UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

EDUARDO DE ALMEIDA

Determinação de metais na bacia do rio Piracicaba usando as técnicas de Difusão em Filmes Finos por Gradiente de Concentração (DGT) e Fluorescência de Raios X Dispersiva em Energia (EDXRF) e por Reflexão Total (TXRF)

Piracicaba
2011

EDUARDO DE ALMEIDA

Determinação de metais na bacia do rio Piracicaba usando as técnicas de Difusão em Filmes Finos por Gradiente de Concentração (DGT) e Fluorescência de Raios X Dispersiva em Energia (EDXRF) e por Reflexão Total (TXRF)

Tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo para a obtenção do Título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente

Orientador: Prof. Dr. Virgílio Franco do Nascimento Filho
Co-orientador: Prof. Dr. Amauri Antonio Menegário

Piracicaba
2011

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Almeida, Eduardo de

Determinação de metais na bacia do rio Piracicaba usando as técnicas de Difusão em Filmes Finos por Gradiente de Concentração (DGT) e Fluorescência de Raios X Dispersiva em Energia (EDXRF) e por Reflexão Total (TXRF) / Eduardo de Almeida; orientador Virgílio Franco do Nascimento Filho; co-orientador Amauri Antonio Menegário. - - Piracicaba, 2011.

103 p.: il.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Elementos químicos 2. Espectroscopia de raios X 3. Química ambiental 4. Química analítica instrumental 5. Química aquática I. Título

CDU (543.054+543.33) : 543.427.4

Ofereço esse trabalho aos meus pais, Natanael Rodrigues de Almeida e Maria de Lourdes Piccinin Almeida, e ao meu irmão, Edinei de Almeida, pelo o apoio nesta longa estrada.

À Rafaela, pelo carinho, paciência e compreensão.

AGRADECIMENTOS

Aos Profs. Dr. Virgílio Franco do Nascimento Filho (CENA/USP) e ao Dr. Amauri Antonio Menegário (CEA/UNESP), pela amizade, orientação, oportunidade e, principalmente, confiança em meu trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Instrumentação Nuclear (CENA/USP), Alfredo José Ferraz de Mello, Ana Carla Fernandes Gomes, Fábio Lopes, Luis Alberto Senicato, Liz Mary Bueno, Paulo Rogério Massoni e, em especial, ao amigo Richard Maximiliano da Cunha e Silva (*in memoriam*) pela colaboração e apoio.

Aos colegas do Centro de Estudos Ambientais (CEA/UNESP), Amanda Lodovico de Alcantara, Dr. Carlos Alfredo Suárez, Francisca de Assis Mattioli Gonçalves, Guilherme Favoreto Pescim, Prof. Dr. Paulo Sergio Tonello, Prof. Dr. Roberto Naves Domingos e Wellington de Oliveira pela ajuda e parceria.

Ao Laboratório de Ecologia Isotópica (CENA/USP), em especial ao Prof. Dr. Plínio Barbosa de Camargo e à técnica Fabiana Cristina Fracassi, pela colaboração na determinação de carbono orgânico dissolvido em amostras de água.

Ao Laboratório de Ecologia Aplicada (CENA/USP), Profa. Dra. Regina Teresa Rosim Monteiro e à técnica Rosângela Ap. De Gaspari Rocha, pelo empréstimo de equipamentos portáteis.

Ao funcionário Luis Alberto Senicato, do Laboratório de Análise Ambiental e Geoprocessamento (CENA/USP), pelo auxílio nos mapas da bacia do rio Piracicaba.

Ao Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS/MCT), pela disponibilização da linha de fluorescência de raios X por reflexão total com excitação por luz síncrotron, e ao Dr. Carlos Pérez, pela orientação e ajuda na utilização dessa linha.

À Profa. Dra. Orgheda Zucchi, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP/USP), e ao Prof. Dr. César Gonçalves de Lima, da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA/USP) pelo auxílio em estatística.

Ao Prof. Dr. Franscisco José Krug, do Laboratório de Química/CENA, pelas discussões sobre Química Analítica.

Ao Museu da Energia Usina-Parque do Corumbataí/Fundação Energia e Saneamento, e ao educador Ricardo Landim, pela cortesia da recepção e a disponibilização de pontos de coleta nos rios Ribeirão Claro e Corumbataí.

