

Anderson Bendo

**ESPECIAÇÃO QUÍMICA DE COBRE NAS ÁGUAS
DA REGIÃO COSTEIRA DA ILHA DE SANTA CATARINA
UTILIZANDO VOLTAMETRIA DE REDISSOLUÇÃO
CATÓDICA E MÉTODOS ESPECTROMÉTRICOS DE
EMISSÃO E ABSORÇÃO ATÔMICA**

2002

Anderson Bendo

**ESPECIAÇÃO QUÍMICA DE COBRE NAS ÁGUAS DA REGIÃO COSTEIRA
DA ILHA DE SANTA CATARINA UTILIZANDO VOLTAMETRIA
DE REDISSOLUÇÃO CATÓDICA E MÉTODOS
ESPECTROMÉTRICOS DE EMISSÃO E ABSORÇÃO ATÔMICA**

Dissertação submetida a
Universidade Federal de Santa
Catarina como parte dos requisitos
para a obtenção do grau de mestre
em Química.

ORIENTADORA: Dr^a Maria Lúcia
Arruda de Moura Campos.

CO-ORIENTADOR: Dr Luis
Augusto dos Santos Madureira.

Florianópolis

2002

Aos meus pais, Aroldo e Neiva, e
minhas irmãs, Cassiana e Thaise,
por todo o incentivo, carinho e atenção
que sempre recebi durante todos
os anos de minha vida.

Sucesso não é uma questão de chance, é uma questão de escolha.
Sucesso é uma jornada, não um destino.

Termine o que você começa.
Termine bem. É mais importante terminar do que começar. Quando você termina, é hora de começar novamente.

Agradecimentos

A professora Lúcia Campos que além de orientadora foi uma grande amiga que sempre me incentivou nos momentos mais difíceis indo além da sua função, tenho certeza que sem o seu valioso esforço este trabalho jamais teria sido realizado.

Ao professor e co-orientador Luiz Augusto dos Santos Madureira pelas suas sugestões dadas durante o desenvolvimento do trabalho. E também pelo espaço cedido em seu laboratório, sem o qual a conclusão deste trabalho teria sido impossível.

A professora M. Marta de Souza-Sierra pelo empréstimo de materiais e reagentes que foram fundamentais para o sucesso deste estudo.

Ao professor Nito Angelo Debacher que não mediu esforços para nos disponibilizar as condições mínimas necessárias para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Denio e a Renata da central de análises que de muita boa vontade me disponibilizaram um espaço físico em seu laboratório, para que eu pudesse realizar meus experimentos.

A Jucélia pela amizade e disposição em me auxiliar com as análises de Absorção Atômica.

Ao professor Eduardo Carasek da Rocha e aos doutorandos Edgar M. Gamzarolli e Edson Luiz da Silva pelas valiosas sugestões a respeito do sistema de colunas.

Aos professores Dilson Zanette e Almir Spinelli pela importante ajuda na parte inicial deste trabalho, disponibilizando o sistema voltamétrico e o laboratório.

Ao professor Eduardo Soriano-Sierra e a todos do laboratório do Núcleo de Estudos do Mar (NEMAR) que de muita boa vontade me disponibilizaram toda sua infra-estrutura, e em especial ao meu amigo José Carlos Simonassi que teve importante participação neste trabalho.

Ao Fábio e ao pessoal da polícia ambiental que nos emprestaram as embarcações para que pudéssemos coletar as amostras.

Ao professor Wilson Jardim da UNICAMP que tão gentilmente disponibilizou o seu laboratório juntamente com o sistema voltamétrico, e em especial aos seus alunos de mestrado, Carlos e Márcia, que foram muito gentis e solidários.

A CAPES, ao CNPq e a pós-graduação em química pelo apoio financeiro.

A EMBRACO pelo empréstimo do Espectrômetro de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado, e em especial a Scarlet, líder do laboratório, que tão gentilmente soube compreender as ocasiões em que tive que me ausentar da empresa.

A todos os meus ex professores do departamento de química que de certa forma acabaram contribuindo para a realização deste trabalho.

Aos colegas do laboratório 310 e 206, pela amizade e companheirismo e em especial a Fabiola pelas suas valiosas sugestões relacionadas a este trabalho.

A minha família, e em especial aos meus pais, pelo amor e compreensão pelos momentos de ausência.

A Lislaine pela sua dedicação, compreensão e carinho ao longo destes dois anos.

Aos amigos Cristiano, Leandro, Alceu, Josenei e Marcelo por terem sido sempre solidários e companheiros.

A Deus pela saúde que tive durante estes dois anos.

SUMÁRIO

Lista de Símbolos e Abreviaturas	viii
Lista de Figuras	iv
Lista de Tabelas	xi
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xiv
CAPÍTULO 1	01
INTRODUÇÃO.....	01
1.1 Os metais traços e sua importância no ambiente aquático.....	01
1.2 Especiação química de metais: importância e definição.....	04
1.3 Técnicas utilizadas no estudo da especiação química	06
1.3.1 Considerações gerais	06
1.3.2 Voltametria de redissolução anódica	08
1.3.3 Voltametria de redissolução catódica	09
1.3.4 Resina Chelex-100 no estudo da especiação química	12
1.4 A região de estudo.....	13
1.5 Objetivos.....	14
1.5.1 Objetivos gerais	14
1.5.2 Objetivos específicos	14
CAPÍTULO 2.....	16
MATERIAIS E MÉTODOS	16
2.1 Reagentes	16
2.2 Equipamentos e materiais	17
2.3 Limpeza dos materiais utilizados	19
2.4 Purificação de reagentes	20
2.5 Descrição do sistema de pré-concentração utilizando resina Chelex-100 com controle de fluxo por gravidade.....	21
2.6 Descrição do sistema de pré-concentração utilizando resina Chelex-100 com controle de fluxo por bomba peristáltica.....	24
2.7 Métodos de introdução da amostra no Espectrômetro de Absorção Atômica com Chama.....	26
2.8 Locais, métodos de coleta e tratamento das amostras.....	26

2.9 Avaliação das espécies de cobre e cádmio por voltametria de redissolução catódica	30
2.10 Avaliação das espécies de cobre lábil e cobre dissolvido total em amostras naturais por colunas de Chelex-100	32
2.11 Medidas de Salinidade.....	34
2.12 Medidas da vazão do rio João Gualberto	35
CAPITULO 3.....	39
RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
3.1 Estudos utilizando as colunas com resina Chelex-100.....	39
3.1.1 Limite de detecção, brancos de reagentes e curvas de calibração	39
3.1.2 Otimização das colunas contendo resina Chelex-100 com controle de fluxo gravitacional	40
3.1.3 Otimização das colunas contendo resina Chelex-100 com controle de fluxo por bomba peristáltica	44
3.1.4 Avaliação das colunas de Chelex-100 no estudo da especiação química do cobre.....	48
3.2 Estudo por voltametria.....	56
3.2.1 Faixa dinâmica linear de trabalho e limite de detecção	56
3.2.2 Avaliação dos brancos de campo e de reagentes para o estudo da especiação do cobre por voltametria	58
3.2.3 Análise do material certificado	60
3.2.4 Especiação química do cobre na Lagoa da Conceição	62
3.2.5 Especiação química do cobre e concentração de cádmio ao redor da Ilha de Santa Catarina.....	67
3.2.6 Aporte de cobre para a Lagoa da Conceição pelo Rio João Gualberto	72
CAPITULO 4.....	74
CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	74
REFERÊNCIAS	78
ANEXOS.....	85

Lista de Símbolos e Abreviaturas

AH	Ácido húmico
Cddt	cádmio dissolvido total
Cu-Inorg	complexo de cobre e ligantes inorgânicos
Cu-MP	cobre adsorvido ao material particulado
Cu-chelex	cobre retido pela resina Chelex-100
Cu-Org	complexo de cobre com ligantes orgânicos
Cudt	cobre dissolvido total
Cudt + Cupl	cobre dissolvido total mais o cobre particulado lixiviável
Cu/AH _(m/m)	razão entre a concentração de cobre e a concentração de ácido húmico
Cu/AF	razão entre a concentração de cobre e a concentração de ácido fúlvico
ICP-AES	Espectrometria de Emissão Atômica com Fonte de Plasma Indutivamente Acoplado
L	ligante
M	metal
ML	complexo metal-ligante
Ox	oxina
R _T	razão de condutividade
S	salinidade
SA	salicilaldoxima
UV	Ultravioleta

Lista de Figuras

- 2.1 Sistema de destilação isotérmica para a purificação de HCl e NH₄OH utilizados na acidificação e posterior neutralização das amostras, como também no preparo de reagentes 21
- 2.2 Representação da coluna contendo resina Chelex-100 empregada para pré-concentrar cobre em solução 1,57 μmol L⁻¹ de Cu (CH₃COONH₄ 0,1 mol L⁻¹; pH 5,2) utilizando a força gravitacional para eluir as soluções..... 22
- 2.3 Seqüência empregada para a preparação da resina e pré-concentração da solução de cobre utilizada para a otimização das colunas contendo Chelex-100 usando controle de fluxo por gravidade 23
- 2.4 Representação da coluna contendo resina Chelex-100 empregada para pré-concentrar cobre em solução de 1,57 μmol L⁻¹ Cu (CH₃COONH₄ 0,1 mol L⁻¹; pH 5,2) e em amostras naturais utilizando controle de fluxo por bomba peristáltica 24
- 2.5 Seqüência empregada para a preparação da resina e pré-concentração de cobre em solução de cobre utilizada para a otimização das colunas contendo Chelex-100 usando controle de fluxo por bomba peristáltica 25
- 2.6 Pontos de amostragem situados na costa da Ilha de Santa Catarina, no Rio Ratonés e nas Lagoas da Conceição e do Peri..... 28
- 2.7 Esquema do procedimento utilizado para a filtragem das amostras e separação das frações metal lábil, metal dissolvido total e metal dissolvido mais metal particulado lixiviável. Os símbolos Cu-Org, Cu-Inorg e Cu-MP representam respectivamente os ligantes orgânicos e inorgânicos que formam complexos com o cobre e o material particulado capaz de adsorver este metal 30
- 2.8 Seqüência utilizada para determinar as frações do metal lábil e metal dissolvido total por colunas contendo 300 mg de resina Chelex-100..... 33
- 3.1 Exemplo de curvas analíticas típicas obtidas por (A) Espectrometria de Absorção Atômica com Chama utilizando o método da aspiração direta da amostra, e (B) por meio da Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado 40

3.2	Recuperação de cobre utilizando alíquotas de 1,0 mL de HCl 2,0 mol L ⁻¹ para eluir 0,02 mg de cobre das colunas contendo 2000; 1000 e 500 g de resina Chelex-100	41
3.3	Adição e recuperação do analito cobre (0,02 g) de acordo com o volume de eluente para as colunas contendo 300 e 100 mg de resina Chelex-100	45
3.4	Efeito da variação do tempo de pré-concentração sobre a corrente de pico catódica para uma solução contendo 10 nmol L ⁻¹ de cobre, 0,01 mol L ⁻¹ de tampão borato e 20 x 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹ de oxina. A reta foi obtida através da regressão linear dos pontos de 0,25 a 4,0 minutos (ou dos 8 primeiros pontos)	57
3.5	Voltamogramas (A) e curva de adição de padrão (B) obtidos para uma das replicatas realizadas com o material certificado CRM 403 após 4 horas de intensa irradiação com luz UV, neutralização com NH ₄ OH destilado e adição de 25 x 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹ de SA e 0,01 mol L ⁻¹ de tampão borato. A prolongação da reta no gráfico B, obtida através da regressão linear permite a determinação da concentração de cobre na amostra.....	61
3.6	Concentrações de cobre lábil, cobre dissolvido total (Cudt) e cobre dissolvido total mais o cobre particulado lixiviável Cudt + Cupl) obtidas nas águas da Lagoa da Conceição e na estação Barra da Lagoa (11) nas coletas dos dias 18 de dezembro de 1998 (A) e 19 de fevereiro de 1999 (B). As concentrações foram avaliadas por voltametria de redissolução catódica, como descrito no item 2.8	65
3.7	Especiação química do cobre realizada nas águas da Lagoa do Peri	66

Lista de Tabelas

2.1	Parâmetros instrumentais utilizados no Espectrômetro de Absorção Atômica, Espectrômetro de Emissão Atômica ou de Massas com Fonte de Plasma Indutivamente Acoplado.....	19
2.2	Datas em que foram coletadas as amostras de água de superfície na região da Ilha de Santa Catarina.....	27
2.3	Medidas da profundidade do Rio João Gualberto (08/06/2000), em função da sua largura, utilizadas para o cálculo da área da seção transversal.....	36
2.4	Profundidades em que foram realizadas as medidas da velocidade da corrente, números de giros por segundo (s) das hélices 1 e 6, e velocidade de corrente do Rio João Gualberto nas datas de 08/06/2000, 08/03/2001 e 22/02/2002	38
3.1	Adição e recuperação do analito cobre (0,02 g) usando os métodos de aspiração direta e micro injeção para diversas massas de Chelex-100 e volume de eluente (HCl 2,0 mol L ⁻¹). Foi utilizado fluxo gravitacional e o método de detecção foi por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama.....	42
3.2	Adição e recuperação do analito cobre (0,02 g) obtidas para as colunas contendo diversas massas de Chelex-100, e efeito da presença de ar no sistema. Foram utilizados 5 mL de eluente HNO ₃ 2,0 mol L ⁻¹ , fluxo controlado com bomba peristáltica.....	46
3.3	Soluções modelo contendo ácido húmico (AH) comercial e cobre (pH = 5,2; CH ₃ COONH ₄ 0,1 mol L ⁻¹) bombeadas pela coluna de resina Chelex-100 e avaliação da percentagem de cobre lábil recuperado	49
3.4	Concentração de cobre eletroquimicamente lábil, Chelex lábil e cobre dissolvido total (C _{udt}) em amostras de água da praia de Santo Antônio de Lisboa e na Lagoa do Peri. Os métodos utilizados foram voltametria de redissolução catódica e colunas de resina Chelex-100 com detecção por Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado	54
3.5	Valores de branco de reagentes para cobre e obtidos nas avaliações periódicas realizadas durante o estudo voltamétrico	58

3.6	Concentrações de cobre dissolvido total (Cudt), cobre lábil e cádmio dissolvido total (Cddt), avaliadas na região da Ilha de Santa Catarina no período de 18 de dezembro de 1998 a 18 de junho de 2001. Para a Lagoa da Conceição foi representada a média de todas as estações, com exceção da amostragem na região da Marina realizada em 18 de dezembro de 1998	68
3.7	Comparação dos valores de cobre (Cudt) e cádmio dissolvido total (Cddt) encontrados na região da Ilha de Santa Catarina com os de outras partes do Brasil e do mundo.....	70

RESUMO

Neste trabalho, a especiação química do cobre nas águas superficiais da região da Ilha de Santa Catarina foi avaliada utilizando a voltametria de redissolução catódica e ligante salicilaldoxima. Um estudo comparativo da especiação do cobre foi realizado utilizando a resina Chelex-100 juntamente com técnicas espectrométricas de emissão e absorção atômica. Para todas as amostras analisadas, a concentração de cobre eletroquimicamente lábil ($1,0 - 11,2 \text{ nmol L}^{-1}$) foi inferior à concentração de cobre dissolvido total ($2,6 - 23,4 \text{ nmol L}^{-1}$), indicando a presença de fortes complexos de cobre com a matéria orgânica natural que podem atenuar sua toxicidade para a biota. Mesmo em se tratando de ambientes aquáticos tão distintos entre si, as concentrações de cobre ($7,4 \pm 3 \text{ nmol L}^{-1}$, $n = 55$) e cádmio dissolvido total ($1,3 + 0,4 \text{ nmol L}^{-1}$, $n = 15$) nas amostras analisadas ao redor da Ilha variaram relativamente pouco, indicando que os processos de remoção de metais nas distintas regiões podem estar sendo controlados por mecanismos similares. As concentrações de cobre dissolvido total nas regiões de Santo Antonio de Lisboa ($6,4 \text{ nmol L}^{-1}$) e Ribeirão da Ilha ($11,0 \text{ nmol L}^{-1}$), onde há cultivo de ostras e mariscos, foram bem inferiores aos limites máximos tolerados pela legislação (787 nmol L^{-1} , CONAMA). Porém, este trabalho alerta para a necessidade de um monitoramento freqüente da concentração de metais nessas águas devido ao alto poder bioacumulativo desses organismos. As concentrações médias de cobre dissolvido total na região da Lagoa da Conceição não foram significativamente distintas no período de baixa ou alta temporada, com exceção da estação localizada na marina da Lagoa, sugerindo a importância do aporte de cobre pelas embarcações. O aporte de cobre dissolvido pelo Rio João Gualberto na Lagoa da Conceição foi estimado entre $5,8$ e $13,7 \text{ kg ano}^{-1}$. O estudo utilizando a resina Chelex-100 mostrou que o fluxo controlado por bomba peristáltica levou a uma boa precisão ($0,6 \%$) e recuperação ($98,8 - 100,6 \%$) de cobre nas soluções artificiais. Parte dos complexos Cu-EDTA e Cu-ácido húmico comercial (AH) não foram trocados pela resina Chelex-100, sendo que as frações referentes ao cobre Chelex-lábil aumentaram com o aumento da razão Cu:AH. A presença de elevadas concentrações de cobre não trocáveis com a resina demonstrou a necessidade da destruição da matéria orgânica das amostras naturais antes da utilização da resina Chelex-100. Somente desta forma a fração do metal dissolvido total pode ser avaliada corretamente. As concentrações de cobre lábil em amostras de água doce e água do mar, obtidas utilizando a voltametria de redissolução catódica e a coluna contendo a resina Chelex-100, não foram significativamente distintas, indicando que estes dois métodos fornecem resultados equivalentes da especiação química do cobre em amostras naturais. Este trabalho também apresenta métodos simples e de baixo custo para a purificação de água e reagentes, que levaram a obtenção de concentrações residuais de cobre bastante satisfatórias. A grande diferença observada nas concentrações de cobre dissolvido antes e após a irradiação com luz UV das amostras naturais demonstraram a boa eficiência do reator caseiro utilizado neste trabalho.

ABSTRACT

In this work, copper speciation in surface waters around Santa Catarina Island was evaluated using cathodic stripping voltammetry and the ligand salicylaldoxime. A comparative study of copper speciation was performed using Chelex-100 resin and absorption and emission spectroscopic techniques. For all the samples analysed, the concentrations of copper electrochemically labile ($1,0 - 11,2 \text{ nmol L}^{-1}$) were smaller than those of total dissolved copper concentrations ($2,6 - 23,4 \text{ nmol L}^{-1}$), indicating the presence of strong complexes between copper and the natural organic matter, which can minimize copper toxicity to the biota. Even in such diverse types of aquatic systems, total dissolved copper ($7,4 \pm 3 \text{ nmol L}^{-1}$, $n = 55$) and cadmium concentrations ($1,3 \pm 0,4 \text{ nmol L}^{-1}$, $n = 15$) were not so different around the island, indicating that similar mechanisms of removal may be controlling dissolved metal concentrations all around the island. Total dissolved copper concentrations at Santo Antonio de Lisboa ($6,4 \text{ nmol L}^{-1}$) and Rio Vermelho ($11,0 \text{ nmol L}^{-1}$), where there are oyster and shellfish farms, were well below the maximum values allowed by the legislation (CONAMA). Nevertheless, this work alerts to the need for the continued monitoring of metal concentrations in these sites due to the high capacity of bioaccumulation in such organisms. The average of total copper concentrations in the region of the Conceição Lagoon were not statistically different in the period of high and low season, except for one site where there is a marina, which suggests that copper inputs from the boats are important. The input of total dissolved copper from the River João Gualberto was estimated to be between $5,8$ and $13,7 \text{ kg year}^{-1}$. The study using Chelex-100 resin showed good precision ($0,6 \%$) and accuracy ($98,8 - 100 \%$) for artificial copper solutions, when the flux was controlled by a peristaltic pump. Part of the Cu-EDTA and Cu-Humic Acid (HA) complex solutions were not exchanged by the Chelex-100 resin, and the Chelex-labile fraction increased when the ratio Cu:HA was also increased. The presence of high concentrations of unexchangeable copper with the resin showed the need for destroying the organic matter before using the Chelex-100 resin. Only using this procedure it is possible to correctly evaluate total dissolved copper in natural samples. The labile copper concentrations in fresh water and seawater samples obtained by cathodic stripping voltammetry and Chelex-100 resin were not significantly different, indicating that both methods give equivalent results for copper speciation in natural waters. This work also presents simple and low cost methods to purify water and low grade reagents, leading to very satisfactory residual copper concentrations. The great difference between total dissolved copper before and after the natural samples were UV irradiated showed the good efficiency of the home made reactor used in this work.

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO

1.1 Os metais traços e sua importância no ambiente aquático

Apesar da preocupação com o meio ambiente ter surgido de modo significativo há apenas poucas décadas, nos últimos anos tem se dado muita importância ao gerenciamento da qualidade e da manutenção das nossas águas naturais que são utilizadas como água potável, na recreação, ou para assegurar a viabilidade da biota nativa. Para que este gerenciamento seja efetivo, é necessário que a concentração e os efeitos dos poluentes possam ser precisamente avaliados (Harrison, 1995). Os metais pesados estão entre os contaminantes mais tóxicos e persistentes do ambiente aquático e portanto, suas fontes, transporte e destino precisam ser avaliados.

O termo metais pesados inclui os metais traços que são necessários pelo organismo em pequenas quantidades, como por exemplo o Cr, Cu, Ni, V, e Zn bem como aqueles que não são essenciais e são tóxicos, sempre em concentrações relativamente baixas, tais como Cd, Hg e Pb (Crane *et al.*, 2001).

Os metais pesados podem ter origem geológicas, onde estão presentes em rochas, na atmosfera, na hidrosfera ou podem ser originados por processos antrópicos. Como exemplos desta última, podemos citar algumas atividades que, de acordo com Alloway e Ayres (1993), contribuem de forma significativa no aporte de metais pesados para o meio ambiente. As atividades agrícolas, por exemplo, onde metais como Cu, As, Hg, Pb, Mn e Zn fazem parte da composição de diversos pesticidas. Os fertilizantes utilizados na agricultura também podem conter, em pequenas quantidades, metais como Cd, Cr, Mo, Pb, U, V e Zn. Resíduos da produção intensiva de porcos e aves também são fontes de metais pesados como Cu e As, enquanto resíduos de compostagem e estrume possuem, dentre outros, os elementos Cd, Cu, Ni, Pb, Zn e As. A queima de combustível fóssil também contribui para a emissão de metais pesados como Pb, Zn, As, Sb, Se, Ba, Cu, Mn e V para o ambiente, o que pode levar a contaminação do solo e da água. A combustão da gasolina que contém aditivos de chumbo gera grandes quantidades de chumbo particulado, principalmente PbBrCl. Outra atividade antrópica que também é considerada

uma importante fonte de metais pesados em potencial são as indústrias metalúrgicas, onde elementos como V, Mn, Pb, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, entre outros, são utilizados na fabricação de ligas metálicas. Neste caso, tanto a produção quanto a reciclagem destes materiais podem gerar sérios problemas relacionados à deposição de metais pesados no meio ambiente. A manufatura de semi-condutores e outros componentes elétricos também utilizam um grande número de metais pesados como Cu, Zn, Cr, As, Co e Sb que pode causar a contaminação do meio ambiente no decorrer da produção destes componentes e seus dispositivos. Depósitos de lixo são responsáveis por lançar no meio ambiente uma variedade de metais, especialmente Cd, Cu, Pb, Sn e Zn que acabam poluindo o solo ou lençóis d'água. Os incineradores também contribuem significativamente na emissão destes metais para a atmosfera.

Uma das importantes fontes de cobre para o ambiente são os esgotos domésticos pois, este metal se faz presente em grandes quantidades na dieta alimentar do ser humano.

É importante salientar que com exceção dos elementos sintéticos produzidos por instalações nucleares, como por exemplo o plutônio, todos os metais estão naturalmente presentes no ambiente aquático, e somente representam uma ameaça para a biota caso estejam presentes em níveis maiores do que a concentração usual (Harrison, 1995). Segundo a discussão apresentada por Kennish (1996) a ordem decrescente de toxicidade dos metais pesados mais comuns para os organismos aquáticos é: Hg>Cd>Cu>Zn>Ni>Pb>Cr>Al>Co.

Alguns metais como V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Zn, Cu e Mo são de fundamental importância para os organismos aquáticos, pois os mesmos fazem parte de sistemas enzimáticos (Millero, 1996), enquanto outros, como por exemplo Pb, Ag e Hg somente se tem evidências de suas atuações como bio-inibidores (Crane *et al.*, 2001).

A presença de um elemento altamente tóxico em um corpo d'água, como o chumbo ou cádmio, não é suficiente para indicar que este está poluindo. A poluição significativa, provocada pela presença de metais pesados, só ocorre quando a biota é afetada devido ao aumento da concentração destes elementos. Muitos dos elementos considerados micronutrientes, com

concentrações entre 1 nmol L^{-1} e $1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ no ambiente aquático tornam-se tóxicos em níveis mais elevados. Em alguns casos, como o cobre por exemplo, aumentos relativamente pequenos na sua concentração são suficientes para causar efeitos tóxicos em organismos aquáticos (Hall e Anderson, 1999; Harrison, 1995). Segundo Schenck (1984), a alga marinha *Gonyaulax tamarensis* apresentou um decréscimo na taxa de crescimento quando a concentração de cobre no meio de cultura foi inferior a $10^{-13} \text{ mol L}^{-1}$ mostrando a importância desse elemento como nutriente.

Por outro lado, o desenvolvimento de diversos fitoplânctons marinhos pode ser comprometido se a concentração de íons cúpricos for superior a $10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$ (Schenck, 1984; Brad *et al.*, 1986). Desta forma, um mesmo metal pode limitar o crescimento planctônico devido a sua toxicidade ou devido a sua deficiência nutricional.

Considerando que diversos organismos aquáticos podem acumular metais pesados e contaminantes orgânicos em seus tecidos, mesmo quando estiverem presentes em corpos d'água em concentrações relativamente baixas, há grandes riscos de contaminação dentro da cadeia trófica. O acúmulo de metais pesados do ambiente aquático em organismos ocorre pela ingestão de alimento, de partículas em suspensão contendo metais, da incorporação de metais do sedimento ou água intersticial, ou da retenção de metais presentes em solução (Widdows e Donkin, 1992). Animais filtradores como os mexilhões possuem a característica de filtrar vários litros de água por hora, portanto podem concentrar até 10^5 vezes os contaminantes em seus tecidos, com relação a água do mar (Widdows e Donkin, 1992). Levado em consideração os efeitos bioacumulativos e crônicos que um metal pode causar à comunidade planctônica, caso este metal esteja presente em concentrações relativamente altas, isto pode implicar no comprometimento de toda a cadeia trófica.

O mecanismo de toxicidade envolve, com frequência, a competição de um metal, como o cobre, por sítios ativos de enzimas normalmente ocupados por outros metais como o zinco, por exemplo. Esta substituição de um elemento pelo outro acaba alterando funções vitais dentro do organismo e pode levá-lo até a morte. Metais pesados na forma livre, como o Cu^{2+} e o Cd^{2+} , são

rapidamente adsorvidos na superfície celular de algas, ou nas guelras dos peixes através de interações entre o metal e proteínas. O metal adsorvido vai lentamente se difundindo pela membrana celular para o interior da célula, onde este pode participar de reações prejudiciais para o organismo. Os efeitos tóxicos parecem estar relacionados com a facilidade com que um metal se difunde através da membrana celular (Florence *et al.*, 1992). Como os complexos metálicos lipossolúveis se difundem rapidamente através da parede celular, a toxicidade de diversos metais acaba aumentando com o aumento do seu poder lipofílico. Por exemplo, o cobre quando complexado com 8-hidroxiquinolina (oxina), complexo solúvel em solvente orgânico, é significativamente mais tóxico para algas do que o seu derivado sulfonado que é solúvel em água. Os complexos de cobre com ácidos húmicos apresentam um efeito de toxicidade relativamente inferior quando comparados com aqueles solúveis em solventes orgânicos (Florence *et al.*, 1992). Visto que a toxicidade do metal depende de sua forma química, é de suma importância conhecer o maior número possível dessas formas para aferir a possível toxicidade de um corpo d'água.

1.2 Especiação química de metais: importância e definição

Os metais presentes em águas naturais podem ser complexados por uma variedade de ligantes naturais, como por exemplo os ligantes orgânicos ácidos húmicos, fúlvicos, e por ligantes inorgânicos como por exemplo Cl^- , CO_3^{2-} , OH^- , SO_4^{2-} . A mobilidade do complexo solúvel com relação ao metal adsorvido no material particulado pode ser mais elevada no ambiente aquático porque o material particulado tende a se depositar no sedimento (Harrison, 1995). A disponibilidade e conseqüentemente a toxicidade de metais para os organismos aquáticos é extremamente dependente da forma físico-química em que estes se encontram no ambiente (Vasconcelos, 1997; Florence e Batley, 1980; Allen e Hansen, 1996; Sekaly *et al.*, 1999).

Segundo a discussão apresentada por Allen e Hansen (1996), estudos de toxicidade do cobre para peixes demonstraram que a toxicidade deste metal não está relacionada com a concentração total do metal cobre, mas sim com a

concentração do íon cobre livre (Cu^{2+}). Os autores também discutem que além do íon cobre livre, as formas CuOH^+ e $[\text{Cu}_2(\text{OH})_2]^{2+}$ também podem ser tóxicas, no entanto as espécies de cobre ligadas aos íons CO_3^{2-} não contribuem significativamente para a toxicidade de um ambiente aquático. O cobre livre hidratado também foi citado por Hall e Anderson (1999) como sendo, freqüentemente, a forma mais tóxica deste metal para os organismos aquáticos. Uma outra forma em que o metal cobre pode se apresentar na natureza, e que também é considerada tóxica, é quando o mesmo está complexado com ligantes orgânicos de massa molar relativamente baixa. Neste caso, estes complexos tornam-se lipossolúveis e, portanto, penetram facilmente nos tecidos dos organismos (Harrison, 1995; Florence *et al.*, 1992). O cobre também pode estar complexado com ligantes de alta massa molar, como os ácidos húmicos e fúlvicos, ou adsorvido no material particulado, sendo que nestes casos a sua toxicidade é significativamente reduzida, pois, as dimensões relativamente grandes destas estruturas dificultam a sua passagem através da parede celular (Florence *et al.* 1992).

Como foi mencionado anteriormente, os efeitos causados pelo metal cobre na comunidade aquática varia de intensidade dependendo da forma em que o mesmo se encontra. Por isso, é extremamente importante avaliar não somente a concentração total de um metal presente no ambiente, mas também a concentração das diversas formas físicas e químicas em que o mesmo se encontra, ou seja, é necessário realizar um estudo de especiação, que em outras palavras significa determinar as concentrações das diferentes formas físico-químicas dos elementos, que juntos, formam a concentração total na amostra (Florence *et al.*, 1992). Somente desta forma, através da especiação química, é que podemos interpretar o ciclo biológico, que inclui a bioacumulação, bioconcentração, biodisponibilidade e toxicidade; e o ciclo geoquímico que envolve o transporte, adsorção, e precipitação dos elementos (Florence, 1989).

De acordo com Ure e Davidson (1995), a especiação pode ser definida de três formas distintas. A primeira delas é a definição funcional, onde determinadas espécies podem estar ou não biodisponíveis para plantas, por exemplo. Uma outra forma de se definir a especiação é sob o ponto de vista

operacional. Neste caso o processo de fracionamento, físico ou químico, aplicado à amostra vai definir as frações obtidas. Como exemplo no caso de sedimentos, procedimentos de extração seqüencial são freqüentemente utilizados para separar e isolar diversas frações de metais que estão presentes na amostra. O procedimento aplicado irá definir as frações que são solúveis em meio ácido, reduzíveis, oxidáveis e a fração residual do sedimento. O processo físico tal como a divisão de uma amostra sólida por tamanho de partícula ou o isolamento de um sólido que está em solução ou presente no sedimento por filtração ou centrifugação também são exemplos de especiação operacional. A distinção de espécies solúveis e insolúveis em um sistema aquático pode ser considerada uma forma de especiação operacional pois está baseada na labilidade de uma substância passar através de um filtro. Neste caso a porosidade do filtro é que vai definir a fração solúvel. A terceira forma de se definir a especiação é a chamada especiação química, onde diferentes estados de oxidação (Cr^{3+} e Cr^{6+} ou Sb^{3+} e Sb^{5+}) ou diferentes formas químicas (Al^{3+} , AlOH^{2+} , $\text{Al}(\text{OH})_2^+$, $\text{Al}(\text{OH})_3$...) de um mesmo elemento podem ser avaliadas. Neste caso são necessárias metodologias analíticas de grande seletividade e sensibilidade (Ure e Davidson, 1995).

1.3 Técnicas utilizadas no estudo da especiação química

1.3.1 Considerações gerais

Como descrito anteriormente, é extremamente importante avaliar as diferentes formas físico-químicas em que um determinado metal se encontra no ambiente aquático, conseqüentemente, nos últimos anos houve um grande aumento no desenvolvimento de técnicas e métodos capazes de fornecer informações não somente a respeito da concentração total de um determinado metal mas também sobre as diferentes formas físico-químicas em que este se encontra na natureza. A seguir serão descritas algumas técnicas analíticas utilizadas no estudo da especiação química de metais.

