

VANESSA EGÉA DOS ANJOS

**ESPECIAÇÃO DE COBRE E ARSÊNIO NO COMPLEXO
ESTUARINO DA BAÍA DE PARANAGUÁ**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química, Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Paraná.

Orientador:

Prof. Dr. Marco Tadeu Grassi

Co-orientadora:

Prof.^a Dr.^a Sueli Pércio Quináia

Curitiba

2006

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais,

Aos meus amigos e orientadores Prof. Dr. Marco Tadeu Grassi e Profa. Dra. Sueli Pércio Quináia,

Aos integrantes e amigos do Grupo de Química Ambiental,

Aos ex-integrantes do GQA e amigos Fernando Fabríz Sodré e Ellen Christine Prestes,

À Profa. Dra. Orliney Maciel Guimarães,

Ao Prof. Dr. Gilberto Abate,

À Profa. Dra. Anne Helenne Fostier (Unicamp),

À Profa. Dra. Ana Teresa Lombardi (UFSCAR),

À Profa. Dorly de Freitas Buchi (UFPR - Setor de Ciências Biológicas),

À Profa. Eunice da Costa Machado (UFPR – Centro de Estudos do Mar),

Ao pessoal do LabQAM,

Aos meus amigos,

Ao CNPq,

À CAPES,

À UFPR,

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFPR.

RESUMO

Neste trabalho foram estabelecidas bases analíticas para a análise de especiação do cobre e arsênio em águas marinhas. Na implantação dos protocolos de especiação para cobre e arsênio, as principais ferramentas analíticas empregadas foram a espectroscopia de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (EAA-FG) e técnicas voltamétricas de redissolução catódica.

A análise de especiação do cobre foi realizada por voltametria adsortiva de redissolução catódica aliada à técnica do ligante de competição empregando salicilaldoxima (SA). A implantação desse procedimento foi realizada através de otimização conduzida por um planejamento fatorial 2^3 . A maior sensibilidade analítica foi alcançada na ausência de tampão, na presença de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de SA e tempo de deposição de 180 s. Por meio de titulações voltamétricas foi possível determinar a concentração de cobre na forma lábil e com aplicação de uma equação de linearização dos dados obtidos nas titulações foi possível avaliar as características de complexação das amostras, ou seja, a concentração de sítios disponíveis e valores de constante de estabilidade condicional para o cobre.

Neste trabalho também foi desenvolvido e implantado um protocolo analítico para a análise da especiação de arsênio em águas marinhas aliando duas técnicas; a voltametria e a espectroscopia de absorção atômica. Na determinação do arsênio inorgânico [As(III) e As(V)] foi empregada voltametria de redissolução catódica de onda quadrada (VRCOQ), através da formação do complexo intermetálico formado entre As-Cu-Se. Para a determinação dos teores totais de arsênio, recuperável e dissolvido, foi empregada a EAA-FG utilizando filamento de tungstênio como superfície de atomização. Todos os procedimentos empregados na análise de especiação de arsênio se mostraram adequados, apresentando ótima sensibilidade e baixos limites de detecção, sendo $0,06 \mu\text{g L}^{-1}$ para As(III), $0,02 \mu\text{g L}^{-1}$ para As(V) e $0,73 \mu\text{g L}^{-1}$ para As total.

Além disso, foram avaliados o comportamento e a dinâmica do cobre e do arsênio nas águas da Ilha do Mel, Guaraqueçaba e Paranaguá, localizados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá (CEP), no Paraná. Campanhas para coleta de amostras foram realizadas em março, setembro e dezembro de 2005.

As concentrações totais de cobre, em média, foram superiores para Guaraqueçaba ($4,27 \mu\text{g L}^{-1}$), seguido das amostras de Paranaguá ($3,55 \mu\text{g L}^{-1}$) e Ilha do Mel ($1,62 \mu\text{g L}^{-1}$). As concentrações de cobre na Ilha do Mel são semelhantes aos valores

encontrados em regiões estuarinas menos impactadas. De uma maneira geral, para as amostras do CEP o cobre encontrou-se preferencialmente associado ao material particulado ou complexado por ligantes fortes na fração dissolvida. A fração de cobre lábil (biodisponível) representou menos de 10% do cobre total nas amostras do CEP. Com a avaliação do coeficiente de distribuição (K_D) foi possível observar que as amostras da Ilha do Mel e Paranaguá foram aquelas que apresentaram níveis mais elevados de cobre associado a materiais coloidais, o que pode indicar que a remoção do Cu da coluna de água através de sedimentação ocorra de maneira mais acentuada em Guaraqueçaba. Avaliando a distribuição em função da salinidade observou-se que o cobre apresentou um comportamento conservativo durante a mistura de águas doces e marinhas, no CEP.

Com relação ao arsênio, as concentrações totais em média foram superiores para Paranaguá ($22,5 \mu\text{g L}^{-1}$), seguido das amostras de Guaraqueçaba ($14,4 \mu\text{g L}^{-1}$) e Ilha do Mel ($8,74 \mu\text{g L}^{-1}$). Os teores encontrados neste trabalho são superiores a outros ambientes estuarinos, onde normalmente as concentrações variam entre 1 e $2 \mu\text{g L}^{-1}$. Tal fato pode estar relacionado a fatores geológicos; porém observou-se neste trabalho que o ambiente mais impactado por atividades antrópicas, ou seja, Paranaguá apresentou níveis mais elevados de As, o que pode ser um indicativo que as atividades antrópicas desenvolvidas na região contribuem para o enriquecimento do ambiente com este.

O As foi encontrado preferencialmente na fração dissolvida, representando mais de 70% do teor total, o que pode representar um maior tempo de residência desse metalóide na coluna de água. A presença de microalgas foi determinante no comportamento do As nas águas do CEP, pois as espécies orgânicas que são consideradas menos tóxicas foram encontradas em concentrações superiores nas regiões mais eutrofizadas, isto é, Guaraqueçaba e Paranaguá, durante o verão. Acredita-se que isto seja devido à atividade biológica. O comportamento do As também se mostrou conservativo nas águas do CEP durante a mistura de águas doces e marinhas.

Além desses aspectos, também foram avaliadas as características da matéria orgânica dissolvida, utilizando procedimentos baseados na fluorescência molecular. Foi possível identificar diferenças quanto às características da matéria orgânica. As principais causas dessas diferenças encontradas parecem estar relacionadas com as distintas origens da matéria orgânica dissolvida presentes nos ambientes estudados do CEP.

ABSTRACT

The analytical bases for the speciation analyses of copper and arsenic in seawater were developed in this dissertation. The two major analytical tools employed to carry out the speciation analyses were atomic absorption spectroscopy, coupled with a graphite furnace, and voltammetry.

The speciation analysis of copper was accomplished by using the competing ligand exchange-adsorptive cathodic stripping voltammetry (CLE-AdCSV) with salicylaldoxime (SA). This procedure was carried out by means of a factorial design optimization (2^3). The highest analytical sensitivity was achieved in the absence of the pH buffer, $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ of SA and deposition time of 180 s. Labile copper concentrations were determined using voltammetric titrations. The evaluation of copper complexation behavior was achieved by mathematical treatment of the titration datapoints. A linearization technique was employed to determine Cu-binding ligand concentrations and their conditional stability constants.

An analytical protocol for the speciation analysis of arsenic in seawaters was also developed in this work. Two techniques were combined for this task: voltammetry and atomic absorption spectroscopy. Square Wave Cathodic Stripping Voltammetry (SWCSV) was used in the determination of inorganic species [As(III) and As(V)], throughout the formation of an inter-metallic complex involving As-Cu-Se. Total arsenic concentrations were measured by atomic absorption spectroscopy with a tungsten coil as the atomization surface. All the procedures employed in the speciation analysis of arsenic showed good results with suitable sensitivity and detection limits (D.L). The D.L. were $0.06 \mu\text{g L}^{-1}$ for As(III), $0.02 \mu\text{g L}^{-1}$ for As(V) and $0.73 \mu\text{g L}^{-1}$ for total As.

The behavior and dynamics of copper and arsenic at Ilha do Mel, Guaraqueçaba and Paranaguá, located in the Paranaguá Bay Estuary Complex (CEP), Paraná, were investigated in this work. Samples were collected in March, September, and December of 2005.

On average, the total copper concentration was $4.27 \mu\text{g L}^{-1}$ for Guaraqueçaba, followed by Paranaguá ($3.55 \mu\text{g L}^{-1}$) and Ilha do Mel ($1.62 \mu\text{g L}^{-1}$). The copper total concentrations in Ilha do Mel is similar to the concentrations found in less impacted estuaries. In general, copper was preferentially found in association to the particulated matter or complexed by strong ligands in the dissolved fraction. Labile copper, i.e. the bioavailable fraction represented less than 10% of the total copper in the samples of the

Paranaguá estuary. Partition coefficient (K_D) data allowed us to observe that copper was primarily associated with the colloidal solids in Ilha do Mel and Paranaguá samples. The distribution of the copper as a function of the salinity was also investigated and it was possible to notice that copper presented a conservative as a result of the mixture among fresh and seawaters in the estuary.

With respect to the arsenic behavior, the total concentrations were higher to Paranaguá ($22.5 \mu\text{g L}^{-1}$) on average, followed by the samples of Guaraqueçaba ($14,4 \mu\text{g L}^{-1}$) and Ilha do Mel ($8,74 \mu\text{g L}^{-1}$). The concentrations found in this work were consistently greater when compared to other estuaries. Concentrations reported in the literature usually varied from 1 to $2 \mu\text{g L}^{-1}$. The results found in this work can be attributed to geological factors. Nevertheless, it was also possible to realize that higher concentrations were found in Paranaguá, the more impacted environment. These results represent a strong indication that human activities in that area contribute to the enrichment of the estuary with this metalloid.

As was mainly present in the dissolved phase, which corresponded to more than 70% of the total concentration. This behavior can represent a greater residence time of this metalloid in the water column. The marine phytoplankton presence was decisive in dictating the distribution of As in the waters of CEP estuary. Organic species, which are considered the less toxic, were found in higher concentrations in the eutrophic areas such as Guaraqueçaba and Paranaguá. This was a typical behavior during the summer probably due to the higher biological activity. Arsenic also showed a conservative behavior in the waters of Paranaguá estuary as a result of fresh and seawater mixing.

Finally, throughout molecular fluorescence spectra it was possible to identify differences with respect to the characteristics of the dissolved organic matter found in the samples of Paranaguá estuary. This differences found among studied environments seem to be related with distinct origins of the origins of the dissolved organic matter of the environments.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. OBJETIVOS	19
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
3.1. Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá - CEP	26
3.2. Especiação de Metais e Metalóides em Ambientes Estuarinos	30
3.2.1. <i>Comportamento do cobre em estuários</i>	31
3.2.2. <i>Comportamento do arsênio em estuários</i>	39
3.3. Métodos Analíticos Empregados na Especiação do Cobre e Arsênio em Amostras de Águas Estuarinas	45
3.3.1. <i>Especiação do cobre em amostras de águas estuarinas</i>	51
3.3.2. <i>Especiação do arsênio em amostras de águas estuarinas</i>	53
4. MATERIAL E MÉTODOS	57
4.1. Reagentes	57
4.2. Equipamentos	58
4.3. Locais de Amostragem	58
4.4. Técnicas Limpas	60
4.4.1. <i>Limpeza dos Materiais</i>	61
4.5. Coleta das amostras	61
4.6. Análise de Especiação do Cobre	62
4.7. Análise de Especiação do Arsênio	66
4.8. Caracterização da Matéria Orgânica Dissolvida por Fluorescência Molecular	69
4.9. Análises complementares	69

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
5.1. Otimização do procedimento de Digestão Fotoquímica.....	70
5.2. Implantação e Otimização do Procedimento para Especificação do Cobre ...	74
5.2.1. <i>Determinação de cobre lábil</i>	82
5.3. Implantação e Otimização do Procedimento de Especificação do Arsênio	88
5.3.1. <i>Arsênio inorgânico</i>	88
5.3.2. <i>Arsênio orgânico</i>	100
5.3.3. <i>Arsênio total</i>	102
5.4. Avaliação do Comportamento do Cobre e Arsênio nas Águas do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá (CEP)	112
5.4.1. <i>Comportamento do Cobre</i>	117
5.4.2. <i>Comportamento do Arsênio</i>	131
5.4.3. <i>Caracterização da Matéria Orgânica Dissolvida empregando Espectroscopia de Fluorescência Molecular</i>	143
6. CONCLUSÕES	154
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	160

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema representativo da distribuição de metais traço em estuários. Adaptado a partir de Fernandes, 2001.	23
Figura 2. Comportamentos conservativo e não conservativo de metais em estuários. (Church e Scudlark, 1998).	25
Figura 3. Representação esquemática do Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP) e sua localização geográfica (Lamour, <i>et al.</i> , 2004).	26
Figura 4. Fotos do Canal Anhaia localizado próximo ao Porto de Paranaguá (Disponível em http://www.cargill.com.br).	29
Figura 5. Esquema representativo da distribuição do cobre em águas naturais. No destaque, forma do cobre presente no material particulado. Adaptado de Florence, 1982; Stumm e Morgan, 1996; Twiss <i>et al.</i> , 2001 e Sodré, 2005.	33
Figura 6. Esquema representativo da distribuição do arsênio em águas estuarinas.	41
Figura 7. Estruturas químicas das espécies orgânicas de arsênio que podem ser encontradas em águas naturais.	42
Figura 8. Esquema ilustrativo da biotransformação do arsênio por microalgas (Hellweger <i>et al.</i> , 2003).	44
Figura 9. Esquema representativo do tempo de escala difusional e dimensões espaciais para a gama de processos ambientais e sensores analíticos (van Leeuwen <i>et al.</i> , 2005).	47
Figura 10. Esquema do mecanismo da determinação de arsênio inorgânico por voltametria de redissolução (Carvalho <i>et al.</i> , 2004).	55
Figura 11. Figura ilustrativa do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá (CEP) com a localização dos pontos de amostragem	59
Figura 12. Fotografias dos locais de amostragem no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá na Enseada do Benito, Saco do Limoeiro e Canal Anhaia.	60
Figura 13. Fluxograma do procedimento adotado na especiação de cobre em águas naturais.	65
Figura 14. Fluxograma do procedimento adotado na especiação de arsênio em águas naturais.	68
Figura 15. Espectros de emissão de fluorescência em unidades arbitrárias para amostra de água marinha sem irradiação e após diferentes períodos de irradiação na presença de H ₂ O ₂	72
Figura 16. Teores médios de cobre total recuperável (CuTR) e cobre total dissolvido (CuTD) de uma amostra de água marinha determinados por voltametria em duplicata, após processo de digestão fotoquímica e por espectroscopia de absorção atômica.	74
Figura 17. Diagrama para interpretação do efeito do tampão, concentração de SA e tempo de deposição no planejamento fatorial 2 ³	78
Figura 18. Gráficos da adição de padrão para a determinação de CuTD na presença e ausência de tampão.	81
Figura 19. Curva de titulação voltamétrica de uma amostra marinha com cobre.	84

Figura 20. Determinação da capacidade de complexação e constante de estabilidade condicional de uma amostra de água marinha, baseada nos dados de titulação linearizados.....	86
Figura 21. Voltamogramas referentes à determinação de As(III) em água Milli-Q e Água Marinha.....	89
Figura 22. Curvas analíticas da determinação de As(III) por VRCOQ em água marinha e em água Milli-Q.	90
Figura 23. Determinação de As(V) após sua redução para As(III).	92
Figura 24. Gráfico de adição de padrão na determinação voltamétrica do As(V) após reação de redução para As(III).	94
Figura 25. Voltamogramas referentes aos estudos de interferência na determinação de As _{inorg.} . Determinação de As(III) na presença de As(V) e determinação de As(V) na presença de DMA.....	95
Figura 26. Percentual de recuperação para determinação de arsênio inorgânico por voltametria de redissolução catódica de onda quadrada.	97
Figura 27. Curvas de calibração na determinação de arsenito e arsênio total inorgânico por voltametria de redissolução catódica de onda quadrada.....	99
Figura 28. Voltamogramas referentes à determinação de DMA em amostra de água marinha enriquecida com 5,00 µg L ⁻¹ de DMA por VRCOQ, após processos de digestão.	101
Figura 29. Curvas de pirólise na determinação de arsênio empregando diferentes superfícies de atomização.....	106
Figura 30. Estudo da otimização do volume de injeção na determinação de arsênio em águas marinhas utilizando EAA-FG em diferentes superfícies de atomização.....	108
Figura 31. Curvas analíticas para determinação de As por EAA-FG empregando plataforma de L'vov e de Tungstênio como superfícies de atomização.	109
Figura 32. Percentuais de recuperação de arsênio total EAA-FG utilizando plataforma de tungstênio.	111
Figura 33. Valores de pH, salinidade, OD, SST, transparência, clorofila-a, nitrogênio, fósforo e silicato determinados para as amostras da Ilha do Mel, Guaraqueçaba e Paranaguá durante o período de amostragem.....	114
Figura 34. Concentração relativa de cobre para as amostras do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá.....	119
Figura 35. Coeficientes de partição (K_D) em função dos teores de sólidos suspensos totais para cobre.	123
Figura 36. Percentual de cobre total dissolvido em função da salinidade.	125
Figura 37. Concentrações de sítios disponíveis para complexação do cobre em função do período de coleta e valores de constante de estabilidade condicional em termos logarítmicos.	127
Figura 38. Concentrações de cobre complexado em função das suas respectivas concentrações na fração dissolvida para as amostras do CEP.....	129

Figura 39. Distribuição das formas de arsênio nas amostras do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá.	133
Figura 40. Concentração de arsenito, arsênio total orgânico e clorofila-a para as amostras do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá durante os meses de coleta.	134
Figura 41. Concentração de nutrientes dissolvidos, em $\mu\text{mol L}^{-1}$ e arsenato, em $\mu\text{g L}^{-1}$ para as amostras do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá e os meses de coleta.	136
Figura 42. Coeficientes de partição (K_D) para o arsênio em função dos teores de sólidos suspensos totais.....	137
Figura 43. Percentual de arsênio total dissolvido em função da salinidade.	139
Figura 44. Espectros de emissão de fluorescência molecular obtidos para as amostras da Ilha do Mel, Guaraqueçaba e Paranaguá.	146
Figura 45. Espectros de fluorescência sincronizada obtidos para matéria orgânica dissolvida natural e para diferentes frações húmicas. (Peuravuori <i>et al.</i> , 2002).	149
Figura 46. Espectros de fluorescência sincronizada obtidos para as amostras da Ilha do Mel, Guaraqueçaba e Paranaguá.....	150

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estruturas de vários complexos formados entre o cobre e os ligantes de competição utilizado na VARC-CL (Bruland <i>et al.</i> , 2000)	52
Tabela 2. Parâmetros instrumentais das determinações de cobre lábil por voltametria adsortiva de redissolução catódica.....	63
Tabela 3. Parâmetros instrumentais das determinações de cobre total recuperável e cobre total dissolvido por voltametria adsortiva de redissolução catódica.....	64
Tabela 4. Parâmetros voltamétricos empregados nas determinações de As(III) por VRCOQ.....	66
Tabela 5. Programa de aquecimento para a determinação de AsTR e AsTD por EAA-FG	67
Tabela 6. Fatores, níveis e coeficientes de contraste para o planejamento fatorial 2 ³	77
Tabela 7. Resultados do planejamento fatorial 2 ³ expressos em termos da corrente de pico <i>i_p</i> (nA).	78
Tabela 8. Efeitos calculados para o planejamento fatorial 2 ³ e suas estimativas de desvio padrão.....	80
Tabela 9. Resultados dos parâmetros utilizados nos cálculos de LD das determinações de arsenito e arsênio total orgânicos por VRCOQ em amostras marinhas.	99
Tabela 10. Valores mínimos e máximos, para os parâmetros aquáticos determinados para as amostras da Ilha do Mel, Guaraqueçaba e Paranaguá do CEP nas três campanhas de amostragem.....	113
Tabela 11. Concentrações de cobre e sua distribuição entre as frações recuperável, particulada, dissolvida, complexada e lábil nas águas do CEP para os meses de março, setembro e dezembro de 2005.	117
Tabela 12. Valores de concentração de arsênio, e distribuição entre as frações recuperável, particulada, dissolvida, inorgânica e orgânica nas águas do CEP para os meses de março, setembro e dezembro de 2005.	131

LISTA DE SIGLAS E ACRÔNIMOS >

APA	Área de Proteção de Guaraqueçaba
As _{Inorg}	Arsênio Inorgânico
As _{Org}	Arsênio Orgânico
As(III)	Arsenito
As(V)	Arsenato
As-MP	Arsênio associado ao Material Particulado
AsPart	Arsênio Particulado
AsTD	Arsênio Total Dissolvido
AsT _{inorg}	Arsênio Total Inorgânico
AsT _{org}	Arsênio Total Orgânico
AsTR	Arsênio Total Recuperável
BG	Background, sinal de fundo
bzac	Benzoilacetona
CC	Capacidade de Complexação
Cd	Concentração do Metal presente na Fração Dissolvida
CEM	Centros de Estudos do Mar
CEP	Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá
C _L	Concentração de Sítios de Ligação Disponíveis ou Capacidade de Complexação
CLE-AdCSV	Competing Ligand Exchange-Adsorptive Cathodic Stripping Voltammetry - Voltametria Adsorptiva de Redissolução Catódica aliada a Técnica de Troca por Ligante de Competição
Cp	Concentração do Metal associado ao Material Particulado
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
Cu-SA	Complexo eletroativo formado entre Cobre e Salicilaldoxima
CuL	Cobre Complexado
CuLábil	Cobre Lábil

> Acrônimos e siglas foram empregados, nesta dissertação, respeitando-se a forma como têm sido utilizados pela comunidade química brasileira. As siglas foram traduzidas naqueles casos onde existem normas ou consenso em relação ao seu uso na língua portuguesa. Nos demais casos, foram mantidos os termos originais em inglês.

CuL _c	Cobre complexado pelo Ligante de Competição
Cu-MOD	Cobre complexado pela Matéria Orgânica Dissolvida
Cu-MP	Cobre associado ao Material Particulado
Cu-Org	Cobre complexado por ligantes Orgânicos
CuPart	Cobre Particulado
CuS	Cobre complexado por Sulfeto
Cu-Se-As	Complexo Intermetálico formado com Cobre, Selênio e Arsênio
CuTD	Cobre Total Dissolvido
CuTR	Cobre Total Recuperável
DET	Diffusive Equilibration in Thin Films – Técnica Difusiva de Equilíbrio em Filme Finos
DGT	Diffusive Gradients in Thin Films – Gradiente Difusivo em filmes finos
DMA	Ácido Dimetilarsínico
DMT	Donnan Membrane Technique – Técnica de Membrana Donnan
EAA	Espectroscopia de Absorção Atômica
EAA-FG	Espectroscopia de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica em Forno de Grafite
E _{dep}	Potencial de Deposição
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
EPC	Efeito de Concentração de Partículas
FeAsS	Mineral Arsenopirita
GIME	Gel-Integrated Microelectrode – Microeletrodo Integrado a Gel
GQA	Grupo de Química Ambiental
IAP	Instituto Ambiental do Paraná
i _p	Intensidade de Corrente de Pico
IHSS	International Humic Substances Society
k	Número de fatores utilizados em um planejamento fatorial
K'	Constante de Estabilidade Condicional
K' _{CuL}	Constante de Estabilidade Condicional do Complexo CuL
K' _{CuSA}	Constante de Estabilidade Condicional do Complexo CuSA
K _D	Coefficiente de Partição
L _c	Ligante de Competição
LD	Limite de Detecção
LDT	Linha de Diluição Teórica

m	Coeficiente Angular da Equação de Reta de uma Curva Analítica
MMA	Ácido Monometilarsônico
MOD	Matéria Orgânica Dissolvida
MP	Material Particulado
NTA	Ácido nitrilotriacético
OD	Oxigênio Dissolvido
•OH	Radical Hidroxila
OMS	Organização Mundial de Saúde
ox	Oxima
PLM	Permeation Liquid Membrane – Permeação em Membrana Líquida
SA	Salicilaldoxima
SA'	Concentração de Salicilaldoxima Não Complexada pelo Cobre
S _{br}	Sinal Médio do Branco
s _{br}	Desvio Padrão do Branco
S _m	Sinal Mínimo Distinguível
SST	Sólidos Suspensos Totais
T _{atom}	Temperatura de Atomização
T _{dep}	Tempo de Deposição
T _{pirol}	Temperatura de Pirólise
trop	Tropolona
UFPR	Universidade Federal do Paraná
U.S.EPA	United States Environmental Protection Agency – Agência de Proteção Ambiental Norte Americana
VR	Voltametria de Redissolução
VRA	Voltametria de Redissolução Anódica
VRC	Voltametria de Redissolução Catódica
VRCOQ	Voltametria de Redissolução Catódica de Onda Quadrada
VRCPD	Voltametria de Redissolução Catódica de Pulso Diferencial
α'	Coeficiente – α Global do Cu ²⁺
α _{Cu'}	Coeficiente – α para os Complexos Inorgânicos de Cobre
α _{CuSA}	Coeficiente – α para o Complexo CuSA
β' _{Cu(SA)₂}	Constante de Estabilidade Condicional do Cu(SA) ₂
β' _{Cu(OH)}	Constante ácida para o cobre
β' _{CuXi}	Constante de estabilidade para os complexos de cobre com ânions

	maiores
λ	Comprimento de Onda
λ_{em}	Comprimento de Onda de Emissão
λ_{exc}	Comprimento de Onda de Excitação

1. INTRODUÇÃO

O trabalho realizado nesta dissertação de mestrado envolveu essencialmente dois tópicos: (i) implantação e validação de metodologias analíticas para análises da especiação de cobre e arsênio em amostras de águas marinhas e (ii) avaliação da especiação geoquímica do cobre e do arsênio nas águas do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá. O desenvolvimento deste trabalho contou com o emprego de uma ampla variedade de técnicas analíticas, tais como a voltametria, espectroscopia de absorção atômica e espectroscopia de fluorescência molecular.

O termo especiação de espécies metálicas e metalóides consiste em identificar e quantificar a distribuição de diferentes formas e espécies desses elementos em uma matriz específica. O conhecimento da especiação é uma questão importante, pois é a ferramenta que mais subsidia a avaliação dos efeitos ecotoxicológicos da presença de metais e metalóides em ambientes aquáticos (Mozeto e Jardim, 2002).

O estudo da especiação de metais e metalóides em águas naturais, principalmente em águas estuarinas, necessita de métodos analíticos capazes de caracterizar, quantificar e identificar as forma e espécies desses elementos em tais ambientes. Essas técnicas analíticas devem ser adequadas para o tipo de amostra e também para a concentração do analito em que se deseja determinar. Nesse contexto, o interesse pela avaliação do comportamento dos metais em ambientes aquáticos tem levado ao desenvolvimento e aprimoramento de inúmeras técnicas analíticas com o intuito de obter resultados confiáveis. Assim, o desenvolvimento de métodos analíticos representa um papel de destaque no cenário científico (Grassi, 2001 e van Leeuwen *et al.*, 2005).

A avaliação da especiação do cobre e arsênio nas águas do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá (CEP) foi realizada neste trabalho. O CEP é um ambiente de extrema importância para os ecossistemas costeiros, pois apresenta uma ampla variedade de ambientes e na região coexistem atividades pesqueira, urbana, portuária, industrial e turística. Tais atividades podem influenciar na qualidade das águas do CEP. Estudos preliminares realizados pelo Centro de

Estudos do Mar da Universidade Federal do Paraná demonstram que as concentrações de Cu e As nos sedimentos deste ambiente são elevadas. Portanto, estudos sobre o comportamento e dinâmica do cobre e arsênio são essenciais na avaliação dos efeitos da presença desses elementos na coluna de água no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá.

2. OBJETIVOS

Os objetivos gerais do presente trabalho consistem em avaliar o comportamento do cobre e do arsênio, através dos estudos das suas especiações, em águas superficiais amostradas em diferentes locais do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá (CEP). Aplicando diversas abordagens e empregando uma série de procedimentos experimentais, foi dada ênfase aos aspectos mais específicos:

- i. Otimização de um protocolo para digestão de amostras marinhas.
- ii. Implantação e validação de um protocolo analítico para determinação da especiação de cobre empregando voltametria adsortiva de redissolução catódica aliada à técnica de troca por ligante de competição.
- iii. Implantação e validação de um protocolo analítico para a determinação de As(III), As(V) e As_{org} empregando voltametria de redissolução catódica com varredura por onda quadrada e espectroscopia de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite.
- iv. Avaliação da especiação geoquímica do cobre e do arsênio na coluna de água em três ambientes com distintos graus de trofia do CEP, um ambiente oligotrófico, outro eutrófico natural e um eutrófico antrópico.
- v. Avaliação da influência de efeitos sazonais no comportamento do cobre e arsênio.
- vi. Caracterização da matéria orgânica dissolvida oriunda dos ambientes com diversos graus de eutrofização através de diferentes técnicas espectroscópicas de fluorescência.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os oceanos cobrem cerca de 70% da superfície terrestre e contêm alguns dos sistemas mais complexos existentes, a destacar os estuários (Day *et al.*, 1989). Estuários podem ser definidos como corpos de águas costeiras semi-fechados que apresentam uma conexão livre com o oceano adjacente, no interior dos quais a água marinha é mensuravelmente diluída pela água doce derivada da drenagem continental (Pritchard, 1967).

Nos estuários ocorrem interações dinâmicas entre as águas doces, marinhas, o sistema terrestre e a atmosfera. E normalmente, estes ambientes apresentam intensas variações nas suas características biogeoquímicas que influenciam o comportamento de inúmeras espécies químicas, tais como metais traço, metalóides, nutrientes, entre outros.

Os estuários são sistemas que se movem e que mudam constantemente em resposta aos ventos, às marés e ao escoamento dos rios, sendo esse processo de circulação das águas chamado de hidrodinâmica estuarina. A hidrodinâmica do estuário condiciona a distribuição e o transporte de vários constituintes dissolvidos e particulados no sistema, tais como matéria orgânica, sedimentos, nutrientes, microrganismos, metais, entre outros.

O processo de circulação das águas no estuário está vinculado a fatores meteorológicos, como ventos e chuvas, oceanográficos, como ondas e maré e ainda fatores geológicos como o tipo de sedimento e quantidade de descarga de água doce (Church e Scudlark, 1998). A compreensão deste processo vital não constitui uma tarefa trivial, pois sistemas estuarinos apresentam complexas interações entre os processos físicos, químicos, geológicos e biológicos e uma alta variabilidade espaço-temporal de suas propriedades (Kjerfve, 1990).

As condições hidrodinâmicas de circulação dos estuários estimulam a produtividade biológica nestes corpos de água. Portanto, são ambientes únicos, onde importantes ecossistemas se desenvolvem. Tais ecossistemas destacam-se por sua alta produção biológica, que decorrem: (i) da alta diversidade de sistemas produtores, como manguezais e fitoplâncton, (ii) do abundante suprimento de nutrientes provenientes de aportes fluviais, pluviais e antropogênicos, (iii) da

renovação de água nos ciclos de maré, (iv) da rápida remineralização e conservação de nutrientes através de uma complexa cadeia trófica, que inclui organismos (Day *et al.*, 1989) e (v) da troca de nutrientes e outras propriedades biogeoquímicas entre os sedimentos e a coluna de água estuarina, através dos processos de erosão e ressuspensão dos sedimentos de fundo (Nichols, 1986).

Além desses aspectos, as condições hidrodinâmicas da circulação dos estuários, ao mesmo tempo em que estimulam a produtividade biológica também são muito atrativas e intensamente utilizadas para o desenvolvimento das sociedades humanas, ao longo do tempo (Church e Scudlark, 1998). Cerca de 60% das grandes cidades mundiais se desenvolveram em torno dos estuários. O crescimento das cidades ao longo dos estuários mostra a importância dessas áreas no desenvolvimento social, urbano e econômico (Molisani, 2005). Essa importância está relacionada a fatores tais como a facilidade de se instalar portos para facilitar transportes comerciais, constituição de vias de acesso para o interior do continente e também por ser uma fonte importante de recursos biológicos para o consumo humano.

Deste modo a utilização dos estuários para o desenvolvimento humano e a manutenção das suas características ecológicas vem sendo um grande desafio para pesquisadores e legisladores de políticas e ações para a preservação desses ambientes. Pois, o aumento do aporte de metais e nutrientes nos oceanos tem ocorrido nos últimos anos devido a crescente urbanização das zonas costeiras o que provocou um intenso povoamento das margens e bacias de drenagem dos sistemas estuarinos, tornando esses ambientes vulneráveis a diversas atividades antrópicas, como aporte de esgoto doméstico e industrial, efluentes da agricultura, entre outros. A marcada ação antrópica que vem ocorrendo nos ambientes estuarinos acaba acarretando pronunciada degradação dessas áreas, comprometendo a qualidade das águas (Kennish, 1986; Montovanelli, 1999).

Um dos principais impactos observados em regiões estuarinas está relacionado ao processo de eutrofização, que é ocasionado pelo aumento do aporte de nutrientes como carbono, nitrogênio e fósforo, sendo que a principal via de entrada de nutrientes nestes ambientes é através do aporte fluvial. A

eutrofização resulta em modificações das condições ambientais através do crescimento excessivo de algas, da redução dos níveis de oxigênio dissolvido, podendo comprometer a qualidade das águas (Cloern, 2001; Pereira Filho *et al.*, 2003).

Além do aporte de nutrientes em estuários outras espécies químicas tais como metais, metalóides e matéria orgânica podem entrar nesses ambientes. Portanto, os estuários apresentam um papel importante, pois constituem o caminho através do qual a água doce e os sedimentos são transportados dos rios para o oceano (Church e Scudlark, 1998). Por exemplo, o cobre é principalmente transportado dos rios para ambientes marinhos através de estuários. A magnitude do aporte de metais para o ambiente marinho depende dos níveis em que esses metais se encontram nas águas dos rios e nos processos físicos, químicos e biológicos que acontecem nos estuários (Waeles *et al.*, 2004). De maneira que, as formas nas quais os metais traço se encontram no ambiente aquático podem sofrer alterações decorrentes da hidrodinâmica estuarina. Portanto, a compreensão do comportamento de metais traço em ambientes estuarinos depende do conhecimento dos processos físicos, químicos e biológicos que ocorrem em tais ambientes.

Com relação ao comportamento de metais traço em ambientes estuarinos, estes elementos encontram-se distribuídos entre duas fases, a dissolvida e a particulada. Sendo que a dinâmica dos metais pode ser considerada complexa, pois os metais estão sujeitos a inúmeras interações tanto na fração dissolvida como na fração particulada.

Em estuários, os metais podem sofrer interações com o material em suspensão, complexantes inorgânicos e orgânicos e sedimentos. Estas interações podem sofrer alterações devido às características dinâmicas desses elementos em função das mudanças de salinidade, temperatura, pH, oxigênio dissolvido que ocorrem no processo de mistura entre águas doces e marinhas (Grassi, 2001; Cabelo-García e Prego, 2003). A Figura 1 mostra um esquema representativo das possíveis interações dos metais traço nos ambientes estuarinos.

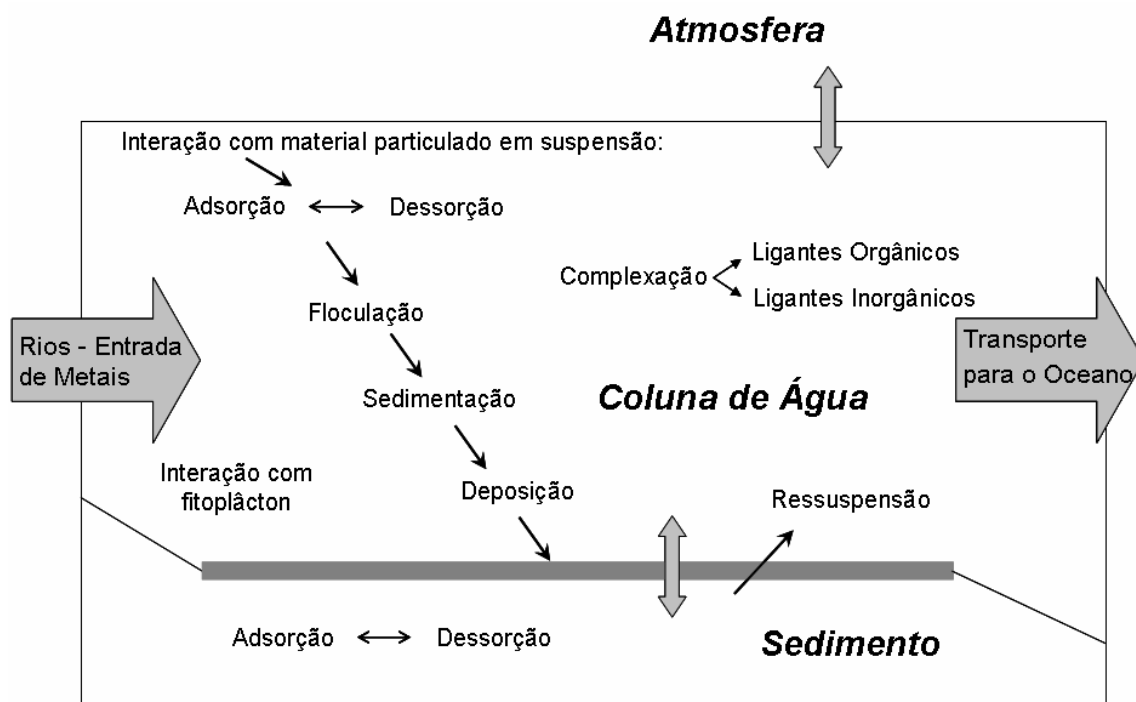


Figura 1. Esquema representativo da distribuição de metais traço em estuários. Adaptado a partir de Fernandes, 2001.

Na Figura 1 é possível observar que quando um metal traço entra em um estuário a partir do aporte de águas doces ele está sujeito a inúmeros processos de associação, de maneira que esse elemento é controlado pela hidrodinâmica estuarina resultante do encontro de águas doces com águas marinhas, distribuindo-se em duas fases: dissolvida e particulada (Church e Schudlark, 1998).

Na fase particulada, o metal pode se associar às partículas sólidas em suspensão através de processos de adsorção, floculação e sedimentação podendo por isso se depositar no sedimento, sendo este seu destino final. Entretanto, com a ressuspensão dos sedimentos o metal pode ser remobilizado para a coluna de água (Church e Schudlark, 1998). A fase dissolvida, dependendo do equilíbrio com a fase particulada, pode receber contribuições importantes de metais oriundos das regiões de interface entre a coluna de água e sedimentos (Cabelo-García e Prego, 2003).

Na fração dissolvida, o metal pode circular no estuário podendo sofrer complexação por ligantes orgânicos, como a matéria orgânica dissolvida, complexação por ligantes inorgânicos, como carbonatos, hidroxila, sulfetos, etc. (Cabelo-García e Prego, 2003).

Portanto, em estuários a partição do metal entre as fases particulada e dissolvida é um mecanismo regulador do seu transporte para ambientes marinhos (Fernandes, 2001). Sendo que o papel dos estuários no controle dos constituintes dos rios que alcançam o oceano tem sido um dos principais aspectos nos estudos geoquímicos de balanço de massa de espécies químicas, notadamente de metais traço (Loder e Reichard, 1981).

Em estuários, devido ao processo de mistura de águas doces e marinhas as espécies metálicas particuladas e dissolvidas estão sujeitas às alterações em função do pH, salinidade, entre outros parâmetros. As mudanças nesses parâmetros podem acarretar na precipitação de espécies dissolvidas ou ainda na redissolução de materiais anteriormente presentes em sólidos suspensos ou nos sedimentos. Os elementos que não sofrem alterações durante o processo de mistura de águas doces e marinhas, ou seja, aqueles elementos que não precipitam ou não dissolvem apresentam um comportamento que é denominado conservativo. Para outros elementos metálicos, o estuário age como um recipiente de reações químicas e biológicas de maneira que as concentrações desses elementos podem aumentar ou diminuir, dependendo da precipitação e/ou redissolução durante o processo de mistura, apresentando, portanto, um comportamento não conservativo (Grassi, 2001).

Uma das maneiras clássicas de se investigar os processos químicos com respeito à propriedade conservativa de espécies de interesse em regiões de mistura em estuários consiste em analisar como varia a concentração da espécie de interesse em função da salinidade, a qual é empregada como referência de diluição por se tratar de uma propriedade conservativa. A avaliação da propriedade conservativa e não conservativa de metais traço em ambientes estuarinos está exemplificada na Figura 2 (Loder e Reichard, 1981; Church e Scudlark, 1998; Campos e Jardim, 2003).

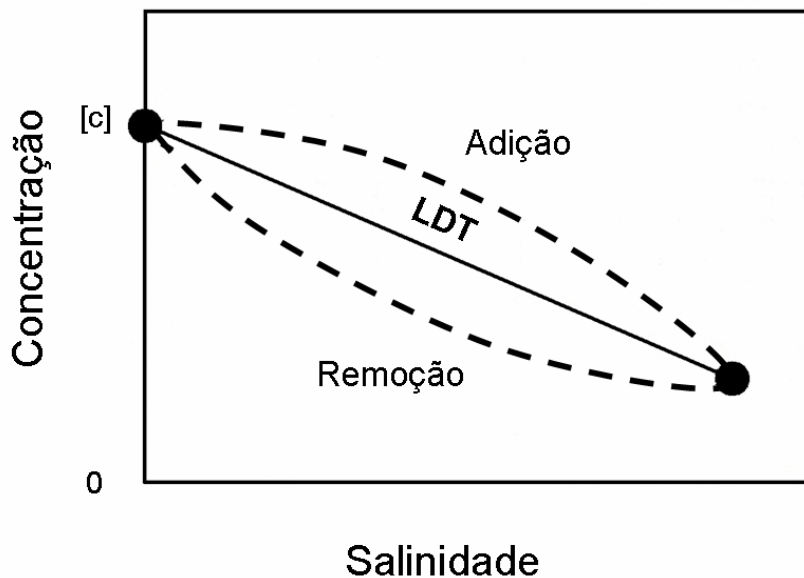


Figura 2. Comportamentos conservativo e não conservativo de metais em estuários. Linha de diluição teórica (LDT) indica a diluição ideal de um metal traço dissolvido em função do gradiente de salinidades. Linhas tracejadas indicam os efeitos de adição ou remoção de metais na mistura de águas doces e marinhas em um estuário (Church e Scudlark, 1998).

A Figura 2 mostra um gráfico da avaliação do comportamento do metal durante a mistura entre águas doces e marinhas no qual a concentração dissolvida de uma espécie metálica de interesse está relacionado com o gradiente de salinidade. Geralmente, este gráfico é utilizado para interpretar processos conservativo ou não conservativo em sistemas estuarinos. Se a concentração varia linearmente em função da salinidade, como na linha de diluição teórica (LDT) o comportamento do metal no processo de mistura estuarina é dito conservativo. Se a concentração do metal não exibe uma variação linear com a salinidade, resultando em uma linha curva, é dito que o metal traço apresenta um comportamento não conservativo, indicando que o metal sofre um processo de adição ou remoção durante a mistura de águas doces e marinhas (Loder e Reichard, 1981; Church e Scudlark, 1998).

Há vários fatores que podem conduzir a adição ou remoção de metais traço durante a mistura estuarina, resultando em desvios da linha de diluição teórica (LDT). Entre os processos de adição pode ocorrer liberação do metal por perturbação do sedimento pela maré, dessorção do metal das partículas em

suspensão e ainda adição oriunda de fontes antropogênicas. Os processos de remoção típicos do metal são: a remoção por interações biológica, floculação de materiais coloidais contendo metais e adsorção em partículas sólidas (Cabelo-García e Prego, 2003).

Devido a todos os aspectos, é possível notar que os ambientes estuarinos são extremamente complexos e a dinâmica de espécies químicas, notadamente de metais traço, nestes locais, depende de inúmeros processos físicos, químicos e biológicos que estão interligados.

3.1. Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá - CEP

A região escolhida para o desenvolvimento do presente trabalho foi o Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá (CEP), situado na costa sul do Brasil, no litoral paranaense, entre 25°16' e 25°34' de latitude sul e 48°17' e 48°42' W de longitude (Sá, 2003). Essa região de estudo está representada na Figura 3.

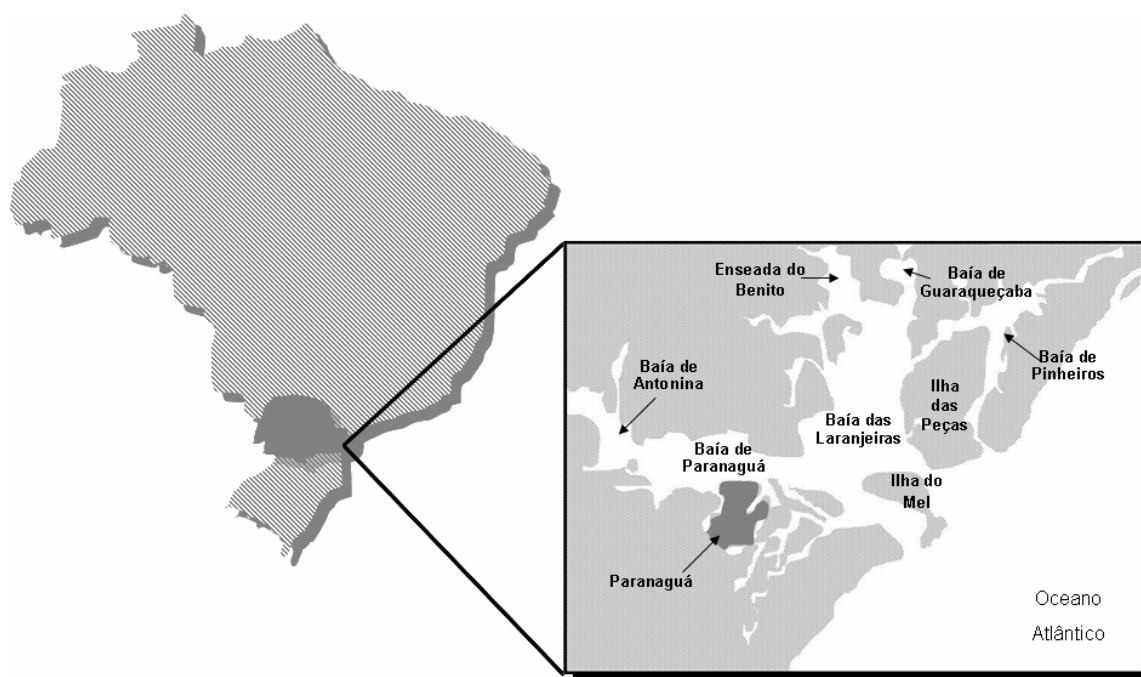


Figura 3. Representação esquemática do Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP) e sua localização geográfica (Lamour, *et al.*, 2004).

O estuário mostrado na Figura 3 é composto basicamente por corpos de água com dois eixos de orientação. No eixo norte-sul encontra-se as Baías das Laranjeiras, Guaraqueçaba e Pinheiros e no eixo leste-oeste encontra-se as Baías de Antonina e Paranaguá. A conexão do CEP com o oceano se processa através dos canais da Galheta, Norte e Superagüi, sendo ao redor da Ilha do Mel a principal entrada ao sistema estuarino (Montovanelli, 1999; Lana *et al.*, 2001).

O CEP abrange uma superfície líquida de 601 km² e tem um volume de água da ordem de 2x10⁹ m³ (Knoppers *et al.*, 1987), drenando aproximadamente 70% da área da bacia hidrográfica litorânea do Estado do Paraná. As Baías de Antonina e de Paranaguá sofrem maior influência do aporte de água continental, equivalente a 54% da área de drenagem de todo o complexo (Montovanelli, 1999). Por exemplo, para a Baía de Paranaguá são drenadas águas dos rios da Serra Negra, Nhundiaquara, Cachoeira e Guaraguaçu, sendo que a cidade de Paranaguá está localizada entre dois rios, o Emboguaçu e o Itiberê.

A região de estudo deste trabalho abriga inúmeras unidades de conservação ambientais estaduais e federais, tendo destaque a Área de Proteção Ambiental de Guaraqueçaba, a Estação Ecológica de Guaraqueçaba, o Parque Nacional do Superagüi, a Estação Ecológica Ilha do Mel, entre outras (NIMAD, 1994). A relevância ecológica do CEP é ainda determinada pela sua imensa diversidade de ambientes, incluindo planícies de maré, baixios, costões rochosos, marismas, canais de maré e manguezais, cujo funcionamento é inteiramente influenciado pela hidrodinâmica estuarina (Lana, 1986; Ribas, 2004).