À Coordenadoria do Campus Luiz de Queiroz (CCLQ/USP), por possibilitar amostragens no rio Piracicaba e no ribeirão Piracicamirim, disponibilizando transporte e o auxílio do funcionário Luiz Fernando Gomes.

À Lucila Machado Assumpção, da Estância Jatobá, por nos possibilitar o acesso ao rio Camanducaia, dentro dessa propriedade, e ao Josias Barbosa, pelo auxílio durante as coletas.

À Biblioteca do CENA, em especial à amiga Marília Ribeiro Garcia Henyei, pelo suporte nas pesquisas bibliográficas e orientações na confecção da Tese.

À Comissão de Pós-Graduação do CENA pelo apoio na realização desse trabalho.

"Estranha é nossa situação aqui na Terra. Cada um de nós vem para uma curta passagem, sem saber por quê, ainda que algumas vezes tentando adivinhar um propósito. Do ponto de vista da vida cotidiana, porém, de uma coisa sabemos: o homem está aqui pelo bem de outros homens – acima de tudo daqueles cujos sorrisos e bem-estar nossa própria felicidade depende"

Albert Einstein

RESUMO

ALMEIDA, E. de. **Determinação de metais na bacia do rio Piracicaba usando as técnicas de Difusão em Filmes Finos por Gradiente de Concentração (DGT) e Fluorescência de Raios X Dispersiva em Energia (EDXRF) e por Reflexão Total (TXRF)**. 2011. 103 p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

O desenvolvimento e aplicação de métodos analíticos na avaliação das concentrações de metais nas frações dissolvida e lábil na bacia do rio Piracicaba são de relevante importância para o estudo do comportamento químico-ambiental desses metais e para seu monitoramento, devido ao impacto das atividades antropogênicas nessa bacia. A técnica de difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT, do inglês *diffusive gradients in thin-films*), é uma promissora ferramenta analítica de amostragem, pois permite pré-concentração, análise temporal, remoção de interferentes, avaliação lábil e amostragem *in situ*. A quantificação dos metais pelas técnicas de fluorescência de raios X dispersiva em energia por reflexão total (TXRF, *total reflection X-ray fluorescence analysis*) para amostras líquidas e da fluorescência de raios X dispersiva em energia (EDXRF, *energy dispersive X-ray fluorescence)* para amostras sólidas, mostram-se interessantes devido ao caráter multielementar, simultâneo e não destrutivo da análise. Neste trabalho avaliou-se a DGT para a determinação de Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb em águas naturais, utilizando-se como agente ligante a membrana de celulose P 81 e como meio difusivo, o papel cromatográfico 3 MM. Calcularam-se os fatores de eluição e coeficientes de difusão para estes metais. Estudou-se o efeito da substância húmica, em diferentes concentrações, no desempenho da DGT para esses metais, e os resultados foram comparados e concordantes com as frações livre e a ligada à matéria orgânica, calculadas pelo programa Visual MINTEQ. Compararam-se o agente ligante e o meio difusivo à base de celulose, utilizados neste trabalho, com os à base de gel de poliacrilamida, empregando-se o complexante Chelex-100. Avaliou-se a homogeneidade da retenção dos analitos e do grupo ligante fosfato sobre a superfície do agente ligante. Nesses ensaios utilizaram-se soluções sintéticas contendo os analitos em pH 5,5 e força iônica 0,05 mol L^{-1} (ajustados com $NaNO_3$). As determinações foram realizadas por TXRF e EDXRF. Avaliaram-se os acoplamentos DGT-SRTXRF e da DGT-EDXRF para a determinação da fração lábil de Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb em amostras de água da bacia do rio Piracicaba, através de imersão em laboratório e *in situ.* Esses resultados foram comparados com as concentrações dissolvidas desses metais determinados pela técnica de fluorescência de raios X por reflexão total com excitação por luz síncrotron (SRTXRF, *synchrotron radiation total reflection X-ray analysis*). Os valores de concentrações de Mn, Cu e Zn nas frações dissolvida e lábil foram comparados com os valores máximos estabelecidos pela legislação brasileira

Nas amostragens *in situ*, nos cinco pontos de coleta, as concentrações de Mn dissolvido e lábil foram maiores que a concentração total máxima permitida para esse elemento. Os elmentos Cr, Co, Ni e Pb, nas amostras coletadas, apresentaram-se abaixo do limite de detecção das técnicas SRTXRF (dissolvido), DGT-SRTXRF (lábil) e DGT-EDXRF (lábil). Os limites de detecção para o Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb foram de 2,2 a 10 μg L^{-1} na SRTXRF, de 0,21 a 3,6 μg L^{-1} e de 7,2 a 24 μg L^{-1} na DGT-SRTXRF e DGT-EDXRF, respectivamente.