Florence e colaboradores (1992) sugeriram que a extração com solventes orgânicos tais como n-octanol, clorofórmio, ou hexano-butanol, poderia ser usada para estimar a fração do metal que é lipossolúvel. Eriksen e colaboradores (2001) utilizaram um Eletrodo de Ion-Seletivo para avaliar a concentração de cobre livre em águas costeiras. Esta técnica tem a vantagem de avaliar diretamente o cobre livre que está presente nas águas em estudo, o que facilita a avaliação do mecanismo de toxicidade, e permite um melhor entendimento dos processos que controlam a especiação em águas naturais. O limite de detecção da maioria dos eletrodos comercialmente disponíveis é em torno de 10^{-6} a 10^{-7} mol L⁻¹, conseqüentemente, esta técnica não é sensível o suficiente para a análise de metais traços em águas naturais não poluídas. Além disso, muitos dos eletrodos estão sujeitos a interferências dos íons majoritários presentes em águas naturais. Outra aplicação do eletrodo de íon seletivo em estudos de águas naturais é no estudo da capacidade de complexação de ácidos húmicos, através da titulação com um íon metálico, como o cobre por exemplo (Pickering, 1995).

A especiação química de metais também pode ser realizada através da modelagem computacional que utiliza sofisticados programas computacionais de equilíbrio iônico juntamente com o conhecimento dos dados de pH, concentração total dos íons e constantes de equilíbrio. Esta aproximação é mais apropriada para soluções sintéticas e para íons majoritários em águas naturais, sendo que maiores discrepâncias são encontradas para a avaliação da especiação de metais pesados no nível de traço em águas naturais porque dificilmente será possível avaliar a concentração de todos as agentes complexantes presentes nessas águas (Florence *et al.* 1992).

Outra ferramenta que tem sido muito utilizada no estudo da especiação química de metais em águas naturais é a separação e pré-concentração dos elementos de interesse em colunas contendo resinas. Esta técnica emprega uma variedade de resinas como por exemplo C₁₈ (Donat *et al.*, 1986; Sunda e Hanson, 1987), 8 – hidroxiquinolona (Warnken *et al.*, 2000), Dionex Metpac CC-1 (Bloxham *et al.*, 1994), Chelamina (Vasconcelos e Leal, 1997), CG50 (Pesavento e Alberti, 2000) e Chelex-100 (Figura e McDuffie, 1980). Conforme descrito por Azeredo (1996), os tipos de colunas mais freqüentemente usados são as de

troca iônica e as que utilizam agentes complexantes fixos por ligações covalentes em um suporte sólido. As colunas de troca iônica podem ser usadas para uma variedade de elementos, porém têm a desvantagem de reter muitos íons presentes na amostra ocasionando problemas de interferência e esgotamento da capacidade da coluna. Por outro lado, as resinas que fazem uso de agentes complexantes são mais seletivas, o que acaba reduzindo sensivelmente os problemas apresentados pelas resinas de troca iônica, porém, a determinação prévia do agente complexante adequado para um certo elemento pode vir a se tornar uma tarefa relativamente difícil. Comparada com outras técnicas como por exemplo a diálise, ultrafiltração e a extração por solvente, as técnicas que utilizam resinas para pré-concentrar e separar as frações de um elemento que estão presentes em uma amostra podem ser mais simples, rápidas e exigirem equipamentos relativamente mais baratos (Pickering, 1995).

Além destas ferramentas podemos citar ainda as técnicas voltamétricas, como a voltametria de redissolução anódica e a voltametria de redissolução catódica, que tem demonstrado grandes potencialidades no estudo da especiação química. Estas técnicas possuem grande sensibilidade e são capazes de avaliar não somente a concentração total do metal mas também a fração eletroquimicamente lábil do mesmo, principalmente em águas marinhas onde a matriz salina não interfere (Achterberg and Braungardt, 1999). A seguir a voltametria de redissolução anódica e catódica serão descritas com mais detalhes.

1.3.2 Voltametria de redissolução anódica

Na análise por voltametria de redissolução anódica o primeiro passo a ser realizado é uma deposição catódica dos íons metálicos em um eletrodo de gota pendente de mercúrio ou em um filme de mercúrio depositado em um eletrodo inerte como de carbono vítreo ou ouro. O número de metais a ser depositado pode ser restringido pela magnitude do potencial aplicado durante a pré-concentração, e o tempo de deposição pode ser ajustado de acordo com a

concentração das espécies de interesse no meio. Em seguida o potencial é varrido em direção positiva (ou menos negativa) e a corrente de oxidação do elemento depositado é medida. A voltametria de redissolução anódica é uma ferramenta muito útil para a análise de elementos que formam amálgama com o mercúrio, e como exemplo podemos citar a análise dos elementos Cu, Cd, Pb, Zn, Bi, Tl e Sb por esta técnica (van den Berg, 1988). A resposta eletroquímica reflete a concentração do íon hidratado e dos complexos lábeis presentes. Para que a concentração total do metal dissolvido possa ser avaliada pela voltametria de redissolução anódica, é necessário submeter a amostra a um processo oxidativo para que a matéria orgânica presente possa ser destruída e por diferença é possível, então, avaliar a concentração do metal complexado com os ligantes orgânicos naturais. A voltametria de redissolução anódica tem sido usada em estudos de especiação química em águas naturais principalmente de três diferentes formas: a) como um procedimento analítico sensível para a determinação do conteúdo do metal total contido em frações da amostra que foram obtidas por processo seletivo de separação; b) para discriminar entre a fração lábil do elemento em estudo, e as espécies fortemente complexadas com a matéria orgânica; c) para avaliar a estabilidade do complexo metálico presente no ambiente em estudo (Pickering, 1995).

1.3.3 Voltametria de redissolução catódica

Na voltametria de redissolução catódica o potencial é varrido em direção negativa e a corrente de redução do elemento ou ligante depositado é medida. Como regra geral, no caso da voltametria catódica, a etapa de deposição difere daquela da voltametria de redissolução anódica visto que o metal é primeiramente complexado com um agente complexante (aqui referido como ligante adicionado). Para promover a adsorção do complexo no eletrodo de mercúrio aplica-se um potencial de cerca de 100 a 300 mV mais positivo (ou menos negativo) do que o potencial de redução do metal do complexo formado. Portanto, neste caso, a técnica passa a se chamar voltametria de redissolução catódica adsortiva. Esta técnica é mais sensível do que a voltametria de

redissolução anódica devido a redução completa do complexo que foi adsorvido na gota de mercúrio, enquanto na voltametria anódica há uma oxidação parcial do metal amalgamado, por causa da difusão do metal para o interior da gota de mercúrio (van den Berg, 1988).

No caso de amostras naturais, compostos surfactantes podem estar presentes, e portanto estes também podem ser adsorvidos na gota de mercúrio. Os surfactantes podem causar sérios problemas de interferência devido a competição entre estes e o complexo formado pelo metal-ligante adicionado, pela superfície da gota de mercúrio, podendo diminuir significativamente a sensibilidade do método. Para minimizar as interferências dos surfactantes pode-se utilizar um procedimento que, de modo sucinto, consiste em aplicar por alguns minutos um potencial mais negativo que o potencial de meia onda do complexo metal-ligante adicionado, provocando a formação do amálgama do metal. Em seguida o potencial é mantido por alguns segundos em um valor mais positivo que o potencial de meia onda, ocorrendo a re-oxidação do metal. Desta forma, o metal que estava na forma de amálgama é imediatamente complexado com o ligante adicionado e adsorvido na gota de mercúrio minimizando a adsorção de surfactantes na superfície da gota. Uma descrição mais detalhada deste procedimento será apresentada na seção 2.9.

No caso de se pretender avaliar a concentração total do metal dissolvido, a interferência dos surfactantes pode ser eliminada submetendo-se a amostra a um processo oxidativo, como por exemplo uma intensa fonte de luz UV (Achterberg e Braungardt, 1999; Campos *et al.*, 2001). Este processo oxidativo também destrói os ligantes orgânicos que formam complexos naturais com o metal de interesse, tornando este metal disponível para reagir com o ligante adicionado (Campos *et al.*, 2001)

A voltametria de redissolução catódica adsortiva não é limitada a elementos que formam amálgama, como no caso da voltametria anódica, e por isto, em princípio qualquer elemento que forme um complexo que adsorve na gota de mercúrio pode ser determinado, se o elemento ou o ligante puder ser reduzido (van den Berg, 1998). Estes requisitos são menos restritos do que para a voltametria de redissolução anódica, e portanto, a priori, muito mais elementos podem ser determinados por esta técnica (van den Berg, 1988).

Como descrito por van den Berg (1988), existem três diferentes possibilidades de mecanismos de reações para a obtenção da corrente de redução:

1) O íon metálico no complexo adsorvido é reduzido. Geralmente esta é a opção mais utilizada (Campos e van den Berg, 1992; van den Berg, 1986)

2) O ligante do complexo adsorvido é reduzido. Esta é uma opção muito útil quando o potencial de redução do metal é mais negativo do que a onda do hidrogênio, como é o caso da determinação de alumínio.

3) Fazer uso da corrente associada com a formação de hidrogênio. Esta corrente pode em certas condições ser catalisada e sua magnitude é então relacionada a concentração do catalisador (elemento de interesse). Este método forma a base de um método extremamente sensível para a determinação de platina em água do mar.

Como descrito no item 1.2 o termo especiação química também pode ser definido operacionalmente, portanto, a fração lábil do metal que é obtida por voltametria de redissolução catódica, ou seja, a fração eletroquimicamente lábil vai depender do ligante adicionado e da sua concentração. Quanto maior for a constante de estabilidade condicional do complexo formado com o ligante adicionado e quanto maior for sua concentração, mais o equilíbrio será deslocado no sentido da formação do complexo cobre-ligante adicionado, provocando um deslocamento do metal complexado com a matéria orgânica natural. A fração eletroquimicamente lábil irá refletir a concentração dos compostos mais lábeis também sob o ponto de vista biológico, pois menor seria a energia desprendida pelo organismo para quebrar uma ligação mais fraca.

A alta sensibilidade, a capacidade de avaliar diretamente a fração mais biodisponível do metal na amostra e ainda o baixo custo de aquisição e operação de um sistema voltamétrico, são características que têm impulsionado significativamente as técnicas voltamétricas no estudo da especiação química em águas naturais.

1.3.4 Resina Chelex-100 no estudo da especiação química

Como descrito por Cheng e colaboradores (1994), a resina Chelex-100 é um copolímero (estireno-divinilbenzeno) incorporado com grupos complexantes ácidos iminodiacéticos. Esta resina é muito útil no estudo da especiação química pois além de possuir uma reatividade de troca iônica moderada a resina Chelex-100 não consegue reter as moléculas relativamente grandes e as partículas coloidais, conseqüentemente, os metais que estão presentes nestas formas não são retidos pela resina. Baseado na afinidade entre o íon metálico e os grupos complexantes do ácido iminodiacético, a resina Chelex-100 é capaz de diferenciar entre os diversos complexos metálicos naturais presentes no ambiente. Em águas naturais estão presentes agentes complexantes tais como ligantes orgânicos e inorgânicos, ou material coloidal. Os metais podem se ligar a diferentes complexantes ou a diferentes sítios de ligação, ou ainda adsorver no material coloidal. As velocidades de dissociação dessas distintas formas do metal irão depender da natureza dos grupos funcionais, de suas posições no complexante macromolecular e da carga residual no complexante.

A reação entre um complexo metálico, ML (onde L é um ligante polifuncional) e a resina Chelex-100 pode ser expressa como:



Para o íon metálico livre, em meio aquoso, ou outras espécies muito lábeis, o metal pode trocar diretamente e rapidamente com o íon NH_4^+ da resina Chelex-100, seguindo uma reação de pseudo-primeira ordem (reação 2). Espécies altamente estáveis termodinamicamente, ou espécies que são retidas pela matéria coloidal não podem reagir com a resina Chelex-100, e as espécies que reagem com a Chelex-100 muito lentamente são consideradas “inertes” ou não lábeis (Cheng *et al.*, 1994).

A resina Chelex-100 tem sido amplamente utilizada no estudo da especiação química de metais como tálio (Lin e Nriagu, 1999), selênio (Ferri e

Sangiorgio, 1996), cobre, zinco, chumbo e cádmio (Cheng *et al.*, 1994) e alumínio (Pesavento e Alberti, 2000). Esta resina tem demonstrado grandes potencialidades no estudo da especiação química, pois como mencionado anteriormente, nem todas as formas do elemento são trocáveis com a resina, o que permite avaliar a concentração das espécies mais e menos lábeis do elemento em estudo (Guéguen *et al.*, 1999; Allen e Hansen, 1996). Outra propriedade da resina Chelex-100 é que esta possui pouca afinidade por metais alcalinos e alcalinos terrosos, o que a torna uma ótima ferramenta para o estudo de metais traços em águas marinhas, pois a eliminação da matriz salina permite o uso de uma variedade de métodos de detecção (Guéguen *et al.*, 1999).

A precisão dos resultados obtidos por esta resina pode variar com a natureza do contra-íon, sendo que os melhores resultados são obtidos quando a resina é primeiramente convertida para a forma Na^+ ou NH_4^+ . Neste estado, a coluna é capaz de reter a maioria dos íons metálicos hidratados e/ou complexos lábeis presentes nas águas naturais (Pickering, 1995).

1.4 A região de estudo

O município de Florianópolis (436 km²) possui cerca de 342 mil habitantes que estão distribuídos entre a região continental e a Ilha de Santa Catarina (<http://www.ibge.net/cidadesat/default.php>). Estas duas regiões são separadas pelas Baías Norte e Sul, sendo que a maioria da população habita ambas as margens das duas baías. A Ilha de Santa Catarina possui uma grande diversidade de ecossistemas, como manguezais, estuários, lagos e lagoas de grande importância ambiental e social. Na região costeira da ilha é praticado o cultivo de ostras e mariscos, uma atividade econômica bastante importante para uma parte da população local.

Conforme citado por Odebrecht e Caruso (1987), a Lagoa da Conceição (27°34'S; 48°27'W) é um sistema aberto, sendo que sua conexão com o mar adjacente se dá através de um canal estreito e raso, cuja área na entrada da lagoa é de aproximadamente 40m² (20m de largura por aproximadamente 2m de profundidade). As dimensões da Lagoa da Conceição são de 13,5 km de

comprimento no sentido Norte-Sul por 0,2 a 2,5 km de largura, totalizando uma área de 19,2 km²; a profundidade máxima é de aproximadamente 8,7 m sendo sua média de 1,7 m (Figura 2.6).

A Lagoa da Conceição tem uma importância ecológica e social bastante grande, além de ter um potencial turístico de grande importância econômica para o município de Florianópolis. Por ser um corpo d'água relativamente pequeno, a Lagoa de Conceição se torna bastante vulnerável à interferência antrópica. Daí a necessidade de se estudar a qualidade de suas águas.

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivos gerais

Os objetivos gerais deste trabalho são: 1) avaliar a especiação do cobre nas águas superficiais de diversos ecossistemas aquáticos da região da Ilha de Santa Catarina, juntamente com a determinação da concentração de cádmio dissolvido total, utilizando a voltametria de redissolução catódica e 2) investigar a viabilidade de se estudar a especiação química do cobre em águas costeiras utilizando resina Chelex-100 e Espectrometria de Emissão Atômica com Fonte de Plasma Indutivamente Acoplado como um método alternativo à voltametria de redissolução catódica.

1.5.2 Objetivos específicos

1) Utilizar métodos de baixo custo para purificar adequadamente os reagentes utilizados durante o trabalho para minimizar a contaminação.

2) Avaliar a eficiência de um reator desenvolvido em nosso laboratório para fotodegradar a matéria orgânica presente em águas naturais, possibilitando o estudo da especiação do cobre por voltametria.

3) Estudar a especiação química do cobre nas águas das Lagoas da Conceição, do Peri e na região costeira da Ilha de Santa Catarina utilizando a voltametria de redissolução catódica.

4) Avaliar o possível impacto na concentração e especiação do cobre nas águas da Lagoa da Conceição na alta temporada.

5) Avaliar a concentração de cádmio dissolvido total nas águas costeiras da região da Ilha de Santa Catarina.

6) Construir e otimizar um sistema de coluna, contendo a resina Chelex-100, e avaliar a possibilidade desta ser utilizada no estudo da especiação química do cobre em águas costeiras.

7) Avaliar o aporte de cobre na Lagoa da Conceição pelo Rio João Gualberto.

CAPÍTULO 2: MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Reagentes

- Neste trabalho, o termo “água desionizada” é utilizado de forma simplificada para se referir à água destilada em sistema de quartzo e posteriormente desionizada por sistema de troca iônica (Permuton), e o termo “água ultra-pura” é para designar aquela água que foi primeiramente destilada em sistema de quartzo, e posteriormente desionizada em sistema Milli-Q™ (Millipore > 18 MΩ).
- Todas as soluções estoque e diluições foram preparadas por peso para evitar erros de diluição e minimizar os riscos de contaminação. Todas as soluções foram armazenadas em frascos de polietileno, protegidos com sacos plásticos, e guardadas em geladeira para evitar perdas por evaporação do solvente e desenvolvimento de microorganismos.
- O HCl 7,0 mol L⁻¹ e o hidróxido de amônio 8,8 mol L⁻¹ foram obtidos por destilação isotérmica dos reagentes PA da marca Quimex (descrito na seção 2.4).
- O HNO₃ e o HCl, ambos 2,0 mol L⁻¹, foram preparados a partir do reagente concentrado PA da marca Quimex e Merck respectivamente.
- A solução do ligante Salicilaldoxima 2,5 x 10⁻³ mol L⁻¹ foi preparada a partir de uma solução estoque 0,05 mol L⁻¹, em meio 0,6 mol L⁻¹ de HCl purificado, que foi obtida a partir do material sólido fornecido pela Sigma.
- A solução do ligante Oxina 2,0 x 10⁻³ mol L⁻¹ foi preparada por diluição apropriada a partir de uma solução estoque 1,0 mol L⁻¹, em meio HCl purificado 0,2 mol L⁻¹, que foi obtida a partir do material sólido fornecido pela BDH.
- A solução tampão de H₃BO₃ (Aristar Merck) 1,0 mol L⁻¹ foi preparado em aproximadamente 0,5 mol L⁻¹ de hidróxido de amônio purificado (pH = 8,3).
- O tampão CH₃COONH₄ 1,0 mol L⁻¹ foi preparado a partir da mistura apropriada de CH₃COOH e NH₄OH concentrados, ambos da Merck, com pH ajustado em 5,2 pela adição de HCl concentrado.

- Soluções de tampão ftalato pH 4,0 e fosfato pH 7,0 foram utilizadas para calibrar o pHmetro.
- Solução de KCl (Reagen) $7,4191 \text{ g L}^{-1}$ foi utilizada para calibrar o condutivímetro.
- Os padrões de cobre e cádmio 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} e $10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ foram preparados para o estudo voltamétrico por diluição apropriada a partir das soluções estoque 1000 ppm (Spectrosol, Merck).
- Os padrões de cobre ($1,57 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ e $6,3 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$), zinco e chumbo (ambos $62,95 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) foram preparados por diluição do reagente concentrado 1000 ppm (Spectrosol, Merck).
- A suspensão de MnO_2 $10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ utilizada para purificar a água desionizada foi preparada pela adição de 100 mL de NaOH $2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ a 100 mL de uma solução de KMnO_4 $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. Em seguida foram adicionados 100 mL de MnCl_2 $1,5 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ lentamente sob agitação. A suspensão foi centrifugada durante 30 minutos usando 4000 rpm e o sobrenadante foi desprezado. Após a lavagem da suspensão por duas vezes, o precipitado foi ressuspendido com 250 mL de água desionizada para se obter uma concentração de MnO_2 igual a $10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$.
- As soluções modelo de ácido húmico 3,0, 7,8 e 20,82 mg L^{-1} foram preparadas a partir de uma solução estoque 203,8 mg L^{-1} , que foi obtida a partir do material sólido fornecido pela Aldrich.
- Solução de EDTA $1,783 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada a partir do padrão Titrisol® da Merck.
- Resina Chelex-100 utilizada foi da marca Bio-Rad.

2.2 Equipamentos e materiais

Para a execução dos estudos voltamétricos foi utilizado um Potenciostato-Galvanostato 263A EG&G juntamente com um sistema de eletrodos 303A, ambos da PAR. O eletrodo de trabalho utilizado foi o de gota pendente de mercúrio, como referência foi empregado um eletrodo de Ag-AgCl

(KCl 3 mol L⁻¹ saturado com AgCl), e como contra eletrodo, um fio de platina. Todo o sistema eletroquímico foi gerenciado pelo Software M263A Research Electrochemistry acoplado a um microcomputador GATEWAY 2000 486 DX266.

Um pHmetro da marca Orion modelo 720A com eletrodo de vidro combinado Orion foi utilizado nas medidas de pH e potencial.

As medidas de condutividade foram feitas em um condutivímetro da marca Jenco modelo 1671.

Um Espectrômetro de Emissão Atômica com Fonte de Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-AES), da marca Applied Research Laboratories, modelo 3410, um Espectrômetro de Absorção Atômica com Atomização em Chama (AAS-chama) da marca Hitachi modelo Z-8230, com corretor de fundo pelo efeito Zeeman e um Espectrômetro de Massas com Fonte de Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS) da Perkin-Elmer modelo ELAN 6000 foram utilizados para analisar a concentração de cobre nas amostras ou padrões eluídos pelas colunas de Chelex-100. As principais condições analíticas das técnicas Espectrométricas utilizadas neste trabalho estão descritas na Tabela 2.1.

Uma bomba peristáltica da marca Ismatec foi utilizada para bombear as soluções de cobre e amostras naturais pela coluna contendo resina Chelex-100 utilizando tubos de polietileno com diâmetro interno de 0,8 e 4,0 mm.

O reator de UV utilizado para destruição da matéria orgânica foi de fabricação caseira (Campos *et al.* 2001). As soluções de ácido húmico e as amostras naturais foram irradiadas utilizando tubos de quartzo ou um tubo de politetrafluoretileno (teflon) de aproximadamente 10 m de comprimento (disposto em espiral) com 1,6 e 0,81 mm de diâmetro interno e externo respectivamente.

Para calcular a vazão do Rio João Gualberto foi utilizado um correntômetro da marca A. OTT modelo multihélice KEMPTEN.

Tabela 2.1: Parâmetros instrumentais utilizados no Espectrômetro de Absorção Atômica, Espectrômetro de Emissão Atômica ou de Massas com Fonte de Plasma Indutivamente Acoplado.

Parâmetro	AAS-chama	ICP-AES	ICP-MS
Chama	Ar/Acetileno	-	-
Corrente da lâmpada	5,0 mA	-	-
Linha de absorção ou emissão	124,8 nm	324,754 nm	-
Vazão do oxidante	15 mL minuto ⁻¹	-	-
Vazão do acetileno	2,2 mL minuto ⁻¹	-	-
Altura do queimador	7,5 mm	-	-
Largura da fenda espectral	1,3 nm	-	-
Tempo de integração	-	1,0 segundo	1,22 segundos
Potência de rádio frequência	-	680 W	1000 W
Voltagem da lente	-	-	7,6 V
Vazão do gás nebulizador	-	1,0 L minuto ⁻¹	0,98 L minuto ⁻¹
Massa avaliada	-	-	⁶³ Cu e ⁶⁵ Cu

2.3 Limpeza dos materiais utilizados

Os frascos de polietileno de baixa densidade foram limpos da seguinte maneira:

- 1) Primeiramente os recipientes foram lavados com água de torneira, escova e detergente comercial diluído.
- 2) Em seguida foram completados com uma solução de detergente aproximadamente 5 % (v/v) e deixados em repouso por no mínimo cinco dias.
- 3) Após este período, os frascos foram enxaguados exaustivamente com água de torneira e depois enxaguados três vezes com água desionizada e completados com HNO₃ aproximadamente 5 mol L⁻¹ por uma semana.

4) Após o período de uma semana, os frascos foram enxaguados cinco vezes com água desionizada e completados com esta mesma água, ensacados individualmente e em seguida ensacados novamente em grupo de três.

Durante todo o procedimento foram utilizadas luvas de plástico que foram substituídas a cada nova etapa, sendo que os frascos foram mantidos em bandeja de plástico coberta com saco plástico durante o procedimento de limpeza.

Os frascos utilizados para coletar e armazenar as amostras para as medidas de pH e salinidade foram lavados com água e detergente diluído e enxaguados com água de torneira e água destilada. Após este procedimento, os frascos foram completados com água destilada e armazenados em grupo em sacos plásticos até o dia da coleta.

Os recipientes e béquers utilizados na purificação dos reagentes foram imersos em HNO_3 aproximadamente 7 mol L^{-1} durante cinco dias, depois foram enxaguados com água desionizada e em seguida ensacados em sacos plásticos.

2.4 Purificação de reagentes

Os reagentes utilizados na análise de metais traços devem possuir um alto grau de pureza, do contrário os mesmos se tornam uma fonte de contaminação em potencial. Para manter os valores de branco de reagentes em níveis aceitáveis, assegurando assim a qualidade dos resultados deste trabalho, o HCl e o NH_4OH utilizados para a acidificação e posterior neutralização das amostras e preparo dos reagentes, foram purificados por destilação isotérmica a partir de reagentes PA da marca Quimex. O processo consiste em colocar dentro de um recipiente de plástico previamente lavado e protegido com um saco plástico, um béquer contendo o reagente concentrado de grau PA e outro contendo água ultra-pura, fechando rapidamente o recipiente e o saco plástico (Figura 2.1). Primeiramente o ácido ou a base volatiliza, saturando a atmosfera do recipiente, e por difusão vai se dissolvendo na água ultra-pura. A troca do reagente PA foi feita a cada dois dias durante oito dias. Após este período uma

alíquota de 20 μL do reagente purificado foi diluída em aproximadamente 25 mL de água desionizada e titulada (com ácido ou base padronizados) utilizando a potenciometria.

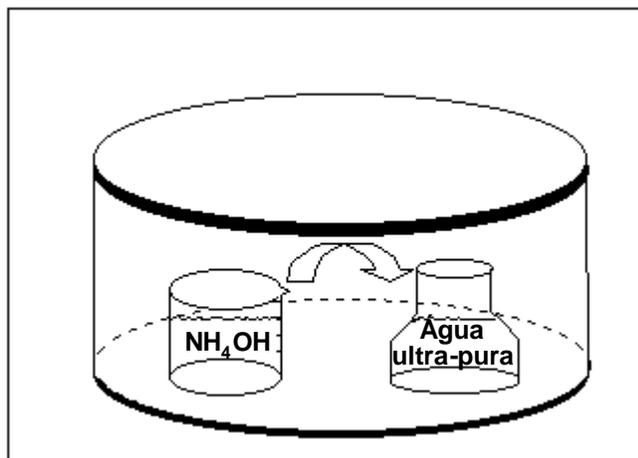


Figura 2.1: Sistema de destilação isotérmica para a purificação de HCl e NH_4OH utilizados na acidificação e posterior neutralização das amostras, como também no preparo de reagentes.

A purificação da solução de $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ foi realizada através da eluição da solução pela coluna contendo Chelex-100 por três vezes, com o objetivo de eliminar resíduos de metais antes da sua utilização como tampão.

2.5 Descrição do sistema de pré-concentração utilizando resina Chelex-100 com controle de fluxo por gravidade

Com o objetivo de desenvolver um método simples e de baixo custo para pré-concentrar metais em água do mar, foi montado um sistema que consistiu de uma pipeta de polipropileno com diâmetro interno de 4,0 mm empacotada com resina Chelex-100. Na parte superior desta coluna foi adaptado um funil de separação de 250 mL para introdução da amostra, enquanto na parte inferior da coluna foi colocado uma pequena quantidade de lã de vidro, e na ponta da coluna foi conectado um tubo de Tygon (Figura 2.2). Para controlar a vazão em

aproximadamente 2 mL minuto^{-1} foram utilizadas uma pinça de Mor e uma abraçadeira.

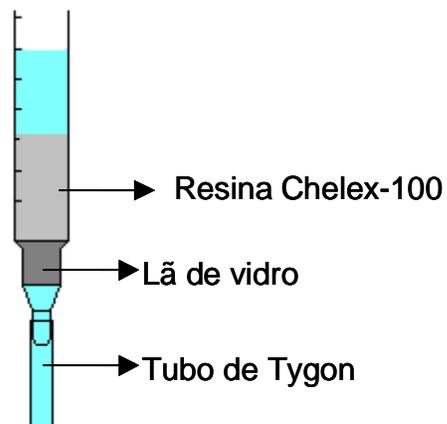


Figura 2.2: Representação da coluna contendo resina Chelex-100 empregada para pré-concentrar cobre em solução $1,57 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Cu ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; pH 5,2) utilizando a força gravitacional para eluir as soluções.

A massa de resina Chelex-100 empregada na coluna variou de 500 a 2000 mg de acordo com o experimento a ser realizado. Após a coluna ser empacotada com Chelex-100 na forma sódica, foram eluídos através da mesma aproximadamente 400 mL de HNO_3 $2,5 \text{ mol L}^{-1}$ seguidos de 300 mL de água ultra-pura usando um fluxo de aproximadamente $1,9 \text{ mL minuto}^{-1}$. Este procedimento foi realizado sempre que uma nova quantidade de resina era utilizada para montar uma coluna. A Figura 2.3 mostra a seqüência empregada para preparação da resina e pré-concentração da solução em estudo.

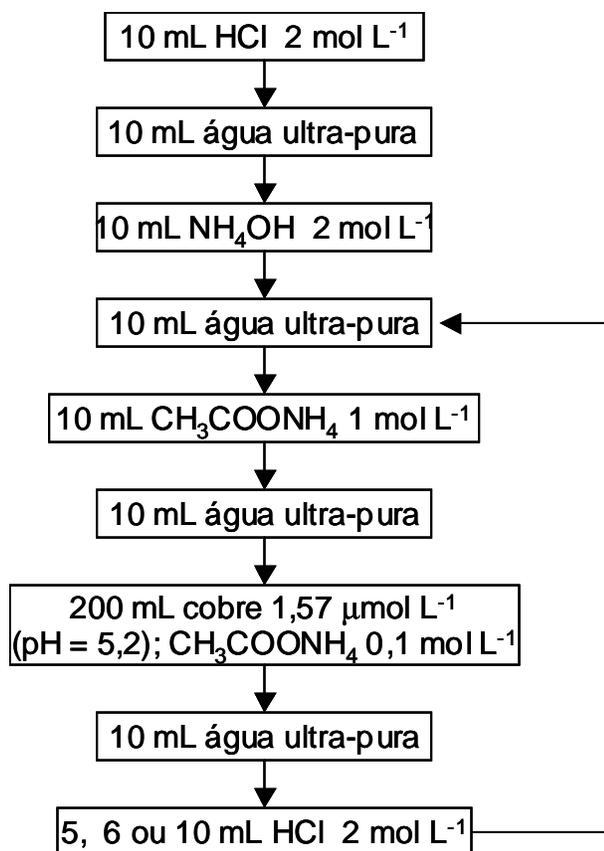


Figura 2.3: Seqüência empregada para a preparação da resina e pré-concentração da solução de cobre utilizada para a otimização das colunas contendo Chelex-100 usando controle de fluxo por gravidade.

A eficiência deste sistema foi verificada utilizando uma solução de cobre ($1,57 \mu\text{mol L}^{-1}$) preparada em água ultra-pura tamponada com $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) previamente purificado (pH 5,2). Alíquotas de 200 mL desta solução foram eluídas através das colunas contendo 2000, 1000 e 500 mg de resina Chelex-100 usando um fluxo de aproximadamente 2 mL minuto^{-1} . O metal retido nestas colunas foi recuperado com um volume de 5,0, 6,0 ou 10 mL (volume otimizado) de $\text{HCl } 2,0 \text{ mol L}^{-1}$ e avaliado por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama utilizando o comprimento de onda de 124,8 nm, largura da fenda espectral igual a 1,3 nm, corrente da lâmpada igual a 5,0 mA, chama Ar/Acetileno, vazão do oxidante igual $15 \text{ mL minuto}^{-1}$, vazão do gás acetileno igual a $2,2 \text{ mL minuto}^{-1}$ e altura do queimador igual a 7,5 mm.

2.6 Descrição do sistema de pré-concentração utilizando resina Chelex-100 com controle de fluxo por bomba peristáltica

Com a finalidade de se obter maior praticidade operacional, precisão e eficiência na recuperação, foi utilizada uma bomba peristáltica para melhor controlar o fluxo das soluções através da coluna. Como mostra a Figura 2.4 o sistema montado também é bastante simples e consistiu em adicionar à coluna já montada, uma bomba peristáltica utilizando tubos de Tygon e tubos de polietileno com 0,8 mm de diâmetro interno.

