_3 0,2 % (v/v). Mantendo as soluções sob constante agitação, foram retiradas oito alíquotas de 2,0 mL de cada compartimento durante 155 minutos. A concentração de cádmio em cada alíquota foi determinada por ICP OES. Uma curva de massa de Cd(II) do compartimento B em função do tempo de amostragem foi construída, seu coeficiente angular necessário para o cálculo de D foi obtido e assim, o coeficiente de difusão do Cd(II) para esse gel foi calculado.

a)



b)

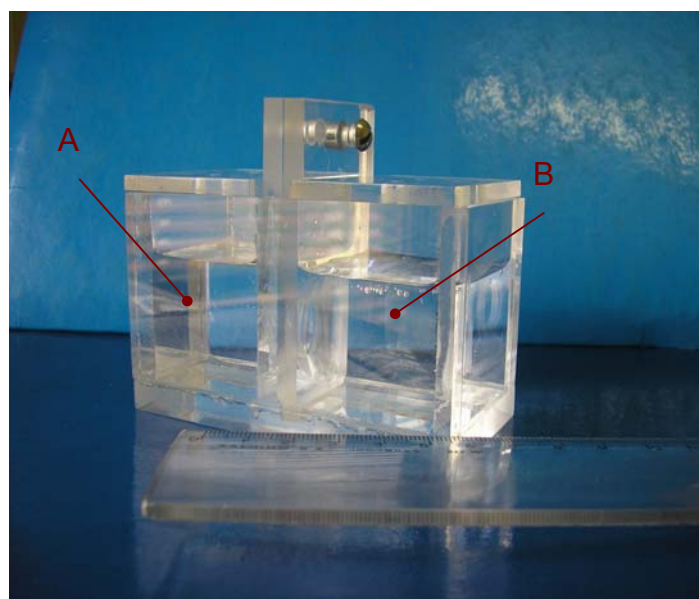


Figura 7. a) Câmara de difusão aberta b) Fechada contendo a solução fonte no compartimento A e a solução receptora no compartimento B.

4.4.5 Determinação dos coeficientes de difusão de Al, Cu, Al-SH e Cu-SH

Os procedimentos usados para as determinações dos coeficientes de difusão absolutos dos íons metálicos (Al e Cu) e seus complexos (Al-SH e Cu-SH) em géis de acrilamida/agarose foram semelhantes ao descrito na literatura (SCALLY; DAVISON; ZHANG, 2006).

Um disco de gel de acrilamida/agarose, com características difusivas ou restritivas, com 2,5 cm de diâmetro, foi colocado no orifício central da câmara de difusão e seus compartimentos foram preenchidos com 65 mL de solução fonte no compartimento A e solução receptora no compartimento B. As soluções foram agitadas constantemente. Alíquotas de 1,0 mL foram tomadas de cada compartimento em tempos pré-estabelecidos, sendo então analisados Al ou Cu.

Para a determinação dos coeficientes de difusão dos íons metálicos livres, no gel difusivo, as alíquotas foram retiradas em intervalos de 15 a 150 minutos e para o gel restritivo, em intervalos de 30 a 180 minutos. Nos experimentos com os dois tipos de géis, a solução fonte foi produzida com padrão simples de $185,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($5000 \mu\text{g L}^{-1}$) de Al ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão acetato, pH 4,5 e força iônica $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3) ou $78,68 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($5000 \mu\text{g L}^{-1}$) de Cu ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão acetato, pH 5,5 e força iônica $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ de NaNO_3).

Para a determinação dos coeficientes de difusão dos complexos Al-SH e Cu-SH, tanto para o gel difusivo como para o gel restritivo, foram retiradas das soluções alíquotas em intervalos de 8 a 95 horas. Considerando os dados

usados no programa de especiação CHEAQS (Chemical Equilibria in AQUatic Systems), para os quais as frações de Al e Cu ligadas às SH para formação de complexos é maior que 99 % (m/m), a composição da solução fonte para cobre foi de $7,87 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($500 \mu\text{g L}^{-1}$) de Cu para 100 mg L^{-1} de SH (expressa como COT), em pH 5,5 e força iônica $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, e para o alumínio foi de $37,1 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($1000 \mu\text{g L}^{-1}$) de Al para 100 mg L^{-1} de SH (expressa como COT), em pH 4,5 e força iônica $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. A percentagem de complexação dos metais com as SH, indicada pelo programa CHEAQS, foi confirmada com o uso da técnica de UF-FT nas soluções fonte. Foram determinadas nestas soluções concentrações ínfimas de Al e Cu livres ($< 4\%$ para Al e $< 5\%$ para Cu).

Todos os experimentos foram realizados a temperatura constante de $23 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Os coeficientes de difusão foram calculados usando o coeficiente angular de cada curva (faixa linear) obtida com a massa do íon na solução receptora em função do tempo de amostragem, como previamente descrito.

4.4.6 Determinação dos coeficientes de difusão aparente

Nos estudos da labilidade de íons metálicos em soluções modelo ou em amostras contendo tanto o íon metálico livre (**M**) como os complexos orgânicos desses íons (**Metal-SH**), a difusão através do gel dependerá das taxas de difusão de cada espécie. A massa do íon (**M_B**) na solução receptora (compartimento B da câmara de difusão) será governada pelas equações (13)

e (14) (DOWNARD, et al., 2003; SCALLY; DAVISON; ZHANG, 2006; ZHANG; DAVISON, 1999).

$$M_B = \frac{(D_M C_M + D_{M-SH} C_{M-SH}) A t}{\Delta g} \quad (13)$$

$$M_B = \frac{(D' C') A t}{\Delta g} \quad (14)$$

Onde C_M e C_{M-SH} são as concentrações do íon metálico livre e do complexo Metal-SH, D_M e D_{M-SH} são seus respectivos coeficientes de difusão, t , A e Δg são, respectivamente, o tempo, a área e a espessura do gel onde ocorre a difusão dos íons, C' é a concentração total de metal e D' o coeficiente de difusão aparente.

Combinando as equações (13) e (14) o coeficiente de difusão aparente pode ser obtido por:

$$D' = \frac{(D_M C_M + D_{M-SH} C_{M-SH})}{(C_M + C_{M-SH})} \quad (15)$$

A equação (15) pode ser usada para calcular D' para soluções se forem conhecidas as quantidades de metal livre, de complexos orgânicos presentes e seus respectivos coeficientes de difusão absolutos. Assim, usando a equação (15) foram determinados os coeficientes de difusão aparente para as

soluções modelo e para as amostras coletadas. As concentrações de Al ou Cu livres e dos complexos Al-SH ou Cu-SH, foram determinadas pela técnica de UF-FT e os valores dos coeficientes de difusão absolutos foram obtidos usando a câmara de difusão.

4.4.7 Determinação das concentrações de Al e Cu lábeis

O estudo da labilidade de Al e Cu foi dividido em três fases. Na primeira fase foram usadas soluções modelo para o estudo, na segunda fase a labilidade foi determinada em amostras de águas dos rios Sorocabinha e Peropava e na terceira fase, a labilidade foi determinada com imersões “*in situ*” nos mesmos rios.

4.4.7.1 Estudo da labilidade de Al e Cu – Soluções modelo

As labilidades de Al e Cu foram determinadas através dos procedimentos de UF-FT, DGT e EFS aplicados a dois conjuntos de soluções modelo. Para o estudo do Al, as soluções foram preparadas contendo de 0 a 80 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Al, acrescido de 1,5 mg L^{-1} de SH (expressas como COT), em pH $4,5 \pm 0,1$ e força iônica 0,05 mol L^{-1} . Para o estudo do Cu, as soluções foram compostas com de 0 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu, acrescido de 15 mg L^{-1} de SH também expressas como COT em pH $5,5 \pm 0,1$ e força iônica 0,05 mol L^{-1} .

Inicialmente, as soluções modelo foram submetidas ao procedimento de UF-FT como descrito no item 4.4.1. Conhecidas as concentrações totais dos íons Al e Cu para cada solução, foram determinadas as frações dos íons

livres e dos íons complexados às substâncias húmicas aquáticas. Usando as concentrações obtidas com a UF-FT e os coeficientes de difusão dos íons livres e dos complexos Metal-SH, determinados como descrito no item **4.4.5**, foram calculados os coeficientes de difusão aparente de Al e Cu para cada solução modelo.

A seguir, um litro de cada solução modelo foi colocado em um recipiente plástico e aplicado o procedimento DGT como descrito no item **4.4.3**. Cada solução recebeu 2 dispositivos DGT equipados com discos de gel difusivo. Sob constante agitação, obtida pela injeção de gás nitrogênio na solução, e com a temperatura constante de 23 ± 1 °C, os dispositivos DGT ficaram imersos nas soluções por 24 horas. Após a retirada dos dispositivos DGT e da eluição dos íons metálicos, usando a expressão **(4)** e o coeficiente de difusão aparente, foram determinadas as frações lábeis de Al e Cu para cada solução modelo.

Finalmente, as soluções modelo foram submetidas ao procedimento EFS como descrito no item **4.4.2**. Na etapa em fluxo foram determinadas as frações lábeis dos íons Al e Cu e na etapa em batelada obtiveram-se as frações moderadamente lábeis, aquela mais fortemente ligadas aos complexos húmicos.

Os resultados obtidos nos três procedimentos permitiram também a determinação da CC das SH para os íons Al e Cu. Foi usada a simplificação do método de Rosenthal, Jones e Megargle (1971), proposta por Hawke, Powell e Gregor (1996).

4.4.7.2 Estudo da labilidade de Al e Cu – Amostras de águas de rios

Amostras de água dos rios Sorocabinha e Peropava foram coletadas, armazenadas sob refrigeração e levadas ao laboratório. Após serem ambientadas a 23 ± 1 °C, semelhantemente às soluções modelo, as amostras foram submetidas aos procedimentos de UF-FT, DGT, EFS para a determinação das frações de Al e Cu consideradas como livre, lábil, moderadamente lábil e inerte. Para o procedimento DGT as imersões foram de 72 horas.

Os resultados obtidos no procedimento de UF-FT das amostras, junto com os coeficientes de difusão dos íons Al e Cu e seus complexos Al-SH e Cu-SH, determinados na câmara de difusão, também foram usados para a determinação dos coeficientes de difusão aparente das amostras.

4.4.7.3 Estudo da labilidade de Al e Cu – Imersões “*in situ*”

O estudo da labilidade de Al e Cu feito com imersões “*in situ*”, usou o procedimento DGT e os valores dos coeficientes de difusão aparentes obtidos anteriormente.

Dispositivos DGT contendo gel difusivo foram imersos nos rios Sorocabinha e Peropava pelo período de 50 horas. As águas foram monitoradas obtendo-se um valor médio para a temperatura de 23 °C para ambos os rios. Retirados os dispositivos da água, eles foram lavados, armazenados e levados ao laboratório onde também usando a expressão (4)

e os coeficientes de difusão aparentes já determinados, foram obtidas as frações lábeis de Al e Cu para as águas dos dois rios.

4.4.8 Comparação entre DGT com gel restritivo e UF-FT

A técnica DGT e a UF-FT tem como princípio a passagem de um analito através de um meio poroso, onde na DGT o meio é um gel de acrilamida/agarose e na UF-FT é uma membrana polietersulfônica de 1 kDa.