Palavras-chave: Bacia do rio Piracicaba. Difusão em filmes finos por gradiente de concentração. Fluorescência de raios X dispersiva em energia. Fluorescência de raios X por reflexão Total. Fração dissolvida e lábil. Metal.

ABSTRACT

ALMEIDA, E. de. **Determination of metals in Piracicaba river basin using Diffusive Gradients in Thin Films, and Energy Dispersive X-ray Fluorescence (EDXRF) and Total Reflection (TXRF) techniques**. 2011. 103 p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

Analytical methods evaluation for metal dissolved and labile fractions determination in Piracicaba river basin is notable for metal-behavior studies in this environment as well as their monitoring due to anthropogenic activities. The diffusive gradients in thin films (DGT) is a promising sampling technique because of its pre-concentration, time-integrated, matrix interference removal, labile evaluation and *in situ* analytical features. The analytical techniques total reflection X-ray fluorescence (TXRF) for liquid samples and energy dispersive X-ray fluorescence (EDXRF) for solid samples analysis are advantageous due to simultaneous, multielemental and non-destructive characteristics. In this work, it was evaluated the DGT technique for Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn and Pb determination in freshwater, using P 81 cellulose membrane as bind agent and 3 MM chromatographic paper as diffusive layer. Elution factors and diffusion coefficients were calculated for these metals. The humic acids effect on DGT performance was assessed and compared to free and humic acid bound metal fractions estimated by Visual MINTEQ software, in which agreement results were found. The paper-based DGT and gel-based one with Chelex-100 as bind agent were compared. The metal retention and phosphate group homogenization on P 81 membrane bind agent surface was studied. For these tests it was utilized a synthetic solution these metals containing with pH and ionic strength adjust to 5.5 and 0.05 mol L^{-1} ($NaNO_3$), respectively. It was used the TXRF and EDXRF techniques for these metal quantifications. The DGT-SRTXRF and DGT-EDXRF were assessed in order to determine Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn and Pb labile fractions in batch and *in situ* in Piracicaba river basin freshwater samples. These results were compared to their dissolved fractions by synchrotron radiation total reflection X-ray analysis, SRTXRF. The dissolved and labile Mn, Cu and Zn concentrations levels were compared to maximum allowed set by Brazilian legislation. The dissolved and labile Mn concentrations were higher than the maximum allowed in all five samples *in situ* sampling. Cr, Co, Ni, and Pb concentrations were lower than their limits of detection for dissolved fractions (SRTXRF) and labile ones (DGT-SRTXRF and DGT-EDXRF). The detection limits for Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn and Pb were from 2.2 to 10 μg L^{-1} for SRTXRF, from 0.21 to 3.6 μg L^{-1} and from 7.2 to 24 μg L^{-1} for DGT-SRTXRF and DGT-EDXRF, respectively.

Keywords: Piracicaba river basin. Diffusive gradients in thin films. Energy dispersive X-ray fluorescence. Total reflection X-ray fluorescence. Dissolved and labile fractions. Metal.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 13

1.1 Objetivos 19

1.2 Fundamentos teóricos 19

1.2.1 Técnica de gradientes de difusão em filmes finos 19

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 22

3 PARTE EXPERIMENTAL 26

3.1 Preparo do dispositivo DGT 26

3.1.1 Descontaminação e acondicionamento do agente ligante e do meio difusivo 26

3.1.2 Montagem do dispositivo DGT 27

3.2 Cálculo do fator de eluição 27

3.2.1 Imersão direta da P 81 em uma solução sintética contendo Ca, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb 27

3.2.2 Procedimento de eluição 28

3.2.3 Cálculo do fator de eluição 28

3.3 Imersão do dispositivo DGT em solução sintética para o cálculo do coeficiente de difusão 29

3.4 Efeito das substâncias húmicas (SH) na determinação de Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb pela técnica DGT à base de celulose 30