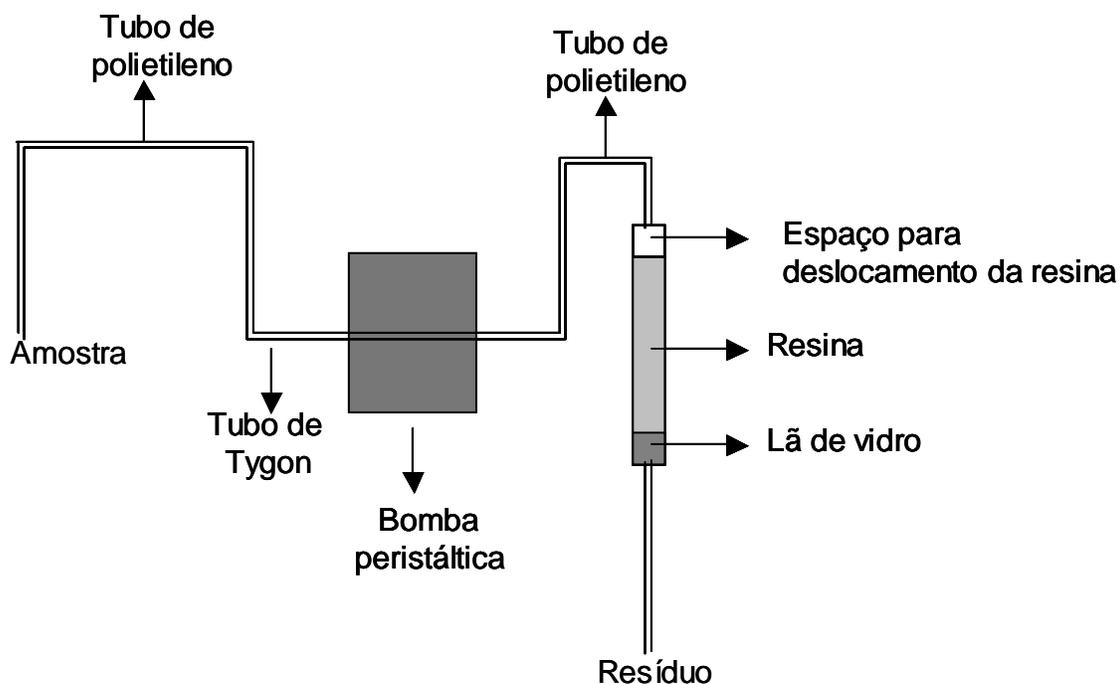


Figura 2.4: Representação da coluna contendo resina Chelex-100 empregada para pré-concentrar cobre em solução de $1,57 \mu\text{mol L}^{-1}$ Cu ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; pH 5,2) e em amostras naturais utilizando controle de fluxo por bomba peristáltica.

Cerca de dois gramas da resina Chelex 100 na forma sódica foram convertidas para a forma amoniacal por meio da imersão em $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ durante 42 horas. Após este período a resina foi filtrada e seca a temperatura ambiente por 24 horas. Foram pesadas 500, 300 e 100 mg desta

resina que foram empacotadas com auxílio de solução de $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ em três colunas de polietileno com diâmetro interno de 4,0 mm. A seqüência utilizada para eluir os reagentes, soluções de cobre e amostras está representada na Figura 2.5.

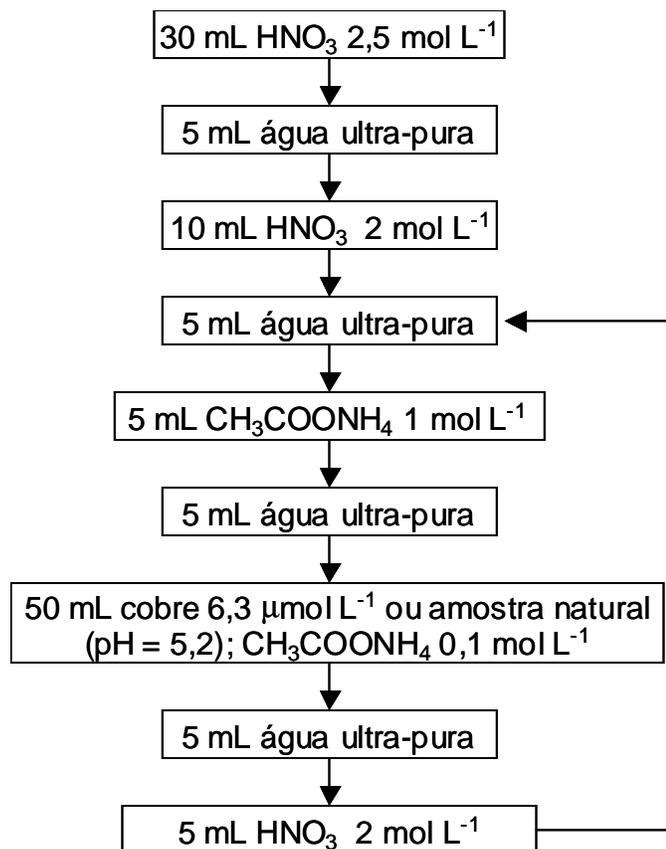


Figura 2.5: Seqüência empregada para a preparação da resina e pré-concentração de cobre em solução de cobre utilizada para a otimização das colunas contendo Chelex-100 usando controle de fluxo por bomba peristáltica.

A eficiência deste sistema foi verificada utilizando uma solução de cobre ($6,3 \mu\text{mol L}^{-1}$) preparada em água ultra-pura tamponada com $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) previamente purificado (pH 5,2). Alíquotas de 50 mL desta solução foram eluídas através das colunas contendo 500, 300 e 100 mg de resina Chelex-100 usando um fluxo de $1,4 \text{ mL minuto}^{-1}$. O metal retido nestas colunas foi recuperado com um volume de 5,0 mL (volume otimizado) de HNO_3 $2,0 \text{ mol L}^{-1}$, bombeados no mesmo sentido do fluxo das amostras, e avaliado por

Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado utilizando a linha de emissão em 324,754 nm, potência de 8 W para fotomultiplicadora e tempo de integração igual a 0,5 segundos.

2.7 Métodos de introdução da amostra no Espectrômetro de Absorção Atômica com Chama

Foram utilizados dois diferentes métodos para introduzir a amostra no Espectrômetro de Absorção Atômica com Chama. Um deles foi através da aspiração direta que possui a desvantagem de necessitar de uma grande quantidade de amostra, o que de certa forma, diminui o fator de enriquecimento da substância de interesse. O outro método empregado foi o chamado micro injeção. Neste caso, o tubo capilar que aspira a amostra foi adaptado em um suporte de Teflon onde foram injetados em triplicata 100 μ L de padrão ou da solução utilizada para avaliar a eficiência das colunas. A principal vantagem deste método é o baixo consumo de amostra, e portanto, o metal retido na resina pode ser eluído com pequenas quantidades de ácido, o que aumenta bastante o fator de enriquecimento (Carasek, 2000).

2.8 Locais, métodos de coleta e tratamento das amostras

As amostras de água de superfície foram coletadas no período de dezembro de 1998 a julho de 2000 (Tabela 2.2 e Figura 2.6), em locais da região da Ilha de Santa Catarina com características bastante distintas. As estações de 3 a 7 estão contidas na região central de Florianópolis que é densamente habitada e não possui um sistema de tratamento de esgoto capaz de captar toda a demanda.

Os pontos de coleta 1, 2, 8, 9 e 12 estão localizados em regiões relativamente pouco povoadas, sendo que as estações 2 e 8 são locais de cultivo de ostras e mariscos (Praia de Santo Antônio de Lisboa e Ribeirão da

Ilha). A amostragem na estação 11 foi realizada a aproximadamente 200 m da costa, enquanto nas demais estações a amostragem foi realizada na orla, ou a poucos metros (2 – 5) da costa.

Tabela 2.2: Datas em que foram coletadas as amostras de água de superfície na região da Ilha de Santa Catarina.

Estação	Data de coleta
13 a 18 e 11	18/12/1998 e 19/02/1999
10	23/02/1999
2, 4, 5, 6	/10/1999
7, 8 e 9	12/01/2000
1, 12 e 3	18/01/2000
18 e 19	08/06/2000
20	/2000
2	14/07/2000
(avaliada utilizando resina Chelex-100 e ICP-AES)	
10	23/06/2001
(avaliada utilizando resina Chelex-100 e ICP-AES)	

Foram coletadas amostras também na Lagoa do Peri (estação 10) que é um lago de água doce e na Lagoa da Conceição, estações de 13 a 19. A estação 19 situa-se na foz rio João Gualberto, que despeja suas águas na Lagoa da Conceição e a estação 20 próximo a foz do Rio Ratonés.

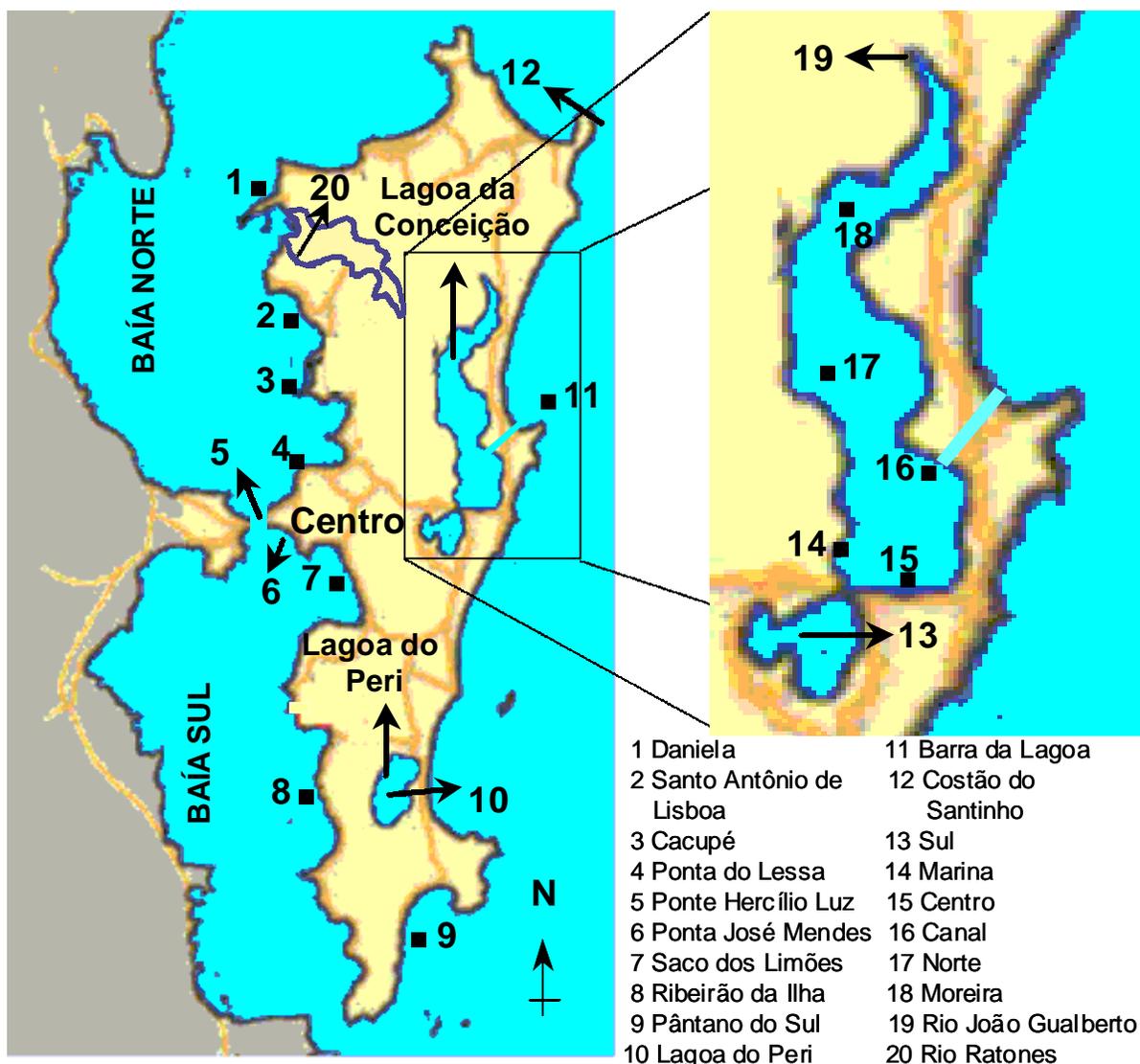


Figura 2.6: Pontos de amostragem situados na costa da Ilha de Santa Catarina no Rio Ratores e nas Lagoas da Conceição e do Peri.

As coletas foram realizadas por duas pessoas, utilizando luvas de plástico, uma delas manipulava os frascos dentro da embarcação enquanto a outra se encarregava da amostragem propriamente dita, como descrito a seguir. Primeiramente a água desionizada contida no frasco de coleta foi despejada, em seguida o frasco foi enxaguado 3 vezes com a própria amostra, que foi coletada a aproximadamente 10 cm de profundidade, tomando o cuidado para não deixar entrar água nas luvas, evitando assim uma possível fonte de contaminação. O frasco contendo a amostra foi novamente ensacado e armazenado a

aproximadamente 0°C, em uma caixa de isopor, até o retorno ao laboratório. De volta ao laboratório, como indicado na Figura 2.7, uma fração de aproximadamente 100 mL da amostra sem tratamento prévio foi acidificada para pH ~ 2 (HCl) e armazenada em freezer para posterior análise da fração dissolvida somada à fração lixiviável do metal. Outra fração de aproximadamente 400 mL foi filtrada em um sistema de filtração de polissulfona (Sartorius), usando membrana de acetato de celulose de poro 0,45 µm (Sartorius) e pressão de N₂ para minimizar a contaminação. A fração filtrada foi subdividida em duas partes: uma delas, destinada à análise da fração do metal dissolvido total, foi acidificada a pH ~ 2 enquanto a outra, destinada a avaliação do metal lábil, foi armazenada sem acidificar. Ambas as frações filtradas também foram armazenadas em freezer. Entre cada amostra filtrada o sistema de filtração foi enxaguado com HCl 10% (v/v) e água desionizada, já os filtros de acetato de celulose foram previamente lavados com 100 mL de HCl 10% (v/v) seguidos de duas alíquotas de 25 mL de água ultra-pura. Antes da filtragem da amostra, propriamente dita, os primeiros 20 mL filtrados foram desprezados para lavagem do sistema de filtração. Durante todo o procedimento de filtragem das amostras foram utilizadas luvas de plástico limpas que eram substituídas periodicamente.

As amostras destinadas às medidas de pH e salinidade foram armazenadas sem filtrar em refrigerador a uma temperatura de ~ 4 °C, e avaliadas dentro de no máximo 48 horas.

As amostras naturais destinadas à avaliação por colunas de resina Chelex-100 foram coletadas na Praia de Santo Antonio de Lisboa (estação 2, S = 34), próximo a um criadouro de mariscos e na Lagoa do Peri (estação 10) onde a salinidade é igual a zero (Tabela 2.2 e Figura 2.6). Em ambas as amostragens foram coletadas aproximadamente 5 L de água que foram filtradas logo após o retorno ao laboratório em filtros de fibra de vidro 0,8 µm, utilizando um sistema de filtração de polissulfona (Sartorius).

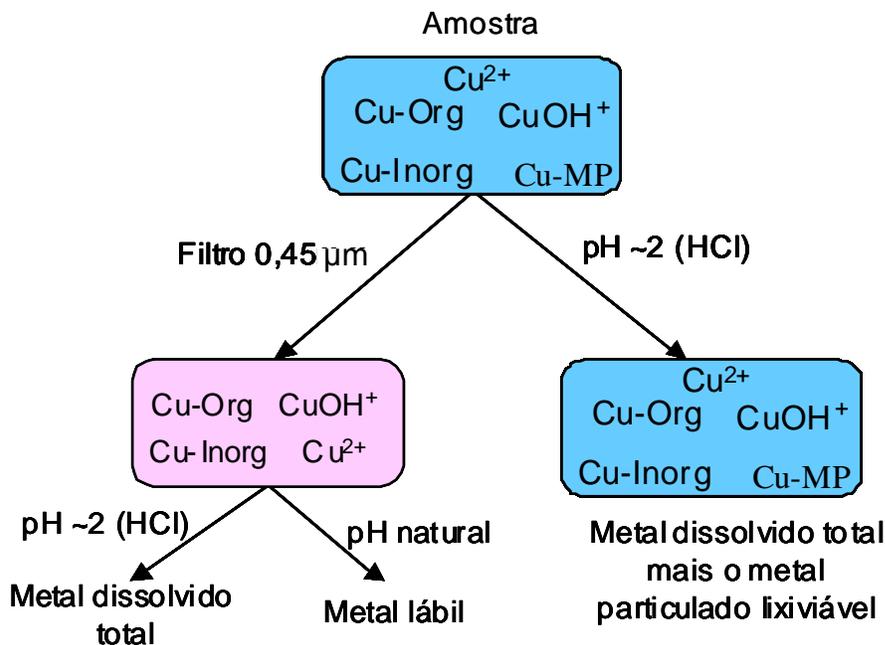


Figura 2.7: Esquema do procedimento utilizado para a filtração das amostras e separação das frações para avaliação do metal lábil, metal dissolvido total e metal dissolvido mais metal particulado lixiviável. Os símbolos Cu-Org, Cu-Inorg e Cu-MP representam respectivamente os ligantes orgânicos e inorgânicos que formam complexos com o cobre e o material particulado capaz de adsorver este metal.

Os filtros foram lavados com aproximadamente 100 mL de HCl 10 % seguidos de 25 mL de água ultra-pura, sendo que os primeiros 20 mL filtrados foram desprezados para lavagem do sistema de filtração. Após filtradas, as amostras foram homogeneizadas e armazenadas em freezer.

2.9 Avaliação das espécies de cobre e cádmio por voltametria de redissolução catódica

a) Cobre lábil

A fração referente ao cobre lábil (isto é, eletroquimicamente lábil), foi determinada após transferir para a célula voltamétrica uma alíquota de 10 mL da amostra seguidos de 100 µL de H_3BO_3 1 mol L^{-1} mais 100 µL de SA $2,5 \times 10^{-3}$

mol L⁻¹, atingindo as concentrações finais de 0,01 mol L⁻¹ de H₃BO₃ e 25 μmol L⁻¹ de SA (Campos e van den Berg, 1992). Após 10 minutos de purga com nitrogênio o potencial foi ajustado em -150 mV e mantido durante 30, 60, 120 ou 180 segundos, com a solução sob agitação, dependendo da sensibilidade necessária. Após este período de deposição do filme na gota de mercúrio, a solução permaneceu em repouso por 15 segundos e em seguida o potencial foi varrido usando pulso diferencial no sentido negativo a uma velocidade de 20 mV segundo⁻¹ com pulsos de 50 mV. Duas gotas de mercúrio eram descartadas do eletrodo antes de iniciar um novo período de pré-concentração (deposição) do metal.

Um outro procedimento de deposição foi realizado para aumentar a sensibilidade quando a concentração de cobre era muito baixa e/ou quando a concentração de matéria orgânica era elevada. Aplicou-se um potencial de -1,0 V durante 60 segundos sob agitação, ocorrendo portanto, a formação do amálgama de cobre. Após este período, a agitação foi interrompida e o potencial foi mantido em -150 mV durante 20 segundos. Nesta etapa, o metal que estava na forma de amálgama é re-oxidado e imediatamente complexado com o ligante e adsorvido na gota de mercúrio. Em seguida o potencial foi varrido em sentido negativo aplicando varredura por pulso diferencial como descrito anteriormente.

As concentrações de metal nas amostras foram avaliadas pelo método da adição de padrão. Cada valor de corrente de pico foi obtido de uma média de pelo menos três varreduras. Foram feitas pelo menos duas adições de padrão sendo que a corrente de pico foi no mínimo duplicada.

b) Cobre dissolvido total e cobre dissolvido total mais o cobre particulado lixiviável

Para a determinação do cobre dissolvido total e cobre dissolvido total mais particulado lixiviável, as amostras foram primeiramente submetidas à intensa radiação ultravioleta em tubos de quartzo durante 4 horas para a degradação da matéria orgânica (Campos *et al.*, 2001). Em seguida, uma alíquota de 10 mL foi introduzida na célula voltamétrica, neutralizada com NH₄OH, tamponada com 0,01 mol L⁻¹ de tampão borato e adicionados 25 μmol

L⁻¹ de SA ou 20 μmol L⁻¹ de oxina. Os parâmetros e demais procedimentos utilizados foram os mesmos descritos para a determinação do cobre lábil.

c) Cádmio dissolvido total

Na determinação do cádmio dissolvido total, as amostras foram irradiadas com luz UV por 4 horas, neutralizadas e tamponadas, como descrito no item anterior, com posterior adição de 20 μmol L⁻¹ do ligante oxina (van den Berg, 1996). Após 10 minutos de purga com nitrogênio o potencial foi mantido em – 600 mV por 60 segundos, durante este período a solução foi agitada sendo formado o filme de Cd-oxina no eletrodo de mercúrio. Em seguida o potencial foi varrido em sentido negativo aplicando pulso diferencial a uma velocidade de 20 mV segundo⁻¹ e pulso de 50 mV. A concentração de cádmio foi obtida pelo método de adição de padrão como já descrito.

2.10 Avaliação das espécies de cobre lábil e cobre dissolvido total em amostras naturais por colunas de Chelex-100

A fração lábil do metal cobre, isto é, Chelex-lábil, foi avaliada após as amostras (de 524,0 a 1254,0 mL) serem tamponadas em pH 5,2 com CH₃COONH₄ 0,1 mol L⁻¹ e eluídas pelas colunas contendo 300 mg de Chelex-100 sob um fluxo de 1,4 mL minuto⁻¹ (Figura 2.8). Após a eluição de 1254,0 mL das amostras de Santo Antônio de Lisboa ou da Lagoa do Peri, o metal lábil foi removido utilizando 5,0 mL de HNO₃ 2,0 mol L⁻¹ e avaliado por Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado, utilizando a linha de emissão em 324,754 nm, potência de 15 W para fotomultiplicadora, 680 W para a fonte de Rádio Frequencia e tempo de integração igual a 1,0 segundo. O metal referente à fração dissolvida total foi avaliado da mesma forma que a fração lábil, porém, antes de ser bombeada pela coluna, 524,0 mL da amostra da Lagoa do Peri foram submetidos a uma fonte de radiação ultravioleta como a descrita por Campos e colaboradores (2001), porém, com algumas modificações. Neste estudo os tubos de quartzo foram substituídos por um tubo

de politetrafluoretileno (teflon) de aproximadamente 10 m de comprimento com 1,6 e 0,81 mm de diâmetro interno e externo respectivamente. Este tubo foi disposto uniformemente em forma de espiral a aproximadamente 2 cm da lâmpada de vapor de mercúrio, sendo que as amostras foram bombeadas através do tubo utilizando um fluxo de 1,4 mL minuto⁻¹. A eficiência deste sistema em degradar a matéria orgânica foi testada com uma solução contendo 7,8 mg L⁻¹ de ácido húmico comercial. Após esta solução ter sido bombeada somente uma vez pelo sistema, o que resulta em um tempo de exposição à radiação de ~ 4,7 minutos, foi possível observar uma redução de 91 % do espectro de fluorescência da solução de ácido húmico utilizada.

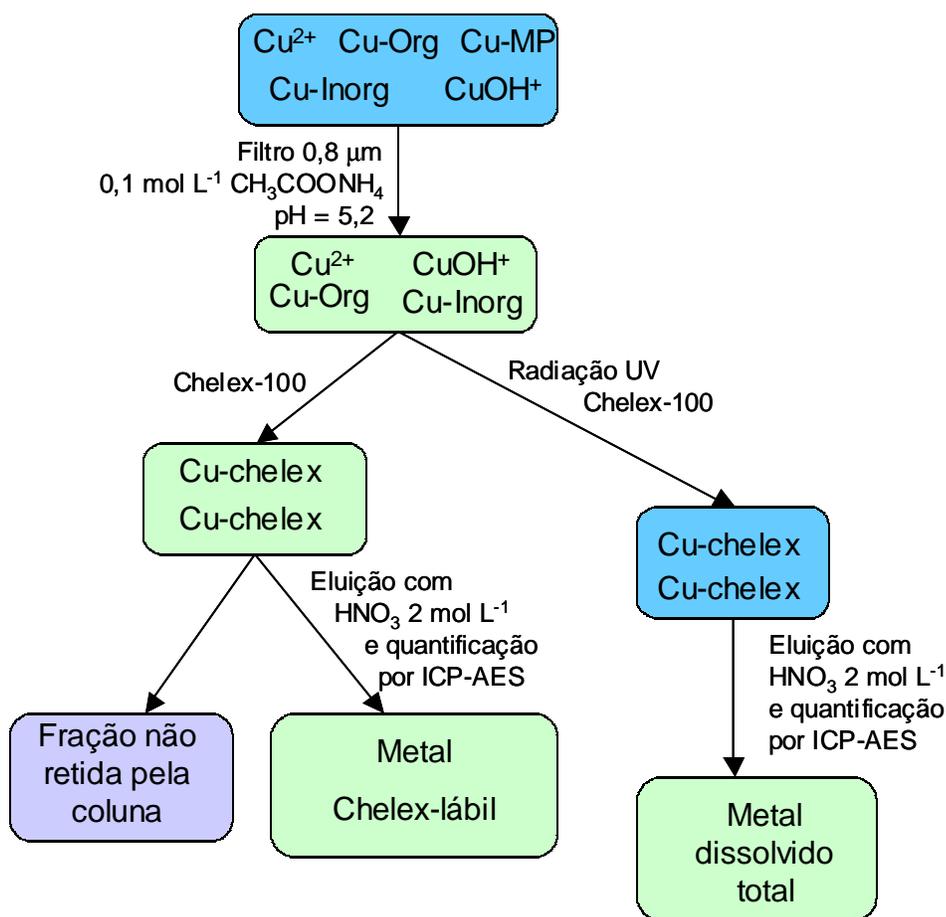


Figura 2.8: Seqüência utilizada para determinar as frações do metal lábil e metal dissolvido total por colunas contendo 300 mg de resina Chelex-100.

Para análise do cobre dissolvido total, a coluna contendo a resina Chelex-100 foi conectada logo após o sistema de digestão por UV, portanto, em um

único ciclo foi possível realizar a degradação da matéria orgânica e a pré-concentração do cobre na resina.

2.11 Medidas de Salinidade

A salinidade foi avaliada utilizando a “escala de salinidade prática” definida pela UNESCO em 1978. Esta escala de salinidade utiliza a relação salinidade/conductividade e tem sido adotada mundialmente nas avaliações da salinidade (Millero, 1996).

Primeiramente definiu-se o valor R_T que é a razão entre a condutividade da amostra e a água do mar de salinidade 35,00. Uma água do mar de salinidade 35,00 tem, por definição, a razão de condutividade 1,0 a 15 °C com uma solução de KCl contendo uma massa de 32,4356 g de KCl em uma massa de 1,0 kg de solução. Portanto, no lugar da água do mar padrão, pode-se usar uma solução de KCl 32,4356 g por kg de solução.

$$R_T = k_{\text{amostra}}/k_{\text{KCl}}$$

Após definido, o valor R_T é substituído nas equações:

$$S = S = a_0 + a_1R_T^{1/2} + a_2R_T + a_3R_T^{3/2} + a_4R_T^2 + a_5R_T^{5/2} + \Delta S$$

Onde ΔS é usado para a correção da temperatura

$$\Delta S = [(t - 15) / (1+k(t-15))]b_0 + b_1R_T^{1/2} + b_2R_T + b_3R_T^{3/2} + b_4R_T^2 + b_5R_T^{5/2}$$

$$a_0 = 0,008 \quad b_0 = 0,0005$$

$$a_1 = -0,1692 \quad b_1 = -0,0056$$

$$a_2 = 25,3851 \quad b_2 = -0,0066$$

$$a_3 = 14,0941 \quad b_3 = -0,0375$$

$$a_4 = -7,0261 \quad b_4 = 0,0636$$

$$a_5 = 2,7081 \quad b_5 = -0,0144$$

$$\Sigma a_i = 35,000 \quad \Sigma b_i = 0,0000$$

$$k = 0,0162$$

t = temperatura

As salinidades determinadas pelos polinômios acima são chamadas SALINIDADES PRÁTICAS. Como esta é baseada na razão de condutividade (R), não tem dimensão.

2.12 Medidas da vazão do rio João Gualberto

Os aportes de água doce através dos cursos fluviais para a Lagoa da Conceição resumem-se a alguns córregos na parte oeste e ao Rio João Gualberto que despeja suas águas na extremidade norte da lagoa. Durante o seu trajeto este rio atravessa áreas de plantações agrícolas, áreas urbanizadas, e portanto suas águas podem estar sujeitas a contaminação por cobre. Com o objetivo de avaliar o aporte deste metal para a Lagoa da Conceição foi realizada uma coleta na foz do Rio João Gualberto (estação 19) em 08 de junho de 2000, nesta mesma data foram realizadas medidas da profundidade do rio em função da sua largura (Tabela 2.3).

As medidas da velocidade da corrente foram realizadas em três datas com condições de maré e de índices pluviométricos bastante distintos. A primeira medida, em 08 de junho de 2000, foi realizada após um período de três meses sem fortes chuvas na região, nesta ocasião a lagoa estava em regime de vazante e com vento Norte fraco. A medida seguinte foi realizada em 08 de março de 2001 quando a lagoa estava sob a influência de maré de sizígia e de ventos Sul e Sudoeste. Maré de sizígia é uma maré de grande amplitude que se segue ao dia de lua cheia ou de lua nova. Portanto, a água do mar entra na lagoa com maior vazão, dificultando a vazão da água do rio. A terceira e última medida da corrente do Rio João Gualberto foi em 22 de fevereiro de 2002 quando a região estava sob um forte período de chuvas.

Tabela 2.3: Medidas da profundidade do Rio João Gualberto (08/06/2000), em função da sua largura, utilizadas para o cálculo da área da seção transversal.

Distância da margem (m)	Profundidade (m)	Distância da margem (m)	Profundidade (m)
0	0,05	13	1,38
1	0,12	14	1,35
2	0,37	15	1,28
3	0,68	16	1,24
4	0,56	17	1,17
5	1,23	18	1,12
6	1,98	19	1,06
7	1,50	20	0,94
8	1,43	21	0,76
9	1,42	22	0,50
10	1,37	23	0,22
11	1,75	24	0,05
12	1,35	24,4	0

A vazão do Rio João Gualberto foi calculada através da seguinte equação:

$$\text{vazão} = \text{área transversal do rio (m}^2\text{)} \times \text{velocidade da água (m segundo}^{-1}\text{)}$$

A área transversal do rio foi calculada sub-dividindo a mesma em vários retângulos. Cada retângulo media um metro de largura, sendo que a altura dos mesmos foi obtida através da média das profundidades em intervalos de 1,0 m. Feito isso, as áreas de cada retângulo foram calculadas e somadas totalizando 24,8 m².

Exemplo do cálculo da área de uma seção transversal do Rio João Gualberto:

Retângulo 1

Altura no ponto zero: 0,05 m

Altura no ponto 1 m: 0,12 m

Altura média: 0,085 m

Largura: 1 m

Área₁: 0,085 m²

Retângulo 2

Altura no ponto 1 m: 0,12 m

Altura no ponto 2 m: 0,37 m

Altura média: 0,245 m

Largura: 1 m

Área₂: 0,245 m²

Então:

$$\text{Área total} = \text{Área}_1 + \text{Área}_2 + \dots + \text{Área}_{25} = 24,8 \text{ m}^2$$

A velocidade da corrente foi calculada utilizando um correntômetro que é composto por uma hélice e por um contador de giros. Quando esta hélice é submergida nas águas do rio, esta gira proporcionalmente à velocidade da corrente. O número de giros registrados em um determinado tempo foi utilizado para calcular a velocidade das águas.

Neste estudo foram utilizadas duas hélices (hélices 1 e 6) que foram submergidas durante 4 minutos em três profundidades distintas (Tabela 2.4).

Tabela 2.4: Profundidades em que foram realizadas as medidas da velocidade da corrente, números de giros por segundo (s) das hélices 1 e 6, e velocidade de corrente do Rio João Gualberto nas datas de 08/06/2000, 08/03/2001 e 22/02/2002.

Data	Hélice	Profundidade (m)	Giros segundo ⁻¹	Velocidade (m segundo ⁻¹)
08/06/2000	1	0,1	2,25	0,150
		0,7	0,54	0,046
		1,2	0,58	0,048
08/03/2001	1	0,1	0,98	0,125
		0,2	0,26	0,029
		0,2	0,28	0,030
08/03/2001	1	1,2	0,47	0,042
		1,2	0,70	0,056
		1,2	0,90	0,068
22/02/2002	1	0,2	0,90	0,068
		1,2	0,59	0,049

Exemplo do cálculo da velocidade da corrente:

Para a hélice 1 na profundidade de 0,1 m, o número de giros por segundo (n) foi igual a 2,25. Utilizando uma tabela que é fornecida juntamente com o aparelho temos que $2,19 < n < 6,96$, então, a equação a ser utilizada para o cálculo da velocidade é:

$$V = 0,0576 \times n + 0,020$$

$$V = 0,0576 \times 2,25 + 0,020$$

$$V = 0,15 \text{ m segundo}^{-1}$$

A vazão do rio foi avaliada multiplicando-se a velocidade média da corrente (para cada data) pela área. Os valores obtidos para as datas de 08/06/2000, 08/06/2001 e 22/02/2002 foram de 2,28, 0,97 e 1,45 m³ s⁻¹ respectivamente.

CAPITULO 3: RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Estudos utilizando as colunas com resina Chelex-100

3.1.1 Limite de detecção, brancos de reagentes e curvas de calibração

O limite de detecção do Espectrômetro de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado, para cobre, foi calculado em água ultra-pura como sendo 3 vezes o ruído do branco (969 unidades de contagem; $n = 10$) dividido pela sensibilidade (2×10^9 unidades de contagem mol^{-1}) que foi calculada após a construção de uma curva analítica utilizando padrões contendo 0,5; 1,0 e 1,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de cobre. O limite de detecção encontrado foi de 0,48 $\mu\text{mol L}^{-1}$, e foi avaliado utilizando a linha de emissão em 324,754 nm, potência de 15 W para fotomultiplicadora e tempo de integração igual a 1,0 segundo.

Com o objetivo de verificar a pureza dos reagentes empregados para avaliar as concentrações de metais nas amostras naturais, 150 mL de uma solução de $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 0,1 mol L^{-1} (pH = 5,2) preparada com água ultra-pura previamente purificada foi bombeada pela coluna de 300 mg (seção 2.6). A eluição foi realizada com 5,0 mL de HNO_3 2,0 mol L^{-1} bi-destilado, cuja concentração de cobre, após a eluição, foi quantificada por Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado atingindo concentrações abaixo do limite de detecção (0,48 $\mu\text{mol L}^{-1}$).