Para gel restritivo, Zhang e Davison (1999) estimaram raio médio dos poros menor que 1 nm. Para membranas polietersulfônicas MWCO 4000 e MWCO 25000, foram apresentados diâmetros médios de respectivamente $0,65 \pm 0,19$ nm e $5,1 \pm 1,1$ nm (BOWEN, et al., 1996, 1998) e para uma membrana Desal GE MWCO 1000, valor médio de $1,83 \pm 0,35$ nm (BOWEN; DONEVA, 2000).

Embora a literatura relate valores para o diâmetro médio dos poros para os dois meios, eles não são precisos, pois variam com as técnicas empregadas em suas determinações. Assim as dimensões das espécies químicas que atravessam os meios porosos podem somente ser estimadas. Para o caso da UF-FT com membrana de 1 kDa e DGT com gel restritivo, devem ser esperadas espécies de dimensões pequenas e/ou íons livres.

Para se estimar o tamanho das espécies discriminadas pelas técnicas UF-FT e DGT com gel restritivo, soluções modelo de Al e Cu semelhantes aquelas usadas no estudo de labilidade, porém com SH extraídas do rio

Sorocabinha, foram submetidas às duas técnicas e seus resultados foram comparados.

4.4.9 Fracionamento de Al e Cu inorgânicos e organicamente complexados

Para o estudo de fracionamento de Al e Cu em espécies inorgânicas e organicamente complexadas, foram usadas as mesmas soluções modelo de Al e Cu usadas no item anterior, amostras de águas dos rios Sorocabinha e Peropava e também foram realizadas imersões de dispositivos DGT “*in situ*” nos respectivos rios.

Foram usados dispositivos DGT contendo géis difusivos e géis restritivos que em cada experimento foram imersos simultaneamente nos meios estudados (soluções modelo, amostras de águas de rios e imersões “*in situ*” nos rios).

Os experimentos com as soluções modelo foram conduzidos separadamente para Al e Cu. Para todos os experimentos, tanto em laboratório como “*in situ*”, a temperatura se manteve constante em 23 °C.

Para as soluções modelo, os dispositivos DGT ficaram imersos por 30 horas, para as amostras de águas de rio, foram imersos por 72 horas e para as determinações “*in situ*” foram 50 horas de imersão. Ao terminar o tempo de imersão de cada experimento, os dispositivos DGT foram desmontados, as massas dos íons Al e Cu determinadas e os resultados aplicados nas

expressões (11) e (12) do item 2.4.3 para a obtenção das frações inorgânicas e orgânicas existentes em cada respectivo meio estudado.

4.4.10 Tratamento estatístico dos dados

Inicialmente, para cada conjunto de resultados, foi verificada a normalidade através do teste de Shapiro-Wilk, com nível de significância de 95%. Para a comparação de dois conjuntos de resultados, que apresentaram distribuição normal, foi aplicado um teste paramétrico para comparação de médias, teste t de student para amostras pareadas. Quando os dois conjuntos de resultados não apresentaram normalidade, foi usado um teste não paramétrico para comparação de médias, teste de Friedman. Nos dois testes usados, foram considerados níveis de significância de 95%.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Coeficientes de difusão dos íons metálicos em hidrogeis

5.1.1 Avaliação do desempenho da câmara de difusão

A câmara de difusão teve seu desempenho verificado através da determinação do coeficiente de difusão de Cd(II), cujo valor obtido com a câmara foi comparado ao valor apresentado pela DGT Research Ltd (2008). Na **Figura 8** é apresentada a relação entre as massas de cádmio encontradas na solução receptora, em função do tempo de difusão.

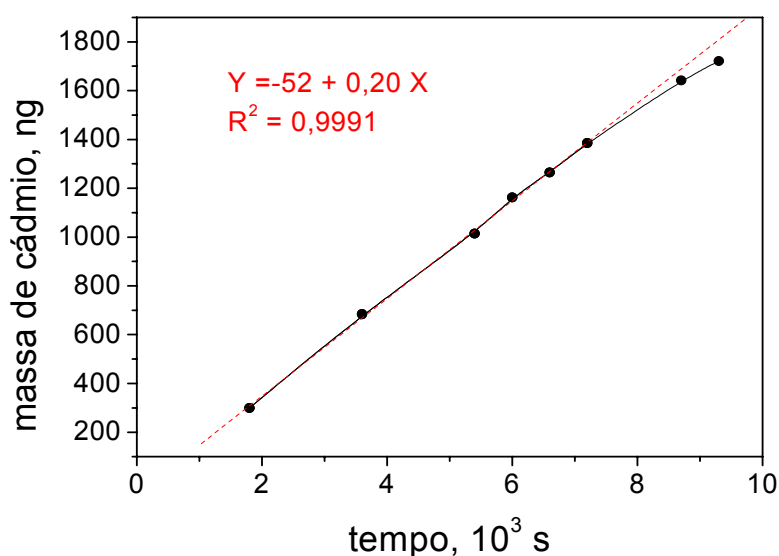


Figura 8. Difusão de cádmio no gel de acrilamida (15%) – agarose (0,3%). Dados obtidos com a câmara de difusão.

Observa-se uma taxa de transferência constante de Cd(II) para o compartimento B para um intervalo de 30 a 120 min (correlação linear caracterizada por $R^2 = 0,9991$) e uma queda nesta taxa a partir de 130 min. Este comportamento é esperado segundo a lei de Fick, como consequência da redução da concentração inicial do íon no compartimento A (SCALLY; DAVISON; ZHANG, 2006; ZHANG; DAVISON, 1999). Deste modo, para manter as condições de contorno da expressão (5), o coeficiente angular da faixa linear da curva ($a = 0,20$) foi utilizado para calcular o coeficiente de difusão. O valor obtido para o coeficiente de difusão de $5,39 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ foi bastante próximo ao valor de $5,93 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ apresentado pela DGT Research Ltd (2008), evidenciando que a câmara desenvolvida pode ser utilizada satisfatoriamente para determinação de coeficientes de difusão dos íons Al e Cu nos hidrogeis.

5.1.2 Coeficientes de difusão de Al, Cu, Al-SH e Cu-SH

Os coeficientes de difusão de Al(III), Cu(II), Al-SH e Cu-SH, para os géis difusivo e restritivo, medidos na câmara de difusão são apresentados na **Tabela 2**. Para os complexos Metal-SH foram usadas as SH extraídas do rio Itapanhaú. Os valores encontrados para os metais livres estão em razoável concordância com valores da literatura. A pequena diferença entre os valores médios ($\leq 13\%$) pode ser atribuída à presença de acetato na solução fonte ou a uma significativa DBL (diffusive boundary layer), que é a camada difusiva formada na solução em contato com a superfície do gel, quando a solução

não sofre uma agitação apropriada (WARNKEN; DAVISON; ZHANG, 2008; ZHANG; DAVISON, 1995).

Tabela 2. Coeficientes de difusão (D) para Al(III), Cu(II), Al-SH e Cu-SH medidos em câmara de difusão a 23 °C (0,05 mol L⁻¹ NaNO₃, pH 4,5 para Al e 5,5 para Cu) para dois hidrogeis. Unidade dos valores encontrados (10⁻⁶cm²s⁻¹)

Gel difusivo	Valores encontrados	Valores de referência
D _{Al(III)}	3,59 ± 0,41	4,50 ^a – 4,4 ± 0,5 ^b
D _{Cu(II)}	5,18 ± 0,09	5,90 ^a – 6,28 ± 0,13 ^c
D _{Al-SH}	0,63 ± 0,06	1,15 ± 0,04 ^d – 1,72 ± 0,01 ^e
D _{Cu-SH}	1,01 ± 0,14	1,15 ± 0,04 ^d – 1,72 ± 0,01 ^e
Gel restritivo	Valores encontrados	Valores de referência
D _{Al(III)}	2,80 ± 0,14	3,15 ^a
D _{Cu(II)}	3,73 ± 0,06	4,13 ^a – 4,50 ± 0,12 ^c
D _{Al-SH}	0,34 ± 0,03	0,37 ± 0,02 ^d
D _{Cu-SH}	0,36 ± 0,06	0,37 ± 0,02 ^d

a. Dados da DGR Research Ltd, a 23 °C

b. Dados para Al livre medidos em câmara de difusão a 23 °C, solução 0,01 mol L⁻¹ NaNO₃, tampão acetato pH 4,6 (DOWNARD et al., 2003)

c. Dados para Cu livre medidos em câmara de difusão a 20 °C, solução 0,1 mol L⁻¹ NaNO₃ tampão acetato pH 7,8 (ZHANG; DAVISON, 1999, ZHANG, 2004)

d. Dados para ácido fúlvicos medidos em câmara de difusão a 20 °C, solução 0,1 mol L⁻¹ NaNO₃ tampão acetato pH 7,8 (ZHANG; DAVISON, 1999, ZHANG, 2004)

e. Dados para ácido fúlvicos medido em câmara de difusão a 23 °C, solução 0,01 mol L⁻¹ NaNO₃, pH 4,6 (DOWNARD et al., 2003)

Os coeficientes de difusão para Al-SH e Cu-SH não podem ser rigorosamente comparados com os valores da literatura, devido a sua dependência do pH, força iônica, tipo, características e concentração das substâncias húmicas (FURUKAWA; TAKAHASHI, 2008; ZHANG, 2004; ZHANG; DAVISON, 1999). Entretanto, existem evidências que apontam para a consistência dos valores. Scally, Davison e Zhang (2006), por exemplo, para géis difusivos de mesma composição que a usada neste trabalho, verificaram uma redução no coeficiente de difusão de Pb-AF (Pb-Ácido Fúlvico) de aproximadamente 75% quando comparado ao valor de Pb livre. Para o

mesmo gel, verificou-se uma redução similar, de 82% para Al-SH e 81% para Cu-SH. No mesmo trabalho, os autores verificaram que o valor do coeficiente de difusão do Cu para gel restritivo equivale a 70% do valor encontrado para gel difusivo. Também se observou uma redução de 72% entre esses coeficientes de difusão do Cu.

Outra evidência foi a similaridade dos valores encontrados nos dois géis, entre os coeficientes de difusão do complexo Cu-SH e os valores encontrados para ácidos fúlvicos extraídos de águas naturais (**Tabela 2**).

5.2 Determinações das frações lábeis de Al e Cu

5.2.1 Capacidades complexantes de substâncias húmicas por Al e Cu determinadas por UF-FT

O fracionamento de espécies metálicas pela técnica de ultrafiltração com fluxo tangencial é baseado no tamanho dos poros da membrana utilizada, assim o uso da técnica de UF-FT para fracionamento de Al e Cu em soluções modelo contendo substâncias húmicas, apresenta informações sobre as concentrações do Al e Cu livres e de seus complexos formados com as SH (Al-SH e Cu-SH).

Os resultados obtidos pela técnica da UF-FT, aplicados ao método simplificado de Rosenthal, Jones e Megargle (HAWKE; POWELL; GREGOR, 1996), permitiram a determinação das CC de substâncias húmicas dos rios Itapanhaú e Sorocabinha, em relação à presença de Al e Cu.