3.4.1 Cálculo da percentagem teórica do Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb livres em relação as respectivas concentrações totais ($\Psi_{teórico}$), utilizando o software Visual MINTEQ, e os valores Ψ_{DGT} obtidos pela DGT, para estes elementos 31

3.5 Efeito da camada difusiva limite (CDL) 31

3.6 Homogeneização na retenção dos metais sobre a membrana P 81 32

3.7 Comparação entre os agentes ligantes P 81 e Chelex-100 32

3.8 Comparação entre os meios difusivos papel cromatográfico 3 MM e géis de poliacrilamida não restritivo e restritivo 33

3.9 Imersões da DGT à base de celulose em amostras de água de rios da bacia do rio Piracicaba..... 34

3.9.1 Imersões em laboratório (1ª coleta)..... 34

3.9.1.1 Procedimento de coleta..... 34

3.9.1.2 Imersão do dispositivo DGT (papel cromatográfico 3 MM como meio difusivo e membrana P 81 como agente ligante), em amostras de água da bacia do rio Piracicaba, seguido da determinação dos metais lábeis pela SRTXRF..... 35

3.9.1.3 Determinação de metais dissolvidos nas amostras de água da bacia do rio Piracicaba pela SRTXRF..... 36

3.9.2 Imersões *in situ* (2ª coleta) 37

3.9.2.1 Localização dos pontos de imersão *in situ* 37

3.9.2.2 Procedimento de imersão *in situ* da DGT à base de celulose 38

3.10 Análise por fluorescência de raios X dispersiva em energia 39

3.10.1 Análise por fluorescência de raios X dispersiva em energia por reflexão total com excitação por tubo de raios X (TXRF)..... 39

3.10.1.1 Preparo dos padrões..... 39

3.10.1.2 Preparo das amostras 40

3.10.1.3 Parâmetros do equipamento 40

3.10.1.4 Quantificação na TXRF 41

3.10.1.5 Limite de detecção na TXRF 42

3.10.2 Análise por fluorescência de raios X dispersivo em energia por reflexão total com excitação por luz síncrotron (SRTXRF) 42

3.10.2.1 Avaliação da exatidão na SRTXRF 44

3.10.3 Análise por fluorescência de raios X dispersivo em energia convencional (EDXRF)..... 44

3.10.3.1 Parâmetros do equipamento 44

3.10.3.2 Quantificação na EDXRF 45

3.10.3.3 Cálculo do fator de absorção..... 47

3.10.3.4 Avaliação da exatidão na EDXRF 49

3.10.3.5 Limite de quantificação na EDXRF..... 49

3. 11 Determinação do carbono orgânico dissolvido..... 50

3. 12 Análise estatística 50

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 51

4.1 Preparo do dispositivo DGT 51

4.2 Soluções sintéticas..... 51

4.3 Fator de eluição..... 52

4.3.1 Cálculo do coeficiente de difusão (DGT-TXRF) 53

4.3.1.1 Retenção de metais na DGT em função do tempo 53

4.3.2 Cálculo do coeficiente de difusão (DGT- EDXRF)..... 55

4.3.2.1 Cálculo do fator de absorção da membrana P 81 na análise por EDXRF 55

4.3.2.2 Retenção de metais na DGT em função do tempo 57

4.4 Fatores de pré-concentração para Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb no método DGT-TXRF 60

4.5 Efeito da camada difusiva limite..... 60

4.6 Efeito do pH..... 62

4.7 Efeito da força iônica..... 62

4.8 Efeito da substância húmica..... 63

4.9 Capacidade de retenção da membrana P 81..... 66

4.10 Análise nas duas faces opostas da membrana P 81 pela EDXRF..... 67

4.11 Homogeneidade de retenção do Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb, e do elemento P (grupo fosfato) na superfície da membrana P 81 69

4.12 Comparação entre diferentes agentes ligantes 71

4.13 Comparação entre os meios difusivos: papel cromatográfico 3 MM e géis de poliacrilamida não restritivo e restritivo 72