No início dos experimentos o objetivo era utilizar os recursos mais baratos possíveis, portanto, foi utilizado um Espectrômetro de Absorção Atômica com Chama para avaliar a concentração de cobre nos padrões utilizados para otimizar as colunas. A Figura 3.1 mostra duas curvas analíticas típicas obtidas por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama e Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado.

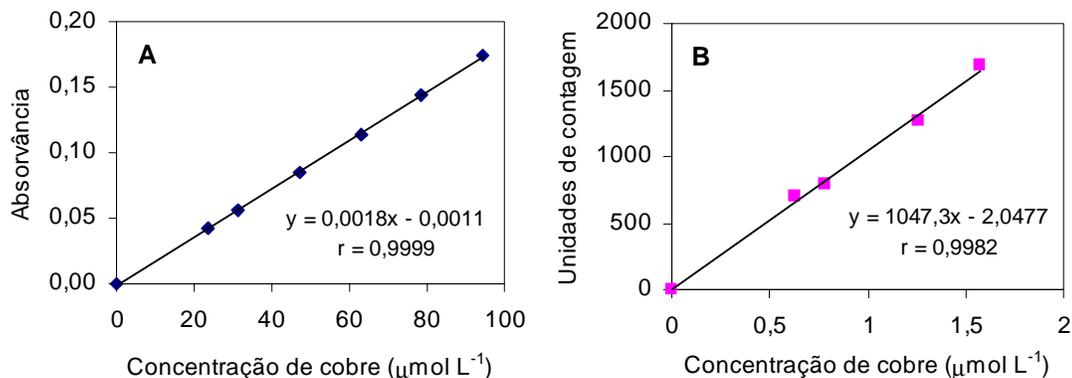


Figura 3.1: Exemplo de curvas analíticas típicas obtidas (sem pré-concentração) por (A) Espectrometria de Absorção Atômica com Chama utilizando o método da aspiração direta da amostra, e (B) por meio da Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado.

3.1.2 Otimização das colunas contendo resina Chelex-100 com controle de fluxo gravitacional

a) Otimização do volume de eluente

Para otimização do volume de eluente, primeiramente foram eluídas em cada uma das colunas (2000, 1000 e 500 mg) 200 mL de uma solução contendo $1,57 \mu\text{mol L}^{-1}$ de cobre e $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ (previamente purificado, $\text{pH} = 5,2$). Em seguida, o metal retido na coluna foi eluído utilizando várias frações de 1,0 mL de $\text{HCl } 2,0 \text{ mol L}^{-1}$, que foram coletadas e analisadas individualmente para cobre. O fluxo de eluição de $1,9 \text{ mL minuto}^{-1}$ foi controlado manualmente, e calculado no início de cada experimento através da eluição de várias alíquotas de água ultra-pura durante o tempo de 1 minuto.

Para as colunas contendo 500 e 1000 mg de resina foi utilizado o método da micro injeção (seção 2.7), com detecção por Espectrometria de Absorção Atômica Chama. No caso da coluna contendo 2000 mg de Chelex-100, as concentrações de cobre foram avaliadas por aspiração direta utilizando a Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado. A massa de cobre encontrada na primeira alíquota de 1,0 mL de HCl foi dividida pela massa total de cobre (0,02 mg), que foi eluída pela coluna para se obter a

fração recuperada. Esta operação foi realizada para os demais volumes de 1,0 mL sempre somando as quantidades já eluídas anteriormente. Após a eluição da 5ª alíquota de 1 mL de HCl 2,0 mol L⁻¹ pelas colunas contendo 500 e 1000 mg de resina, não foi possível observar um sinal mensurável por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama. No caso da coluna com 2000 mg, após a eluição da 9ª alíquota da solução de HCl não foi observado um sinal mensurável por Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma (Figura 3.2).

Somando as contribuições individuais de cobre para cada alíquota eluída, o valor para a adição e recuperação do analito cobre foi de 105 % para as colunas com 500 e 1000 mg de Chelex-100 e de 87% para a coluna com 2000 mg. A exatidão e precisão nas análises de cobre pelo método da micro injeção serão discutidas na próxima seção. Os volumes otimizados utilizados na eluição de cobre nos demais estudos de recuperação foram de 5,0; 6,0 e 10,0 mL para as colunas contendo 500; 1000, e 2000 mg de resina, respectivamente.

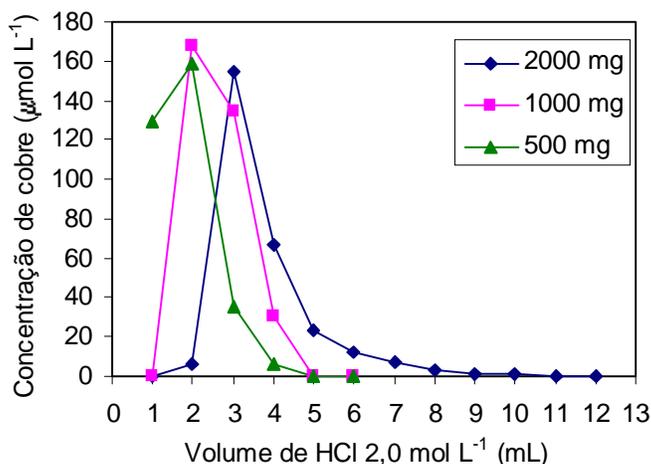


Figura 3.2: Recuperação de cobre utilizando alíquotas de 1,0 mL de HCl 2,0 mol L⁻¹ para eluir 0,02 mg de cobre das colunas contendo 2000; 1000 e 500 mg de resina Chelex 100.

b) Otimização do método de injeção de amostra

Para otimização do método de injeção de amostra, também foram primeiramente eluídos 200 mL de solução contendo 1,57 µmol L⁻¹ de cobre e 0,1 mol L⁻¹ de CH₃COONH₄ (previamente purificado, pH = 5,2) em cada coluna. Os

valores obtidos para a adição e recuperação do analito cobre para cada coluna estão indicados na Tabela 3.1. Vale ressaltar que após a eluição do cobre com os volumes otimizados de HCl $2,0 \text{ mol L}^{-1}$, a mesma alíquota foi submetida a ambos os métodos de injeção de amostra, ou apenas à aspiração direta.

Tabela 3.1: Adição e recuperação do analito cobre (0,02 g) usando os métodos de aspiração direta e micro injeção para diversas massas de Chelex-100 e volume de eluente (HCl $2,0 \text{ mol L}^{-1}$). Foi utilizado fluxo gravitacional e o método de detecção foi por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama.

Coluna (número)	Massa	Volume	Aspiração direta		Micro injeção	
	Chelex -100 (mg)	HCl 2 mol L^{-1} (mL)	Recuperação (%)	Média \pm sd (%)	Recuperação (%)	Média \pm sd (%)
1	2000	10,0	89,3; 90,4; 91,4	$90,4 \pm 1,3$	74,3; 80,2; 79,6	$78,0 \pm 3,2$
2	2000	10,0	103,8; 102,6; 95,6	$100,7 \pm 4,4$	80,5; 85,5; 78,2	$81,4 \pm 3,7$
3	1000	6,0	61,8; 76,6; 88,0	$75,5 \pm 13,1$	61,8	61,8
4	1000	6,0	104,4; 80,1; 68,0; 91,3	$85,9 \pm 15,6$	79,9; 111,9	95,9
5	500	5,0	79,4; 91,4	85,4	Não avaliado	Não avaliado
6	500	5,0	75,3	75,3	Não avaliado	Não avaliado

As percentagens médias de adição e recuperação de analito obtidas por aspiração direta variaram entre cerca de 75 e 101%, enquanto para a aspiração por micro injeção essa variação foi entre aproximadamente 62 e 82 %. Os resultados da adição e recuperação do analito para as colunas contendo 2000 mg de resina, sugerem que houve uma melhor exatidão quando utilizado o método de aspiração direta. As piores recuperações foram observadas para as colunas com 500 e 1000 mg de resina, e a maior imprecisão (15,6 %) foi no caso de 1000 mg de resina. Isto talvez porque as colunas que contém uma menor quantidade de resina sejam mais sensíveis às perturbações do sistema, como por exemplo variações do fluxo do eluato ou do eluente.

Nos experimentos para otimização do volume de eluente, o método da micro injeção pareceu promissor, pois para as colunas com 500 e 1000 mg de resina resultou em 105 % de recuperação (Figura 3.2). Portanto, inicialmente,

este método de injeção de amostra demonstrou ser uma forma alternativa, bastante atraente, de introduzir a amostra no Espectrômetro de Absorção Atômica com Chama, quando o volume é pequeno. Porém, foi observado que este método exige grande treinamento do analista para que os resultados obtidos sejam repetitivos e equivalentes aos obtidos por aspiração direta. Portanto, o valor de recuperação igual a 105 % obtido para as colunas contendo 1000 e 500 mg de resina, por meio da soma das concentrações de cobre avaliadas nas alíquotas de 1,0 mL, pode não ser um indicativo da eficiência destas colunas e sim de erros durante o processo de introdução da amostra.

Visto que para a coluna de 2000 mg foram observados melhores valores de adição e recuperação do analito por aspiração direta (Tabela 3.1), optou-se por esta forma de introdução da amostra. Porém, seja pelo método da aspiração direta, ou micro injeção, os valores de recuperação de cobre foram bastante insatisfatórios se comparados com aqueles obtidos na literatura. Um volume de 10 mL de HNO_3 2,0 mol L^{-1} foi utilizado por Figura e McDuffie (1977), para eluir uma coluna contendo 2000 mg de resina Chelex-100, obtendo uma recuperação de 100 % para o metal cobre em águas fluviais sintéticas. Guéguen e colaboradores (1999), utilizaram 5,0 mL HNO_3 1,3 mol L^{-1} para remover o cobre retido em uma coluna de 4,0 cm de comprimento e 6,0 mm de diâmetro interno, contendo Chelex-100, obtendo recuperações entre 92 e 100 % para soluções de cobre. Abollino e colaboradores (2000) eluíram o cobre retido em uma coluna contendo 500 mg de resina Chelex-100 utilizando 10 mL de HNO_3 2,0 mol L^{-1} e obtiveram uma recuperação igual a 98,4 %. Nota-se que os volumes de eluente utilizados por diversos autores, com excelentes valores de recuperação, são semelhantes aos volumes utilizados neste trabalho. Porém, os autores utilizaram HNO_3 como eluente e bomba peristáltica para controlar o fluxo de eluição, o que pode ser a razão da melhor eficiência obtida.

Os maiores atrativos dos sistemas de colunas contendo 2000, 1000 e 500 mg de resina com detecção por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama, são a simplicidade e o baixo investimento necessário. Porém, além da baixa precisão, foram registrados alguns inconvenientes operacionais. Um deles é a dificuldade de se obter um bom controle do fluxo em vazões inferiores a 1,0 mL minuto^{-1} , pois, segundo Paulson (1986), um decréscimo na vazão da

amostra para até $0,2 \text{ mL minuto}^{-1}$ reflete em um aumento na retenção de metais pela resina Chelex-100. A outra dificuldade operacional registrada foi a variação do volume que a resina Chelex-100 apresenta dependendo se a mesma se encontra na forma amoniacal ou ácida. Estas freqüentes variações de volume provocam uma compactação da resina, o que acaba impedindo por completo a passagem do eluato por algumas das colunas. Nestes casos, o experimento tinha de ser interrompido e, com uma seringa, eram injetadas na coluna aproximadamente $2,0 \text{ mL}$ de água ultra-pura em sentido contrário ao do eluato, provocando uma ressuspensão da resina e o restabelecimento do fluxo. Problemas de redução de vazão em colunas contendo a resina Chelex-100 também foram observados por Ellis e Roberts (1998), e foram atribuídos às contínuas mudanças entre a forma ácida e amoniacal, juntamente com o fluxo unidirecional. Nestes casos o problema também foi solucionado revertendo, periodicamente, o fluxo através da coluna.

Com o objetivo de melhor controlar o fluxo para obter vazões mais baixas, evitando os problemas de entupimento e aumentando a repetibilidade dos resultados, foi adaptada uma bomba peristáltica ao sistema nos experimentos que seguem.

3.1.3 Otimização das colunas contendo resina Chelex-100 com controle de fluxo por bomba peristáltica

a) Otimização do volume de eluente

Com o objetivo de minimizar o tempo de eluição da solução padrão de cobre pelas colunas, utilizou-se 50 mL de uma solução de cobre $6,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ tamponada com $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ($\text{pH} = 5,2$) ao invés de utilizar 200 mL da solução de cobre $1,57 \mu\text{mol L}^{-1}$, porém a massa de cobre de $0,02 \text{ g}$ foi mantida. A solução de cobre, bem como o tampão $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, a água ultra-pura e o HNO_3 $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ foram bombeados pelas colunas utilizando o menor fluxo possível ($1,4 \text{ mL minuto}^{-1}$) controlado por uma bomba peristáltica. Visto que com o uso da bomba peristáltica foi possível manter um fluxo mais

lento que nos testes com controle gravitacional ($1,9 \text{ mL minuto}^{-1}$), foi possível utilizar uma menor massa de resina Chelex, e assim minimizar o volume de eluente, aumentando o fator de pré-concentração.

Para otimizar o volume de eluente, após a eluição do cobre com $2,0 \text{ mL}$ de HNO_3 $2,0 \text{ mol L}^{-1}$, as colunas foram devidamente lavadas com água e solução tampão (seção 2.6). Uma nova alíquota de 50 mL do padrão de cobre foi bombeada, aumentando-se o volume de eluente para $3,0 \text{ mL}$, e nova lavagem da coluna foi realizada. Este procedimento foi repetido aumentando-se o volume do eluente de 1 em 1 mL até $6,0$ ou $7,0 \text{ mL}$. Visto que o volume de eluente era relativamente grande, foi possível analisar a concentração de cobre por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama por aspiração direta da amostra, minimizando assim os erros causados pela introdução da amostra.

A Figura 3.3 mostra que o menor volume de HNO_3 $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ necessário para eluir cerca de 100% do cobre em ambas as colunas foi de $5,0 \text{ mL}$. Quando comparado com a resina de 500 mg utilizando fluxo gravitacional, não houve redução no volume de eluente, como era de se esperar por causa da menor quantidade de resina, no entanto, a adição e recuperação do analito apresentou uma melhora bastante significativa.

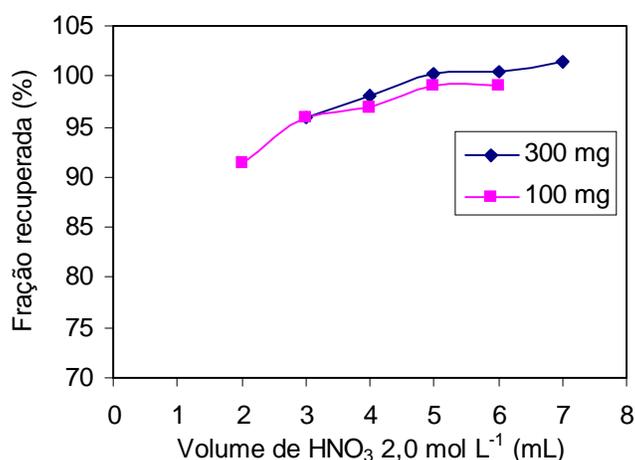


Figura 3.3: Adição e recuperação do analito cobre ($0,02 \text{ g}$) de acordo com o volume de eluente para as colunas contendo 300 e 100 mg de resina Chelex-100.

O volume de eluente otimizado (5,0 mL) para as colunas com controle de fluxo por bomba peristáltica pode ser reduzido caso a eluição seja realizada utilizando fluxo inverso.

b) Otimização da massa de resina

Uma vez que o volume de eluente foi otimizado em 5 mL, foi possível avaliar a eficiência na recuperação de cobre em colunas contendo diversas massas de resina (Tabela 3.2). Foram também realizados experimentos para verificar se a coluna teria que ser empacotada novamente caso a mesma secasse temporariamente, ou se a presença de ar no sistema (muitas vezes inevitável no decorrer dos experimentos) poderia influenciar na adição e recuperação do analito. O ar foi introduzido no sistema retirando o tubo da solução de cobre por alguns segundos. A concentração de cobre recuperado foi avaliada por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama, por aspiração direta da amostra, ou Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado.

Tabela 3.2: Adição e recuperação do analito cobre (0,02 g) obtidas para as colunas contendo diversas massas de Chelex-100, e efeito da presença de ar no sistema. Foram utilizados 5 mL de eluente HNO_3 2,0 mol L^{-1} , fluxo controlado com bomba peristáltica.

Replicatas	Adição e recuperação do analito cobre			
	500 mg (presença de ar)	500 mg (ausência de ar)	300 mg	100 mg
1	100,0	99,9	98,9	98,3
2	101,1	99,5	99,6	99,5
3	100,7	99,9	98,3	99,0
4	-	101,0	-	98,4
Média \pm sd	100,6 \pm 0,6	100,1 \pm 0,6	98,9 \pm 0,6	98,8 \pm 0,6

Os testes realizados utilizando bomba peristáltica para regular o fluxo demonstram que os resultados desta nova configuração (Tabela 3.2) são

significativamente mais precisos (teste F; $p = 0,05$) e exatos do que aqueles obtidos para o sistema que utilizava apenas a força gravitacional (Tabela 3.1). A investigação dos efeitos da presença de ar no sistema contendo 500 mg de Chelex-100 mostrou que a adição e recuperação do analito média não diferiu significativamente daquela na ausência de ar (teste t; $p = 0,05$). Portanto, no caso da entrada acidental de ar durante a eluição da amostra ou do eluente, não é esperado interferência significativa na recuperação do cobre. Também não foi observada diferença significativa (teste t; $p = 0,05$) entre os valores médios de recuperação obtidos para as colunas contendo 500 mg (ausência de ar) e 300 mg de resina. A adição e recuperação do analito média ($98,8 \pm 0,6 \%$) para a coluna contendo 100 mg de resina Chelex-100 foi significativamente distinta do valor médio obtido ($100,1 \pm 0,6 \%$) com a coluna que continha 500 mg da resina. O maior atrativo em utilizar a menor quantidade de resina possível, é que quanto menor a quantidade de resina menor será o volume de eluente necessário para eluir o metal retido. Portanto, com a finalidade de se utilizar o menor volume de eluente possível, para aumentar o fator de enriquecimento, a quantidade de resina utilizada nas análises posteriores foi de 300 mg. Esta nova configuração demonstrou ser mais eficiente, precisa e prática, pois, os problemas de entupimento da coluna foram solucionados, além do uso da bomba peristáltica minimizar os riscos de contaminação, pois o manuseio dos padrões ou amostras foi minimizado.

c) Interferência dos metais Pb, Cd e Zn na recuperação do Cu

Para avaliar a possível interferência causada pelos elementos chumbo, cádmio e zinco na eficiência do sistema, foram bombeadas através de uma coluna de 300 mg de resina duas alíquotas de 50 mL de uma solução contendo $6,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ de cobre, e mais $63,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de cada um dos elementos chumbo, cádmio e zinco ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$; $\text{pH} = 5,2$). A adição e recuperação média do analito cobre desta solução foi de 98,3%; estando dentro da média ($98,9 \pm 0,6 \%$) obtida para a solução contendo apenas cobre. Isto é um indicativo de que o sistema proposto apresenta boa seletividade e eficiência

para o cobre, mesmo na presença de chumbo, cádmio e zinco em concentrações 10 vezes mais elevadas.

Visto que foi obtido um sistema otimizado que apresentou excelente eficiência de recuperação para o cobre, e boa seletividade com relação aos elementos testados, novos experimentos foram introduzidos com a finalidade de se avaliar a possibilidade de utilizar a resina Chelex para o estudo da especiação química do cobre.

3.1.4 Avaliação das colunas de Chelex-100 no estudo da especiação química do cobre

a) Soluções de Cu-HA

As substâncias húmicas, isto é, os ácidos húmicos (AH) e ácidos fúlvicos (AF), presentes nas águas naturais formam fortes complexos com o cobre, o que conseqüentemente, diminui sua biodisponibilidade (Allen e Hansen, 1996). Visto que em concentrações relativamente baixas, o metal cobre na forma lábil pode ser tóxico para organismos aquáticos, existe uma grande preocupação em utilizar técnicas analíticas que sejam capazes de diferenciar a fração mais lábil (mais tóxica) daquela menos lábil, como por exemplo quando o metal está fortemente complexado com a matéria orgânica (Florence e Batley, 1980).

Com o objetivo de avaliar se a resina Chelex-100 poderia ser utilizada no estudo da especiação química do cobre, foram primeiramente utilizadas quatro soluções modelos de AH, comercial (Aldrich), as quais foram adicionadas várias concentrações de cobre. A quantidade de AH nestas soluções foi fixada em 3,0 ou 20,8 mg L⁻¹ (1,2 e 8 mgC L⁻¹ respectivamente), enquanto a concentração de cobre variou de 3,21 a 2084 µg L⁻¹, sendo assim, as razões Cu/AH_(m/m) variaram de 0,0011 a 0,1 (Tabela 3.3). Uma solução contendo 3,0 mg L⁻¹ de AH comercial foi avaliada por Espectrometria de Massas com fonte de Plasma Indutivamente Acoplado com o objetivo de determinar a concentração de cobre proveniente do próprio AH comercial. O valor obtido (0,21 µg L⁻¹) foi somado à concentração de cobre adicionada nas demais soluções de AH.

Tabela 3.3: Soluções modelo contendo ácido húmico (AH) comercial e cobre (pH = 5,2; CH₃COONH₄ 0,1 mol L⁻¹) bombeadas pela coluna de resina Chelex-100 e avaliação da percentagem de cobre lábil recuperado

Solução	Concentração de cobre (μg L ⁻¹)	Massa AH (mg L ⁻¹)	Razão Cu/AH _(m/m)	% de Cu Chelex-lábil
A	3,21	3	0,0011	60
B	30,21	3	0,01	90
C	300,21	3	0,1	116
D	2085,5	20,8	0,1	84

As soluções contendo a mistura de AH e Cu foram deixadas em repouso por 48 horas para que o metal e o AH entrassem em equilíbrio. Após este período, as soluções foram tamponadas com CH₃COONH₄ 0,1 mol L⁻¹ (pH = 5,2) e bombeadas pela coluna contendo 300 mg de Chelex-100 a uma vazão de 1,4 mL minuto⁻¹. O metal retido foi eluído com 5,0 mL de HNO₃ 2,0 mol L⁻¹ e avaliado por Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado (solução D) ou por Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (soluções A, B e C).

Quando as soluções A, B e C foram bombeadas pela coluna contendo a resina Chelex-100, a fração do cobre retida foi de 60, 90 e 116 % respectivamente (Tabela 3.3), ou seja, a medida em que a razão Cu/AH_(m/m) aumentava, a quantidade lábil (Chelex-lábil) do metal tornava-se cada vez mais significativa, sugerindo que os sítios complexantes relativamente mais fortes do AH foram saturados com cobre e, portanto, este metal passava a ocupar sítios complexantes mais fracos. A recuperação maior que 100 % para a solução C mostra as dificuldades operacionais do experimento. Já para a solução D, onde a razão Cu/AH é a mesma que para a solução C, 84 % do cobre foi trocado pela resina Chelex-100, isto é, 84 % do metal presente na amostra estava na forma lábil (Chelex-lábil), enquanto 16 % estava presente na forma não lábil. Apesar da razão Cu/AH para as soluções C e D ser a mesma, a solução D possui uma concentração de cobre maior, o que pode ter facilitado a detecção do Cu não

lábil, retido na coluna. Para investigar se a diferença de recuperação observada para a mesma razão Cu/AH é apenas operacional ou se a diferença de recuperação é significativa, várias alíquotas de cada solução teriam que ser analisadas para possibilitar uma análise estatística.

Deve-se salientar que a definição de metal lábil ou não lábil é operacional, e portanto, no caso deste experimento, temos a definição da fração Chelex-lábil e Chelex-não-lábil. Esta medida operacional visa indicar a fração mais biodisponível do metal para os organismos aquáticos. A fração relativamente alta de cobre lábil indica uma alta capacidade de retenção para cobre pela resina Chelex-100, frente aos complexos formados pelo cobre e compostos húmicos.

Sekaly e colaboradores (1999) realizaram experimentos utilizando soluções de ácido fúlvico enriquecidas com cobre. A estas soluções foi adicionada uma concentração de cobre fixa (48 nmol L^{-1}), no entanto, a concentração de ácido fúlvico foi variada de 0,26 a $26 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. Desta forma, as razões molares entre cobre e ácido fúlvico (Cu/AF) eram iguais a 0,0018; 0,018 e 0,18 (pH = 5,1). Nestas soluções foram introduzidas 1 % (m/v) de resina Chelex, que foram mantidas sob agitação. A concentração de cobre em solução foi monitorada com o tempo, e após cerca de 2 horas, a percentagem de cobre complexado (não-lábil, ou não trocável) que permaneceu em solução foi de 100, 91 e 80 % para cada uma das razões respectivamente. Em outras palavras, isto significa que para concentrações de ácido fúlvico cerca de 600, 60 e 6 vezes maior do que a de cobre (Cu/AF = 0,0018; 0,018 e 0,18), aproximadamente zero, 9 e 20 % do cobre foi trocado pela resina Chelex (operacionalmente lábil). Estes resultados mostram a mesma tendência observada nos experimentos realizados neste trabalho. Sekaly e colaboradores (1999) concluem que quando a razão Cu/AF aumenta (isto é, quando a concentração de ácido fúlvico excede a de cobre em menores proporções), a fração lábil do cobre também aumenta, pois o metal passa a ocupar os sítios complexantes relativamente mais fracos do ácido. Estes autores consideraram que aproximadamente 1 % dos sítios complexantes do AF utilizado eram fortes, e portanto, a razão molar [Cu]/[AF] necessária para a saturação dos sítios fortes seria de aproximadamente 0,01.

A quantidade de cobre utilizada neste trabalho pode ter sido elevada o suficiente para “saturar” todos os sítios complexantes mais fortes do AH, sendo que cerca de 60 a 100 % do cobre passou a ocupar sítios mais fracos (pois foram trocados). Considerando que a concentração de carbono orgânico dissolvido em águas marinhas costeiras é de 4 a 8 mg C L⁻¹ (Chester, 1990), e a concentração de cobre dissolvido total em torno de 6 nmol L⁻¹ na região costeira da Ilha de Santa Catarina, então podemos esperar uma razão de massa Cu/AH de 2 a 4 x 10⁻⁵, isto é, uma concentração de ácidos húmicos cerca de 25 a 50 mil vezes maior que a de cobre. A concentração de ácido húmico nas águas marinhas foram estimadas usando a concentração de carbono encontrada no ácido húmico comercial. Se estes cálculos se aproximam da realidade, então poderia-se esperar que uma pequena fração do cobre dissolvido nesses ambientes seja Chelex-lábil, isto é, trocável pela resina Chelex-100.

b) Solução de Cu-EDTA

Para avaliar o comportamento da resina Chelex-100 perante complexos que possuem uma constante de estabilidade conhecida foram eluídos pela coluna uma solução contendo o complexo Cu-EDTA (1:1). Dos 94 nmol L⁻¹ de cobre presentes na solução, 52,6 nmol L⁻¹ (56 %) apresentou-se na forma lábil, ou seja os outros 44 % não foram retidos pela coluna. Mais uma vez a resina Chelex-100 não foi capaz de reter todo o cobre complexado com o ligante adicionado, indicando que o cobre presente no ambiente na forma de fortes complexos não será retido pela resina e que, portanto, esta pode ser utilizada no estudo da especiação química do cobre. Sabe-se que o cobre e a matéria orgânica natural podem formar complexos com constantes de estabilidade ainda maiores do que aqueles formados entre o cobre e o EDTA, portanto este experimento demonstra o possível comportamento da resina frente aos complexos naturais que possuem constantes de estabilidade similares a do complexo Cu-EDTA. Vasconcelos e Azenha (1996) também utilizaram uma solução de cobre e EDTA com uma razão molar de aproximadamente 1:1 para avaliar uma coluna contendo 4,0 mg de resina Chelex-100 e observaram que, somente 8,4 % do metal presente na solução foi retido pela resina. Vasconcelos e colaboradores (1996) variaram a quantidade de resina Chelex-100 de 25 a 75

mg e o tempo de contato de 10 a 30 minutos e observaram que a labilidade do complexo Cu-EDTA não era significativamente alterada, o que descarta a possibilidade de que a quantidade relativamente excessiva de resina, utilizada neste trabalho, possa ter provocado uma labilidade tão superior a 8,4 %. No entanto, Vasconcelos e Azenha (1996) realizaram os testes em pH = 6,5 onde a constante de estabilidade condicional Cu-EDTA é cerca de 140 vezes maior do que em pH 5,2, portanto isto pode ter contribuído para um aumento significativo da fração Chelex-lábil neste trabalho.

c) Amostras naturais

Com o objetivo de avaliar dois ambientes com características bastante distintas, foram coletadas amostras de água superficial na praia de Santo Antônio de Lisboa, com salinidade 34 (escala de salinidade prática), e na Lagoa do Peri, que é um lago de água doce. Primeiramente, uma amostra da Lagoa do Peri foi irradiada com luz UV e empregada para avaliar a exatidão do método em avaliar a concentração de cobre dissolvido total utilizando a resina Chelex-100 com detecção por Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado. Na verdade, a melhor forma de avaliar a exatidão de um método analítico é através da análise de um material de referência certificado, no entanto, neste trabalho não foi possível lançarmos mão deste artifício, pois seriam necessários cerca de 1,5 L de água do mar certificada ou cerca de 10 mL de água de origem fluvial certificada para atingir o limite de detecção do método. Uma forma alternativa para avaliar a exatidão de um novo método é comparar os resultados do método proposto com aqueles obtidos por um outro método já bem estabelecido. Neste caso, como método de referência foi utilizado a voltametria de redissolução catódica.

A concentração de cobre dissolvido total avaliada na Lagoa do Peri pela coluna de resina Chelex-100 e por voltametria de redissolução catódica foram iguais a 7,1 e 7,3 nmol L⁻¹ respectivamente (Tabela 3.4). Devido à quantidade limitada de resultados obtidos, não foi possível fazer uma comparação estatística entre os mesmos. No entanto, se levarmos em consideração que o desvio padrão relativo típico para as análises realizadas por voltametria neste trabalho foram de aproximadamente 20 % espera-se um desvio padrão de 1,5

nmol L⁻¹, e conseqüentemente podemos considerar que estes dois valores não são significativamente diferentes, indicando que o método proposto possui boa exatidão.

Apesar do grande excesso de AH esperado para as águas da Lagoa do Peri, em relação à concentração de cobre, cerca de 27 % do cobre dissolvido total estava na forma Chelex-lábil, enquanto 21 % apresentou-se na forma lábil por voltametria de redissolução catódica. Se mais uma vez considerarmos um desvio padrão relativo de 20 %, para os valores obtidos pela voltametria, então estes valores não são significativamente diferentes.

Também foi observada uma grande similaridade entre a concentração de metal lábil utilizando os dois métodos para uma amostra marinha (Santo Antônio de Lisboa, Tabela 3.4), demonstrando mais uma vez a semelhança operacional entre os dois métodos, tanto para amostras de água marinha quanto de água doce.

A proximidade entre os valores obtidos para a fração lábil por voltametria de redissolução catódica e pela resina neste estudo, significa que ambos os métodos são operacionalmente equivalentes, ou seja, os métodos não são capazes de distinguir classes distintas de ligantes naturais. Caso os métodos testados fornecessem frações lábeis distintas poderia se dizer que ambos seriam complementares, ou seja, um deles seria capaz de avaliar a fração do metal mais biodisponível em relação ao outro, como por exemplo no trabalho realizado por Figura e McDuffie (1980). Os autores utilizaram a voltametria de redissolução anódica e resinas de Chelex-100 para classificar as espécies de metais presentes em águas fluviais em muito lábil (aquela medida por voltametria de redissolução anódica) e em moderadamente lábil que corresponde a fração avaliada pelas colunas de resina Chelex-100.

Tabela 3.4: Concentração de cobre eletroquimicamente lábil, Chelex lábil e cobre dissolvido total (Cudt) em amostras de água da praia de Santo Antônio de Lisboa e na Lagoa do Peri. Os métodos utilizados foram voltametria de redissolução catódica e colunas de resina Chelex-100 com detecção por Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado.

Amostra	Voltametria (nmol L ⁻¹)		Chelex-100 (nmol L ⁻¹)	
	Cu lábil	Cudt	Cu lábil	Cudt
Lagoa do Peri	1,5	7,3	1,9	7,1
St° A. de Lisboa	4,0 ± 0,9 (n = 3)	não avaliado	4,2	não avaliado

A principal vantagem de se utilizar as resinas de Chelex-100 juntamente com o Espectômetro de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado ou a Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado seria a possibilidade de se realizar análises multielementares, possibilitando então a avaliação simultânea de elementos como Ni, Al, Cd, Zn, Cu e Pb. Como principal desvantagem do sistema proposto (coluna de resina Chelex-100 com controle de fluxo por bomba peristáltica e detecção por Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado) podemos citar a baixa velocidade analítica, pois foi necessário eluir pela coluna 1254,0 e 524,0 mL da amostra da Lagoa do Peri para se avaliar as frações Chelex-lábil e cobre dissolvido total respectivamente, resultando em um experimento de aproximadamente 24 horas se considerarmos a eluição da amostra e preparação da coluna. No entanto, se forem utilizadas técnicas mais sensíveis como a Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado ou Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite que possuem um limite de detecção em torno de 0,05 nmol L⁻¹ (Guéguen *et al.*, 1999; Blain *et al.* 1993) seria possível avaliar a concentração de metal dissolvido na Lagoa do Peri utilizando apenas 5 mL de amostra. Considerando que existem bombas peristálticas com capacidade para adaptar até oito colunas em paralelo, seria possível em apenas 4 minutos de pré-concentração avaliar o metal dissolvido total em oito amostras distintas. Uma outra forma de tornar o experimento mais

rápido seria aumentando o fator de enriquecimento da coluna, para isso seria necessário readaptar o sistema (coluna mais bomba peristáltica) para que o metal retido na coluna pudesse ser eluído com uma quantidade de ácido inferior a 5,0 mL.