Com relação às atividades humanas predominantes na região, observa-se que são intensas as atividades desenvolvidas no âmbito do CEP, pois nela coexistem atividades pesqueiras, urbanas, portuárias e industriais, tais como indústria de fertilizantes e estocagem de produtos químicos (Sá, 2003). Destacam-se ainda as baías de Antonina e de Paranaguá, pela maior urbanização, que ocorre nas suas margens e por abrigarem portos e um terminal petrolífero.

O CEP apresenta um papel fundamental no desenvolvimento econômico do estado do Paraná, devido principalmente à intensa atividade portuária, e em segundo plano encontram-se as atividades pesqueiras e turísticas da região. Tem

destaque nessa região o Porto de Paranaguá, que é considerado o primeiro em exportação de grãos da América Latina, e também o terminal petrolífero da PETROBRÁS (Soares e Barcelos, 1995; Camargo, 1998).

As atividades portuárias, turísticas e pesqueiras são responsáveis por um intenso tráfego de navios de grande porte e também embarcações de pequeno porte utilizadas em atividades de pesca ou lazer, resultando em um risco eminente de contaminação das baías por inúmeras substâncias como petróleo e derivados, substâncias transportadas comercialmente, etc. A contaminação da região por petróleo e derivados pode comprometer a qualidade das águas na região e deve-se principalmente a possibilidade de acidentes durante o carregamento e descarregamento de petróleo no terminal petrolífero do Porto de Paranaguá, além das colisões e naufrágios que podem resultar na perda de carga, da lavagem de tanques de petróleo com água do mar ou ainda devido a tanques com vazamentos (Ribas, 2004).

A qualidade das águas do CEP também pode ser afetada pelo lançamento de efluentes domésticos e industriais provenientes das áreas urbanizadas (Ribas, 2004). A falta de captação e tratamento adequados do esgoto doméstico não ocorre somente nas áreas mais urbanizadas, mas em todo o CEP. A situação é mais grave no entorno da cidade de Paranaguá, que possui maior índice demográfico do litoral (Ribas, 2004). Nessa cidade a rede de coleta e tratamento de esgoto é inexistente ou ineficiente e muitas vezes o esgoto *in natura* é lançado em rios e canais, como por exemplo, nos rios Itiberê, Enbogaçu e canal do Anhaia, ou ainda diretamente na baía (Kolm *et al.*, 2002). Estas situações podem ser ilustradas através das fotografias mostradas na Figura 4.



Figura 4. Fotos do Canal Anhaia localizado próximo ao Porto de Paranaguá (Disponível em <http://www.cargill.com.br>).

A Figura 4 mostra fotografias do Canal Anhaia, localizado próximo ao Porto de Paranaguá, onde ocorre aporte de esgoto bruto. Pode-se observar a presença de lixo tanto nas águas quanto nas margens do canal. Tal circunstância certamente pode comprometer a qualidade dessas águas, representando uma situação de impacto ambiental nessa região.

Outra característica do CEP está relacionada à atividade portuária e aos processos freqüentes de dragagem realizadas para a manutenção e para o aumento da profundidade dos canais de navegação. As atividades de dragagem podem causar a ressuspensão de sedimentos, modificando suas condições químicas. Essa situação representa um risco iminente de liberação de elementos químicos para a coluna de água (Sá, 2003).

Metais e metalóides geralmente estão presentes no sedimento, em diversas formas, principalmente ligados aos sulfetos. Devido ao processo de dragagem, os sulfetos podem ser rapidamente oxidados quando os sedimentos são remobilizados, liberando metais e metalóides para a coluna de água, de maneira que esses elementos podem ser encontrados em formas biodisponíveis para a biota aquática (Sá, 2003).

Estudos recentes da avaliação do impacto das atividades de dragagem na região portuária da Baía de Paranaguá realizadas pelo Centro de Estudos do Mar (CEM) da Universidade Federal do Paraná demonstram que as concentrações

totais de arsênio e cobre nos sedimentos podem ser consideradas elevadas, estando acima dos limites críticos adotados pela Legislação Canadense, por exemplo (Sá, 2003).

Neste sentido, estudos sobre o comportamento e dinâmica do cobre e arsênio são essenciais na avaliação dos efeitos da presença desses elementos na coluna de água no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá. A especiação desses elementos, ou seja, as formas nas quais estes se encontram no ambiente são determinantes nos seus efeitos tóxicos para a biota aquática.

3.2. Especiação de Metais e Metalóides em Ambientes Estuarinos

Metais traço apresentam um papel importante no funcionamento da vida em nosso planeta. Alguns são considerados micronutrientes essenciais, tais como ferro, manganês, cobre, cobalto, zinco e selênio, entretanto podem se tornar tóxicos em concentrações mais elevadas. Enquanto outros não têm função biológica conhecida, como o cádmio, chumbo, mercúrio (Templeton *et al.*, 2000), e também o arsênio que é considerado um metalóide, porque apresenta propriedades de metais e não-metais, sendo que é geralmente considerado um metal devido aos seus efeitos tóxicos (Church e Scudlark, 1998).

Os efeitos nocivos atribuídos a metais estão diretamente relacionados às formas em que esses elementos se encontram nos ambientes, isto é, com a sua especiação (Baird, 2002). O termo especiação consiste em identificar e quantificar a distribuição de diferentes formas e espécies de um elemento em uma matriz específica. E pode ser classificada de duas maneiras: a especiação física e a especiação química. A especiação física distingue o metal entre as frações dissolvida e particulada, enquanto que a especiação química avalia a distribuição do metal entre as formas complexada ou não-complexada, e ainda a distinção entre diferentes estados de oxidação (Twiss *et al.*, 2000). Sendo que a especiação fornece informações do ponto de vista ecotoxicológico, de maneira que possibilita prever a real toxicidade das espécies metálicas para a biota aquática (Twiss *et al.*, 2001).

Portanto, o conhecimento da especiação de metais traço é um aspecto imprescindível no conhecimento da reatividade, biodisponibilidade e efeitos dessas espécies em ambientes aquáticos (Twiss *et al.*, 2001 Mozeto e Jardim, 2002 e Meylan *et al.*, 2004).

A contaminação de ambientes marinhos por metais traço ocorre de maneira lenta e, por este motivo, pode-se considerar erroneamente que não traz efeitos graves. Entretanto, os metais são persistentes, se acumulam nos organismos e seus efeitos serão sentidos quando toda a cadeia alimentar estiver com níveis acima dos suportáveis (Bruland *et al.*, 1991). Assim, a avaliação dos riscos da presença de metais em tais ambientes deve ser realizada do ponto de vista da especiação, de maneira a se compreender os processos que governam a biodisponibilidade de metais traço para os organismos aquáticos (van den Berg, 1998; Twiss *et al.*, 2000).

Em ambientes marinhos a presença de metais traço deve-se ao transporte dessas espécies através de estuários, principalmente. Logo, a compreensão dos processos que governam a biodisponibilidade de metais em estuários é uma questão relevante, porém não é uma tarefa trivial, visto que o comportamento dessas espécies pode sofrer alterações devido às características muito dinâmicas de tais ambientes (Waeles *et al.*, 2004).

3.2.1. Comportamento do cobre em estuários

O cobre é considerado um micronutriente essencial para várias funções biológicas e integridade estrutural de tecidos para vários organismos, principalmente para o organismo humano. Porém, quando presente em concentrações elevadas, o cobre pode apresentar efeitos tóxicos (Mylon *et al.*, 2003). A deficiência de cobre está relacionada com anemia, mas sua ingestão diária excessiva pode causar complicações hepáticas (Pereira Filho, 2003). Muitos dos efeitos tóxicos dependem fortemente da forma em que o cobre se encontra no ambiente, ou seja, depende da sua especiação.

Por exemplo, em águas oceânicas é mundialmente aceito que o metabolismo do fitoplâncton, que são organismos microscópicos que compõem o

primeiro elo da cadeia alimentar em águas (Campos e Jardim, 2003), não é apenas controlado por nutrientes como nitrato e fosfato, mas também por certos elementos traço tais como cobre, ferro e zinco. Porém, o cobre pode exercer efeito tóxico agudo para o fitoplâncton quando sua concentração na forma iônica livre é superior a 10^{-11} mol L⁻¹ (Shank *et al.*, 2004).

Neste contexto, a análise da especiação de metais traço é um aspecto relevante. Em águas naturais a análise da especiação de espécies metálicas é importante no conhecimento da sua reatividade, biodisponibilidade nos ambientes aquáticos (Twiss *et al.*, 2001; Meylan *et al.*, 2004). Devido a estes aspectos, o cobre é amplamente empregado nos estudos de especiação de metais em águas naturais e o seu comportamento pode servir como modelo no conhecimento da dinâmica de outras espécies metálicas como o chumbo, cádmio, zinco, entre outros.

O cobre encontra-se originalmente distribuído no meio ambiente por força de ciclos biogeoquímicos da matéria, de maneira que as fontes naturais responsáveis pelo transporte deste elemento para ambientes aquáticos incluem o intemperismo de rochas e solos, deposição atmosférica seca e úmida, entre outras. Inúmeras atividades antrópicas contribuem para o aporte do cobre em ambientes aquáticos, como por exemplo, as atividades industriais, de mineração, refinamento de petróleo, queima de combustíveis fósseis (Gibbs, 1970; Gibbs, 1973; Goyer, 1996). Como as atividades humanas são muito variadas, também o são as formas e os níveis de contaminação que as espécies metálicas podem proporcionar, de maneira que o aporte de cobre em sistemas aquáticos pode promover alterações significativas no comportamento físico, químico e biológico tanto do corpo receptor como do próprio metal (Vega *et al.*, 1998 e Velásquez *et al.*, 2002).

Uma vez presente em estuários o comportamento, distribuição, transporte e a biodisponibilidade do cobre são controlados por inúmeros processos biogeoquímicos tais como complexação, adsorção, dessorção, precipitação e redissolução, que ocorrem tanto na coluna de água quanto no sedimento (Stumm e Morgan, 1996; Gerringa *et al.*, 1998; Botelho *et al.*, 2002). Sabe-se que por se

tratar de um ambiente de mistura, alguns parâmetros sofrem constantes alterações, como sólidos suspensos, salinidade, pH, que podem mudar a especiação de metais traço em estuários, e conseqüentemente podem alterar a reatividade e a assimilação dessas espécies pelos organismos aquáticos (Hudson, 1998, Vasconcelos *et al.*, 2002; Mansilla-Rivera e Nriagu, 2003). Portanto, em alguns ambientes estuarinos o comportamento do cobre é considerado não conservativo, ou seja, sofre alterações durante o processo de mistura de águas doces e marinhas. Entretanto, em outros ambientes estuarinos o cobre pode apresentar um comportamento conservativo, não sofrendo alterações durante o processo de mistura (Waeles *et al.*, 2005).

Com relação ao comportamento do cobre em águas estuarinas, é descrito que este metal está presente em diversas formas. A Figura 5 apresenta, de maneira simplificada, as possíveis formas nas quais o cobre pode ser encontrado em águas estuarinas.

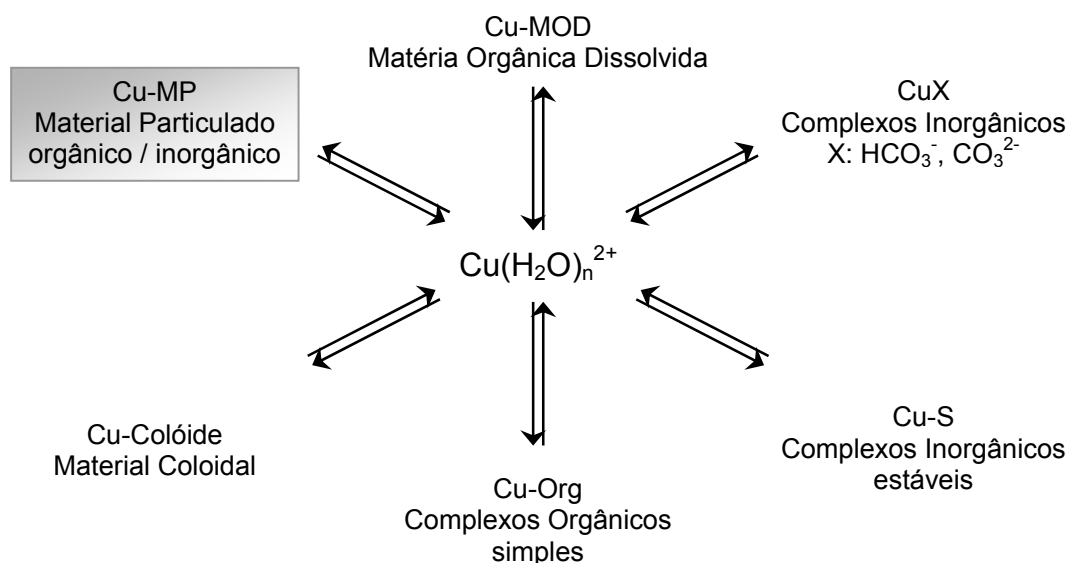


Figura 5. Esquema representativo da distribuição do cobre em águas naturais. No destaque, forma do cobre presente no material particulado. Adaptado de Florence, 1982; Stumm e Morgan, 1996; Twiss *et al.*, 2001 e Sodré, 2005.

A Figura 5 evidencia a distinção entre o cobre presente no material particulado, na caixa sombreada, e as demais formas de distribuição do metal na coluna de água. A separação destas frações é considerada arbitrária e dependente de condições operacionais (Benoit *et al.*, 1994; Benoit e Rozan, 1999). Considera-se como dissolvida, toda a espécie que é separada de uma amostra de água natural por meio da filtração em uma membrana de 0,45 µm de porosidade (Templeton *et al.*, 2000).

Na forma particulada, o cobre pode ser encontrado associado ao material particulado em suspensão orgânico ou inorgânico (Bruland *et al.*, 1994). O material particulado orgânico refere-se às partículas orgânicas maiores que 0,45 µm que podem surgir da decomposição de organismos aquáticos ou por meio dos produtos de degradação destes organismos (Sigg, 1998). Segundo Sigg (1998) o cobre pode interagir com o fitoplâncton e bactérias nessa fração por meio do processo de adsorção ou pela formação de complexos com grupos funcionais presentes na superfície celular. As partículas inorgânicas podem ser provenientes da ressuspensão dos sedimentos, erosão de solos e deposição atmosférica de aerossóis. Oxi-hidróxidos de ferro, manganês e alumínio e argilominerais silicatados, são exemplos de partículas minerais nas quais o cobre pode estar associado à fração particulada (Sigg, 1998; Nelson *et al.*, 1999).

A interação do cobre com as partículas sólidas em suspensão depende das características físicas e químicas dessas partículas, e pode ser através da adsorção, floculação, troca iônica e sedimentação, podendo por isso se depositar nos sedimentos, sendo este o seu destino final. Porém, o metal presente nos sedimentos pode ser remobilizado para a coluna de água dependendo das características do sedimento e dos processos de ressuspensão que pode acontecer na mistura de águas doces e marinhas (Lu e Allen, 2001).

Vários fatores podem influenciar a sorção de metais nas partículas inorgânicas, entre eles a cristalinidade, a dimensão da partícula, área superficial, o pH, o recobrimento desse material com matéria orgânica biótica ou abiótica (Sodré, 2005). De fato, Grassi *et al.* (2000) relataram que a presença de partículas

inorgânicas recobertas com matéria orgânica pode alterar significativamente a partição do cobre entre as fases sólidas e dissolvidas, em meio aquoso.

A composição físico-química da coluna de água determina os mecanismos dos processos de associação do metal na forma particulada, coloidal, iônica dissolvida e complexada dissolvida (Muller, 1996). Assim, na fração dissolvida o cobre pode estar presente na forma de íon livre hidratado, complexado e ainda pode estar associado ao material coloidal que se caracteriza por um material sólido que permeia pela membrana de filtração (0,45 μm de porosidade), sendo contabilizado na fração dissolvida (Bruland, 2000).

Com relação à complexação do cobre na fração dissolvida, esta pode ser nas formas inorgânica e orgânica. Os ligantes inorgânicos mais comuns que complexam o cobre são os íons hidroxila, cloreto e carbonato. Estudos recentes têm demonstrado que íons sulfeto podem formar complexos altamente estáveis e solúveis com espécies metálicas em ambientes aquáticos, dominando sua especiação e biodisponibilidade (Benoit e Rozan, 1999; Scheffer *et al.*, 2006). Os ligantes orgânicos incluem os complexantes presentes naturalmente em águas naturais, como por exemplo, a matéria orgânica dissolvida (MOD) e os excretados dos fitoplânctons e, igualmente, os ligantes introduzidos de forma antropogênica em tais ambientes, como o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e o ácido nitrilotriacético (NTA) (Bruland, 2000).

Inúmeros estudos têm demonstrado que a biodisponibilidade do cobre está relacionada à sua fração definida como lábil e não com a concentração total do cobre. A fração lábil compreende o somatório das concentrações do íon metálico livre e dos íons fracamente complexados (Sunda *et al.*, 1976, Xue *et al.*, 2001 e Mylon *et al.*, 2003).

Portanto, em termos de biodisponibilidade, os complexos orgânicos do cobre apresentam um comportamento diferente dos complexos inorgânicos. Alguns autores consideram que complexos inorgânicos são biodisponíveis ou apresentam toxicidade aos organismos aquáticos (Mylon *et al.*, 2003). Dessa forma, considera-se que a toxicidade de cobre é diminuída pela associação com

ligantes orgânicos e ainda pela formação de precipitados (van den Berg e Kramer, 1979; Campos e van den Berg, 1994; Bruland *et al.*, 2000).

O comportamento biogeoquímico do cobre em águas marinhas tem sido muito estudado, sendo que estes estudos apontam que o cobre geralmente encontra-se fortemente complexado pela MOD e ainda, que as concentrações lábeis são bastante reduzidas e controlam a biodisponibilidade do cobre para a biota aquática (Campos e van den Berg, 1994; Twiss e Moffett, 2002 e Shank *et al.*, 2004). Meylan *et al.* (2004) avaliaram a acumulação de cobre por algas em resposta a mudanças na especiação do metal em águas superficiais. Os autores concluíram que a concentração intracelular de cobre variou em função da forma trocável do metal, ou seja, a somatória entre as concentrações do íon livre e de complexos inorgânicos fracos. Assim, dependendo da concentração do metal e do grau de complexação, o metal pode limitar o crescimento de organismos aquáticos.

Neste contexto, vários trabalhos indicam que um dos principais agentes que governam a especiação do cobre em águas marinhas é a matéria orgânica dissolvida (MOD), de maneira que esta substância apresenta um papel importante na avaliação do comportamento desse elemento em ambientes aquáticos (Lombardi, 1995 e Stumm e Morgan, 1996).

3.2.1.1. Matéria orgânica dissolvida (MOD)

Os principais agentes responsáveis pela complexação de metais traço como o cobre, em águas naturais, são as substâncias húmicas aquáticas, que são os constituintes fundamentais da matéria orgânica dissolvida (MOD).

A MOD é formada por uma ampla variedade de compostos, como resultados das inter-relações entre a produtividade primária dos metabolismos de organismos e também de fontes externas, incluindo as contribuições antrópicas (Lombardi, 1995). A formação da MOD é caracterizada pela transformação de biomoléculas durante a degradação de vegetais e animais presentes no ambiente. Devido à variedade das fontes de matéria orgânica são esperadas diferenças nas concentrações e nas composições dessas substâncias nos diversos corpos

aquáticos. Dentre os sistemas aquáticos naturais, os de águas correntes (rios e riachos) são os que possuem maiores produtividades primárias, tipicamente encontram-se concentrações de alguns miligramas de carbono por litro. Em águas oceânicas, são detectadas concentrações na faixa de 0,5 a 1,2 mg C L⁻¹ (Stumm e Morgan, 1996).

Vários trabalhos da literatura mostram que a matéria orgânica de origem marinha é oriunda principalmente das microalgas presentes em oceanos. Benner *et al.* (1992) verificaram que aproximadamente 50% do total da matéria orgânica em águas superficiais é constituída por polissacarídeos, e que esta porcentagem sofre uma redução para 25% em águas profundas. Tal resultado confirma que a atividade biológica de microalgas é um dos aspectos responsáveis pela formação da matéria orgânica marinha.

De uma maneira geral, a matéria orgânica dissolvida apresenta uma estrutura química bastante complexa (Lombardi, 1995), sendo caracterizada por apresentar uma composição heterogênea, grandes variações com relação à massa molar, aos grupos funcionais e com a presença e tipos de radicais livres, dificultando a proposição de um modelo estrutural preciso da sua estrutura química (Han e Thompson, 1999).

Os principais grupos funcionais presentes na MOD são os carboxílicos (-COOH), os fenólicos (Ar-OH), os aminídicos (-NH₂), imidazólicos (Ar-NH), sulfidrílicos (-SH), entre outros. A presença desses grupos funcionais, que podem ser protonados e desprotonados na amplitude de pH encontrada em águas naturais, faz com que a MOD apresente um comportamento polieletrólítico e funcione como agente tamponante de íons metálicos em ambientes aquáticos naturais (Lombardi, 1995).

Assim, a presença da matéria orgânica dissolvida em águas marinhas é importante devido a sua capacidade de formar complexos estáveis com íons metálicos diminuindo a biodisponibilidade de tais espécies para a biota aquática e assim regulando a sua especiação (Sodré, 2005). Ou seja, em estuários a MOD pode alterar a especiação de metais passíveis de complexação, notadamente o cobre, seqüestrando estes íons para o ambiente. Como resultado do seqüestro,

tem-se uma redução do cobre na forma iônica e um aumento na fração complexada, não deixando este elemento atingir níveis tóxicos (Lombardi, 1995).

Segundo Wangerski (1994) as transformações químicas em águas marinhas não podem ser totalmente entendidas sem considerar as reações com a matéria orgânica dissolvida ou por elas mediadas. Esse entendimento pode ser obtido através do conhecimento sobre as variações na composição da MOD ocorridas através de reações químicas e biológicas. Para ser capaz de avaliar a importância das interações entre o cobre e a matéria orgânica dissolvida, são necessárias informações quanto à abundância, a origem, as estruturas da MOD.

Nos vários trabalhos presentes na literatura são relatadas dificuldades em se propor um modelo universal da estrutura química da MOD (Frimmel, 1998). Os métodos mais utilizados na caracterização destas substâncias empregam técnicas espectroscópicas de ressonância magnética nuclear de ^{13}C e ^1H , ressonância paramagnética eletrônica e espectroscopia no infravermelho (Repeta *et al.*, 2002; Rocha e Rosa, 2003). Estas técnicas podem fornecer informações importantes quanto às características dos grupos funcionais orgânicos, estrutura química, aromaticidade, entre outros parâmetros da matéria orgânica dissolvida (Sodré, 2005).

Como a fluorescência é uma propriedade conservativa e intrínseca da matéria orgânica, quer seja de origem marinha ou terrestre, as técnicas de fluorescência podem ser utilizadas na distinção da matéria orgânica quanto a sua natureza, gênese, origem e estrutura. Assim, a espectroscopia de fluorescência molecular pode fornecer inúmeras informações qualitativas e quantitativas relativas à estrutura molecular de substâncias presentes na matéria orgânica dissolvida (Chen *et al.*, 2002), bem como contribuir na elucidação da interação entre a MOD com diferentes espécies metálicas (Rocha e Rosa, 2003; Cao *et al.*, 2004).

Devido, a todos esses aspectos a caracterização da MOD presente em águas estuarinas é uma questão relevante no entendimento do comportamento de metais traço como o cobre em tais ambientes.

3.2.2. Comportamento do arsênio em estuários

Os compostos de arsênio foram venenos comuns usados por assassinos e suicidas desde os tempos dos antigos romanos até a Idade Média. Os compostos de arsênio também foram amplamente usados como pesticidas, antes da era moderna dos compostos orgânicos. Embora seu uso nestas aplicações tenha diminuído, a contaminação por arsênio ainda constitui um problema ambiental em várias regiões do planeta (Baird, 2002).

Nos últimos anos, vários pesquisadores têm dado uma atenção cada vez maior na avaliação da dinâmica do arsênio em ambientes aquáticos, pois as atividades antrópicas têm contribuído no aumento da concentração desse metalóide em águas naturais, de maneira que a atenção de alguns pesquisadores se volta para os estudos da especiação do arsênio devido aos riscos apresentados pela contaminação desse metalóide em ambientes aquáticos (Feeney e Kounaves, 2002). Cabe destacar, que a Agência de Proteção Ambiental Norte-Americana (U.S. EPA) e também a Organização Mundial de Saúde (OMS) reconhecem o arsênio como carcinogênico (U.S. EPA, 2004).

Em Bangladesh, na Índia, ocorreu o pior caso de contaminação de arsênio no mundo (Smedley e Kinniburgh, 2002). O problema foi constatado pela primeira vez em 1993 e confirmado em 1995, quando foi verificado que os poços de água subterrânea utilizados no abastecimento público de 59 distritos de Bangladesh continham níveis elevados de arsênio de origem natural, o que corresponde a 85% da área total do país. Isso significa que cerca de 75 milhões de habitantes dessa região podem apresentar problemas de saúde devido à contaminação por esse metalóide. Pelo menos 1,2 milhões de pessoas nesta região já apresentaram algum sinal de intoxicação devido ao arsênio (Smith *et al.*, 2000). A intoxicação por arsênio pode resultar em efeitos tóxicos agudos ou crônicos ocasionando diferentes patologias, como câncer de pele, erupções cutâneas e problemas gastrintestinais.

Para determinar o risco da presença do arsênio em águas naturais é imprescindível identificar e quantificar os teores totais e também as formas químicas específicas desse metalóide. Ou seja, é necessário conhecer a sua

especiação, pois a toxicidade é depende da sua forma química (Jain e Alli, 2000). Assim, a análise da especiação do arsênio é a ferramenta que permite compreender o seu comportamento biogeoquímico, além de subsidiar uma verdadeira avaliação ecotoxicológica da presença desse metalóide em ambientes aquáticos.

O arsênio pode ser encontrado, principalmente, na forma natural de sulfeto em uma grande variedade de minerais que contém cobre, chumbo, ferro, níquel, cobalto e ferro. Sendo que a forma mais comum é o mineral chamado de arsenopirita que é formado com ferro, FeAsS. O arsênio pode ser incorporado a sistemas aquáticos por meio de inúmeros processos geoquímicos, como o intemperismo de rochas, solos, deposição atmosférica. Algumas atividades antrópicas podem ser citadas como responsáveis por liberações de quantidades significativas deste elemento no ambiente, tais como, tratamento de couro e madeira, uso de pesticidas e herbicidas, mineração e fundição de ouro, chumbo, cobre e níquel, produção de ferro e aço, queima de combustíveis fósseis e também o uso desse metalóide na indústria naval, entre outras (Morita e Edmonds, 1992; Kristen *et al.*, 2000).

Em águas estuarinas, o arsênio pode estar presente em uma ampla variedade de formas químicas que podem ser constantemente transformadas pela ação de microrganismos, por mudanças nas condições biológicas e também por outros processos ambientais que ocorrem nas regiões de mistura entre águas doces e marinhas, como alterações de pH e reações redox (Cullen e Reimer, 1989; Melamed, 2004). Portanto, para alguns estuários o comportamento do arsênio é considerado não conservativo, pois sofre alterações durante o processo de mistura. Entretanto, em outros ambientes estuarinos o arsênio pode apresentar um comportamento conservativo, não sofrendo alterações (Yao *et al.*, 2006).

Devido a estes aspectos, a química aquática do arsênio é complexa e ainda não foi completamente compreendida (Sadiq, 1990). A Figura 6 apresenta, de maneira simplificada, as possíveis formas nas quais o arsênio pode ser encontrado em águas estuarinas.

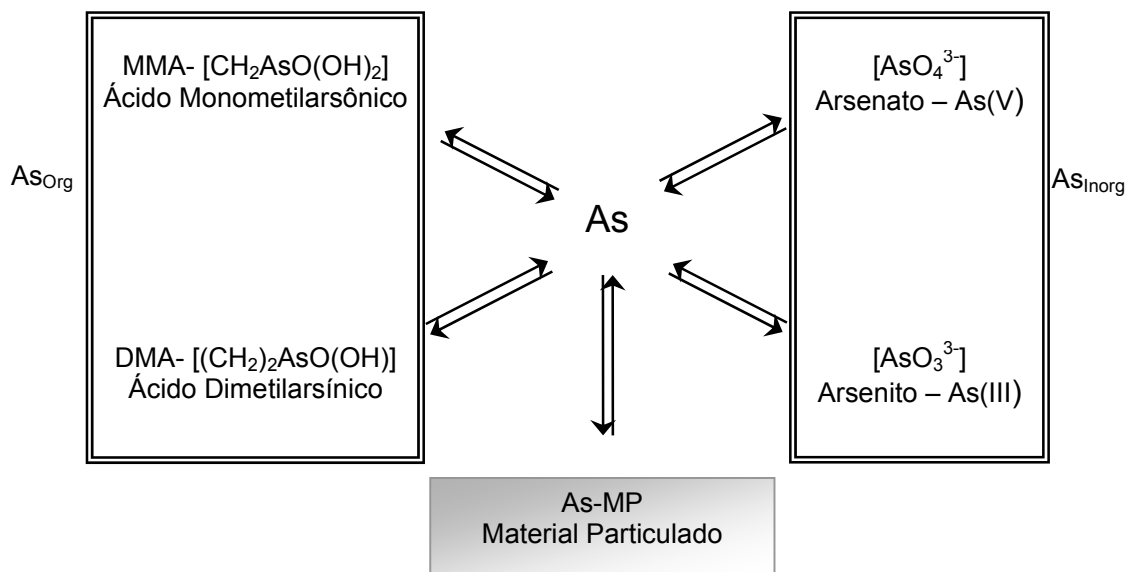


Figura 6. Esquema representativo da distribuição do arsênio em águas estuarinas.

Na Figura 6 pode-se observar a distinção entre o arsênio presente no material particulado, na caixa sombreada, e as formas de distribuição do metal na coluna de água.

Na fração particulada, o arsênio pode estar associado às partículas inorgânicas, principalmente minerais, como oxi-hidróxidos de ferro, que podem ser provenientes da ressuspensão do sedimento, erosão de solos, deposição atmosférica de aerossóis. Os processos de associação do arsênio com sólidos em suspensão particularmente são a adsorção, precipitação, de maneira que esses processos podem ocasionar a sedimentação desse elemento, sendo o seu destino final. Porém, o efeito de maré que ocorre nos ambientes estuarinos pode favorecer a remobilização do arsênio para a coluna de água (Fernandes, 2001). Esses processos de associação são controlados por parâmetros como pH, tipo do mineral, potencial redox e a presença de matéria orgânica (Bissen e Frimmel, 2003). Por exemplo, ácidos húmicos e fúlvicos podem formar complexos estáveis com superfícies minerais (Kaiser *et al.*, 1997), podendo bloquear a adsorção de arsênio em óxidos de ferro, alumina, entre outros minerais (Grafe *et al.*, 2001; Grafe *et al.*, 2002).

A composição físico-química da coluna de água determina as formas que o arsênio pode ser encontrado. Na fração dissolvida, o arsênio pode ser encontrado em vários estados de oxidação, sendo mais freqüentemente encontrado nos estados +3 e +5. As principais formas inorgânicas (As_{inorg}) são o arsenato [AsO_4^{3-}] que é a forma mais oxidada, e o arsenito [AsO_3^{3-}] que é a forma mais reduzida. As formas orgânicas comuns de arsênio (As_{org}) não são derivados metilados simples, mas sim ácidos solúveis em água. Os principais compostos orgânicos são o ácido dimetilarsínico – DMA [$(CH_3)_2AsO(OH)$] e o ácido monometilarsônico – MMA [$CH_3AsO(OH)_2$], ambas as espécies orgânicas resultam de processos mediados biologicamente (Quináia e Rollemberg, 2001). A Figura 7 exibe as estruturas dos compostos orgânicos do arsênio.

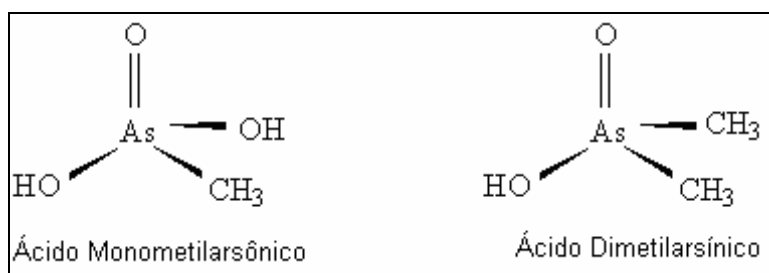


Figura 7. Estruturas químicas das espécies orgânicas de arsênio que podem ser encontradas em águas naturais.

Com relação a toxicidade das espécies de arsênio, sabe-se que ela está diretamente relacionada à sua especiação. É conhecido que os compostos inorgânicos são cerca de cem vezes mais tóxicos que as formas metiladas, MMA e MDA, pois as espécies orgânicas são facilmente excretadas. Com relação à fração inorgânica, acredita-se que o arsenito apresenta uma toxicidade cerca de sessenta vezes superior ao arsenato (Carvalho *et al.*, 2004).

Um dos principais fatores que exerce influência na especiação do arsênio em águas naturais é a presença do fitoplâncton, que exerce um papel importante na biotransformação do arsênio inorgânico em espécies orgânicas (González *et al.*, 2000).

O fitoplâncton constitui uma das comunidades marinhas mais diversas, sendo composto de inúmeras espécies de algas unicelulares. As microalgas do plâncton são organismos fotossintetizantes responsáveis por mais de 90% da síntese da matéria orgânica nos oceanos e contribuem com aproximadamente 95% da renovação anual do oxigênio atmosférico. Além disso, as microalgas são bases da cadeia trófica dos ecossistemas marinhos e são responsáveis pelo equilíbrio metabólico de tais ambientes. Porém, pode-se considerar que em determinadas condições a presença excessiva de microalgas em águas naturais devido ao processo de eutrofização, pode ser nociva (Graham *et al.*, 2000).

As microalgas apresentam superfície carregada e esta característica, as tornam eficientes no seqüestro de muitas espécies químicas, notadamente os metais traço, dependendo da forma em que estes se encontram. A interação entre metais traço e algas é um aspecto importante a se compreender, principalmente pelo fato destes microrganismos poderem biotransformar espécies mais tóxicas em espécies menos tóxicas para a biota aquática, ou ainda, de biotransformar espécies menos tóxicas em espécies mais tóxicas, podendo ocasionar sérios problemas ambientais. (González *et al.*, 2000).

De uma maneira geral, a presença de microalgas em águas naturais pode ser determinante no comportamento do arsênio. O arsenato apresenta uma grande semelhança química com o fosfato, pois estes pertencem ao mesmo grupo na Tabela Periódica tendo por isso configuração eletrônica s^2p^3 . Geralmente, o arsênio comporta-se como o fósforo, embora tenha uma maior tendência para formar ligações iônicas, em vez de covalentes, devido a seu maior caráter metálico (Baird, 2002). Como o fosfato é um micronutriente essencial para o fitoplâncton durante o processo de fotossíntese (Cullen e Reimer, 1989), o arsenato entra no ciclo metabólico das microalgas devido à semelhança entre o fosfato e o arsenato. Após a absorção do arsenato ocorre a sua transformação em arsenito e também em espécies orgânicas de maneira que estes produtos da biotransformação são liberados, conforme Figura 8 (Hellweger *et al.*, 2003).

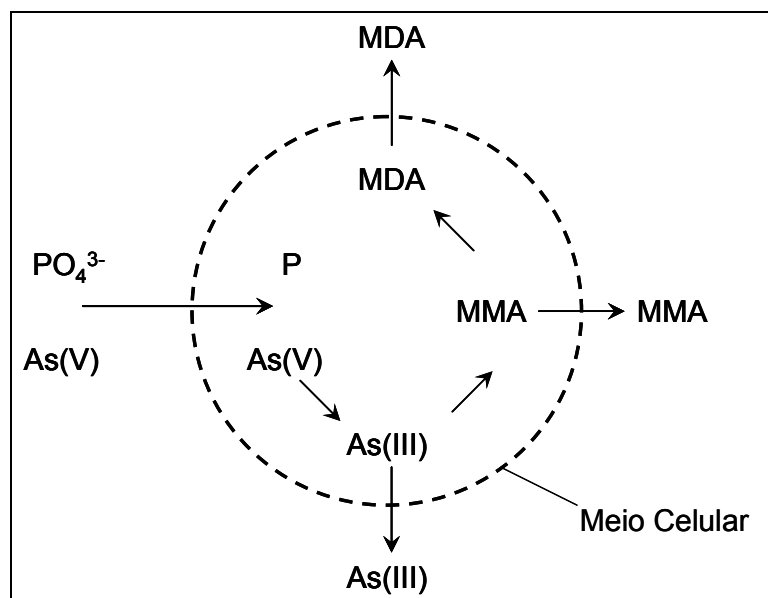


Figura 8. Esquema ilustrativo da biotransformação do arsênio por microalgas (Hellweger *et al.*, 2003).

A Figura 8 mostra um esquema ilustrativo da absorção do arsenato por microalgas, e conseqüentemente a liberação das espécies menos tóxicas, MMA e MDA e a espécie mais tóxica, o arsenito, para o ambiente (Hellweger *et al.*, 2003).

Os estuários são locais que favorecem o crescimento de microalgas, pois as suas características hidrodinâmicas estimulam a produtividade biológica devido ao aporte de nutrientes oriundas de rios. Assim, as formas orgânicas de arsênio podem ser encontradas em águas estuarinas (Howard, 1995). Por exemplo, nos estuários dos Rios Beaulieu e Tamar localizados na Inglaterra cerca de 70% do arsênio dissolvido eram produtos de biotransformação, arsenito e espécies orgânicas, realizada pelo fitoplâncton (Howard *et al.*, 1984). Isso demonstra a importância das microalgas na especiação do arsênio em estuários.

Cabe ressaltar que para o conhecimento da especiação de arsênio e cobre em águas estuarinas é necessário o uso de técnicas analíticas que possibilitem a detecção de diferentes formas que estes elementos se encontram

no ambiente. Dessa forma, os métodos analíticos empregados na análise de especiação é um dos aspectos abordados neste trabalho.

3.3. Métodos Analíticos Empregados na Especiação do Cobre e Arsênio em Amostras de Águas Estuarinas

O interesse no conhecimento da especiação de metais e metalóides em concentrações traços em águas naturais tem levado ao aprimoramento e ao desenvolvimento de várias técnicas analíticas com o intuito de conhecer o transporte, a reatividade, a dinâmica e a biodisponibilidade de tais espécies (Campos e van den Berg, 1994).

A análise da especiação exige uma série de requisitos analíticos imprescindíveis para a obtenção de resultados confiáveis. Tais requisitos incluem aspectos como sensibilidade, precisão, exatidão, faixa de trabalho, necessidade de pré-tratamentos da amostra, custo, entre outros (Bott, 1995).

A especiação do cobre e arsênio pode ser realizada por diversas técnicas analíticas, com diferentes limites de detecção, faixas de trabalho e campos de aplicação. As técnicas mais utilizadas na determinação dessas espécies são: (i) espectroscopia de absorção molecular; (ii) espectroscopia de absorção atômica com atomização por chama ou eletrotérmica; (iii) voltametria; (iv) espectroscopia de massa com plasma acoplado indutivamente; (v) potenciometria, entre outras. Nessas técnicas, podem-se aplicar procedimentos de separação das espécies de interesse baseados em troca iônica, competição por ligantes, extração líquida, diálise, ultrafiltração, etc. Sendo que a separação pode ser ou não acompanhada de pré-concentração (Skoog, 2002). As técnicas utilizadas na determinação do cobre e arsênio apresentam vantagens e desvantagens e vão detectar as espécies de maneiras diferenciadas, baseadas nas propriedades físico-químicas, como tamanho, mobilidade, estabilidade, labilidade entre outras (Omanovic *et al.*, 1996).

As abordagens experimentais e modelagens mais clássicas utilizadas nas análises de especiação de metais são baseadas em princípios de equilíbrio químico. Porém, cabe salientar que os sistemas aquáticos naturais dificilmente se

encontram em equilíbrio, pois sempre estão sujeitos a condições muito dinâmicas e variáveis (van Leeuwen *et al.*, 2005). Nesse contexto, o conhecimento de fatores dinâmicos é importante no estabelecimento de bases analíticas sólidas em estudos envolvendo a especiação de metais traço (Köster *et al.*, 2004).

A análise da especiação dinâmica de metais traço em sistemas aquáticos está surgindo como uma ferramenta poderosa no desenvolvimento de novas estratégias com o intuito de realizar previsões de biodisponibilidade e avaliações confiáveis dos riscos ambientais (van Leeuwen *et al.*, 2005). A especiação dinâmica está relacionada à distribuição das diferentes espécies em equilíbrio, e também com aspectos como cinética e interconversão das espécies (Templeton *et al.*, 2000).

Essas estratégias dinâmicas baseiam-se no uso de dado sensor de especiação que é caracterizado por uma escala de tempo efetiva ou uma janela cinética, sendo possível à determinação de espécies metálicas através de suas labilidades, que são diretamente relacionadas à biodisponibilidade (van Leeuwen *et al.*, 2005).

As técnicas dinâmicas de especiação podem ser definidas como técnicas que se baseiam na detecção do fluxo do metal ou do metal acumulado ao longo de um período, ou ambos. O processo determinante tanto no processo de transporte de metais em sistemas aquáticos quanto no funcionamento adequado de sensores de especiação é a difusão (van Leeuwen *et al.*, 2005). A Figura 9 mostra um esquema representativo da relação entre a escala de tempo para difusão e as dimensões dos sistemas ambientais e dos sensores.

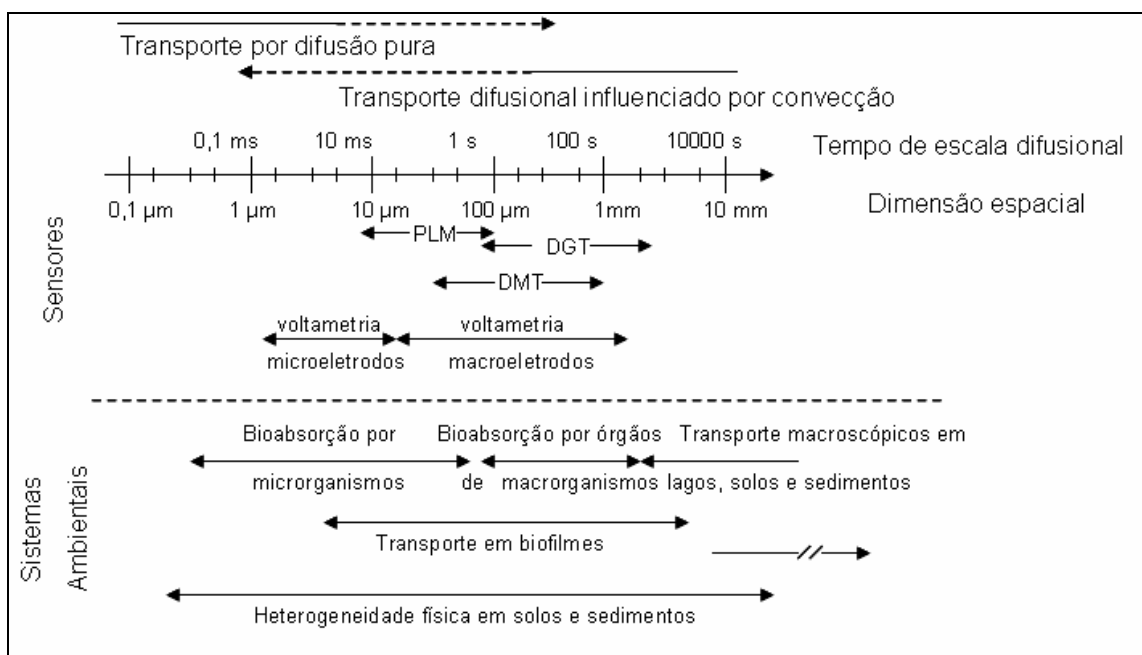


Figura 9. Esquema representativo do tempo de escala difusional e dimensões espaciais para a gama de processos ambientais e sensores analíticos (van Leeuwen *et al.*, 2005).

van Leeuwen *et al.* (2005) relatam que a escala de tempo de difusão apresentada na Figura 9 pode ser comparada com tempos de reação química. Na mesma figura é possível notar que três escalas de tempo estão envolvidas: (a) A escala de tempo de difusão que é importante para o transporte de espécies químicas sobre distâncias tipicamente da ordem de 10 a 100 μm. Por exemplo, esta é a escala de tempo para o transporte de metais através de camadas de difusão através de membranas, como na técnica de permeação em membrana líquida, do inglês permeation liquid membrane, PLM, ou através de camada de gel, técnica de gradientes difusivos em filmes finos, do inglês diffusive gradients in thin film, DGT; (b) A escala de tempo de acumulação, sendo essa escala crucial nos sensores com acumulação de metais ao longo de horas, dias, etc., e é equivalente a acumulação de metais por organismos; (c) A escala de tempo de equilíbrio, que é o tempo necessário para que o sistema entre em equilíbrio.

A técnica dinâmica de gradiente difusivo em filmes finos (DGT) é caracterizada pela determinação das espécies metálicas presentes em águas

naturais que sofreram difusão através de um gel, enquanto que as técnicas de membrana Donnan, do inglês Donnan membrane technique (DMT) e técnica difusiva de equilíbrio em filme fino do inglês diffusive equilibration in thin film (DET) são caracterizadas pela difusão do metal através de uma membrana. Outras técnicas dinâmicas podem ser baseadas no tempo de acumulação que se refere ao tempo durante o qual o metal foi acumulado em um eletrodo (técnica de microeletrodo integrado a gel, do inglês gel-integrated microelectrode, GIME), em uma resina após processo de difusão em géis (DGT) ou em soluções receptoras (DMT) (van Leeuwen *et al.*, 2005). Em muitas dessas técnicas, os sensores para análise de especiação permitem a determinação da especiação *in situ* e podem fornecer sinais analíticos que são baseados em processos dinâmicos ou baseados em sistemas de equilíbrio químico. As técnicas de DGT, DMT e DET e a voltametria de redissolução (VR) são sensores que podem ser baseados em processos dinâmicos ou em processos de equilíbrio (Chakrabarti *et al.*, 1993).

A escolha do procedimento a ser empregado na análise da especiação depende do tipo de informação a ser obtida, bem como os recursos logísticos e operacionais disponíveis. Neste presente trabalho será dado o enfoque para a voltametria que é uma das inúmeras abordagens possíveis para o estudo da especiação.

Diversos métodos voltamétricos têm sido amplamente empregados na análise de especiação de metais e metalóides e apresentam algumas vantagens devido ao baixo custo, à simplicidade, aos baixos limites de detecção, à possibilidade de realizar determinações em matrizes de alta salinidade (van den Berg, 1984; Aleixo, 2003).

A voltametria compreende uma série de métodos eletroanalíticos nas quais as informações sobre o analito são obtidas pela medida da corrente em função de um potencial aplicado, que possibilita a polarização do eletrodo de trabalho, geralmente um eletrodo gotejante de mercúrio. Neste caso, a corrente do eletrodo é monitorada em função de uma varredura sistemática de potencial, proporcionando uma curva de registro de corrente em função do potencial, chamada de voltamograma. A magnitude da corrente é proporcional à

concentração do analito possibilitando uma determinação analítica precisa e representativa (Harris, 2001). Deve-se destacar que esta técnica proporciona a detecção de metais em várias faixas de concentração que podem abranger desde nmol L^{-1} até pmol L^{-1} , principalmente quando são empregadas as técnicas de redissolução, onde é realizada a eletrodeposição da espécie de interesse, em uma etapa chamada de pré-concentração eletroquímica.

A seletividade da voltametria é assegurada por uma reação eletroquímica onde um potencial é aplicado para reduzir ou oxidar a espécie de interesse e assim, depositar o analito no eletrodo de trabalho (Aleixo, 2003). Neste processo gera-se um sinal de corrente de redução ou oxidação que tem origem nos fluxos do analito. O tempo de deposição da espécie de interesse no eletrodo de trabalho, depende das concentrações do metal e tipicamente está numa faixa de 5 a 20 minutos (van Leeuwen e Town, 2002).

Os modos de redissolução são os mais indicados na determinação de concentrações traço, devido a sua alta sensibilidade analítica. Nesse modo, o analito é quantificado através da varredura de potencial, após a aplicação do tempo de deposição do analito no eletrodo de mercúrio. Se na etapa de redissolução ocorre uma re-oxidação do analito é chamada de Voltametria de Redissolução Anódica (VRA), do inglês Anodic Stripping Voltammetry.

Para a determinação de metais traço por VRA o fluxo da redução do metal está relacionada à sua labilidade, pois espécies fortemente complexadas são inertes por voltametria. O fluxo da redução do analito depende da escala de tempo de difusão, que por sua vez pode depender do tamanho do eletrodo do trabalho.