Os dados usados para o cálculo da CC das SH extraídas do rio Itapanhaú, pelos íons Al e Cu são apresentados nas **Figuras 9 e 10**, respectivamente. Foram usadas soluções modelo contendo Al acrescido de $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ de SH (expressa como COT), pH 4,5, força iônica $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ e Cu acrescido de 15 mg L^{-1} de SH (expressa com COT), pH 5,5, força iônica $0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

Para as substâncias húmicas extraídas do rio Sorocabinha, os dados usados no cálculo de suas CC pelos íons Al e Cu, são apresentados respectivamente nas **Figuras 11 e 12**. Foram usadas soluções modelo semelhantes às descritas para o rio Itapanhaú.

Os valores das CC das SH extraídas do rio Itapanhaú, para Al e Cu, foram $3,7$ e $1,0 \text{ } \mu\text{mol mg}^{-1} \text{ COT}$, respectivamente. O valor encontrado para Cu está em concordância com valores previamente obtidos para substâncias húmicas extraídas dos rios Itapitanguí ($1,09 - 1,25 \text{ } \mu\text{mol de Cu mg}^{-1} \text{ COT}$) e rio Iguape ($1,21 - 1,12 \text{ } \mu\text{mol de Cu mg}^{-1} \text{ COT}$) (ROMÃO et al., 2003).

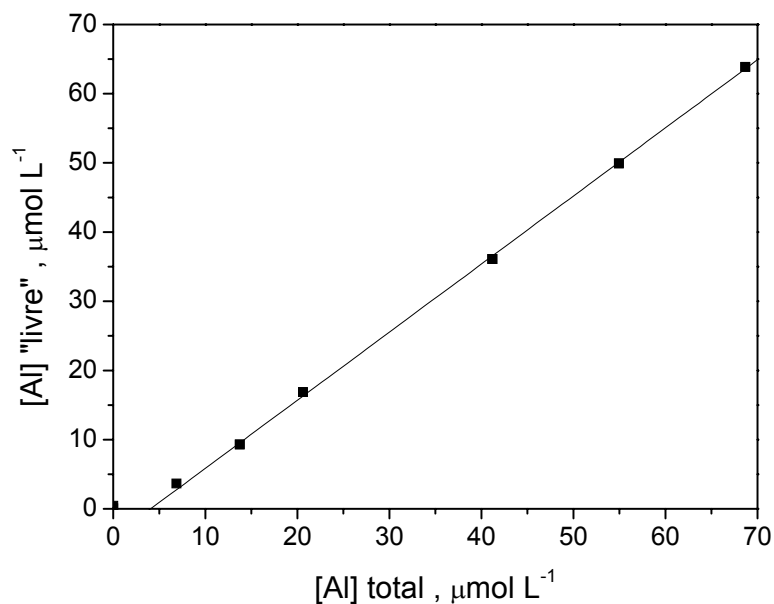


Figura 9. Capacidade complexante de substâncias húmicas extraídas do rio Itapanhaú, em relação a Al, medida por UF-FT. Condições: $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ de SH, pH 4,5 e $I = 0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

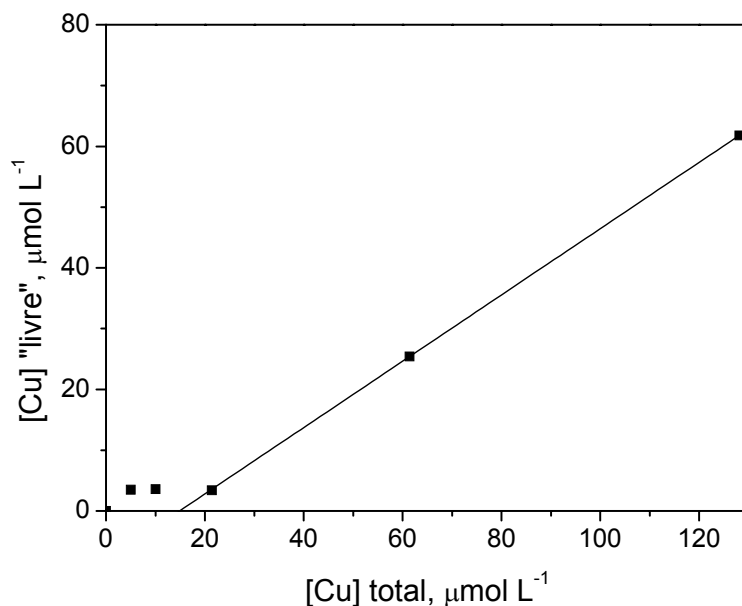


Figura 10. Capacidade complexante de substâncias húmicas extraídas do rio Itapanhaú, em relação a Cu, medida por UF-FT. Condições: $15,0 \text{ mg L}^{-1}$ de SH, pH 5,5 e $I = 0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

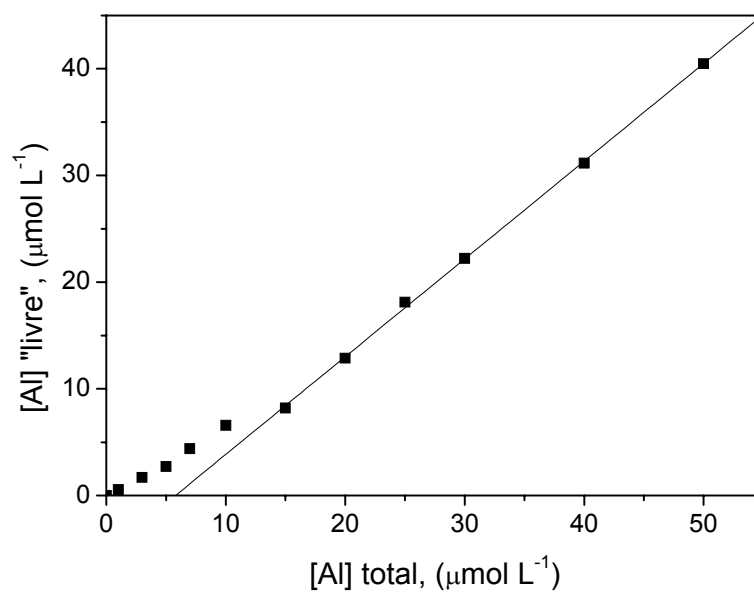


Figura 11. Capacidade complexante de substâncias húmicas extraídas do rio Sorocabinha, em relação a Al, medida por UF-FT. Condições: $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ de SH, pH 4,5 e $I = 0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

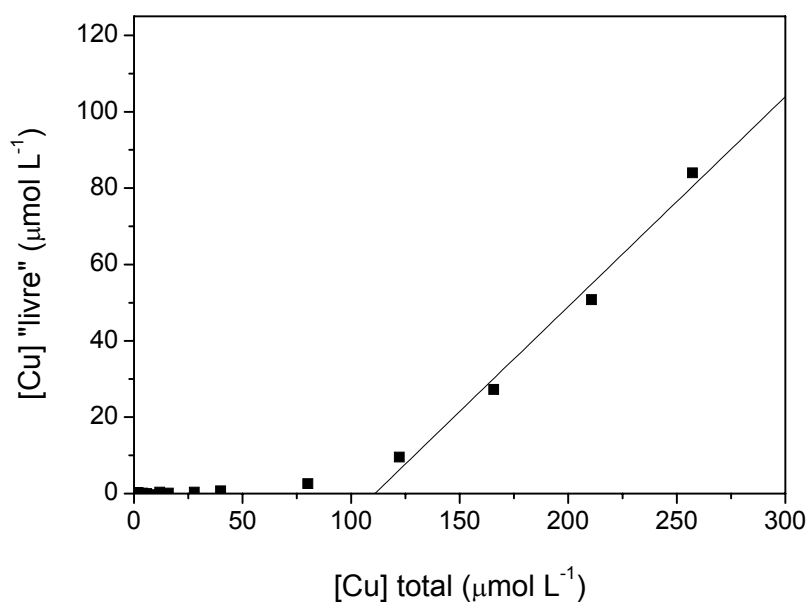


Figura 12. Capacidade complexante de substâncias húmicas extraídas do rio Sorocabinha, em relação a Cu, medida por UF-FT. Condições: 15 mg L^{-1} de SH, pH 5,5 e $I = 0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

Para as águas do rio Sorocabinha, as CC obtidas foram de 3,9 e 7,4 $\mu\text{mol mg}^{-1}$ COT, para Al e Cu respectivamente. Os valores das CC para Al foram concordantes nos dois rios, enquanto que para Cu, o valor obtido para o rio Sorocabinha foi muito maior que para o Itapanhaú. A similaridade dos resultados para Al deve-se a constância no valor do pH (4,5) usado nos experimentos, pois a labilidade do Al é influenciada mais acentuadamente pelo pH do que pela matéria orgânica. A diferença apresentada nos valores da CC para Cu relaciona-se a matéria orgânica existente no rio Sorocabinha, a qual se apresenta mais humificada e em maior concentração que a matéria orgânica do rio Itapanhaú. Também pode-se inferir que, as SH do rio Sorocabinha devam possuir maior quantidade de sítios complexantes com afinidade pelo íons Cu em relação ao íon Al.

5.2.2 Coeficientes de difusão aparentes obtidos com soluções modelo

A **Tabela 3** apresenta os valores dos coeficientes de difusão aparente para Al e Cu, obtidos com soluções modelo usando as SH extraídas do rio Itapanhaú, as mesmas usadas na determinação dos valores dos coeficientes de difusão dos complexos Metal-SH da **Tabela 2**.

Os coeficientes de difusão aparentes foram determinados pela expressão **(15, Item 4.4.6)** usando os dados da **Tabela 2**, onde os coeficientes de difusão dos íons Al e Cu livres e de seus complexos com SH, foram associados aos dados obtidos com a UF-FT para as soluções modelo.

Tabela 3. Coeficientes de difusão aparentes de Al e Cu em soluções modelo com SH do rio Itapanhaú.

Solução modelo com pH 4,5 e I = 0,05 mol L⁻¹			
[SH] (mg L ⁻¹)	[Al] (μmol L ⁻¹)	Fr. Livre (%)	D' _{Al} (10 ⁻⁶ cm ² s ⁻¹)
1,5	5	66	2,57
1,5	10	74	2,81
1,5	15	77	2,91
1,5	30	83	3,08
1,5	40	86	3,17
1,5	50	89	3,25
Solução modelo com pH 5,5 e I = 0,05 mol L⁻¹			
[SH] (mg L ⁻¹)	[Cu] (μmol L ⁻¹)	Fr. livre (%)	D' _{Cu} (10 ⁻⁶ cm ² s ⁻¹)
15	5	70	3,9
15	10	36	2,5
15	20	17	1,7
15	50	38	2,6
15	100	46	2,9
-	-	-	-

Observa-se que a difusão de Al aumentou proporcionalmente a razão de metal livre nas soluções. Enquanto que para as razões [Cu]:[SH] com valores de até 0,67 essa proporcionalidade não foi verificada.

Apesar dos resultados das frações livres de Al e Cu, gerados pelas soluções modelo preparadas com SH extraídas do rio Sorocabinha, não serem apresentados neste trabalho, foram observados comportamentos semelhantes das frações livres de Al e Cu, aos obtidos com as SH extraídas do rio Itapanhaú.