Como citado anteriormente, o excessivo volume de amostra necessário para se atingir o limite de detecção, exigia um enorme tempo necessário para realizar um único experimento, por isso não foi possível a análise de um maior número de amostras, que seria necessário para melhor comparar os resultados obtidos pela resina Chelex-100 e pela voltametria de redissolução catódica, no entanto, estes poucos resultados já indicam a possibilidade de avaliar a especificação de cobre usando a resina Chelex-100.

Os resultados mostrados na Tabela 3.4 também demonstram a importância de irradiar as amostras com ultravioleta antes destas serem bombeadas pelas colunas. Caso as amostras não tivessem sido irradiadas, neste trabalho, a concentração de cobre dissolvido “total” estaria relacionada somente com a fração Chelex-lábil, ou seja, a concentração de cobre seria subestimada em até 73 %. Guéguen e colaboradores (1999) demonstram claramente a capacidade da resina Chelex-100 em realizar especificação química, e também a necessidade de irradiar a amostra com luz UV no caso de se avaliar a concentração do metal total dissolvido. Estes autores utilizaram uma coluna de resina Chelex-100 para avaliar a concentração de cobre em uma amostra de água fluvial certificada que continha $20,5 \pm 3,8 \mu\text{g L}^{-1}$ de cobre. Quando a amostra não foi previamente irradiada a concentração do metal foi avaliada em $16,36 \pm 0,09 \mu\text{g L}^{-1}$ ou seja, apenas 80 % do metal foi retido pela coluna. No entanto, após submeterem a amostra a uma fonte de luz UV a concentração de cobre foi avaliada em $20,61 \pm 0,25 \mu\text{g L}^{-1}$, demonstrando que o metal fortemente complexado não é retido pela coluna de resina Chelex-100. Vasconcelos e Leal (1997) utilizaram colunas de Chelamina para avaliar a especificação química do cobre em água do mar e também citaram a necessidade de irradiar as amostras com luz UV para que a fração do metal total pudesse ser avaliada. Figura e McDuffie (1980), avaliaram a concentração de cobre em águas fluviais utilizando colunas contendo 1300 mg de resina Chelex-100 e observaram que o cobre

mais fortemente complexado, em média 48 % do metal dissolvido total, também não foi retido pela resina. O mesmo foi observado por Haraldsson e colaboradores (1993), que também avaliaram a concentração de cobre em amostras de águas fluviais, e observaram que a fração do cobre avaliada como Chelex-lábil foi de somente 27 % do cobre dissolvido total.

O trabalho apresentado aqui e aqueles da literatura demonstram as potencialidades da resina Chelex-100 em realizar especiação química em águas naturais, e também demonstram a necessidade de se submeter estas amostras a um tratamento prévio, com o objetivo de tornar operacionalmente lábil o metal que está mais fortemente complexado com a matéria orgânica.

Nas seções que seguem, a voltametria de redissolução catódica será utilizada no estudo da especiação do cobre em diversos ambientes aquáticos da Ilha de Santa Catarina.

3.2 Estudo por voltametria

3.2.1 Faixa dinâmica linear de trabalho e limite de detecção

A faixa linear do sistema voltamétrico (Figura 3.4) foi determinada utilizando 10 mL de água ultra-pura contendo $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão borato e $20 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de oxina. Para evitar a adição de altas concentrações de cobre na célula voltamétrica, o que poderia contaminar o sistema, optou-se por adicionar apenas 10 nmol L^{-1} do metal e aumentar progressivamente o tempo de pré-concentração até que os valores de corrente não apresentassem um comportamento linear, o que aconteceu em 79 nA. Os valores de corrente obtidos para cada tempo de pré-concentração apresentados na Figura 3.4 são médias de duas determinações. Mesmo realizando uma varredura com um tempo de deposição igual a zero será medida uma corrente catódica devido a rápida formação do filme de mercúrio na superfície do eletrodo e da baixa velocidade de varredura, por isso, se extrapolarmos a curva da Figura 3.4 para um tempo igual a zero minuto a corrente será de aproximadamente 7,0 nA.

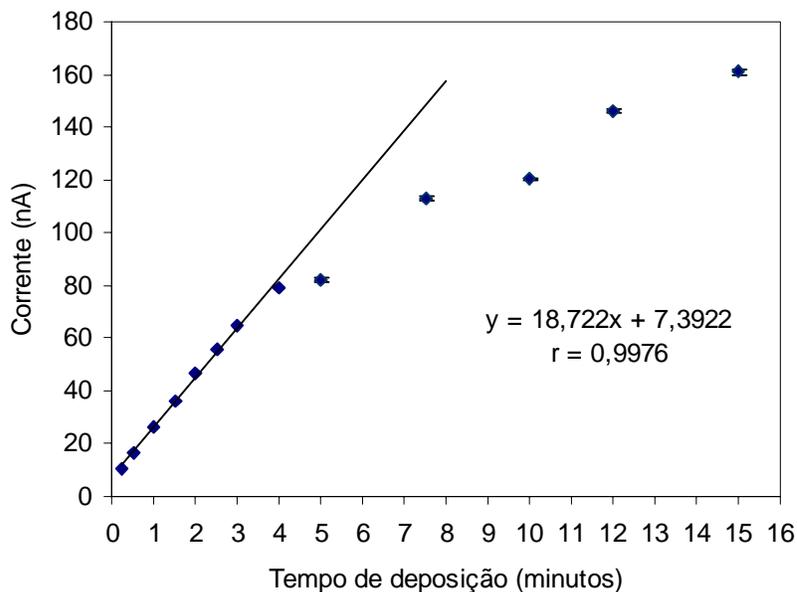


Figura 3.4: Efeito da variação do tempo de pré-concentração sobre a corrente de pico catódica para uma solução contendo 10 nmol L^{-1} de cobre, $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão borato e $20 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de oxina. A reta foi obtida através da regressão linear dos pontos de 0,25 a 4,0 minutos (ou dos 8 primeiros pontos).

Para o cálculo do limite de detecção foi utilizada água ultra-pura contendo $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão borato e $20 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de oxina. Este foi calculado como sendo 3 vezes o desvio padrão de uma média de 10 varreduras (corrente = $5,91 \pm 0,42 \text{ nA}$) e dividindo pela sensibilidade ($6,95 \text{ nA/nmol L}^{-1}$) que foi obtida após adições de padrão. O valor da concentração de cobre encontrado foi de $0,18 \text{ nmol L}^{-1}$ para um tempo de deposição de 120 segundos. Este valor já é considerado suficientemente baixo para o desenvolvimento do trabalho aqui proposto, porém, aumentando o tempo de deposição de modo a aumentar a sensibilidade, o limite de detecção pode baixar ainda mais. A concentração de cobre encontrada, após as adições de padrão no branco utilizado para o cálculo do limite de detecção foi de $0,9 \text{ nmol L}^{-1}$. van den Berg (1986) calculou um limite de detecção para Cu-ox, em uma amostra de água do mar contendo $6,0 \text{ nmol L}^{-1}$ de cobre, igual a $0,24 \text{ nmol L}^{-1}$. O autor utilizou 1 minuto de deposição em $-1,1 \text{ V}$, e segundo ele, este valor pode ser reduzido em até 10 vezes se o tempo de deposição for aumentado para 10 minutos. Os

limites de detecção avaliados para Cu-SA (Campos e van den Berg; 1994) e para Cd-ox (van den Berg; 1986), em amostras naturais de água do mar, foram iguais a 0,1 e 0,12 nmol L⁻¹, respectivamente. Estes valores foram calculados utilizando 1 minuto de deposição em - 1,1 V.

3.2.2 Avaliação dos brancos de campo e de reagentes para o estudo da especiação do cobre por voltametria

No estudo de metais traços é de fundamental importância que os valores dos brancos estejam em níveis aceitáveis, pois isto significa que a contaminação das amostras durante a manipulação (coleta, filtragem e estocagem), e após a adição dos reagentes estão sob controle. Durante este trabalho os valores de branco de reagentes foram avaliados periodicamente (Tabela 3.5) para garantir que tanto o procedimento analítico como os reagentes utilizados não estavam contribuindo significativamente para a contaminação das amostras.

Tabela 3.5: Valores de branco de reagentes para cobre e obtidos nas avaliações periódicas realizadas durante o estudo voltamétrico.

Reagentes (concentração em mol L ⁻¹)	[Cu] ± sd (nmol L ⁻¹)
Água ultra-pura + 0,01 borato + 25 x 10 ⁻⁶ SA	0,49 ± 0,19 (n=7)
Água ultra-pura + 0,01 borato + 20 x 10 ⁻⁶ oxina	0,54 ± 0,23 (n=8)
Água ultra-pura + 0,03 borato + 20 x 10 ⁻⁶ oxina	0,42
Água ultra-pura + 0,01 borato + 20 x 10 ⁻⁶ Oxina + 0,02 HCl + 0,02 NH ₃	0,78 ± 0,32 (n = 3)
Branco de campo	
Água ultra-pura + 0,01 borato + 25 x 10 ⁻⁶ SA	0,55
Simulação em embarcação	

Os valores médios dos brancos de reagentes obtidos (Tabela 3.5) para cobre utilizando o ligante SA ($0,49 \pm 0,19 \text{ nmol L}^{-1}$) ou oxina ($0,54 \pm 0,23 \text{ nmol L}^{-1}$) foram bastante satisfatórios, visto que estes valores são apenas cerca de três vezes o limite de detecção, e considerando que todo o procedimento foi realizado em um laboratório comum, sem mesmo uma bancada de fluxo laminar. Para verificar a eficiência do processo de destilação do ácido e da base, foram realizados brancos em água ultra-pura contendo $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de oxina, $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão borato, $0,016 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl e $0,016 \text{ mol L}^{-1}$ NH_4OH purificados. O valor médio encontrado para estes brancos de ácido e base não foi significativamente diferente (teste t; $p = 0,05$) daqueles contendo somente ligante e tampão borato, indicando que o sistema utilizado para purificação de reagentes foi bastante eficiente.

Com o objetivo de identificar se a origem dos valores obtidos nos brancos de reagentes era proveniente do tampão borato, foi feito um branco contendo três vezes a concentração usual do tampão ($0,03 \text{ mol L}^{-1}$). O valor de cobre encontrado ($0,42 \text{ nmol L}^{-1}$) não foi significativamente diferente (teste t; $p = 0,05$) daquele contendo somente $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de borato. Isto indica que as concentrações de cobre encontradas nos brancos não devem ser oriundas dos reagentes, mas provavelmente do processo de análise, e da água ultra-pura que será substituída pela amostra.

O branco de campo consiste em um procedimento necessário para avaliar se houve algum tipo de contaminação durante o procedimento de coleta da amostra ou transporte. No trabalho de campo, entre as coletas, um frasco contendo água ultra-pura foi manipulado e o seu conteúdo transferido para outro frasco como se fosse uma amostra. No retorno ao laboratório este material foi armazenado e subsequentemente avaliado da mesma forma que as amostras naturais, fornecendo um valor para cobre dentro dos valores de branco de reagentes obtidos.

Foram também realizadas determinações de branco de reagentes para cádmio e chumbo em uma solução de água ultra-pura com $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão borato e $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ de oxina. No caso da determinação de cádmio, o voltamograma fornecia somente a linha base, porém, após a adição de $0,4 \text{ nmol}$

L⁻¹ deste metal foi possível observar um pico bem definido. Para o chumbo, a concentração do branco foi de 0,40 nmol L⁻¹, o que é também bastante satisfatório.

3.2.3 Análise do material certificado

Com o objetivo de verificar a exatidão e precisão do procedimento analítico, bem como se o mesmo estava livre de contaminação, foi analisada uma amostra de água do mar certificada CRM 403. Uma alíquota deste material foi submetida a 4 horas de intensa radiação UV, neutralizada com NH₄OH destilado e avaliada para cobre utilizando 25 x 10⁻⁶ mol L⁻¹ de SA e 0,01 mol L⁻¹ de tampão borato. Os voltamogramas, bem como a curva de adição de analito para uma das alíquotas estão representados na Figura 3.5. O valor médio obtido para cobre foi de 4,17 ± 0,85 nmol L⁻¹ (n=3) que não difere significativamente (teste t; p = 0,05) do valor certificado (4,00 ± 0,38 nmol L⁻¹), indicando a boa exatidão, precisão e eficiência do controle da contaminação.

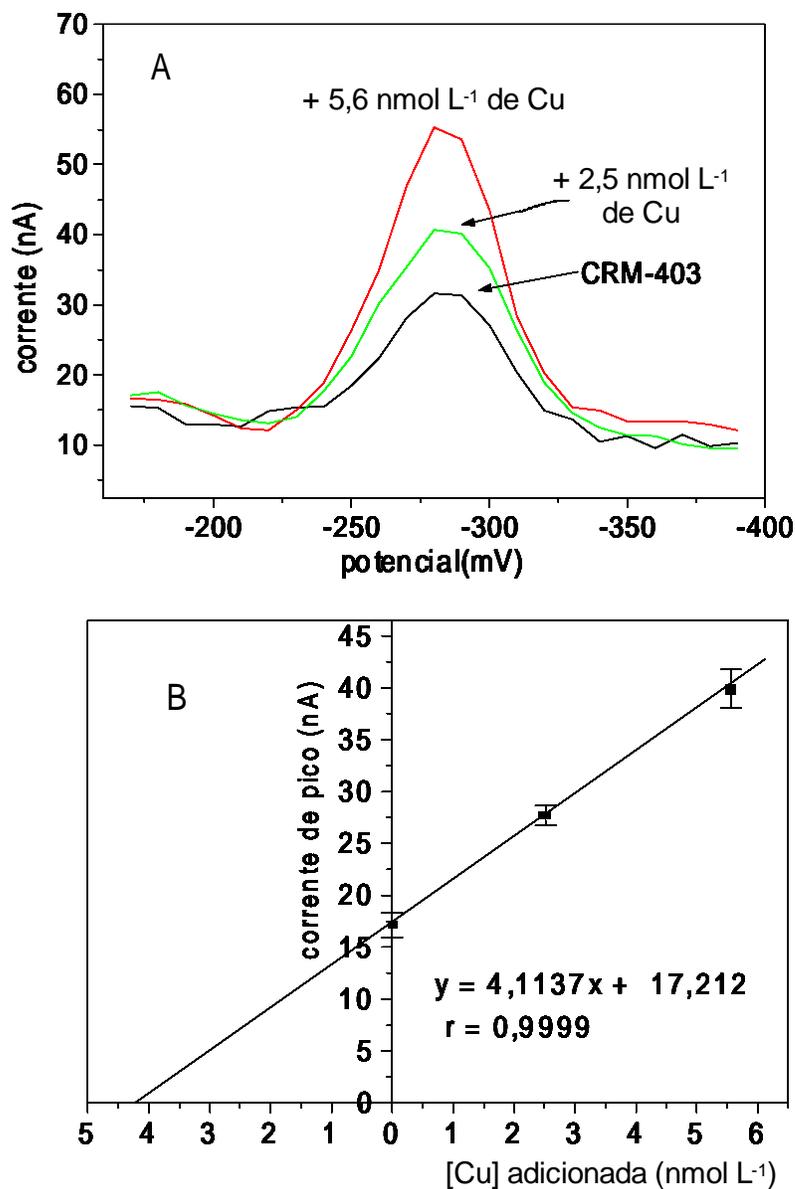


Figura 3.5: Voltamogramas (A) e curva de adição de analito (B) obtidos para uma das replicatas realizadas com o material certificado CRM 403 após 4 horas de intensa irradiação com luz UV, neutralização com NH_4OH destilado e adição de $25 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ de SA e $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de tampão borato. A prolongação da reta no gráfico B, obtida através da regressão linear permite a determinação da concentração de cobre na amostra.

3.2.4 Especiação química do cobre na Lagoa da Conceição

Como já foi citado anteriormente, a biodisponibilidade, toxicidade e mobilidade de um metal são fortemente dependentes da forma físico-química em que este se encontra no ambiente, conseqüentemente, medidas da sua concentração total não fornecem informações muito valiosas sobre a sua toxicidade (Vasconcelos, 1997; Sekaly *et al.*, 1999; Allen e Hansen, 1996; Florence e Batley, 1980). Portanto, é muito importante avaliar a especiação química, ou seja, as diversas espécies químicas de um metal que estão presentes no ambiente para assim poder avaliar a sua toxicidade. Nesta etapa do trabalho estudou-se a forma química do elemento cobre em amostras de água da Lagoa da Conceição, da Lagoa do Peri e do rio João Gualberto dividindo as mesmas em até três frações como descrito na seção 2.8.

Em uma fração analisou-se o cobre lábil que corresponde à fração mais bio-disponível, ou seja, aquele que está na forma livre, ou ligado a compostos inorgânicos como CO_3^{2-} , Cl^- , SO_4^{2-} e complexos orgânicos naturais com constante de estabilidade relativamente baixa. Em outra fração, avaliou-se o cobre dissolvido total, ou seja, o metal lábil mais o metal complexado por ligantes orgânicos com constante de estabilidade relativamente alta. Na terceira fração foi avaliada a concentração de cobre dissolvido total mais a fração lixiviável do material particulado. A seguir serão discutidos os resultados da especiação química para o cobre nas águas da Lagoa da Conceição.

Como as análises foram realizadas tipicamente em duplicata, o desvio padrão de cada amostra não poderia ser calculado com base estatística. Desta forma, optou-se por representar um desvio padrão de 20 % para todas as amostras, baseado nos valores do desvio padrão obtidos nas análises do material certificado (Figura 3.5).

Na maioria das estações, tanto para a coleta realizada no mês de dezembro de 1998 como em fevereiro de 1999, a concentração de cobre eletroquimicamente lábil foi menor do que a concentração de cobre dissolvido total, sendo que, a percentagem deste metal complexado com a matéria orgânica esteve entre 15 e 75 % da concentração total, diminuindo assim

significativamente a sua toxicidade, e reforçando a importância de se avaliar a especiação.

As faixas de concentrações para as diversas espécies de cobre em dezembro de 1998 foram: cobre lábil de 1,7 a 11,2 nmol L⁻¹, cobre dissolvido total de 3,0 a 23,3 nmol L⁻¹ e cobre dissolvido mais particulado lixiviável de 3,7 a 25,7 nmol L⁻¹ (Figura 3.6). Com exceção da estação da Marina, a concentração de cobre dissolvido total no interior da lagoa foi bastante homogênea. Não foi possível observar uma diferença significativa entre a concentração média ($7,6 \pm 1,4$ nmol L⁻¹) encontrada nas estações Centro (15) e Sul (13), (onde é de conhecimento comum a existência de lançamentos de esgoto de casas e restaurantes diretamente na lagoa), do valor médio ($6,8 \pm 1,1$ nmol L⁻¹) obtido para as estações Norte (17) e Moreira (18), onde a influência antrópica é menor.

Na coleta do mês de fevereiro de 1999 as concentrações de cobre lábil estiveram entre 2,9 e 5,3 nmol L⁻¹, para cobre dissolvido total foram obtidos valores entre 4,1 e 8,4 nmol L⁻¹ e para a fração referente ao cobre dissolvido total mais cobre particulado lixiviável foram obtidos valores entre 3,5 e 8,0 nmol L⁻¹. Nesta amostragem também não foi possível verificar uma diferença significativa entre a concentração média ($6,6 \pm 1,5$ nmol L⁻¹) de cobre dissolvido total na região das estações Sul (13), Marina (14) e Centro (15) e o valor médio ($6,4 \pm 0,2$ nmol L⁻¹) para as estações Norte e Moreira, onde o ambiente é menos impactado.

Na estação Marina, em fevereiro, houve um decréscimo na concentração de cobre dissolvido total com relação ao mês de dezembro. No trabalho de conclusão de curso, Bendo (1999) mostrou que a concentração de clorofila-a, que em dezembro foi de 0,5 µg L⁻¹ aumentou cerca de dez vezes em fevereiro, indicando que o desenvolvimento da comunidade fitoplanctônica da região em dezembro poderia estar sendo prejudicada devido a concentração relativamente elevada de cobre naquelas águas. Se todo o cobre dissolvido na Lagoa tivesse origem no esgoto doméstico, então poderíamos esperar uma maior concentração de nitrato dissolvido nas águas da estação Marina no mês de dezembro. Porém, isto não aconteceu. A concentração de nitrato em dezembro

($0,6 \mu\text{mol L}^{-1}$) foi similar a de fevereiro ($0,8 \mu\text{mol L}^{-1}$), o que indica a possibilidade de outras fontes de cobre para a Lagoa (Bendo, 1999). No caso da região da Marina, o cobre pode também ser oriundo de tintas anti-incrustante que são utilizadas para pintar os cascos dos barcos. Especula-se que em fevereiro o número de barcos aportados na Marina tende a diminuir porque os mesmos são removidos para as praias e outras regiões, reforçando a hipótese de que o fluxo destas embarcações estaria influenciando na concentração do metal na região.

A concentração média de cobre dissolvido total no interior da Lagoa da Conceição foi de $7,0 \pm 1,3 \text{ nmol L}^{-1}$ ($n = 10$), excluindo a coleta realizada na estação Marina em dezembro de 1998, e em fevereiro (incluindo todas as estações), a média foi de $6,5 \pm 1,1 \text{ nmol L}^{-1}$ ($n = 12$). O teste t ($p = 0,05$) realizado indica que as médias das concentrações de cobre dissolvido total, no interior da lagoa, para as coletas de dezembro, época de baixa temporada, e fevereiro, quando o fluxo de turistas aumenta consideravelmente, não são significativamente diferentes. Visto que a concentração de cobre no interior da lagoa foi maior do que na estação Barra da Lagoa ($2,8 \text{ nmol L}^{-1}$), isto indica que esta atua como um exportador de cobre para o oceano.

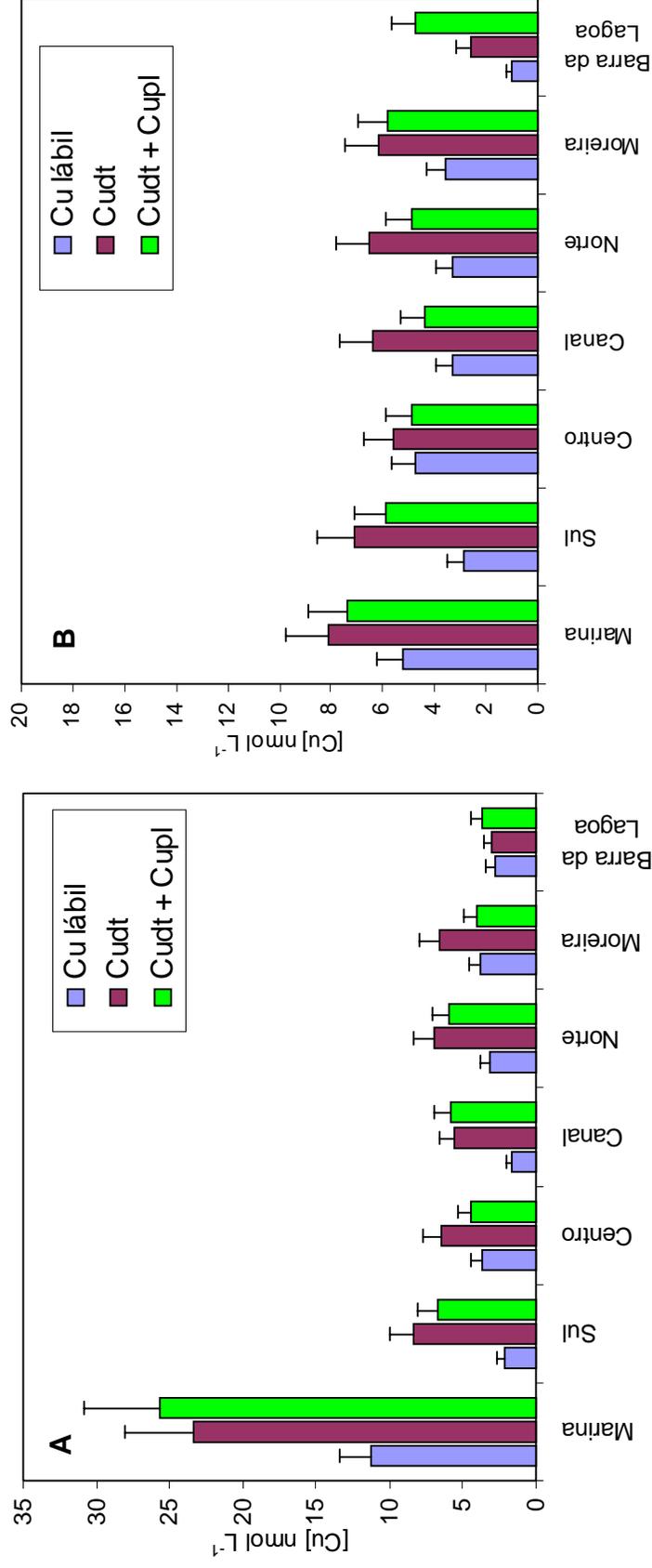


Figura 3.6: Concentrações de cobre lábil, cobre dissolvido total (Cudt) e cobre dissolvido total mais o cobre particulado lixiviável (Cudt + Cupl) obtidas nas águas da Lagoa da Conceição e na estação Barra da Lagoa (11) nas coletas dos dias 18 de dezembro de 1998 (A) e 19 de fevereiro de 1999 (B). As concentrações foram avaliadas por voltametria de redissolução catódica, como descrito no item 2.8.

Não foi possível observar uma diferença significativa (teste t; $p = 0,05$) entre as concentrações de metal dissolvido total e metal dissolvido total mais lixiviável nas amostragens realizadas na Lagoa da Conceição que possui em média $7,2 \pm 2,8 \text{ mg L}^{-1}$ ($n = 11$) de material particulado e $2,4 \pm 1,6 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ($n = 12$) de clorofila-a (Bendo, 1999). Em uma coleta realizada na Lagoa do Peri (10) realizada em 23 de fevereiro de 1999, foi observado que 37 % do cobre na amostra avaliada se encontrou na forma particulada (Figura 3.7). Esta amostra da Lagoa do Peri apresentou uma concentração de material particulado ($4,6 \text{ mg L}^{-1}$) menor que a Lagoa da Conceição, porém uma concentração de clorofila-a relativamente elevada ($22 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$), isto é aproximadamente 9 vezes maior que a média encontrada na Lagoa da Conceição (Bendo, 1999). Portanto, a diferença encontrada na concentração de cobre lixiviável pode ser proveniente dos organismos clorofilados.

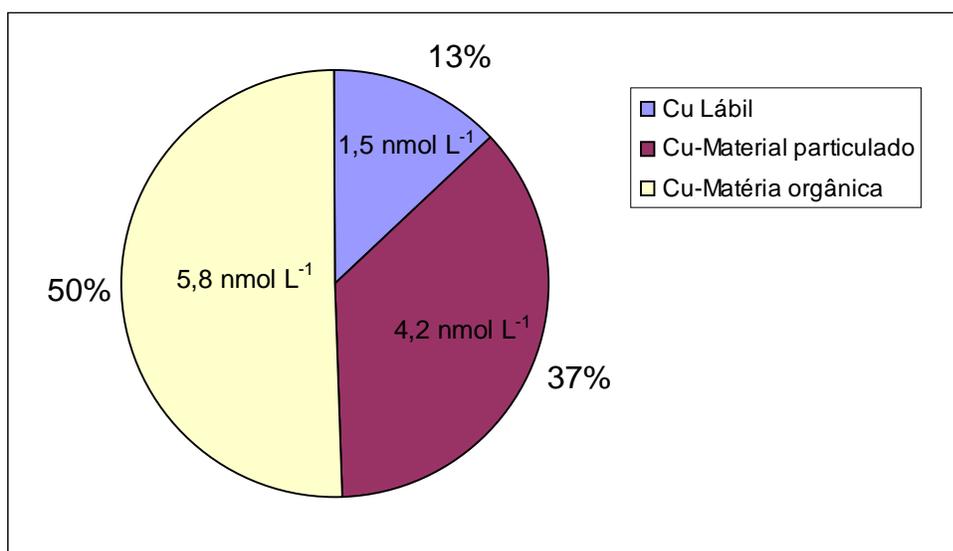


Figura 3.7: Especiação química do cobre realizada nas águas da Lagoa do Peri.

3.2.5 Especificação química do cobre e concentração de cádmio ao redor da Ilha de Santa Catarina

A Tabela 3.6 mostra a concentração de cobre e cádmio dissolvido total para todas as estações de coleta, sendo que para a Lagoa da Conceição foi colocada a média de todas as estações para as duas coletas (excluindo a estação marina em dezembro). As concentrações de cobre variaram de 2,8 a 13,2 nmol L⁻¹ enquanto as de cádmio, de 0,6 a 1,8 nmol L⁻¹. É interessante notar como em ambientes tão distintos entre si as concentrações de cobre e cádmio foram relativamente semelhantes. Os ambientes variaram de água doce como a Lagoa do Peri (10), até águas marinhas de salinidade 35, de ambientes considerados menos impactados, como por exemplo a Barra da Lagoa (11), a ~200 m da costa, até muito impactados como o Saco dos Limões (7), ou na região da Ponte Hercílio Luz (5).

A fração do cobre complexado pela matéria orgânica esteve entre 16 % e 94 %, sendo esta percentagem um pouco mais elevada que aquela encontrada para a Lagoa da Conceição. A elevada fração de cobre complexado pela matéria orgânica indica mais uma vez, que a toxicidade deste metal deve estar significativamente reduzida.

Os valores encontrados para cádmio estiveram entre 0,6 e 1,8 nmol L⁻¹ e não apresentaram uma diferença significativa (teste t; p = 0,05) entre as regiões de coleta que são consideradas aqui como menos impactadas (estações Daniela (1), Ribeirão da Ilha (8), Pântano do Sul (9), Costão do Santinho (12), Barra da Lagoa (11), e Rio Ratonés (20)), daquelas que sofrem uma maior influência antrópica (estações Santo Antônio de Lisboa (2), Cacupé (3), Ponta do Lessa (4), Ponte Hercílio Luz (5), Ponta José Mendes (6) e Saco dos Limões (7)).

Tabela 3.6: Concentrações de cobre dissolvido total (Cudt), cobre lábil e cádmio dissolvido total (Cddt), avaliadas na região da Ilha de Santa Catarina no período de 18 de dezembro de 1998 a 18 de junho de 2001. Para a Lagoa da Conceição foi representada a média de todas as estações, com exceção da amostragem na região da Marina realizada em 18 de dezembro de 1998.

Seção	Estação	Cu lábil	Cudt (nmol L ⁻¹)	Cddt (nmol L ⁻¹)
Baía Norte	Daniela (1)	2,4	10,0	1,4
	Santo Antônio (2)	2,2	6,4	0,6
	Cacupé (3)	5,2	11,8	1,4
Centro	Ponta do Lessa (4)	nd	5,1	1,5
	Ponte Hercílio Luz (5)	1,0	10,3	1,6
	Ponta José Mendes (6)	5,8	6,9	1,7
Baía Sul	Saco dos Limões (7)	0,8	13,2	1,5
	Ribeirão da Ilha (8)	6,7	11,0	1,7
Mar aberto	Pântano do Sul (9)	1,0	8,0	1,1
	Barra da Lagoa (11)	1,0	2,8	1,3
	Costão do Santinho (12)	0,7	4,8	1,8
Lagoas	Lagoa da Conceição (13 – 18)	3,6 ± 1,0 (n = 14)	6,8 ± 1,2 (n=22)	0,8 (estação 17)
	Lagoa do Peri (10)	1,5	7,3	0,7
Rio	Rio João Gualberto (19)	1,3	3,0	não avaliado
	Ratones (20)	não avaliado	4,0 ± 1,4 (n = 7)	não avaliado

A concentração média de cobre dissolvido total encontrada nas estações consideradas aqui pouco povoadas como, Daniela (1), Ribeirão da Ilha (8), Pântano do Sul (9), Costão do Santinho (12), Barra da Lagoa (11) e Rio Ratones (20) foi de $6,7 \pm 3,4$ nmol L⁻¹, sendo que esta não é significativamente diferente (teste t; p = 0,05) do valor médio encontrado nas estações Santo Antônio de Lisboa (2), Cacupé (3), Ponta do Lessa (4), Ponte Hercílio Luz (5), Ponta José Mendes (6) e Saco dos Limões (7) ($9,0 \pm 3,3$ nmol L⁻¹), que são regiões mais

densamente habitadas. Isto sugere que os aportes de cobre, que permanece na forma dissolvida nessas regiões, são similares, ou indica que os processos de remoção estão sendo controlados por mecanismos similares, ou ainda, pode estar havendo uma rápida homogeneização das águas superficiais ao redor da Ilha, o que é menos provável.

A concentração de cobre dissolvido total média ($7,4 \pm 3,2 \text{ nmol L}^{-1}$, $n = 55$) encontrada em todas as estações de coleta foram comparadas com àquelas encontradas em ambientes aquáticos com características similares aos ambientes aqui estudados (Tabela 3.7). As águas de regiões como Baía Sul de São Francisco (EUA) e no Sul da Espanha apresentaram maiores concentrações de cobre dissolvido total que nos ambientes aqui estudados. No entanto, para as demais regiões como a Lagoa de Jacarepaguá (Rio de Janeiro), Oporto (Portugal), Golfo de Papua e Estreito de Torres (Nova Guiné), Sul da Inglaterra e nas águas costeiras da Espanha as concentrações de cobre dissolvido total obtidas foram bastante similares àquelas reportadas para a região da Ilha de Santa Catarina, o que demonstra a diversidade da contaminação por cobre em diversas partes do mundo.