Na VRA o eletrodo de gota pendente de mercúrio se comporta como um cátodo durante a etapa de deposição do analito, também chamada de etapa de pré-concentração, e como um ânodo durante o processo de redissolução, no qual a espécie de interesse é oxidada a sua forma original, gerando uma intensidade de corrente que é proporcional à concentração do analito (Aleixo, 2003).

Por exemplo, na determinação de íons cobre por VRA ajusta-se o potencial do eletrodo a um valor suficientemente negativo capaz de reduzir os íons cobre a cobre metálico, que por sua vez é eletrodepositado no eletrodo de

mercúrio. A eletrólise é feita sob agitação constante para pré-concentrar o cobre na superfície do mercúrio durante um tempo. Este processo depende das características da espécie eletroativa e também da sua concentração.

A pré-concentração faz com que a concentração do analito na gota de mercúrio seja muito maior que na solução, devido ao seu diminuto volume. Assim, obtém-se um sinal analítico maior, o que explica a grande sensibilidade do método. Além disso, a agitação constante durante essa etapa faz com que o transporte de massa por convecção mantenha a concentração da espécie eletroativa junto à superfície do eletrodo igual à do resto da solução, permitindo uma deposição maior do metal em um dado intervalo de tempo de deposição (Aleixo, 2003).

A seguir da etapa de pré-concentração, deixa-se a solução em repouso por alguns segundos para que a concentração do metal depositado homogeneíze-se, entrando em equilíbrio na superfície do eletrodo. No eletrodo de gota de mercúrio esse equilíbrio é atingido após a concentração do metal uniformiza-se pela sua difusão na própria gota.

Na etapa seguinte procede-se a aplicação de uma varredura de potencial no sentido anódico, ou seja, no sentido positivo. Dessa forma, o cobre é redissolvido, retornando à solução, devido à sua reoxidação. Ao ocorrer a reoxidação gera-se uma intensidade de corrente que é proporcional à concentração dos íons cobre em solução.

Na literatura existe uma variedade muito grande de trabalhos que utilizam a VRA na quantificação de metais traço em águas naturais e também no estudo da especiação de metais (Meylan *et al.*, 2003; Sodré *et al.*, 2005; Alonso *et al.*, 2004).

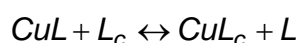
Além da VRA que   empregada na determina o de metais em águas naturais, a Voltametria de Redissolu o Catódica (VRC) também tem sido muito utilizada. A voltametria de redissolu o catódica   precedida por adsor o de um complexo, formado entre o metal e um ligante específico adicionado no meio contendo o metal, na superfície do eletrodo de trabalho de mercúrio. Com a varredura de potencial no sentido catódico o complexo ou o elemento   reduzido,

gerando uma intensidade de corrente que pode ser correlacionada com a concentração do metal (van den Berg, 1998). Como na etapa de pré-concentração do analito no eletrodo envolve uma etapa de adsorção de um complexo com o metal de interesse, a técnica é chamada de Voltametria Adsorptiva de Redissolução Catódica. Essa técnica é muito utilizada na análise de especiação do cobre em águas marinhas, devido a boa sensibilidade dessa técnica (Bruland *et al.*, 2000).

3.3.1. Especiação do cobre em amostras de águas estuarinas

Para a análise da especiação do cobre em águas naturais, podem ser empregados métodos voltamétricos de redissolução altamente sensíveis como a voltametria adsorptiva de redissolução catódica aliada à técnica de troca por ligante de competição, do inglês, Competing Ligand Exchange-Adsorptive Cathodic Stripping Voltammetry (CLE-AdCSV) (van Leeuwen *et al.*, 2005).

Por meio desta técnica, são realizadas determinações de metal lábil, após um tempo de contato, quando é adicionado um ligante que compete com os complexantes presente naturalmente na amostra (Campos e van den Berg, 1994). Portanto, envolve uma reação de troca entre os complexantes do metal presentes na amostra (CuL) com um ligante adicionado, o chamado ligante de competição (L_C), conforme a seguinte reação:



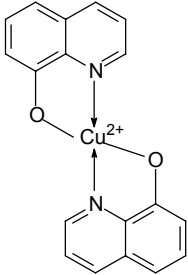
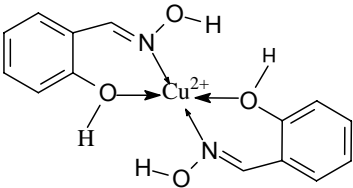
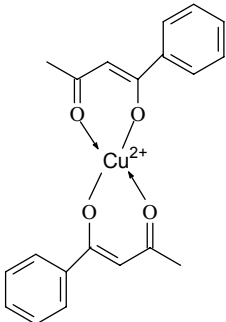
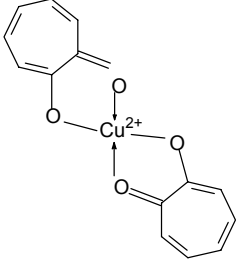
Uma vez estabelecido o equilíbrio da reação de troca, segue-se a detecção do complexo resultante, CuL_C, através da acumulação adsorptiva no eletrodo gotejante de mercúrio e subsequente redução do metal. Assume-se que o equilíbrio foi estabelecido entre o cobre, cobre complexado na amostra (CuL) e o metal complexado com o ligante de competição (CuL_C). O cobre iônico livre mais os complexos fracos que participaram da reação de troca com o ligante de complexação são as espécies que contribuíram no sinal analítico (Bruland *et al.*, 2000; van Leeuwen, 2005).

Resumidamente, nesse método ocorre a adsorção do complexo formado entre o cobre e o ligante de competição na superfície do eletrodo de gota

pendente de mercúrio. Com a varredura do potencial no sentido catódico, o sinal de corrente originado deve-se à redução do Cu^{2+} do complexo adsorvido para Cu^0 .

Existe um grande número de ligantes que podem ser usados na técnica CLE-AdCSV para o cobre, tais como, oxima, tropolona, salicilaldoxima, benzoilacetona, conforme pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1. Estruturas de vários complexos formados entre o cobre e os ligantes de competição utilizado na VARC-CL (Bruland *et al.*, 2000)

Ligante	Complexo $\text{Cu}(\text{L}_c)$
Oxima (ox)	
Salicilaldoxima (SA)	
Benzoilacetona (bzac)	
Tropolona (trop)	

Na Tabela 1 estão apresentados os possíveis ligantes de competição que podem ser utilizados na determinação do cobre por voltametria adsortiva de redissolução catódica. Na mesma tabela estão apresentadas as estruturas dos complexos formados entre os ligantes e o cobre.

Os complexos de cobre com tropolona são comparativamente mais fracos e particularmente estáveis, podendo estar em equilíbrio com o cobre e ligantes naturais da amostra por períodos entre 12 a 15 horas, porém apresentam uma janela de detecção menos ampla (Donat e van den Berg, 1992). Com relação a oxima, os complexos naturais de cobre são facilmente dissociados para formar o complexo de cobre-oxima de alta estabilidade. Quando a salicilaldoxima (SA) é utilizada como ligante de competição, obtêm-se uma maior sensibilidade analítica (van den Berg, 1984; Donat e van den Berg, 1992; Campos e van den Berg, 1994).

Através dessa técnica é possível conhecer as características de complexação do cobre em águas naturais, particularmente a concentração na forma lábil ($Cu_{Lábil}$), a concentração de sítios de ligação disponíveis (C_L) ou chamada de capacidade de complexação e a constante de estabilidade condicional da ligação do cobre com os ligantes presentes na amostra (K') através de uma titulação da amostra utilizando como titulante uma solução de Cu^{2+} e determinação voltamétrica na presença do ligante de complexação (Campos e van den Berg, 1994).

3.3.2. Especificação do arsênio em amostras de águas estuarinas

Dentre os métodos mais utilizados para a determinação de compostos de arsênio em amostras de águas naturais encontra-se a espectroscopia de absorção e emissão atômicas e a espectroscopia de massa (Carvalho *et al.*, 2004). Dentre as quais, a técnica mais difundida baseia-se na geração de hidretos, combinada com a espectroscopia de absorção atômica (EAA) como sistema de detecção.

A espectroscopia de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (EAA-FG) também tem sido utilizada na determinação de arsênio total, devido a sua rapidez (Capon, 2000). Porém, em matrizes complexas e com

concentrações traço, a determinação do arsênio por EAA-FG apresenta uma série de dificuldades, sendo necessário se utilizarem técnicas de pré-concentração do analito, modificação da superfície de atomização, uso de modificadores de matriz, entre outras.

As dificuldades da determinação do arsênio por absorção atômica com atomização em forno de grafite devem-se ao fato do arsênio formar compostos voláteis à baixa temperatura, particularmente espécies moleculares do tipo As_2 e AsO (Styris *et al.*, 1991). Além disso, o arsênio pode interagir com o grafite da superfície de atomização, também pode formar moléculas gasosas com elementos, como cloreto, enxofre e várias espécies orgânicas, dificultando a sua determinação por EAA-FG. Os elementos como cloreto, enxofre e espécies orgânicas sempre estão presentes em amostras de ambientais e biológicas, portanto o sinal da atomização do arsênio nessas matrizes estará sujeito a inúmeros efeitos de interferência. Dessa forma, a determinação do arsênio por EAA-FG em águas marinhas é comprometida devido à dificuldade em se obter um sinal livre de interferência (Capon, 2000).

Nos estudos envolvendo especiação do arsênio, a combinação das técnicas de cromatografia com os sistemas de detecção por espectrometria atômica e espectrometria de massa tem sido também utilizada, devido o poder de separação dos diferentes compostos de arsênio obtido através da cromatografia (Peters *et al.*, 1999; Lê *et al.*, 1994 e Yan *et al.*, 1998).

A voltametria apresenta algumas vantagens na determinação de compostos de arsênio. Como a possibilidade de se realizar determinações em matrizes que apresentam alta concentração salina, aos baixos limites de detecção alcançados e principalmente devido aos baixos custos envolvidos nas análises. A principal vantagem está relacionada à seletividade da técnica.

A detecção do arsênio inorgânico por voltametria é seletiva, pois as espécies de arsênio apresentam um comportamento eletroquímico diferenciado. A espécie $As(V)$ é eletroquimicamente inativa e o $As(III)$ pode ser reduzido para As^0 no eletrodo de trabalho. Assim, o arsenito pode ser determinado seletivamente na presença de arsenato. Em uma etapa posterior, a concentração de arsênio total

inorgânico [As(III) + As(V)] pode ser determinada após uma etapa de redução onde todo o As(V) é convertido a As(III), o que possibilita a determinação do As(V) pela diferença entre o arsênio total inorgânico (AsT_{inorg}) e As(III) (Carvalho *et al.*, 2004).

Na determinação do arsênio inorgânico os métodos voltamétricos de redissolução anódica ou catódica são de grande interesse devido a grande sensibilidade alcançada, pois envolve uma etapa de pré-concentração eletroquímica de arsênio, onde As(III) é depositado no eletrodo de trabalho e posteriormente redissolvido em solução, durante a varredura de potencial. Quando se realiza a determinação do arsênio inorgânico por voltametria de redissolução anódica (VRA) é necessário utilizar um eletrodo de trabalho de ouro e quando se emprega a redissolução catódica (VRC) o eletrodo que deve ser utilizado é um eletrodo de mercúrio. O princípio de tais técnicas está mostrado na Figura 10.

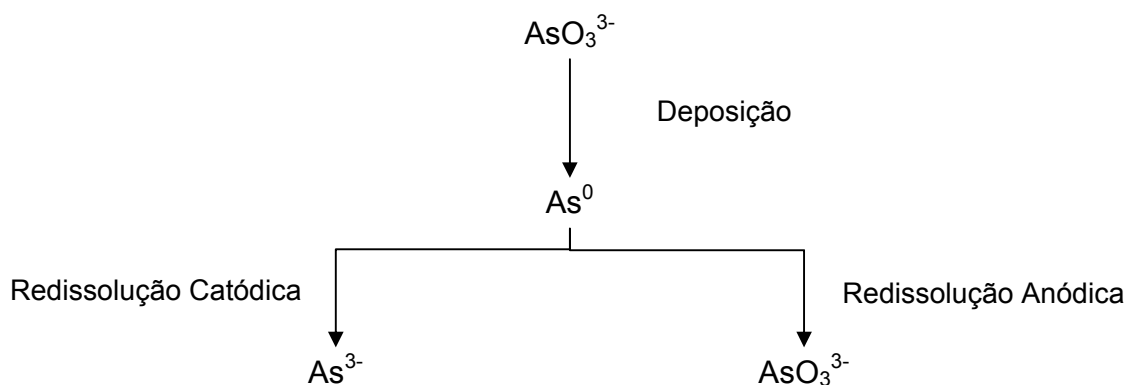


Figura 10. Esquema do mecanismo da determinação de arsênio inorgânico por voltametria de redissolução (Carvalho *et al.*, 2004).

De acordo com o esquema apresentado na Figura 10, o As(III), na forma do íon arsenito, é reduzida para arsênio elementar no eletrodo de trabalho. Com a varredura do potencial, o As^0 pode ser então redissolvido catodicamente pela redução a As^{3-} , ou anodicamente pela oxidação a AsO_3^{3-} .

A VRC é a técnica voltamétrica mais empregada na determinação de arsênio inorgânico, devido ao uso do eletrodo de gota pendente de mercúrio. Entretanto, a baixa solubilidade do arsênio no mercúrio limita a sua determinação

por esta técnica. Como alternativa, a deposição do arsênio neste eletrodo pode ser realizada na presença de íons Cu(II) (Ferreira e Barros, 2002) e/ou Se(V) (He *et al.*, 2004). Assim, ocorre a formação do composto intermetálico que apresenta maior solubilidade no mercúrio na forma de Cu-As, Se-As ou ainda na forma de Cu-Se-As, que é reduzido para As^{3-} durante a varredura catódica do potencial.

A espécie As(V) é eletroquimicamente inativa dentro da faixa de potenciais normalmente utilizada com a maioria dos eletrólitos aquosos na quantificação por VRC. Nesse sentido, para a determinação do arsenato torna-se necessário efetuar um pré-tratamento da amostra com agentes redutores para que o As(V) seja convertido a As(III). Os meios redutores mais empregados são $SO_2(g)$ (Zima e van den Berg, 1994), KI com ácido ascórbico (Cullen e Reimer, 1989), $Na_2S_2O_3$ (Ferreira e Barros, 2002), e ainda uma mistura de Na_2SO_3 , KI e $Na_2S_2O_3$ (Sperling *et al.*, 1991). Dependendo do meio redutor utilizado é necessário aquecimento e certo tempo de reação para que esta se processe quantitativamente. Por exemplo, utilizando o SO_2 a redução do arsenato se processa com aquecimento a 80 °C durante 30 minutos (Carvalho *et al.*, 2004). Portanto, a escolha do meio redutor é uma etapa importante na determinação do arsenato por voltametria. Após a redução do As(V) para As(III) realiza-se a determinação da concentração de arsênio total inorgânico (AsT_{inorg}). Portanto, o teor de As(V) é obtido pela diferença entre AsT_{inorg} e As(III).

Dessa forma, a análise de especiação de arsênio em amostras de águas estuarinas pode ser realizada de maneira satisfatória, sendo possível distinguir os estados de oxidação do arsênio.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Reagentes

Todos os reagentes utilizados neste trabalho foram de grau analítico ou foram purificados quando necessário, como no caso do HCl e NH₃ que foram purificados através de destilação isotérmica (Campos *et al.*, 2002). No preparo de todas as soluções foi utilizada água ultra-pura, tipo Milli-Q (Millipore).

As soluções de Cu(II), As(V) e Se(IV) foram preparadas pela diluição da solução padrão de 1000 mg L⁻¹ (Tritisol, Merck). As soluções de As(III) foram obtidas pela diluição de As₂O₃ em solução de NaOH (25%) e imediata acidificação com HCl concentrado. Esta solução padrão se mantém estável apenas por cerca de uma semana, devido à oxidação do As(III) para As(V) (Ferreira e Barros, 2002).

Solução padrão da espécie orgânica de arsênio foi preparada pela dissolução do ácido dimetilarsínico (DMA) em água Milli-Q.

Solução do modificador químico de paládio foi preparada pela dissolução de PdCl₂ (Merck) em água Milli-Q.

A solução do ligante de competição salicilaldoxima (SA) foi preparada em meio de ácido clorídrico 0,10 mol L⁻¹ e foi preservada por um período de 2 meses à 4°C (Campos e van den Berg, 1994).

Para a redução de As(V) a As(III) foi utilizada uma mistura de agentes redutores. Esta solução foi preparada pela adição lenta de 10,0 mL de HCl (4,5 mol L⁻¹) em 20,0 mL de solução de sulfito de sódio (1,48 mol L⁻¹), seguido da adição de 1,00 g de tiosulfato de sódio e 5,00 g de iodeto de potássio. Esta solução permanece estável por cerca de 2 semanas (Sperling *et al.*, 1991).

Amostras sintéticas foram utilizadas para mimetizar amostras marinhas com salinidade de 34,2 (escala prática). As amostras sintéticas continham 32,0 g L⁻¹ de NaCl; 14,0 g L⁻¹ de MgSO₄·7H₂O; 0,20 mg L⁻¹ de NaHCO₃ e 8,00 mg L⁻¹ de ácido húmico comercial (Aldrich) (Campos *et al.*, 2001).

4.2. Equipamentos

Para a condução das análises envolvendo a determinação do cobre e arsênio inorgânico em amostras de águas marinhas utilizou-se um polarógrafo EG&G PAR M394 e um módulo de eletrodo de mercúrio SMDE EG&G PAR M303A, com uma célula eletroquímica convencional de três eletrodos. O eletrodo de referência utilizado foi um eletrodo de Ag/AgCl; um fio de platina foi usado como eletrodo auxiliar e como eletrodo de trabalho, foi utilizado um eletrodo de gota pendente de mercúrio. Ambos os aparelhos foram gentilmente cedidos pelo *Laboratório de Química Ambiental (LQA)* do Instituto de Química da Unicamp.

Na digestão das amostras de água marinha foi utilizado um reator fotoquímico UV LAB EL 10, comercializado pela UMEX (Dresden, Alemanha), ativado por forno microondas doméstico (Electrolux ME 900) (Sodré *et al.*, 2004).

As determinações de arsênio total foram conduzidas em um espectrofotômetro de absorção atômica, modelo AA-6800 da Shimadzu, com atomização eletrotérmica em forno de grafite (modelo GFA 6500), equipado com corretor de lâmpada de deutério para correção de fundo, amostrador automático (ASK 6100). A lâmpada utilizada foi de cátodo-oco de As, operando a 12 mA, no comprimento de onda de 193,7 nm; e fenda de 1,0 nm.

Na caracterização da matéria orgânica dissolvida (MOD) foi utilizado um espectrofluorímetro Hitachi, modelo F4500, equipado com uma lâmpada de xenônio de 150 W como fonte de luz. As medidas foram realizadas em uma cubeta de quartzo multifacetada com tampa de teflon (Sigma) com 3,5 mL de capacidade.

4.3. Locais de Amostragem

A região de estudo desse trabalho foi o Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá (CEP), situado no litoral paranaense, mostrado na Figura 11. As coletas de amostra foram realizadas em três áreas com distinto grau de trofia. Amostras de águas superficiais foram coletadas em uma área eutrófica antrópica próxima ao porto de Paranaguá; uma área eutrófica natural em Guaraqueçaba e uma área oligotrófica próxima à Ilha do Mel. Foram realizadas três campanhas de

amostragem em diferentes estações do ano, uma ao final do verão, em março de 2005; outra ao final do inverno, em setembro de 2005 e a terceira ao final da primavera, em dezembro de 2005.



Figura 11. Figura ilustrativa do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá (CEP) com a localização dos pontos de amostragem (○).

A Figura 11 mostra os pontos de amostragem no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá. Os pontos de coleta nas áreas da Ilha do Mel, Guaraqueçaba e Paranaguá estão localizados mais especificamente no Saco de Limoeiro, Enseada do Benito e no Canal Anhaia, respectivamente. A Figura 12, a seguir, mostra fotografias dos locais de coleta.

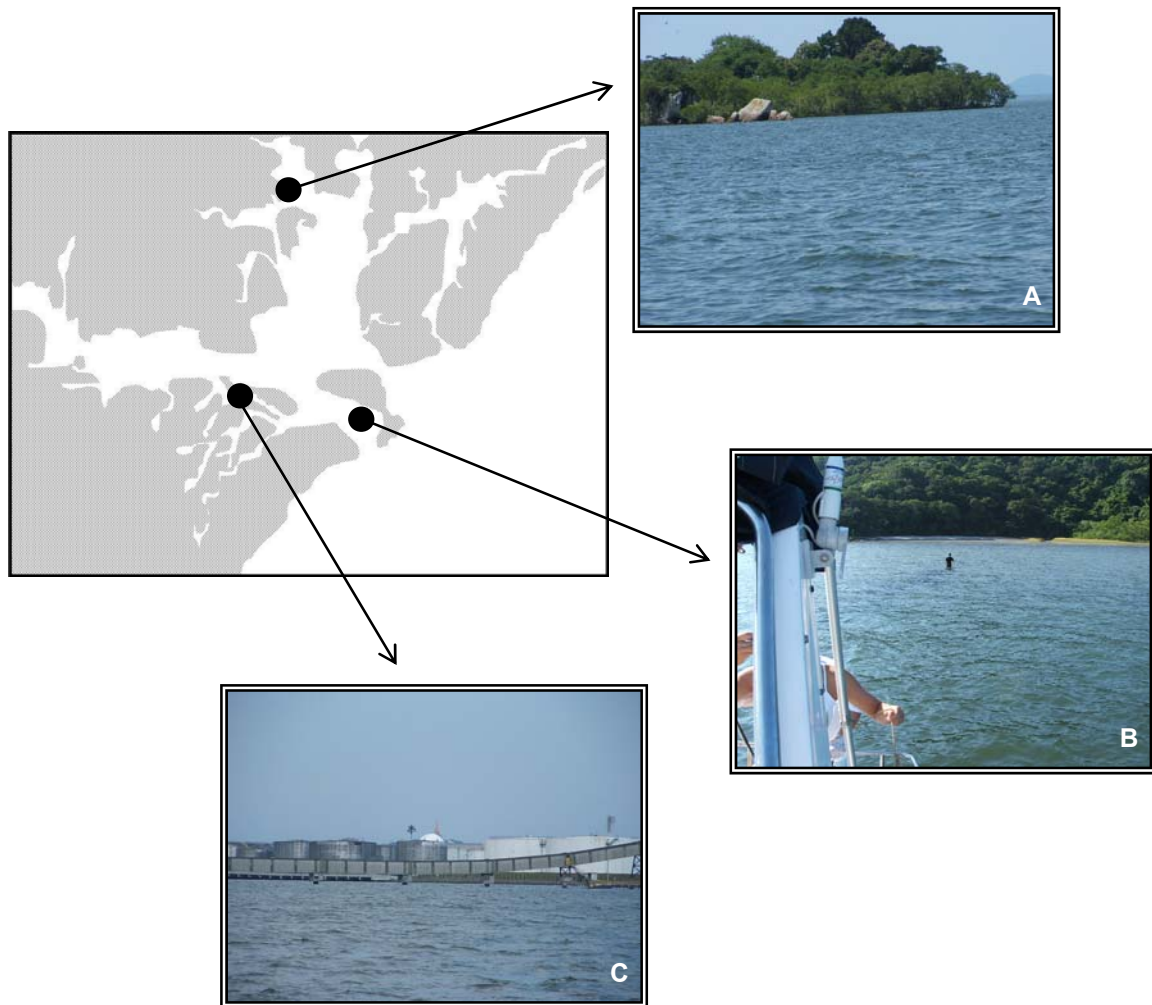


Figura 12. Fotografias dos locais de amostragem no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá na Enseada do Benito **(A)**, Saco do Limoeiro **(B)** e Canal Anhaia **(C)**.

4.4. Técnicas Limpas

Como esse trabalho envolve o estudo de elementos em concentrações traço em águas estuarinas foram adotados procedimentos baseados em técnicas limpas validados internacionalmente (U.S. EPA, 1996 e Campos *et al.*, 2002). Tais procedimentos visam diminuir possíveis contaminações durante todas as etapas de processamento das amostras, desde a amostragem até o momento final de análise (Sodré, 2005).

4.4.1. Limpeza dos Materiais

Todos os materiais utilizados nas análises de especiação de cobre e arsênio foram previamente lavados com água corrente, detergente comercial e escova. Em seguida foram enxaguados e deixados por uma semana em banho de detergente 5% preparado em recipiente plástico com tampa. Posteriormente, os frascos foram enxaguados exaustivamente com água corrente e 3 vezes com água destilada. Os frascos foram deixados imersos durante uma semana em banho de HNO₃ 10%. A próxima etapa consistiu em enxaguar os frascos com água Milli-Q por 5 vezes e em preenchê-los completamente com uma solução de HNO₃ 1 mol L⁻¹ (U.S. EPA, 1999). Finalmente, os frascos foram armazenados em sacos plásticos duplos (Sodré, 2005).

Durante todo o processo de limpeza, os materiais não foram colocados diretamente na bancada e sim em bandejas limpas e o manuseio do material foi realizado com auxílio de luvas cirúrgicas sem talco e luvas de polietileno.

4.5. Coleta das amostras

As campanhas de amostragem de águas superficiais foram realizadas utilizando embarcação de pesquisa do Centro de Estudo do Mar, CEM, da Universidade Federal do Paraná.

Amostras de águas marinhas foram coletadas com o auxílio de um balde de polietileno que foi ambientado com a própria água a ser coletada. As amostras foram transferidas para dois frascos de polietileno, de capacidade de um litro, cada, limpos e previamente ambientados (U.S.EPA, 1996).

A técnica de “mãos sujas-mãos limpas” foi utilizada nas coletas das amostras, ou seja, duas pessoas realizaram as coletas, onde uma pessoa foi responsável pelo manuseio de materiais que não entram em contato direto com a amostra e a outra manipulou somente os materiais que receberam a amostra (Sodré, 2005). Após a amostragem todos os frascos foram acondicionados em sacos plásticos duplos e armazenados em caixas de isopor preenchidas com gelo, para diminuir a possibilidade de dessorção dos metais do material particulado para

a solução e ainda para minimizar a atividade biológica (Campos *et al.*, 2002). Durante toda a amostragem, foram utilizadas luvas cirúrgicas sem talco.

As amostras coletadas foram transportadas até o laboratório em Curitiba e foram conservadas a 4°C no escuro, até o momento da realização das análises. Uma alíquota das amostras foi filtrada a vácuo, em sistema fechado e previamente lavado, empregando membranas de acetato de celulose de 0,45 μm de porosidade para separar a fração dissolvida. Alíquotas das amostras *in natura* e filtradas foram acidificadas com HCl purificado até $\text{pH} < 2$ e foram preservadas em refrigerador para a determinação do metal total recuperável e do metal total dissolvido, respectivamente (Campos *et al.*, 2002).

4.6. Análise de Especificação do Cobre

Na análise de especificação do cobre determinou-se as frações total recuperável (CuTR), total dissolvida (CuTD) e lábil (CuLábil), além dos parâmetros de complexação K' (constante de estabilidade condicional) e C_L (concentração de sítios ligantes ou capacidade de complexação), empregando a Voltametria Adsorviva de Redissolução Catódica de Pulso Diferencial e técnica de troca por ligante de competição empregando salicilaldoxima (SA) (Campos e van den Berg, 1994).

A otimização das condições experimentais para a determinação do cobre em águas marinhas empregando essa técnica voltamétrica foi realizada através de um estudo quimiométrico, empregando planejamento fatorial.

A determinação da concentração do cobre lábil foi realizada por titulação voltamétrica. Para isso foram utilizadas alíquotas das amostras filtradas sem acidificar. A titulação foi realizada em batelada; sendo utilizadas 10 células voltamétricas para as quais foram transferidos 10,0 mL da amostra contendo 10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de salicilaldoxima. Em cada célula foram adicionadas quantidades diferentes de cobre, com exceção de uma célula onde não foi adicionado cobre. Essas 10 células foram cobertas e permaneceram por 12 horas antes da determinação voltamétrica. Transcorrido esse período de contato, os teores de

CuLábil em cada célula foram determinados empregando voltametria adsortiva de redissolução catódica, com as condições experimentais descritas na Tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros instrumentais das determinações de cobre lábil por voltametria adsortiva de redissolução catódica.

Parâmetros	Valores
Tempo de purga inicial com N ₂	600 s
Módulo de pulso	Diferencial
Velocidade de varredura	20 mV s ⁻¹
Altura do pulso	25 mV
Potencial de deposição	-0,15 V
Potencial inicial de varredura	- 0,15 V
Potencial final de varredura	- 0,6 V
Tempo de equilíbrio	10 s
Tempo de deposição	120 s

A partir dos dados gerados em cada titulação foi realizada uma série de cálculos matemáticos, baseado em uma equação de Linearização descrita em van den Berg, 1984 e Ruzic, 1982, para determinar a constante de estabilidade condicional K' e concentração de sítios ligantes C_L .

Para a determinação das frações totais, recuperável e dissolvida de cobre foram utilizadas alíquotas das amostras *in natura* acidificada e filtrada acidificada, respectivamente. Essas amostras passaram por um processo de digestão baseado na ação de radiação ultravioleta gerada em um reator fotoquímico ativado por microondas com o objetivo de destruir a matéria orgânica dissolvida.

A digestão fotoquímica das amostras foi adaptada a partir de procedimento descrito por Sodré *et al.* (2004). Uma alíquota de 12,0 mL da amostra era transferida para o reator juntamente com 12,0 μ L de peróxido de hidrogênio (30%). O reator aberto era inserido no forno microondas juntamente com um b quer contendo 1 L de água, para dispersar o calor gerado e evitar perdas da amostra por ebuli o. Em seguida a amostra era submetida a ciclos de irradia o com dura o de 3 minutos. A cada ciclo de digestão, a água do b quer era trocada e o reator era colocado em banho de gelo por aproximadamente 5

minutos. Para a digestão da amostra filtrada eram necessários 9 min de digestão e para a amostra *in natura* o tempo de digestão era de 18 min.

Após o procedimento de digestão da MOD, uma alíquota de 10,0 mL da amostra era transferida para um célula voltamétrica. O pH da mesma era ajustado para 7,0 com solução de NH₃ e era adicionada solução de SA. A concentração final na célula era 25,0 μmol L⁻¹ de SA. A concentração de cobre era determinada pelo método de adição de padrão. Os parâmetros voltamétricos utilizados encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3. Parâmetros instrumentais das determinações de cobre total recuperável e cobre total dissolvido por voltametria adsortiva de redissolução catódica.

<i>Parâmetros</i>	<i>Valores</i>
Tempo de purga inicial com N ₂	600s
Módulo de pulso	Diferencial
Velocidade de varredura	20 mV s ⁻¹
Altura do pulso	25 mV
Potencial de deposição	-1,1 V
Potencial inicial de varredura	- 0,15 V
Potencial final de varredura	- 0,6 V
Tempo de equilíbrio	10 s
Tempo de deposição	120 s

Levando em consideração a diferença entre as concentrações de cobre total recuperável e cobre total dissolvido e o teor de sólidos em suspensão, foi possível calcular a concentração de cobre associado ao material particulado (CuPart). A concentração de cobre complexado, (CuL), por sua vez, pôde ser obtida pela diferença entre as concentrações de cobre total dissolvido e cobre lábil. O fluxograma ilustrativo do procedimento para análise de especiação de cobre, empregado neste trabalho, está mostrado na Figura 13.

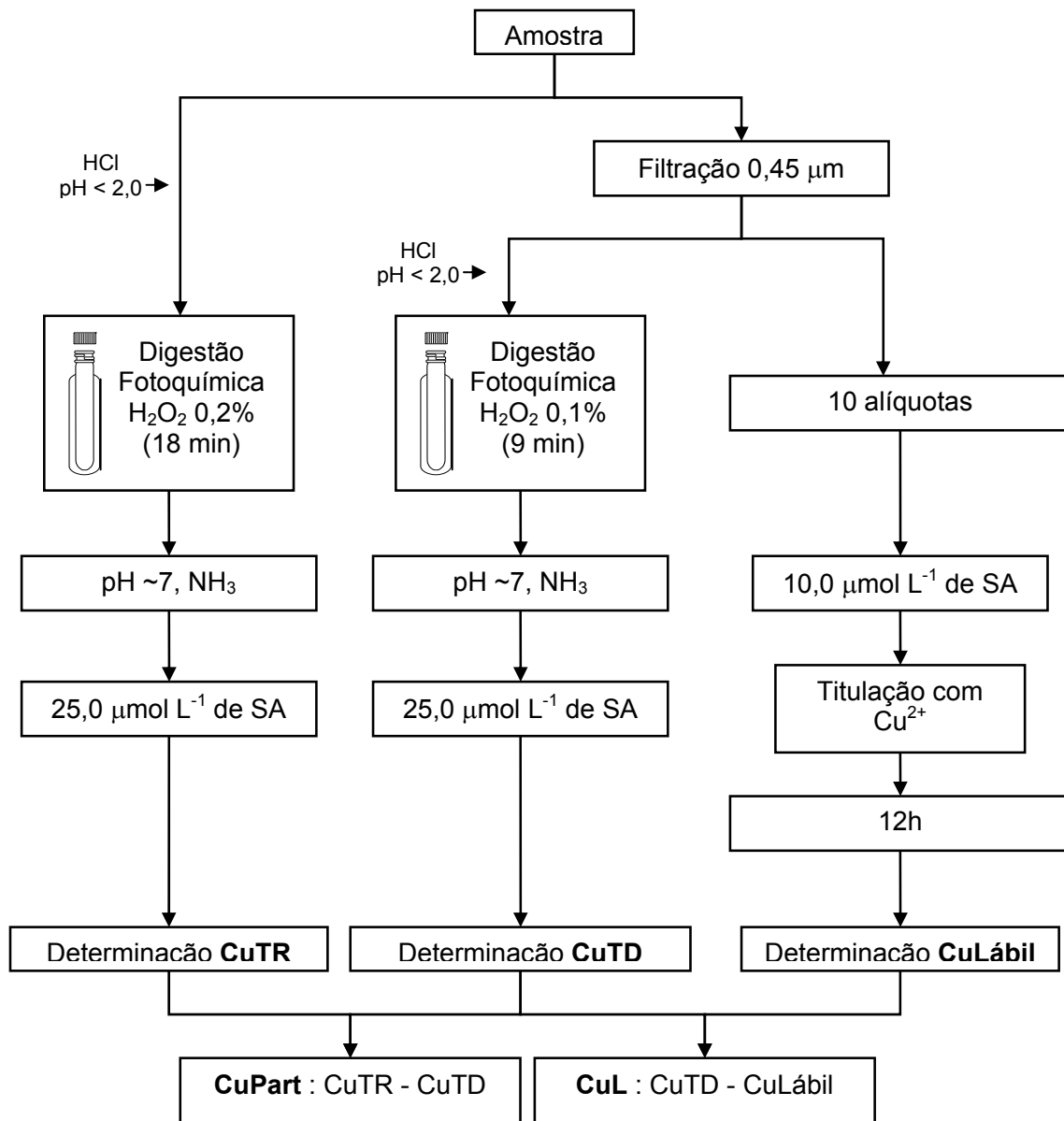


Figura 13. Fluxograma do procedimento adotado na especiação de cobre em águas naturais. CuTR representa a concentração de cobre total recuperável, CuTD refere-se ao cobre total dissolvido, CuLábil representa o cobre lábil, CuPart o cobre associado ao material sólido em suspensão, CuL representa o cobre complexado e SA refere-se ao ligante de competição, a salicilaldoxima.

4.7. Análise de Especificação do Arsênio

Na análise de especificação do arsênio nas amostras de água marinha determinou-se as frações total recuperável (AsTR), total dissolvida (AsTD), total inorgânica (AsT_{inorg}) e arsenito, As(III), empregando duas técnicas analíticas, a espectroscopia de absorção atômica e a voltametria.

A especificação do arsênio inorgânico na fração dissolvida foi realizada empregando Voltametria de Redissolução Catódica de Onda Quadrada (VRCOQ). Na determinação do As(III), 10,0 mL da amostra filtrada e acidificada com HCl até pH 1,0 foram transferidos para uma célula voltamétrica e foram adicionadas soluções de Cu(II) e Se(IV) até que as concentrações finais em solução fossem 4,6 mg L⁻¹ e 3,7 µg L⁻¹ para Cu(II) e Se(IV), respectivamente (He *et al.*, 2004). A quantificação de As(III) foi realizada pelo método de adição de padrão. Os parâmetros empregados nessa determinação são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4. Parâmetros voltamétricos empregados nas determinações de As(III) por VRCOQ.

<i>Parâmetros</i>	<i>Valores</i>
Tempo de purga inicial com N ₂	600 s
Módulo de pulso	Onda quadrada
Frequência	100 Hz
Amplitude	40 mV
Potencial de deposição (E _{dep})	- 0,38 V
Potencial inicial de varredura	- 0,38 V
Potencial final de varredura	-1,0 V
Tempo de equilíbrio (T _{eq})	8 s
Tempo de deposição (T _{dep})	30 s

Uma vez que o As(V) não é uma espécie eletroativa, sua determinação foi realizada indiretamente. Primeiro determinou-se o teor de As(III) e em seguida a concentração de As total inorgânico, [As(III) + As(V)], foi determinada após uma etapa de redução, onde o As(V) foi quantitativamente convertido a As(III). Dessa maneira, o teor de arsenato pôde ser obtido pela diferença entre os teores de AsT_{inorg} e As(III).

Na determinação de arsênio total inorgânico (AsT_{inorg}), 10,0 mL da amostra filtrada e acidificada (HCl 1,0 mol L⁻¹) foi transferida para uma célula voltamétrica;

adicionou-se 350 μL da solução contendo os agentes redutores e também foram adicionadas soluções de Cu(II) e Se(IV) , conforme descrição prévia. Os parâmetros utilizados foram aqueles descritos na Tabela 4, com exceção do tempo de deposição, que foi de 180 s.

A determinação de arsênio nas amostras de águas estuarinas foi realizada por espectroscopia de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno grafite (EAA-FG). Como superfície de atomização empregou-se filamento de tungstênio (75 W, Osram), que foi posicionado dentro de um tubo de grafite pirolítico. Utilizou-se ainda como modificador de matriz uma solução de paládio ($10,0 \text{ mg L}^{-1}$). A determinação foi realizada através da adição de padrão de As(V) , utilizando argônio, a uma vazão de $1,0 \text{ L min}^{-1}$, como gás de arraste. O programa de aquecimento é mostrado na Tabela 5.

Tabela 5. Programa de aquecimento para a determinação de AsTR e AsTD por EAA-FG

<i>Etapas</i>	<i>Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)</i>	<i>Rampa (s)</i>	<i>Patamar (s)</i>	<i>Vazão do Ar (L min^{-1})</i>	<i>Leitura do Sinal</i>
Secagem 1	150	20	0	0,1	Não
Secagem 2	250	10	0	0,1	Não
Pirólise	1400	20	25	1,0	Não
Atomização	2200	0	2	0,0	Sim
Limpeza	2500	0	2	1,0	Não

Através da diferença entre os teores de arsênio total dissolvido e arsênio total inorgânico foi obtido o teor de arsênio total orgânico (AsT_{org}) presente na amostra. Pela diferença entre os teores de AsTR e AsTD foi obtido a concentração do arsênio associado ao material particulado (AsPar).

O fluxograma ilustrativo do procedimento empregado na determinação da especiação do arsênio nas amostras de águas naturais é mostrado na Figura 14.

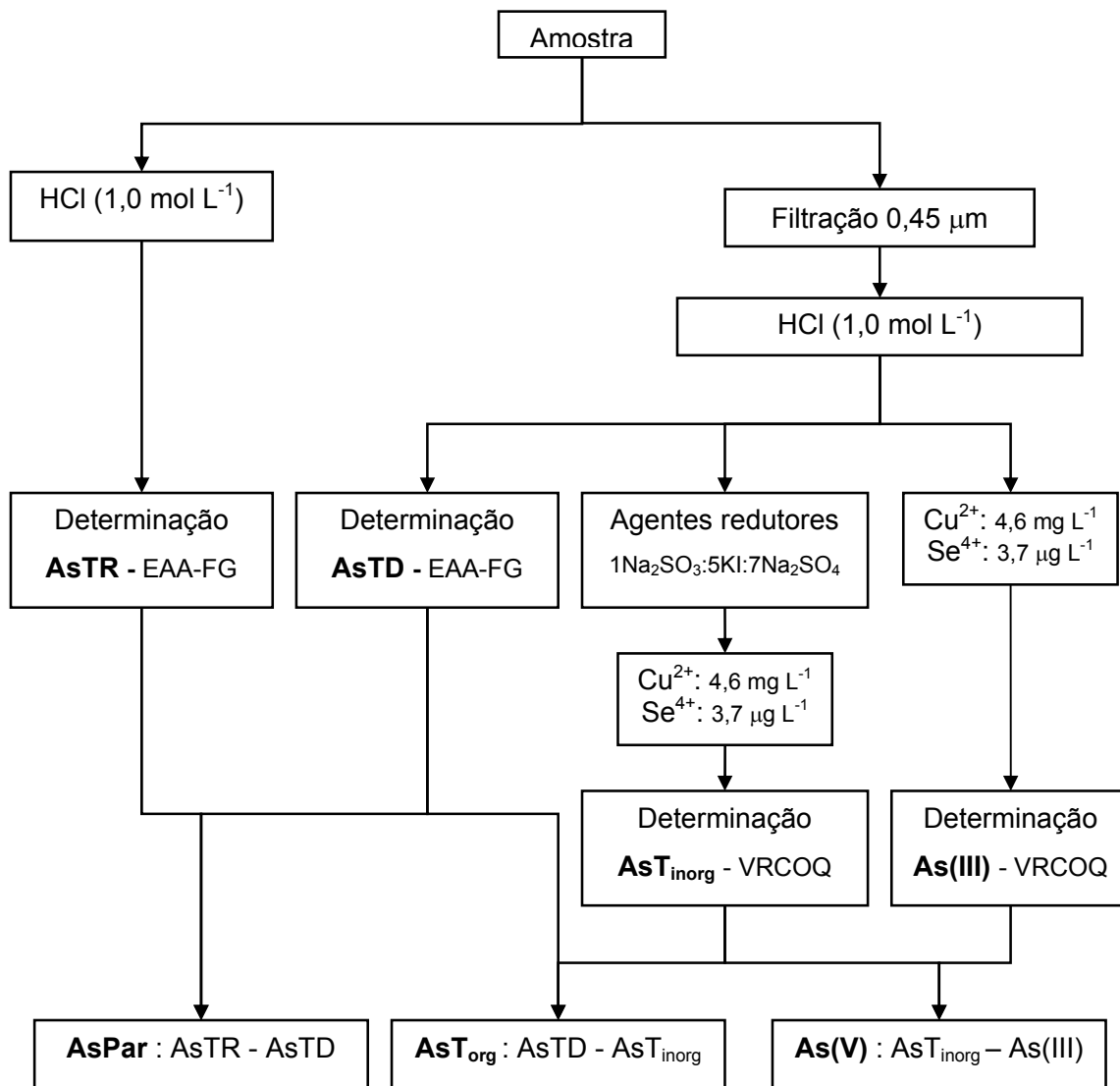


Figura 14. Fluxograma do procedimento adotado na especiação de arsênio em águas naturais. AsTR representa a concentração de arsênio total recuperável, AsTD refere-se ao arsênio total dissolvido, As(III) representa o arsenito, As(V) arsenato, AsT_{inorg} representa a concentração de arsênio total inorgânico, AsT_{org} o arsênio total orgânico, AsPart refere-se ao arsênio associado ao material sólido em suspensão, EAA-FG refere-se a espectroscopia de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite e VRCOQ a voltametria de redissolução catódica de onda quadrada.

4.8. Caracterização da Matéria Orgânica Dissolvida por Fluorescência Molecular

As amostras de água coletadas no CEP foram filtradas em membrana de 0,45 μm de porosidade e submetidas à caracterização da matéria orgânica dissolvida por espectroscopia de fluorescência molecular nos modos emissão e sincronizado. Foram obtidos espectros de emissão de fluorescência na faixa entre 345 e 600 nm, sendo que o comprimento de onda de excitação foi 330 nm. Espectros de fluorescência sincronizada foram coletados entre 250 e 600 nm, utilizando um intervalo de 18 nm entre os comprimentos de onda de excitação e emissão, ou seja, $\lambda_{\text{em}} = \lambda_{\text{exc}} + 18 \text{ nm}$. Todos os espectros foram obtidos com largura de fenda dos monocromadores de 5 nm. A velocidade de varredura foi fixada em 240 nm min^{-1} e a resolução espectral foi de 0,2 nm (Sodré, 2005).

4.9. Análises complementares

Análises complementares das amostras de água coletadas foram realizadas no Laboratório de Biogeoquímica Marinha do Centro de Estudos do Mar da UFPR, localizado em Pontal do Paraná. Este laboratório está sob responsabilidade da Profa. Dra. Eunice da Costa Machado.

Essa dissertação está inserida em um projeto do Edital Universal do CNPq, n° 474713/2003-2, que engloba pesquisadores da Universidade Federal do Paraná, da Universidade Federal Fluminense e da Universidade de Clarkson, EUA.

Para essas análises as amostras de água superficial foram coletadas com auxílio de garrafas Van Dorn de Teflon. As análises complementares realizadas foram: pH, salinidade, temperatura, transparência, oxigênio dissolvido, material particulado em suspensão, clorofila-a e feopigmentos, além de nutrientes inorgânicos dissolvidos tais como nitrato, nitrito, amônio, fosfato, e silicato. Estas análises foram realizadas de acordo com os procedimentos descritos por Strickland e Parsons, 1972; Grasshoff *et al.*, 1983 e Carmouze, 1994.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente se fez necessário implantar uma série de protocolos analíticos para as análises de especiação de cobre e arsênio, em nível de traço, em amostras de águas marinhas, pois este trabalho é pioneiro em relação aos estudos envolvendo especiação de cobre e arsênio em águas estuarinas, e no âmbito do Grupo de Química Ambiental (GQA) da UFPR.

5.1. Otimização do procedimento de Digestão Fotoquímica

A implantação de um método voltado para a análise da especiação geoquímica de metais traço torna necessário o estabelecimento de processos de digestão que promovam a solubilização dos analitos envolvidos e a eliminação de interferentes (Cavicchioli e Gutz, 2003).

O procedimento de digestão em águas naturais tem um papel importante, principalmente quando se utiliza métodos voltamétricos na quantificação dos teores totais de metais, tanto na fração dissolvida quanto na amostra *in natura*, já que em amostras de águas naturais, o metal pode estar associado a ligantes que os tornam inertes à detecção voltamétrica.

A quantificação dos teores de metais em uma amostra de água natural contendo material particulado em suspensão está associada a uma etapa de digestão que leve à solubilização do analito, seja pela completa destruição dos ligantes naturais, ou ainda pela degradação parcial de compostos interferentes (Achterberg *et al.*, 2001). Já na fração dissolvida, a matéria orgânica pode ser um interferente, primeiro pela formação de complexos estáveis com metais, que não são detectados nas análises voltamétricas e segundo, pela competição entre matéria orgânica e os metais pela superfície do eletrodo, o que frequentemente resulta em uma diminuição na intensidade do sinal analítico (Campos *et al.*, 2001). Neste contexto, a eliminação de compostos orgânicos de amostras de águas naturais torna-se indispensável na quantificação de metais por voltametria.

Embora o método para a digestão da amostra estivesse efetivamente implantado no GQA (Sodré *et al.*, 2004), em virtude das amostras empregadas neste trabalho serem de origem marinha foi necessário otimizar as condições da

digestão fotoquímica assistida por microondas, visando possibilitar a determinação do cobre por voltametria de redissolução catódica.

O método de digestão utilizado neste trabalho baseia-se na geração *in situ* de radicais hidroxila ($\cdot\text{OH}$), devido ao uso de peróxido de hidrogênio aliado à radiação ultravioleta. Os radicais hidroxila gerados apresentam alto poder oxidante ($E^0 = 2,8 \text{ V}$) e são capazes de mineralizar completamente a maioria dos compostos orgânicos.

Na otimização do protocolo para digestão de águas marinhas foram utilizadas amostras coletadas em Guaraqueçaba (PR). Na fotodegradação dessas amostras, cada ciclo de digestão teve sua duração fixada em 3 minutos na potência máxima nominal do forno microondas (900 W). Sodré *et al.* (2004) relatam que desta forma as perdas de amostra por ebulição são inferiores a 0,1%. A destruição da MOD durante a irradiação das amostras foi monitorada pela atenuação do sinal de fluorescência molecular. Esta técnica tem sido uma importante ferramenta empregada na quantificação e na caracterização de compostos húmicos de distintas origens, devido à presença de um grande número de grupos fluoróforos na MOD (Campos *et al.*, 2001). A digestão fotoquímica da amostra de Guaraqueçaba foi acompanhada através de espectros de emissão de fluorescência antes e depois da irradiação por diversos intervalos de tempo, conforme mostra a Figura 15.