4.14 Reuso da membrana P 81 e papel cromatográfico 3 MM 74

4.15 Efeito da temperatura 75

4.16 Imersões em amostras reais em laboratório e *in situ* 76

4.16.1 Imersões em amostras reais em laboratório 76

4.16.2 Imersões em amostras reais *in situ* 83

5 CONCLUSÕES 94

REFERÊNCIAS 97

1 INTRODUÇÃO

O volume total de água em nosso planeta é aproximadamente 1,5 bilhão de quilômetros cúbicos, e deste total, 97,5 % correspondem aos oceanos, 1,9 % à calota polar e geleiras e apenas 0,6 % é localizado em rios, lagos, águas subterrâneas e vapores de água presentes na atmosfera (COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL - CETESB, 2009a; MANAHAN, 2000).

No Brasil 90 % dos esgotos domésticos e 70 % dos efluentes industriais são lançados *in natura* nos corpos d'água (COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL - CETESB, 2006). Com isso, o estudo de contaminantes em águas naturais tem sido um tema de crescente interesse nas últimas décadas.

Em particular, a bacia hidrográfica do rio Piracicaba, com uma área total de 12.568,72 km^2, sendo 91 % situados no estado de São Paulo e 9% no estado de Minas Gerais, localizada entre os paralelos 22^o 00' e 23^o 30' latitude sul e entre os meridianos 46^o 00'e 48^o 30' na longitude oeste, como mostra a Figura 1 (CARAM, 2010; FALÓTICO, 2001), tem sido impactada nas últimas décadas devido ao forte processo de industrialização e urbanização, com aumento das fontes de poluição e crescente consumo de água nos setores industrial e agrícola e no abastecimento da população (AGÊNCIA NACIONAL DAS ÁGUAS, 2007, apud CARAM, 2010). Ressalta-se que esta bacia possui apenas 16 % do esgoto residencial tratado (MARTINELLI, 2001).