Com relação ao cádmio dissolvido total, o valor médio ($1,3 \pm 0,4 \text{ nmol L}^{-1}$) encontrado na região da Ilha de Santa Catarina é semelhante aqueles encontrados em Oporto (Portugal) e no Sul da Espanha, porém foram superiores aqueles obtidos na região do Golfo de Papua e Estreito de Torres.

Os valores relativamente baixos para cobre dissolvido total encontrados na região central da Ilha de Santa Catarina talvez possam ser justificados pela precipitação do metal solúvel ou coloidal presentes em efluentes de águas doces uma vez em contato com a água salina. Uma fração dos metais traços dissolvidos em águas doces existem como colóides em associações com formas coloidais de ácidos húmicos e óxido de ferro hidratado. Quando ocorre a mistura entre águas fluviais (ou no neste caso, águas de efluentes) e marinhas, estes colóides acabam floculando e podem transportar para o sedimento, o metal que estava presente na forma dissolvida.

Tabela 3.7: Comparação dos valores de cobre (Cudt) e cádmio dissolvido total (Cddt) encontrados na região da Ilha de Santa Catarina com os de outras partes do Brasil e do mundo.

Região	Cudt (nmol L ⁻¹)	Cddt (nmol L ⁻¹)	Referência
Golfo de Papua e Estreito de Torres (Nova Guiné)	3,2 e 9,6	0,02 - 0,3	Apte e Day, 1998
Sul da Inglaterra (águas costeiras)	4,7 e 7,0		Muller, 1996
Espanha (águas costeiras)	6,6		van Geen <i>et al.</i> , 1993
Jacarepaguá (Rio de Janeiro)	14,8 ± 7		Fernandes <i>et al.</i> , 1994
Baia Sul (São Francisco – EUA)	47		Donat <i>et al.</i> , 1994
Oporto (Portugal)	6,9 – 16,7	0,5 – 5,7	Vasconcelos e Leal, 1997
Sul da Espanha	34	2,9	Achterberg <i>et al.</i> , 1999
Região de Florianópolis	2,8 – 13,2 23,3 (Marina, 1998)	0,6 – 1,8	Este estudo

A mistura entre águas fluviais e marinhas resultam em ambientes complexos que possuem fortes gradientes físico-químicos atuando como filtros que controlam o material particulado e dissolvido que flui através desta zona de mistura. Os processos que estão envolvidos na adição ou remoção dos componentes na zona de mistura entre águas doces e marinhas são os seguintes:

a) Floculação, adsorção, precipitação e consumo por organismos biológicos, que resultam na remoção dos componentes da fase dissolvida e os transfere para a fase particulada.

- b) Dessorção da superfície particulada e a morte de orgânicos resultam na adição de componentes para a fase dissolvida.
- c) Complexação com ligantes orgânicos e inorgânicos que estabilizam os componentes na fase dissolvida.

Silva e colaboradores (1996), avaliaram a concentração de metais no sedimento de superfície da Baía Sul e observaram que as concentrações de Pb, As e Sn estavam acima da composição média elementar do sedimento da Terra, sugerindo que a região está sobre uma significativa influência antrópica, e também sugerindo que deve haver uma forte precipitação do metal que é aportado na forma dissolvida. Por outro lado não foi observado um enriquecimento do sedimento da Baía Sul para cobre, sendo que a concentração deste metal no sedimento desta região ($25,25 \mu\text{g g}^{-1}$) foi inclusive menor do que aquela encontrada nas lagoas da Conceição ($32,96 \mu\text{g g}^{-1}$) e do Perí ($36,52 \mu\text{g g}^{-1}$), isto pode significar que baixas concentrações deste metal estão sendo aportadas na região central da Ilha de Santa Catarina.

Todas as concentrações de cobre ($2,8 - 23,3 \text{ nmol L}^{-1}$) e cádmio ($0,6 - 1,8 \text{ nmol L}^{-1}$) dissolvido total avaliadas na região da Ilha de Santa Catarina foram expressivamente inferiores aos valores máximos tolerados pela resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente nº 20 de 1986. Esta resolução cita que a concentração de cobre e cádmio, em águas salinas de classe 5 ou 6, devem ser no máximo 787 e $44,6 \text{ nmol L}^{-1}$ respectivamente. Portanto, com relação aos metais cobre e cádmio, as águas da região avaliada podem ser destinadas à recreação de contato primário, proteção das comunidades aquáticas e criação de espécies destinadas a alimentação humana (águas classe 5) ou à navegação comercial, harmonia paisagística e usos menos exigentes (águas classe 6).

Apesar de terem sido encontradas concentrações de cobre relativamente baixas nas regiões de cultivo de ostras e mexilhões em Santo Antônio de Lisboa (2) e Ribeirão da Ilha (8), estes locais devem receber atenção especial, visto que tais organismos aquáticos tendem a acumular metais pesados em seus tecidos. Como já foi mencionado, animais filtradores são capazes de filtrar vários litros de água por hora, podendo concentrar contaminantes em seus tecidos, até 10^5 com relação a água do mar (Widdows and Donkin, 1992).

Segundo Hall e Anderson (1999) apenas 19 nmol L^{-1} de cobre dissolvido total são suficientes para causar toxicidade aguda em organismos bivalves como ostras e mexilhões, indicando a necessidade da criação de novas classes de águas pela legislação brasileira.

Caso a fração tóxica de um metal presente em um ambiente aquático seja suficiente para comprometer o desenvolvimento da comunidade planctônica, os demais organismos que dependem dela para seu desenvolvimento podem ficar seriamente comprometidos devido os efeitos bioacumulativos do metal.

3.2.6 Aporte de cobre para a Lagoa da Conceição pelo Rio João Gualberto

Como descrito no item 2.12 os valores de vazão do rio João Gualberto calculados em 08 de junho de 2000 (maré vazante, regime de seca na região e ventos Norte), 08 de março de 2001 (maré de sigízia com ventos Sul-Sudoeste) e em 22 de fevereiro de 2002 (época de chuvas na região) foram iguais a $2,28$, $0,97$ e $1,45 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ respectivamente.

De acordo com os dados obtidos neste trabalho a vazão do rio pode, eventualmente, ser significativamente controlada pelo regime de maré, pois, como podemos observar quando a lagoa estava sob influência de maré vazante a vazão do rio ($2,28 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$) foi bem superior aquela avaliada em condições de maré de sigízia ($0,97 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$). Por outro lado os regimes de chuvas parecem não influenciar na vazão do rio, pois, em época de seca o rio apresentou uma vazão de $2,28 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ que, ao contrário do que seria de se esperar, foi superior aquela avaliada em época de cheia ($1,45 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$). Um motivo pelo qual a vazão do rio foi significativamente elevada na coleta de junho de 2000 ($2,28 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$) é o fato de que a medida da corrente realizada em $0,1 \text{ m}$ pode ter tido a influência dos ventos (Norte) que na época sopravam no mesmo sentido da corrente.

Como foram realizadas poucas medidas da vazão, o cálculo do aporte anual de cobre para a lagoa foi feito com todos os valores de corrente calculados variando de $0,97$ a $2,28 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$.

Considerando que a concentração de cobre dissolvido total nas águas do Rio João Gualberto (estação 19) foi de $3,0 \text{ nmol L}^{-1}$ e que a vazão do mesmo foi de $2,28 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, temos que o aporte deste metal para a lagoa foi de aproximadamente $13,7 \text{ kg ano}^{-1}$. Este aporte anual de cobre para a Lagoa da Conceição pelo seu principal efluente é muito similar ao aporte atmosférico anual de cobre pelas chuvas ($11,5 \text{ kg ano}^{-1}$) estimado por Viel (2000). No entanto, se considerarmos o outro extremo de nossas medidas, onde a vazão do rio foi de $0,97 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ (época de maré de sizígia) o aporte deste metal diminuiu para $5,8 \text{ kg ano}^{-1}$. O aporte de cobre pelo Rio João Gualberto para a Lagoa da Conceição foi muito inferior aos aportes avaliados nos rios Orwell (309 kg ano^{-1}), Stour (251 kg ano^{-1}), Colne (156 kg ano^{-1}) e Blackwater (355 kg ano^{-1}) para a região costeira do sul da Inglaterra (Matthiessen *et al.*, 1999).

CAPITULO 4: CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

As baixas concentrações de cobre e cádmio nos brancos de reagentes neste trabalho demonstraram que é possível realizar em um laboratório comum, e com reagentes de grau PA purificados com métodos de baixo custo, estudos de especiação química de metais no nível de traço. A análise de cobre em uma amostra de água do mar certificada comprovou a boa exatidão do método e que a contaminação foi mantida sob controle. A grande diferença observada nas concentrações de cobre dissolvido nas amostras naturais, antes e após a irradiação com ultravioleta, demonstraram a boa eficiência do reator caseiro utilizado neste trabalho.

O sistema de colunas Chelex-100 para avaliação de cobre com controle de fluxo gravitacional é atrativo por ser de baixo custo e bastante simples de ser construído. No entanto, este sistema apresentou limitações como baixa exatidão, precisão e baixo fator de enriquecimento, que aliadas às dificuldades operacionais, como a dificuldade do controle do fluxo e problemas com entupimento das colunas tornaram inviável a aplicação deste sistema para o estudo proposto neste trabalho. A substituição do HCl por HNO₃ como eluente e a utilização de uma bomba peristáltica para melhor controlar o fluxo gravitacional gerou um sistema mais exato (recuperações médias entre 98,8 e 100,6 %), e mais preciso ($\pm 0,6$ %). Foi possível reduzir a massa da resina para 300 mg, o que resultou em um aumento no fator de enriquecimento. O sistema com bomba peristáltica mostrou-se mais eficiente e mais prático que aquele controlado por fluxo gravitacional. Os problemas com o entupimento das colunas foram solucionados, além de proporcionar menor risco de contaminação devido à redução da manipulação das amostras.

Parte dos complexos Cu-EDTA e Cu-AH não foram trocados pela resina Chelex-100, indicando as potencialidades da resina no estudo da especiação. No caso das várias soluções de Cu-AH, as frações referentes ao cobre Chelex-lável aumentaram com o aumento de razão Cu/AH, indicando que o excesso de cobre nestas soluções deve ter contribuído para ocupação de sítios de ligação mais fracos, e portanto mais lábeis. Para a solução contendo Cu-EDTA (1:1), 56 % do metal presente apresentou-se na forma lábil. Neste caso, o pH

relativamente baixo da solução (5,2) deve ter contribuído para que a fração de cobre lábil fosse relativamente alta. Os testes realizados com cobre e ligantes comerciais, reconhecidos pela formação de complexos de altas constantes de estabilidade, indicaram a possibilidade da utilização da resina Chelex-100 para avaliação da especiação química do cobre em águas naturais.

As concentrações de cobre dissolvido total (após irradiação da amostra) nas águas da Lagoa do Peri utilizando resina Chelex-100/espectrometria e voltametria de redissolução catódica não foram estaticamente diferentes. Visto que o método voltamétrico demonstrou boa exatidão, pode-se inferir que o sistema otimizado com a resina Chelex-100 também pode fornecer resultados exatos. As concentrações de cobre lábil (Chelex-lábil e eletroquimicamente lábil) em amostras de água doce e água do mar, obtidas utilizando a resina Chelex-100 e a voltametria de redissolução catódica, não foram significativamente distintas, indicando que estes dois métodos fornecem resultados equivalentes da especiação química do cobre em amostras naturais. Portanto, este estudo preliminar evidencia que a definição operacional de cobre lábil por ambos os métodos aqui testados não são complementares, mas sim, equivalentes.

Dada a presença de fortes complexos entre o metal e a matéria orgânica natural, que não são retidos pela resina Chelex-100, torna-se evidente a importância de submeter as amostras naturais a um processo oxidativo antes de se avaliar a concentração total do metal dissolvido na amostra. No caso da amostra da Lagoa do Peri, por exemplo, se esta não tivesse sido submetida à radiação ultravioleta, a concentração de cobre dissolvido poderia estar sendo subestimada em até 73 %.

O estudo da especiação química do cobre nas águas superficiais da região da Ilha de Santa Catarina foi realizado utilizando a voltametria de redissolução catódica. Para todas as amostras analisadas na Lagoa da Conceição as concentrações de cobre lábil foram inferiores às concentrações de cobre dissolvido total, sendo que a percentagem do cobre fortemente complexado pela matéria orgânica variou de 7 a 70 %. Estes resultados demonstram que a toxicidade do cobre para a biota pode ser atenuada pela presença da matéria orgânica e que sem um estudo de especiação, a toxicidade deste metal poderia ser superestimada. Portanto, este trabalho vem reafirmar a

necessidade de se realizar um estudo envolvendo a especiação química de metais para se poder aferir sobre a qualidade das águas.

Pelo método utilizado neste trabalho não foi possível lixiviar o metal cobre do material particulado presente na Lagoa da Conceição, mas somente na Lagoa do Peri. Essa diferença pode ser devido a concentração de clorofila-a cerca de 10 vezes maior na Lagoa do Peri.

Com exceção de uma estação localizada na região da marina, não foi observada uma diferença significativa nas concentrações médias de cobre dissolvido total avaliadas no interior da Lagoa da Conceição em dezembro de 1998 ($7,0 \pm 1,3 \text{ nmol L}^{-1}$, $n = 10$) e em fevereiro de 1999 ($6,5 \pm 1,1 \text{ nmol L}^{-1}$, $n = 12$), épocas que são consideradas de baixa e alta temporada respectivamente. Isto indica que o fluxo de turistas na região pode não estar influenciando no aporte deste metal na forma dissolvida para a Lagoa, ou pode estar ocorrendo um rápido transporte do metal cobre aportado na forma dissolvida para o sedimento da Lagoa na forma particulada. A concentração mais elevada de cobre dissolvido na região da marina sugere a importância do aporte de cobre pelas embarcações.

Apesar do número restrito de dados, as medidas de vazão realizadas neste trabalho abrangeram características extremas, o que permitiu estimar de forma relativamente satisfatória a variação da vazão anual do rio. Assim sendo, foi possível estimar que o aporte anual de cobre dissolvido pelo Rio João Gualberto para a Lagoa da Conceição variou de 5,8 a $13,7 \text{ kg ano}^{-1}$. Este limite superior é próximo ao aporte de cobre dissolvido de $11,5 \text{ kg ano}^{-1}$ para a Lagoa da Conceição pela água de chuva, estimado por Viel (2001).

As concentrações de cobre e cádmio dissolvido total encontradas na região da Ilha de Santa Catarina se aproximam, ou são até inferiores, daquelas encontradas em águas costeiras de outras partes também populosas do mundo e do Brasil. A concentração de cobre complexado com a matéria orgânica esteve entre 16 % (Ponta José Mendes, 6) e 94 % (Saco dos Limões, 7), indicando que também nesta região a toxicidade deste metal pode estar significativamente reduzida pela matéria orgânica natural. As faixas de concentração de cobre ($2,6 - 23,4 \text{ nmol L}^{-1}$) e cádmio ($0,6 - 1,8 \text{ nmol L}^{-1}$)

dissolvido total avaliadas foram relativamente estreitas, dada a grande diversidade dos ambientes onde foram realizadas as coletas. Isto pode indicar que talvez os processos de remoção de metais estão sendo controlados por mecanismos similares nas distintas regiões, ou menos provavelmente que os aportes destes metais são similares, ou ainda, que pode estar havendo uma rápida homogeneização do metal dissolvido nas águas superficiais. Se o principal mecanismo de remoção do cobre dissolvido é a sua adsorção e/ou precipitação, então é de se esperar que o sedimento da região esteja enriquecido com cobre, o que não foi observado no trabalho realizado por Silva e colaboradores (1996). Estes resultados demonstram a necessidade de um estudo mais detalhado, avaliando a concentração e especiação de metais no sedimento, material particulado em suspensão e nas águas em uma diversidade de pontos na região.

Apesar das concentrações de cobre dissolvido total em todas as estações de coleta, incluindo as estações de Santo Antônio de Lisboa ($6,4 \text{ nmol L}^{-1}$) e Ribeirão da Ilha ($11,0 \text{ nmol L}^{-1}$) estarem bem abaixo do máximo tolerado pela legislação (787 nmol L^{-1} , CONAMA), Hall e Anderson (1999) discutem que apenas 19 nmol L^{-1} de cobre pode causar efeitos deletérios em organismos como ostras e mexilhões. Isto demonstra a necessidade de um freqüente monitoramento da concentração de cobre nos locais de cultivo de mariscos visto que tais organismos são capazes de filtrar vários litros de água por hora e conseqüentemente podem concentrar até 10^5 vezes vários contaminantes em seus tecidos, com relação a água do mar (Widdows and Donkin, 1992).

REFERÊNCIAS

- Abollino, O., Aceto, M., Sarzanini e C., Mentasti, E., (2000). The retention of metal species by different solid sorbents mechanisms for heavy metal speciation by sequential three column uptake. *Analytica Chimica Acta*, 411: 223 – 237.
- Achterberg, E.P. e Braungardt, C., (1999). Stripping voltammetry for the determination of trace speciation and in-situ measurements of trace metal distributions in marine waters. *Analytica Chimica Acta*, 400: 381 – 397.
- Achterberg, E.P., Braungardt, C., Morley, N.H. e Elbaz-Poulichet, F., (1999). Impact of Los Frailes mine spill on riverine, estuarine and coastal waters in southern Spain. *Water Research*, 33 (16): 3387 – 3394.
- Allen, H.E. e Hansen, D.J., (1996). The importance of metal speciation to water quality criteria. *Water Environment Research*, 68 (1): 42 – 54.
- Alloway, B.J. e Ayres, D.C., (1993). Chemical principles of environmental pollution. Blackie Academic & Professional, London, p. 142 – 150.
- Apte, S.C. e Day, G.M., (1998). Dissolved metal concentrations in the Torres Strait and Gulf of Papua. *Marine Pollution Bulletin*, 36 (4): pp. 298 – 304.
- Azeredo, L.C. e Azeredo, M.A.A., (1996). Utilização da 8-hidroxiquinolina em técnicas de pré-concentração de íons metálicos em colunas. *Química Nova*, 19 (4): 383 – 387.
- Bendo, A., (1999). Especificação química do cobre e concentração de nutrientes na Lagoa da Conceição, Florianópolis, SC. Trabalho de conclusão de curso, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

- Blain, S., Appriou, P. e Handel, H., (1993). Preconcentration of trace metals from sea water with the chelating resin Chelamine. *Analytica Chimica Acta*, 272: 91 – 97.
- Bloxham, M.J., Hill, S.J., Worsfold, P.J., (1994). Determination of trace-metals in sea-water and the online removal of matrix interferences by flow-injection with inductively-coupled plasma-mass spectrometric. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 9 (9): 935-938.
- Brand, L. E., Sunda, W. G. e Guillard, R. R. L., (1986). Reduction of marine phytoplankton reproduction by copper and cadmium. *J. Exper. Mar. Biol. Ecol.*, 96: 225-250.
- Campos, M.L.A.M., Mello, L.C., Zanette, D.R., Sierra, M.M.S. e Bendo, A., (2001). Construção e otimização de um reator de baixo custo para fotodegradação da matéria orgânica em águas naturais e sua aplicação no estudo da especiação do cobre por voltametria. *Química Nova*, (24) 2: 257 - 261.
- Campos, M.L.A.M. e van den Berg, M.G., (1992). Determination of copper complexation in sea water by cathodic stripping voltammetry and ligand competition with salicylaldehyde. *Analytica Chimica Acta*, 284: 481 – 496.
- Carasek, E., (2000). A low-cost flame atomic absorption spectrometry method for determination of trace metals in aqueous samples. *Talanta*, 51: 173 – 178.
- Cheng, J., Chakrabarti, C.L., Back, M.H. e Schroeder, W.H., (1994). Chemical speciation of Cu, Zn, Pb, and Cd in rain water. *Analytica Chimica Acta*, 288: 141 – 156.
- Chester, R. (1990). *Marine Geochemistry*, Ed. Unwin Hyman , London.

- Crane, K., Galasso, J., Brown, C. e Cherkashov, G., (2001). Northern Ocean inventories of organochlorine and heavy metal. *Marine Pollution Bulletin*, 43: 28-60.
- Donat, J.R., Statham, P.J. e Bruland, K.W., (1986). An evaluation of a C-18 solid phase extraction technique for isolating metal-organic complexes from central north pacific ocean waters. *Marine Chemistry*, 18: 85 – 99.
- Donat, J.R., Lao, K.A. e Bruland, K.W., (1994). Speciation of dissolved copper and nickel in South San Francisco Bay: a multi-method approach. *Analytica Chimica Acta*, 284: 547 – 571.
- Ellis, L.A. e Roberts, D.J., (1998). Determination of copper, cadmium, manganese and lead in saline water with flow injection and atom trapping atomic absorption spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 13: 631 – 634.
- Eriksen, R.S., Mackey, D.J., van Dam, R. e Nowak, B., (2001). Copper speciation and toxicity in Macquarie Harbour, Tasmania: an investigation using a copper ion selective electrode. *Marine Chemistry*, 74: 99 – 113.
- Fernandes, H.M., Bidone, E.D., Veiga, L.H.S. e Patchineelam, S.R., (1994). Heavy-metal pollution assessment in the coastal lagoons of Jacarepagua, Rio-de-Janeiro, Brazil. *Environmental Pollution*, 85 (3): 259-264.
- Ferri, T. e Sangiorgio, P., (1996). Determination of selenium speciation in river waters by adsorption on iron (III)-Chelex-100 resin and differential pulse cathodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, 321: 185 – 193.
- Figura, P. e McDuffie, B., (1977). Characterization of the calcium form of chelex-100 for Trace Metal Studies. *Analytical Chemistry*, 49 (13): 1950 –1953.

- Figura, P. e McDuffie, B., (1980). Determination of labilities of soluble trace metal species in aqueous environmental samples by anodic stripping voltammetry and Chelex column and batch methods. *Anal. Chem.*, 52: 1443 – 1439.
- Florence, T.M. e Batley, G.E. (1980). *Chemical Speciation in Natural Waters*. CCR Critical Reviews in Analytical Chemistry, 9 (3): 219 – 296.
- Florence, T.M., Morrison, G.M. e Stauer, J.L., (1992). Determination of trace element speciation and the role of speciation in aquatic toxicity. *The Science of Total Environment*, 125: 1 – 13.
- Florence, T.M., (1989). Electrochemical techniques for trace element speciation in waters. In: *Trace element speciation: analytical methods and problems*, cap.4. (G.E. Batley ed), CRC Press, Nova York, p. 219 - 295.
- Guéguen, C., Belin, C., Thomas, B.A., Mnna, F., Favarger, P.-Y. e Dominik, J., (1999). The effect of freshwater UV-irradiation prior to resin preconcentration of trace metals. *Analytica Chimica Acta*, 386: 155 – 159.
- Hall JR, L.W. e Anderson, R.D., (1999). A deterministic ecological risk assessment for copper in European saltwater environments. *Marine Pollution Bulletin*, 38 (3): pp 207 – 218.
- Haraldsson, C., Lyvén, B., Pollak, M. e Skoog, A., (1993) Multi-element speciation of trace metals in fresh water adapted to plasma source mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 284: 327 – 335.
- Harrison, R.M., (1995). The chemistry of Pollutants in water. In: *Understanding our environment: an introductory to environmental and pollution*, 2nd ed, cap. 2 (D.R. Turner ed), Royal Society of Chemistry, Cambridge, p. 19 – 32.
- Kennish, M. J., (1996). *Practical handbook of estuarine and marina polution*. (M. J. Kennish ed), CRC Press, Nova York.

- Lin, T. e Nriagu, J., (1999). Thallium speciation in river waters with Chelex-100 resin. *Analytica chimica Acta*, 395: 301 – 307.
- Millero, F.J., (1996). *Chemical Oceanograph*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Muller, F.L.L., (1996). Interactions of copper, lead and cadmium with the dissolved, colloidal and particulate components of estuarine and coastal waters. *Mar. Chem.*, 52: 245 – 268.
- Odebrecht, C. e Caruso Jr., (1987). Hidrografia e matéria particulada em suspensão na Lagoa da Conceição. Ilha de Santa Catarina, SC, Brasil. *Atlântica*, 9 (1): 83 – 86.
- Paulson, A.J., (1986). Effects of flow and pretreatment on the extraction of trace metals from estuarine and coastal seawater by Chelex-100. *Anal. Chem.*, 58: 183 – 187.
- Pesavento, M. e Alberti, G., (2000). Determination of the complexing properties of drinking waters toward copper(II) and aluminium(III) by ligand titration. *Wat. Res.*, 34: (18): pp 4482 – 4492.
- Pickering, W.F., (1995). General strategies for speciation. In: *Chemical speciation in the environment*, cap. 1. (A.M.Ure, e C.M.Davidson ed), Blackie Academic Professional, Londres, p. 9 – 32.
- Schenck, R. C. (1984). Copper deficiency and toxicity in *Gonnyaulax tamarensis*. *Mar. Biol. Lett.* 5: 13-19.
- Sekaly, A.L.R., Mandal, R., Hassan, N.M., Murimboh, J., Chakrabarti, C.L., Back, M.H., Grégoire, D.C. e Schroeder, W.H., (1999). Effect of metal/fulvic acid mole ratios on the binding of Ni(II), Pb(II), Cu(II), Cd(II), and Al(III) by two well-characterized fulvic acids in aqueous model solutions. *Analytica Chimica Acta*, 402: 211 – 221.

- Silva, M.R., Lamotte, M., Donard, O.F.X., Soriano-Sierra, E.J. e Robert, M., (1996). Metal contamination in surface sediments of mangroves, lagoons and Southern Bay in Florianópolis Island. *Environmental Technology*, 17: pp 1035 – 1046.
- Sunda, W. e Hanson, A.K., (1987). Measurement of free cupric ion concentration in seawater by a ligand competition technique involving copper sorption onto C₁₈ SEP-PAK cartridges. *32 (3): 537 – 551.*
- Ure, A.M. e Davidson, C.M., (1995). Introduction to speciation. In: *Chemical speciation in the environment*, cap. 1. (A.M.Ure, e C.M.Davidson ed), Blackie Academic Professional, Londres, p. 1 – 5.
- van den Berg, C.M.G., (1986). Determination of copper, cadmium and lead in seawater by cathodic stripping voltammetry of complexes with 8-hydroxyquinoline. *J. Electroanal. Chem.*, 215: 111 – 121.
- van den Berg, C.M.G., (1988). Electroanalytical chemistry of sea-water. In: *Chemical Oceanography*, vol 9. (J.P.Riley ed), Academic Press, London, p. 198 – 245.
- van Geen, A., Boyle, E.A. e Moore, W.S., (1993). Trace metal and enrichments in waters of the Gulf of Cadiz, Spain. *Geochimica Cosmochimica Acta*, 55: 2173 – 2191.
- Vasconcelos, M.T.S.D. e Azenha, M.A.O., (1996). Additional evidence of the operational character of the lability of complex of copper(II) with simple organic ligands. *Analytica Chimica Acta*, 333: 97 – 105.
- Vasconcelos, M.T., Leal, M.F.C. e Soares, H.M.V.M., (1996). Influence of the ratio copper(II) to ligand concentration and the nature of entering and leaving ligands on the lability of copper(II) complex. *Analytica Chimica Acta*, 330: 273 – 281.

- Vasconcelos, M.T.S.D., e Leal, M.F., (1997). Speciation of Cu, Pb, Cd, and Hg in waters of the Oporto coast in Portugal, using pre-concentration in a chelamine resin column. *Analytica Chimica Acta*, 353: 189 – 198.
- Viel, F.C., (2001). Avaliação da especiação química do cobre nas águas de chuva de Florianópolis e magnitude da sua deposição utilizando a voltametria de redissolução catódica. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.
- Warnken, K.W., Gill, G.A., Wen, L.S., Griffin, L.L., Santschi, P.H., (1999). Trace metal analysis of natural waters by ICP-MS with on-line preconcentration and ultrasonic nebulization. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 14 (12): p 247-252.
- Widdows, J. e Donkin, P., (1992). Mussels and environmental contaminants: Bioaccumulation and physiological aspects. In: *The mussel mytilus: Ecology, physiology, genetics and Culture*. (E. Gosling ed), Elsevier, Amsterdam.

ANEXOS

Trabalhos publicados

Campos, M.L.A.M., Mello, L.C., Zanette, D.R., Sierra, M.M.S., Bendo, A., (2001).

Construção e otimização de um reator de baixo custo para a fotodegradação da matéria orgânica em águas naturais e sua aplicação no estudo da especiação do cobre por voltametria. *Química Nova*, 24 (2): 257 – 261.

Campos, M.L.A.M., Bendo, A., Viel, F.C. Métodos de baixo custo para

purificação de reagentes e controle da contaminação para a determinação de metais traços em águas naturais. *Química Nova*, 25 (5): 808 – 813.

CONSTRUÇÃO E OTIMIZAÇÃO DE UM REATOR DE BAIXO CUSTO PARA A FOTODEGRADAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA EM ÁGUAS NATURAIS E SUA APLICAÇÃO NO ESTUDO DA ESPECIAÇÃO DO COBRE POR VOLTAMETRIA

M. Lúcia A. M. Campos*, Lígia C. Mello, Dilson R. Zanette, M. Marta de Souza Sierra e Anderson Bendo
Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 88040-900 Florianópolis - SC

Recebido em 17/4/00; aceito em 2/8/00

CONSTRUCTION AND OPTIMIZATION OF A LOW COST REACTOR FOR THE PHOTODEGRADATION OF ORGANIC MATTER FROM NATURAL WATERS AND ITS APPLICATION FOR THE STUDY OF COPPER SPECIATION BY VOLTAMMETRY. This work describes the construction of a home-made low-cost reactor, using easily available materials, capable of destroying efficiently dissolved organic matter. Just 30 minutes of irradiation were sufficient to destroy more than 99% of the humic acids present in a solution of 4 mg C L⁻¹. Copper speciation was evaluated in natural waters of different salinities to test the reactor's efficiency in destroying organically complexed metal species. The effect of the organic matter concentration, salinity, dissolved oxygen and temperature in the photo-oxidation process is discussed.

Keywords: photodegradation; organic matter; trace metal speciation.

INTRODUÇÃO

As voltametrias de redissolução catódica e anódica vêm sendo amplamente utilizadas no estudo da especiação química de metais-traço em águas de diversos tipos de ecossistemas naturais, por serem técnicas de grande sensibilidade e seletividade¹. Entretanto, a matéria orgânica presente nas águas naturais interfere na determinação da concentração de metais por voltametria principalmente de duas maneiras: 1) pela formação de fortes complexos com metais, os quais não são detectados durante a análise da amostra, levando à quantificação apenas da fração eletroquimicamente lábil; e 2) competindo com o metal pela superfície do eletrodo, diminuindo assim a intensidade do sinal do analito ou provocando o aparecimento de sinais interferentes². Assim, a destruição dos complexos orgânicos torna-se uma etapa fundamental na análise de metais por voltametria. Outros métodos que sofrem interferência da matéria orgânica dissolvida no meio, como por exemplo, aqueles que utilizam resinas trocadoras de íons para a pré-concentração de metais dependem igualmente de etapas que suprimam a matéria orgânica interferente³. Os métodos de digestão úmida, que empregam aquecimento e adição de reagentes como ácidos oxidantes ou peróxido, têm sido bastante utilizados, mas apresentam a desvantagem de oferecer um alto risco de contaminação, principalmente no caso de amostras com metais no nível de traço.

A concentração da matéria orgânica dissolvida em águas naturais, avaliada na forma de carbono orgânico dissolvido (COD), pode variar de aproximadamente 0,1 mg C L⁻¹ em águas oceânicas, até cerca de 50 mg C L⁻¹ em rios ou lagos de alta produtividade⁴. De 40 a 80% desse material é formado por substâncias húmicas, que são macromoléculas de estrutura complexa e composição elementar variável⁴. Grupos cromóforos como ácidos carboxílicos e estruturas aromáticas são abundantes nos compostos húmicos, que absorvem fortemente a luz ultravioleta e podem atuar como fotossensibilizadores⁵. Os fotossensibilizadores são moléculas que quando excitadas transferem sua energia de excitação para outras moléculas presentes em solução, podendo formar espécies altamente reativas como radical hidroxila ($\cdot\text{OH}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), oxigênio

singlete ($^1\text{O}_2$), íon superóxido (O_2^-) e elétron hidratado (e^-_{hid})⁵. Essas novas espécies podem foto-oxidar os próprios fotossensibilizadores, como também outros compostos orgânicos se presentes em solução. Portanto, na presença de uma fonte contínua e intensa de radiação ultravioleta a fotodegradação da matéria orgânica pode ser bastante rápida e eficiente⁶.

Diversos métodos vêm sendo utilizados para avaliar a concentração de COD em amostras naturais. Um dos métodos mais utilizados é aquele que emprega alta temperatura e catalisador de platina para a total oxidação do carbono orgânico para CO_2 e detecção por absorção em infravermelho⁷. Este método também vem sendo utilizado para acompanhar a fotodegradação de uma variedade de compostos orgânicos⁸. A análise de CO_2 utilizando injeção em fluxo com detecção condutimétrica, foi empregada por Jardim e colaboradores⁹ como uma alternativa mais barata, porém menos sensível, para acompanhar a mineralização da matéria orgânica. A espectrometria de fluorescência tem sido uma ferramenta bastante útil na quantificação e principalmente, na caracterização de compostos húmicos de distintas origens, devido à presença de um grande número de grupos fluoróforos nesses compostos¹⁰.