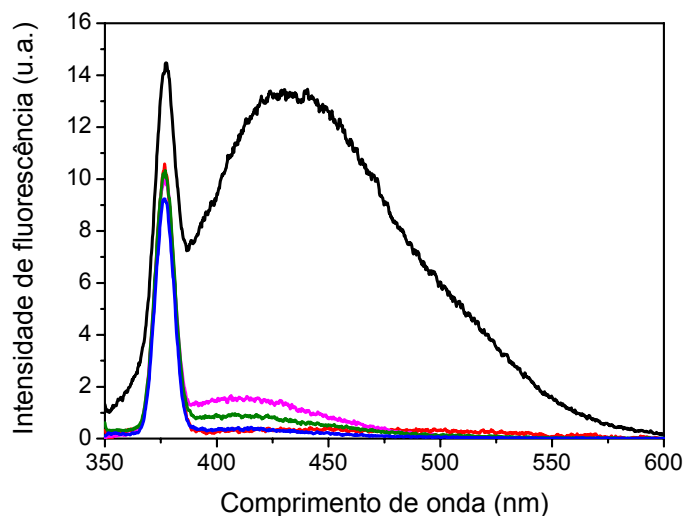


Figura 15. Espectros de emissão de fluorescência em unidades arbitrárias para amostra de água marinha sem irradiação e após diferentes períodos de irradiação na presença de H_2O_2 . (—) amostra não irradiada, irradiada após (—) 3 min, (—) 6 min, (—) 9 min e (—) água Milli-Q.

A Figura 15 mostra os espectros de fluorescência molecular de uma amostra marinha antes e após a digestão fotoquímica. Observa-se que a amostra de Guaraqueçaba apresentou uma banda intensa numa extensa região do espectro de fluorescência. Essa banda apresentou a intensidade máxima no comprimento de onda de 425 nm, aproximadamente, o que caracteriza a presença de substâncias húmicas na amostra (Lombardi, 1995).

Além desse aspecto, é possível notar na Figura 15 que o sinal de fluorescência dessa banda diminuiu gradualmente após cada ciclo de irradiação, até que após 9 minutos de irradiação o espectro da amostra digerida não diferiu mais do espectro da água Milli-Q.

O comprimento de onda que forneceu o sinal máximo de fluorescência na amostra centrou-se em 425 nm e tal comprimento de onda foi escolhido para expressar a eficiência da destruição da MOD. Após o primeiro ciclo de digestão a atenuação do sinal de fluorescência foi de cerca de 90%. Após 9 min de digestão, a redução do sinal foi de aproximadamente 99%, o que é um indicativo de mineralização em níveis satisfatórios da MOD.

O tempo necessário para a destruição da MOD marinha foi significativamente menor que em outros trabalhos relatados na literatura (Achterberg, 1994 e Campos *et al.*, 2001). Campos *et al.* avaliaram a eficiência de um reator na fotodegradação de soluções salinas contendo ácido húmico comercial (8 mg C L^{-1}). Neste caso, foram necessárias mais de 4 horas para que a redução do sinal de fluorescência fosse de 96%. Com o reator fotoquímico ativado por microondas utilizado neste trabalho a fotodegradação da MOD foi realizada em um tempo satisfatório, o que deve ocorrer devido à geração *in situ* de radicais hidroxila, capazes de mineralizar a MOD. Outra vantagem do uso do reator fotoquímico foi a pequena quantidade de H_2O_2 utilizada, pois a adição de reagentes em amostras de águas naturais pode representar uma fonte de contaminação e ainda ser responsável por uma diluição da amostra.

Os tempos de digestão considerados ótimos para as amostras *in natura* e para amostras filtradas foram 18 min e 9 min, respectivamente. A eficiência da digestão também foi avaliada a partir da comparação entre os teores de CuTR e CuTD determinados em uma amostra de água marinha empregando voltametria adsorptiva de redissolução catódica e salicilaldoxima como ligante de competição, após digestão fotoquímica, e também empregando espectroscopia de absorção atômica com atomização em forno de grafite (EAA-FG). A escolha da EAA-FG foi baseada no fato de que nesta técnica é possível a introdução direta de suspensões da amostra no tubo de grafite, eliminando a etapa de pré-tratamento (Pereira Filho, 2003). Os resultados obtidos nestes experimentos são mostrados na Figura 16.

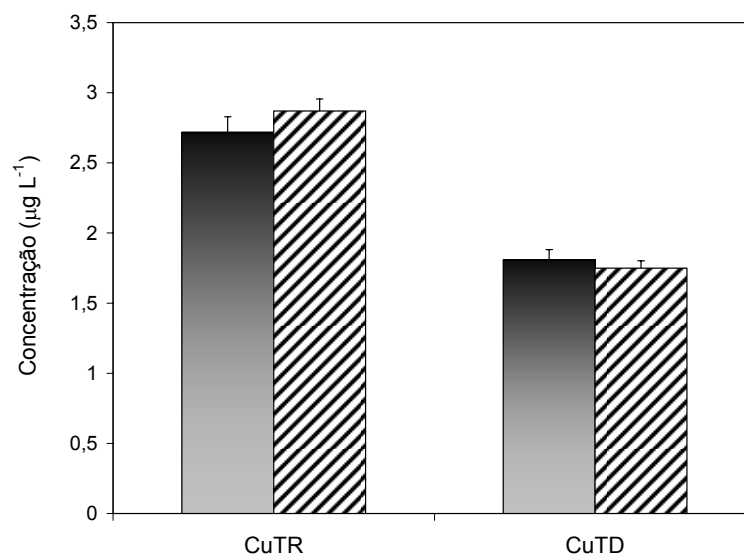




Figura 16. Teores médios de cobre total recuperável (CuTR) e cobre total dissolvido (CuTD) de uma amostra de água marinha determinados por voltametria em duplicata, após processo de digestão fotoquímica , e por espectroscopia de absorção atômica .

A Figura 16 mostra os resultados obtidos da determinação de CuTR e CuTD da amostra de água marinha empregando-se voltametria, após processo de digestão fotoquímica, e EAA-FG. As determinações foram realizadas em duplicata, e as estimativas de desvios médios foram inferiores a 10%. Também se observa, nesta figura, que os valores de CuTR e CuTD determinados empregando ambas as técnicas apresentam diferenças que não são significativas.

Dessa forma, evidencia-se que os tempos utilizados na digestão fotoquímica das amostras de águas marinhas *in natura* e dissolvida são suficientes para a fotodegradação da MOD, possibilitando que a determinação analítica seja realizada de maneira satisfatória por voltametria. Nesse sentido, o procedimento de digestão otimizado neste trabalho mostra-se uma alternativa viável para a quantificação de metais traço por voltametria em águas marinhas.

5.2. Implantação e Otimização do Procedimento para Especificação do Cobre

A especificação consiste em avaliar a distribuição do metal entre várias formas ou espécies. A especificação física distingue o metal entre as frações

dissolvida e particulada, enquanto que a especiação química avalia a distribuição do metal entre as formas complexada ou não-complexada e a distinção entre diferentes estados de oxidação (Twiss *et al.*, 2000).

A implantação de um protocolo para a determinação da especiação geoquímica do cobre em águas naturais, que englobe tanto a especiação física quanto a especiação química, exige a definição de uma técnica analítica que possibilite a identificação e a quantificação das espécies lábeis nas amostras. Dentre as técnicas descritas na literatura destacam-se aquelas baseadas na voltametria de redissolução, uma vez que elas podem fornecer inúmeras informações quantitativas com excelentes limites de detecção, elevada sensibilidade analítica e ainda boa correlação com a disponibilidade biológica do metal (Xue e Sigg, 1998; Bruland *et al.*, 2000).

Neste trabalho, a otimização do protocolo analítico utilizado na especiação do cobre em amostras de águas marinhas, empregando VRC com pulso diferencial e troca por ligante de competição com o uso da salicilaldoxima (SA), baseou-se em um planejamento fatorial. Ferramentas quimiométricas tais como planejamento fatorial, métodos de superfície de resposta, entre outros, podem ser usadas visando obter as melhores condições de sensibilidade analítica (Teófilo *et al.*, 2004).

Os estudos quimiométricos vêm se tornando uma prática essencial em química analítica devido à quantidade de informações geradas, a rapidez nos processos de otimização e, principalmente, pela possibilidade de considerar a interação entre os diversos fatores que influenciam um dado sistema químico (Egreja Filho *et al.*, 1999; Costa Filho *et al.*, 1999).

Os planejamentos quimiométricos são extensamente utilizados para maximizar ou minimizar inúmeros tipos de resposta (Kubota *et al.*, 2004), e são classificados como métodos do tipo simultâneo, onde as variáveis de interesse, que apresentam influência na resposta, são avaliadas ao mesmo tempo.

O planejamento fatorial é uma ferramenta estatística simples e sua principal finalidade consiste em estudar a influência de uma determinada variável (fator), em diferentes níveis esperados, e ainda estudar as interações entre as

variáveis de um sistema específico. No planejamento fatorial são executados diversos experimentos em ordem aleatória e ao final são efetuadas operações matemáticas para conhecer os efeitos de cada variável. Dessa forma é possível verificar as melhores condições para um sistema químico em estudo (Bruns *et al.*, 1996).

Dentre os planejamentos fatoriais mais utilizados encontra-se o tipo fatorial 2^k , onde k corresponde ao número de fatores que são utilizados na otimização. Esse tipo de planejamento apresenta a vantagem de permitir a redução do número de experimentos necessários para a otimização, quando comparado aos métodos univariados (Kubota *et al.*, 2004).

Um planejamento fatorial de dois níveis de resposta e três fatores, do tipo 2^3 , foi empregado para otimizar a determinação do cobre em águas naturais, empregando a voltametria adsortiva de redissolução catódica e SA como ligante de competição. Para os experimentos da otimização fortificou-se uma amostra de água marinha com $2,00 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cu^{2+} e em seguida avaliou-se a média de triplicatas da intensidade de corrente de pico catódico i_p do complexo formado entre o cobre e a salicilaldoxima, após 12 horas de contato.

Os fatores analíticos estudados neste planejamento fatorial foram a influência do tampão borato, a concentração de SA e o tempo de deposição (T_{dep}). Os níveis estudados, assim como os coeficientes de contraste (sinais + e -), para esse fatorial 2^3 são mostrados na Tabela 6. Nesta mesma tabela também está descrita a ordem da realização dos ensaios. Esses ensaios foram realizados em seqüência totalmente aleatória, para prevenir a ocorrência de distorções estatísticas que possam comprometer a qualidade dos resultados obtidos (Bruns *et al.*, 1996).

Tabela 6. Fatores, níveis e coeficientes de contraste para o planejamento fatorial 2³.

Níveis				(-)			(+)
Fatores	1) Tampão			Ausência			Presença
	2) SA			1,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$			10,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$
	3) T _{dep}			60 s			120 s
Ensaios	Fatores			Interações			
	1	2	3	12	13	23	123
1 (1)	-	-	-	+	+	+	-
2 (5)	+	-	-	-	-	+	+
3 (7)	-	+	-	-	+	-	+
4 (2)	+	+	-	+	-	-	-
5 (4)	-	-	+	+	-	-	+
6 (6)	+	-	+	-	+	-	-
7 (3)	-	+	+	-	-	+	-
8 (8)	+	+	+	+	+	+	+

* Entre parênteses: ordem de realização dos ensaios

A Tabela 6 mostra a matriz utilizada na organização das informações relacionadas ao desenvolvimento do planejamento fatorial. A atribuição dos coeficientes de contraste (sinais + e -) foi feita de forma arbitrária, apenas com o intuito de esquematizar o planejamento fatorial buscando abranger todas as possibilidades do estudo (Bruns *et al.*, 1996).

A justificativa para a escolha dos fatores contidos na Tabela 6 deve-se a influência direta dos mesmos na sensibilidade analítica da técnica voltamétrica utilizada nesse trabalho. O fator tampão borato foi considerado, uma vez que vários trabalhos relatam a necessidade do uso de tampão nas análises de especiação do Cu (van den Berg, 1984 e Campos e van den Berg, 1994). Por outro lado, também são encontrados na literatura, trabalhos onde não se utiliza tampão nas medidas (Twiss e Moffet, 2002). O fator concentração de SA foi estudado porque a altura do pico do complexo eletroativo, Cu-SA, pode aumentar de maneira proporcional à concentração do ligante utilizado. Com relação ao fator tempo de deposição, este foi escolhido na medida em que tempos de deposição mais elevados devem prover uma maior sensibilidade analítica ao método (Skoog, 2002). Os resultados desse estudo quimiométrico encontram-se na Tabela 7.

Tabela 7. Resultados do planejamento fatorial 2^3 expressos em termos da corrente de pico i_p (nA).

Ensaio	i_p (nA)			Média
	A	B	C	
1	5,52	5,11	6,69	$5,78 \pm 0,82$
2	2,54	2,52	2,63	$2,56 \pm 0,06$
3	6,96	6,89	6,21	$6,69 \pm 0,42$
4	2,69	2,61	2,33	$2,54 \pm 0,18$
5	10,1	11,3	12,0	$11,2 \pm 0,9$
6	2,82	3,52	3,10	$3,15 \pm 0,35$
7	14,9	16,1	18,0	$16,3 \pm 1$
8	6,45	5,89	5,46	$5,94 \pm 0,49$

A interpretação dos resultados pode ser facilitada com o auxílio da Figura 17.

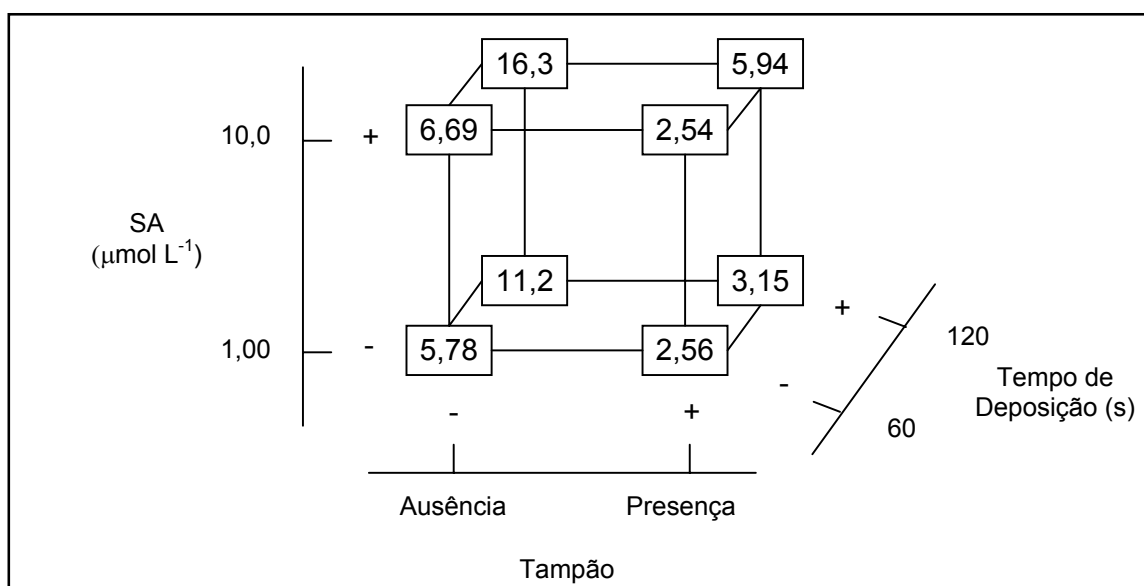


Figura 17. Diagrama para interpretação do efeito do tampão, concentração de SA e tempo de deposição no planejamento fatorial 2^3 . Os valores representados neste diagrama representam a média das respostas de i_p para cada ensaio.

Na Figura 17 estão representadas graficamente as respostas obtidas nos experimentos do planejamento fatorial, realizados em função das variáveis estudadas, ou seja, tampão, concentração de SA e T_{dep} . Este tipo de

representação é útil na medida em que fornece uma visão global de como as variáveis atuam sobre a resposta do sistema em estudo.

Através desse diagrama é possível observar a melhor e a pior condição para a determinação do cobre, com base nos valores de i_p . A melhor condição para a obtenção do sinal de i_p , ou seja, para a obtenção da maior sensibilidade está nos níveis (- + +), o que corresponde à ausência de tampão, maior concentração de SA ($10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$) e 120 s de tempo de deposição. Estes resultados confirmam nossas considerações sobre os fatores escolhidos neste estudo, ou seja, para maiores concentrações do ligante de competição e maiores tempos de deposição, maior é a sensibilidade analítica da técnica empregada na especificação do cobre em amostras de águas marinhas.

A partir do tratamento estatístico das respostas obtidas no estudo foi possível calcular os efeitos. O efeito pode ser definido como a alteração ocorrida na resposta quando se move do nível mais baixo (-) para o nível mais alto (+). Os efeitos podem ser classificados em duas amplas categorias: (i) Principais, que são definidos como efeito causado no sistema por uma das variáveis quando seu nível passa de um valor para outro e (ii) Efeitos de Interação, representam o efeito causado no sistema em estudo pela interação de todas as variáveis. Estes últimos podem ser de 2ª, 3ª ou de ordem superior, de acordo com o número de fatores considerados na otimização (Eiras *et al.*, 1999).

Os efeitos principais e de interação foram calculados pela subtração do valor do somatório dos valores médios de i_p , dos experimentos com sinais de contraste positivo, e o valor do somatório dos valores médios de i_p dos experimentos com sinais de contraste negativo. Posteriormente, dividiu-se o resultado da subtração por 4 (Bruns *et al.* 1996), conforme a equação:

$$\text{Efeito: } \frac{2(\sum y^+ - \sum y^-)}{b},$$

onde y^+ corresponde a média dos efeitos com sinal de contraste (+) e y^- corresponde a média dos efeitos com sinal de contraste (-) e b representa o número total de experimentos do planejamento.

Os sinais de contraste necessários para os cálculos estão contidos na Tabela 6 e os valores médios das respostas utilizadas nos cálculos de efeitos estão contidos na Tabela 7. A Tabela 8 mostra os valores calculados para todos os efeitos e seus respectivos desvios padrão.

Tabela 8. Efeitos calculados para o planejamento fatorial 2^3 e suas estimativas de desvio padrão.

	Média	$6,8 \pm 0,2$
Efeitos Principais	1) Tampão	$-6,4 \pm 0,3$
	2) SA	$2,2 \pm 0,3$
	3) T_{dep}	$4,8 \pm 0,3$
Interação de 2 fatores	12	$-0,83 \pm 0,3$
	13	$-3,0 \pm 0,3$
	23	$1,8 \pm 0,3$
Interação de 3 fatores	123	$-0,36 \pm 0,3$

Na Tabela 8 estão mostrados os resultados do tratamento estatístico das respostas, ou seja, estão mostrados os resultados dos cálculos da média dos efeitos, dos efeitos principais (1,2 e 3) e das interações (12,13, 23 e 123), além da estimativa do desvio padrão de cada cálculo. A avaliação dos valores dos efeitos calculados foi realizada através da comparação entre o valor do efeito com o valor da sua estimativa de desvio padrão.

Observa-se que os valores dos efeitos principais apresentam diferenças significativas dos valores das estimativas de desvio padrão. Assim, conclui-se que os três fatores (tampão, concentração de SA e T_{dep}) são importantes para o sistema em estudo; porém, o fator mais significativo foi o fator 1, que corresponde ao tampão, pois seu valor é superior aqueles determinados para os outros efeitos.

Com relação às interações dos fatores, as interações 13 e 23 apresentaram diferenças significativas entre os valores dos efeitos e das estimativas de desvios padrão, assim essas interações foram as mais importantes no estudo, sendo que a interação 13 (tampão e T_{dep}) foi a mais significativa.

A interação dos três fatores não foi representativa para o sistema em estudo, pois os valores do efeito e da estimativa do desvio são praticamente os mesmos. Portanto, a influência do tampão e do tempo de deposição foram os

fatores mais significativos para o sistema estudado. Nesse sentido, o tempo de deposição se mostrou satisfatório, sendo um tempo relativamente curto para determinações de metais-traço por voltametria. A ausência do tampão pode ser conveniente porque diminui a possibilidade de contaminação da amostra por meio da adição de outros reagentes.

Com o intuito de demonstrar que a ausência do tampão não interfere na medida voltamétrica foram realizadas determinações de CuTD em uma amostra de água marinha. Duas alíquotas da mesma amostra foram previamente digeridas; em seguida adicionou-se $10,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ de SA em cada uma delas, e em apenas uma das alíquotas foi adicionado o tampão borato. Finalmente, os teores de CuTD foram determinados por voltametria pelo método de adição de padrão, conforme mostra a Figura 18.

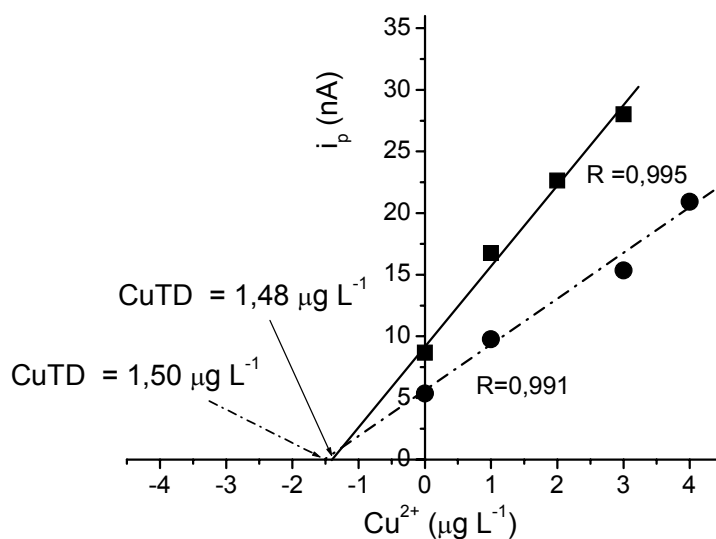


Figura 18. Gráficos da adição de padrão para a determinação de CuTD na presença (●) e ausência de tampão (■).

A Figura 18 permite observar que as concentrações obtidas nas determinações foram $1,50 \mu\text{g L}^{-1}$ na presença do tampão e $1,48 \mu\text{g L}^{-1}$ na sua ausência. Estes resultados permitem concluir que os valores determinados de cobre total dissolvido não apresentam diferenças significativas na presença ou não do tampão. Mais do que isto, foi possível verificar que a ausência do tampão

proporcionou uma maior sensibilidade analítica na determinação voltamétrica do cobre, devido a maior inclinação da reta no gráfico mostrado na Figura 18. A diferença das inclinações entre as duas determinações poderia estar relacionada a alterações do pH, uma vez que em uma das determinações de cobre foi realizada na ausência de tampão. Contudo, nessas determinações as amostras tiveram seu pH ajustado em 7 pela adição de NH_3 . Portanto, a diferença das inclinações das retas não está relacionada às diferenças de pH, mas sim ao efeito de matriz do tampão no processo voltamétrico, diminuindo a sensibilidade analítica.

Finalmente, através deste planejamento fatorial 2^3 foi possível observar que o fator tampão e a interação tampão e tempo de deposição foram mais significativos do ponto de vista estatístico. O efeito de interação de dois fatores observado neste trabalho não seria verificado em um estudo univariado. Ou seja, os resultados evidenciam uma das principais vantagens da utilização do planejamento fatorial, que é a possibilidade de avaliar o sistema da maneira multivariada, conseguindo otimizar todas as variáveis que compõem o sistema experimental.

Com base nestes resultados conclui-se que o procedimento aqui proposto pode ser recomendado nos estudos de especiação do cobre em amostras de águas naturais empregando voltametria adsorptiva de redissolução catódica.

Além disso, através desse estudo quimiométrico pôde ser demonstrado que técnicas validadas internacionalmente podem ser melhoradas através de estudos multivariados onde os fatores são avaliados de maneira simultânea.

5.2.1. Determinação de cobre lábil

A especiação química de metais tem sido bastante estudada através de técnicas baseadas na voltametria devido à simplicidade, baixo custo e, principalmente, pela possibilidade de obtenção de informações relacionadas à fração lábil do metal, isto é sua fração biodisponível. Na maior parte dos casos, avaliação da especiação de metais em amostras de águas naturais tem sido realizada por titulação voltamétrica das amostras com os metais de interesse (van den Berg, 1984; Ruzic, 1982).

A determinação da fração lábil do cobre foi realizada, neste trabalho, através do emprego da voltametria adsortiva de redissolução catódica com troca por ligante de competição usando SA. Esse método baseia-se no estabelecimento de um equilíbrio de competição para o cobre lábil entre os ligantes naturais presentes em água do mar e um ligante de competição adicionado à amostra, neste trabalho a salicilaldoxima. Realiza-se então a determinação voltamétrica do complexo eletroativo formado entre o cobre e a salicilaldoxima para todas as alíquotas. As concentrações de cobre complexado e cobre lábil (inorgânico e livre) são calculadas pela combinação das medidas de voltametria com dados termodinâmicos e balanços de massa das espécies envolvidas (Donat e van den Berg, 1992).

Neste trabalho, a determinação de cobre lábil foi realizada através de uma titulação de amostras de água marinha contendo o ligante de competição com solução padrão de cobre. Para isso, alíquotas da amostra contendo o ligante de competição foram enriquecidas com concentrações crescentes de cobre. Após, o período de contato de 12 horas, que permite o estabelecimento do equilíbrio entre o cobre adicionado com os ligantes naturais e a salicilaldoxima adicionada, realizou-se a determinação voltamétrica em cada alíquota, utilizando os parâmetros voltamétricos otimizados por planejamento fatorial. Os valores de intensidade de corrente (i_p) obtidos por voltametria referem-se à redução do complexo Cu-SA.

Conhecendo a concentração de CuTD na amostra e com um tratamento dos dados da titulação obtém-se a concentração do metal na forma lábil ($CuLábil$), a concentração de sítios ligantes (C_L - capacidade de complexação) e a constante de estabilidade condicional dos ligantes naturais e o cobre (K'_{CuL}).

A Figura 19 exibe um gráfico relativo a uma curva de titulação voltamétrica típica de uma amostra de água marinha com cobre.

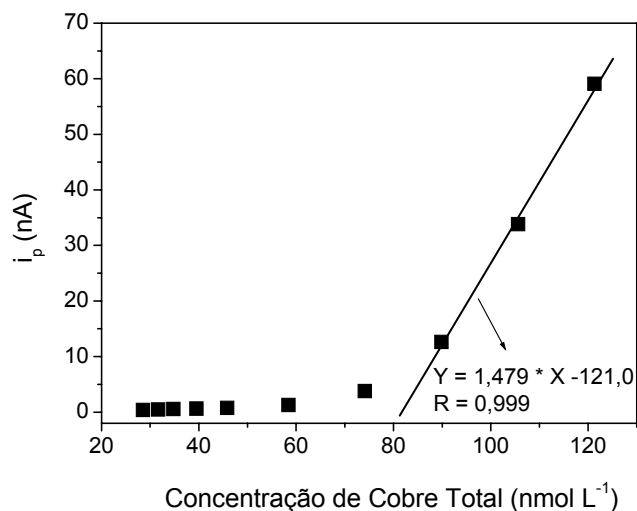


Figura 19. Curva de titulação voltamétrica de uma amostra marinha com cobre.

A Figura 19 mostra a curva de titulação voltamétrica de uma amostra de água marinha com cobre. Nesta figura são mostradas as correntes de pico (i_p) do complexo Cu-SA em função da concentração de cobre adicionado, somada à concentração do metal dissolvido já presente na amostra.

Como se pode notar a partir dos comportamentos descritos no gráfico apresentado na Figura 19, não há variação significativa da intensidade de corrente de pico nos primeiros pontos da titulação, após a adição de cobre. Isto significa que o metal adicionado está sendo complexado pelos ligantes presentes na amostra, tornando-se não eletroativo. Mais adiante na titulação, ao contrário, é possível notar que a corrente de pico varia de maneira proporcional à concentração do cobre, após cada adição do metal. Este comportamento evidencia que a partir de um dado momento ocorre uma saturação dos sítios disponíveis para a complexação; portanto, todo o metal adicionado, a partir deste momento, encontra-se na forma eletroativa, ou seja, lábil (Scarponi *et al.*, 1996). Isto resulta da complexação do metal pelo ligante de competição, a salicilaldoxima, complexo este que apresenta características eletroativas.

As concentrações de CuLábil são determinadas para cada ponto da curva de titulação, através da razão entre a intensidade de corrente (i_p) e o coeficiente

angular (inclinação) da equação de reta quando se considera a porção linear da curva de titulação (Figura 19) (Campos e van den Berg, 1994).

De posse destes dados, é possível determinar a concentração de cobre complexado pelos ligantes naturais (CuL) através da diferença entre o teor de cobre total dissolvido e o teor de cobre lábil, para cada ponto da titulação.

Os parâmetros da complexação, isto é, a capacidade de complexação e a constante de estabilidade condicional, respectivamente, CC e K' , podem ser obtidos através do tratamento dos dados utilizando a equação de Linearização que é derivada de várias relações de balanço de massa e constante de estabilidade condicional (van den Berg e Kramer, 1979; Ruzic, 1982; van den Berg, 1984). A Equação de Linearização é:

$$\frac{[CuLábil]}{[CuL]} = \frac{[CuLábil]}{C_L} + \frac{\alpha'}{(K'_{CuL} C_L)},$$

onde [CuL] é a concentração de cobre complexado pelos ligantes naturais, [CuLábil] é a concentração de cobre lábil que forma o complexo com a SA, C_L é a concentração de ligantes naturais, e K'_{CuL} é a constante de estabilidade condicional para o complexo Cu-ligantes naturais e α' é o coeficiente- α global do Cu^{2+} .

Sendo que $\alpha' = (\alpha_{Cu'} + \alpha_{CuSA})$, onde $\alpha_{Cu'}$ é o coeficiente- α para os complexos inorgânicos de Cu^{2+} e α_{CuSA} é o coeficiente- α para o complexo Cu-SA.

$\alpha_{Cu'} = 1 + \sum(\beta'_{CuX_i} [X]^i) + \sum(\beta'_{Cu(OH)_i} [H^+]^i)$, onde β'_{CuX_i} é a constante de estabilidade para complexos de cobre com ânions maiores (X) em água do mar e $\beta'_{Cu(OH)_i}$ é a constante ácida para o cobre.

$\alpha_{CuSA} = K'_{CuSA} [SA'] + \beta'_{Cu(SA)_2} [SA']^2$, onde K'_{CuSA} e $\beta'_{Cu(SA)_2}$ são as constantes de estabilidade condicionais para a formação de CuSA e $Cu(SA)_2$ respectivamente, e [SA'] é a concentração de SA que não foi complexado ao cobre, porém como a concentração de cobre é muito inferior à do ligante de competição, considera-se que [SA'] é igual a concentração analítica deste agente complexante.

Finalmente, é construído um novo gráfico, baseado na Equação de Linearização, que relaciona a razão da concentração de cobre lábil e cobre complexado em função da concentração de cobre lábil, como exemplifica a Figura 20, apresentada a seguir.

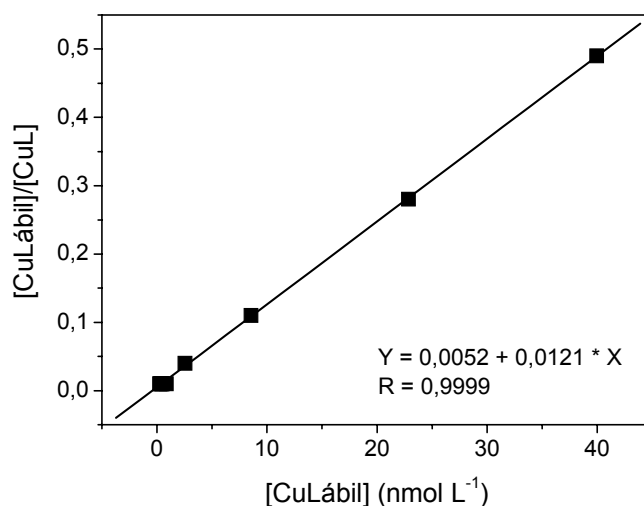


Figura 20. Determinação da capacidade de complexação e constante de estabilidade condicional de uma amostra de água marinha, baseada nos dados de titulação linearizados

A curva de linearização dos dados da titulação de uma amostra marinha está mostrada na Figura 20. A equação de reta obtida após a aplicação do modelo de linearização dos dados fornece os valores do coeficiente angular e intercepto com o eixo y, que permitem a obtenção dos valores de K'_{CuL} e C_L .

Para esta amostra estuarina o valor obtido para a concentração de sítios disponíveis igual a $82,74 \pm 0,43 \text{ nmol L}^{-1}$ e o valor da constante de estabilidade condicional foi $2,77 \cdot 10^{14 \pm 0,1}$.

Na Figura 20 pode-se observar que o coeficiente de correlação obtido para linearização dos dados da titulação voltamétrica apresentado no gráfico foi 0,9999, o que evidencia que os dados gerados na titulação apresentam confiabilidade satisfatória, permitindo inferir uma validação do protocolo analítico relacionado à análise de especiação do cobre em amostras de águas marinhas (Scarponi *et al.*, 1996).

Dados semelhantes estão descritos em vários trabalhos da literatura que utilizam uma abordagem similar na análise da especiação de cobre em ambientes aquáticos. Por exemplo, Donat e van den Berg (1992) avaliaram a especiação do cobre em amostras marinhas do Oceano Índico e do Mar do Norte empregando voltametria adsorviva de redissolução catódica e tropolona como ligante de competição. Para amostras de águas do Oceano Índico, estes autores encontraram valores médios iguais a $4,13 \pm 0,05 \text{ nmol L}^{-1}$ e $10^{12,6 \pm 0,5}$ para a capacidade de complexação e constante de estabilidade condicional, respectivamente. Para as amostras do Mar do Norte, o valor médio para a capacidade de complexação foi $16,2 \pm 0,8 \text{ nmol L}^{-1}$ e para constante de estabilidade condicional foi $10^{12,4 \pm 0,8}$. Pode-se notar que os resultados obtidos para os dois ambientes não apresentam diferenças significativas, pois apresentam a mesma ordem de grandeza.

Bruland *et al.* (2000) realizaram análises de especiação do cobre em amostras de água marinha do Estuário da Baía de Narragansett empregando voltametria adsorviva de redissolução catódica com diferentes ligantes de competição. Utilizando a salicilaldoxima, os autores encontraram $13,3 \text{ nmol L}^{-1}$ para a concentração de sítios ligantes e $10^{14,3}$ para a constante de estabilidade condicional. E quando a oxima foi utilizada como ligante de competição, os valores encontrados para a capacidade de complexação e constante de estabilidade condicional foram $12,9 \text{ nmol L}^{-1}$ e $10^{14,4}$, respectivamente. Observa-se que os resultados obtidos por Bruland *et al.* empregando diferentes ligantes de competição são similares de maneira que não apresentam diferenças significativas.

Portanto, é possível observar uma concordância entre os resultados descritos neste trabalho, empregando as condições otimizadas na análise da especiação do cobre, com os resultados descritos na literatura.

Os resultados aqui descritos permitem concluir que a análise de especiação, para cobre, pôde ser implantada de forma satisfatória, neste trabalho, a partir do emprego da voltametria e do tratamento quimiométrico dos resultados.

5.3. Implantação e Otimização do Procedimento de Especificação do Arsênio

O conhecimento da especificação de arsênio tem se tornado objeto de estudo de vários pesquisadores nos últimos anos, devido aos riscos apresentados pela contaminação desse metalóide em ambientes aquáticos naturais (Feeney, 2002).

Como a biodisponibilidade e os efeitos ecotoxicológicos do arsênio dependem de sua forma química, o conhecimento da sua especificação e do seu comportamento no ambiente aquático torna-se uma questão relevante, pois a Organização Mundial de Saúde (OMS) reconhece o arsênio como carcinogênico. Nesse contexto, é necessário o desenvolvimento de técnicas analíticas para a determinação seletiva de compostos de arsênio em diferentes tipos de matrizes como, águas, alimentos de origem marinha, sedimentos e materiais biológicos.

5.3.1. Arsênio inorgânico

Uma ampla variedade de métodos analíticos tem sido utilizada na determinação dos compostos inorgânicos de arsênio tais como As(III) e As(V). A polarografia, a voltametria cíclica e as voltametrias de redissolução, catódica e anódica, são técnicas que possibilitam a detecção seletiva do arsenito e arsenato, devido ao comportamento eletroquímico diferenciado destas espécies (Carvalho, *et al.*, 2004).

O arsenito apresenta características eletroativas e sua determinação pode ser realizada através da voltametria de redissolução catódica empregando eletrodo de gota pendente de mercúrio, como eletrodo de trabalho.

A técnica de redissolução catódica (VRC) utiliza uma etapa de pré-concentração, onde o As(III) forma um amálgama no eletrodo de trabalho, na presença de íons cobre e/ou selênio. Esse composto intermetálico formado é então redissolvido para a solução com aplicação de uma varredura de potencial no sentido catódico. Devido a essa etapa de pré-concentração a determinação de concentrações traço por voltametria de redissolução é bastante indicada, o que resulta em limites de detecção bastante baixos.

Neste trabalho foi implantado um método simples, rápido e sensível na determinação do As(III) em águas marinhas por voltametria de redissolução catódica de onda quadrada (VRCOQ), utilizando Cu^{2+} e Se^{4+} para formar o complexo intermetálico, $\text{Cu}_x\text{Se}_y\text{As}_z$, no eletrodo de trabalho na etapa de pré-concentração (He *et al.*, 2004).

Voltamogramas típicos para a determinação de As(III) por VRCOQ na presença de $4,5 \text{ mg L}^{-1}$ de Cu^{2+} , $3,7 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de Se^{4+} , $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl, em água Milli-Q e em amostra de água marinha, estão mostrados na Figura 21.

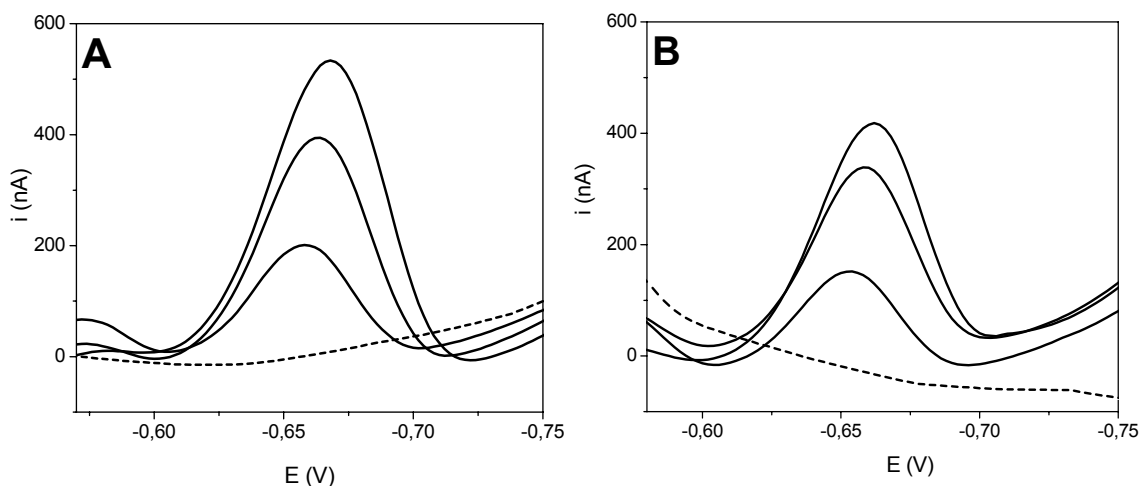


Figura 21. Voltamogramas referentes à determinação de As(III) em água Milli-Q **(A)** e Água Marinha **(B)**. **(--)** Controle contendo amostra, HCl, Cu e Se. **(—)** Adições de 10, 20 e 30 $\mu\text{g L}^{-1}$ de As(III). Os parâmetros experimentais foram: E_{dep} : -0,38 V, T_{dep} : 30 s, Varredura de potencial: -0,38 a -1,0 V.

Em primeiro lugar é possível observar, na Figura 20, em ambos os casos, a ausência do arsenito nas medidas de controle, o que mostra que todos os cuidados relacionados à purificação de reagentes e limpeza de materiais estão sendo eficientes na minimização de possíveis contaminações. Além disso, observa-se que ocorre um aumento nas correntes de pico em função do aumento da concentração de As(III).

As concentrações de Cu^{2+} e Se^{4+} utilizadas na formação do complexo $\text{Cu}_x\text{As}_y\text{Se}_z$ foram baseadas no trabalho de He *et al.* (2004). No referido trabalho a determinação de As(III) em amostras de águas naturais foi realizada por voltametria de redissolução catódica de pulso diferencial (VRCPD) com tempo de deposição de 60 s. No presente trabalho a escolha pela voltametria de redissolução catódica de onda quadrada foi baseada na maior sensibilidade e rapidez desta técnica em relação à VRCPD (Aleixo, 2003). O tempo de deposição utilizado nesse trabalho foi 30 s apresentando excelente sensibilidade, sendo metade do tempo utilizado por He *et al.*.

A Figura 22, mostrada a seguir, apresenta curvas analíticas para As(III) construídas a partir das correntes de pico presentes nos voltamogramas da Figura 20.

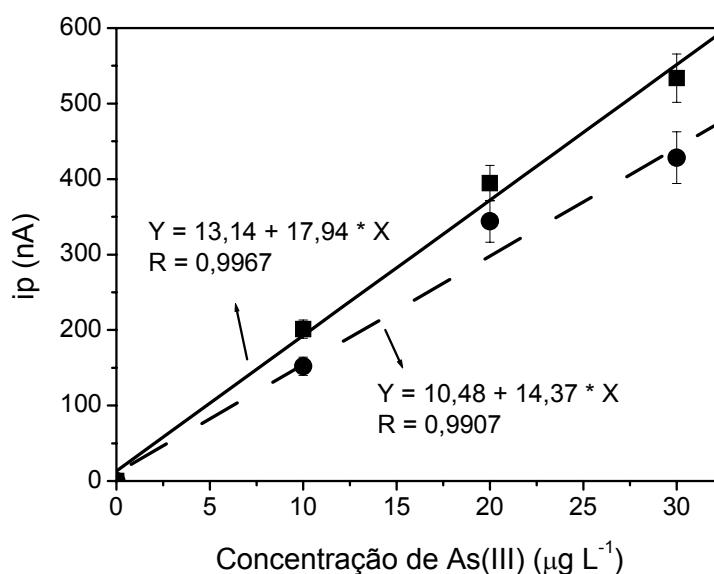


Figura 22. Curvas analíticas da determinação de As(III) por VRCOQ em água marinha (●) e em água Milli-Q (■). Os parâmetros experimentais foram: E_{dep} : - 0,38 V, T_{dep} : 30 s, Varredura de potencial: - 0,38 a -1,0 V.

A Figura 22 mostra que existe uma pequena diferença de sensibilidade quando se compara as curvas analíticas obtidas na determinação de arsenito em água Milli-Q e água marinha, em função das diferenças nas inclinações de ambas

as retas. As diferenças observadas para as correntes de pico relativas à determinação de As(III) demonstram que existe uma influência de matriz, no caso da amostra de água marinha. Uma hipótese é que o aumento da força iônica do meio possa desfavorecer a formação do complexo intermetálico, contribuindo para esta ligeira diminuição da sensibilidade quando se trabalha com água marinha. Entretanto, este efeito não inviabiliza a determinação do As(III) por VRCOQ em amostras de água marinha.

A espécie As(V) é eletroquimicamente inativa dentro da faixa de potenciais normalmente utilizada com a maioria dos eletrólitos aquosos na sua quantificação por VRC. Entretanto, a determinação direta do arsenato pode ser realizada por voltametria utilizando potenciais bastante negativos, eletrodos de ouro e em condições fortemente ácidas (Huang e Dasgupta, 1999).

Nesse sentido para a determinação do As(V) por voltametria torna-se necessário efetuar um pré-tratamento da amostra com agentes redutores para que o As(V) seja convertido a As(III).

Neste trabalho, a determinação dos teores de As(V) nas amostras de águas marinhas também foi realizada por VRCOQ. Porém, realizou-se previamente a redução do As(V) para As(III) para posterior determinação da concentração do arsênio total inorgânico [As(V) + As(III)] por voltametria. Dessa forma, a concentração do arsenato foi obtida pela diferença entre os teores de $As_{T_{inorg}}$ e As(III).

A literatura descreve uma série de procedimentos para a redução de arsenato a arsenito (Carvalho *et al.*, 2004). Tais procedimentos utilizam os mais diferentes agentes redutores, ou a combinação de alguns deles. Os agentes redutores mais utilizados quando se emprega voltametria são o SO₂, KI, uma mistura de KI e ácido ascórbico, N₂H₄·H₂SO₄ e NaBr, Na₂SO₃, NaHSO₃, Na₂S₂O₃, entre outros (Martins *et al.* 2002). Além disso, em vários casos a redução só é quantitativa com aquecimento durante um intervalo significativo de tempo, que varia de 30 a 60 min.

Contudo, alguns agentes redutores causam interferências significativas na determinação voltamétrica do arsênio, impossibilitando muitas vezes a medida

analítica. Em outros casos, além de promover a redução do arsenato para arsenito é necessário eliminar a interferência do agente redutor. Frequentemente, isto é feito ainda na etapa de pré-tratamento da amostra.

No presente trabalho foram avaliados alguns reagentes na redução do As(V) a As(III) para posterior determinação do AsT_{inorg} por voltametria. Primeiramente, testes foram realizados com tiosulfato de sódio e iodeto de potássio, em separado. Entretanto, as reduções não foram eficientes.

Assim, utilizou-se uma mistura de reagentes para a redução do As(V) a As(III). O agente redutor consistiu de uma mistura de sulfito de sódio, tiosulfato de sódio e iodeto de potássio em meio fortemente ácido ($HCl\ 4,5\ mol\ L^{-1}$) (Sperling *et al.*, 1991).

Para se avaliar a eficiência da redução do As(V) pelo agente redutor foi realizado um teste de recuperação para uma solução aquosa contendo $2,89\ \mu g\ L^{-1}$ de As(V). Esta solução foi tratada com $350\ \mu L$ do agente redutor e imediatamente foi analisada por VRCOQ na presença de HCl, Cu e Se, através da adição de padrão de As(III), conforme Figura 23.

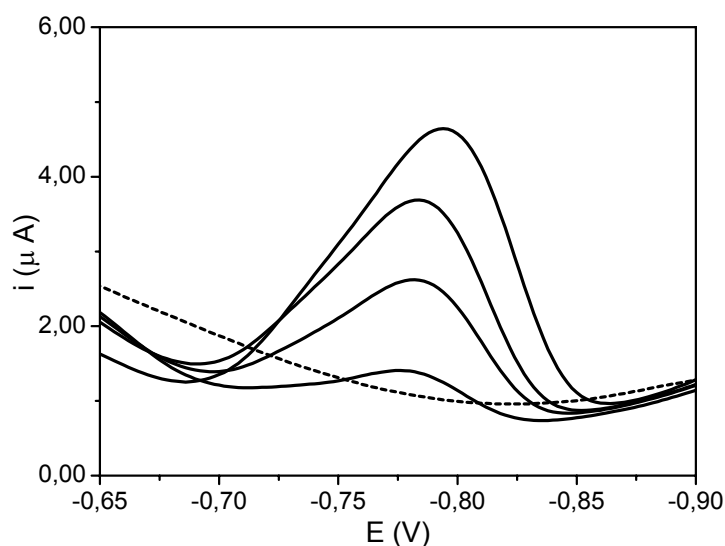


Figura 23. Determinação de As(V) após sua redução para As(III). Voltamogramas para As(III): (--) controle, (—) amostra e adições de 1,95; 3,89 e 5,83 $\mu g\ L^{-1}$ de As(III). Parâmetros experimentais

foram: E_{dep} : -0,38 V, T_{dep} : 180 s, Varredura de potencial: -0,38 a -1,0 V e tempo de purga inicial: 600 s.

A Figura 23 exibe os voltamogramas referentes à determinação de As(V) após processo de redução para As(III), com adições de concentrações crescentes deste último. Em primeiro lugar é possível observar pelo voltamograma relativo ao controle, que os reagentes utilizados na redução não são eletroativos na faixa de potenciais utilizada. Deve-se ainda mencionar que o tempo de purga utilizado nessa determinação colaborou na eliminação de possíveis compostos voláteis de enxofre que poderiam ser formados durante a redução do arsenato causando interferência na determinação (Zima e van den Berg, 1994).

Observa-se igualmente que conforme foram adicionadas concentrações crescentes de As ocorreu um aumento na intensidade de corrente. Assim, é possível notar que os agentes redutores não interagem com a espécie de interesse, evidenciando a ausência de efeitos de interferência dos mesmos.