A labilidade de espécies metálicas nas SH depende tanto das características físico-químicas e conformacionais da macromolécula bem como, do tipo de metal a ser complexado. Assim, pode-se associar o diferente comportamento observado para os íons Al(III) e Cu(II), em função da

diferença entre suas cargas. Burba (1994) discute que as espécies trivalentes além de possuírem uma cinética de complexação lenta, apresentam maior dificuldade de interação com os grupos funcionais presentes nas SH, devido à possibilidade de ocorrência de impedimentos estéricos. Além disso, tal comportamento também está associado à diferença entre as concentrações de SH utilizadas nos experimentos, resultando em alterações na conformação estrutural da macromolécula (ROCHA; ROSA, 2003) e não permitindo uma comparação direta e adequada entre os resultados obtidos para os dois metais.

5.2.3 Determinação da fração lábil de Al em soluções modelo

O fracionamento de Al pela técnica DGT discrimina complexos cineticamente lábeis dos inertes, similarmente ao obtido pela técnica EFS. Estas técnicas têm base cinética e, com devidas considerações de suas escalas de tempo, os metais retidos na resina Chelex-100, tanto na coluna de EFS como no dispositivo DGT estão relacionados aos metais livres $\{Al(III)$ mais $Al(OH)_n^{3-n}\}$, as espécies fracamente complexadas e/ou complexos com alto grau de dissociação. Assim, é esperada aquiescência entre os resultados da DGT e da EFS. Com a finalidade de se verificar possíveis diferenças no tempo de emprego dos dispositivos DGT, foram comparados os resultados obtidos com imersões de 24 e 72 horas para soluções modelo de Al e SH extraídas do rio Itapanhaú (**Figura 13**).

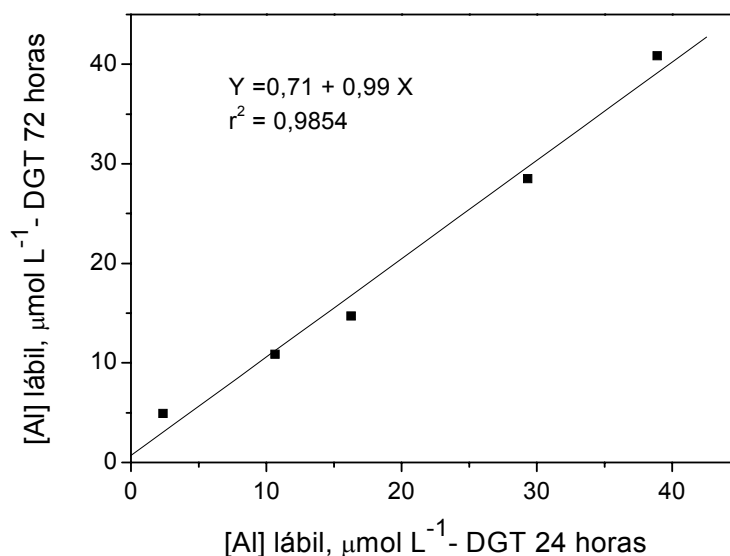


Figura 13. Comparação de resultados da técnica DGT com tempos de imersão de 24 e 72 horas para soluções contendo de 5 a 40 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Al em solução de SH 1,5 mg L^{-1} do rio Itapanhaú, pH = 4,5 e I = 0,05 mol L^{-1} .

Na **Figura 14** são apresentadas as comparações entre os resultados obtidos através da técnica EFS e DGT. As medidas foram feitas em soluções modelo contendo 1,5 mg L^{-1} de SH extraída do rio Itapanhaú, acrescido de 5, 10, 15, 30, 40 ou 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Al em pH $4,5 \pm 0,1$ e força iônica 0,05 mol L^{-1} .

A determinação da concentração de Al lábil pela técnica DGT foi realizada a partir da massa de metal recuperada da resina Chelex-100 e o coeficiente de difusão aparente obtido para a apropriada razão [Al]:[SH] de cada solução modelo, como apresentado na **Tabela 3**.

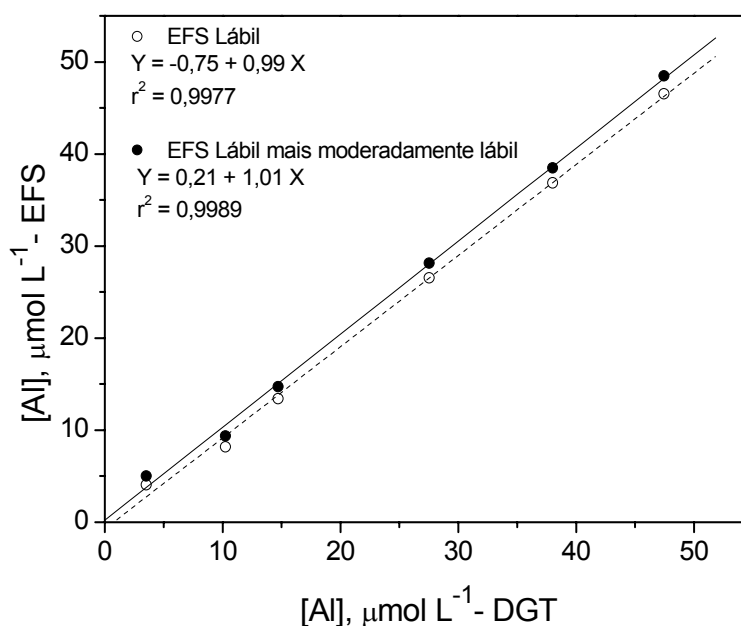


Figura 14. Correlação entre os resultados obtidos para Al lábil pelas técnicas DGT e EFS. Soluções contendo de 5 a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Al total em solução de SH 1,5 mg L^{-1} do rio Itapanhaú, pH 4,5 e $I = 0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

Um teste t pareado mostrou não haver diferença significativa ($n = 6$, nível 95%) para as concentrações de Al lábil quando os dispositivos DGT foram empregados em soluções modelo por 24 ou 72 horas.

Ótima correlação foi estabelecida entre as concentrações de Al lábil determinadas pela técnica DGT e as obtidas por EFS para ambas as frações operacionalmente definidas como lábil ($r^2 = 0,9977$) e lábil mais moderadamente lábil ($r^2 = 0,9989$). As definições operacionais de labilidade são relacionadas às escalas de tempo de contato entre os íons Al e a resina Chelex-100 (ALVAREZ; MALLA; BATISTONI, 2004; FIGURA; McDUFFIE, 1980), para o procedimento EFS, a fração lábil corresponde a um intervalo de

tempo de poucos segundos, enquanto a fração moderadamente lábil corresponde a um intervalo de várias horas.

Usando um procedimento de injeção em fluxo (FIA) e os dados aplicados ao método simplificado de Rosenthal, Jones e Megargle (HAWKE; POWELL; GREGOR, 1996), Downard et al., (2003) mostrou que a CC de um sistema formado por Metal-AF, determinada por DGT, corresponde às frações lábil mais moderadamente lábil. Usando o mesmo método de cálculo para a CC neste estudo, os resultados da **Tabela 4** também sugerem que a fração determinada pela DGT está relacionada à fração lábil mais moderadamente lábil determinada pela EFS.

A aplicação de um teste t pareado ao nosso conjunto de dados (DGT com EFS lábil e DGT com EFS lábil mais moderadamente lábil) confirmou esta similaridade, pois foi encontrada diferença significativa (nível 95%, $t = 2,85$) somente entre os valores obtidos pela DGT (valor médio de 23,6) e pela EFS no caso da determinação da fração lábil (valor médio de 22,6).

Tabela 4. Capacidade complexante de substâncias húmicas extraídas do rio Itapanhaú determinadas por DGT e EFS para Al.

	Al ($\mu\text{mol mg}^{-1}$ COT)
DGT	1,5
EFS, lábil	2,2
EFS, lábil mais moderadamente lábil	1,6

Os resultados obtidos para as soluções modelo de Al também reforçam a proposta usada para o cálculo do coeficiente de difusão aparente para soluções contendo metais e substâncias húmicas.

5.2.4 Determinação da fração lábil de Cu em soluções modelo

As concentrações de Cu determinadas pela DGT e EFS são apresentadas na **Figura 15**. As medidas dessas concentrações foram feitas em soluções modelo contendo 5, 10, 20, 50 ou 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu e 15 mg L^{-1} de SH ($\text{pH } 5,5 \pm 0,1$ e força iônica 0,05 mol L^{-1}). Para os experimentos com DGT, os coeficientes de difusão aparentes relacionados a cada solução modelo (**Tabela 3**) foram usados nos cálculos.

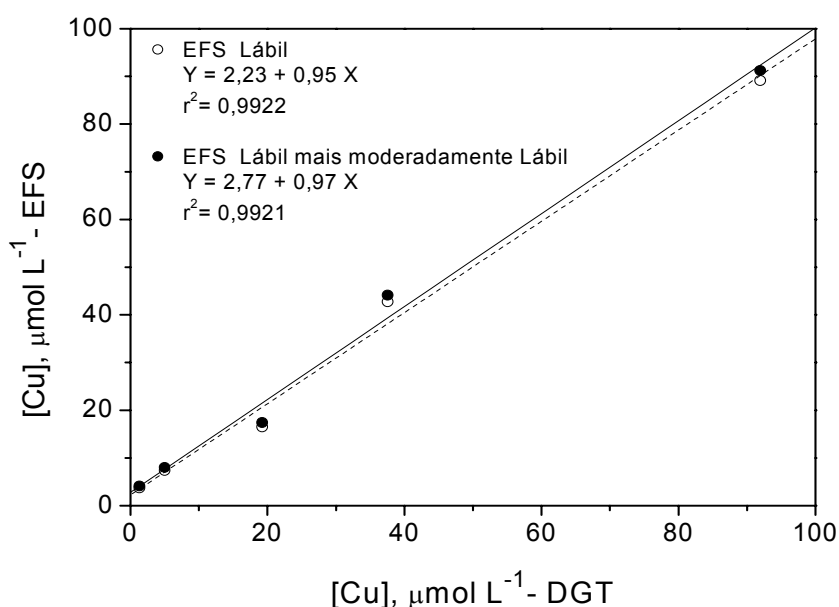


Figura 15. Correlação entre os resultados obtidos para Cu lábil pelas técnicas DGT e EFS. Soluções contendo de 5 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu total em solução de SH 15 mg L^{-1} extraídas do rio Itapanhaú, $\text{pH } 5,5$ e $I = 0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

Uma ótima correlação ($r^2 = 0,9921$) entre os valores das técnicas DGT e EFS mostra que o coeficiente de difusão aparente, apresentado na **Tabela 3**, representa a difusão de Cu nas soluções modelo. Um teste t pareado mostrou não haver diferenças significativas, com nível de confiança de 95%, entre as frações determinadas pela DGT e ambas as frações obtidas pela EFS (lábil e lábil mais moderadamente lábil). Porém, similarmente ao observado para o sistema Al-SH, a CC determinada pela DGT foi mais concordante com a CC calculada a partir das frações lábil mais moderadamente lábil (**Tabela 5**).