Este trabalho aborda a construção de um reator artesanal bastante simples e de baixo custo, que utiliza uma fonte de radiação ultravioleta para destruição da matéria orgânica de maneira eficiente e com baixo risco de contaminação. A destruição da matéria orgânica durante a irradiação de soluções de ácido húmico comercial, foi monitorada pela atenuação do sinal de fluorescência. Com o objetivo de testar a eficiência do reator na destruição da matéria orgânica natural, e demonstrar sua aplicabilidade no estudo da especiação química de metais, as concentrações de cobre em amostras naturais de distintos ambientes foram avaliadas por voltametria de redissolução catódica, antes e depois de serem submetidas à irradiação.

PARTE EXPERIMENTAL

Uma solução estoque de 60 mg C L⁻¹ de ácido húmico comercial Aldrich (38,4% C, 4,3% H e 0,28% N) foi preparada em água destilada e desionizada (Milli-Q) e preservada em geladeira por no máximo 3 meses. Soluções em triplicata de ácido húmico (AH) de 4, 6, 8, 12 e 30 mg C L⁻¹ foram submetidas à irradiação UV em tubos de quartzo, retirando-se uma

*e-mail: lcampos@qmc.ufsc.br

alíquota de aproximadamente 3 ml de cada tubo em diversos intervalos de tempo para análise fluorimétrica. A intensidade de fluorescência de emissão das soluções foi avaliada usando um fluorímetro de marca Perkin Elmer, modelo EFLS5B e cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm. O comprimento de onda de excitação foi de 313 nm, a varredura realizada de 330 a 600 nm e as larguras da fenda de excitação e de emissão foram de 10 e 2,5 nm respectivamente.

Amostras de superfície de águas naturais foram coletadas diretamente em frascos de polietileno pré-lavados, imediatamente filtradas em sistema fechado de polissulfona sob pressão de nitrogênio utilizando membranas de acetato de celulose de poro 0,45 μm . As alíquotas reservadas para análise de metal dissolvido total foram acidificadas para pH 2 antes de serem preservadas em congelador. As concentrações de cobre nas amostras naturais foram avaliadas por voltametria de redissolução catódica utilizando o ligante salicilaldoxima¹¹ da marca Sigma. O sistema voltamétrico consistiu de um potenciostato PAR 263A, sistema de eletrodo PAR 303A com eletrodo de gota pendente de mercúrio, eletrodo de referência Ag/AgCl e eletrodo auxiliar de platina, controlados por um computador pessoal 4DX2, processador 486. O padrão de cobre de 1×10^{-6} mol L⁻¹ foi obtido após diluições sucessivas do padrão de 1000 ppm SpectrosoL, Merck. Os reagentes H₂O₂, NaCl, MgSO₄·7H₂O e NaHCO₃ utilizados foram de grau analítico. O pH das soluções foram avaliados utilizando pHmetro e eletrodo de vidro combinado da marca ORION.

Construção do reator

Para a construção do corpo do reator, foi utilizado um cilindro de aço inoxidável de 12 cm de diâmetro e 20 cm de altura, com tampas também do mesmo material (Figura 1). Como a temperatura da lâmpada tende a se elevar, o sistema deve ser resfriado para evitar a evaporação das amostras. Foram feitos 12 orifícios de aproximadamente 1 cm de diâmetro na base do reator, e na tampa adaptou-se o ventilador da CPU de um antigo computador (DC 12 V; 0,12 A) para sugar o ar interno e refrigerar o sistema. Ao ventilador foi acoplado um conversor que permitiu ajustar a velocidade e, conseqüentemente, a temperatura para 70 °C durante o processo de digestão. Foram fixados suportes metálicos no corpo do reator para o uso de até 5 tubos de quartzo com 2,5 cm de diâmetro

externo, 1,9 cm de diâmetro interno, e 15 cm de altura. Devido à grande exposição lateral dos tubos à irradiação, suas tampas foram confeccionadas com vidro comum.

Lâmpadas de mercúrio de alta e baixa pressão, entre 14 e até 1000 W de potência vêm sendo empregadas como fonte de radiação ultravioleta para destruição da matéria orgânica^{6,12,13}. Neste trabalho, a fonte de radiação ultravioleta utilizada foi aquela fornecida por uma lâmpada de vapor de mercúrio de alta pressão de 125 W fabricada pela Philips (HPL-N), cujo bulbo externo foi removido para total exposição das amostras à radiação. Este tipo de lâmpada é muito utilizado no Brasil para iluminação de ruas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Otimização do reator

Visto que a matéria orgânica natural é formada principalmente por substâncias húmicas, a otimização das condições de fotólise foi realizada utilizando soluções de ácido húmico comercial, que serviu como modelo de compostos orgânicos de alto peso molecular.

Os espectros de emissão das soluções de AH 4, 8 e 15 mg C L⁻¹ foram acompanhados usando os comprimentos de onda de excitação (λ_{exc}) de 313 nm e 370 nm, pois nesses comprimentos de onda se esperava obter espectros de fluorescência para a matéria orgânica dissolvida com boa definição e alta sensibilidade¹⁴. Porém, os espectros de emissão com $\lambda_{exc} = 313$ nm apresentaram um máximo melhor definido, sendo este comprimento de onda utilizado em todos os experimentos seguintes. O pH das soluções de AH não foi ajustado para um valor fixo, visto que em águas naturais este também é variável. Os valores de pH para as soluções de AH 4, 8, 15, e 30 mg C L⁻¹ foram de 6,6; 6,9; 7,6 e 8,1 respectivamente.

A fotodegradação de uma solução de AH 8 mg C L⁻¹ foi acompanhada através dos espectros de emissão de fluorescência, antes, e depois da irradiação por diversos intervalos de tempo (Figura 2). O sinal de fluorescência decresceu gradativamente, até que após 2 horas de irradiação, o espectro desta solução não mais diferiu do espectro da água desionizada. Estima-se que a concentração de carbono residual após a destruição da matéria orgânica seja < 0,01 mg C L⁻¹, pois o espectro de fluorescência obtido para uma solução de AH 0,01 mg C L⁻¹ foi visualmente

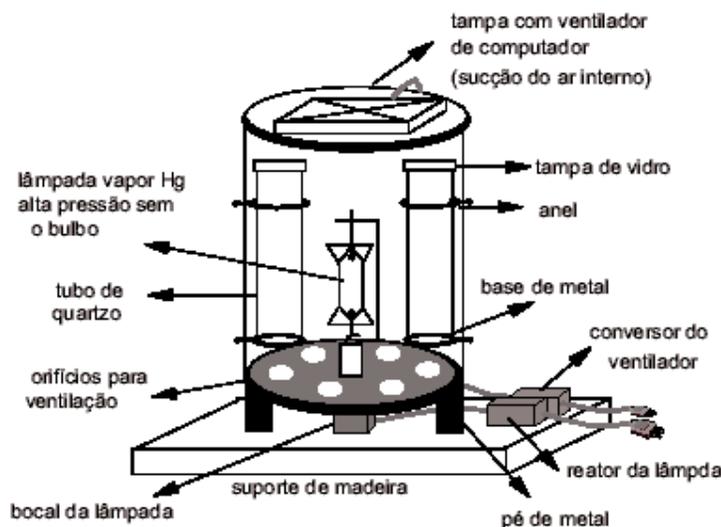


Figura 1. Desenho do reator construído artesanalmente com as escalas aproximadas. São mostrados apenas 2 tubos de quartzo, mas há espaço para 5 no total.

distinto do espectro da água irradiada por 4 horas, tanto em termos de intensidade, como em termos de máximo de emissão. Para soluções de AH de concentrações menores que $0,01 \text{ mg C L}^{-1}$ essa distinção não foi clara.

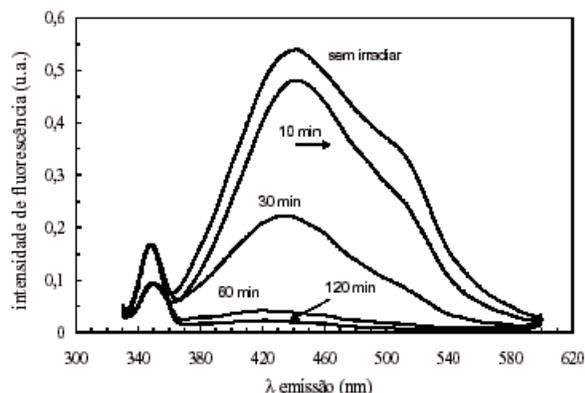


Figura 2. Espectros de emissão de fluorescência em unidades arbitrárias de uma solução de AH 8 mg C L^{-1} sem irradiar e após diversos períodos de irradiação.

Uma alíquota da solução de AH 8 mg C L^{-1} foi colocada sobre a bancada do laboratório em contato com a luz ambiente por 8 horas, e outra foi mantida no escuro. Em ambos os casos não houve alteração aparente nos espectros das soluções, e portanto, as variações espectrais observadas durante o processo de degradação são atribuídas à radiação da lâmpada de vapor de mercúrio. Não foi observada perda de massa nas soluções irradiadas por até 4 horas a uma temperatura de $\sim 70 \text{ }^\circ\text{C}$, excluindo assim a possibilidade de um aumento na concentração do analito durante a irradiação por evaporação do solvente. A taxa de oxidação de uma solução de AH 8 mg C L^{-1} foi reduzida em até 4 vezes quando a temperatura de irradiação foi reduzida de $\sim 70 \text{ }^\circ\text{C}$ para $\sim 40 \text{ }^\circ\text{C}$, demonstrando que temperaturas relativamente altas auxiliam na destruição dos compostos húmicos. Desta forma, a temperatura de $\sim 70 \text{ }^\circ\text{C}$ foi fixada para os demais experimentos ajustando a velocidade do ventilador.

Visto que a fluorescência máxima de várias soluções de AH se deu por volta de 441 nm , este comprimento de onda foi escolhido para expressar a eficiência do reator na destruição da matéria orgânica. Após meia hora de irradiação a solução de AH 4 mg C L^{-1} apresentou uma redução na fluorescência de $99 \pm 0,3 \%$ (Figura 3). No caso da solução de AH 6 mg C L^{-1} , para atingir uma eficiência $> 98\%$ foi necessário 1 hora de irradiação, e para as soluções de AH 8 e 12 mg C L^{-1} , 2 horas. Achterberg e van den Berg⁶, usando uma lâmpada de vapor de mercúrio de 100 W e tubos de quartzo, relataram que foram necessárias 4 horas para haver completa destruição de uma solução de AH $7,75 \text{ mg C L}^{-1}$, e 5,5 horas para atingir uma degradação $> 99\%$ para uma solução de AH 15 mg C L^{-1} . Porém, quando esses autores utilizaram a mesma lâmpada, mas em um sistema onde a solução dentro de uma espiral de quartzo era irradiada em fluxo (ϕ interno = $1,0 \text{ mm}$; comprimento = $4,4 \text{ m}$ e volume = $3,47 \text{ ml}$) o tempo necessário para atingir uma eficiência $> 99,5 \%$ foi de apenas 4,6 minutos para ambas as soluções. Isto vem demonstrar a importância da superfície de exposição durante o processo de irradiação.

O grande desvio padrão observado na Figura 3 para as soluções de AH 8 e 12 mg C L^{-1} demonstra que houve uma grande variação na eficiência da fotodegradação dessas soluções. Esta variação está provavelmente relacionada com a quebra não uniforme da estrutura molecular dos compostos húmicos, uma vez que não foi observada uma diferença sistemática na eficiência

da degradação de acordo com a posição das amostras dentro do reator. No caso da solução de AH 12 mg C L^{-1} , observou-se um aumento do sinal relativo após 30 minutos de irradiação devido à diminuição inicial da eficiência de fluorescência, provocada pela alta concentração de grupos fluoróforos em solução. De fato, uma grande concentração de grupos fluorescentes promove a reabsorção da fluorescência emitida, atenuando assim a intensidade de emissão esperada. A Figura 4 mostra que para soluções de AH $\geq 2 \text{ mg C L}^{-1}$, a atenuação da intensidade de fluorescência já se torna aparente. A destruição parcial de algumas estruturas moleculares durante o processo de oxidação pode minimizar este efeito, aumentando assim a intensidade do sinal após a irradiação da solução.

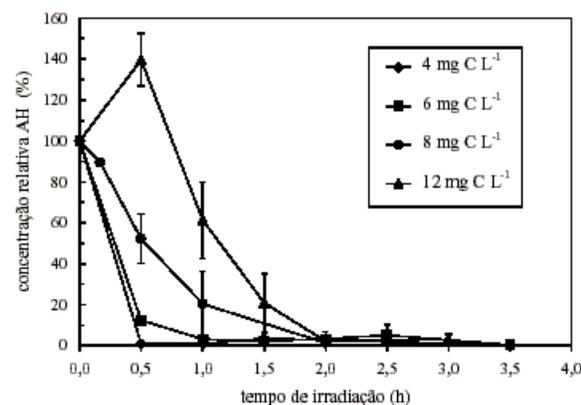


Figura 3. Concentração relativa de ácido húmico expressa como porcentagem do sinal inicial de fluorescência de emissão em 441 nm , de acordo com o tempo de irradiação. A irradiação das soluções foi realizada em triplicata (3 tubos de quartzo), e a cada intervalo de tempo uma alíquota de cada tubo era retirada para análise, sendo mostrados no gráfico a média e desvio padrão relativo da fluorescência ($n = 3$) para soluções de diversas concentrações.

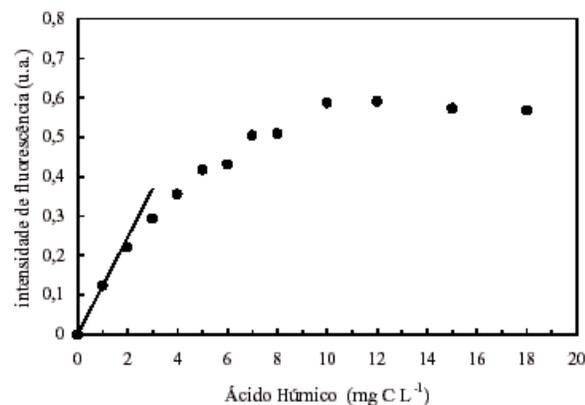


Figura 4. Intensidade de fluorescência de emissão em 441 nm (unidades arbitrárias) para diversas concentrações de ácido húmico. A reta foi construída através da regressão linear dos dois primeiros pontos.

Como o reator foi construído com o objetivo de destruir a matéria orgânica presente nos mais diversos tipos de amostras naturais, sua eficiência foi também testada em meio salino (Figura 5). Para tal, uma solução de AH 8 mg C L^{-1} foi preparada num meio contendo 32 g NaCl , $14 \text{ g MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e $0,2 \text{ g NaHCO}_3$ diluídos em 1 L de água desionizada. Esta solução tem salinidade equivalente a $34,2$ (escala de salinidade

prática)¹⁵, que é muito comum em ambientes marinhos. A solução salina mostrou uma maior atenuação da fluorescência inicial, provavelmente devido à complexação dos grupos fluoróforos com os metais adicionados¹⁰. Os complexos formados se mostraram mais resistentes à foto-oxidação, aumentando em 2,5 vezes o tempo de irradiação necessário para atingir uma eficiência de ~ 96 %. De modo similar, Jardim e Campos¹⁶ observaram uma forte inibição do processo oxidativo após promover a complexação da matéria orgânica com cobre em amostras de ambientes salinos e de água doce.

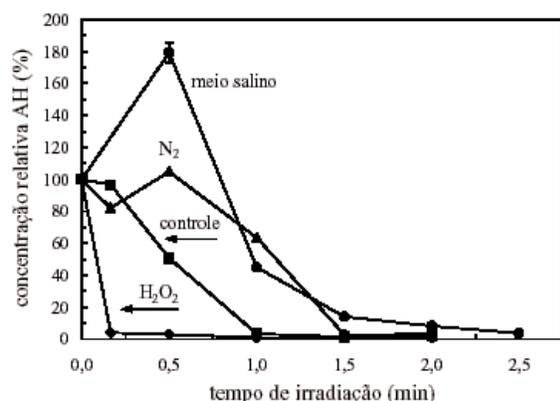


Figura 5. Concentração relativa para soluções de AH 8 mg C L⁻¹ expressa como porcentagem do sinal inicial de fluorescência de emissão em 441 nm, de acordo com o tempo e irradiação. Uma alíquota foi mantida como controle (■), e as demais sofreram alterações antes de serem submetidas à irradiação: solução borbulhada durante 10 minutos com N₂ (▲); adição de H₂O₂ 10 mmol L⁻¹ (◆); solução preparada em meio salino (●). A irradiação da solução em meio salino foi realizada em triplicata, sendo mostrados a média e desvio padrão relativo para cada intervalo de tempo.

O consumo de oxigênio dissolvido nas reações fotoquímicas em águas naturais tem sido apontado como uma importante perda deste gás no ambiente aquático, porém, esta perda é muitas vezes negligenciada nos cálculos de balanço de massa¹⁷. A importante participação do oxigênio dissolvido na fotólise da matéria orgânica pode ser observada na Figura 5, onde se nota uma drástica queda na taxa de oxidação da solução de AH previamente borbulhada com N₂. De forma análoga, Alberici e Jardim¹⁸ observaram um aumento de 33 a 62 % na taxa de fotodegradação de uma solução de fenol na presença de TiO₂, quando esta era continuamente borbulhada com oxigênio. Alternativamente, a adição de H₂O₂ em solução pode funcionar como uma fonte de oxigênio molecular e de radicais hidroxila, que são produzidos a partir da decomposição fotoquímica do H₂O₂¹⁹. A mineralização da solução de AH 8 mg C L⁻¹ foi acelerada em pelo menos 6 vezes após a adição de H₂O₂ 10 mmol L⁻¹ (Figura 5), demonstrando o grande poder oxidante deste composto. Visto que em alguns ambientes naturais pode-se encontrar altas concentrações de matéria orgânica, soluções de ácido húmico contendo 30 mg C L⁻¹ foram irradiadas na ausência e presença de H₂O₂ 10 mmol L⁻¹. Após

7 horas de irradiação, a solução sem adição de H₂O₂ apresentou uma perda de fluorescência de apenas 4 %, comparada com 95 % para a solução contendo H₂O₂. Como já foi discutido anteriormente, a adição de reagentes às amostras de águas naturais antes da análise de metais traços não é aconselhável devido ao seu alto potencial de contaminação. Porém, esse artifício pode ser de grande valor para ambientes ricos em material húmico, como águas de rios e lagos produtivos, que por sua vez são relativamente ricos em metais pesados. O reator aqui desenvolvido, assim como os princípios de fotoquímica aqui descritos podem ser extrapolados e aplicados para os mais diversos tipos de ambientes naturais ou não.

Aplicação do reator na avaliação da especiação química do cobre em amostras naturais

A determinação do cobre eletroquimicamente lábil por voltametria de redissolução catódica foi realizada nas amostras apenas filtradas, enquanto que a concentração total do cobre dissolvido foi avaliada após a foto-destruição dos complexos orgânicos presentes em solução. Amostras de águas naturais superficiais de 3 ambientes bastante distintos entre si foram coletadas na região de Florianópolis (Santa Catarina) com o objetivo de avaliar a eficiência do reator aqui construído, na destruição da matéria orgânica natural: 1) Lagoa do Peri, que é um corpo de água doce, 2) Lagoa da Conceição, de água salobra e 3) Praia do Costão do Santinho, com salinidade típica de água do mar (Tabela 1). Apesar de se ter verificado que 2,5 horas de irradiação foram suficientes para destruir mais de 97 % de uma solução de AH 8 mg C L⁻¹ em meio salino (Figura 5), optou-se por irradiar as amostras naturais por 4 horas, prevenindo a presença de complexos metálicos e interferentes orgânicos resistentes à fotodegradação. Não houve alteração na concentração de cobre dissolvido total para amostras da Lagoa da Conceição quando irradiadas por 3 ou 4 horas, demonstrando que 3 horas são suficientes para total destruição da matéria orgânica nestas amostras.

Um grande aumento na concentração de cobre dissolvido após a destruição da matéria orgânica foi constatado nas 3 amostras analisadas (Tabela 1). A possibilidade de contaminação das amostras durante o processo de irradiação foi descartada com a realização de brancos antes e depois da irradiação de alíquotas de água Milli-Q. Na Lagoa do Peri, verificou-se que 79 % do cobre dissolvido estava presente na forma de fortes complexos orgânicos (não lábeis), comparado com 59% na Lagoa da Conceição e 85 % na água do mar. Visto que a fração tóxica do cobre relaciona-se com aquela encontrada na forma lábil (biodisponível), é fundamental avaliar a concentração do metal complexado pela matéria orgânica para se poder estimar a toxicidade do meio. Os resultados de cobre aqui obtidos, além de comprovar a eficiência do reator artesanal na destruição da matéria orgânica natural de diferentes ambientes, demonstra a importância da destruição da matéria orgânica na avaliação da especiação química de metais em ambientes aquáticos.

CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dada à complexidade de se avaliar a concentração da matéria orgânica presente em amostras naturais, e, visto que grande parte da matéria orgânica natural é formada por substâncias

Tabela 1. Salinidade em escala de salinidade prática, e concentração em nmol L⁻¹ de cobre lábil, cobre dissolvido total e cobre complexado com a matéria orgânica para amostras de água de distintos ambientes aquáticos.

Local	Salinidade	Cu lábil	Cu dissolvido total	Cu orgânico
Lagoa do Peri	0,0	1,5	7,3	5,8
Lagoa da Conceição	16,8	2,9	7,1	4,2
Praia Costão do Santinho	35,2	0,7	4,8	4,1

húmicas, este trabalho utilizou soluções de ácido húmico comercial como modelo de composto orgânico de alta massa molecular. Desta forma, a otimização do reator pode ser realizada através de medidas de intensidade de emissão de fluorescência, com detecção de até 0,01 mg C L⁻¹.

As concentrações de carbono orgânico dissolvido em águas marinhas variam dentro de uma faixa relativamente restrita, isto é, de 1 a 4 mg C L⁻¹, sendo esperadas as maiores concentrações em águas costeiras⁴. Uma solução de AH 4 mg C L⁻¹ levou apenas 30 minutos para degradar, porém em meio salino o tempo de irradiação para atingir o mesmo percentual de fotodegradação chegou a ser 2,5 vezes maior. Devido à natureza refratária da matéria orgânica natural, e à possível presença de poluentes orgânicos de origem antrópica, sugere-se o uso de 3 horas de irradiação para assegurar completa destruição da matéria orgânica em águas marinhas costeiras. Outro motivo que demonstra a necessidade de se estender o tempo de irradiação é a presença de distintos mecanismos de fotólise, evidenciados pela grande variação da taxa de destruição das soluções de ácido húmico irradiadas concomitantemente. De acordo com Chester⁴, em rios e lagos produtivos pode-se encontrar concentrações de carbono orgânico dissolvido tão altas quanto 50 mg C L⁻¹. Para águas com elevadas concentrações de matéria orgânica, a adição de H₂O₂ imediatamente antes da irradiação pode ser uma alternativa para acelerar o processo de fotodegradação. Nessas águas também se espera que as concentrações de metais sejam relativamente altas, e portanto, uma possível contaminação pela adição de reagentes pode ser quantificada. A elevação da temperatura também auxilia no processo de oxidação da matéria orgânica, sendo que em ~70 °C foi possível atingir grande eficiência sem perda de massa. A concentração de cobre após a irradiação das amostras naturais aqui avaliadas foi até 7 vezes maior que nas amostras sem irradiar, demonstrando a presença de complexos organo-metálicos não lábeis nos ambientes estudados.

A destruição da matéria orgânica para o estudo da especiação química de metais traços é indispensável quando se utiliza a voltametria de redissolução catódica ou anódica. Comparado com os métodos de digestão úmida, o uso de uma fonte de ultravioleta para oxidação da matéria orgânica minimiza os riscos de contaminação de amostras com baixas concentrações de metais traços. Este estudo demonstra que o reator aqui construído destrói com grande eficiência, tanto a matéria orgânica de amostras naturais, como o ácido húmico comercial, com a vantagem adicional de ser de fácil construção, empregar material de fácil aquisição e ter um baixo custo.

AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos ao CNPq pela concessão de bolsa de Pesquisadora Visitante para a Dr^a M. Lúcia A. M. Campos, ao aluno de doutorado Marcelo Giovanela pelo apoio durante as análises de fluorescência, e ao graduando Juliano Zanette pela confecção do conversor do ventilador.

REFERÊNCIAS

1. Achterberg, E. P.; Braungardt, C.; *Anal. Chim. Acta* **1999**, *400*, 381.
2. van den Berg, C. M. G. In *Chemical Oceanography*; Riley, J. P., Ed.; Academic Press: London, 1988, p 198.
3. Vasconcelos, M. T. S. D.; Leal, M. F. C.; *Anal. Chim. Acta* **1997**, *353*, 189.
4. Chester, R.; *Marine Geochemistry*; Unwin Hyman: London, 1990.
5. Frimmel, F. H.; *Env. International* **1994**, *20*, 373.
6. Achterberg, E. P.; van den Berg, C. M. G.; *Anal. Chim. Acta* **1994**, *291*, 213.
7. Sugimura, Y.; Suzuki, Y.; *Mar. Chem.* **1988**, *24*, 105.
8. Nogueira, R. F. P.; Guimarães, J. R.; *Water Res.* **2000**, *34*, 895.
9. Jardim, W. F.; Pasquini C.; Guimarães, J. R.; Faria L. C.; *Wat. Res.* **1990**, *24*, 351.
10. de Souza Sierra, M. M.; Giovanela, M.; Donard, O. F. X.; Belin, C.; *Quim. Nova* **1996**, *10*, 294.
11. Campos, M. L. A. M.; van den Berg, C. M. G.; *Anal. Chim. Acta* **1994**, *284*, 481.
12. Yokoi, K.; Tomisaki, T.; Koide, T.; van den Berg, C. M. G.; *Fresenius J. Anal. Chem.* **1995**, *352*, 547.
13. Maritn-Goldberg, M.; Schuman, M. S.; *Chem. Speciation Bio.* **1989**, *1*, 19.
14. de Souza Sierra, M. M.; Donard, O. F. X.; Lamotte, M.; *Mar. Chem.* **1997**, *58*, 51.
15. Grasshoff, K.; *Methods of Seawater Analysis*; Verlagchemie: New York, 1976.
16. Jardim, W. F.; Campos, M. L. A. M.; *Sci. Total Environ.* **1988**, *75*, 243.
17. Laane, R. W. P. M.; Gieskes, W. W. C.; Kraay, G. W.; Eversdijk, A.; *Netherlands J. Sea Res.* **1985**, *19*, 125.
18. Alberici, R. M.; Jardim, W. F.; *Wat. Res.*, **1994**, *28*, 1845.
19. Turchi, C. S.; Ollis, D. F.; *J. Catal.* **1990**, *122*, 178.

MÉTODOS DE BAIXO CUSTO PARA PURIFICAÇÃO DE REAGENTES E CONTROLE DA CONTAMINAÇÃO PARA A DETERMINAÇÃO DE METAIS TRAÇOS EM ÁGUAS NATURAISMaría Lúcia A. M. Campos^{*,#}, Anderson Bendo e Fabíola C. Viel

Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, CP 476, 88040-900 Florianópolis - SC

Recebido em 11/7/01; aceito em 7/1/02

LOW COST METHODS TO PURIFY LOW GRADE REAGENTS AND TO CONTROL CONTAMINATION FOR TRACE METAL DETERMINATION IN NATURAL WATERS. Probably one of the most difficult and challenging aspects of measuring trace metals in natural waters is to avoid contamination during sampling, manipulation and analysis. This work discusses how to avoid contamination using simple procedures, and considers alternative methods to purify deionised water and low grade reagents to enable accurate determination of trace metals in natural waters in a common laboratory. Measurements were performed by cathodic stripping voltammetry and copper was used as a model metal to test the procedures. It was possible to evaluate copper speciation in natural waters even when total dissolved copper concentration was as low as 1.5 nmol L⁻¹. The methods' accuracy was confirmed by analysis of certified seawater.

Keywords: copper; speciation; cathodic stripping voltammetry.

INTRODUÇÃO

Apesar da preocupação com o meio ambiente ter surgido de modo significativo há apenas poucas décadas, dia após dia, esta preocupação vem tomando novas dimensões dentro dos mais diversos setores da sociedade mundial. A importância da preservação dos recursos hídricos tem levado à necessidade de monitorar e controlar a contaminação destes ambientes, e os metais pesados estão entre os contaminantes mais tóxicos e persistentes do ambiente aquático. Portanto, suas fontes, transporte e destino precisam ser avaliados.

Visto que os organismos aquáticos tendem a acumular metais pesados e contaminantes orgânicos em seus tecidos, mesmo quando a água possui níveis desses compostos abaixo da concentração máxima tolerada pela legislação, há grandes riscos de contaminação dentro da cadeia trófica. No caso de peixes, a ingestão de alimentos e água é a rota principal de entrada de contaminantes nesses organismos. Animais filtradores como os mexilhões, filtram vários litros de água por hora, e consequentemente podem concentrar de 10 a 10⁵ vezes vários contaminantes em seus tecidos, com relação à água do mar¹. Se a fração tóxica de um metal encontrada num corpo d'água for alta o suficiente para inibir o crescimento de apenas uma parte da comunidade planctônica, isto pode acarretar no comprometimento de toda a cadeia trófica, levando-se em conta a bioacumulação e os efeitos crônicos que o metal pode causar.

Uma das menores concentrações de metais pesados na natureza é encontrada nas águas oceânicas². Mesmo após o desenvolvimento de instrumentos, métodos analíticos suficientemente sensíveis e reagentes ultra purificados para a análise de metais traços (< 50 nmol kg⁻¹)³ nessas águas, a contaminação das amostras impedia a obtenção de dados coerentes sob o ponto de vista biogeoquímico. Somente após a conscientização de que a amostragem, preservação

e manuseio das amostras antes da análise podiam representar maiores fontes de erro que a própria análise química, é que foram publicados, em 1977 e em 1981, os primeiros dados confiáveis da distribuição de cobre e chumbo, respectivamente, em águas de oceano aberto^{4,5}. Tendo em mãos métodos extremamente sensíveis e mantendo o controle da contaminação, foi então possível dar início aos estudos de especiação química de metais, e assim, verdadeiramente avaliar a toxicidade de distintas espécies químicas para os organismos aquáticos⁶. A necessidade de utilizar procedimentos limpos na determinação de metais traços não se restringe somente ao ambiente marinho, mas também são imprescindíveis nos estudos envolvendo águas de rios, lagos e estuários, onde pode haver concentrações mais elevadas de metais^{7,8}.

O estudo da biogeoquímica de metais traços e sua especiação química em ambientes aquáticos naturais no Brasil é bastante recente, tendo em vista a sofisticação de algumas técnicas e o alto custo da instrumentação e dos reagentes ultra-puros. A literatura que aborda a prevenção da contaminação e análise de metais traços, na sua grande maioria se refere ao uso de laboratórios limpos classe 100 que, portanto, possuem sistemas de filtração de ar, bancadas de fluxo laminar, superfícies especiais, além de contar com a disponibilidade de reagentes ultra-puros⁷⁻¹⁰; enfim, condições que não são facilmente encontradas em laboratórios de pesquisa no Brasil. Portanto, este trabalho tem como objetivos discutir métodos simples para minimizar a contaminação por metais em laboratório comum; demonstrar a necessidade de observar alguns cuidados de manuseio, que são indispensáveis para análise de metais no nível de traço, e divulgar alguns métodos de baixo custo para purificação de reagentes, que venham ser compatíveis com a realidade de muitas instituições de pesquisa no Brasil. O metal cobre foi escolhido como modelo para testar os métodos de controle da contaminação e purificação de reagentes por ser um metal abundante no ambiente e, portanto, o controle da contaminação durante os procedimentos de manuseio e análise das amostras requer grande rigor. Para a avaliação do cobre foi utilizada a voltametria de redissolução catódica que é uma técnica de grande sensibilidade¹¹ e de custo relativamente baixo, tanto para compra do equipamento como para sua manutenção e uso.

* e-mail: lcampos@fclrp.usp.br

[#] endereço atual: Departamento de Química, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Av. Bandeirantes, 3900, 14040-901 Ribeirão Preto- SP

PARTE EXPERIMENTAL

Reagentes

As soluções de cobre utilizadas foram obtidas após diluições sucessivas do padrão de 1000 ppm SpectrosoL, Merck e preservadas em pH 2 (HCl-purificado) em geladeira. A solução estoque de 0,05 mol L⁻¹ salicilaldoxime (SA; Sigma) foi preparada em 0,6 mol L⁻¹ HCl (Quimex) purificado, e a solução estoque de oxina 0,2 mol L⁻¹ (AnalaR, BDH) em 0,2 mol L⁻¹ HCl (Quimex) purificado. A solução tampão consistiu de 1 mol L⁻¹ H₃BO₃ (AristaR, BDH) e 0,4 mol L⁻¹ NH₃ (Quimex) purificada. Os reagentes MnCl₂, KMnO₄ e NaOH foram de grau analítico.

A suspensão de MnO₂ foi preparada misturando 100 mL de KMnO₄ 10⁻² mol L⁻¹ e 100 mL de NaOH 2x 10⁻² mol L⁻¹ em erlenmeyer, com a adição lenta de 100 mL de MnCl₂ 1,5x 10⁻² mol L⁻¹ sob agitação, para evitar a formação de flocos muito grandes de MnO₂. A suspensão de MnO₂ foi centrifugada durante 30 min usando 4000 rpm, e o sobrenadante desprezado. O precipitado foi lavado com água desionizada, centrifugado mais 2 vezes, e finalmente ressuspenso em 250 mL de água desionizada para atingir a concentração de 10⁻² mol L⁻¹.