Nota-se, contudo, que a presença dos redutores resulta em um efeito de matriz, na medida em que o potencial de pico decorrente da redução que tem lugar na superfície do eletrodo sofre um deslocamento para regiões mais catódicas. Esse comportamento pode ser atribuído à formação do composto intermetálico $\text{Cu}_x\text{Se}_y\text{As}_z$, de razões estequiométricas diferentes do composto formado na determinação do As(III) (He *et al.*, 2004).

A eficiência dessa redução foi avaliada através de teste de recuperação, cujos resultados são apresentados na Figura 24.

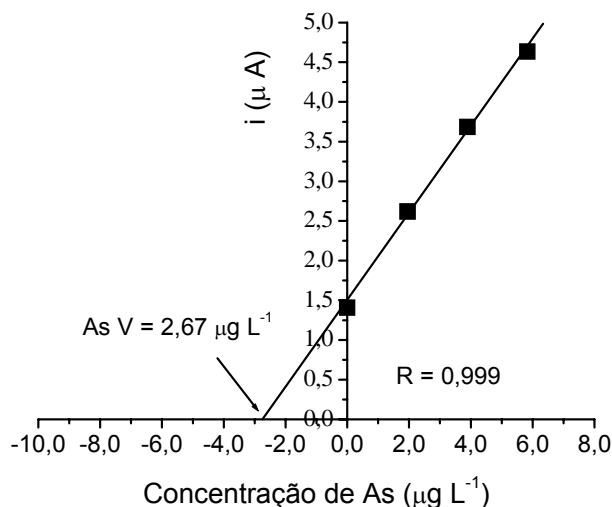


Figura 24. Gráfico de adição de padrão na determinação voltamétrica do As(V) após reação de redução para As(III).

Pode ser observado na Figura 24 que o teor de As(V) determinado foi $2,67 \mu\text{g L}^{-1}$, o que corresponde a um percentual de recuperação de 92,4%. Nota-se que a curva de adição de padrão apresentou um comportamento linear e exibiu uma sensibilidade adequada, evidenciando a eficiência dos agentes redutores. Essa recuperação pode ser considerada satisfatória, especialmente quando se leva em conta as concentrações determinadas.

Tais resultados permitem concluir que a redução do As(V) para As(III) foi realizada de forma rápida, eficiente e, principalmente, dispensou a necessidade de aquecimento, o que aumentaria a chance de se ter perdas do analito durante essa etapa, o que tem sido freqüentemente descrito na literatura.

Na implantação dos métodos para a determinação voltamétrica do arsênio inorgânico, descritas anteriormente, as soluções utilizadas continham apenas As(III) ou As(V). Portanto, estas soluções não continham misturas de diferentes espécies de arsênio inorgânico, tampouco espécies orgânicas deste elemento. Desse modo, foram realizados testes com a finalidade de verificar possíveis interferências destas espécies na determinação de As por voltametria de redissolução catódica de onda quadrada.

O primeiro teste foi realizado com o intuito de observar interferências do As(V) na determinação de As(III). Uma alíquota da amostra de água filtrada de Guaraqueçaba foi fortificada com $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de arsenito. A amostra foi acidificada, enriquecida com Cu e Se e determinou-se a intensidade da corrente de pico relativa ao arsenito, em duplicada, utilizando VRCOQ. Após esta etapa, adicionou-se $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V) e novamente determinou-se a intensidade de corrente. Os voltamogramas referentes a estes testes são exibidos na Figura 25A.

O segundo teste foi realizado para verificar se uma espécie orgânica de As, o ácido dimetilarsínico (DMA), interfere na determinação do arsênio total inorgânico. Então, a amostra de Guaraqueçaba foi fortificada com $5,00 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V), e após a redução para As(III) realizou-se a determinação da intensidade de corrente do pico relativa ao arsenito, em duplicata, por VRCOQ na presença de Cu e Se. Posteriormente, adicionou-se $5,00 \mu\text{g L}^{-1}$ de DMA e novamente determinou-se a intensidade de corrente em duplicata, conforme voltamogramas apresentados na Figura 25B.

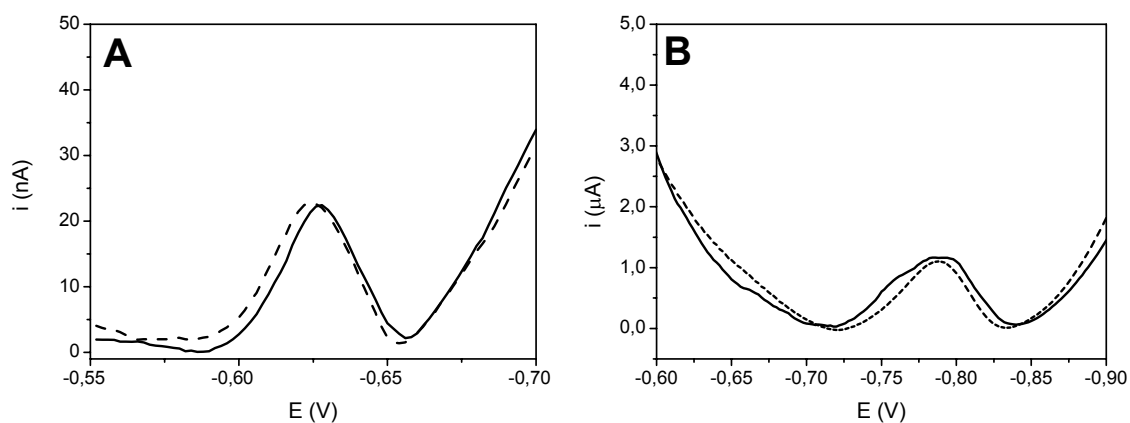


Figura 25. Voltamogramas referentes aos estudos de interferência na determinação de As_{inorg} . Determinação de As(III) na presença de As(V): (—) amostra fortificada com $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) e (- -) adição de $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V) (A). Determinação de As(V) na presença de DMA: (—) amostra com $5,00 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V) após redução para As(III) e (- -) adição de $5,00 \mu\text{g L}^{-1}$ de DMA (B).

Pelos voltamogramas apresentados na Figura 25A comprova-se que o arsenato não interfere na medida voltamétrica do arsenito, pois as intensidades de corrente de pico podem ser consideradas concordantes. Os valores médios de i_p para As(III) foram 22,4 nA e 21,7 nA, na ausência e na presença do As(V), respectivamente.

A mesma conclusão pode ser verificada a partir dos voltamogramas mostrados na Figura 25B, ou seja, a espécie orgânica de As não interfere na determinação voltamétrica do AsT_{inorg} , pois as intensidades de corrente de forma pouco significativa tanto na presença quanto na ausência do DMA. Os valores médios de i_p foram 1,16 μA e 1,09 μA , na ausência e presença de DMA, respectivamente.

De fato, na literatura é descrito que a determinação das espécies orgânicas de arsênio só pode ser realizada através de métodos polarográficos dependendo da composição do eletrólito de suporte empregada (Carvalho *et al.*, 2004). Elton e Geiger Jr., 1978 determinaram espécies orgânicas de arsênio, ácido dimetilarsínico e ácido metilarsônico, por polarografia de pulso diferencial em meio aquoso, na presença de tampão Britton-Robinson ou em meio não aquoso utilizando uma solução de perclorato de guanidínio.

Para validar o método para determinação de arsênio inorgânico por VRCOQ, neste trabalho, novos testes de recuperação foram realizados. Para tal, foram utilizadas soluções sintéticas para mimetizar amostras marinhas com salinidade de 34,2 (escala prática). Uma alíquota desta solução, chamada de amostra 1, foi enriquecida com 1,00 $\mu g L^{-1}$ de cada espécie de arsênio, As(III), As(V) e DMA. Outra alíquota, denominada amostra 2, foi enriquecida com 2,00 $\mu g L^{-1}$ de cada espécie de arsênio. Após 24 h de tempo de contato foram realizadas as determinações por VRCOQ. A média dos resultados desses experimentos que foram realizados em duplicata, expressos em termos do percentual de recuperação, podem ser visualizados na Figura 26.

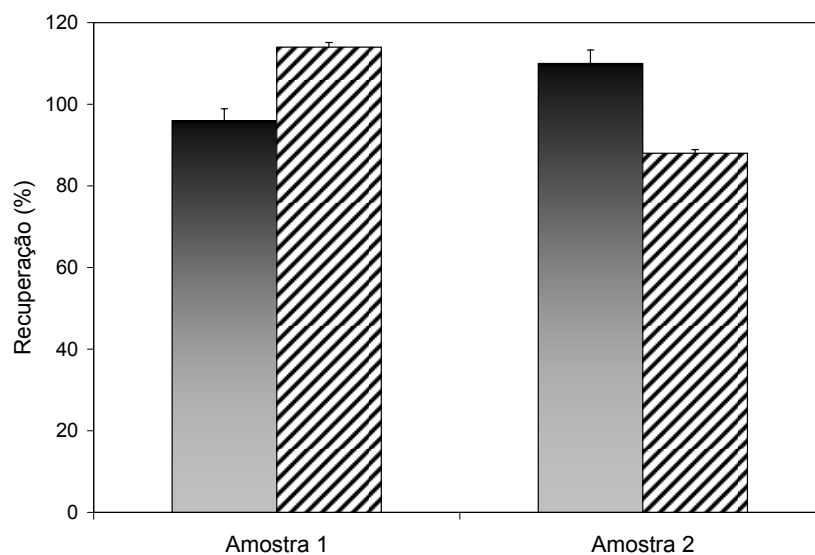


Figura 26. Percentual de recuperação para determinação de arsênio inorgânico por voltametria de redissolução catódica de onda quadrada. ■ As(III). ▨ As(V). Amostra 1: amostra sintética marinha enriquecida com $1,00 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada espécie de arsênio [As(III), As(V) e DMA]. Amostra 2: amostra sintética marinha enriquecida com $2,00 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada espécie de arsênio [As(III), As(V) e DMA].

De acordo com os resultados contidos na Figura 26, os percentuais de recuperação variaram entre 96% e 110% para As(III) e de 114% a 88% para As(V) para as amostras 1 e 2, respectivamente. Esses percentuais de recuperação foram bastante satisfatórios e o estudo também permitiu confirmar a ausência de interferências por parte da matriz salina e da espécie de DMA nas medidas voltamétricas. Portanto, o DMA não apresenta propriedades eletroanalíticas e deve-se salientar que os agentes redutores não são capazes de romper as ligações entre os grupos metila e o arsênio na molécula do DMA.

Na avaliação dos parâmetros de mérito dos métodos propostos na determinação de arsênio total inorgânico e arsenito por VRCOQ foram determinados os respectivos limites de detecção (LD), além dos percentuais de recuperação.

O limite de detecção pode ser definido como a concentração mínima de analito que pode ser detectada em um nível confiável. O LD depende da razão

entre a magnitude do sinal analítico e o tamanho das flutuações estatísticas no sinal do controle, ou também chamado de branco (Skoog, 2002).

O limite de detecção pode ser calculado pela seguinte equação:

$$LD = \frac{S_m - S_{br}}{m},$$

onde S_m é o sinal mínimo distinguível, S_{br} é o sinal médio do branco e m é o coeficiente angular da equação de reta de uma curva analítica.

O sinal analítico mínimo distinguível (S_m) é considerado como a soma do sinal médio do branco (S_{br}) mais um múltiplo de K da estimativa do desvio-padrão do controle (s_{br}): $S_m = S_{br} + ks_{br}$ (Skoog, 2002). Experimentalmente, S_m pode ser determinado por medidas do controle repetidas de 10 a 20 vezes. Os dados resultantes são tratados estatisticamente para obter S_{br} e s_{br} . Vários autores recomendam o uso de $K=3$ (Skoog, 2002).

Para a determinação do limite de detecção dos métodos voltamétricos empregados na determinação do arsênio inorgânico foram realizadas 10 medidas de controle tanto para a determinação do As(III) quanto para AsT_{inorg} . Para o As(III) o controle consistiu de 10,0 mL de água Milli-Q na presença de HCl (1 mol L^{-1}), Cu^{2+} (4,6 mg L^{-1}) e Se^{4+} (3,7 $\mu g L^{-1}$) e para As total inorgânico o controle foi o mesmo do As(III), porém o agente redutor também estava presente no controle. Curvas analíticas também foram construídas para a determinação de As(III) e AsT_{inorg} em uma faixa de concentração que variou de 1,00 a 6,00 $\mu g L^{-1}$, conforme Figura 27. Os resultados dos cálculos de LD estão mostrados na Tabela 9.

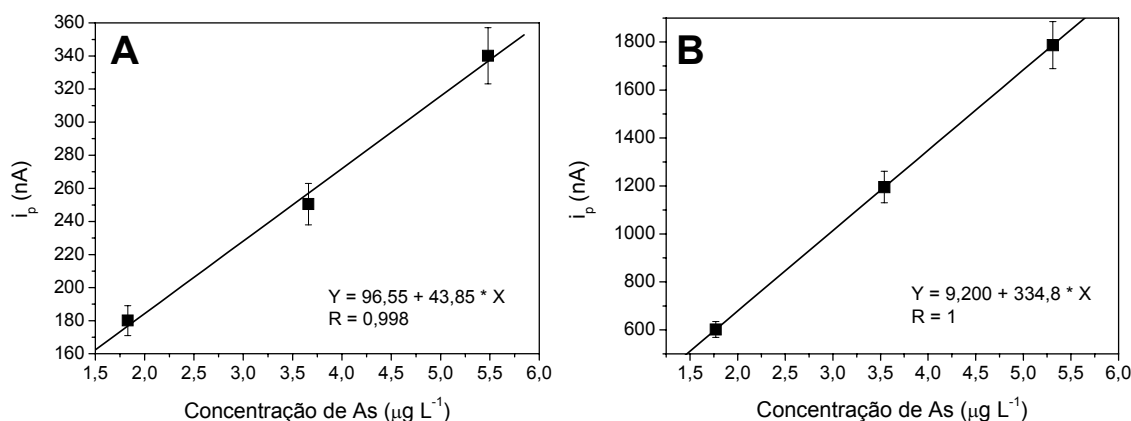


Figura 27. Curvas de calibração na determinação de arsenito **(A)** e arsênio total inorgânico **(B)** por voltametria de redissolução catódica de onda quadrada.

Tabela 9. Resultados dos parâmetros utilizados nos cálculos de LD das determinações de arsenito e arsênio total orgânicos por VRCOQ em amostras marinhas.

	As(III)	AsT _{inorg}
S_{br}	2,51	12,47
S_{br}	0,85	2,56
$S_m = S_{br} + k S_{br}$	5,07	19,3
m	43,85	334,8
$LD = \frac{S_m - S_{br}}{m}$ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,06	0,02

Na Tabela 9 estão apresentados os resultados da avaliação do limite de detecção da determinação de As(III) e AsT_{inorg} por VRCOQ. Os valores de LD obtidos foram 0,06 $\mu\text{g L}^{-1}$ (0,8 nmol L⁻¹) e 0,02 $\mu\text{g L}^{-1}$ (0,27 nmol L⁻¹) para As (III) e AsT_{inorg}, respectivamente.

Para ambas as determinações os valores de LD foram baixos e considera-se que os limites de detecção alcançados neste trabalho são adequados. He *et al.* (2004), por exemplo, obtiveram um valor de LD de 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ tanto para As(III) quanto para AsT_{inorg} empregando voltametria de redissolução catódica com pulso diferencial.

Devido a todos os aspectos discutidos, os procedimentos empregados na especificação do arsênio inorgânico por voltametria de redissolução catódica de

onda quadrada podem ser considerados adequados para amostras de água marinha, com excelente sensibilidade.

5.3.2. Arsênio orgânico

Organismos vivos são capazes de transformar espécies inorgânicas de arsênio em espécies orgânicas como o ácido monometilarsônico, o ácido dimetilarsínico, a arsenocolina e arsenobetaína, entre outros (Simon *et al.*, 2004). Le *et al.* (1992) relataram que em ambientes aquáticos naturais as espécies inorgânicas, apesar de apresentarem uma maior toxicidade, representam de 40 a 70% da concentração total do arsênio. Portanto, as espécies orgânicas podem ser encontradas em concentrações significativas em águas naturais e neste sentido, é interessante determinar também a concentração total destas espécies de arsênio em águas marinhas.

Em virtude do comportamento não eletroativo apresentado pelo ácido dimetilarsínico em testes conduzidos anteriormente, foram realizados experimentos visando viabilizar a determinação voltamétrica das espécies orgânicas de arsênio após procedimento de digestão, a fim de converter as espécies orgânicas em espécies inorgânicas.

A decomposição destas espécies pode ser realizada pelo uso de uma mistura de reagentes oxidantes, tais como ácido nítrico, sulfúrico e perclórico (Schramel e Hasse, 1993); ácido sulfúrico e peróxido de hidrogênio (Dean *et al.*, 1995); ou ainda pelos ácidos nítrico, clorídrico e fluorídrico (Sen Gupta *et al.*, 1995). Porém, a literatura relata que os compostos orgânicos de arsênio são extremamente resistentes à degradação (Simon *et al.*, 2004).

Recentemente, várias estratégias para o procedimento de digestão de espécies orgânicas de arsênio têm sido propostas na literatura. Uma dessas estratégias é o uso de radiação microondas na digestão de amostras ambientais e biológicas, entre outras (Ringmann *et al.*, 2002; Simon *et al.*, 2004).

Neste trabalho, um primeiro teste foi realizado empregando digestão fotoquímica assistida por microondas da espécie orgânica de arsênio, o ácido dimetilarsínico (DMA). Uma alíquota de uma amostra de água marinha coletada

em Guarareçaba foi enriquecida com $5,00 \mu\text{g L}^{-1}$ de DMA, acidificada com ácido nítrico ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$) e adicionou-se $20,0 \mu\text{L}$ de peróxido de hidrogênio (30%). Esta amostra foi transferida para o reator fotoquímico submetida à radiação microondas. Após esse processo, determinou-se a concentração do $\text{AsT}_{\text{inorg}}$ por VRCOQ. Os resultados são apresentados Figura 28A.

Um segundo teste também foi realizado, porém empregou-se um procedimento clássico de digestão que consistiu no uso de uma mistura de ácidos e aquecimento. Em uma alíquota da amostra de água marinha enriquecida com $5,00 \mu\text{g L}^{-1}$ de DMA foram adicionados $1,0 \text{ mL}$ de ácido nítrico; $0,5 \text{ mL}$ de ácido sulfúrico e $1,0 \text{ mL}$ de ácido clorídrico. A amostra acidificada foi aquecida a 200°C em manta de aquecimento durante $2,5 \text{ h}$. Após a liberação de fumos de SO_3 realizou-se a determinação de $\text{AsT}_{\text{inorg}}$ por VRCOQ, conforme mostra a Figura 28B.

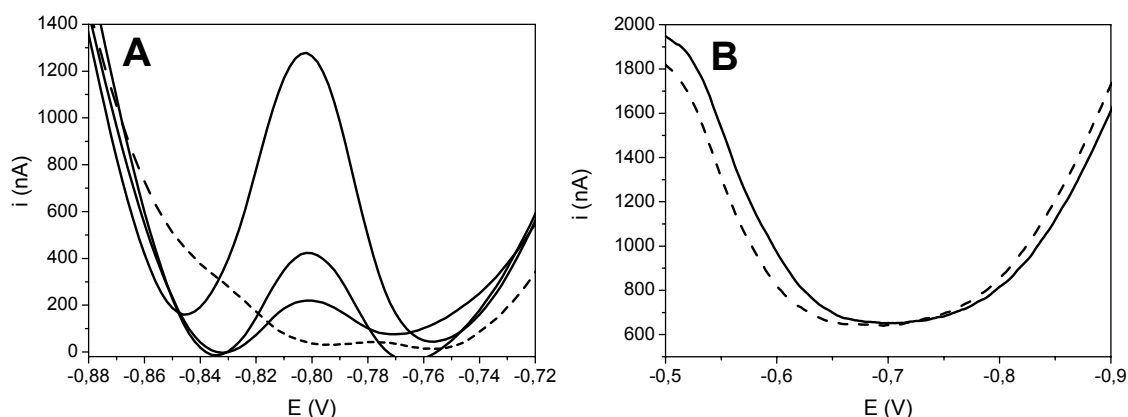


Figura 28. Voltamogramas referentes à determinação de DMA em amostra de água marinha enriquecida com $5,00 \mu\text{g L}^{-1}$ de DMA por VRCOQ, após processos de digestão. Digestão fotoquímica ativada por microondas: (- -) amostra após digestão e (-) adições de $1,00$; $2,00$ e $4,00 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III) (**A**). Digestão ácida com aquecimento: (-) amostra após digestão, e (- -) repetição, (**B**).

A Figura 28A mostra os voltamogramas obtidos após a digestão fotoquímica da amostra marinha enriquecida com ácido dimetilarsínico. É possível

verificar a ineficiência do processo de digestão do DMA, pois a amostra apresentou ausência da espécie eletroativa, As(III), na determinação voltamétrica. A mesma conclusão pode ser verificada nos voltamogramas exibidos na Figura 28B. Portanto, o processo de degradação do ácido dimetilarsínico foi ineficiente utilizando as duas digestões, uma fotoquímica e a outra em meio fortemente ácido com aquecimento.

Resultado semelhante foi obtido por Schramel e Hasse (1993) que relatam a dificuldade de degradação desses compostos de As. Esses pesquisadores realizaram a digestão de compostos orgânicos de arsênio empregando ácido nítrico com aquecimento entre 270 e 300°C durante várias horas.

Esses procedimentos de digestão apresentam desvantagens tais como reações de digestão extremamente demoradas, manipulação de substâncias químicas perigosas, sendo que em muitos casos, as reações necessitam de aquecimento, aumentando o risco de acidentes ou ainda a possibilidade de ocorrer perdas das espécies de interesse. Além desses aspectos, na literatura é descrito que o uso de alguns reagentes oxidantes pode interferir na determinação das espécies inorgânicas do arsênio por voltametria, uma vez que o caráter oxidante do meio mantém o arsênio na forma de arsenato, espécie não-eletroativa (Ringmann *et al.*, 2002).

Alternativamente, a determinação de arsênio orgânico pode ser conduzida de maneira indireta. Realizando a determinação da concentração total de arsênio e conhecendo as concentrações totais de arsênio inorgânico é possível determinar a concentração do arsênio orgânico, por diferença.

5.3.3. Arsênio total

Neste trabalho os teores totais de arsênio, tanto na amostra *in natura*, arsênio total recuperável (AsTR), quanto na amostra filtrada, arsênio total dissolvido (AsTD), foram determinados por espectroscopia de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (EAA-FG).

A técnica de espectrometria de absorção com atomização em forno de grafite (EAA-FG) é bastante adequada para a determinação de baixas

concentrações de metais e semi-metais devido à alta sensibilidade, uma vez que a alíquota de uma amostra inserida em um forno aquecido eletricamente é atomizada em um curto período de tempo. A técnica alia ainda as vantagens de proporcionar boa seletividade, requerer pequenos volumes de amostra e possuir limites de detecção bastante baixos para muitos elementos, em concentrações da ordem de mg L^{-1} e $\mu\text{g L}^{-1}$ (Skoog, 2002).

No caso da determinação do arsênio por EAA a técnica mais difundida é a espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos. A geração de hidretos está bem estabelecida na literatura e tal procedimento melhora o limite de detecção da técnica de EAA, pois elimina as interferências encontradas na espectroscopia de absorção atômica em fase gasosa.

A EAA-FG tem sido também empregada na determinação de arsênio total com boa sensibilidade e precisão nas medidas (Carvalho *et al.*, 2004). Porém, em matrizes complexas e com concentrações muito baixas, na faixa de 1 a 2 $\mu\text{g L}^{-1}$, a determinação do arsênio por EAA-FG apresenta uma série de obstáculos, como dificuldade de se obter um sinal analítico livre de interferência, necessidade de utilizar técnicas de pré-concentração, necessidade de modificação da superfície de atomização, entre outras (Capon, 2000).

Na implantação do protocolo analítico da especiação do arsênio em águas marinhas foram realizados estudos visando otimizar a determinação de arsênio total por EAA-FG. Tais estudos contemplaram programas de aquecimento, uso de modificadores de matriz, volumes de injeção da amostra e emprego de diferentes superfícies de atomização, como por exemplo, plataforma de *L'vov*, plataforma de tungstênio e parede do tubo de grafite pirolítico. Em todos os experimentos, foram utilizadas amostras sintéticas enriquecidas com 10,00 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada espécie de arsênio, ou seja, As(III); As(V) e DMA.

Na EAA-FG utiliza-se um programa de aquecimento que consiste de quatro etapas. Na primeira etapa realiza-se a secagem para eliminação do solvente (50 a 200°C), posteriormente realiza-se a etapa de calcinação (pirólise) para a eliminação da matriz (200 a 800°C). A terceira etapa consiste da atomização para a produção do vapor atômico da espécie de interesse (2000 a

2300°C), e por último realiza-se a limpeza da superfície de atomização (2400 a 2500°C). Essas temperaturas dependem do analito a ser determinado e também da matriz; conseqüentemente torna-se necessário estabelecer as melhores temperaturas para cada etapa. Geralmente nessa otimização são empregados métodos univariados, que consistem em manter a temperatura de atomização fixa e variar a temperatura de pirólise e posteriormente realiza-se o processo inverso. Esse processo de otimização é importante para obtenção de valores mais elevados de absorbância e sinais menos intensos de sinais de fundo, também chamado de background.

Neste trabalho, foi avaliado o efeito da superfície atomizadora, isto é, tubo de grafite pirolítico, plataforma de grafite pirolítico (*L'vov*) e plataforma de tungstênio, sobre a atomização eletrotérmica do arsênio, avaliando o melhor programa de aquecimento.

Empregando a parede do tubo de grafite pirolítico como superfície de atomização realizou-se experimentos referentes à otimização do programa de aquecimento. A temperatura de atomização (T_{atom}) foi mantida em 2200°C e variou-se a temperatura de pirólise (T_{pirol}) entre 700 e 1000°C. As intensidades dos sinais de absorbância e de corrente de fundo obtidos estão apresentadas na Figura 29.

Outra superfície de atomização testada foi a plataforma de *L'vov*, pois o desempenho do forno pode ser melhorado com esta plataforma de grafite que é posicionada na porta de acesso da amostra. A amostra sofre evaporação e incineração na forma usual. Contudo, quando a temperatura do tubo aumenta rapidamente, a atomização demora, pois a amostra não está mais diretamente sobre a parede do forno (Skoog, 2002).

Esse tipo de superfície de atomização tem sido empregado na determinação de arsênio em matrizes complexas, devido à atomização ocorrer em um ambiente no qual a temperatura não varia tão rapidamente, sendo possível aumentar a sensibilidade analítica (Akman e Tekgül, 1999; Cabon, 2000 e Dakuzaku *et al.*, 2001). Por exemplo, Hsiang *et al.* (2004) utilizaram plataforma de *L'vov* na determinação do arsênio em urina por EAA-FG. Bozsai (1990) também

utilizou esse tipo de superfície de atomização na determinação de As, Pb, Cd e Se em águas com teores altos de sais. Devido à presença de sais nessas amostras, a determinação através da EAA-FG apresentou muitas dificuldades e foi necessário utilizar modificadores químicos.

Nos experimentos empregando plataforma de *L'vov* a T_{atom} foi mantida fixa em 2200°C e a faixa de $T_{\text{piról}}$ estudada variou de 1100 a 1300°C e foi utilizada uma solução de paládio como modificador de matriz. Os resultados são mostrados na Figura 29.

O modificador de matriz químico é uma substância, ou uma mistura de substâncias, que é adicionada à amostra para (i) estabilizar diferentes analitos a altas temperaturas, reduzindo a perda do analito durante a etapa de pirólise; (ii) tornar a matriz mais volátil, aumentando a volatilidade de concomitantes, (iii) aumentar o tempo de vida da superfície de atomização, entre outros (Pereira Filho, 2003). Uma série de modificadores e suas misturas têm sido utilizados na determinação de As, incluindo lantânio (Koreckowa *et al.*, 1980), magnésio (Hovorka e Marshall, 1997), níquel (Koreckowa *et al.*, 1980; Ni *et al.*, 1996), paládio (Chwastowska *et al.*, 1996; Ni *et al.*, 1996), etc.

No presente trabalho também foi realizado um outro estudo visando avaliar o efeito de um ambiente mais isotérmico durante a etapa de atomização, para tal foi avaliada a utilização da plataforma de filamento de tungstênio como superfície de atomização. Nos experimentos com a plataforma de tungstênio foram utilizados dois filamentos (Osram) inseridos em um tundo de grafite pirolítico. A T_{atom} foi mantida constante em 2200 °C e para a etapa de pirólise utilizou-se temperaturas entre 1300 e 1500°C. Em todos esses testes o paládio foi utilizado como modificador de matriz. Os resultados também estão mostrados na Figura 29.

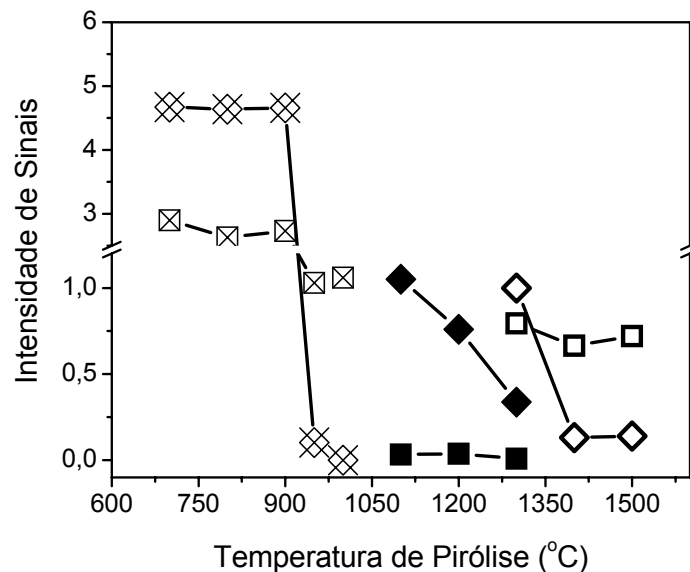


Figura 29. Curvas de pirólise na determinação de arsênio empregando diferentes superfícies de atomização. T_{atom} : 2200°C. Absorbância (□) e Sinal de fundo, BG (◇). Superfícies de atomização: tubo de grafite pirólítico (⊠), plataforma de L'vov (■) e filamento de tungstênio (◼).

Na Figura 29 estão apresentados os sinais de absorbância e de fundo (BG) obtidos para as três superfícies de atomização avaliadas na otimização da temperatura de pirólise da determinação do arsênio em matriz salina.

Quando a parede do tubo pirólítico foi utilizada como superfície de atomização, não se observam alterações significativas na absorbância entre 700 e 900°C. Porém, a partir de 900 °C nota-se que ocorreu uma diminuição significativa do sinal analítico. Este comportamento evidencia a perda do analito por volatilização. O sinal de fundo apresentou um valor alto durante todo experimento e só teve seu valor diminuído quando ocorreu a perda do As por volatilização.

O sinal de fundo é uma radiação provocada pela presença de espécies moleculares, interferentes, que podem provocar absorção, emissão e espalhamento da radiação (Skoog, 2002). Nesse sentido, acredita-se que os valores elevados de absorbância não foram provenientes apenas do analito e sim resultantes de concomitantes presentes na matriz salina, que interferiram na determinação. Conclui-se que os valores altos de BG inviabilizam a determinação

de arsênio em amostras de águas marinhas utilizando EAA-FG e tubo de grafite pirolítico como superfície de atomização.

Com relação ao uso da plataforma de *L'vov*, observou-se que o sinal maior de absorvância e o valor inferior de BG foram obtidos quando a temperatura de pirólise foi 1200°C, podendo ser considerada a temperatura ótima. Apesar do sinal de absorvância apresentar valores baixos, verificou-se que os valores de BG diminuíram significativamente em relação ao emprego do tubo de grafite, provavelmente devido à eliminação de espécies interferentes na etapa de pirólise. Tal eliminação só foi possível com o emprego do modificador químico de paládio, que foi responsável pela diminuição da volatilidade do analito, sendo viável utilizar altas temperaturas durante a etapa de pirólise que é responsável pela eliminação da matriz.

De fato, a literatura relata que cloretos, sulfatos, cálcio, sódio, entre outros íons, são responsáveis por causar sérias interferências na EAA-FG (Capon, 2000). Sendo esses íons majoritários na água do mar, torna-se imprescindível a utilização de altas temperaturas na etapa de pirólise para a eliminação destas espécies. O emprego de altas temperaturas de pirólise só é possível sem perda do arsênio devido à ação de modificadores químicos. O mecanismo da atividade do modificador de paládio envolve a formação de um complexo intermetálico $[Pd_xAs_yO_m]$ na fase de pirólise e este composto é menos volátil. Assim sendo, temperaturas mais elevadas podem ser alcançadas nesta etapa. Cabe salientar que o magnésio presente na água do mar em teores relativamente elevados age como um modificador químico natural (Niedzielski *et al.*, 2002).

Já com o emprego da plataforma de tungstênio verifica-se, a partir das curvas mostradas na Figura 29, que os sinais de absorvância foram significativamente superiores aos valores dos sinais de fundo. O sinal de absorvância não apresentou diferenças significativas nas temperaturas de pirólise estudadas, porém para o sinal de fundo observou-se que o menor valor foi obtido quando a temperatura de pirólise foi 1400°C. Dessa maneira, 1400°C foi a temperatura escolhida para a etapa de pirólise na determinação de arsênio por absorção atômica com atomização em filamento de tungstênio.

Neste trabalho, também foram realizados experimentos para se verificar o melhor volume de injeção da amostra nas superfícies de atomização plataforma de *L'vov* e tungstênio. Foi utilizada a amostra sintética marinha enriquecida com $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III), As(V) e DMA. A determinação de arsênio por EAA-FG foi realizada sob as condições consideradas ótimas para o programa de aquecimento para cada superfície. Os volumes de injeção testados variaram de 10 a 40 μL , sendo que em todos os testes a metade do volume de injeção refere-se à solução do modificador de matriz. Os sinais de absorbância e de fundo obtidos nesses experimentos são mostrados na Figura 30.

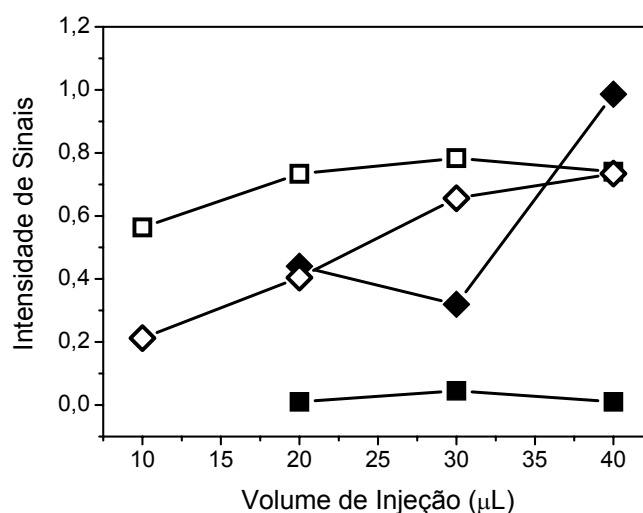


Figura 30. Estudo da otimização do volume de injeção na determinação de arsênio em águas marinhas utilizando EAA-FG em diferentes superfícies de atomização. Absorbância (□) e Sinal de fundo, BG (◇). Superfícies de atomização: plataforma de *L'vov* (■) e filamento de tungstênio (□).

As curvas presentes na Figura 30 permitem observar que para a plataforma de *L'vov* o maior sinal de absorbância e o menor sinal de BG foram obtidos com a injeção de 30 μL de amostra contendo modificador químico. Para a plataforma de W a injeção de 20 μL foi a que mostrou melhores resultados, pois apresentou uma boa relação entre os sinais de absorbância e de fundo. Esses resultados se devem, provavelmente, a diferenças no formato e tamanho das duas

superfícies de atomização. Portanto, a maior sensibilidade analítica foi obtida com a injeção de 30 μL na plataforma de grafite e 20 μL na plataforma de W.

Curvas analíticas típicas para quantificação de arsênio total por EAA-FG com plataformas de *L'vov* e de tungstênio são apresentadas na Figura 31. Nestas análises foram utilizadas amostras sintéticas marinhas e as condições previamente estabelecidas para cada superfície estudada.

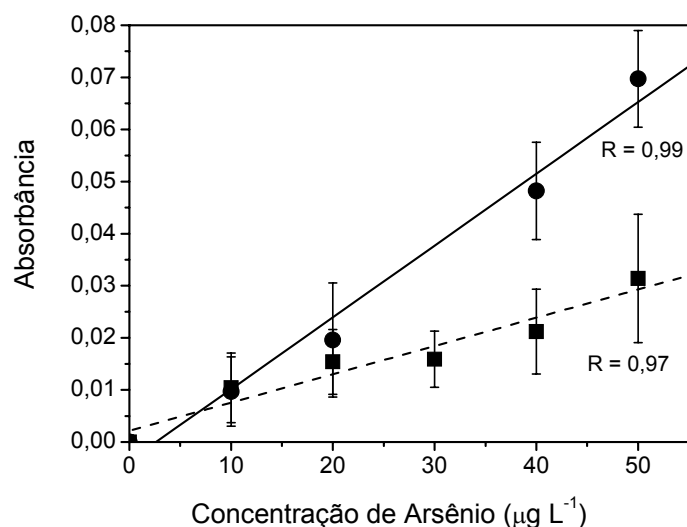


Figura 31. Curvas analíticas para determinação de As por EAA-FG empregando plataforma de *L'vov* (■) e de Tungstênio (●) como superfícies de atomização.

A Figura 31 mostra as curvas analíticas para a determinação de arsênio total por EAA-FG utilizando duas superfícies de atomização. Pode-se notar que ambas as curvas apresentaram diferenças significativas nas suas inclinações. A Figura 30 evidencia que a plataforma de tungstênio foi a superfície de atomização que forneceu a maior sensibilidade analítica. O emprego desta plataforma resultou em uma sensibilidade duas vezes superior em relação àquela obtida com a plataforma de grafite. Além da sensibilidade, a plataforma de filamentos de W mostrou-se uma alternativa viável de superfície de atomização devido ao baixo custo e ao seu tempo de vida útil de cerca de 150 queimas para os filamentos de tungstênio, contra geralmente 300 queimas da plataforma de *L'vov*, descrita por Dakuzaku e colabores (2001).

A literatura relata que algumas vantagens podem ser obtidas quando se emprega o filamento de tungstênio como superfície de atomização, tais como a baixa reatividade do filamento com muitos elementos de interesse analítico; ausência de efeito de memória nas medidas, devido à baixa porosidade da sua superfície. Além disso, a tensão superficial e geometria do filamento permitem uma distribuição homogênea da amostra na superfície de atomização, o que possibilita medidas mais sensíveis e reproduzíveis. Outras vantagens estão relacionadas ao baixo custo e facilidade de obtenção, pois o mesmo é utilizado em lâmpadas de retroprojetores e projetores fotográficos (Oliveira *et al.*, 2000).

Portanto, pode-se concluir que o uso da parede do tubo de grafite pirolítico mostrou-se inviável devido à presença de interferências nas medidas o que acarretou valores mais elevados de sinal de fundo. Conclui-se, portanto que a plataforma de L'vov não é a superfície mais indicada na determinação de níveis traço de arsênio em matrizes muito complexas, como é o caso de amostras de água marinha, devido à sua baixa sensibilidade. Assim, a condição ótima que forneceu maior sensibilidade foi aquela baseada no uso do filamento de tungstênio, paládio como modificador de matriz, volume de injeção de 20 μL , temperaturas de pirólise e atomização em 1400 e 2000 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente.

Para avaliação desse procedimento foram realizados testes de recuperação. Amostras sintéticas salinas foram enriquecidas com As(III), As(V) e DMA. Uma alíquota da amostra, denominada de amostra 1, foi enriquecida com 1,00 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada espécie de As (AsTR: 3,00 $\mu\text{g L}^{-1}$). Outra alíquota da amostra, chamada de amostra 2, foi enriquecida com 2,00 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cada espécie de As (AsTR: 6,00 $\mu\text{g L}^{-1}$). A determinação da concentração total de arsênio nestas amostras foi realizada por EAA-FG com plataforma de tungstênio utilizando as condições previamente estabelecidas, empregando adição de padrão para minimizar os efeitos da matriz salina. Os resultados estão apresentados na Figura 32.

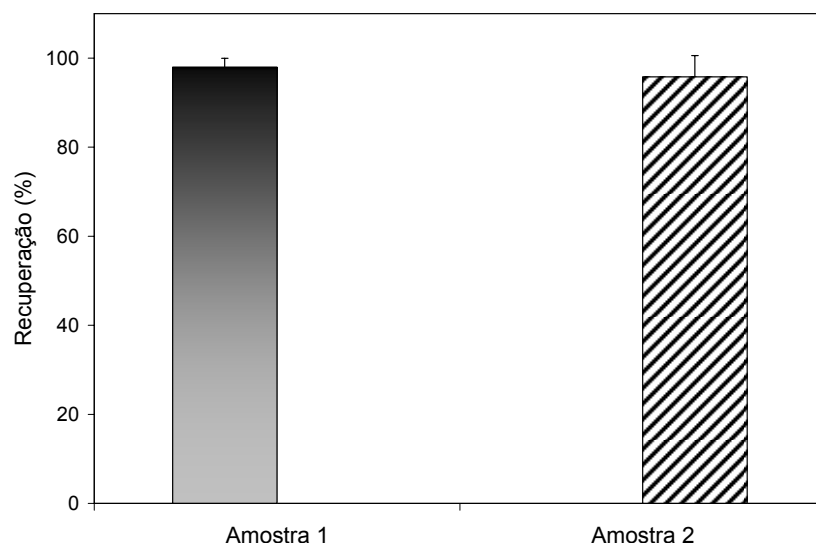




Figura 32. Percentuais de recuperação de arsênio total EAA-FG utilizando plataforma de tungstênio.  Amostra 1: Amostra sintética salina contendo $1,00 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III); $1,00 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V) e $1,00 \mu\text{g L}^{-1}$ de DMA.  Amostra 2: Amostra sintética salina contendo $2,00 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(III); $2,00 \mu\text{g L}^{-1}$ de As(V) e $2,00 \mu\text{g L}^{-1}$ de DMA..

De acordo com os resultados exibidos na Figura 32, as porcentagens de recuperações para concentrações totais de arsênio podem ser consideradas bastante satisfatórias, sendo 98,0 e 95,8% para as amostras 1 e 2, respectivamente. A estimativa dos desvios padrão para medidas realizadas em triplicata foi inferior a 10%.

Para avaliar o método proposto, também foi determinado o limite de detecção (LD), conforme descrito previamente. O valor de LD obtido com o uso da plataforma de filamentos de tungstênio foi de $0,73 \mu\text{g L}^{-1}$. Observa-se que apesar das dificuldades de se determinar As por EAA-FG em matriz salina, o método proposto se mostrou bastante sensível, com um limite de detecção satisfatório.

Nesse contexto, pode-se concluir que a especiação do arsênio em amostras marinhas pode ser realizada de maneira satisfatória associando-se as técnicas de voltametria e de espectroscopia de absorção atômica, com sensibilidade e repetibilidade adequadas.

5.4. Avaliação do Comportamento do Cobre e Arsênio nas Águas do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá (CEP)

Para a realização deste trabalho, foram coletadas amostras nos meses de março, setembro e dezembro de 2005 de três ambientes aquáticos localizados no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá, CEP. A escolha dos pontos de amostragem foi baseada nas diferenças nos graus de trofia de três ambientes do CEP. A região do Saco do Limoeiro, na Ilha do Mel, apresenta características de um ambiente oligotrófico; as regiões da Enseada do Benito, em Guaraqueçaba e Canal Anhaia, em Paranaguá, apresentam características de regiões eutrofizadas, de origem natural e antrópica, respectivamente.

Os estuários são regiões onde ocorre o encontro de águas doces e salinas e são caracterizadas por sua complexidade, onde espécies químicas particuladas e dissolvidas estão sujeitas a mudanças bastante bruscas nestes ambientes. Assim, a especiação de cobre e arsênio nas águas do CEP pode sofrer alterações devido às características dos ambientes em função de fatores como, pH, salinidade, nutrientes dissolvidos, entre outros. Neste contexto, estes parâmetros podem ser relevantes na análise da especiação de metais e metalóides.

Algumas análises complementares nas amostras coletas no CEP foram realizadas no Laboratório de Biogeoquímica Marinha do Centro de Estudos do Mar da UFPR. Os parâmetros determinados foram: pH, salinidade, temperatura da água, transparência, oxigênio dissolvido (OD), sólidos suspensos totais (SST), clorofila-*a* e feopigmentos (feofitina-*a*), além de nutrientes inorgânicos dissolvidos (nitrito, nitrato, amônio, fosfato e silicato). Os resultados desses parâmetros avaliados estão apresentados de maneira resumida na Tabela 10.

Tabela 10. Valores mínimos e máximos, para os parâmetros aquáticos determinados para as amostras da Ilha do Mel, Guaraqueçaba e Paranaguá do CEP nas três campanhas de amostragem.

Parâmetros	Unidade	Valores (mín-máx)		
		Ilha do Mel	Guaraqueçaba	Paranaguá
pH		7,88 – 8,60	7,43 – 8,21	7,66 – 8,15
Temperatura	°C	18,5 – 29,0	18,0 – 29,5	19,0 – 30,0
Salinidade		28,0 – 31,0	14,0 – 21,0	17,0 – 24,0
OD	saturação (%)	99,60 – 108,0	75,57 – 107,8	87,27 – 122,7
OD	mg L ⁻¹	6,82 – 7,82	5,86 – 7,35	7,31 – 8,11
SST		11,48 – 34,61	17,74 – 61,59	10,07 – 20,95
Transparência	m	1,0 – 1,5	0,5 – 1,2	1,0 – 1,2
Clorofila - a	µg L ⁻¹	1,24 – 2,95	4,08 – 9,80	2,88 – 6,48
Feofitina - a		0,782 – 1,40	0,674 – 2,00	0,775 – 2,00
Nitrito	µmol L ⁻¹	0,056 – 0,715	0,060 – 0,211	0,050 – 1,091
Nitrato		0,158 – 3,467	0,175 – 5,923	0,226 – 10,35
Amônio		0,530 – 1,362	0,866 – 4,170	0,414 – 9,851
Fósforo total		0,211 – 0,543	0,158 – 0,817	0,271 – 1,737
Silicato		3,755 – 19,47	13,46 – 95,08	11,29 – 38,72

Para uma visualização da variação de alguns parâmetros apresentados na Tabela 10 que podem ser relevantes na análise da especiação de cobre e arsênio nas águas do CEP foram construídos gráficos do tipo *box-whiskers*. A Figura 33 apresenta os valores de pH, salinidade, sólidos suspensos totais, transparência, clorofila-a, nitrogênio total, fósforo total e silicato para as amostras coletadas no CEP.

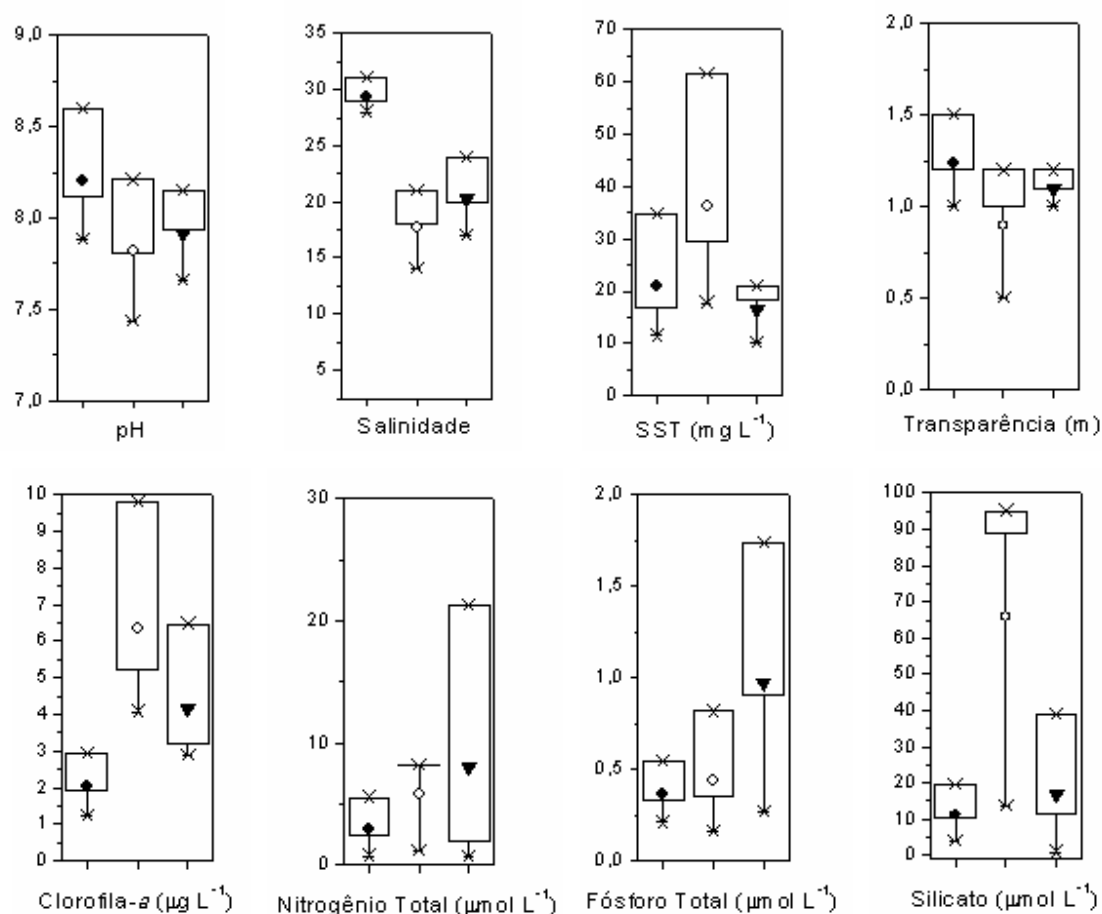


Figura 33. Valores de pH, salinidade, OD, SST, transparência, clorofila-a, nitrogênio, fósforo e silicato determinados para as amostras da Ilha do Mel (●), Guaraqueçaba (○) e Paranaguá (▼) durante o período de amostragem. As linhas horizontais da caixa representam 25, 50 e 75% dos valores; barras de erro indicam 5 e 95%; (X) expressa 1 e 99% e (–) corresponde aos valores máximos e mínimos. A media aritmética é representada pelos símbolos ●, ○ e ▼.