Tabela 5. Capacidade complexante de substâncias húmicas extraídas do rio Itapanhaú determinadas por DGT e EFS para Cu.

	Cu ($\mu\text{mol mg}^{-1}$ COT)
DGT	0,21
EFS, lábil	0,26
EFS, lábil mais moderadamente lábil	0,21

5.2.5 Determinação das frações lábeis de Al e Cu em amostras de águas de rios

Para determinação da difusão aparente em amostras reais é necessário assumir que os complexos orgânicos nas amostras têm a mesma difusão dos complexos formados pelas substâncias húmicas isoladas. Assumindo esta hipótese como razoável, os coeficientes de difusão aparente nas amostras

foram determinados usando os coeficientes de difusão apresentados na **Tabela 2** e os resultados do fracionamento das amostras por UF-FT, similarmente ao calculado para as soluções modelo.

As concentrações de Al total, ultrafiltrado (livre) e lábil determinadas em amostras de águas dos rios Sorocabinha (SO) e Peropava (PE), pelas técnicas DGT e UF-FT estão apresentadas na **Tabela 6** e os resultados para Cu são apresentados na **Tabela 7**.

As concentrações de Al e Cu lábeis determinadas pela técnica DGT e as concentrações desses metais lábeis mais moderadamente lábeis, determinadas pela técnica EFS são consistentes, porém uma pequena diferença sistemática entre os resultados para Al pode ser observada. Esta diferença pode ser atribuída à consideração inicial usada na determinação dos coeficientes de difusão aparentes para as medidas feitas com DGT. Porém, também se deve ponderar que os resultados são obtidos por procedimentos operacionalmente diferentes, onde ambos possuem cinéticas com escalas de tempo diferentes.

Em comparação com a escala de tempo da DGT, a etapa da técnica EFS usando coluna é muito rápida, com tempo de contato muito pequeno, da ordem de segundos (47 s), já a etapa da EFS usando batelada é muito demorada, tem escala de tempo da ordem de dias (72 h de tempo de contato). Para a DGT, a escala de tempo é relacionada ao período de permanência dos complexos no interior da camada difusiva de gel. Para uma camada de difusão com espessura de 0,09 cm o tempo de residência para os

complexos Al-SH ($D_{\text{Al-SH}} = 0,63 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$) e Cu-SH ($D_{\text{Cu-SH}} = 1,01 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$) são de 73 e 45 minutos, respectivamente.

Baseado nessas escalas de tempo e assumindo que os complexos Al-SH tem taxa de dissociação suficientemente baixa, é esperado que a labilidade medida pela DGT esteja entre os valores medidos pela EFS usando coluna e EFS usando batelada. Deste modo, é aceitável que a soma das frações lábil mais moderadamente lábil determinadas pelo procedimento EFS seja diferente da fração lábil determinada pela DGT, principalmente para amostras contendo a maiorias das espécies complexadas do tipo moderadamente lábil.

As concentrações de Al ultrafiltrado foram consideravelmente menores que as concentrações de Al medidas pela DGT (para as duas amostras analisadas), mostrando que o Al inorgânico (espécies de Al pequenas o bastante para passarem através de 1 kDa) foi inferior quando comparado com os complexos orgânicos lábeis. Para a amostra PE, as espécies de Cu inorgânico também se apresentaram em concentrações ínfimas quando comparadas com complexos orgânicos de Cu. Os resultados obtidos para a amostra SO indicam a existência de espécies de Cu com massas moleculares pequenas e suficientemente inertes para não serem retidas pelo amostrador DGT.

Tabela 6. Concentração de Al ($\mu\text{mol L}^{-1}$) total, ultrafiltrada, lábil e moderadamente lábil para amostras de águas dos rios Sorocabinha e Peropava.

Amostra	Total	Livre (UF-FT)	Lábil (EFS)	Moderadamente lábil (EFS)	Lábil + moderadamente lábil (EFS)	Lábil (DGT)
SO	$32,8 \pm 1,4$	$0,43 \pm 0,01$	$1,14 \pm 0,11$	$6,3 \pm 1,8$	$7,5 \pm 1,8$	$5,7 \pm 0,1$
PE	$15,9 \pm 0,2$	$0,27 \pm 0,02$	$1,78 \pm 0,04$	$3,4 \pm 0,3$	$5,9 \pm 0,3$	$4,6 \pm 0,5$

n = 3, media $\pm$ sd

Tabela 7. Concentração de Cu ($10^{-3} \mu\text{mol L}^{-1}$) total, ultrafiltrado, lábil e moderadamente lábil para amostras de águas dos rios Sorocabinha e Peropava.

Amostra	Total	Livre (UF-FT)	Lábil (EFS)	Moderadamente lábil (EFS)	Lábil + moderadamente lábil (EFS)	Lábil (DGT)
SO	$37,8 \pm 14,1$	$11,5 \pm 1,6$	$0,31 \pm 0,31$	$2,8 \pm 1,7$	$3,1 \pm 1,7$	$5,0 \pm 1,8$
PE	$17,3 \pm 1,6$	< LD	$0,94 \pm 0,1$	$4,2 \pm 0,1$	$5,2 \pm 1,7$	$13,2 \pm 7,4$

n = 3, media $\pm$ sd

5.3 Determinação das frações lábeis de Al e Cu inorgânicas e organicamente complexadas

5.3.1 Comparação entre DGT restritivo e UF-FT

As **Figuras 16 e 17** apresentam correlações entre os valores obtidos pelas técnicas UF-FT e DGT usando gel restritivo e coeficientes de difusão dos íons (Al ou Cu) livres. Foram usadas soluções modelo em temperatura de 23 °C. Para Al as soluções foram compostas por 0, 5, 10, 15, 30, 40 e 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Al acrescido de 1,5 mg L^{-1} de SH (expressa como COT e extraídas do rio Sorocabinha), em pH 4,5 e $I = 0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Para Cu foram usadas soluções contendo 0, 10, 20, 50, 100 e 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu mais 15 mg L^{-1} da mesma SH, em pH 5,5 e $I = 0,05 \text{ mol L}^{-1}$.

A correlação linear obtida para Al com $r^2 = 0,9905$, acrescida de um teste t para dados pareados, com 95% de confiança ($t_{\text{tab}} = 1,9432$ e $t = 0,1160$), o qual não apresentou diferença significativa entre os conjuntos de dados, e os valores dos resultados sendo próximos, permite inferir que as espécies determinadas pelas duas técnicas tem dimensões semelhantes.

Para o Cu a correlação linear foi inferior a do Al ($r^2 = 0,9692$), os valores da UF-FT foram significativamente inferiores aos da DGT. Um teste estatístico não paramétrico (Friedman), com 95% de confiança, indicou haver diferença entre os resultados das duas técnicas. Assim, pode-se afirmar que as técnicas de UF-FT e DGT restritivo não discriminam espécies com as mesmas dimensões.

Esses resultados são coerentes se considerarmos que a alta concentração de alumínio determinado através da UF-FT esteja na forma livre, resultante de uma elevada relação entre $[Al]:[SH]$ ou uma alta taxa de dissociação dos complexos Al-SH e se considerarmos também que os resultados inferiores do Cu resultam de complexos Cu-SH menos lábeis que os complexos Al-SH, com uma taxa de dissociação menor e que por isso não foram determinados pela UF-FT.

Os resultados superiores do Cu, obtidos pela DGT, nos permite também inferir que para os complexos Cu-SH, os tempos para dissociação dos complexos e de sua difusão através do gel restritivo devem ser próximos, pois esses complexos foram determinados na DGT. Assim, podemos supor que o diâmetro médio dos poros do gel restritivo deva ser superior ao diâmetro médio dos poros da membrana de 1 kDa usada na UF-FT.

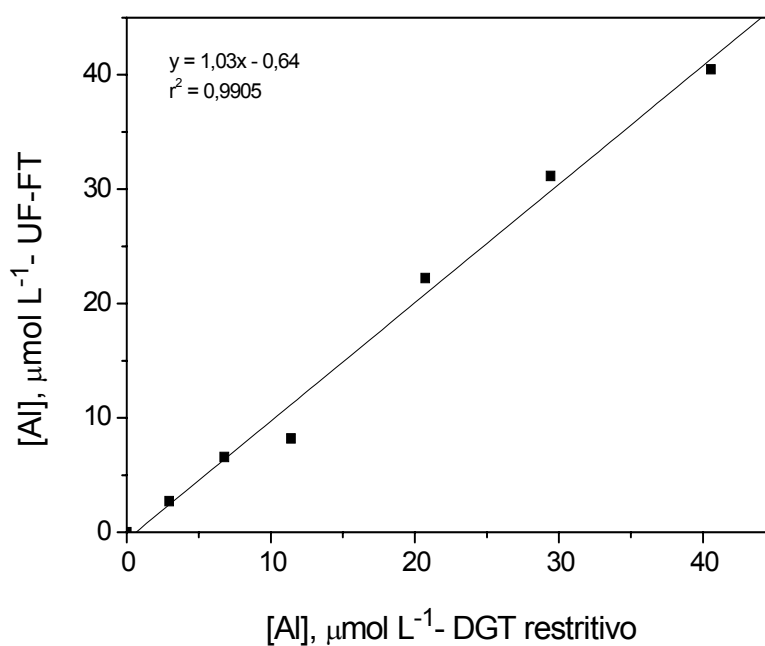


Figura 16. Correlação entre os resultados obtidos para Al lábil pelas técnicas UF-FT e DGT usando gel restritivo e coeficiente de difusão para o íon Al livre. $D_{Al} = 2,80 \pm 0,14 (10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1})$.

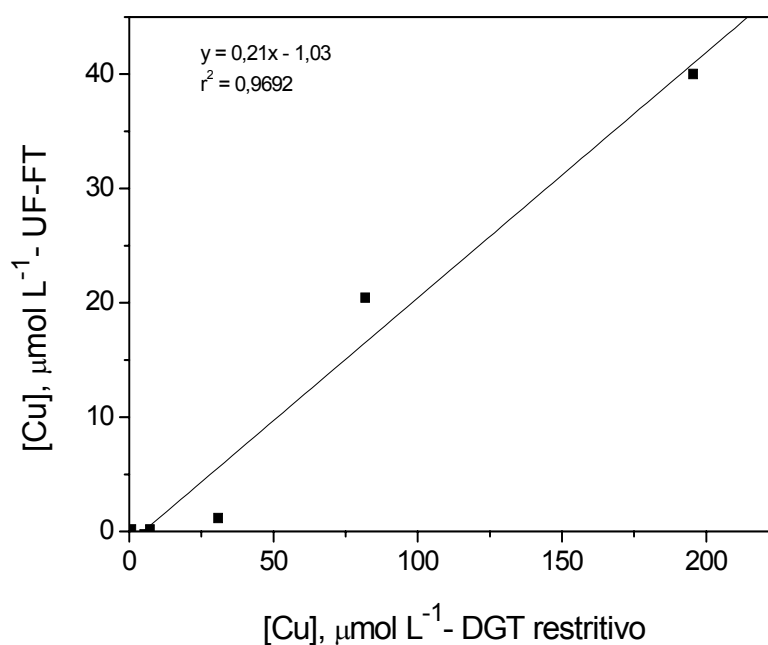


Figura 17. Correlação entre os resultados obtidos para Cu lábil pelas técnicas UF-FT e DGT usando gel restritivo e coeficiente de difusão para o íon Cu livre. $D_{Cu} = 3,73 \pm 0,06 (10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1})$.