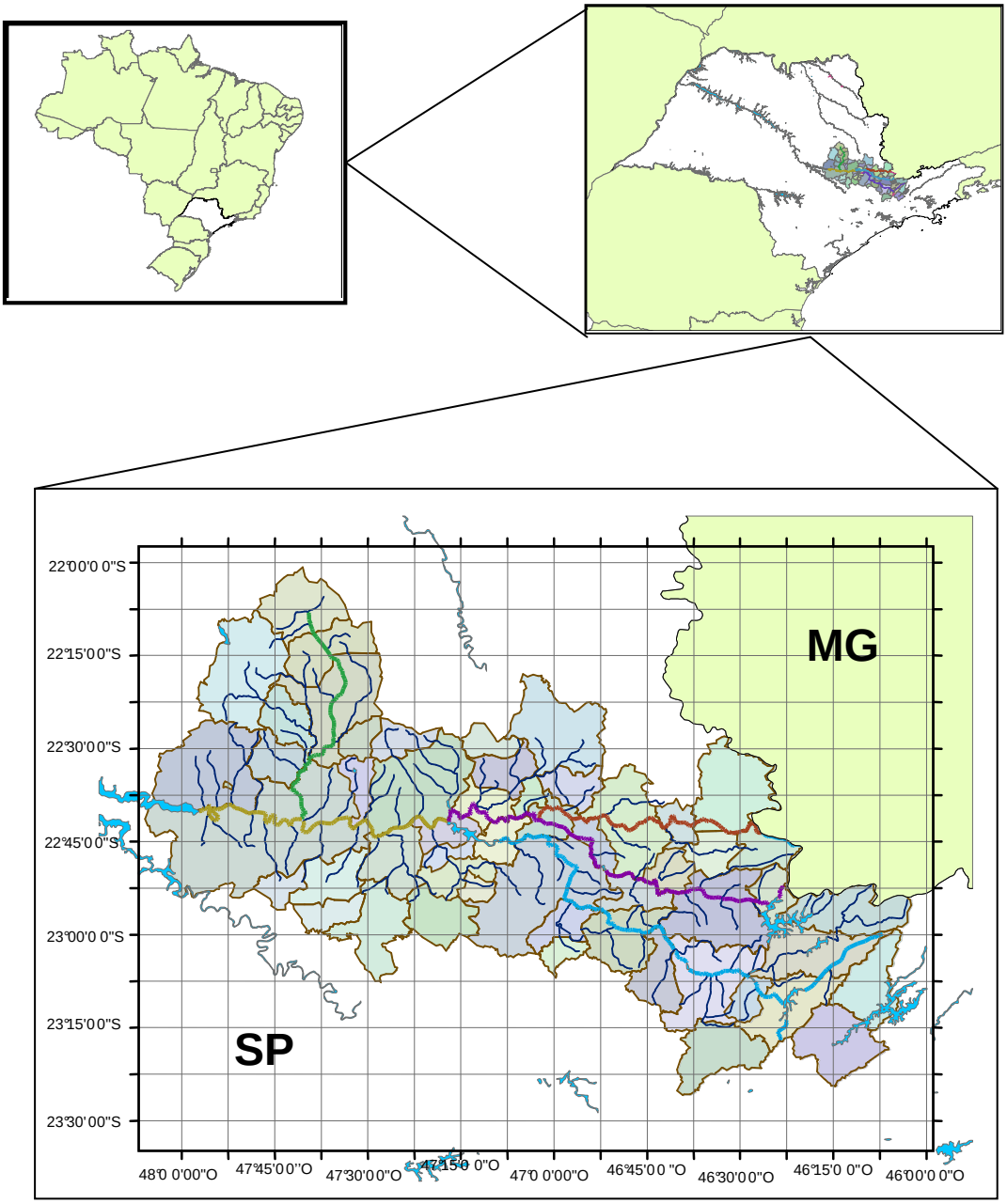

Figura 1 - Bacia hidrográfica do rio Piracicaba e seus principais afluentes (AGÊNCIA NACIONAL DAS ÁGUAS, 2001)

Neste sentido é de fundamental importância o monitoramento da qualidade da água na bacia do rio Piracicaba, assim como o desenvolvimento e aplicação de métodos analíticos simples e práticos para a obtenção de informações sobre a presença e o comportamento de contaminantes, e.g. compostos inorgânicos.

Convencionalmente, a amostragem de águas baseia-se em períodos de coleta discretos e, em seguida, a análise instrumental em laboratório. Devido às baixas concentrações dos poluentes, tem-se a necessidade de uma considerável quantidade de amostra a ser coletada, e ainda, representa apenas uma avaliação momentânea do poluente no sistema aquático. Com o intuito de eliminar ou reduzir estas desvantagens, pode-se aumentar a freqüência de coleta ou instalar um sistema de amostragem automático. Esta última opção, devido ao seu alto custo e a necessidade de um lugar seguro para instalação, torna-se impraticável sua utilização em uma expressiva rede de monitoramento. Ressalta-se que a amostragem pontual fornece uma concentração aparente que dependerá do pré-tratamento aplicado (e.g. filtragem) e não prove informações sobre as frações dissolvida verdadeira e lábil dos contaminantes (VRANA et al., 2005).

Por outro lado, o biomonitoramento pode ser empregado para suprir a desvantagem da coleta pontual. Entretanto, vários fatores podem aumentar a incerteza dos resultados deste método de amostragem, entre eles o metabolismo, taxa de depuração, excreção, estresse, viabilidade e condição do organismo. Além disso, os procedimentos de extração na análise dos tecidos dos biomonitores são complexos e demorados (MILLS et al., 2010; VRANA et al., 2005).

Outra tentativa na avaliação da concentração de poluentes em sistemas aquáticos baseia-se na determinação dos seus teores em sedimentos de fundo e a utilização de coeficientes de equilíbrio de distribuição. Este método é limitado devido ao pressuposto equilíbrio entre as fases aquosa e sólida (sedimentos), diferenças na qualidade do carbono orgânico e presença de contaminantes não extraíveis, o qual não é contabilizado no modelo de equilíbrio de partição (VRANA et al., 2005).

Em particular, na determinação tradicional de metais em águas têm-se como etapas mais críticas, a coleta e o preparo das amostras. Um método recomendado

para a determinação de metais dissolvidos em sistema aquático, baseia-se na prévia descontaminação da vidraria, no resfriamento no momento da coleta (4 ^{o}C), na filtração e acidificação da amostra (pH < 2). Estas duas últimas etapas, além de aumentar o tempo e custo da análise, são possíveis fontes de contaminação e alteração das amostras. Na melhor das hipóteses, as técnicas de preservação somente irão retardar as mudanças químicas e biológicas que invariavelmente continuam após a sua coleta, e a preservação completa das amostras torna-se praticamente impossível (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 2000).