De acordo com os dados apresentados na Figura 33, observa-se que para as amostras da Ilha do Mel os valores de pH e salinidade são mais elevados em relação aos outros dois ambientes estudados. Isto demonstra que a Ilha do Mel é uma ambiente estuarino que apresenta maior influência de águas marinhas, pois o pH apresentou-se ligeiramente alcalino, situando-se entre 7,9 e 8,6 e salinidade entre 28 e 31 (Miranda *et al.*, 2002).

Além disso, as amostras da Ilha do Mel apresentaram maior transparência chegando a 1,5 m. Tal resultado também demonstra a influência de águas marinhas que são mais transparentes por apresentarem concentrações inferiores de material sólido em suspensão.

Outra característica evidenciada nos gráficos da Figura 33 para as amostras da Ilha do Mel está relacionada ao grau de trofia deste ambiente. É possível notar que estas amostras, em comparação com as amostras dos outros ambientes estudados, apresentaram teores inferiores de nutrientes dissolvidos e clorofila-*a*, sendo este último parâmetro um indicativo da quantidade de biomassa fitoplanctônica. Tais resultados comprovam que a Ilha do Mel é um ambiente de características oligotróficas que apresenta baixa produtividade primária, refletida pelos teores baixos de clorofila-*a*. De fato, a produtividade primária refere-se ao acúmulo de biomassa que ocorre devido ao processo fotossintético do fitoplâncton, sendo que as espécies como nitrato e fosfato são nutrientes indispensáveis para o fitoplâncton no processo de fotossíntese (Campos e Jardim, 2003).

Com relação às amostras de Guaraqueçaba observa-se na Figura 33 que estas amostras apresentam menor salinidade, entre 14 a 21, em comparação aos outros ambientes estudados do CEP. Esses valores de salinidade estão dentro da gama característica para águas estuarinas que varia entre 5,0 e 32 (Miranda *et al.*, 2002). Nota-se que neste ambiente foi encontrado o menor valor de pH, 7,4. Tais resultados demonstram que Guaraqueçaba é um ambiente estuarino que apresenta maior influência de águas doces. O conhecimento da influência de água doce em ambientes estuarinos é importante, uma vez que o aporte de água doce pode ser responsável pela entrada de várias espécies químicas, como metais, metalóides, nutrientes, entre outras.

Além disso, é possível notar nos gráficos da Figura 33 que as amostras de Guaraqueçaba apresentaram níveis mais elevados de sólidos suspensos totais e menor transparência em relação às amostras da Ilha do Mel e Paranaguá. Tal resultado também demonstra a influência de águas doces, pois estas sempre apresentam concentrações maiores de material sólido em suspensão em

comparação com as águas marinhas. As amostras de Guaraqueçaba apresentaram os valores mais elevados de clorofila-a em relação às amostras da Ilha do Mel e Paranaguá. Esse resultado era esperado, pois se trata de uma região eutrofizada com alta produtividade. Os teores de nutrientes neste ambiente foram intermediários em relação aos teores de nutrientes dos outros ambientes do CEP.

Com relação às amostras de Paranaguá é possível visualizar na Figura 33 que estas amostras apresentaram valores de salinidade entre 17 e 24 e pH entre 7,7 e 8, sendo valores característicos de uma região com influência de água doce. Além disso, as amostras apresentaram valores intermediários de transparência e concentração de sólidos suspensos totais.

Outro aspecto que pode ser observado nas amostras de Paranaguá, foi a concentração elevada de clorofila-a e também nota-se que os níveis de nutrientes foram superiores para essas amostras em relação aos nutrientes das amostras da Ilha do Mel e Guaraqueçaba. As atividades antrópicas dessa região, como por exemplo, aporte de esgoto doméstico e industrial sem tratamento, atividade portuária e também atividades de dragagem podem ter contribuído para que os níveis de nutrientes sejam elevados para Paranaguá (Soraia *et al.*, 1978; Ribas, 2004). As atividades de dragagem podem representar um risco eminente nesta região, pois causam a ressuspensão de sedimentos, liberando elementos químicos para a coluna de água (Sá, 2003).

Portanto, a avaliação de parâmetros como salinidade e pH são importantes nos estudos do comportamento de metais e metalóides, em ambientes estuarinos. Pois, alterações em tais parâmetros podem levar à precipitação de espécies dissolvidas ou ainda à redissolução de espécies anteriormente presentes em sólidos suspensos ou nos sedimentos, alterando a especiação dessas espécies (Grassi, 2001). Segundo Shi *et al.* (1998) o pH é um dos mais importantes fatores que controlam a adsorção do metal no material particulado em suspensão.

5.4.1. Comportamento do Cobre

Os resultados da análise de especiação geoquímica do cobre nas águas das regiões da Ilha do Mel (Saco do Limoeiro), Guaraqueçaba (Enseada do Benito) e Paranaguá (Canal Anhaia), encontram-se na Tabela 11. Os dados referentes às diferentes formas de associação do cobre estão apresentados em termos de concentração em $\mu\text{g L}^{-1}$ para os diferentes ambientes estudados neste trabalho. Na Tabela 11 CuTR representa a concentração de cobre total recuperável, CuTD refere-se ao cobre total dissolvido, CuPar o cobre associado ao material sólido em suspensão, CuL representa o cobre complexado, e CuLábil é o cobre presente na forma lábil. Os valores entre parênteses correspondem às concentrações expressas em termos percentuais, em relação ao teor de CuTR.

Tabela 11. Concentrações de cobre e sua distribuição entre as frações recuperável, particulada, dissolvida, complexada e lábil nas águas do CEP para os meses de março, setembro e dezembro de 2005.

	Ilha do Mel			Guaraqueçaba			Paranaguá		
	Mar	Set	Dez	Mar	Set	Dez	Mar	Set	Dez
CuTR ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,65	2,45	0,76	2,72	5,13	4,97	4,10	4,40	2,16
CuTD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,34	1,56	0,51	1,81	0,32	0,43	1,90	2,69	1,44
CuPar (mg kg^{-1})	18,3 (18,8)	77,5 (36,3)	7,25 (33,0)	30,9 (33,5)	271 (93,8)	73,8 (91,4)	120 (53,7)	170 (38,9)	34,6 (33,5)
CuL ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,31 (79,4)	1,46 (59,6)	0,43 (56,3)	1,79 (66,0)	0,30 (5,75)	0,24 (4,85)	1,89 (46,2)	2,67 (60,6)	1,35 (62,2)
CuLábil ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,03 (1,80)	0,10 (4,10)	0,08 (10,7)	0,02 (0,5)	0,03 (0,45)	0,19 (3,75)	0,01 (0,1)	0,03 (0,5)	0,09 (4,3)

De uma maneira geral, os valores de CuTR foram superiores para Guaraqueçaba ($2,72 - 5,13 \mu\text{g L}^{-1}$), seguido de Paranaguá ($2,16 - 4,40 \mu\text{g L}^{-1}$) e inferiores para as amostras da Ilha do Mel ($0,76 - 2,45 \mu\text{g L}^{-1}$), quando se consideram as três campanhas de amostragem.

Os teores de CuTR encontrados nas águas do CEP estão concordantes com dados presentes na literatura para águas estuarinas. Twiss e Moffet (2002), por exemplo, encontraram teores de CuTR na faixa de $0,76 - 4,07 \mu\text{g L}^{-1}$ para ambientes estuários com pequeno grau de impacto ambiental. Para locais mais

impactados, próximo às regiões portuárias, esses autores encontraram concentrações de CuTR na faixa de 1,46 – 6,55 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Os níveis CuTD foram superiores para as amostras de Paranaguá (1,44 – 2,69 $\mu\text{g L}^{-1}$), enquanto que os outros dois ambientes apresentaram valores mais semelhantes entre si; Guaraqueçaba (0,32 – 1,81 $\mu\text{g L}^{-1}$) e Ilha do Mel (0,51 – 1,56 $\mu\text{g L}^{-1}$).

De acordo com a Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA 357/2005, as concentrações máximas permitidas de cobre dissolvido para águas salobras classe 1 que são águas de salinidade menor que 30 destinadas à proteção das comunidades aquáticas, à aquicultura, à atividade de pesca é 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (CONAMA, 2005). O Instituto Ambiental do Paraná (IAP) enquadra as águas do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá se enquadram na classe 1 das águas salobras (IAP, www.pr.gov.br/meioambiente/iap, acessado em 2006).

Portanto, pode-se observar que para as amostras do CEP as concentrações de cobre dissolvido foram inferiores àquelas permitidas pela Resolução COMAMA 357/2005.

As concentrações de cobre associado ao material particulado encontradas seguiram a mesma tendência observada para o CuTR, ou seja, Guaraqueçaba (30,9 – 271 mg kg^{-1}) > Paranaguá (34,6 – 170 mg kg^{-1}) > Ilha do Mel (7,25 – 77,5 mg kg^{-1}).

Wales *et al.* (2005) determinaram as concentrações de cobre total dissolvido e cobre particulado no Estuário Penzé, na França, sendo esse ambiente considerado livre de poluição. Os níveis de CuTD variaram de 0,064 a 0,114 $\mu\text{g L}^{-1}$ e os níveis de CuPart variaram de 5,0 a 98 mg kg^{-1} . Assim, é possível observar que os teores de cobre associado ao material particulado para Guaraqueçaba e Paranaguá são superiores aos valores encontrados para o estuário francês, porém para a Ilha do Mel os valores apresentam a mesma faixa de variação. Neste contexto, é possível classificar o Saco do Limoeiro, na Ilha do Mel, como a região menos impactada com relação ao cobre entre as três avaliadas, no Complexo Estuarino de Paranaguá.

Apesar das diferenças nos teores totais de cobre observadas para os diferentes ambientes, nota-se que a fração lábil apresenta valores baixos e relativamente similares para Guaraqueçaba (0,45 a 3,75 $\mu\text{g L}^{-1}$) e Paranaguá (0,1 a 4,3 $\mu\text{g L}^{-1}$). Os níveis de cobre lábil para as águas da região da Ilha do Mel apresentaram os menores valores, que variaram entre 0,03 e 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$.

A concentração do cobre presente na forma lábil é responsável pelo controle da biodisponibilidade do metal frente à biota aquática (Brown e Markich, 2000). Entretanto, a avaliação dos efeitos de uma espécie metálica para a biota não deve ser feita somente com base na determinação do teor do metal na fração lábil. Na verdade, vários aspectos devem ser levados em consideração, principalmente no que se refere ao comportamento dinâmico do metal entre as frações: particulada, complexada e lábil. Para uma melhor visualização da distribuição do cobre entre as diferentes frações construiu-se um gráfico de barras, apresentado na Figura 34.

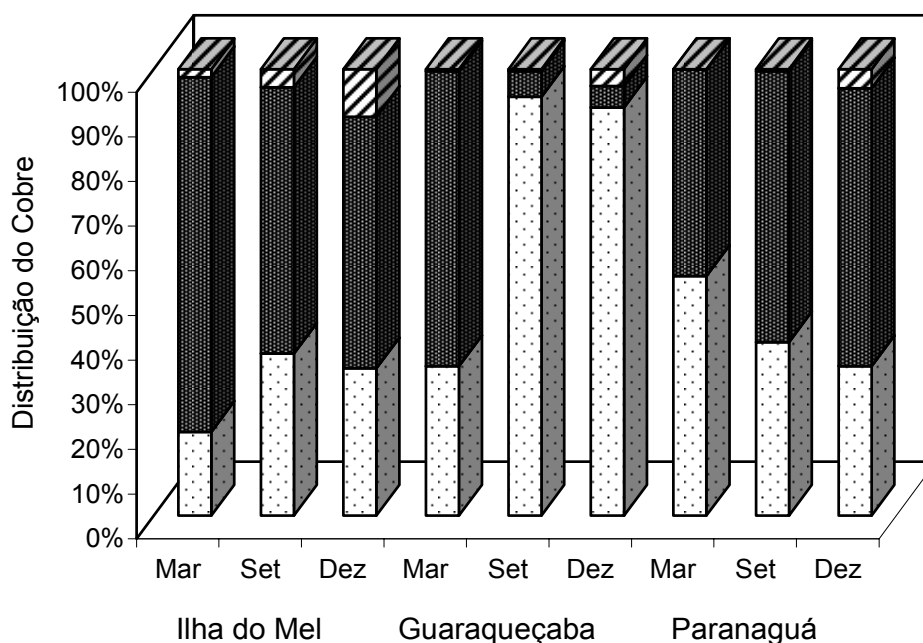





Figura 34. Concentração relativa de cobre para as amostras do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá. Cobre Particulado (CuPart) , Cobre Complexado (CuL) , Cobre Lábil (CuLábil) .

A Figura 34 evidencia as diferenças na distribuição do cobre nos três ambientes estudados, nos meses de março, setembro e dezembro de 2005. A Figura 34 permite observar que existe um comportamento sazonal do cobre nos três ambientes.

Para a Ilha do Mel é possível visualizar que a amostra coletada no verão (março) apresentou diferenças na fração complexada, em relação às amostras coletadas em setembro e dezembro. Para a amostra coletada em março, o cobre complexado representou 80% do CuTR, enquanto que para as amostras coletadas nos outros meses o CuL representou em média 58% do CuTR.

Conforme a Figura 34, é possível observar que nas amostras da Ilha do Mel a fração lábil variou de 1 a 10% do CuTR durante os meses de coleta. Além disso, nota-se que os teores de cobre lábil para essas amostras foram superiores aos valores encontrados para CuLábil nas amostras dos ambientes eutrofizados, Guaraqueçaba e Paranaguá. Esse comportamento pode estar relacionado às características deste ambiente oligotrófico, tais como menor aporte de águas de drenagem continental, de nutrientes e conseqüentemente, menor atividade biológica. Sendo as microalgas do plâncton os organismos fotossintetizantes responsáveis por mais de 90% da síntese da matéria orgânica nos oceanos (Graham *et al.*, 2000), é esperado que em áreas de baixa produtividade, ou seja, oligotróficas sejam encontrados níveis inferiores de matéria orgânica, que é um dos principais responsáveis pela complexação do cobre em ambientes aquáticos (Sodré, 2005).

As amostras de Guaraqueçaba apresentaram diferenças significativas na coleta realizada em março em relação às amostras coletadas em setembro e dezembro. Para a amostra coletada no verão o cobre encontrou-se preferencialmente na fração dissolvida, cerca de 70%, enquanto que em média para as outras coletas a fração dissolvida foi apenas 7%. Este comportamento pode estar relacionado à hidrodinâmica do complexo estuarino, que tem suas características alteradas no período do verão, por ser o período de maior pluviosidade e por sofrer maior influência do aporte de águas fluviais, entre outros aspectos (Montavanelli, 1999). Para as amostras coletas em setembro e

dezembro os percentuais de cobre encontrados juntos ao material particulado foram superiores a 90%. Isto pode ocorrer devido à presença de concentrações maiores de material particulado em suspensão e também devido às características desse material, que pode ser de origem biótica. Em geral, o cobre é um metal traço que tem a tendência de formar agregados com partículas sólidas orgânicas, em vez de partículas inorgânicas (Church e Scudlark, 1998).

Para Guaraqueçaba, os níveis de CuLábil foram inferiores a 3%. Tal resultado é concordante com os descritos na literatura, pois apontam que o cobre encontra-se majoritariamente complexado, em níveis variando de 95 a 99,9%, em águas estuarinas (Donat *et al.*, 1994; Donat, 1995 e Muller, 1996).

Para as amostras de Paranaguá, a amostra que apresentou um comportamento diferenciado, em termos de cobre complexado e cobre particulado, foi aquela coletada em março em relação às amostras coletadas nos outros meses. Para a amostra coletada em março, o teor de cobre associado ao material particulado foi 54% do CuTR e o CuPart representou 36,20%, em média, para as amostras de setembro e dezembro. Isto pode ocorrer devido à presença de concentrações maiores de material particulado em suspensão na amostra coletada em março, pois esse mês é caracterizado por ser um período de maior pluviosidade e ainda por apresentar maior aporte de material particulado oriundo das maiores descargas de águas doces nessas regiões (Montovanelli, 1999).

Com relação à fração lábil para as amostras de Paranaguá, é possível notar na Figura 34 que esta fração representou menos de 5% do CuTR. Esse resultado é concordante com a literatura que apontam níveis de cobre lábil em torno de 0,1 a 5% (Donat *et al.*, 1994; Donat, 1995 e Muller, 1996).

Os percentuais de CuLábil para os três ambientes foram, em termos gerais, inferiores a 11%. Observou-se uma relação entre os teores de cobre lábil com o grau de trofia dos ambientes estudados do CEP. As porcentagens de CuLábil foram superiores para as amostras do ambiente oligotrófico, Ilha do Mel, chegando a 10% do CuTR. E valores inferiores foram encontrados para as amostras dos ambientes eutrofizado que apresentam alta produtividade (Favaro, 2004), Guaraqueçaba e Paranaguá, representando menos que 5% do CuTR. Tal

comportamento pode ser um indicativo de que a presença de fitoplâncton pode gerar excretados contendo sítios complexantes para o cobre, diminuindo assim os teores desse metal na forma lábil.

Os resultados obtidos neste trabalho permitem concluir que em todos os ambientes estudados o cobre presente na fração dissolvida encontra-se predominantemente complexado. Assim sendo, pode-se supor que este metal apresenta-se pouco biodisponível nestes ambientes.

Neste trabalho também foi realizada uma avaliação da partição (K_D) do metal entre as frações particulada e dissolvida. O coeficiente de partição pode ser representado por:

$$K_D = \frac{C_p}{C_d},$$

onde C_p representa a concentração do metal associado ao material particulado, em mg kg^{-1} , e C_d representa a concentração do metal na fração dissolvida, em mg L^{-1} . Assim, a unidade de K_D é L kg^{-1} .

O conhecimento do coeficiente de partição pode constituir uma informação importante em termos do tempo de residência de metais na coluna de água (Tonietto, 2006). Partículas em suspensão, em águas naturais, tendem a se sedimentarem naturalmente, removendo da coluna de água aqueles metais que se encontram associados a este material, enquanto que metais presentes na fração dissolvida permanecem mais tempo na coluna de água, podendo assim, serem transferidos para uma forma mais biodisponível (Grassi *et al.*, 1998).

A Figura 35 mostra a variação dos valores de $\text{Log } K_D$ em função do teor de sólidos suspensos para as amostras coletadas na Ilha do Mel, em Guaraqueçaba e em Paranaguá.

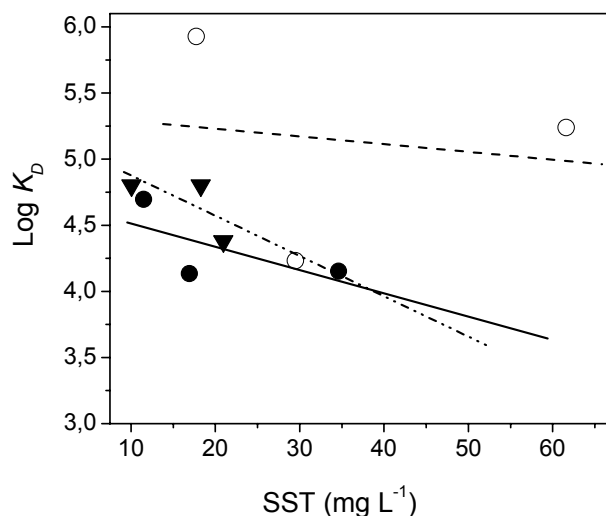


Figura 35. Coeficientes de partição (K_D) em função dos teores de sólidos suspensos totais para cobre. (●) Ilha do Mel, (○) Guaraqueçaba e (▼) Paranaguá.

Na Figura 35, pode ser observado que os valores de $\text{Log } K_D$ variaram na faixa de 4,0 a 5,0 para os três ambientes, com exceção de duas amostras de Guaraqueçaba que tiveram valores em torno de 5,5.

Observa-se também que para os três ambientes os valores de $\text{Log } K_D$ diminuem em função do aumento da concentração de sólidos suspensos totais. Esse comportamento evidenciado na Figura 35 deve-se ao efeito de concentração de partículas (ECP), e ocorre devido à associação do cobre com partículas coloidais presentes na fração dissolvida (Benoit *et al.*, 1994). Pois, colóides são materiais sólidos que são contabilizados na fração dissolvida devido à permeação desse material pela membrana de filtração durante o processo de distinção dos componentes presentes em águas naturais entre as frações dissolvida e particulada. Considerando que a separação das frações dissolvida e particulada baseia-se em uma definição de caráter operacional, ou seja, a partir da filtração da amostra em uma membrana de 0,45 μm de porosidade, observa-se que está sujeita a limitações.

O comportamento evidenciado neste estudo também já foi descrito em outros trabalhos presentes na literatura (Benoit e Rozan, 1999; Grassi *et al.*, 2000;

Lu e Allen, 2001; Tonietto, 2006; Prestes *et al.*, 2006). Benoit e Rozan (1999) avaliaram a influência do tamanho das partículas na partição de metais em águas superficiais e observaram que uma grande fração do metal encontrava-se associada aos colóides e que a proporção de metal nos colóides aumentava em função do aumento do teor de SST. Neste mesmo trabalho, obtiveram uma relação constante entre K_D e SST ao eliminar partículas de tamanho elevado que contribuem pouco para a concentração de sítios de complexação.

Sodré (2005) também observou o ECP no estudo de partição do cobre nos Rios Iguaçu e Iraí, localizados na Região Metropolitana de Curitiba, Paraná. No referido trabalho, foi verificada uma diminuição dos valores de $\text{Log } K_D$ em função do aumento do teor de sólidos suspensos totais.

De acordo com a Figura 35, observa-se que há uma distinção entre os diferentes ambientes estudados no comportamento do coeficiente de partição para o cobre, em função dos teores de sólidos em suspensão. As amostras de Paranaguá e Ilha do Mel exibem um decréscimo mais acentuado nos valores de $\text{Log } K_D$ quando há um aumento de concentração dos sólidos em suspensão, em relação as amostras de Guaraqueçaba. Tal fato pode representar uma situação onde o cobre parece estar preferencialmente associado ao material coloidal que passa pela membrana de filtração, para as amostras de Paranaguá e Ilha do Mel. É interessante ressaltar que as amostras de Guaraqueçaba sempre apresentaram partículas sólidas com características mais grosseiras.

Com base nesses aspectos, acredita-se que a remoção do cobre da coluna de água, por sedimentação, ocorra de forma mais acentuada para as amostras de Guaraqueçaba, ao contrário do que ocorre nas amostras de Paranaguá e Ilha do Mel.

O comportamento de metais traço em águas estuarinas é controlado pelas interações dinâmicas entre estes e partículas sólidas, ligantes dissolvidos e ainda por parâmetros químicos como pH e salinidade, entre outros. Qualquer mudança nas condições desses ambientes pode levar à precipitação de espécies dissolvidas ou ainda à redissolução de metais anteriormente presentes em sólidos suspensos ou nos sedimentos. Os elementos que não sofrem qualquer alteração

durante o processo de mistura de águas doces e salgadas, ou seja, aqueles que não se precipitam ou não se dissolvem, apresentam um comportamento que é denominado conservativo. Comportamentos não conservativos resultam da precipitação ou ainda da redissolução de espécies através do estuário (Grassi, 2001).

Uma das maneiras clássicas de se investigar os processos químicos com respeito à conservação ou não de metais em regiões estuarinas é analisar como varia a concentração da espécie de interesse em função da salinidade, a qual é usada como referência de diluição por se tratar de uma propriedade conservativa (Campos e Jardim, 2003).

Neste contexto, a Figura 36 ilustra a distribuição do cobre na fração dissolvida em função da salinidade para as amostras da Ilha do Mel, Guaraqueçaba e Paranaguá.

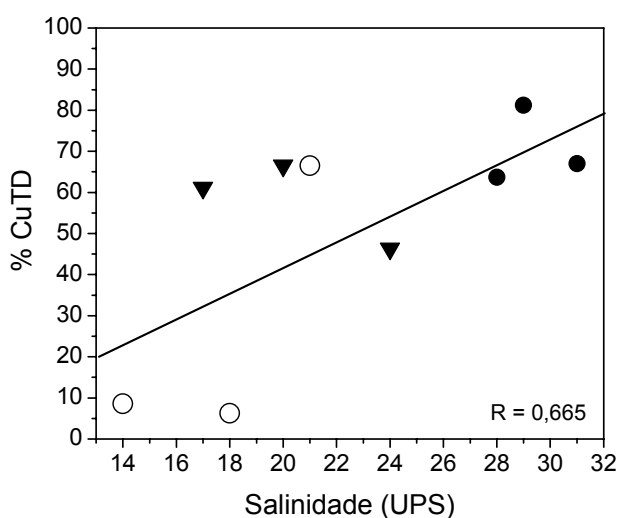


Figura 36. Percentual de cobre total dissolvido em função da salinidade. (●) Ilha do Mel, (○) Guaraqueçaba e (▼) Paranaguá.

Na Figura 36 observa-se a relação entre a fração dissolvida e a salinidade para os três ambientes do CEP. Para águas com maior salinidade o cobre foi encontrado majoritariamente na fração dissolvida. E para as amostras de Guaraqueçaba que apresentam menor salinidade o cobre foi encontrado

majoritariamente na fração particulada. Dessa forma, pode-se concluir que o cobre é transferido mais facilmente da fração dissolvida para a particulada em Guaraqueçaba, que é a região de menor salinidade, o que corrobora a interpretação realizada sobre o coeficiente de distribuição.

Church e Scudlark (1998) observaram comportamento semelhante para o cobre no Estuário do Rio Delaware, nos EUA, ou seja, com o aumento da salinidade o cobre foi majoritariamente encontrado na fração dissolvida.

Além desse aspecto, a Figura 36 indica que o cobre apresenta um comportamento conservativo nas águas do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá, pois os dados sugerem um comportamento linear entre as concentrações de cobre com a salinidade. Portanto, o cobre não sofre alteração durante o processo de mistura no CEP, ou seja, o cobre não precipita nem se dissolve com a mistura de água doce com marinha, apresentando um comportamento conservativo.

O cobre é transportado principalmente dos rios para ambientes marinhos através de estuários. Nos estuários as concentrações e formas desse metal são afetadas pelos processos físico-químicos que são extremamente dinâmicos. Nesse contexto, vários trabalhos têm sido realizados considerando a distribuição do cobre entre as frações dissolvida e particulada em águas estuarinas. Estudos realizados em vários sistemas estuarinos têm mostrado que o comportamento do cobre nas zonas de mistura varia de um sistema para outro (Waeles *et al.*, 2005).

Na investigação das mudanças da especiação do cobre ao longo dos gradientes de salinidade foi observado para os estuários Severn e do Rio Rhône, ambos localizados na França, que o comportamento do cobre foi conservativo nestes ambientes (Apte *et al.*, 1990; Elbaz-Poulichet *et al.*, 1996). Porém, nos estuários Seine e Loire também localizados na França, o comportamento do cobre foi considerado não conservativo, pois se observou um enriquecimento do metal na solução. O enriquecimento do cobre dissolvido na zona de mistura foi explicado pela dessorção do cobre das partículas presentes na coluna de água ou do sedimento (Chiffolleau *et al.*, 1994 e Waeles *et al.*, 2004). De fato, este comportamento pode ocorrer, pois as formas e as concentrações do cobre em

ambientes estuarinos são diretamente afetadas por processos físico-químicos, tais como floculação, ressuspensão, complexação orgânica e inorgânica, entre outros.

Além desses aspectos, foi avaliada a capacidade de complexação do cobre nas águas do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá. A avaliação da capacidade de complexação de águas naturais frente a metais refere-se, em última análise, à determinação da concentração de sítios disponíveis que são capazes de complexar o metal.

Na Figura 37 são apresentados os valores de capacidade de complexação frente ao cobre, representado por C_L , assim como os valores das constantes de estabilidade condicional em termos logarítmicos, $\text{Log } K'_{CuL}$ para os três ambientes do CEP, em função dos períodos das coletas.

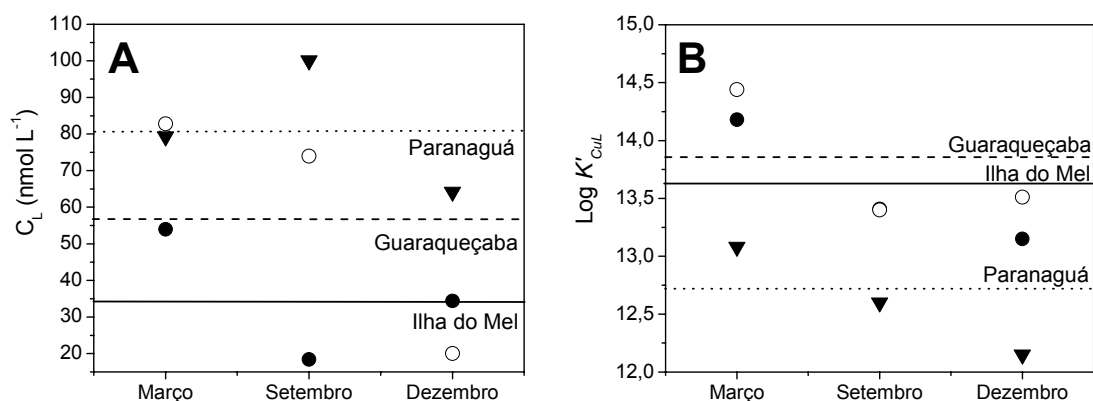


Figura 37. Concentrações de sítios disponíveis para complexação do cobre **(A)** em função do período de coleta. Valores de constante de estabilidade condicional em termos logarítmicos **(B)**. (●) Ilha do Mel, (○) Guaraqueçaba e (▼) Paranaguá.

Na Figura 37 as linhas horizontais representam os valores médios obtidos para ambos os parâmetros, capacidade de complexação e constante de estabilidade condicional.

Pode-se observar na Figura 37A que as amostras de Paranaguá apresentaram um valor médio mais elevado para a capacidade de complexação. As concentrações médias de sítios ligantes para as amostras seguiram a ordem: Paranaguá (81,19 nmol L⁻¹) > Guaraqueçaba (58,92 nmol L⁻¹) > Ilha do Mel (35,61

nmol L⁻¹). Tal comportamento pode estar relacionado à presença de maiores concentrações de matéria orgânica dissolvida nos ambientes mais eutrofizados, isto é, Guaraqueçaba e Paranaguá. De fato, diversos estudos comprovam a elevada afinidade existente entre o cobre e a matéria orgânica dissolvida natural (Cabaniss e Shuman, 1988; Donat *et al.*, 1994). Ou ainda, tal comportamento pode ser devido à maior presença de fitoplâncton nos ambientes eutrofizados, pois este fitoplâncton pode gerar excretados contendo sítios complexantes para o cobre.

A maior concentração de sítios disponíveis para as amostras de Paranaguá pode ser devido ao recebimento de descargas de efluentes industriais e domésticos com alta carga orgânica, pois em Paranaguá a rede de coleta e tratamento de esgoto é inexistente ou ineficiente (Kolm *et al.*, 2002).

A Figura 37B mostra os valores de Log K'_{CuL} determinados para as amostras coletas no CEP em função dos meses de amostragem. De maneira geral, os valores médios de Log K'_{CuL} foram superiores para Guaraqueçaba, seguido da Ilha do Mel. Valores mais elevados de K'_{CuL} indicam uma maior estabilidade dos complexos formados entre os ligantes naturais e cobre para as amostras de Guaraqueçaba e Ilha do Mel. Os valores de Log K'_{CuL} foram inferiores para Paranaguá durante todas as coletas, provavelmente devido às características da matéria orgânica dissolvida deste ambiente (Moffet *et al.*, 1997 e Kogut e Voelker, 2001).

Os resultados obtidos neste trabalho para a complexação do cobre estão concordantes com outros trabalhos presentes na literatura. Shank *et al.* (2004) estudaram a complexação do cobre no Estuário Cape Fear, na Carolina do Norte, Estados Unidos. A faixa de concentração dos sítios disponíveis para complexação foi de 7 a 229 nmol L⁻¹, e os logaritmos das constantes de estabilidade determinadas foram superiores a 13,5. Em trabalho utilizando amostras coletadas nos oceanos Pacífico e Índico as concentrações dos sítios disponíveis variaram de 1,8 a 36 nmol L⁻¹ e os valores de constante de estabilidade condicional foram superiores a 12 em termos logarítmicos (van den Berg, 1984, Coale e Bruland, 1988).

Além desses aspectos, foi realizada uma avaliação das concentrações do cobre fortemente complexado para as amostras do Complexo Estuarino de Paranaguá. A Figura 38 relaciona as concentrações de cobre complexado (CuL) com as concentrações totais dissolvidas (CuTD) para as amostras da Ilha do Mel, Guaraqueçaba e Paranaguá durante as coletas.

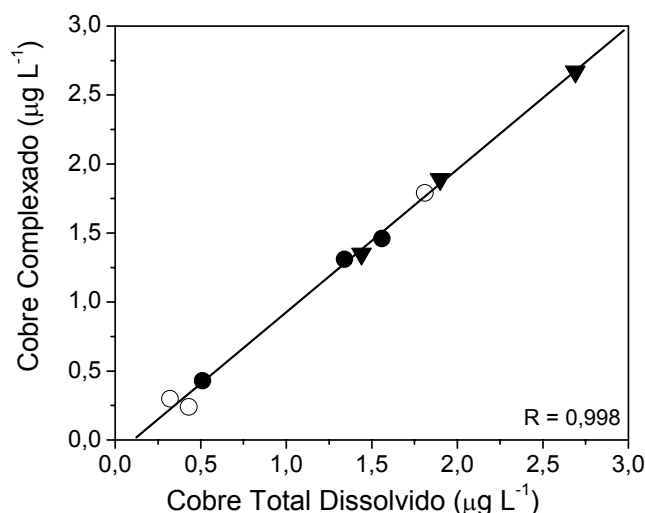


Figura 38. Concentrações de cobre complexado em função das suas respectivas concentrações na fração dissolvida para as amostras do CEP. (●) Ilha do Mel, (○) Guaraqueçaba e (▼) Paranaguá.

A Figura 38 evidencia uma característica interessante no que diz respeito à especiação do cobre nas águas do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá. Pois, na medida em que há um aumento da concentração do cobre na fração dissolvida há um aumento da concentração do cobre complexado. Nota-se que com o aumento do CuTD há uma tendência da ocupação dos sítios de complexação pelo cobre. Este resultado demonstra que os ambientes estuarinos do CEP fornece, de alguma maneira, um material capaz de complexar o cobre. Assim, a disponibilização de sítios de complexação para o cobre pode ser um mecanismo para regular a concentração do metal lábil, ou seja, aquela fração reconhecidamente biodisponível para a biota aquática.

Essa característica evidenciada na Figura 38 é um aspecto importante, pois sugere ser possível prever a concentração de metal lábil apenas realizando a determinação do cobre total dissolvido em um dado ambiente. Pois, após a determinação do CuTD, realiza-se uma interpolação no gráfico e obtêm-se a concentração de CuL. Por diferença entre CuTD e CuL é possível conhecer a concentração de CuLábil, sem realizar determinações experimentais, por exemplo sem realizar uma titulação voltamétrica, o que pode dispensar tempo e custo.

Os resultados obtidos neste trabalho também estão descritos na literatura. Por exemplo, Muller *et al.* (2001) estudaram a especiação química do cobre e zinco em águas superficiais do Mar Negro, em Istambul, através de titulações voltamétricas. Estes autores observaram que ambos os metais encontraram-se complexados organicamente. Somente para o cobre esses autores verificaram uma relação linear e crescente entre os níveis de cobre total dissolvido e os níveis de cobre complexado. No respectivo trabalho foi relatado que esse comportamento foi um mecanismo para regular eficientemente a concentração do cobre iônico livre ao longo da bacia estudada.

Tonietto (2006) investigou a especiação de cobre e zinco nas águas do Reservatório do Iraí, na Região Metropolitana de Curitiba, no Paraná. Nesse trabalho foi observado que na medida em que ocorreu um aumento da concentração dos metais na fração dissolvida teve uma tendência dos sítios de complexação tornarem-se ocupados pelos metais cobre e zinco. Tal comportamento foi relacionado à resposta da comunidade fitoplanctônica presente no reservatório, no sentido de produzir um material capaz de complexar tanto o cobre e quanto o zinco.

Portanto, pode-se concluir que o estudo do comportamento do cobre nas águas do CEP demonstrou que este metal sofreu variações sazonais sendo também fortemente influenciado pelas diferenças nas características físico-químicas e no grau de trofia das regiões do CEP. Para todas as amostras, o cobre apresentou-se em formas pouco biodisponíveis, devido à associação com o material particulado e ou pela complexação por ligantes como os quais exibem uma elevada afinidade na fração dissolvida.

5.4.2. Comportamento do Arsênio

Os resultados obtidos para a especiação do arsênio nas amostras de águas superficiais do CEP, Ilha do Mel, Guaraqueçaba e Paranaguá, encontram-se na Tabela 12. Nessa tabela, AsTR representa a concentração de arsênio total recuperável, AsTD refere-se ao arsênio total presente na fração dissolvida, AsPart representa a concentração de arsênio associado ao material particulado, As(III) representa o teor de arsenito, As(V) a concentração de arsenato, AsT_{org} refere-se a concentração total de compostos orgânicos de arsênio. Os valores entre parênteses correspondem às concentrações expressas em termos percentuais em relação ao teor de AsTR.

Tabela 12. Valores de concentração de arsênio, e distribuição entre as frações recuperável, particulada, dissolvida, inorgânica e orgânica nas águas do CEP para os meses de março, setembro e dezembro de 2005.

	Ilha do Mel			Guaraqueçaba			Paranaguá		
	Mar	Set	Dez	Mar	Set	Dez	Mar	Set	Dez
AsTR ($\mu\text{g L}^{-1}$)	7,62	9,87	8,73	10,7	16,4	16,1	22,1	20,3	25,2
AsTD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	5,50	8,21	8,07	9,28	12,8	12,8	17,1	17,2	20,1
AsPart (mg kg^{-1})	125	145	19,07	48,83	202	53,25	273	308	242
As(III) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	3,96	4,91	2,50	1,67	5,12	4,91	7,23	7,95	9,33
As(V) ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,19	2,69	5,14	0,07	6,51	6,65	0,29	7,73	6,83
AsT _{org} ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,35	0,61	0,43	7,54	1,20	1,26	9,56	1,49	3,97
	(17,7)	(6,10)	(4,64)	(70,3)	(7,30)	(7,80)	(43,4)	(7,40)	(15,8)

A Tabela 12 mostra que os valores de AsTR foram superiores para Paranaguá (20,3 – 25,2 $\mu\text{g L}^{-1}$), seguido das amostras de Guaraqueçaba (10,7 – 16,4 $\mu\text{g L}^{-1}$) e inferiores para a Ilha do Mel (7,62 – 9,87 $\mu\text{g L}^{-1}$). Além disso, observa-se que as concentrações de AsTR não apresentaram variações significativas nas três coletas realizadas, em cada um dos ambientes.

O mesmo comportamento foi observado para a fração dissolvida e para a fração particulada. As concentrações mais elevadas de AsTD foram encontradas

em Paranaguá (17,1 – 20,1 $\mu\text{g L}^{-1}$) e Guaraqueçaba (9,28 – 12,8 $\mu\text{g L}^{-1}$) em comparação com as amostras da Ilha do Mel (5,50 – 8,21 $\mu\text{g L}^{-1}$). Para a fração particulada as amostras de Paranaguá apresentaram níveis mais elevados (242 – 308 mg kg^{-1}) seguido das amostras de Guaraqueçaba (53,25 – 202 mg kg^{-1}) e Ilha do Mel (19,07 – 145 mg kg^{-1}).

Na literatura é relatado que os teores de arsênio encontrados em águas estuarinas podem apresentar consideráveis variações, devido à influência da composição geológica, da área de drenagem do ambiente estudado e ainda do tipo de atividade antrópica realizada no local (Cullen e Reimer, 1989). Geralmente a faixa de concentração de arsênio presente em águas marinhas encontra-se entre 1,0 e 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, porém níveis mais elevados podem ser encontrados em rios e águas estuarinas, devido às características geológicas das áreas de drenagem de rios e também devido as possíveis adições de arsênio oriundo de atividades antrópicas (NRCC, 1978; Sanders, 1980 e Sanches-Rodas *et al.*, 2005).

Neste contexto, é possível verificar que os níveis de arsênio nas águas do CEP são superiores aqueles normalmente encontrados para amostras marinhas. Yao *et al.* (2006) encontraram níveis de arsênio total dissolvido para o Estuário Zhjiang, no Mar da China, na faixa de 1,67 a 1,93 $\mu\text{g L}^{-1}$. Seyler e Martin (1990) estudaram a distribuição de arsênio em estuários da França. Para o Rio Rhône, que é considerado um ambiente não impactado, os valores de AsTD encontrados variaram de 1,12 a 3,75 $\mu\text{g L}^{-1}$. Para o Estuário Loire o teor médio encontrado foi de 16,18 $\mu\text{g L}^{-1}$ de AsTD e os autores afirmam que as atividades antrópicas foram responsáveis pelos níveis mais elevados de arsênio nesse estuário.

Dessa forma, podemos concluir que os valores de arsênio determinados neste trabalho são semelhantes aos valores encontrados para ambientes estuarinos mais impactados (Seyler e Martin, 1990).

A Tabela 12 também apresenta as concentrações percentuais de AsPart, As(III), As(V) e AsT_{org}. Porém, para uma melhor avaliação da distribuição do arsênio, estes resultados também são mostrados na Figura 39.

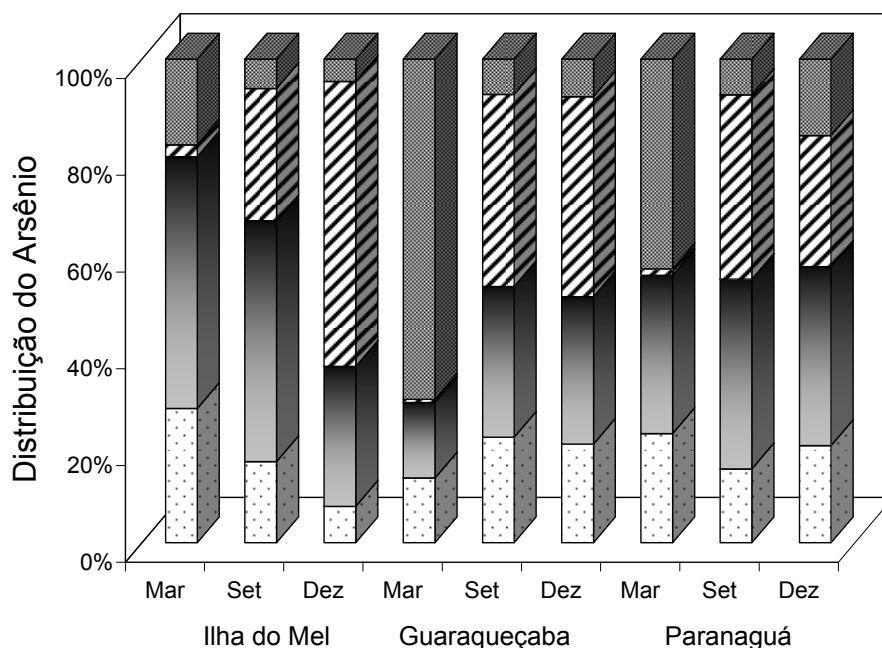






Figura 39. Distribuição das formas de arsênio nas amostras do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá. Arsênio Particulado (AsPart) , Arsenito (As(III)) , Arsenato (As(V)) , Arsênio Orgânico (AsT_{org}) .

A Figura 39 mostra a distribuição do arsênio para os três ambientes estudados do CEP nos meses de março, setembro e dezembro de 2005. De uma maneira geral, o arsênio apresentou-se preferencialmente presente na fração dissolvida em todas as amostras, pois menos de 30% desse metalóide esteve associado ao material particulado. A remoção do arsênio da fração dissolvida é determinada por processos na superfície de minerais, particularmente processos de adsorção e precipitação (Bissen e Frimmel, 2003). Seyler e Martin (1990) relatam que a adsorção na superfície de óxidos hidratados de ferro e manganês promove a remoção do arsênio da coluna de água em ambientes aquáticos. Porém, recentemente Bauer *et al.* (2006) descrevem que a competição entre o arsênio e MOD por sítios de adsorção pode diminuir a adsorção do arsênio em óxidos de ferro, sólidos em suspensão e sedimentos. Assim, as baixas concentrações de arsênio associados ao material particulado em suspensão para as amostras do CEP pode estar relacionada à competição do arsênio com a MOD pelos sítios de adsorção nos sólidos em suspensão.

Com relação à fração dissolvida, é possível observar na Figura 39 que as formas inorgânicas de As, As(III) e As(V), são majoritárias nos meses de setembro e dezembro, sendo superiores a 50% do As_{TR} para os três ambientes estudados. As amostras de Guaraqueçaba e Paranaguá coletadas no verão apresentam teores significativos de arsênio orgânico, representando 70% e 43% do teor total, respectivamente. Tal comportamento pode estar relacionado à maior atividade biológica que é característica do verão. Para a região oligotrófica da Ilha do Mel, que apresenta menor atividade biológica, este comportamento pôde ser verificado em menor escala, pois no verão os teores de As_{org} foram cerca de 20%, enquanto na primavera e inverno os níveis médios de As_{org} não ultrapassaram 5%.

Como a presença de arsenito e arsênio orgânico pode estar relacionada com atividade biológica da região, o gráfico apresentado na Figura 40 relaciona as concentrações de As(III), As_{Torg} e os níveis de clorofila-a durante os meses de coleta.

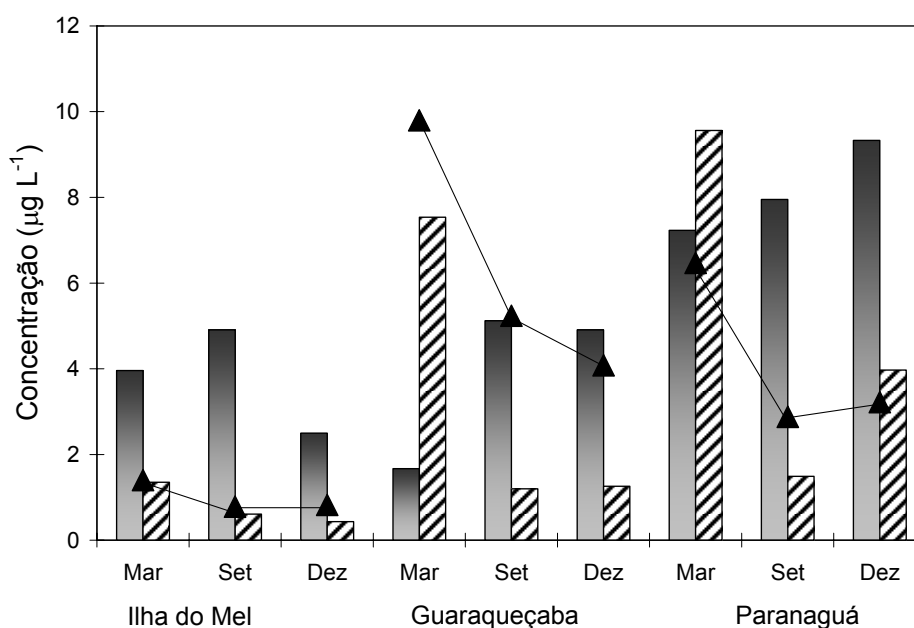





Figura 40. Concentração de arsenito, arsênio total orgânico e clorofila-a para as amostras do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá durante os meses de coleta. As(III) , As_{Torg} , Clorofila-a ().