5.3.2 Fracionamento de Al e Cu em soluções modelo

As soluções modelo de Al e Cu descritas no item anterior e mantidas a 23 °C também foram submetidas aos procedimentos de EFS e DGT para a determinação das frações inorgânicas e orgânicas. Para o procedimento DGT foram usados dispositivos com dois tipos diferentes de géis, difusivo e restritivo. A **Tabela 8** apresenta as frações determinadas para Al pelas três técnicas UF-FT, EFS e DGT.

Os resultados da DGT indicam que a maior parte do Al está na forma inorgânica e os complexos orgânicos formados são cineticamente estáveis para a resina Chelex-100 na escala de tempo da DGT. Os valores determinados pela EFS estão em acordo (teste t pareado com significância de 95%; $t_{\text{tab}} = 1,9432$ e $t = 1,3155$) com os resultados dos lábeis inorgânicos obtidos com a DGT, confirmando que a fração inorgânica do Al representa quase que a totalidade do Al lábil das soluções. Os resultados superiores da fração inorgânica determinada pela DGT, em relação aos resultados da UF-FT, indicam que os resultados da DGT devem corresponder não somente a fração livre determinada pela UF-FT, mais também a uma fração de complexos lábeis de massa molecular pequena o suficiente para passar pelo gel restritivo e ser retido pela resina, como previsto no item **5.3.1**.

A **Tabela 9** apresenta os resultados do fracionamento das soluções modelo contendo Cu, após o processamento com as técnicas UF-FT, EFS e DGT.

Os resultados obtidos pela DGT total lábil estão em perfeito acordo com os resultados obtidos com a EFS, como indicado pelo teste estatístico não paramétrico de Friedman com 95% de confiança (0,1429). Como ocorreu com o Al, a fração lábil inorgânica do Cu foi superior aos resultados obtidos com a UF-FT, demonstrando que a DGT determinou a fração livre acrescida de complexos de massa molecular pequena o bastante para passar pelo gel restritivo, porém grande demais para passar pela membrana de 1 kDa. Para o Cu foram observados complexos lábeis e inertes, onde através da EFS foi determinado valor médio para complexos inertes de $1,83 \pm 0,79 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Tabela 8. Frações de alumínio livre, lábil inorgânico, lábil orgânico e lábil total, obtidas por UF-FT, DGT com géis restritivos e difusivos e EFS, em soluções modelo.

[Al] total ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	UF- FT Livre ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	DGT Lábil Inorgânico ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	DGT Lábil Orgânico ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	DGT - Lábil total ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	EFS - Lábil total ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
0,0	0,0	$0,0 \pm 0,2$	< LD	$0,0 \pm 0,2$	$0,0 \pm 0,1$
5,0	2,7	$2,9 \pm 0,1$	$3,1 \pm 0,9$	$6,0 \pm 0,9$	$4,1 \pm 0,1$
10,0	6,6	$8,1 \pm 0,2$	< LD	$8,1 \pm 0,2$	$5,2 \pm 0,1$
15,0	8,2	$13,9 \pm 0,3$	< LD	$13,9 \pm 0,3$	$11,7 \pm 0,8$
30,0	22,2	$21,2 \pm 1,2$	$12,9 \pm 6,8$	$34,1 \pm 5,7$	$24,3 \pm 0,3$
40,0	31,2	$35,8 \pm 1,0$	< LD	$35,8 \pm 1,0$	$29,5 \pm 0,6$
50,0	40,5	$57,1 \pm 0,9$	< LD	$57,1 \pm 0,9$	$36,7 \pm 0,1$

Soluções modelo contendo [Al] mais $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ SH, pH 4,5 e $I = 0,05 \text{ mol L}^{-1}$ a 23°C

Tabela 9. Frações de cobre livre, lábil inorgânico, lábil orgânico e lábil total obtidas por UF-FT, DGT com géis restritivos e difusivos e EFS em soluções modelo

[Cu] total ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	UF- FT Livre ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	DGT Lábil Inorgânico ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	DGT Lábil Orgânico ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	DGT - Lábil total ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	EFS - Lábil total ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
0,0	0,0	< LD	$1,4 \pm 0,7$	$1,4 \pm 0,7$	$0,0 \pm 0,2$
5,0	0,2	$0,4 \pm 0,2$	$4,8 \pm 0,7$	$5,2 \pm 0,5$	$4,0 \pm 0,5$
10,0	< LD	$5,4 \pm 0,1$	< LD	$5,4 \pm 0,1$	$8,5 \pm 0,4$
20,0	0,2	$5,5 \pm 0,1$	$17,9 \pm 0,8$	$23,4 \pm 0,8$	$17,2 \pm 0,3$
50,0	1,2	$27,6 \pm 0,7$	$17,3 \pm 2,2$	$44,9 \pm 1,5$	$47,8 \pm 1,4$
100,0	20,4	$75,7 \pm 1,2$	$13,2 \pm 2,2$	$88,9 \pm 0,9$	$97,5 \pm 0,5$
200,0	40,0	$184,7 \pm 2,8$	< LD	$184,7 \pm 2,8$	$199,1 \pm 2,9$

Soluções modelo contendo [Cu] mais 15 mg L^{-1} SH, pH 5,5 e $I = 0,05 \text{ mol L}^{-1}$ a 23°C

5.3.3 Fracionamento de Al e Cu em amostras de águas de rios

As **Tabelas 10 e 11** apresentam as concentrações de alumínio e cobre lábeis inorgânicos e orgânicos obtidos nas análises feitas em laboratório para as amostras de águas dos rios Sorocabinha e Peropava. As concentrações dos totais lábeis determinados pela DGT são comparadas a valores obtidos a partir do procedimento usando o coeficiente de difusão aparente apresentado anteriormente e através do procedimento EFS.

No cálculo das concentrações das frações dos complexos lábeis inorgânicos e orgânicos, considera-se que os complexos orgânicos nas amostras têm a mesma difusão dos complexos formados a partir das substâncias húmicas isoladas no laboratório. Os coeficientes de difusão do Al(III), Cu(II), Al-SH e Cu-SH são os mesmos apresentados na **Tabela 2** medidos em uma câmara de difusão e os valores totais lábeis, determinados com o coeficiente de difusão aparente, estão apresentados nas **Tabelas 6 e 7**.

Para as duas amostras, a maior parte do Al e do Cu lábil está complexada às substâncias húmicas presentes. Levando-se em consideração as concentrações totais de Al determinadas nas amostras (**Tabela 6**), apenas 20% (SO) e 38% (PE) desse Al total estão sob a forma lábil. A maior parte do Al das amostras encontra-se sob a forma de complexos inorgânicos ou orgânicos cineticamente estáveis. O mesmo ocorrendo com o Cu (**Tabela 7**) onde apenas 30% (SO) e 45% (PE) do analito foram determinados como lábeis.

Tabela 10. Concentrações de alumínio lábil inorgânico e orgânico em amostras de água dos rios Sorocabinha e Peropava, determinadas em laboratório.

	Concentração obtida, $\mu\text{mol L}^{-1}$			Concentração de referência, $\mu\text{mol L}^{-1}$	
	DGTLábil Inorgânico	DGT Lábil Orgânico	DGT Lábil total ^a	DGT Lábil total ^b	EFS Lábil total
SO	<LD	$6,4 \pm 0,6$	$6,4 \pm 0,6$	$5,7 \pm 0,1$	$7,4 \pm 1,8$
PE	<LD	$6,0 \pm 0,3$	$6,0 \pm 0,3$	$4,6 \pm 0,5$	$5,2 \pm 0,3$

a. Concentração obtida pela soma das frações orgânicas e inorgânicas

b. Concentração obtida usando o coeficiente de difusão aparente.

Tabela 11. Concentrações de cobre lábil inorgânico e orgânico em amostras de água dos rios Sorocabinha e Peropava, determinadas em laboratório.

	Concentração obtida, $10^{-3} \mu\text{mol L}^{-1}$			Concentração de referência, $10^{-3} \mu\text{mol L}^{-1}$	
	DGTLábil Inorgânico	DGT Lábil Orgânico	DGT Lábil total ^a	DGT Lábil total ^b	EFS Lábil total
SO	<LD	$11,0 \pm 7,9$	$11,0 \pm 7,9$	$4,7 \pm 1,6$	$3,1 \pm 1,6$
PE	<LD	$7,9 \pm 1,6$	$7,9 \pm 1,6$	$12,6 \pm 0,5$	$4,7 \pm 1,6$

a. Concentração obtida pela soma das frações orgânicas e inorgânicas

b. Concentração obtida usando o coeficiente de difusão aparente.

Pode-se inferir que a elevada concentração de COT das amostras tenha complexado os metais livres e formado complexos de elevada estabilidade, reduzido a concentração dos metais lábeis como verificado em outros trabalhos (FERREIRA et al, 2008; TUSSEAU-VUILLEMIN et al., 2007).

As concentrações totais das espécies lábeis (livres e inorgânicas e orgânicas) obtidas com os diferentes dispositivos DGT, estão em concordância com as concentrações totais lábeis obtidas tanto pelo procedimento que usa o coeficiente de difusão aparente como pela EFS.

5.3.4 Fracionamento de Al e Cu em águas de rios com imersão “*in situ*”

As **Tabelas 12 e 13** apresentam resultados obtidos para as concentrações de Al e Cu lábeis inorgânicos e orgânicos determinados a partir de imersões feitas “*in situ*” nos rios Sorocabinha e Peropava. Novamente foram considerados que os complexos orgânicos existentes nas águas dos rios têm a mesma difusão dos complexos formados a partir das substâncias húmicas isoladas no laboratório. Os valores das concentrações dos metais totais lábeis determinados através da DGT foram comparados com valores obtidos através do procedimento usando o coeficiente de difusão aparente. A técnica EFS não foi usada na verificação dos resultados destas amostras por não ser uma técnica com aplicação “*in situ*”, logo seus resultados não poderiam corresponder aos obtidos com a DGT.

Tabela 12. Concentrações de alumínio lábil inorgânico e orgânico em amostras de água dos rios Sorocabinha e Peropava, com imersões “*in situ*”.

	Concentração obtida, $\mu\text{mol L}^{-1}$			Concentração de referência, $\mu\text{mol L}^{-1}$
	DGT Lábil Inorgânico	DGT Lábil Orgânico	DGT Lábil total ^a	DGT Lábil total ^b
SO	$0,6 \pm 0,1$	$9,7 \pm 0,3$	$10,3 \pm 0,4$	$12,3 \pm 0,1$
PE	$2,2 \pm 0,1$	<LD	$2,2 \pm 0,1$	$9,3 \pm 0,1$

a. Concentração obtida pela soma das frações orgânicas e inorgânicas

b. Concentração obtida usando o coeficiente de difusão aparente.

Tabela 13. Concentrações de cobre lábil inorgânico e orgânico em amostras de água dos rios Sorocabinha e Peropava, com imersões “*in situ*”.