Em complemento, os metais em águas naturais podem estar nas formas livres ou lábeis (convencionalmente ditos disponíveis) ou adsorvidos em substâncias húmicas e/ou sólidos em suspensão (não disponíveis). Sabe-se que os metais livres ou lábeis, na maioria das vezes, apresentam maior toxicidade, e sendo assim, a determinação destes metais se mostra uma ferramenta útil e necessária para o estudo do comportamento do metal no meio aquático (FORSBERG et al., 2006).

Ainda, os metais podem se apresentar em concentrações muito baixas (na ordem de $\mu g\ L^{-1}$) em sistemas aquosos, e muitas vezes abaixo do limite de detecção das técnicas analíticas, necessitando assim da etapa de pré-concentração.

Nesse contexto, amostradores passivos mostram-se com grande potencial de utilização. Estes dispositivos podem ser definidos como uma técnica de amostragem baseada no fluxo livre do contaminante da fase aquosa (amostra) para a fase receptora do amostrador. Ainda, esta técnica coleta o poluente sem alterar a amostra externa, ou seja, o ambiente amostrado. Conforme a configuração do amostrador, a massa do poluente acumulado pode refletir a concentração de equilíbrio ou a concentração média que o amostrador é exposto ao ambiente amostrado (VRANA et al., 2005). Os amostradores passivos podem ser utilizados para poluentes inorgânicos e orgânicos (ZHANG; DAVISON, 1995; ZHANG et al., 1998; HALE et al., 2010; COLUMBIA ENVIRONMENTAL RESEARCH CENTER/USGS, 2010; STUER-LAURIDSEN, 2005; HUCKINS; TUBERGEN; MANWEERA, 1990; VRANA et al., 2005).

O amostrador passivo baseado na difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT, do inglês *diffusive gradients in thin-films*), que possibilita a pré-concentração multielementar *in situ*, tem se mostrado uma promissora ferramenta na determinação de metais em sistema aquáticos (ZHANG; DAVISON, 1995).

A técnica de DGT pode ser aplicada para diferentes sistemas aquosos, como águas doces (BARAKAT; GIUSTI, 2003; CLEVEN et al., 2005; DENNEY; SHEWOOD, LEYDEN, 1999; ERNSTBERGER; ZHANG; DAVISON, 2002; TUSSEAU-VUILLEMIN et al., 2007; WARNKEN, et., 2009), marinhas (FORSBERG et al., 2006; FRENCH et al., 2005; MUNKSGAARD; PARRY, 2003) e residuais (BUZIER; TUSSEAU-VUILLEMIN; MOUCHEL, 2006) e também pode ser utilizada para análise de elementos lábeis em solos (LI et al., 2002; MENZIES; KUSUMO; MOODY, 2005) e sedimentos (CAMUSSO; GASPARELLA, 2006).

Na sua concepção convencional, a DGT permite a determinação de metais livres na forma iônica, complexos inorgânicos e compostos orgânicos de baixo peso molecular contendo o metal, excluindo partículas e colóides que não são quantificados. Ainda, apenas complexos que se dissociam em uma escala menor que minutos podem ser medidos, como o complexo ácido fúlvico-metal, mas excluem os complexos com ligantes fortes, por exemplo, EDTA (GIMPEL et al., 2003).

Outra vantagem é que a DGT fornece uma concentração média temporal do metal no sistema aquoso, e não apenas a concentração no momento da coleta (ZHANG; DAVISON, 1995).

A espectrometria de fluorescência de raios X (XRF, *X-ray fluorescence*) é uma técnica analítica bem estabelecida para análise elementar em diferentes matrizes sólidas, destacando-se por ser uma técnica multielementar (e simultânea no sistema dispersivo em energia), não destrutiva, com custo e tempo de análise aceitáveis, apresentando versatilidade e fácil automação. A análise direta de amostras líquidas na determinação elementar por XRF, no entanto, tem mostrado limitações (MARGUÍ et al., 2010). As amostras líquidas não podem ser analisadas sob vácuo, limitando assim a determinação de elementos de baixo número

atômico (Z). Ainda, devido ao espalhamento dos raios X de excitação pela amostra, de baixo número atômico, a relação *background* / sinal do analito é elevada e a determinação de elementos traço torna-se limitada.