A Figura 40 apresenta as concentrações de arsenito, arsênio orgânico e clorofila-a para todos os ambientes estudados nos meses de março, setembro e dezembro de 2005. Observa-se que os valores superiores de arsênio orgânico foram encontrados nos meses que apresentaram níveis superiores de clorofila. Os níveis de clorofila expressam quantitativamente a biomassa fitoplanctônica e sendo assim refletem, conseqüentemente, a intensidade da atividade biológica. Portanto, nota-se que há uma relação direta entre os níveis de arsênio orgânico e clorofila-a para todos os ambientes do CEP.

Na medida em que há uma diminuição da biomassa do fitoplâncton há uma diminuição das concentrações de arsênio orgânico. Este comportamento está de acordo com a literatura, pois o arsênio orgânico é um produto da biotransformação do arsenato por microalgas e bactérias. Por exemplo, Hellweger *et al.* (2003) relatam que devido à semelhança entre o arsenato, fosfato e nitrogênio, o arsenato é absorvido por microalgas e bactérias em ambientes aquáticos. Tal semelhança ocorre porque o arsênio pertence ao mesmo grupo que o nitrogênio e o fósforo, na Tabela Periódica, tendo por isso também a mesma configuração eletrônica s^2p^3 em sua camada de valência. Geralmente o arsênio comporta-se como o fósforo em águas naturais (Baird, 2002).

Como os nutrientes nitrato e fosfato são essenciais para o crescimento de fitoplâncton marinho, estes nutrientes são incorporados pelo fitoplâncton durante o processo de fotossíntese (Campos e Jardim, 2003). A similaridade química entre fosfato, nitrato e arsenato permite que o arsenato entre no ciclo metabólico das algas (Cullen e Reimer, 1989) e após a absorção, o arsenato é biotransformado a formas orgânicas de arsênio ou arsenito e estes compostos de arsênio são excretados para o ambiente, de acordo com o esquema apresentado na Figura 8.

Como o verão é um período caracterizado por ocorrer uma maior atividade biológica, é esperado que teores mais elevados de As_{org} sejam encontrados nesse período (Howard *et al.*, 1995; Howard *et al.*, 1998). Esse comportamento foi observado para as amostras da Ilha do Mel, Guaraqueçaba e Paranaguá conforme Figura 40.

No presente trabalho, também foi realizado uma avaliação das relações existentes entre os níveis de nutrientes dissolvidos e as concentrações de arsenato presentes nas águas superficiais do CEP. A Figura 41 exibe essas relações em cada um dos ambientes durante os meses de coleta.

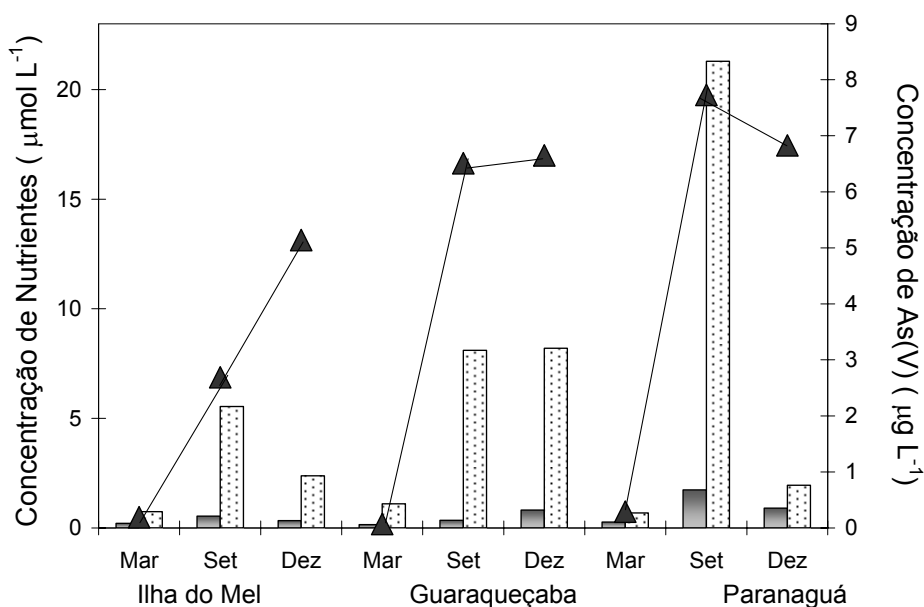


Figura 41. Concentração de nutrientes dissolvidos, em $\mu\text{mol L}^{-1}$ e arsenato, em $\mu\text{g L}^{-1}$ para as amostras do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá e os meses de coleta. Fósforo total dissolvido \blacksquare , Nitrogênio total dissolvido \square , As(V) (\blacktriangle).

Na Figura 41 é possível notar que os níveis de nutrientes dissolvidos são inferiores no mês de março, de maneira semelhante às concentrações de As(V). Este comportamento observado pode ser devido à absorção do arsenato pelo fitoplâncton, quando ocorreu uma diminuição dos nutrientes dissolvidos nos ambientes estudados. De fato, na literatura é relatado que a absorção de arsenato por microalgas ocorre quando nutrientes dissolvidos, como fosfato e nitrato, tem seus teores diminuídos (Millward *et al.*, 1996; Sanders, 1985).

Para o CEP, quando os níveis de nutrientes foram mais elevados, em setembro e dezembro, os teores de arsenato são mais elevados, pois provavelmente há uma diminuição da absorção do arsenato pelo fitoplâncton.

Portanto, nesses meses o As(V) é a espécie dominante na fração dissolvida, conforme Figura 39.

Além desses aspectos, é interessante conhecer a distribuição do arsênio entre as fases particulada e dissolvida. Quando uma espécie química, como o arsênio entra em um sistema estuarino e nele circula, essa espécie encontra-se distribuída em duas fases: dissolvida e particulada. A distribuição entre essas duas fases, ou seja, a partição é um fator regulador do arsênio, uma vez que a fase particulada é condicionada pela sedimentação, que remove essa espécie da coluna de água. Dessa forma, a partição é um dos mais importantes mecanismos no controle do transporte de espécies químicas em estuários, podendo ser influenciado pela salinidade, pH, potencial redox e presença de matéria orgânica (Stumm e Morgan, 1996; Fernandes, 2001).

Nesse sentido, foi realizada uma avaliação do grau de associação do arsênio junto ao material particulado e da presença do mesmo na fração dissolvida. Para isso, realizou-se a determinação do coeficiente de partição (K_D) para as amostras do CEP, de forma semelhante àquela realizada para o cobre. Os resultados estão exibidos na Figura 42.

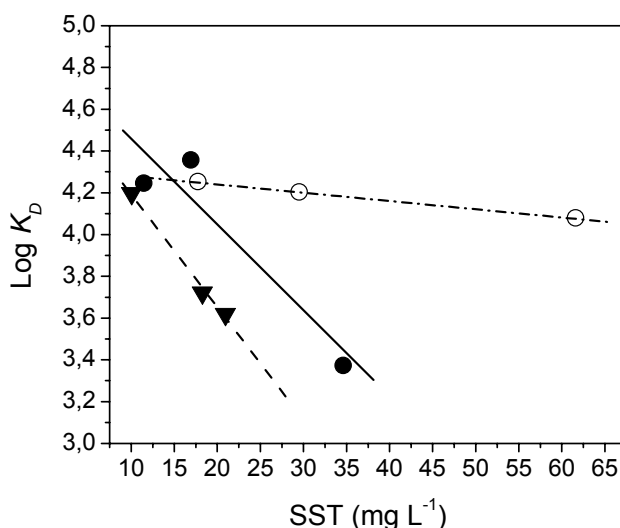


Figura 42. Coeficientes de partição (K_D) para o arsênio em função dos teores de sólidos suspensos totais. (●) Ilha do Mel, (○) Guaraqueçaba e (▼) Paranaguá.

De acordo com a Figura 42 os valores de $\text{Log } K_D$ variaram na faixa de 3,0 a 4,5 para os três ambientes. Nota-se um comportamento decrescente para valores de $\text{Log } K_D$ em função do aumento da concentração de sólidos suspensos totais. Comportamento semelhante foi observado para o cobre neste trabalho, provavelmente devido ao efeito de concentração de partículas (ECP) (Benoit *et al.*, 1994). Portanto, na Figura 42 fica evidenciada uma associação do arsênio ao material coloidal que permeia pela membrana de filtração e que é contabilizado na fração dissolvida para os três ambientes do CEP.

As amostras da Ilha do Mel e Paranaguá exibiram um decréscimo mais acentuado nos valores de $\text{Log } K_D$ em função dos teores de sólido suspenso totais, em oposição às amostras de Guaraqueçaba. Para as amostras da Ilha do Mel e Paranaguá parece que as mesmas apresentam níveis mais elevados de material coloidal que passam pela membrana de filtração e, conseqüentemente, de arsênio associado a este material. Para Guaraqueçaba, a menor atenuação dos dados indica que o arsênio permaneceu mais associado ao material particulado na fase sólida em relação a outras amostras.

É conhecido que a taxa de sedimentação do material particulado em águas naturais depende do tamanho e densidade de partículas, entre outros fatores (Sodré, 2005). Nas águas de Guaraqueçaba foram encontrados materiais particulados em suspensão com características mais grosseiras, enquanto para as amostras da Ilha do Mel e Paranaguá foram verificados a presença de quantidades superiores de material coloidal. Devido a estes aspectos, pode-se acreditar que a remoção do arsênio a partir da coluna de água por sedimentação ocorra de forma mais acentuada em Guaraqueçaba. Para os outros ambientes, Ilha do Mel e Paranaguá, a presença de teores maiores de colóides pode favorecer a permanência do arsênio por mais tempo na coluna de água.

Neste trabalho, também foi realizada uma avaliação do comportamento do arsênio com relação às questões conservativas durante a mistura de águas doces e marinhas no CEP. Foi analisada a distribuição do arsênio em função do grau de salinidade destes ambientes, conforme mostra a Figura 43.

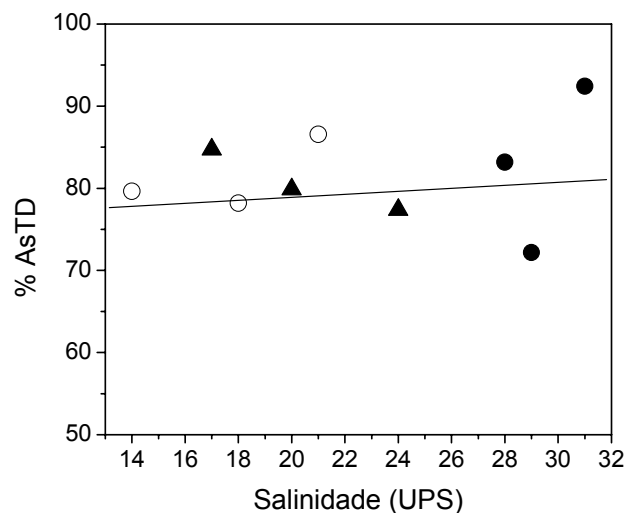


Figura 43. Percentual de arsênio total dissolvido em função da salinidade. (●) Ilha do Mel, (○) Guaraqueçaba e (▼) Paranaguá.

De acordo com a Figura 43, observa-se a relação entre a fração dissolvida e a salinidade nos três ambientes do CEP. Constata-se que conforme há um aumento na salinidade, há uma porcentagem um pouco maior de arsênio total dissolvido. Portanto, nas amostras com maior salinidade (Ilha do Mel), a fração dissolvida foi maior que as amostras de Guaraqueçaba e Paranaguá. E nas amostras de Guaraqueçaba com menor salinidade, a fração dissolvida do arsênio foi menor que as amostras de Paranaguá e Ilha do Mel. Tal comportamento mostra que o arsênio pode ser transferido mais facilmente da fração dissolvida para fração particulada em Guaraqueçaba, o que corrobora a interpretação realizada sobre o coeficiente de partição.

Além desse aspecto, é possível notar na Figura 43 que os dados sugerem um comportamento linear entre a variação da fração dissolvida do arsênio em relação à salinidade para os diferentes ambientes do CEP. Dessa maneira, observa-se um indício que para o período estudado, o arsênio apresenta um comportamento conservativo nas águas do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá. Portanto, o arsênio não sofreu qualquer alteração durante o processo de mistura de águas doces e marinhas, ou seja, no CEP o arsênio não se

precipitou nem se dissolvem durante o processo de mistura. Tal situação representa um comportamento denominado de conservativo.

Os resultados observados neste trabalho estão de acordo com a literatura, uma vez que o arsênio apresenta um comportamento conservativo em vários estuários, como o estuário do Rio Rhone na França (Françoise *et al.*, 1996; Elbaz-Poulichet, *et al.*, 1996), Estuário Thames na Inglaterra (Millward *et al.*, 1997) e Estuário Humber na Inglaterra (Kitts *et al.*, 1994).

A partir dos resultados acerca do comportamento do arsênio nas águas superficiais do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá é possível observar que a especiação geoquímica do arsênio sofre variações sazonais devido, marcadamente, as variações associadas às atividades biológicas e às características físico-químicas dos ambientes estudados. De uma maneira geral pode-se concluir que o arsênio apresentou baixa afinidade pelo material particulado em suspensão, o que acarreta na sua permanência por um tempo mais elevado na coluna de água do CEP. Além disso, a presença de fitoplâncton foi determinante no comportamento do arsênio no CEP, pois as espécies menos tóxicas desse metalóide foram encontradas em concentrações mais elevadas nas regiões mais eutrofizadas durante o verão, possivelmente devido à maior atividade biológica.

Além desses aspectos, observou-se neste trabalho que as amostras de águas superficiais do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá apresentaram concentrações mais elevadas de arsênio em relação aos resultados descritos na literatura para regiões estuarinas. Tal fato pode estar relacionado com fatores geológicos, sendo que a região do CEP poderia ser rica nesse elemento naturalmente. Porém, observou-se neste trabalho que o ambiente mais impactado por atividades antrópicas, ou seja, para Paranaguá apresentou níveis mais elevados de arsênio em relação às amostras de Guaraqueçaba e Ilha do Mel. Tal situação pode ser um indicativo que as atividades antrópicas na região de Paranaguá contribuem no enriquecimento desse metalóide no ambiente.

Ambos os processos, antropogênicos e naturais, têm sido estudados para explicar as concentrações mais elevadas de arsênio em ambientes aquáticos. De

acordo com Hossin (2006) a concentração elevada de arsênio na água de Bangladesh deve-se as condições geológicas dessa região. Acredita-se que devido à oxidação de arsenopirita, um mineral presente naturalmente nesta região, pode ocasionar a mobilização do arsênio para os ambientes aquáticos.

O arsênio está normalmente presente em rochas, solos, águas e ar, e pode ser liberado naturalmente através do intemperismo de rochas ricas em arsênio, minerais e também devido à atividade vulcânica (Sá, 2003). Em adição às fontes naturais, o arsênio pode ser liberado para o ambiente como resultados de atividades antrópicas. Nriagu (1989) estimou que as emissões antropogênicas de arsênio na atmosfera excedem as fontes naturais. O arsênio é um subproduto da metalurgia de metais como cobre, chumbo, zinco, ouro, cobalto. Aproximadamente, 70% da produção mundial de arsênio é usada no tratamento de madeira, como preservativo, 22% do arsênio é utilizado na fabricação de pesticidas, inseticidas, herbicidas e desfolhantes e o restante de As é utilizado em várias atividades como em ligas metálicas, na indústria eletrônica como semicondutor, na indústria do vidro, curtume e têxtil, além de ser utilizado como aditivo alimentar na pecuária, e também como algicida na indústria naval. (Bettencourt, 1990; Barra *et al.*, 2000; Fernandes, 2001; Sanches-Rodas *et al.*, 2005).

A queima de combustíveis fósseis e a mineração são fontes importantes na poluição por arsênio em sistemas aquáticos. Por exemplo, foi comprovado que o arsênio emitido por uma planta de fundição de cobre na Bulgária triplicou o número de defeitos congênitos em crianças nascidas de mulheres que moraram nesta região (Baird, 2002).

Neste contexto, os níveis elevados de arsênio nas amostras de Paranaguá pode ser um indicativo que as atividades industriais da região, como a indústria de fertilizantes, a presença de um terminal petrolífero, assim como as atividades portuárias, podem contribuir na contaminação destes ambientes por arsênio. O fato de o arsênio ser utilizado como algicida no tratamento de superfícies de navios, pode contribuir no enriquecimento desse metalóide na região portuária de Paranaguá. Além disso, o fato do arsênio ser utilizado como pesticida também

pode contribuir nas concentrações elevadas de As no CEP, pois o Porto de Paranaguá é caracterizado pelo escoamento de produtos agrícolas, como grãos, farelos, entre outros. Embora o uso do arsênio como pesticida já tenha diminuído a contaminação por As ainda constituiu um problema ambiental em algumas regiões do planeta (Baird, 2002).

Sá (2003) estudou a distribuição e fracionamento de contaminantes nos sedimentos superficiais e atividades de dragagem no CEP. No respectivo trabalho foi observado que a concentração de arsênio passível de extração em solução de ácido diluído, ou seja, a fração de maior disponibilidade do metalóide foi encontrada apenas na baía de Paranaguá, sendo que as concentrações mais elevadas foram verificadas nas regiões oeste e leste do porto Paranaguá, entre o final de cais oeste e o píer da Petrobrás/Catallini. As concentrações superaram o limite crítico adotado pela Legislação Canadense. Ainda neste trabalho, é relatado que o aumento do teor de arsênio próximo à cidade de Paranaguá, pode estar relacionado com rochas fosfatadas utilizadas na produção de fertilizantes pela indústria local, entrando no ambiente pelo despejo de efluente resultante deste processo. Isso pode ocorrer porque os compostos de arsênio coexistem com os de fósforo na natureza devido à similaridade de suas propriedades, frequentemente o arsênio é considerado um contaminante de depósitos de fosfatos e de fosfatos comerciais (Baird, 2002). De fato, Shumilin *et al.* (2001), relacionaram as concentrações altas de arsênio em sedimentos com a presença de material fosfatado, provenientes do intemperismo de rochas enriquecidas em fósforo.

De uma maneira geral observa-se que as concentrações encontradas para arsênio total nos três ambientes estudados do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá variaram entre 7,62 a 9,87 $\mu\text{g L}^{-1}$ para as amostras da Ilha do Mel; 10,7 a 16,4 $\mu\text{g L}^{-1}$ para amostras de Guaraqueçaba e 20,3 a 25,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ para as amostras de Paranaguá, conforme Tabela 12. As concentrações máximas permitidas de arsênio total para águas salobras (águas de salinidade menor que 30) de acordo com a Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA 357/2005 é 10,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para águas salobras classe 1 que são águas que

podem ser destinadas à proteção das comunidades aquáticas, à aquicultura, à atividade de pesca, entre outros. Para as áreas de pesca ou cultivo de organismos para fins de consumo intensivo, a concentração máxima permitida para arsênio total é $0,14 \mu\text{g L}^{-1}$ (CONAMA 357/2005).

De acordo com o Instituto Ambiental do Paraná (IAP) as águas do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá se enquadram na classe 1 das águas salobras (IAP, www.pr.gov.br/meioambiente/iap). Dessa forma podemos observar que para as amostras da Ilha do Mel as concentrações de As estão próximas aos teores máximos permitidos pelo CONAMA 357/2005 enquanto que os teores de As em Guaraqueçaba e Paranaguá foram superiores àquelas permitidas pela Resolução COMAMA 357/2005. Portanto, pode-se considerar que o risco de contaminação por arsênio pode ser considerado, para as águas estuarinas da Baía de Paranaguá.

5.4.3. Caracterização da Matéria Orgânica Dissolvida empregando Espectroscopia de Fluorescência Molecular

A especiação do cobre controla tanto o ciclo biogeoquímico assim como a biodisponibilidade desse metal em águas naturais. O comportamento do cobre em águas estuarinas é governado pelas suas interações com partículas em suspensão e ligantes presentes na coluna de água, através de processos como floculação, complexação inorgânica e orgânica, adsorção, ressuspensão de sedimentos, entre outros. Vários trabalhos apontam que os complexos orgânicos de cobre são as formas dominantes em águas estuarinas, representando 95 a 99,9% da fração dissolvida (Donat *et al.*, 1994; Muller, 1996).

Nesse contexto, a matéria orgânica dissolvida (MOD) pode ser considerada um agente regulador no transporte e na biodisponibilidade de metais traço nos ambientes aquáticos. Pois, a MOD pode alterar o comportamento e a partição dos metais, seqüestrando-os ou liberando-os no ambiente. Como resultado, pode-se ter uma redução na concentração do cobre lábil, e conseqüente aumento da forma complexada, que é considerada não biodisponível (Lombardi, 1995).

Portanto, é desejável obter informações qualitativas e quantitativas sobre as características da MOD. Segundo Wangerski (1994) as transformações químicas em águas superficiais marinas não podem ser totalmente entendidas sem considerar as reações com a MOD ou por elas mediadas. E tal entendimento pode ser obtido através do conhecimento das variações na composição da MOD.

A MOD tem uma estrutura química complexa, indefinida e com uma grande variedade de grupos funcionais. Muitos autores descrevem métodos de caracterização destas substâncias empregando técnicas espectroscópicas de ressonância magnética nuclear de ^{13}C e ^1H , ressonância paramagnética eletrônica e espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (Repeta *et al.*, 2002; Rocha e Rosa, 2003).

Outras técnicas, como por exemplo, aquelas que empregam fenômenos de fluorescência, também têm sido utilizadas na avaliação da estrutura química dessas substâncias (Nieke *et al.*, 1997; Parlanti *et al.*, 2000), pois a fluorescência é uma propriedade intrínseca da matéria orgânica de origem terrestre ou marinha (Cabaniss e Shuman, 1987).

A fluorescência é um fenômeno luminescente onde as espécies atômicas ou moleculares de um analito são excitadas por radiações eletromagnéticas nas regiões do ultravioleta ou do visível e, quando retornam ao estado fundamental, fornecem um espectro de radiações que são emitidas em comprimentos de onda superiores ao fixado para a excitação. Essa técnica permite a determinação quantitativa de uma ampla variedade de compostos orgânicos e inorgânicos em concentrações traço através da quantificação da intensidade de fluorescência (Sodré, 2005). Uma das vantagens do emprego da espectroscopia de fluorescência molecular é a boa sensibilidade da técnica e pelo fato da técnica ser considerada não destrutiva (Lombardi, 1995).

Neste trabalho, a avaliação das características das estruturas orgânicas presentes na matéria orgânica dissolvida das amostras da Ilha do Mel, Guaraqueçaba e Paranaguá foi conduzida através da espectroscopia de fluorescência molecular (Nieke *et al.*, 1997 e Parlanti *et al.*, 2000, Sodré, 2005).

Uma das modalidades que podem ser empregadas na avaliação da MOD por fluorescência é a de emissão. Esta modalidade é a mais empregada em estudos envolvendo a caracterização da matéria orgânica em águas naturais (Frimmel, 1998; Chen *et al.*, 2002).

Para se obter um espectro de fluorescência no modo emissão, em geral, define-se um comprimento de onda específico para excitação dos componentes da amostra. Mantendo-se fixo esse comprimento de onda de excitação, são registrados os comprimentos de onda e as intensidades das emissões provenientes da relaxação dos componentes da amostra. A Figura 44 mostra os espectros de emissão de fluorescência obtidos para as amostras dos três ambientes do CEP.

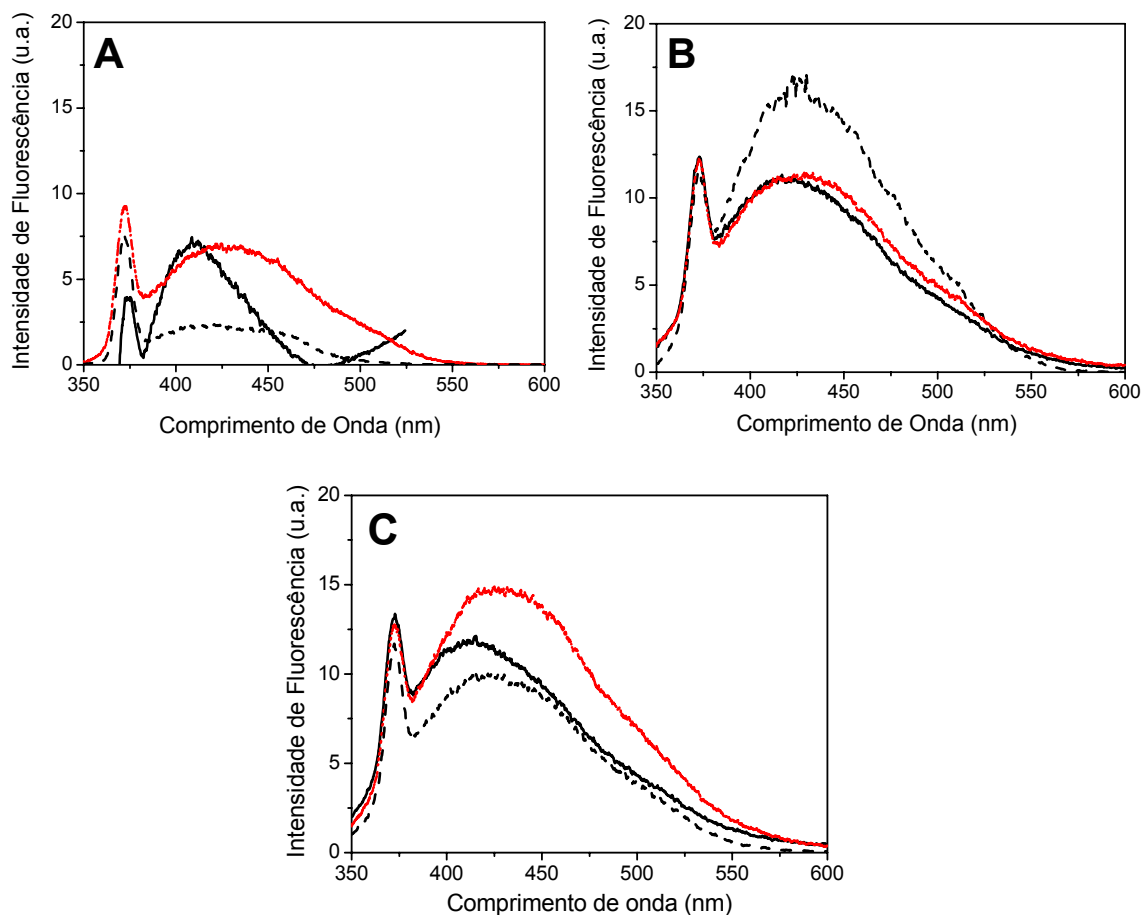


Figura 44. Espectros de emissão de fluorescência molecular obtidos para as amostras da Ilha do Mel **(A)**, Guaraqueçaba **(B)** e Paranaguá **(C)**. (λ_{exc} : 330 nm) (—) Março, (...) Setembro e (---) Dezembro.

A Figura 44 mostra os espectros de emissão de fluorescência para as amostras de água do CEP, coletadas em março, setembro e dezembro de 2005. Em todos os casos, pode-se observar o aparecimento de uma banda que ocupou uma extensa região quando cada amostra foi excitada. O formato e a posição de uma banda de emissão de um espectro de fluorescência são dependentes da estrutura molecular da substância (Lombardi, 1995). Essa banda presente nos espectros da Figura 44 apresentou o máximo de intensidade em torno de 425 nm, o que caracteriza a presença de substâncias húmicas nas amostras do CEP. A

banda presente em todos os espectros no comprimento de onda de 355 nm refere-se ao espalhamento Raman.

Analisando os espectros apresentados na Figura 44 nota-se que existe diferenças significativas entre as amostras, tanto em termos da intensidade de fluorescência quanto para os comprimentos de onda da banda de máxima emissão, evidenciando a existência de diferenças na MOD dos três ambientes estudados.

De um modo geral, as amostras de Guaraqueçaba e Paranaguá apresentaram valores semelhantes de intensidade de fluorescência. Além disso, as amostras desses locais apresentam intensidades superiores em praticamente toda faixa espectral em relação às amostras da Ilha do Mel. Os valores inferiores de intensidade de fluorescência para as amostras da Ilha do Mel podem ser devido às características desse ambiente oligotrófico, e por este ambiente estar menos influenciado pela mistura de água doce proveniente de rios e drenagem continental.

Dornard *et al.* (1989) investigaram a matéria orgânica dissolvida em águas continentais e marinhas através do emprego de fluorescência molecular. Os autores obtiveram um sinal de fluorescência 20 vezes superior para as águas continentais em relação às marinhas. Lombardi (1995) encontrou um comportamento semelhante no estudo da fluorescência de amostras contendo matéria orgânica de origem marinha e terrestre. Nesse trabalho, o sinal de fluorescência foi 5 vezes superior para a MOD de origem terrestre em relação à MOD marinha.

Neste sentido, as diferenças na intensidade de fluorescência entre as amostras do CEP podem ser indicativo que a MOD desses ambientes podem ter origens distintas. Como as amostras dos ambientes eutrofizados, Paranaguá e Guaraqueçaba, apresentaram valores superiores de fluorescência em relação às amostras da Ilha do Mel, isso pode indicar que a MOD dos ambientes eutrofizados pode ser composta também por MOD de origem terrestre. Tais ambientes eutrofizados sofrem maior influência de águas doces, de acordo as observações realizadas neste trabalho, através da avaliação dos parâmetros como pH,

salinidade, SST, entre outros. De fato, a entrada de materiais orgânicos de origem terrestre no ambiente marinho é dependente da descarga de rios nos ambientes estuarinos (Lombardi, 1995).

Além desses aspectos, foi possível visualizar na Figura 43 pequenas diferenças na localização da região de máxima emissão, que geralmente foi 425 nm. Marcadamente, para as amostras de Paranaguá, observa-se que o máximo de emissão foi em torno de 410 nm, isto pode ser devido à presença de estruturas orgânicas menos humificadas para estas amostras em relação às amostras da Ilha do Mel e Guaraqueçaba. De fato, Westerhoff e Annin (2000) avaliaram as características espectroscópicas de substâncias húmicas aquáticas de referência (IHSS) e de amostras de águas naturais coletadas em diversos rios dos EUA. Com base em espectros de emissão de fluorescência, os autores verificaram que as amostras mais humificadas tiveram a banda com emissão máxima em regiões de maiores comprimentos de onda. Portanto, para as amostras de Paranaguá que apresentaram o máximo de emissão em menores comprimentos de onda pode ser devido à presença de MOD menos humificada.

Outra modalidade de fluorescência que tem sido empregada na caracterização de compostos orgânicos é a fluorescência sincronizada. Quando se emprega essa modalidade é possível obter informações adicionais com relação à constituição estrutural de compostos orgânicos, em comparação às modalidades convencionais de emissão e excitação (Chen *et al.*, 2003).

Na modalidade sincronizada, os comprimentos de onda de excitação e de emissão são monitorados de forma simultânea, com um intervalo constante entre ambos, onde $\Delta\lambda = \lambda_{\text{emissão}} - \lambda_{\text{excitação}}$. Para substâncias húmicas aquáticas o melhor valor de $\Delta\lambda$ é geralmente 18 nm, de acordo com Peuravuori *et al.* (2002).

Peuravuori *et al.* (2002) avaliaram o comportamento de diferentes frações húmicas aquáticas empregando fluorescência sincronizada e estabeleceram uma relação entre as faixas espectrais e entre as diferentes estruturas orgânicas. Estas regiões são mostradas na Figura 45.

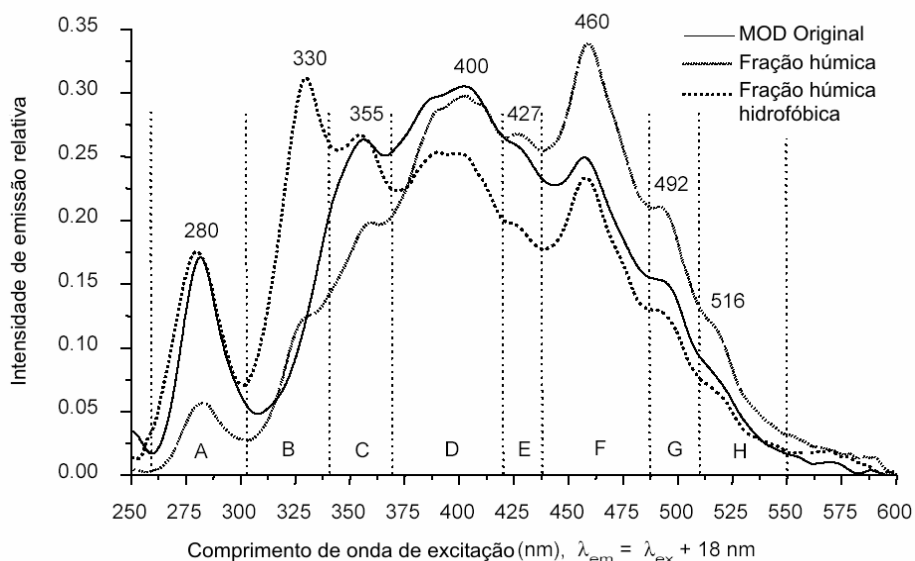


Figura 45. Espectros de fluorescência sincronizada obtidos para matéria orgânica dissolvida natural e para diferentes frações húmicas. ($\Delta\lambda = 18\text{ nm}$). As linhas tracejadas verticais delimitam as diferentes regiões dos espectros (Peuravuori *et al.*, 2002).

A Figura 45 mostra espectros de fluorescência sincronizada obtidos para matéria orgânica dissolvida natural e para diferentes frações húmicas extraídas com colunas do tipo DAX-8 empregando-se diferentes eluentes. O espectro evidencia diferentes regiões espectrais delimitadas por linhas verticais (Peuravuori *et al.*, 2002).

As intensidades de fluorescência na região A: 260 - 302 nm foram atribuídas à presença de aminoácidos aromáticos e alguns ácidos voláteis que apresentam estrutura alifática altamente conjugada. A faixa espectral B: 302 - 340 nm foi atribuída à presença de naftaleno e seus derivados. Para a faixa C: 340 - 370 nm, a fluorescência deve-se a presença de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos com três ou quatro anéis conjugados. A região D: 370 - 420 nm caracteriza-se pela presença de estruturas policíclicas aromáticas formadas por cerca de cinco anéis conjugados. A seção F: 438 - 487 foi atribuída a presença de estruturas formadas por cerca de sete anéis aromáticas conjugados, sendo que as estruturas do tipo lignina costumam fluorescer nesta região. Portanto, os

compostos aromáticos com elevado grau de condensação tendem a fluorescer em maiores comprimentos de onda.

A identificação de diferentes estruturas orgânicas na MOD dos três ambientes do Complexo Estuarino de Paranaguá também foi avaliada por meio de espectros de fluorescência sincronizada, conforme Figura 46.

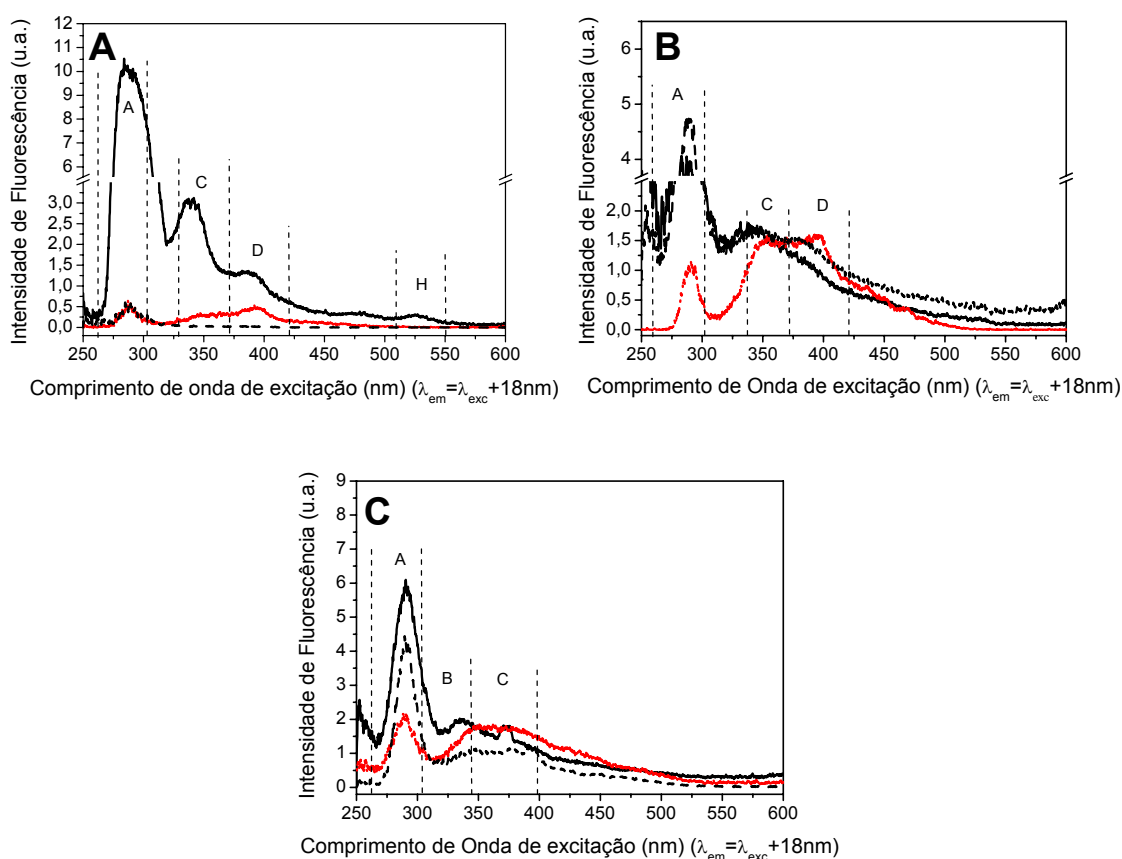


Figura 46. Espectros de fluorescência sincronizada obtidos para as amostras da Ilha do Mel **(A)**, Guaqueçaba **(B)** e Paranaguá **(C)**. ($\Delta\lambda$: 18nm). (—) Março, (...) Setembro e (---) Dezembro.

Os espectros de fluorescência sincronizada para as amostras da Ilha do Mel, Guaqueçaba e Paranaguá apresentados na Figura 46 mostram bandas localizadas em diversas regiões espectrais, que podem ser atribuídas à presença de diferentes espécies orgânicas na matéria orgânica dissolvida (Peuravuori *et al.*, 2002). De uma maneira geral, para todas as amostras observa-se a presença de

bandas em regiões de menores comprimentos de onda de 250 a 400 nm, evidenciando a presença de poucas substâncias aromáticas com elevado grau de condensação (Peuravuori *et al.*, 2002). Tal comportamento pode ser devido à presença de matéria orgânica marinha, pois estudos de degradação confirmam um caráter mais alifático para matéria orgânica de origem marinha em relação à matéria orgânica de água doce (Ishiwatari, 1992).

Conforme Figura 46, a banda mais intensa para todas as amostras encontra-se na faixa espectral A de 260 a 302 nm, que pode ser atribuída à presença de aminoácidos aromáticos. Coble *et al.* (1993) mostraram que as bandas localizadas nessa faixa espectral em amostras marinhas podem ser atribuídas a presença de materiais protéicos, resultantes de atividade biológica. Mopper e Schultz (1993) verificaram que as proteínas e substâncias húmicas são as principais responsáveis pela fluorescência em águas marinhas. Estes aspectos permitem concluir que a presença de bandas mais intensas na região A, para as amostras do CEP, pode ser atribuída à presença de proteínas resultantes de atividade biológica. Adicionalmente, observa-se que as bandas na região A tiveram intensidade de fluorescência superior nas amostras coletadas durante o verão, o que está consistente com o período de maior atividade biológica característico dessa época do ano.

Atualmente acredita-se que a matéria orgânica de origem marinha seja oriunda principalmente de microalgas enquanto que a de origem terrestre seja oriunda de vegetais superiores, ricos em tanino e lignina (Lombardi, 1995). Vários trabalhos da literatura mostram as microalgas como fonte dos precursores da substância húmica no meio marinho. Benner *et al.* (1992) mostram que aproximadamente 50% do total da MOD marinha em águas superficiais são constituídas por polissacarídeos. Este resultado confirma a atividade fitoplanctônica na formação da matéria orgânica marinha.

Observa-se ainda que a amostra da Ilha do Mel, coletada em março, apresentou bandas em uma maior variedade de faixas espectrais; A, C, D e H, sendo que as bandas C e D são atribuídas a presença de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos com 3 e 5 anéis conjugados, respectivamente. Tal

comportamento é um indicativo de uma matéria orgânica mais antiga, ou seja, mais humificada. Para a amostra de setembro, observam-se somente bandas nas faixas A e D e para a amostra de dezembro a única banda deve-se a presença de material protéico.

Para as amostras de Guaraqueçaba, é possível visualizar na Figura 45B a presença de bandas nas faixas espectrais A, C e D devido a presença de material protéico e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos com 3 e 5 anéis conjugados, respectivamente.

Para os espectros apresentados na Figura 45C das amostras de Paranaguá observam-se bandas localizadas nas faixas espectrais A, B e C. Esse resultado indica a presença de material protéico, naftaleno e derivados e também a presença de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos com 3 ou 4 anéis conjugados, respectivamente.

Portanto, observa-se a presença de material protéico e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos com 3 ou 4 anéis conjugados, regiões A e C, para todos os ambientes estudados do CEP.

A interação entre substância húmicas e metais pode ser avaliada através de espectroscopia de fluorescência molecular, pois metalo-complexos não exibem fluorescência. Assim, é observada uma atenuação do sinal fluorimétrico à medida que a MOD complexa o metal. Sodré (2005) avaliou a supressão do sinal de fluorescência devido à complexação do cobre pela MOD em amostras dos Rios Iguaçu e Iraí, localizados na Região Metropolitana de Curitiba, Paraná. No respectivo trabalho, foi observado que para as amostras do Rio Iraí, os compostos fluorescentes da matéria orgânica da faixa A e B não contribuíram para a complexação do cobre. E a complexação do cobre foi efetiva pelos compostos policíclicos aromáticos de 3 a 7 anéis presentes na MOD do ambiente estudado. Esses compostos correspondem às faixas C, D e F, no espectro de fluorescência sincronizada, sendo que a maior capacidade de complexação pela MOD seguiu a seguinte ordem $C < D < F$.

Neste contexto, acredita-se que para as amostras do CEP a capacidade de complexação da MOD pelo cobre deve-se a presença de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos com 3 ou 4 anéis conjugados nestas amostras.

Com base nos resultados obtidos empregando fluorescência molecular nos modos de emissão e sincronizada na caracterização da MOD, pode-se concluir que existem diferenças com relação às características da matéria orgânica dissolvida para os ambientes estudados do CEP. As distintas origens da matéria orgânica dissolvida parece ser a principal causa das diferenças encontradas entre os ambientes estudados. Considerando a localização dos locais de estudo com distintos graus de trofia são observadas diferenças dos grupos fluoróforos presentes na MOD desses locais. Sendo que a presença de material protéico resultante de atividade biológica foi marcante para todas as amostras e isto indica que a matéria orgânica de origem marinha seja oriunda principalmente de atividade fitoplanctônica. Além disso, a presença de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos com 3 ou 4 anéis conjugados na MOD dos ambientes estudados podem ser responsáveis pela complexação do cobre nestas amostras. Tais aspectos podem ser considerados um avanço na busca de informações sobre a matéria orgânica dissolvida em águas estuarinas.

6. CONCLUSÕES

Neste trabalho foram estabelecidas bases analíticas para a análise de especiação do cobre e arsênio em águas marinhas. Na implantação dos protocolos de especiação para cobre e arsênio as principais ferramentas analíticas empregadas foram a espectroscopia de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (EAA-FG) e técnicas voltamétricas de redissolução catódica.

Para o pré-tratamento das amostras foi utilizada a digestão com base em processo fotoquímico assistido por microondas. Esse procedimento foi adaptado para amostras marinhas e mostrou-se eficiente na destruição da MOD para a determinação das concentrações de cobre na amostra *in natura* e na fração dissolvida. A digestão da fração dissolvida foi alcançada em apenas 9 min, enquanto que a da amostra *in natura* foi alcançada em 18 min. Além disso, todo o procedimento foi aplicado sem causar contaminações ou perdas significativas do analito.

A determinação do cobre foi realizada por voltametria adsortiva de redissolução catódica aliada à técnica de ligante de competição empregando salicilaldoxima (SA). A implantação do procedimento para a análise de especiação do cobre foi realizada através de uma otimização quimiométrica. Com um planejamento fatorial 2^3 foi possível otimizar as variáveis que compõem o sistema experimental de maneira multivariada, com apenas oito experimentos. As condições experimentais estudadas foram: a necessidade do uso de um tampão, a concentração da SA e o tempo de deposição. Observou-se que a maior sensibilidade analítica foi alcançada com ausência de tampão borato, $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de SA e tempo de deposição de 180 segundos. A interação dos fatores tampão e tempo de deposição foram mais significativos do ponto de vista estatístico. Com base nestes resultados conclui-se que o procedimento proposto neste trabalho pode ser recomendado nos estudos de especiação do cobre em amostras de águas naturais empregando voltametria adsortiva de redissolução catódica e SA como ligante de competição. Além desses aspectos, através da otimização quimiométrica pôde ser demonstrado que técnicas validadas internacionalmente

podem ser melhoradas através de estudos multivariados onde os fatores são avaliados de maneira simultânea.

O procedimento implantado para a determinação do arsênio inorgânico, arsenito e arsenato, foi baseado no emprego da voltametria de redissolução catódica de onda quadrada através da formação de composto intermetálico do arsênio com cobre e selênio, $Cu_xAs_ySe_z$. Esse procedimento mostrou-se apropriado, com excelente sensibilidade, sem interferências significativas da matriz salina e também da espécie orgânica de arsênio, ácido dimetilarsínico (DMA). Os limites de detecção foram satisfatórios, sendo $0,06 \mu\text{g L}^{-1}$ para As(III) e $0,02 \mu\text{g L}^{-1}$ para As total inorgânico.

A determinação do arsênio total foi realizada através da EAA-FG. Vários estudos foram realizados na implantação dessa técnica, contemplando o uso de modificadores de matriz, programas de aquecimento, volumes de injeção da amostra e uso de diferentes superfícies de atomização (plataforma de *L'vov*, filamento de W e parede do tubo de grafite pirolítico). A condição que forneceu maior sensibilidade foi aquela baseada na utilização de filamento de tungstênio como superfície de atomização, paládio como modificador de matriz, volume de injeção de amostra de $20 \mu\text{L}$, temperaturas de pirólise e atomização em 1400 e $2000 \text{ }^\circ\text{C}$, respectivamente. Além da excelente sensibilidade, o filamento de tungstênio mostrou-se viável devido ao seu baixo custo, apresentando um limite de detecção de $0,73 \mu\text{g L}^{-1}$.

Dessa forma, a especiação envolvendo As pode ser realizada de maneira satisfatória associando-se voltametria e absorção atômica, com sensibilidade e repetibilidade satisfatórias. Além disso, o método desenvolvido dispensa qualquer procedimento de digestão ou extração do arsênio, impedindo desta forma a ocorrência de perdas do analito.

Neste trabalho também foi realizada uma avaliação da especiação geoquímica do cobre e arsênio empregando as técnicas otimizadas previamente, em três regiões com distintos graus de trofia do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá, CEP. Também foi realizada uma caracterização da matéria orgânica

dissolvida empregando espectroscopia de fluorescência molecular nos modos de emissão e sincronizado.

Com base nos resultados obtidos após as campanhas de amostragem de águas superficiais na Ilha do Mel, Guaraqueçaba e Paranaguá foi possível observar que a Ilha do Mel tem maior influência de águas marinhas, pois apresentou níveis mais elevados de salinidade e pH em relação aos outros dois ambientes estudados. Para este ambiente também foi observado que este apresenta características oligotróficas, pois possui níveis baixos de nutrientes dissolvidos (fósforo, nitrogênio e silicato) e concentrações baixas de clorofila-*a*. Sobre Guaraqueçaba, observou-se que se trata de um ambiente eutrofizado com influência de águas doces, apresentando teores elevados de sólidos em suspensão e clorofila-*a*. E para Paranaguá foi observado que este ambiente também apresenta influência de águas doces e pode ser considerado um ambiente eutrofizado, pois apresenta teores elevados de nutrientes dissolvidos e clorofila-*a*.