Neste trabalho, o termo “água desionizada” é utilizado de forma simplificada para se referir à água destilada em sistema de quartzo e posteriormente desionizada por sistema de troca iônica (marca Permutation), e “água ultra-pura” é aquela que foi primeiramente destilada em sistema de quartzo, e posteriormente desionizada em sistema Milli-Q™ (Millipore >18 MΩ).

Determinação de cobre e equipamentos

As análises de cobre foram realizadas por voltametria de redissolução catódica usando alíquotas de 10 mL de amostra, contendo 0,01 mol L⁻¹ de tampão borato (pH 8,3) e 25 μmol L⁻¹ SA, de acordo com o método descrito por Campos e van den Berg¹². As amostras que foram analisadas utilizando o ligante oxina (20 μmol L⁻¹)¹³ são identificadas no corpo do trabalho. As amostras acidificadas com HCl (pH 2) tiveram seu pH neutralizado com uma solução de NH₃ antes da análise. O tempo de pré-concentração do metal foi de 1 ou 2 min, dependendo da concentração do metal na amostra. O potenciostato utilizado foi um modelo PAR 263A e o sistema de eletrodos modelo PAR 303A com eletrodo de Hg de gota pendente, eletrodo de Ag/AgCl (KCl 3M) e eletrodo de platina. A destruição da matéria orgânica para avaliação da concentração de cobre dissolvido total em amostras naturais foi realizada em reator de UV durante 4 h de acordo com Campos e colaboradores¹⁴. O potenciômetro utilizado foi da marca Orion, modelo 720A, com eletrodo de vidro combinado Orion.

Cuidados iniciais

Todas as bancadas do laboratório foram revestidas com plástico e os materiais utilizados na análise de metais foram lavados e armazenados em 2 sacos plásticos (um interno limpo, e outro externo mais vulnerável à contaminação). As células voltamétricas e tubos de quartzo foram mantidos em banhos de HCl 1 mol L⁻¹ tampados, sendo bem enxaguados com água desionizada antes de utilizados. Todas as ponteiros de pipeta foram lavadas com HCl 1 mol L⁻¹, sendo que depois de enxaguadas com água desionizada foram armazenadas em tubos de poliestireno etiquetados e com tampa, para que as ponteiros somente fossem reutilizadas para a mesma solução.

As soluções utilizadas na análise de metais foram preparadas em balança analítica diretamente nos frascos de polietileno onde foram armazenadas. O procedimento consistiu em pesar aproximadamente

a massa desejada e depois pesar exatamente a água necessária usando uma pisseta. O fato de serem utilizados microlitros de reagentes em cada análise, evita a preparação de grandes quantidades destes. As diluições dos reagentes também foram realizadas em balança analítica usando micropipeta e pisseta para ajustar o volume final da solução (por peso). O volume da amostra filtrada também foi calculado por diferença de peso e assim foi possível calcular o volume de ácido a ser adicionado para atingir pH 2. Balão volumétrico, ou qualquer outro tipo de vidraria, não foi utilizado para minimizar o risco de contaminação dos reagentes, e somente foram utilizadas espátulas e pinças de plástico pré-lavadas.

No momento da preparação da alíquota para análise, a célula voltamétrica enxaguada (com auxílio de uma pinça) foi colocada para escorrer em lenço de papel limpo e em seguida foi mantida tampada com placa de Petri de poliestireno. A adição da amostra e dos reagentes foram realizadas rapidamente, permitindo o mínimo de tempo possível de contato com o ar. Após a análise de uma alíquota, o conjunto de eletrodos foi lavado com água desionizada, HCl 1 mol L⁻¹ e novamente com água desionizada antes de introduzir rapidamente a próxima alíquota. A célula voltamétrica usada foi lavada da mesma forma que os eletrodos e retornada ao banho ácido.

Para qualquer manuseio de reagentes ou material utilizados na análise de metais traços, foram utilizadas luvas descartáveis de polietileno limpas (encontradas no comércio local). As luvas cirúrgicas (nunca usar com talco) têm as desvantagens de serem muito mais caras e difíceis de por e tirar, sendo que as largas luvas de polietileno, uma vez usadas, podem ser armazenadas em saco plástico limpo e reutilizadas algumas vezes mais, desde que seja para o mesmo procedimento. O processo de fabricação de luvas de borracha (como por exemplo, aquelas para uso doméstico) utiliza grandes quantidades de metais e, portanto, seu uso deve ser evitado¹⁵. Vale a pena lembrar que as luvas estão tão limpas quanto o último objeto tocado, e ao vesti-las, as mãos nuas não podem tocar no exterior das mesmas.

Lavagem do material

Com o objetivo de remover resíduos orgânicos, os frascos de polietileno de alta densidade foram primeiramente lavados com água corrente, detergente comercial diluído e escova. Posteriormente, os frascos foram enxaguados, preenchidos completamente com detergente ~5% (v/v), e deixados em repouso por uma semana em bandeja plástica limpa envolvida com saco plástico. Preferencialmente deve-se deixar os frascos imersos em banhos preparados em recipientes plásticos com tampa, tanto de detergente quanto de ácido, pois a limpeza externa do material é tão importante quanto a interna¹⁵.

Após o período em detergente, os frascos foram enxaguados exaustivamente com água corrente (pelo menos 5 vezes, e com muita água), 3 vezes com água desionizada, preenchidos completamente com HNO₃ 5 mol L⁻¹ e deixados em bandeja envolvida com plástico por uma semana. Posteriormente, os frascos foram enxaguados 5 vezes com água desionizada e preenchidos completamente com esta mesma água (havendo disponibilidade, os frascos devem ser preenchidos com água ultra-pura). Cada frasco foi ensacado individualmente e, posteriormente, ensacados novamente em grupos de 3 ou 4. Durante todo o processo de limpeza, tomou-se o cuidado de nunca colocar os frascos e tampas diretamente sobre a bancada, mas sempre dentro da bandeja apropriada.

Statham¹⁵ sugere o uso adicional de um banho em HCl 1:1 (v/v) por uma semana antes do banho em HNO₃ também 1:1 (v/v). Campos¹⁶ e Achterberg¹⁷ utilizaram banhos de HCl 6 mol L⁻¹, e depois HNO₃ 2 mol L⁻¹, com posterior adição de HCl purificado para atingir pH 2 na água ultra-pura estocada nos frascos. Há uma gama de vari-

ações propostas quanto aos procedimentos de limpeza, porém, a eficiência do processo de limpeza simplificado descrito neste trabalho foi confirmada pela realização de testes de brancos nas águas armazenadas nesses frascos (ver seção “Branco de reagentes e limite de detecção”).

Os frascos não precisam ser secados, mesmo que isto seja realizado em bancada de fluxo laminar, pois no momento da coleta da amostra, cada frasco é enxaguado pelo menos duas vezes com a própria água a ser coletada, e qualquer resíduo, se ainda presente, deve ser eliminado nesse processo^{16,17}. No caso da coleta de água de chuva, os frascos podem ser simplesmente bem esvaziados antes de colocados no coletor, visto que tanto a possibilidade de contaminação com os resíduos, como a possibilidade de diluição da amostra são muito pouco prováveis.

Amostragem

Ambientes com águas calmas freqüentemente permitem o uso de embarcações pequenas e portanto, a amostragem de águas superficiais pode ser feita manualmente submergindo os frascos. É interessante amostrar alguns centímetros abaixo da superfície para evitar a coleta seletiva da micro-camada rica em matéria orgânica e metais pesados, que portanto possui características distintas do restante da camada de superfície do ambiente aquático em estudo¹⁸. Como as luvas são geralmente curtas, deve-se tomar o cuidado de não deixar entrar água nas mãos, tornando-as uma fonte de contaminação. Portanto, pode ser preferível usar um saco plástico grande que cubra desde a mão até o antebraço, prendendo o mesmo com um elástico. É recomendável que a amostragem seja feita por duas pessoas, uma que manuseia o saco externo dos frascos e outros materiais ‘sujos’, enquanto a outra pessoa veste as luvas no momento da coleta e manuseia somente os materiais ‘limpos’. As amostras devem ser preservadas resfriadas durante o trabalho de campo para evitar a dessorção de metais do material particulado para a solução.

As amostras devem ser coletadas contra a corrente, isto é, antes que a água a ser coletada atinja o barco e seja contaminada pelo mesmo. Amostras de águas profundas podem ser coletadas utilizando garrafas do tipo Niskin pré-lavadas com soluções ácidas, porém um método mais simples e menos suscetível à contaminação é utilizar uma bomba peristáltica à bateria, acoplada a tubos de polietileno também pré-lavados¹⁹. A água, de uma profundidade desejada, é bombeada para dentro do barco, podendo ser filtrada por um sistema de filtração adaptado na ponta do tubo que está emersa, proporcionando assim o armazenamento da amostra diretamente no frasco onde será preservada. Qualquer tipo de lastro utilizado deve ser pré-lavado e livre de contaminação metálica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Purificação da água

A água para a preparação dos reagentes deve ser ultra-pura, mas nem sempre é possível ter disponível um sistema de desionização do tipo Milli-Q ou similar. Portanto, um método muito simples e barato para purificar a água destilada e/ou desionizada é utilizar uma suspensão de MnO_2 , que tem a propriedade de adsorver de forma muito eficiente os íons metálicos.

Para testar a eficiência do método, foram preparadas diversas soluções de cobre em água ultra-pura (Tabela 1). Para um volume de 200 mL de cada solução de cobre, foram adicionados 2,0 mL da suspensão de MnO_2 10^{-2} mol L^{-1} . As soluções foram então agitadas durante 10 h em mesa agitadora e posteriormente deixadas em repouso por 2 h. A filtração foi realizada em sistema de polipropileno

Tabela 1. Concentração de cobre em água ultra-pura contaminada com cobre, antes e após o tratamento com a suspensão de MnO_2 10^{-4} mol L^{-1}

[Cu] (nmol L^{-1})		% Remoção
antes tratamento	após tratamento	
1000	30,0	97
500	10,0	98
2,5	0,33	87

de 25 mm de diâmetro, de acordo com o procedimento descrito abaixo, e a concentração de cobre no filtrado foi avaliada. Com apenas um tratamento foi possível remover 97 e 98% do cobre presente nas soluções de 1000 e 500 nmol L^{-1} Cu, respectivamente, porém, levando a concentrações de cobre ainda elevadas. A eficiente purificação de uma solução contendo 2,5 nmol L^{-1} Cu demonstra que se for necessário, é possível chegar em concentrações satisfatórias de metal com tratamentos sucessivos.

Purificação do HCl, NH_3 e tampão

O alto custo dos reagentes ultra-puros, e dos destiladores de quartzo utilizados na purificação de ácidos concentrados pode ser grande obstáculo para aqueles que desejam analisar metais no nível de traços. Porém, a alta pressão de vapor do ácido clorídrico e da amônia permitem a purificação destes reagentes por destilação isotérmica, como ilustra a Figura 1a. Neste trabalho, o “destilador” consistiu de um recipiente plástico do tipo “tupperware” transparente e com tampa de cor branca. O uso de plástico transparente é sempre preferível, visto que os pigmentos coloridos são ricos em metais¹⁵. Após a lavagem do recipiente como descrito anteriormente, este foi colocado dentro de um grande saco plástico limpo, e durante todo o manuseio foram utilizadas luvas descartáveis limpas. Dentro do “destilador”, devidamente ensacado, foram introduzidos um béquer pré-lavado com cerca de 30 mL da solução concentrada de NH_3 (ou HCl) da marca Quimex, e um frasco de polietileno de alta densidade de boca larga de 60 mL (também pré-lavado) contendo cerca de 50 mL de água previamente purificada. O “destilador” foi bem fechado com tampa, permitindo que a base volatilizada (ou ácido) saturasse a atmosfera interna do recipiente e por difusão, dissolvesse na água purificada. A solução concentrada foi trocada 3 vezes por uma nova alíquota a cada 2 dias, para acelerar o processo de destilação. Após 8 dias, o frasco contendo a solução purificada foi bem fechado, retirado do sistema, e ensacado 2 vezes com sacos plásticos limpos.

A Figura 1b ilustra a titulação potenciométrica de uma solução de NH_3 destilada utilizando uma alíquota de 20 μL desta solução, diluída em 25 mL de água ultra-pura, e titulada com uma solução padronizada de HCl $9,99 \cdot 10^{-2}$ mol L^{-1} . A concentração da solução purificada de NH_3 foi de $8,8$ mol L^{-1} , e de HCl de $7,7$ mol L^{-1} , o que demonstra a boa eficiência do processo de destilação isotérmica. A pureza dos reagentes foi verificada por meio da análise de brancos apresentada na seção “Branco de reagentes e limite de detecção”.

A solução de tampão borato utilizada neste trabalho foi preparada com H_3BO_3 de alta pureza (AristaR, BDH) e somente a purificação da NH_3 foi necessária. Caso seja necessário purificar a solução de tampão, Campos¹⁶ mostrou que o uso da resina Chelex-100 é bastante eficiente, atingindo concentrações de cobre abaixo do limite de detecção do método (0,1 nmol L^{-1} para 1 min de pré-concentração usando SA). A resina foi inicialmente convertida para a forma amoniacal submergindo a mesma em acetato de amônio 0,1 mol L^{-1} (24 h) e posteriormente lavando-a com água ultra-pura para eliminar

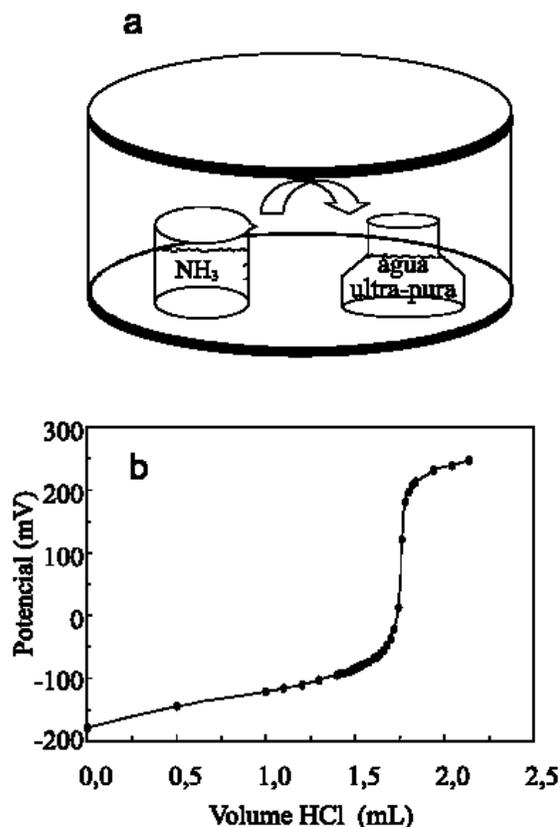


Figura 1. a) Desenho do sistema utilizado para destilação isotérmica da NH_3 e b) titulação potenciométrica de uma alíquota (20 μL) da solução destilada de amônia, com solução padronizada de HCl $9,99 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$

o excesso de acetato de amônio. A resina Chelex foi pipetada e transferida para a solução de tampão borato, que foi mantida sob agitação por 4 h. A solução foi deixada em repouso por 1 h e o sobrenadante transferido para outro frasco. Ellis e Roberts²⁰ relatam que há perda de eficiência da resina Chelex-100 na retenção de metais em pH acima de 7, porém os autores se referem às soluções com elevadas concentrações de metais.

Branco de reagentes e limite de detecção

A avaliação sistemática do branco de reagentes durante todo o processo analítico é imprescindível para a aquisição de dados confiáveis. A Figura 2 ilustra a boa resolução dos voltamogramas para um branco de reagentes utilizando o ligante SA e 2 min de pré-concentração, gerando um pico inicial de apenas 3,3 nA. Visto que o manuseio e a análise das amostras foram realizados em um laboratório comum, sem contar ao menos com uma bancada de fluxo laminar, os resíduos de cobre, chumbo e cádmio obtidos nos brancos listados na Tabela 2 podem ser considerados bastante satisfatórios.

Não houve diferença significativa entre as concentrações de cobre nos brancos usando o ligante SA ou oxina (teste-t, $P=0,05$), indicando que é improvável que o cobre residual seja oriundo do ligante. As baixas concentrações de chumbo e cádmio no branco ilustram o eficiente controle na contaminação também para estes metais. A con-

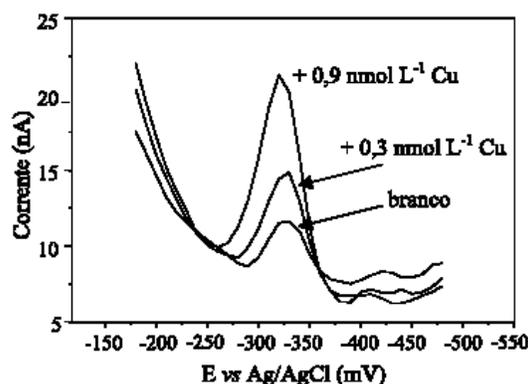


Figura 2. Voltamogramas obtidos na determinação de cobre em água ultra-pura contendo $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ tampão borato, $25 \mu\text{mol L}^{-1}$ SA e usando 2 min de pré-concentração. As adições de padrão são indicadas, e a concentração de cobre encontrada foi de $0,35 \text{ nmol L}^{-1}$

centração de cobre obtida para um branco contendo 3 vezes mais tampão ($0,03 \text{ mol L}^{-1}$) ficou dentro do valor médio dos demais brancos, demonstrando a baixa contaminação da solução tampão. Apesar do mercúrio utilizado ter sido de alta pureza, é possível que este contribua para a concentração residual de cobre encontrada nos brancos de reagentes, assim como a água ultra-pura, instrumentação e manuseio. A eficiência na purificação tanto do HCl como da NH_3 por destilação isotérmica foi testada em água ultra-pura adicionando as mesmas concentrações que aquelas utilizadas na acidificação e neutralização das amostras naturais. Antes da purificação dos reagentes, a concentração de cobre obtida foi de 30 nmol L^{-1} , e depois da purificação $0,78 \pm 0,32$ ($n=3$), valor que não é significativamente diferente do branco na ausência de ácido e base (teste t, $P=0,05$; Tabela 2). Portanto, a acidificação e posterior neutralização das amostras naturais puderam ser realizadas com segurança. Como as concentrações de cobre nos brancos de reagentes estiveram dentro do desvio padrão do método, não foi preciso corrigir os valores encontrados para as amostras.

O branco de campo tratou do manuseio de um frasco contendo água ultra-pura durante a amostragem de águas naturais como se fosse uma amostra (Tabela 2). Neste trabalho, dentro da embarcação, depois de realizadas algumas amostragens, a água ultra-pura de um frasco foi transferida para outro que foi esvaziado e manuseado

Tabela 2. Concentração de metais nos brancos de reagentes e brancos de campo em água ultra-pura

reagentes (mol L^{-1})	metal (nmol L^{-1})
$0,01$ borato + 25×10^{-6} SA	[Cu] = $0,49 \pm 0,19$ ($n=7$)
branco de campo - embarcação	[Cu] = $0,55$
branco de campo - água de chuva	[Cu] = $0,28$ e $0,29$
$0,01$ borato + 20×10^{-6} oxina	[Cu] = $0,54 \pm 0,23$ ($n=8$)
	[Pb] = $0,40$
	[Cd] < $0,41$
$0,03$ borato + 20×10^{-6} oxina	[Cu] = $0,42$
$0,01$ borato + 20×10^{-6} oxina + $0,02$ HCl + $0,02$ NH_3	[Cu] = $0,78 \pm 0,32$ ($n=3$)

como uma amostra. No caso do branco de campo para coleta de água de chuva, o funil acoplado ao frasco foi exposto no campo (*campus* da UFSC) por cerca de um minuto, visto que o tempo de exposição deve ser curto para evitar a deposição de material particulado da atmosfera e, em seguida, foi despejado sobre todo o diâmetro do funil 103 mL de água ultra-pura (volume médio de chuva coletado).

O limite de detecção obtido para o cobre foi de $0,18 \text{ nmol L}^{-1}$ usando água ultra-pura, $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ tampão borato, $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ oxina e 2 min de pré-concentração. Este foi calculado usando 3 vezes o desvio padrão⁸ de 10 varreduras ($5,91 \pm 0,42 \text{ nA}$), e dividindo este valor pela sensibilidade do método ($6,95 \text{ nA nmol}^{-1} \text{ L}^{-1}$), determinada após a adição de padrões de cobre. Este limite de detecção é um pouco maior que aquele obtido por Campos e van den Berg¹² que usaram 1 min de pré-concentração e água do mar purificada ($0,2 \text{ nmol L}^{-1}$), porém, pode ser abaixado utilizando um maior tempo de pré-concentração. Entretanto, este procedimento não foi necessário, visto que o limite de detecção obtido neste trabalho supera as necessidades para os fins aqui propostos.

Filtração das amostras

A filtração das amostras é indispensável quando se pretende avaliar apenas a fração solúvel do metal, sendo este procedimento mais uma possível fonte de contaminação. Neste trabalho foi utilizado um sistema de filtração fechado de polissulfona (Sartorius, capacidade de 250 mL) e membranas de acetato de celulose de poro $0,45 \mu\text{m}$ (Millipore). A filtração foi realizada sob pressão de nitrogênio, pois este procedimento é muito mais limpo que o uso de vácuo.

O sistema de filtração foi inicialmente lavado com detergente diluído, enxaguado com água desionizada, HCl 1 mol L^{-1} e novamente enxaguado com grandes quantidades de água desionizada. O uso de ácidos mais concentrados não é aconselhável pois estes podem danificar os anéis de borracha do sistema de filtração. Entre a filtração de uma amostra e outra, a limpeza do sistema foi feita utilizando a solução ácida e água desionizada. Uma primeira alíquota de cerca de 30 mL de cada amostra filtrada foi utilizada para enxaguar o sistema, sendo em seguida desprezada.

A possível contaminação pela membrana de filtro sem tratamento prévio foi avaliada filtrando sucessivamente duas alíquotas de 50 mL de água ultra-pura, e avaliando a concentração de cobre em cada uma delas. Na primeira alíquota filtrada a concentração de cobre foi de $1,1 \text{ nmol L}^{-1}$, aumentando para $1,9 \text{ nmol L}^{-1}$ na segunda fração; o que sugere uma elevada contaminação pela membrana de filtro, visto que a concentração inicial de cobre na água ultra-pura era de apenas $0,52 \pm 0,21 \text{ nmol L}^{-1}$ ($n=15$). Um novo filtro foi introduzido no sistema de filtração, sendo filtrados 50 mL de HCl 1 mol L^{-1} e 100 mL de água ultra-pura, que foram desprezados. Posteriormente, duas alíquotas de 50 mL de água ultra-pura foram filtradas, reservando cada uma delas. A concentração de cobre em cada uma das frações foi de $0,42$ e $0,44 \text{ nmol L}^{-1}$ respectivamente, valores que não diferem da concentração inicial de cobre na água ultra-pura, evidenciando a eficiência na pré-lavagem dos filtros. Pequenos volumes foram filtrados usando um sistema compacto de filtração de polipropileno de 25 mm de diâmetro, utilizando seringas plásticas descartáveis para introdução das amostras. O procedimento de limpeza do filtro consistiu em filtrar 20 mL de HCl 1 mol L^{-1} , 30 mL de água desionizada e 10 mL da própria amostra, que foram desprezados.

Água do mar certificada e amostras naturais

Somente após a obtenção de brancos satisfatórios comprovando o controle da contaminação e pureza dos reagentes é que foi realizada a determinação de cobre dissolvido total (após irradiação com

UV) na amostra de água do mar certificada CRM-403. A Figura 3 mostra os voltamogramas obtidos para a análise de cobre em uma alíquota do material certificado e a determinação da concentração do metal na amostra. A concentração média e desvio padrão de cobre em duas ocasiões distintas de análise, com cerca de 6 meses de intervalo foram $4,17 \pm 0,85$ ($n=3$) e $3,70 \pm 0,86 \text{ nmol L}^{-1}$ ($n=6$). Os valores médios obtidos estão dentro do valor certificado de $4,00 \pm 0,38 \text{ nmol L}^{-1}$, o que mostra a boa exatidão do método, e o bom controle da contaminação, mesmo em um laboratório comum. O desvio padrão obtido de cerca de 20% pode ser considerado bastante satisfatório e indica que este deve ser o desvio padrão esperado para amostras naturais contendo cerca de $4,0 \text{ nmol L}^{-1}$ Cu.

A análise de materiais certificados é, sem dúvida, o meio mais simples e rápido de testar a exatidão e precisão do método de análise, porém, o elevado custo destes materiais pode dificultar que o analista se assegure regularmente sobre a qualidade de seus resultados. Neste trabalho, logo após as análises satisfatórias de brancos e da água do mar certificada, foi realizada a coleta de 1 litro de água do mar na costa de Florianópolis (Praia de Santo Antônio de Lisboa). A amostra foi imediatamente levada ao laboratório, filtrada, homogeneizada em frasco de 1 litro, acidificada, e submetida a aná-

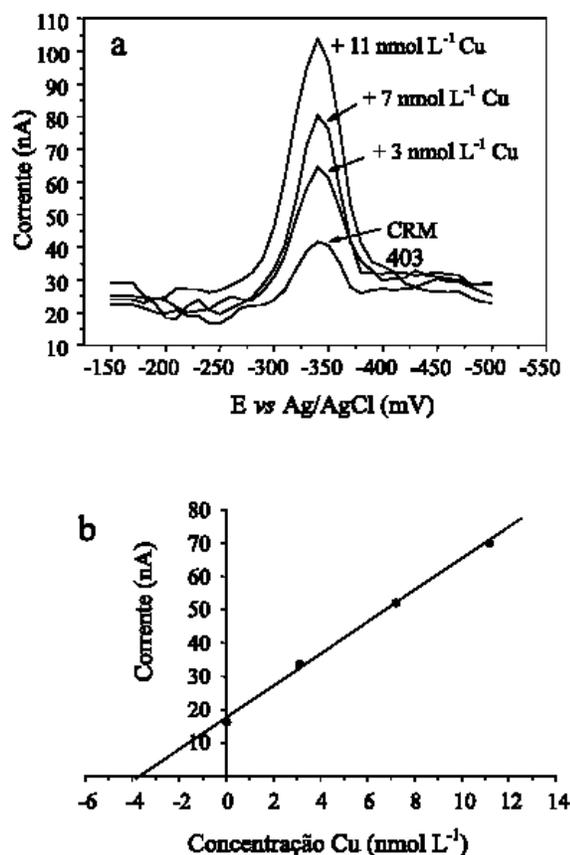


Figura 3. a) Voltamogramas obtidos para a determinação da concentração de cobre na água do mar certificada CRM-403. b) Corrente de pico de acordo com a concentração de cobre adicionado na amostra, mostrando a reta gerada através da regressão linear dos pontos para determinação da concentração de cobre

lise de cobre após 4 h de irradiação ultravioleta, sempre seguindo todas as recomendações já descritas. A concentração média e desvio padrão de cobre dissolvido total encontrados para 5 determinações foram de $4,38 \pm 0,75$ nmol L⁻¹. O restante da amostra foi preservado em geladeira, sendo esta chamada de “amostra certificada secundária”. Sua concentração de cobre foi reavaliada periodicamente para uma simples auto-avaliação do analista e após a preparação de novos padrões. No caso de ser necessário avaliar a concentração de uma gama de metais, pode-se coletar um volume maior de amostra. O uso desse tipo de amostra não substitui a amostra certificada, mas pode ser muito útil para a realização de pré-testes.

A Tabela 3 traz alguns exemplos da especiação de cobre em amostras naturais, com o objetivo de ilustrar que só foi possível obter estes resultados devido ao rígido procedimento analítico aqui descrito, desde a amostragem, o manuseio, até a análise do metal. Estes exemplos também ilustram a importância do controle da contaminação para uma diversidade de ambientes, incluindo água de chuva, onde a concentração de cobre dissolvido total atingiu valores tão baixos quanto 1,5 e 2,0 nmol L⁻¹, mas ainda assim foi possível determinar a fração lábil do metal.

Tabela 3. Especiação de cobre (concentração em nmol L⁻¹) para amostras de águas naturais de Florianópolis, SC, incluindo uma amostra de Urussanga, SC. Cobre dissolvido total refere-se à amostra acidificada e irradiada para destruição da matéria orgânica, enquanto cobre lábil é aquele avaliado na amostra apenas filtrada, e sem qualquer outro tratamento. A concentração do cobre complexado pela matéria orgânica foi calculada pela diferença entre as outras duas espécies

amostra	Cu dissolvido total	Cu lábil	Cu orgânico
água de chuva			
01/02/00	1,5	0,2	1,3
16/03/00	2,0	1,4	0,6
17/07/00 (Urussanga)	6,9	2,5	4,4
Praia Sto Antonio de Lisboa	4,4	2,4	2,0
Rio João Gualberto	3,0	1,3	1,7

CONCLUSÕES

Visto que a alta sensibilidade das técnicas analíticas já é um requisito disponível para determinação de metais traços em águas naturais, provavelmente um dos maiores desafios hoje é evitar a contaminação das amostras, desde a coleta até a análise. Portanto, a purificação de reagentes, análise freqüente de brancos e de amostras certificadas, cuidados especiais na amostragem e manuseio estão entre os requisitos indispensáveis para a obtenção de dados consistentes sobre a biogeoquímica de metais no meio ambiente. A observação desses requisitos, descritos em detalhe neste trabalho, assegurou o baixo nível de cobre residual nos reagentes e em todo o processo de manuseio e análise das amostras. Os baixos valores de chumbo e cádmio nos brancos de reagentes demonstraram o bom controle da contaminação também para esses metais.

Os métodos alternativos aqui discutidos de purificação de água contaminada com cobre usando uma suspensão de MnO₂, e a destilação do HCl e NH₃ em um recipiente plástico, ao invés do tradicional destilador de quartzo, demonstraram ter grande eficiência na remoção de metais, além de serem métodos muito simples e baratos.

Algumas publicações a respeito da certificação de amostras de água do mar e de exercícios de calibração^{9,10,21} ilustram a sofisticação tecnológica dos laboratórios envolvidos. Porém, este trabalho vem demonstrar que é possível realizar análises de metais no nível de traço e ainda avaliar sua especiação química em amostras de ambientes costeiros e de águas de chuva, em um laboratório comum, sem mesmo uma bancada de fluxo laminar e com o mínimo de investimento financeiro.

AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos ao CNPq pela concessão da bolsa de Pesquisadora Visitante para M. L. A. M. Campos, à CAPES por conceder as bolsas de mestrado aos alunos A. Bendo e F. C. Viel, aos professores A. Spinelli e D. R. Zanette por ceder os equipamentos indispensáveis para realização do trabalho, à Pós graduação em Química da UFSC pelo apoio financeiro, e à EPAGRI de Urussanga pela coleta das amostras de chuva naquela cidade.

REFERÊNCIAS

- Widdows, J.; Donkin, P. Em *The Mussel Mytilus: Ecology, Physiology, Genetics and Culture*; Gosling E., ed.; Elsevier: Amsterdam, 1992, cap. 8.
- Kennish, M. J.; *Practical Handbook of Estuarine and Marine Pollution*, CRC Press: Marine Science Series, 1996.
- Libes, S. M.; *An Introduction to Marine Biogeochemistry*, Wiley: New York, 1992.
- Boyle, E. A.; Sclater, F. R.; Edmond, J. M.; *Earth Planet. Sci. Lett.* **1977**, *37*, 38.
- Schaule, B. K.; Patterson, C. C.; *Earth Planet. Sci. Lett.* **1981**, *54*, 97.
- Florence, T. M.; Batley, G. E.; *Crit. Rev. Anal. Chem.* **1980**, *9*, 219.
- Benoit, G.; Hunter, K. S.; Rozan, T. F.; *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 1006.
- Batley, G.E.; *Mar. Pollut. Bull.* **1999**, *39*, 23.
- Landing, W. M.; Cutter, G. A.; Dalziel, J. A.; Flegal, A. R.; Powell, R. T.; Schmidt, D.; Shiller, A.; Statham, P.; Westerlund, S.; Resing, J.; *Mar. Chem.* **1995**, *49*, 253.
- Quevauviller, Ph.; Kramer, K. J. M.; van der Vlies, E. M.; Vercoutere, K.; Griepink, B.; *Mar. Pollut. Bull.* **1992**, *24*, 33.
- van den Berg, C. M. G. Em *Chemical Oceanography*, Riley, J. P., ed.; Academic Press: London, 1988, cap. 51.
- Campos, M. L. A. M.; van den Berg, C. M. G.; *Anal. Chim. Acta* **1994**, *284*, 481.
- van den Berg, C. M. G.; *J. Electroanal. Chem.* **1986**, *215*, 111.
- Campos, M. L. A. M.; Mello, L. C.; Zanette, D. R.; Sierra, M. M. de S.; Bendo, A.; *Quím. Nova* **2001**, *24*, 257.
- Statham, P. J.; Howard, A. G.; *Inorganic Trace Analysis Philosophy and Practice*, Wiley: New York, 1993.
- Campos, M. L. A. M.; *Tese de Doutorado*, Universidade de Liverpool, Reino Unido, 1992.
- Achterberg, E. P.; *Tese de Doutorado*, Universidade de Liverpool, Reino Unido, 1993.
- Chester, R.; *Marine Geochemistry*, Unwin Hyman: London, 1990.
- Achterberg, E. P.; van den Berg, C. M. G.; Boussemart, M.; Davison, W.; *Geochim. Cosmochim. Acta* **1997**, *61*, 5233.
- Ellis, L. A.; Roberts, D. J.; *J. Anal. At. Spectrom.* **1998**, *13*, 631.
- Cornelis, R.; Dyg, S.; Griepink, B.; Dams, R.; *Fresenius' J. Anal. Chem.* **1990**, *338*, 414.