	Concentração obtida, $10^{-3} \mu\text{mol L}^{-1}$			Concentração de referência, $10^{-3} \mu\text{mol L}^{-1}$
	DGT Lábil Inorgânico	DGT Lábil Orgânico	DGT Lábil total ^a	DGT Lábil total ^b
SO	$12,6 \pm 7,9$	$69,2 \pm 37,8$	$81,8 \pm 31,5$	$59,8 \pm 1,6$
PE	<LD	$66,1 \pm 12,6$	$66,1 \pm 12,6$	$69,2 \pm 1,6$

a. Concentração obtida pela soma das frações orgânicas e inorgânicas

b. Concentração obtida usando o coeficiente de difusão aparente.

Para o rio Sorocabinha, tanto Al como Cu ocorreram na forma de complexos lábeis inorgânicos e orgânicos, diferentemente das amostras analisadas no laboratório. Podemos inferir que essa diferença seja resultado de alterações nos complexos existentes nas amostras analisadas no laboratório, resultantes do manuseio das amostras (coleta, transporte e armazenamento) e do intervalo de tempo entre a coleta e a separação e análise dos analitos.

As concentrações determinadas a partir dos procedimentos *"in situ"*, de maneira geral apresentaram valores superiores aos obtidos no laboratório, indicando novamente mudança na estrutura dos complexos das amostras armazenadas.

De maneira similar aos valores obtidos no laboratório, as concentrações lábeis totais (inorgânica e orgânica) apresentaram boa correlação com os valores obtidos para as concentrações lábeis das mesmas amostras quando se usou o procedimento com o coeficiente de difusão aparente.

6. CONCLUSÕES

O desempenho da câmara de difusão foi considerado bom, pois os valores dos coeficientes de difusão para os íons Cd(II), Cu(II) e Al(III) foram similares aos observados em trabalhos da literatura para a mesma temperatura. Assim a câmara pode ser usada também para a determinação do coeficiente de difusão dos complexos Cu-SH e Al-SH.

O procedimento para a determinação dos coeficientes de difusão aparentes, dos íons Al(III) e Cu(II) em soluções modelo, forneceu valores adequados, pois os resultados determinados com a DGT foram concordantes com os obtidos pela EFS. Desta forma, foi possível a obtenção dos coeficientes de difusão aparentes desses íons, para as amostras de águas dos rios Sorocabinha e Peropava.

A exatidão dos resultados determinados pela DGT foi confirmada através da ótima correlação obtida destes com os resultados apresentados pelo procedimento EFS com a coluna de resina Chelex-100 para as mesmas soluções modelo. O resultado da DGT correspondeu à soma das frações livre, lábil e moderadamente lábil dos analitos. Para as amostras tratadas no laboratório, a exatidão dos resultados da DGT também foi verificada pela EFS, obtendo-se coerência entre os resultados.

As capacidades complexantes das SH para os dois analitos foram determinadas pelas três técnicas, UF-FT, DGT e EFS, apresentando resultados da UF-FT sistematicamente superiores aos determinados com a DGT e EFS, que se apresentaram similares. Para a DGT e EFS o cálculo da CC utiliza apenas íons lábeis, por isso, seus valores representam de forma mais realista a capacidade da SH em reduzir a disponibilidade dos metais no ambiente aquático.

A técnica de UF-FT associada à técnica DGT, usando o coeficiente de difusão aparente, permitiu o fracionamento dos íons Al e Cu, tanto das soluções modelo como nas amostras dos rios. O procedimento permitiu a

determinação das frações: livre (UF-FT), lábil + moderadamente lábil (DGT) e inerte (diferença entre a concentração total dos íons e a soma das frações anteriores).

A técnica DGT com diferentes géis difusivos se apresentou eficiente no fracionamento entre as espécies inorgânicas e orgânicas de Al e Cu, tanto para soluções modelo, como para as amostras de águas dos rios analisadas em laboratório e com imersões “*in situ*”. Os resultados desse procedimento foram concordantes com os valores determinados pela UF-FT, assim como com os valores obtidos pela EFS.

As concentrações das frações inorgânica e orgânica, determinadas com a amostragem “*in situ*”, foram superiores as obtidas no laboratório, indicando possível alteração nas amostras, reforçando a necessidade de uso de técnicas analíticas com amostradores passivos para a obtenção de resultados mais realísticos sobre as espécies químicas presentes em um sistema aquático.

A técnica DGT se apresenta como uma excelente ferramenta analítica para investigação de íons metálicos presentes em ambientes aquáticos naturais, oferecendo a possibilidade de: monitoramento contínuo, em intervalos de tempo pré-determinados, realização de estudos cinéticos das espécies químicas lábeis presentes no sistema e discriminação entre as espécies lábeis inorgânicos e orgânicos.

REFERÊNCIAS

ALLAN, I. J.; KNUTSSON, J.; GUIGUES, N.; MILLS, G. A.; FOUILLAC, A. M.; GREENWOOD, R. Chemcatcher (R) and DGT passive sampling devices for regulatory monitoring of trace metals in surface water. **J. Environ. Monit.**, v. 10, n. 7, p. 821-829, 2008.

ALLOWAY, B. J. **Heavy metal in soils**. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 1993. 339 p.

ALVAREZ, M. B.; MALLA, M. E.; BATISTONI, D. A. Performance evaluation of two chelating ion-exchange sorbents for the fractionation of labile and inert metal species from aquatic media. **Anal. Bional. Chem.**, v. 378, n. 2, p. 438-446, Jan. 2004.

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

AUNG, N. N.; NAKAJIMA, F.; FURUMAI, H. Trace metal speciation during dry and wet weather flows in the Tama River, Japan, by using diffusive gradients in thin films (DGT). **J. Environ. Monit.**, v. 10, n. 2, p. 219-230, 2008.

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

BERNHARD, M.; BRINCKMAN, F. E.; SADLER, P. J. **The importance of chemical speciation in environmental process**. Berlim: Springer-Verlag, 1986. 761 p.

BOWEN, W. R.; DONEVA, T. A. Atomic force microscopy characterization of ultrafiltration membranes: correspondence between surface pore dimensions and molecular weight cut-off. **Surf. Interface Anal.**, v. 29, n. 8, p. 544-547, Aug. 2000.

BOWEN, W. R.; HILAL, N.; LOVITT, R. W.; WILLIAMS, P. M. Visualisation of an ultrafiltration membrane by non-contact atomic force microscopy at single pore resolution. **J. Memb. Sci.**, v. 110, n. 2, p. 229-232, Feb. 1996.

BOWEN, W. R.; HILAL, N.; LOVITT, R. W.; WRIGHT, C. J. A new technique for membrane characterisation: direct measurement of the force of adhesion of a single particle using an atomic force microscope. **J. Memb. Sci.**, v. 139, n. 2, p. 269-274, Feb. 1998.

BURBA, P. Labile/inert metal species in aquatic humic substances - an ion-exchange study. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 348, n. 4, p. 101-111, Feb. 1994.

BURBA, P.; ASTER, B.; NIFANT'EVA, T.; SHKINEV, V.; SPIVAKOV, B. Y. Membrane filtration studies of aquatic humic substances and their metal species: a concise overview Part 1. Analytical fractionation by means of sequential-stage ultrafiltration. **Talanta**, v. 45, n. 5, p. 977-988, Mar. 1998.

BUZIER, R.; TUSSEAU-VUILLEMIN, M. H.; MERIADEC, C. M. D.; ROUSSELOT, O.; MOUCHEL, J. M. Trace metal speciation and fluxes within a major French wastewater treatment plant: impact of the successive treatments stages. **Chemosphere**, v. 65, n. 11, p. 2419-2426, Dec. 2006.

CHAPMAN, P. M.; ALLEN, H. E.; GODTFREDSEN, K.; ZGRAGGEN, M. N. Evaluation of bioaccumulation factors in regulating metals. **Environ. Sci. Technol.**, v. 30, n. 10, p. A448-A452, Oct. 1996.

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.

DAVISON, W.; ZHANG, H. *In situ* speciation measurements of trace components in natural-waters using thin-film gels. **Nature**, v. 367, n. 6463, p. 545-548, Feb. 1994.

DENNEY, S.; SHERWOOD, J.; LEYDEN, J. *In situ* measurements of labile Cu, Cd and Mn in river waters using DGT. **Sci. Total Environ.**, v. 239, n. 1-3, p. 71-80, Oct. 1999.

DGT RESEARCH LTD. **Tabela de coeficientes de difusão**. Lancaster, 2008. 2 p. Disponível em: <<http://www.dgtresearch.com/dgtresearch/dgtresearch.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2008.

DIVIS, P.; DOCEKALOVA, H.; BRULIK, L.; PAVLIS, M.; HEKERA, P. Use of the diffusive gradients in thin films technique to evaluate (bio)available trace metal concentrations in river water. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 387, n. 6, p. 2239-2244, Mar. 2007.

DOCEKAL, B.; REZACOVA-SMETKOVA, V.; DOCEKALOVA, H. Effect of humic acid on metal uptake measured by diffusive gradients in thin films technique. **Chem. Pap.**, v. 59, n. 5-6, p. 298-303, 2005.

DONARD, O. F. X.; CARUSO, J. A. Trace metal and metalloid species determination: evolution and trends. **Spectrochim. Acta, Part B**, v. 53, n. 2, p. 157-163, Feb. 1998.

DOWNARD, A. J.; PANTHER, J.; KIM, Y. C.; POWELL, K. J. Lability of metal ion-fulvic acid complexes as probed by FIA and DGT: a comparative study. **Anal. Chim. Acta**, v. 499, n. 1-2, p. 17-28, Dec. 2003.

EATON, A. D.; CLESCERI, L. S.; GREENBERG, E. A.; FRANSON, M. A. H.; RICE, E. W. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 21th ed. Washington, D.C: American Public Health Association, 2005. 1368 p.

FERREIRA, D.; TOUSSET, N.; RIDAME, C.; TUSSEAU-VUILLEMIN, M. H. More than inorganic copper is bioavailable to aquatic mosses at environmentally relevant concentrations. **Environ. Toxic. Chem.**, v. 27, n. 10, p. 2108-2116, Oct. 2008.

FIGURA, P.; McDUFFIE, B. Determination of labilities of soluble trace metal species in aqueous environmental samples by anodic stripping voltammetry and Chelex column and batch methods. **Anal. Chem.**, v. 52, n. 9, p. 1433-1439, Aug. 1980.

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

FURUKAWA, K.; TAKAHASHI, Y. Effect of complexation with humic substances on diffusion of metal ions in water. **Chemosphere**, v. 73, n. 8, p. 1272-1278, Nov. 2008.

HART, B. T. Trace-metal complexing capacity of natural-waters - a review. **Environ. Technol. Lett.**, v. 2, n. 3, p. 95-110, 1981.

HASSAN, N. M.; MURIMBOH, J. D.; SEKALY, A. L. R.; MANDAL, R.; CHAKRABARTI, C. L.; GRÉGOIRE, D. C. Cascade ultrafiltration and competing ligand exchange for kinetic speciation of aluminium, iron, and nickel in fresh water. **Anal. Bional. Chem.**, v. 384, n. 7-8, p. 1558-1566, Apr. 2006.