Sobre o comportamento do cobre nas águas do CEP foi possível observar que esse metal traço sofreu variações sazonais e foi fortemente influenciado pelas diferenças nas características físico-químicas e no grau de trofia das regiões do CEP. Para todas as amostras, o cobre apresentou-se em formas pouco biodisponíveis, devido à associação com o material particulado em suspensão ou pela complexação por ligantes fortes na fração dissolvida. O teor de cobre lábil foi superior para as amostras do ambiente oligotrófico, Ilha do Mel chegando a 10% do CuTR. E valores inferiores de cobre lábil foram encontrados para as amostras dos ambientes eutrofizados, Guaraqueçaba e Paranaguá, representando menos que 5% do CuTR. Tal comportamento pode ser um indicativo de que a presença de fitoplâncton pode gerar excretados contendo sítios complexantes para o cobre, diminuindo assim os teores desse metal na forma lábil.

Avaliando os coeficientes de partição para o cobre observou-se um comportamento decrescente em função dos teores de sólidos suspensos para todos os ambientes. O Log K_D foi maior para as amostras de Guaraqueçaba, o que demonstra que a remoção do cobre a partir da coluna de água por

sedimentação ocorra de forma mais acentuada neste ambiente. Para as amostras da Ilha do Mel e Paranaguá foram encontrados maiores teores de cobre associado a materiais de natureza coloidal, que passam pela membrana de filtração.

Avaliando a distribuição do cobre com a variação da salinidade nos três ambientes do CEP foi possível visualizar uma relação linear da porcentagem de cobre dissolvido em função da salinidade. Tal relação representa uma situação na qual o cobre não sofreu alteração durante o processo de mistura, ou seja, o cobre não precipitou nem se dissolveu durante a mistura de água doce com marinha, sugerindo um comportamento conservativo nas águas do CEP.

Uma outra característica na especiação do cobre nas águas do CEP foi observada neste trabalho. Na medida em que ocorreu um aumento da concentração do metal na fração dissolvida, notou-se uma tendência de sítios de complexação tornarem-se ocupados pelo cobre. Isto demonstra que os ambientes estuarinos do CEP fornecem, de alguma maneira, um material capaz de complexar o cobre, sendo um mecanismo regulador da concentração do metal lábil, ou seja, aquela fração reconhecidamente biodisponível para a biota aquática. Tal aspecto é interessante, pois é possível prever a concentração de metal lábil apenas realizando a determinação do cobre total dissolvido.

Sobre o comportamento do arsênio nas águas do CEP foi observado que este metalóide também sofreu variações sazonais e foi influenciado pelas diferenças nas características físico-químicas dos diferentes ambientes estudados do CEP. De uma maneira geral, o arsênio apresentou baixa afinidade pelo material particulado, o que pode apresentar um maior tempo de residência desse metalóide na coluna de água.

As espécies menos tóxicas do arsênio, As_{Org} , foram encontradas em concentrações maiores nas regiões mais eutrofizadas, Guaraqueçaba e Paranaguá e durante o verão, devido a maior atividade biológica. Dessa forma, foi verificado que a presença de microalgas foi determinante no comportamento do arsênio nas águas do CEP. Pois, devido à similaridade química existente entre o arsenato e os nutrientes (fosfato e nitrato) o arsenato entra no ciclo metabólico das

algas e é biotransformado em formas orgânicas de arsênio que são excretados para o ambiente.

Avaliando os coeficientes de partição do arsênio para as amostras da Ilha do Mel, Guaraqueçaba e Paranaguá, foi encontrado um comportamento decrescente em função dos teores de sólidos suspensos. Os valores de $\text{Log } K_D$ foram maiores para as amostras de Guaraqueçaba, o que indica que o arsênio pode ser mais facilmente removido da coluna de água por sedimentação. Para as amostras da Ilha do Mel e Paranaguá foram encontrados teores mais elevados de arsênio associado a sólidos de natureza coloidal, que passam pela membrana de filtração.

Sobre o comportamento do arsênio em função da variação da salinidade nos três ambientes do CEP foi possível visualizar um comportamento linear da porcentagem de arsênio dissolvido em função da salinidade. Tal comportamento representa uma situação na qual o comportamento do metalóide não sofreu alteração durante o processo de mistura, ou seja, não precipitou nem se dissolveu durante a mistura de água doce com marinha, apresentando um comportamento conservativo do arsênio nas águas do CEP.

Além desses aspectos, observou-se neste trabalho que as amostras de águas superficiais do Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá apresentaram concentrações mais elevadas de arsênio em relação aos resultados descritos na literatura para regiões estuarinas. Tal fato pode estar relacionado com fatores geológicos, sendo que a região do CEP poderia ser rica nesse elemento naturalmente. Porém, observou-se neste trabalho que o ambiente mais impactado por atividades antrópicas, ou seja, Paranaguá apresentou níveis mais elevados de arsênio em relação às amostras de Guaraqueçaba e Ilha do Mel. Tal situação pode ser um indicativo que as atividades antrópicas desenvolvidas na região de Paranaguá contribuem para o enriquecimento do ambiente com este metalóide.

Com base nos resultados obtidos na caracterização da MOD empregando fluorescência molecular nos modos de emissão e sincronizado pode-se concluir que existem diferenças com relação às características da matéria orgânica dissolvida para os ambientes estudados do CEP, devido à presença de diferentes

grupos fluoróforos na MOD. Tal diferença parece estar relacionada com as origens distintas da matéria orgânica dissolvida desses ambientes estudados.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHTERBERG, E. P.; van den BERG, C. M. G. In-line ultraviolet-digestion of natural water samples for trace metal determination using an automated voltammetric system. *Analytica Chimica Acta*, 291:213-232, 1994.
- ACHTERBERG, E. P.; BRAUNGARDT, C. B.; SANDFORD, R. C.; WORSFOLD, P. J. UV digestion of seawater samples prior to the determination of copper using flow injection with chemiluminescence detection. *Analytica Chimica Acta*, 440:27-36, 2001.
- AKMAN, S.; TEKGUL, H.I. The interference effect of more than one anion and cation in graphite furnace atomic absorption spectrometry. Part 2: Effect of sodium, magnesium, sulphate and chloride mixtures on the atomization of manganese. *Spectrochimica Acta Part B*, 54:505-514, 1999.
- ALEIXO, L. M. Voltametria: conceitos e técnicas. *ChemKes*. Disponível em <http://www.chemkeys.com>, março/2003.
- ALONSO, E.; SANTOS, A.; CALLEJÓN, M. JIMÉNEZ, J. C. Speciation as a screening tool for the determination of heavy metal surface water pollution in the Guadiamar river basin. *Chemosphere*, 56:561-570, 2004.
- APTE, S. C.; GARDNER, M. J.; GUNN, A. M.; RAVENSCROFT, J. E.; VALE J. Trace metals in the Severn estuary: a reappraisal. *Marine Pollution Bulletin*, 21:393-396, 1990.
- BAIRD, C. *Química Ambiental*. 2ª edição, Editora Bookman, Porto Alegre, 2002.
- BARRA, C. M.; SANTELLI, R. E.; ABRÃO, J. J.; LA GUARDIA, M. Especificação de arsênio – uma revisão. *Química Nova*, 23:58-70, 2000.
- BAUER, M.; BLODAU, C. Mobilization of arsenic by dissolved organic matter from iron oxides, soils and sediments. *Science of The Total Environment*, 354:179-190, 2006.
- BENNER, R.; PAKULSKI, J. D.; MCCARTHY, M.; HEDGES, J. J.; HATCHER, P. G. Bulk chemical characteristics of dissolved organic matter in the ocean. *Science*, 255:1561-1564, 1992.
- BENOIT, G.; OKTAY-MARSHALL, S. D.; CANTU II, A.; HOOD, E. M.; COLEMAN, C. H.; CORAPCIOGLU, M. O.; SANTSCHI, P. H. Partitioning of Cu, Pb, Ag, Zn, Fe, Al and Mn between filter-retained particles, colloids, and solution in six Texas estuaries. *Marine Chemistry*, 45:307-336, 1994.
- BENOIT, G.; ROZAN, T. F. The influence of size distribution on the particle concentration effect and trace metal partitioning in rivers. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 63:113-127, 1999.
- BETTENCOURT, A. Especificação e biogeoquímica do arsênio no Estuário do Tejo. Tese de doutoramento em Ciências do Ambiente na Universidade de Évora, Évora, 2001.

- BISSEN, M.; FRIMMEL, F. H. Arsenic – a review: Part I. Occurrences, toxicity, speciation, mobility. *Acta Hydrochimica at Hydrobiologica*, 31:9-18, 2003.
- BOTELHO, C. M. S.; BOAVENTURA, R. A. R.; GONÇALVES, M. D. S. S. Copper complexation with soluble and surface freshwaters ligands. *Electroanalysis*, 14:1713-1721, 2001.
- BOTT, A. W. Voltammetric determination of trace concentrations of metals in the environmental. *Current Separations*, 14(1):24-30, 1995.
- BOZSAI, G. Determination of arsenic, cadmium, lead and selenium in highly mineralized waters by graphite-furnace atomic-absorption spectrometry. *Talanta*, 37:545-553, 1990.
- BROWN, P. L.; MARKICH, S. J. Evaluation of the free ion activity model of metal-organism interaction: extension of the conceptual model. *Aquatic Toxicology*, 51:177-194, 2000.
- BRULAND, K. W.; LAO, K. A.; DONAT, J. R. Speciation of dissolved copper and nickel in South San Francisco Bay: a multi-method approach. *Analytica Chimica Acta*, 284:547-571, 1994.
- BRULAND, K. W.; RUE, E. L.; DONAT, J. R.; SKRABAL, S. A.; MOFFET, J. W. Intercomparison of Voltammetric techniques to determine the chemical speciation of dissolved copper in a coastal seawater sample. *Analytica Chimica Acta*, 405:99-113, 2000.
- BRULAND, K. W.; DONAT, J. R.; HUTCHINS, D. A. Interactive influences of bioactive trace metals on biological production in oceanic waters. *Limnology and Oceanography*, 36:1555-1577, 1991.
- BRUNS, R. E.; NETO, B. B.; SCARMÍNIO, I. S. *Planejamento e Otimização de Experimentos*, 2ª ed.; Campinas, 1996.
- CABANISS, S. E.; SHUMAN, M. S. Copper binding by dissolved organic matter: I. Suwannee River fulvic acid equilibria. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 52:185-193, 1988.
- CABELO-GARCÍA, A.; PREGO, R. Land inputs, behaviour and contamination levels of copper in a ria estuary (N. W. Spain). *Marine Environmental Research*, 56:403-422, 2003.
- CABON, J. Y. Effects of various salts on the determination of arsenic by graphite furnace atomic absorption spectrometry. Direct determination in seawater. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 367:714-721, 2000.
- CAMARGO, R. Estudo numérico das circulações atmosféricas e oceânica na região da Baía de Paranaguá. Relatório da tese de doutoramento – Instituto Astronômico e Geofísico / USP, 1998.
- CAMPOS, M. L. A. M.; van den BERG, C. M. G. Determination of copper complexation in sea water by cathodic stripping voltammetry and ligand competition with salicylaldoxime. *Analytica Chimica Acta*, 284:481-496, 1994.

- CAMPOS, M. L. A. M.; MELLO, L. C.; ZANETTE, D. R.; SIERRA, M. M. S.; BENDO, A. 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, 2001.
- 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, 2002.
- CAMPOS, M. L. A. M.; JARDIM, W. F. Aspectos relevantes da biogeoquímica da hidrosfera. *Química Nova na Escola. Cadernos Temáticos*, 5:18-27, 2003.
- CAO, J.; LAM, K. C.; DAWSON, R. W.; LIU, W. X.; TAO, S. The effect of pH, ion strength and reactant content on the complexation of Cu²⁺ by various natural organic ligands from water and soil in Hong Kong. *Chemosphere*, 54:507-514, 2004.
- CARMOUZE, J. P. *O metabolismo dos ecossistemas aquáticos: fundamentos teóricos, métodos de estudo e análises químicas*. Editora Edgard Blücher, FAPESP, 1994. 253 p.
- CARVALHO, L. M.; NASCIMENTO, P. C.; BOHRER, D. Especiação analítica de compostos de arsênio empregando métodos voltamétricos e polarográficos: uma revisão comparativa de suas principais vantagens e aplicações. *Química Nova*, 27:261-269, 2004.
- CAVICCHIOLI, A.; GUTZ, I. G. R. Effect of scavengers on the photocatalytic digestion of organic matter in water samples assisted by TiO₂ in suspensions for the voltammetric determination of heavy metal. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 13:441-448, 2002.
- CHAKRABARTI, C. L.; LU, Y.; CHENG, J.; BACK, M. H.; SCHROEDER, W. H. Studies on metal speciation in the natural environment. *Analytica Chimica Acta*, 276:47-64, 1993.
- CHEN, J.; GU, B.; LeBOEUF, E. J.; PAN, H.; DAI, S. Spectroscopic characterization of the structural and functional properties of natural organic matter fractions. *Chemosphere*, 48:59-68, 2002.
- CHEN, J.; LeBOEUF, E. J.; DAI, S.; Gu, B. Fluorescence spectroscopic studies of natural organic matter fractions. *Chemosphere*, 50:639-647, 2003.
- CHIFFOLEAU, J. F.; COSSA, D.; AUGER, D.; TRUQUET, I. Trace metal distribution, partition and fluxes in the Seine estuary (France) in low discharge. *Marine Chemistry*, 47:145-158, 1994.
- CHURCH, T. M.; SCUDLARK, J. R. *Trace metals in estuaries: a Delaware Bay synthesis. Metals in surgace waters*. Editora Ann Arbor Press, Estados Unidos da América, 1998.

- CHWASTOWSKA, J.; STERLINSKA, E.; ZMIJEWSKA, W.; DUDEK, J. Application of a chelating resin loaded with thionalide to speciation analysis of As(III, V) in natural-water. *Chemia Analytyczna*, 41:45-53, 1996.
- CLOERN, J. E. Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. *Marine Ecology Progress Series*, 210:223-253, 2001.
- COALE, K. H.; BRULAND, K. W. Copper complexation in the Northeast Pacific. *Limnology and Oceanography*, 33:1084-1101, 1988.
- COBLE, P. G.; SCHULTZ, C. A.; MOPPER K. Fluorescence counting analysis of DOC intercalibration experiment samples: A comparison of techniques. *Marine Chemistry*, 41:173-178, 1993.
- CONAMA. Resolução nº. 357 de 17 de março de 2005. Ministério do Meio Ambiente, Conselho Nacional do Meio Ambiente [<https://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>], 2005.
- COSTA FILHO, P.A.; POPPI, R. J. Algoritmo genético em química. *Química Nova*, 22:405-411, 1999.
- CULLEN, W. R. & REIMER, K. J. Arsenic speciation in the environmental. *Chemical Reviews*, 89:713-764, 1989.
- DAKUZAKU, C. S.; FRESCHI, G. P. G.; DE MORAES, M.; GOMES NETO, J. A. Influência de nitrato de paládio, nitrato de magnésio e nitrato de níquel no comportamento térmico de arsênio em açúcares por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. *Eclética Química*, 26:143-155, 2001.
- DAY, J. W.; HALL, C. A. S.; KEMP, W. M.; YAÑEZ-ARANCIBIAS, A. *Estuarine Ecology*. John Wiley & Sons, inc. New York, 1989. 558p.
- DEAN, J. A. *Analytical Chemistry Handbook*, Ed. Mc Graw-Hill, New York, 1995.
- DONARD, O. F. X.; LAMOTTE, M.; BELIN, C.; EDWALD, M. High-sensitivity fluorescence spectroscopy of Mediterranean waters using a conventional or a pulsed laser excitation source. *Marine Chemistry*, 27:117-136, 1989.
- DONAT, J. R.; van den BERG, C. M. G. A new cathodic stripping Voltammetric method for determination organic copper complexation in sea water. *Marine Chemistry*, 38:69-90, 1992.
- DONAT, J. R.; LAO, K. A.; BRULAND, K. W. Speciation of dissolved copper and nickel in South San Francisco Bay: a multi-method approach. *Analytica. Chimica Acta*. 284:547-571, 1994.
- DONAT, J. R. The speciation of dissolved copper and cadmium in the Cheseapeake Bay. American Chemical Society Division of Geochemistry - ACS National Meeting, Anaheim, 1995.

- EGREJA FILHO, F. B.; REIS, E. L.; JORDÃO, C. P.; PEREIRA NETO, J. T. Avaliação quimiométrica da distribuição de metais pesados em composto de lixo urbano domiciliar. *Química Nova*, 22:324-328, 1999.
- EIRAS, S. P.; COSCIONE, A. R.; ANDRADE, J. C.; CUSTODIO, R. Planejamento experimental e otimização. Disponível em <http://www.chemkeys.com>, 1999.
- ELBAZ-POULICHET, F.; GARNIER, J. M.; GUAN, D. M.; MARTIN, J. M.; THOMAS, A. J. The conservative behaviour of trace metals (Cd, Cu, Ni and Pb) and As in the surface plume of stratified estuaries: example of the Rhône river (France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 42:289-310, 1996.
- ELTON, R. K.; GEIGER JUNIOR, W. E. Analytical and mechanistic studies of the electrochemical reduction of biologically active organoarsenic acids. *Analytical Chemistry*, 50:715-717, 1978.
- FAVARO, L. F. A Ictiofauna de áreas rasas do complexo estuarino Baía de Paranaguá, Paraná. Tese de doutoramento. Universidade Federal de São Carlos, São Paulo. Brasil, 2004. 80p.
- FEENEY, R.; KOUNAVES, S. P. Voltammetric measurement of arsenic in natural waters. *Talanta*, 58:23-31, 2002.
- FERNANDES, L. D. F. Transporte de poluentes em estuários. Trabalho final de curso de Licenciatura em Engenharia do Ambiente. Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, Portugal, 2001.
- FERREIRA, M. A.; BARROS, A. A. Determination of As (III) and arsenic (V) in natural waters by cathodic stripping Voltammetry at a hanging mercury drop electrode. *Analytica Chimica Acta*, 459:151-159, 2002.
- FLORENCE, T. M. The speciation of trace elements in waters. *Talanta*, 29:345-364, 1982.
- FRANÇOISE, E. O.; GARNIER, J. M.; GUAN, D. M.; MARTIN, M. J.; THOMAS, A. J. The conservative behavior of trace metal (Cd, Cu, Ni and Pb) and As in surface plume of stratified estuaries: example of the Rhone River (France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 42:289-310, 1996.
- FRIMMEL, F. H. Characterization of natural organic matter as major constituents in aquatic systems. *Journal of Contaminant Hydrology*, 35:201-216, 1998.
- GERRINGA, L. J. A.; HUMMEL, H.; MOERDIJK-POORTVLIET, T. W. Relations between free copper and salinity, dissolved and particulate organic carbon in the Oosterschelde and Westerschelde, Netherlands. *Journal of Sea Research*, 40:193-203, 1998.
- GIBBS, R. J. Mechanisms controlling world water chemistry. *Nature*, 170:1088-1091, 1970.
- GIBBS, R. J. Mechanisms of trace metal transport in rivers. *Science*, 180:71-75, 1973.

- GONZÁLES, E. B.; CALZADA, A. T.; RODRÍGUES, E. A.; MAHÍA, P. L.; LORENZO, S. M.; RODRÍGUES, D. P. Interaction between metallic species and biological substrates: approximation to possible interaction mechanisms between the alga *Chorella vulgaris* and arsenic(III). *Trends in analytical chemistry*, 19:475-480, 2000.
- GOYER, R. A. Toxic effects of metals. In. Klaassen, C.D. (Coord.). *Casarett and Doull's toxicology: The basic science of poisons*. 5 ed. New York, McGraw-Hill, p.691-736, 1996.
- GRAFE, M.; EICK, M. J.; GROSS, P. R. Adsorption of arsenate(V) and arsenite on goethite in the presence and absence of dissolved organic carbon. *Soil Science Society of America Journal*, 65:1680-1687, 2001.
- GRAFE, M.; EICK, M. J.; GROSS, P. R.; SAUNDERS, A. M. Adsorption of arsenate(V) and arsenite on ferrihydrite in the presence and absence of dissolved organic carbon. *Journal of Environmental Quality*, 31:1115-1123, 2002.
- GRAHAM, L. E.; WILCOX, L. M. *Algae*, Prentice-Hall, Inc., New Jersey, USA, 2000.
- GRASSHOFF, K.; EHRHARDT M.; KREMLING E. *Methods of Seawater Analysis*, Verlag Chemie, Weinheim, Segunda Edição, 1983. 419 p.
- GRASSI, M. T.; SHI, B.; ALLEN, H. E. Partition of copper between dissolved and particulate phases using aluminum oxide as an aquatic model phase: Effects of pH, solids and organic matter. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 11(5):516-524, 2000.
- GRASSI, M. T. As águas do Planeta Terra, *Química Nova na Escola*. Caderno Temático 4:31-40, 2001.
- HAN, N.; THOMPSON, M. L. Copper-binding of dissolved organic matter derived from anaerobically digested biosolids. *Journal of Environmental Quality*, 28:939-945, 1999.
- HARRIS, D. C. *Análise Química Quantitativa*, 5ª Edição, LTC- Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 2001
- HE, Y.; ZHENG, Y.; ROMNARAINÉ, M.; LOCKE, D. C. Differential pulse cathodic stripping voltammetric speciation of trace level inorganic arsenic compounds in natural water samples. *Analytica Chimica Acta*, 511:55-61, 2004.
- HELLWEGER, F. L.; FARLEY, K. J.; LALL, U.; DI TORO, D. M. Greedy algae reduce arsenate. *Limnology and Oceanography*, 48:2275-2288, 2003.
- HOSSIN, M. F. Arsenic contamination in Bangladesh – An overview. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 113:1-16, 2006.
- HOVORKA, J.; MARSHALL, G. B. Determination of As, Cd and Pb in epicuticular waxes of pine and spruce needles by ETAAAS. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 358:635-640, 1997.

- HOWARD, A. G.; ARAB-ZANAR, M. H.; APTE, S. C. The behaviour of dissolved arsenic in the estuary of the river Beaulieu. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 19:493-504, 1984.
- HOWARD, A. G.; COMBER, S. D. W.; KIFLE, D.; ANTAI, E. E.; PURDIE, D. A. Arsenic speciation and seasonal changes in nutrient availability and micro-plankton abundance in Southampton Water, U. K. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 40:435-450, 1995.
- HOWARD, A. G.; APTE, S. C.; COMBER, S. D. W.; MORRIS, R. J. Biogeochemical control of the summer distribution and speciation of arsenic in the Tamar Estuary, Estuarine. *Coastal and Shelf Science*, 27:427-443, 1998.
- HSIANG, M. C.; SUNG, V.H.; HUANG, S. D. Direct and simultaneous determination of arsenic, manganese, cobalt and nickel in urine with a multielement graphite furnace atomic absorption spectrometer. *Talanta*, 62:791-799, 2004.
- HUANG, H.; DASGUPTA, P. K. A field-deployable instrument for the measurement and speciation of arsenic in potable water. *Analytica Chimica Acta*, 380:27-37, 1999.
- HUDSON, R. J. M. Which aqueous species control the rates of trace metal uptake by aquatic biota? Observations and predictions of non-equilibrium effects. *Science Total Environmental*, 32:3882:3892, 1998.
- IAP. Instituto Ambiental do Paraná. [<http://www.pr.gov.br/meioambiente/iap/index.shtml>]. Acessado em agosto de 2006.
- ISHIWATARI, R. Macromolecular material (humic substances) in the water column and sediments. *Marine Chemistry*, 39:151-166, 1992.
- JAIN, C. K.; ALLI, J. Arsenic: occurrence, toxicity and speciation techniques. *Water Research*, 34:4304-4312, 2000.
- KAISER, K., GUGGENBERGER, G.; ZECH, W. Dissolved organic matter sorption on subsoils and mineral studied by ¹³C-NMR and DRIFT spectroscopy. *European Journal of Soil Science*, 48:301-310, 1997.
- KENNISH, M. J. *Ecology of estuaries. Physical and chemical aspects*. Volume 1, 1986. 254p.
- KITTS, H. J.; MILLWARD, G. E.; MORRIS, A. W.; EBDON, L. Arsenic biogeochemistry in the Humber Estuary, UK. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 39:157-172, 1994.
- KJERFVE, B. *Manual investigation of hydrological processes in mangrove ecosystems*. UNESCO/UNDP, Columbia, 1990, 79p.
- KNOPPERS, B. A.; BRANDINI, F. P; THAMM, C. A. Ecological studies in the bay of Paranaguá. II, Some physical and chemical characteristics. *Nerítica*, 2:1-36, 1987.

- KOGUT, M. B.; VOELKER, B. M. Strong copper-binding behavior of terrestrial humic substances in seawater. *Environmental Science & Technology*, 35:1149-1156, 2001.
- KOLM, H. E.; SCHOENEMBERGER, M. F.; PIEMONTE, M. R.; SOUZA, P. S. A.; SCHNELL, G.; MUCCIATTO, M. B; MAZZUCO, R. Spatial variation of bacteria in surface waters of Paranaguá and Antonina Bays, Paraná, Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 45:22-34, 2002.
- KORECKOWA, J.; FRECH, W.; LUNDBERG, E.; PERSON, J. A.; CEDERGEN, A. Investigations of reactions involved in electrothermal atomic absorption procedures: Part 10. Factors Influencing the Determination of Arsenic. *Analytica Chimica Acta*, 130:267-280, 1981.
- KÖSTER, W.; van LEEUWEN, H. P. Physicochemical kinetics and transport at the biointerface: setting the stage. Em *Physicochemical kinetics and transport at biointerfaces*; van Leeuwen, H. P.; Köster, W., Eds; vol. 9, IUPAC Series on Analytical and Physical Chemistry of Environmental Systems; Buffle, J., van Leeuwen, H. P., Series Eds.: Wiley: Chichester, 2004. pp 147.
- KRISTEN K. Arsenic in old herbicides comes back to Haunt Denver. *Environmental Science and Technology*, 34: 376-379, 2000.
- KUBOTA, L. T.; PEREIRA, A. C. Otimização da preparação de eletrodo de pasta de carbono contendo riboflavina imobilizada em suporte inorgânico. *Química Nova*, 27:725-729, 2004.
- LAMOUR, M. R.; SOARES, C. R.; CARRILHO, J. C. Mapas de parâmetros texturais de sedimentos de fundo do Complexo Estuarino de Paranaguá-PR. *Boletim Paranaense de Geociências*, 55:77-82, 2004.
- LANA, P. C. Macrofauna bêntica de fundos sublitorais não consolidados da Baía de Paranaguá (Paraná). *Nerítica*, 1:79-89, 1986.
- LANA, P. C.; MARONE, E.; LOPES, R. M.; MACHADO, E. C. The subtropical estuarine complex Paranaguá Bay, Brazil. *Ecological Studies, Coastal Marine Ecosystems of Latin América*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 144:131-145, 2001.
- LE, S. X. C.; CULLEN, W. R.; REIMER, K. J. Speciation of arsenic compounds in some marine organisms. *Environmental Science & Techhnology*, 28:1598-164, 1994.
- LOMBARDI, A. T. Caracterização fluorimétrica da matéria orgânica de origem natural e sua complexação com íons cobre. Tese de doutoramento. Departamento de Química Analítica, Universidade Estadual de Campinas, SP, Brasil, 1995. 130p.
- LODER, T. C.; REICHARD, R. P. The dynamics of conservative mixing in estuaries. *Estuaries*, 4:64-69, 1981.

- LU, Y; ALLEN, H. E. Partitioning of copper onto suspended particulate matter in river waters. *Science of The Total Environment*, 277: 119-132, 2001.
- MANSILLA-RIVERA, I.; NRIAGU, J. O. Copper complexation and toxicity to phytoplankton in the Huron River, a Lake Erie tributary. *Journal of Great Lakes Research Contents*, 29:105-115, 2003.
- MARTINS, R. V.; PARAQUETTI, H. H. M.; AYRS, G. Alternativa analítica para especiação físico-química de mercúrio em águas costeiras tropicais. *Química Nova*, 25:372-378, 2002.
- MELAMED, D. Monitoring arsenic in the environment: a review of science and technologies for field measurements and sensors. *U.S. Environmental Protection Agency Washington, U.S.EPA*, 2004.
- MEYLAN, S.; BEHRA, R.; SIGG, L. Accumulation of copper and zinc in periphyton in response to dynamic variations of metal speciation in freshwater. *Environmental Science & Technology*, 37:5204-5212, 2003.
- MEYLAN, S.; ODZADK, N.; BEHRA, R.; SIGG, L. Speciation of copper and zinc in natural freshwater: comparison of voltammetric measurements, diffusive gradients in thin films (DGT) and chemical equilibrium models. *Analytica Chimica Acta*, 510:91-100, 2004.
- MILLWARD, G. E.; KITTS, H. J.; COMBER, S. D. W.; EBDON, L.; HOWARD. Methylated arsenic in the Southern North Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 43:1-18, 1996.
- MILLWARD, G. E.; KITTS, H. J.; EBDON, L.; ALLEN, J. I.; MORRIS, A. W. Arsenic in the Thames Plume, UK. *Marine Environmental Research*, 44:51-67, 1997.
- MIRANDA, L. B.; CASTRO, B. M.; KJERFVE, B. *Princípios de Oceanografia Física de Estuários*. Editora da Universidade de São Paulo, SP, 2002. 417p.
- MOFFETT, J. W.; BRULAND, L. E.; CROOT, P. L.; BARBEAU, K. A. Cu speciation and cyanobacterial distribution in harbors subject to anthropogenic Cu inputs. *Limnology and Oceanography*, 45:789-799, 1997.
- MOLISANI, M. M. Caracterização das condições físico-químicas dos estuários do Estado do Ceará. Relatório do Governo do Estado do Ceará, 2005.
- MONTAVANELLI, A. Caracterização da dinâmica hídrica e do material particulado em suspensão na Baía de Paranaguá e em sua bacia de drenagem. Dissertação de Mestrado. Departamento de Geologia, Universidade Federal do Paraná - UFPR, PR, Brasil, 1999. 150p
- MOPPER K.; SCHULTZ, C. A. Fluorescence as a possible tool for studying the nature and water column distribution of DOC components. *Marine Chemistry*, 41:229-238, 1993.

- MORITA, M.; EDMONDS, J. S. Determination of arsenic species in environmental and biological sample. *IUPAC, Pure and Applied Chemistry*, 64: 575-590, 1992.
- MOZETO, A. A.; JARDIM, W. F. A Química Ambiental no Brasil. *Química Nova*, 25 (supl I):7-11, 2002.
- MULLER, F. L. L. Interactions of copper, lead and cadmium with the dissolved, colloidal and particulate components of estuarine and coastal waters. *Marine Chemistry*, 52:245-268, 1996.
- MULLER, F. L. L.; GULIN, S. B.; KALVOY, A. Chemical speciation of copper and zinc in surface waters of the western Black Sea. *Marine Chemistry*, 76:233-251, 2001.
- MYLON, S. E.; BENOIT, G.; TWINING, B. S.; FISHER, N. S. Relating the speciation of Cd, Cu and Pb in two Connecticut Rivers with their uptake in algae. *Environmental Science and Technology*, 37:1261-1267, 2003.
- NELSON, Y. M.; LION, L. W.; GHIORSE, W. C.; SHULER, M. L. Production of biogenic Mn oxides by *Leptothrix discophora* S-1 in a chemically defined growth medium and evaluation of their Pb adsorption characteristics. *Applied and Environmental Microbiology*, 65:175-180, 1999.
- NI, Z.; RAO, Z.; LI, M. Minimization of phosphate in the direct determination of arsenic in urine by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 334:177-182, 1996.
- NICHOLS, M. M. Effects of fine sediment resuspension in estuaries - Lectures notes on coastal and estuarine studies. Estuarine Cohesive sediment transport. A. J. Mehta (ed.), *Springer-Verlag*, 14:5-42, 1986.
- NIEDZIELSKI, P.; SIEPAK, M.; SIEPAK, J. Comparison of modifiers for determination of arsenic, antimony and selenium by atomic absorption spectrometry with atomization in graphite tube or hydride generation and in-situ preconcentration in graphite tube. *Microchemical Journal*, 72:137-145, 2002.
- NIEKE, B.; REUTER, R.; HEUERMAN, R.; WANG, H.; BABIN, M.; THERRIault, J. C. Light absorption and fluorescence properties of chromophoric dissolved organic matter (CDOM), in the St. Lawrence Estuary (Case 2 waters). *Continental Shelf Research*, 17:235-252, 1997.
- NIMAD, Interações entre os processos produtivos, meio ambiente e qualidade de vida na região da baía de Paranaguá e região metropolitana de Curitiba – geração de propostas de desenvolvimento. *NIMAD, Núcleo Interdisciplinar de Meio Ambiente e Desenvolvimento – UFPR*, 1994.
- NRCC. Effects of arsenic in the Canadian Environment. *National Research Council of Canada Associate Committee on Scientific Criteria for Environmental Quality*, 1978.

- NRIAGU, J. O. A global assessment of natural sources of atmospheric trace metals. *Nature*, 338:47-49, 1989.
- OLIVEIRA, P. V.; CATANHO, M.; NÓBREGA, J. A.; LUCCAS, P. O. Avaliação de programas de aquecimento para espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em filamento de tungstênio. *Química Nova*, 23:706-708, 2000.
- OMANOVIC, D.; PIZETA, I.; PEHAREC, Z.; BRANICA, M. Voltammetric determination of the metal complexing capacity in model solutions. *Marine Chemistry*, 53:121-129, 1996.
- PARLANTI, E.; WORZI, K.; GEOFFROY, L.; LAMOTTE, M. Dissolved organic matter fluorescence spectroscopy as a tool to estimate biological activity in a coastal zone submitted to anthropogenic inputs. *Organic Geochemistry*, 31:1765-1781, 2000.
- PEREIRA-FILHO, E. R. Análise de suspensões de materiais biológicos por espectrometria de absorção atômica: novas alternativas em atomização empregando análise quimiométrica. Tese de doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, SP, Brasil, 2003.
- PEREIRA-FILHO, J.; SPILLERE, L. C.; SCHETTINI, C. A. F. Dinâmica de nutrientes na região portuária do Estuário do Rio Itajaí-Açu, SC. *Atlântica, Rio Grande*, 25:11-20, 2003.
- PETERS, S. C.; BLUM, J. D.; KLAUE, B.; KARAGAS, M. R. Arsenic occurrence in New Hampshire drinking water. *Environmental Science & Technology*, 33:1328-1333, 1999.
- PEURAVUORI, J.; KOIVIKKO, R.; PIHLAJA, K. Characterization, differentiation and classification of aquatic humic matter separated with different sorbents: synchronous scanning fluorescence spectroscopy. *Water Research*, 36:4552-4562, 2002.
- PRESTES, E. C.; ANJOS, V. E.; SODRÉ, F. F.; GRASSI, T. M. Copper, lead and cadmium loads and behavior in urban stormwater runoff in Curitiba, Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 17:53-60, 2006.
- PRITCHARD, D. W. What is an estuary: a physical viewpoint, in Lauff, G. H. Ed. *Estuaries, American Association for the Advancement of Science, Washington, Publication*, 83:3-5, 1967.
- QUINÁIA, S. P.; ROLLEMBERG, M. C. E. Selective reduction of arsenic species by hydride generation – atomic absorption spectrometry. Part 2, sample, storage and arsenic determination in natural waters. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 12:37-41, 2001.
- REPETA, D. J.; QUAN, T. M.; ALUWIHARE, L. I.; ACCARDIM A. Chemical characterization of high molecular weight dissolved organic matter in fresh and marine waters. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 66:55-962, 2002.

- RIBAS, T. M. Implementação de modelo numérico para estudo hidrodinâmico das Baías de Antonina e de Paranaguá – PR. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná - UFPR, PR. Brasil, 2004.
- RINGMAN, S.; BOCK, K.; MARQUARAT, W.; SCHUSTER, M.; SCHLEMMER, G.; KAINRATH, P. Microwave-assisted digestion of organoarsenic compounds for the determination of total arsenic in aqueous, biological, and sediment samples using flow injection hydride generation electrothermal atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 452:207-215, 2002.
- ROCHA, J. C.; ROSA, A. H. *Substâncias húmicas aquáticas: interação com espécies metálicas*. Editora Unesp, São Paulo, 2003. 120p.
- ROZAN, T. F.; BENOIT, G. Geochemical factors controlling free Cu concentrations in river water. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 63:3311-3319, 1999.
- RUZIC, I. Theoretical aspects of the direct titration of natural waters and its information yield for trace metal speciation. *Analytica Chimica Acta*, 140:99-113, 1982.
- SÁ, F. Distribuição e fracionamento de contaminantes nos sedimentos superficiais e atividades de dragagem no Complexo Estuarino da Baía de Paranaguá. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, PR, Brasil, 2003, 92p.
- SADIQ, M., Arsenic chemistry in marine environments: a comparison between theoretical and field observations. *Marine Chemistry*, 31:285-297, 1990.
- SANCHES-RODAS, D.; GÓMEZ-RIZA, L. G.; GIRÁLDEL, I.; VALASCO, A.; MORALES, E. Arsenic speciation in river and estuarine waters from southwest Spain. *Science of the total environment*, 345:207-217, 2005.
- SANDERS, J. G. Arsenic cycling in marine systems. *Marine Environmental Research*, 3:257-266, 1980.
- SANDERS, J. G. Arsenic geochemistry in Chesapeake Bay: Dependence upon anthropogenic inputs and phytoplankton species composition. *Marine Chemistry*, 17:329-340, 1985.
- SCARPONI, G.; CAPODAGLIO, G.; BARBANTE, C.; CESCONE, P. *The anodic stripping voltammetric titration procedure for study of trace metal complexation in seawater*. Element Speciation in Bioinorganic Chemistry, Chemical Analysis Series, Ed. John Wiley & Sons, Inc. vol.135, 1996.
- SCHEFFER, E. W.; SODRÉ, F. F.; GRASSI, M. T. Fatores que governam a especiação do cobre em ambientes aquáticos urbanos: evidências da contribuição de sulfetos solúveis. *Química Nova*, 2006.

- SCHRAMMEL, P.; HASSE, S. Destruction of organic materials by pressurized microwave digestion. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 346:794-799, 1993.
- SEN GUPTA, J. G.; BOUVIER, J. L., Direct determination of traces of Ag, Cd, Pb, Bi, Cr, Mn, Co, Ni, Li, Be, Cu and Sb in environmental waters and geological materials by simultaneous multi-element graphite furnace atomic absorption spectrometry with Zeeman-effect background correction. *Talanta*, 42:269-281, 1995.
- SEYLER, P.; MARTIN, J. M. Distribution of arsenite and total dissolved arsenic in major French estuaries: dependence on biogeochemical processes and anthropogenic inputs. *Marine Chemistry*, 29:277-294, 1990.
- SHANK, G. C.; SKRABAL, S. A.; WHITEHEAD, R. F.; KIEBER, R. J. Strong copper complexation in an organic rich estuary: the importance of allochthonous dissolved organic matter. *Marine Chemistry*, 88:21-39, 2004.
- SHI, B.; ALLEN, H.; GRASSI, M. T.; MA, H. Modeling copper partitioning in surface waters. *Water Research*, 32:3756-3764, 1998.
- SHUMILIN, E.; PÁEZ-OSUANA, F.; RUIZ-GREEN, C.; SAPOZHNIKOV, D.; RODRÍGUEZ-MEZA, G. D.; GODÍNEZ-ORTA, L. Arsenic, antimony, selenium and other trace elements in sediments of the La Paz Lagoon, Peninsula of Baja, California, México. *Marine Pollution Bulletin*, 42:174-178, 2001.
- SIGG, L. Partitioning of metals to suspended particles. In: Allen, H.; Garrison, A. W.; Luther III, G. W. (Ed), *Metals in surface waters*. Ann Arbor Press, Chelsea, p211-239, 1998.
- SIMON, S.; LOBOS, G.; PANNIER, F.; DE GREGORI, I.; PINOCHET, H.; POTIN-GAUTIER, M. Speciation analysis of organoarsenical compounds in biological matrices by coupling ion chromatography to atomic fluorescent spectrometry with on-line photooxidation and hydride generation. *Analytica Chimica Acta*, 521:99-108, 2004.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. *Princípios de Análise Instrumental*, 5ª Edição, Bookman, Porto Alegre, 2002.
- SMEDLEY, P. L.; KINNIBURG, D. A review of the source, behavior and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry*, 17:517-568, 2002.
- SMITH, A. H.; LINGAS, E. O. & RAHMAN, M. Contamination of drinking-water by arsenic in Bangladesh: a public health emergency. *Bulletin of the World Health Organization*, 78:1093-1103, 2000.
- SOARES, C. R.; BARCELOS, J. H. Considerações sobre os sedimentos de fundo das baías de Laranjeiras e de Guaraqueçaba, Complexo estuarino da Baía de Paranaguá (Paraná, Brasil). *Boletim Paranaense de Geociências*, 43:41-60, 1995.

- SODRÉ, F. F.; ZAMORA-PERALTA, P. G.; GRASSI, M. T. Digestão fotoquímica, assistida por microondas, de águas naturais: aplicação em estudos de partição e especiação do cobre. *Química Nova*, 27:695-700, 2004.
- SODRÉ, F. F. Especiação de cobre em águas naturais: influência de fatores associados à urbanização. Tese de doutoramento. Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná - UFPR, PR, Brasil, 2005.
- SODRÉ, F. F.; ANJOS, V. E.; PRESTES, E. C.; GRASSI, M. T. Identification of copper sources in urban surface waters using principal component analysis base on aquatic parameters. *Journal Environmental Monitoring*, 7:581-585, 2005.
- SORAIA, F. L.; CHAVARNA, J. M. *Técnicas de defesa de meio ambiente*. Editora Labor SA, Barcelona, p.837-851, 1978.
- SPERLING, M.; YIN, X.; WELS, B. Differential determination of arsenic (III) and total arsenic using flow injection on-line separation and pre-concentration for graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta*, 46:1789-1801, 1991.
- STRICKLAND, J. L. H.; PARSONS, T. R. A Practical Handbook of Seawater Analysis. *Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada*, 1972. 167 p.
- STUMM, W.; MORGAN, J. J. *Aquatic chemistry – chemical equilibria and rates in natural waters*. 3 ed., John Wiley & Sons, Nova Iorque, 1996.
- STYRIS, D. L.; PRELL, L. J.; REDFIELD, D. A. Mechanisms of palladium – induced stabilization of arsenic in electrothermal atomization atomic absorption spectroscopy. *Analytical Chemistry*, 63:503-507, 1991.
- SUNDA, W. G.; GUILHARD, R. R. L. The relationship between cupric ion activity and the toxicity of copper to phytoplankton. *Journal of Marine Research*, 34:511-521, 1976.
- TEMPLETON, D. M.; ARIESE, F.; CORNELIS, R.; DANIELSSON, L. G.; MUNTAU, H.; van LEEUWEN, H. P.; LOBINSKI, R. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches (IUPAC recommendations 2000). *IUPAC, Pure and Applied Chemistry*, 72:1453-1470, 2000.
- TEÓFILO, R. F.; REIS, E. L.; REIS, C.; SILVA, G. A.; KUBOTA, L. T. Experimental design employed to square wave voltammetry response optimization for the glyphosate determination. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 15:865-871, 2004.

- TONIETTO, A. E. Especificação química de cobre e zinco nas águas do Reservatório do Irai: efeitos da matéria orgânica e interação com microalgas. Dissertação de mestrado. Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná - UFPR, PR, Brasil, 2006.
- TWISS, M. R.; ERRÉCALDE, O.; FORTIN, C.; CAMPBELL, P. G. C.; JUMARIE, C.; DENIZEAU, F.; BERKELAAR, E.; HALE, B.; van REES, K. Guidelines for studies of metal bioavailability and toxicity – why metal speciation should be considered and how! *Canadian Network of Toxicology Centres (CNTC). Metal Speciation Theme Team, 2000.*
- TWISS, M. R.; ERRÉCALDE, O.; FORTIN, C.; CAMPBELL, P. G. C.; JUMARIE, C.; DENIZEAU, F.; BERKELAAR, E.; HALE, B.; van REES, K. Coupling the use of computer chemical speciation models and culture techniques in laboratory investigations of trace metal toxicity. *Chemical Speciation and Bioavailability*, 13:9-24, 2001.
- TWISS, M.; MOFFET, J. W. Comparison of copper speciation in coastal marine waters measured using analytical voltammetry and diffusion gradient in thin-film techniques. *Environmental Science and Technology*, 36:1061-1068, 2002.
- U.S.EPA. *Method 1669 - sampling ambient water for determination of trace metals at EPA Water Quality Criteria level.* Office of Science and Technology Eng. And Analysis Division. Washington, DC. 1996.
- U.S. EPA. Monitoring arsenic in the environment: a review of science and technologies for field measurements and sensors. Disponível em <http://www.epa.gov/tio>, acessado em junho de 2004.
- van den BERG, C. M. G.; KRAMER, J. R. Determination of complexing capacities of ligand in natural waters and conditional stability constants of the copper complexes by means of manganese dioxide. *Analytica Chimica Acta*, 106:113-120, 1979.
- van den BERG, C. M. G., J. R. Determination of complexing capacity and conditional stability constants of complexes of copper(II) with natural organic ligands in seawater by cathodic stripping voltammetry of copper-catechol complex ions. *Marine Chemistry* 15:1-18, 1984.
- van den BERG. Determination of metal speciation in seawater using cathodic stripping voltammetry. *Metals in surface water*, Ann Arbor Press; Michigan, 134-151, 1998.
- van LEEUWEN, H. P.; TOWN, R. M. Stripping chronopotentiometry at scanned deposition potential (SSCP). Part 1. Fundamental features. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 536:129-140, 2002.
- van LEEUWEN, H. P.; TOWN, R. M.; BUFFLE, J.; CLEVEN, R. F. M. J.; DAVISON, W.; PUY J.; van RIEMSDIJK, W. H.; SIGG, L. Dynamic speciation analysis and bioavailability of metals in aquatic systems, *Environmental Science & Technology*, 39(22):8545-8556, 2005.

- VASCONCELOS, M. T. S. D.; LEAL, L. M. F. C.; van den BERG, C. M. G. Influence of the nature of the exudates released by different marine algae on the growth, trace metal uptake, and exudation of *Emiliania huxleyi* in natural seawater. *Marine Chemistry*, 77:187-210, 2002.
- VEGA, M.; PARDO, R.; BARRADO, E.; DEBÁN, L. Assessment of seasonal and polluting effects on the quality of river water by exploratory data analysis. *Water Research*, 32:3581-3592, 1998.
- VELÁSQUEZ, I. B.; JACINTO, G. S.; VALERA, F. S. The speciation of dissolved copper, cadmium and zinc in Manila bay, Philippines. *Marine Pollution Bulletin*, 45:210-217, 2002.
- WAELES, M.; RISO, R. D.; MAGUER, J. F.; LE CORRE, P. Distribution and chemical speciation of dissolved cadmium and copper in the Loire Estuary and North Biscay continental shelf, France. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 59:49-57, 2004.
- WAELES, M.; RISO, R. D.; LE CORRE, P. Seasonal variations of dissolved and particulate copper species in estuarine waters. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 62:313-323, 2005.
- WANGERSKY, D. J. *Sampling and analysis of particulate and dissolved materials*. In: The Biology of Particles in Aquatic Systems, 2ª edição. Wotton, R. S. (ed.) Lewis Publishers, Boca Raton, USA, 1994, pp 7-43.
- WESTERHOFF, P.; ANNING, D. Concentrations and characteristics of organic carbon in surface water in Arizona: influence of urbanization. *Journal of Hydrology*, 236:202-222, 2000.
- XUE, H. B.; SIGG, L. Cadmium speciation and complexation by natural organic ligands in fresh water. *Analytica Chimica Acta*, 363:249-259, 1998.
- XUE, H. B.; JANSEN, S.; PRASCH, A.; SIGG, L. Nickel speciation and complexation kinetics in freshwater by ligand exchange and DPCSV. *Environmental Science & Technology*, 35:539-546, 2001.
- YAN, X. P.; KERRICH, R.; HENDRY, M. J. Determination of (ultra)trace amounts of arsenic (III) and arsenic (V) in water by inductively coupled plasma mass spectrometry coupled with flow injection on-line. Sorption preconcentration and separation in a Knotted reactor. *Analytical Chemistry*, 70:4736-4742, 1998.
- YAO, Q. Z.; ZHANG, J.; QUIN, X. G.; XIONG, H.; DONG, L. X. The behavior of selenium and arsenic in the Zhujiang (Pearl River) Estuary, South China Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 67:170-180, 2006.
- ZIMA, J.; van den BERG, C. M. G. Determination of arsenic in sea waters by cathodic stripping voltammetry in the presence of pyrrolidine dithiocarbamate. *Analytical Chimica Acta*, 289:291-298, 1994.