HAWKE, D. J.; POWELL, K. J.; GREGOR, J. E. Determination of the aluminium complexing capacity of fulvic acids and natural waters, with examples from five New Zealand rivers. **Mar. Freshwater Res.**, v. 47, n. 1, p. 11-17, 1996.

HOLT, M. S. Sources of chemical contaminants and routes into the freshwater environment. **Food Chem. Toxicol.**, v. 38, p. S21-S27, Apr. 2000.

JANSEN, B.; MULDER, J.; VERSTRATEN, J. M. Organic complexation of Al and Fe in acidic soil solutions - Comparison of diffusive gradients in thin films analyses with Models V and VI predictions. **Anal. Chim. Acta**, v. 498, n. 1-2, p. 105-117, Nov. 2003.

JANSEN, B.; KOTTE, M. C.; VAN WIJK, A. J.; VERSTRATEN, J. M. Comparison of diffusive gradients in thin films and equilibrium dialysis for the determination of Al, Fe(III) and Zn complexed with dissolved organic matter. **Sci. Total Environ.**, v. 277, n. 1-3, p. 45-55, Sept. 2001.

KAWAKAMI, S. K.; SEIDEL, J. L.; ELBAZ-POULICHET, F.; ACHTERBERG, E. P. Trace-metal biogeochemistry in the Mediterranean Thau Lagoon, a shellfish farming área. **J. Coast. Res.**, v. 24, n. 4C, p. 194-202, 2008.

LACERDA, D. L. Contaminação por mercúrio no Brasil: fontes industriais vs garimpo de ouro. **Quím. Nova**, v. 20, n. 2, p. 196-199, mar. 1997.

LARNER, B. L.; SEEN, A. J.; SNAPE, I. Evaluation of diffusive gradients in thin film (DGT) samplers for measuring contaminants in the Antarctic marine environment. **Chemosphere**, v. 65, n. 5, p. 811-820, Oct. 2006.

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. **Anal. Chim. Acta**, v. 464, n. 2, p. 331-339, Aug. 2002.

LUIDER, C. D.; CRUSIUS, J.; PLAYLE, R. C.; CURTIS, P. J. Influence of natural organic matter source on copper speciation as demonstrated by Cu binding to fish gills, by ion selective electrode, and by DGT gel sampler. **Environ. Sci. Technol.**, v. 38, n. 10, p. 2865-2872, May 2004.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319 p.

MARTIN, A. J.; GOLDBLATT, R. Speciation, behavior, and bioavailability of copper downstream of a mine-impacted lake. **Environ. Toxicol. Chem.**, v. 26, n. 12, p. 2594-2603, Dec. 2007.

MORRISON, G. M. P.; BATLEY, G. E.; FLORENCE, T. M. Metal speciation and toxicity. **Chem. Brit.**, v. 25, n. 8, p. 791-796, Aug. 1989.

MUNKSGAARD, N. C.; PARRY, D. L. Monitoring of labile metals in turbid coastal seawater using diffusive gradients in thin-films. **J. Environ. Monit.**, v. 5, n. 1, p. 145-149, Feb. 2003.

NIFANT'EVA, T. I.; BURBA, P.; FEDOROVA, O.; SHKINEV, V. M.; SPIVAKOV, B. Y. Ultrafiltration and determination of Zn- and Cu-humic substances complexes stability constants. **Talanta**, v. 53, n. 6, p. 1127-1131, Mar. 2001.

PERDUE, E. M. Measurements of binding site concentrations in humic substances. In: KRAMER, J. R.; ALLEN, H. E. (Ed.). **Metal speciation: theory, analysis and application**. Chelsea: Lewis Publishers, 1988. p. 135-154.

POKROVSKY, O. S.; SCHOTT, J.; DRUPÉ, B. Trace element fractionation and transport in boreal rivers and soil porewaters of permafrost-dominated basaltic terrain in Central Sibéria. **Geochim. Cosmochim. Acta**, v. 70, n. 13, p. 3239-3260, July 2006.

REBOUÇAS, A. C. **Panorama da degradação do ar, da água doce e da terra no Brasil**. São Paulo: IEA-USP; Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1997. 150 p.

ROCHA, J. C.; ROSA, A. H. **Substâncias húmicas aquáticas: interações com espécies metálicas**. São Paulo: Ed. UNESP, 2003. 120 p.

ROMÃO, L. P. C. **Utilização da ultrafiltração em fluxo tangencial como nova metodologia para determinação da capacidade de complexação e constantes de equilíbrio de íons Cu(II) complexados por matéria orgânica natural**. 2003. 80 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2003.

ROMÃO, L. P. C.; CASTRO, G. R.; ROSA, A. H.; ROCHA, J. C.; PADILHA, P. M.; SILVA, H. C. Tangential-flow ultrafiltration: a versatile methodology for determination of complexation parameters in refractory organic matter from Brazilian water and soil samples. **Anal. Bional. Chem.**, v. 375, n. 8, p. 1097-1100, Apr. 2003.

ROSENTHAL, D.; JONES G. L.; MEGARGLE, R. Feasibility and error in linear extrapolation titration procedures. **Anal. Chim. Acta**, v. 53, n. 1, p. 141-158, Jan. 1971.

ROYSET, O.; ROSSELAND, B. O.; KRISTENSEN, T.; KROGLUND, F.; GARMO, O. A.; STEINNES, E. Diffusive gradients in thin films sampler predicts stress in brown trout (*Salmo trutta* L.) exposed to aluminum in acid fresh waters. **Environ. Sci. Technol.**, v. 39, n. 4, p. 1167-1174, Feb. 2005.

RUŽIĆ, I. Theoretical aspects of the direct titration of natural waters and its information yield for trace metal speciation. **Anal. Chim. Acta**, v. 140, n. 1, p. 99-113, Aug. 1982.

SANZ-MEDEL, A. Trace element analytical speciation in biological systems: importance, challenges and trends. **Spectrochim. Acta, Part B**, v. 53, n. 2, p. 197-211, Feb. 1998.

SCALLY, S.; DAVISON, W.; ZHANG, H. Diffusion coefficients of metals and metal complexes in hydrogels used in diffusive gradients in thin films. **Anal. Chim. Acta**, v. 558, n. 1-2, p. 222-229, Feb. 2006.

SCALLY, S.; ZHANG, H.; DAVISON, W. Measurements of lead complexation with organic ligands using DGT. **Aust. J. Chem.**, v. 57, n. 10, p. 925-930, 2004.

SCHEEL, T.; JANSEN, B.; VAN WIJK, A. J.; VERSTRATEN, J. M.; KALBITZ, K. Stabilization of dissolved organic matter by aluminium: a toxic effect or stabilization through precipitation?. **Eur. J. Soil Sci.**, v. 59, n. 6, p. 1122-1132, Dec. 2008.

SONDERGAARD, J. *In situ* measurements of labile Al and Mn in acid mine drainage using diffusive gradients in thin films. **Anal. Chem.**, v. 79, n. 16, p. 6419-6423, Aug. 2007.

SONDERGAARD, J.; ELBERLING, B.; ASMUND, G. Metal speciation and bioavailability in acid mine drainage from a high Arctic coal mine waste rock pile: temporal variations assessed through high-resolution water sampling, geochemical modelling and DGT. **Cold Reg. Sci. Technol.**, v. 54, n. 2, p. 89-96, Oct. 2008.

TEMPLETON, D. M.; ARIESE, F.; CORNELIS, R.; DANIELSOON, L. G.; MUNTAU, H.; VAN LEEUWEN, H. P.; LOBINSKI, R. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches (IUPAC Recommendations 2000). **Pure Appl. Chem.**, v. 72, n. 8, p. 1453-1470, 2000.

TESSIER, A.; CAMPBELL, P. G. C.; BISSON, M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. **Anal. Chem.**, v. 51, n. 7, p. 844-851, June 1979.

TUSSEAU-VUILLEMIN, M. H.; GILBIN, R.; BAKKAUS, E.; GARRIC, J. Performance of diffusion gradient in thin films to evaluate the toxic fraction of copper to *Daphnia magna*. **Environ. Toxicol. Chem.**, v. 23, n. 9, p. 2154-2161, Sept. 2004.

TUSSEAU-VUILLEMIN, M. H.; GOURLAY, C.; LORGEUX, C.; MOUCHEL, J. M.; BUZIER, R.; GILBIN, R.; SEIDEL, J. L.; ELBAZ-POULICHET, F. Dissolved and bioavailable contaminants in the Seine river basin. **Sci. Total Environ.**, v. 375, n. 1-3, p. 244-256, Apr. 2007.

TWISS, M. R.; MOFFETT, J. W. Comparison of copper speciation in coastal marine waters measured using analytical voltammetry and diffusion gradient in thin-film techniques. **Environ. Sci. Technol.**, v. 36, n. 5, p. 1061-1068, Mar. 2002.

VANLOON, J. C.; BAREFOOT, R. R. Overview of analytical methods for elemental speciation. **Analyst**, v. 117, n. 3, p. 563-570, Mar. 1992.

WALLNER-KERSANACH, M.; ANDRADE, C. F. F.; ZHANG, H.; MILANI, M. R.; NIENCHESKI, L. F. H. *In situ* measurement of trace metals in estuarine waters of Patos Lagoon using diffusive gradients in thin films (DGT). **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 20, n. 2, p. 333-340, jan. 2009.

WARNKEN, K. W.; DAVISON, W.; ZHANG, H. Interpretation of *in situ* speciation measurements of inorganic and organically complexed trace metals in freshwater by DGT. **Environ. Sci. Technol.**, v. 42, n. 18, p. 6903-6909, Sept. 2008.

WARNKEN, K. W.; DAVISON, W.; ZHANG, H.; GALCERAN, J.; PUY, J. *In situ* measurements of metal complex exchange kinetics in freshwater. **Environ. Sci. Technol.**, v. 41, n. 9, p. 3179-3185, May 2007.

YAPICI, T.; FASFOUS, I. I.; MURIMBOH, J.; CHAKRABARTI, C. L. Investigation of DGT as a metal speciation technique for municipal wastes and aqueous mine effluents. **Anal. Chim. Acta**, v. 622, n. 1-2, p. 70-76, Aug. 2008.

ZHANG, H. *In situ* speciation of Ni and Zn in freshwaters: comparison between DGT measurements and speciation models. **Environ. Sci. Technol.**, v. 38, n. 5, p. 1421-1427, Mar. 2004.

ZHANG, H.; DAVISON, W. Performance characteristics of diffusion gradients in thin films for the *in situ* measurement of trace metals in aqueous solution. **Anal. Chem.**, v. 67, n. 19, p. 3391-3400, Oct. 1995.

ZHANG, H.; DAVISON, W. Diffusional characteristics of hydrogels used in DGT and DET techniques. **Anal. Chim. Acta**, v. 398, n. 2-3, p. 329-340, Oct. 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, Sept. 2000.

ZHANG, H.; DAVISON, W. *In situ* speciation measurements. Using diffusive gradients in thin films (DGT) to determine inorganically and organically complexed metals. **Pure Appl. Chem.**, v. 73, n. 1, p. 9-15, Jan. 2001.