A sensibilidade para determinação elementar em amostras líquidas pode ser aumentada utilizando-se a técnica de fluorescência de raios X dispersiva em energia por reflexão total (*total reflection X-ray fluorescence analysis*), (KLOCKENKÄMPER, 1997). Entretanto, mesmo utilizando-se a técnica de TXRF a sensibilidade não é suficiente para determinação de vários metais traço em amostras de águas naturais.

Neste sentido, nas últimas décadas, vários métodos de pré-concentração para a determinação elementar em amostras líquidas por XRF foram desenvolvidos (van GRIEKEN, 1982; MARGUÍ et al., 2010). Além da vantagem do aumento da concentração do analito, remoção de interferentes, os métodos de pré-concentração aumentam a representatividade da amostra, pois uma quantidade maior da amostra é analisada (van GRIEKEN, 1982). Ressalta-se que a representatividade da amostra é uma das etapas analíticas mais cruciais e críticas em amostras ambientais.

Neste contexto, o uso da difusão em filmes finos por gradiente de concentração como técnica de amostragem e da fluorescência de raios X como ferramentas analíticas para a determinação elementar mostram-se promissoras em amostras de águas naturais, devido às características de pré-concentração, procedimento operacional simples, determinação da fração lábil, análise temporal e *in situ* da DGT, como também pelo caráter multielementar, simultâneo, da TXRF (amostra líquida), e possibilidade de análise direta da amostra, no estado sólido, na EDXRF (*energy dispersive X-ray fluorescence)* convencional.

1.1 Objetivos

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial da DGT à base de celulose, associada à técnica de XRF (TXRF e EDXRF convencional) na determinação das concentrações lábil e dissolvido de metais nas águas da bacia do rio Piracicaba.

1.2 Fundamentos teóricos

1.2.1 Técnica de gradientes de difusão em filmes finos

A Figura 2 mostra o sistema comercial utilizado na técnica de DGT (DGT Research Ltd., Lancaster, UK). Sobre um pistão de polipropileno é colocado um disco com agente ligante, e.g. resina Chelex-100, seguido de outro disco (gel difusivo) e uma membrana filtrante, que estará em contato com a solução externa. Este sistema é fixado com uma luva de polipropileno que possui uma janela com diâmetro de 20 mm. A Figura 3 mostra a foto do dispositivo DGT à base de celulose (membrana P 81 e papel cromatográfico 3 MM utilizados como agente ligante e meio difusivo, respectivamente).

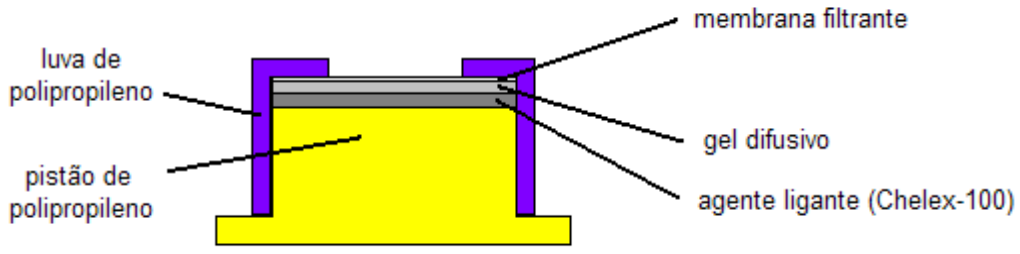

Figura 2 - Sistema comercial da técnica de DGT (ZHANG; DAVISON, 1995; LARNER; SEEN, 2005)

Figura 3 - Foto do dispositivo DGT à base de celulose (membrana P 81 e papel cromatográfico 3 MM utilizados como agente ligante e meio difusivo, respectivamente)

A DGT é baseada na primeira lei de difusão de Fick (ZHANG; DAVISON, 1995). O agente ligante é separado da solução por um disco de gel de 0,8 mm de espessura, como mostra a Figura 2. Deste modo, o fluxo *F* (μg cm^{-2} s^{-1}) dos íons metálicos que difundem da camada do gel para a resina é expresso pela eq. 1:

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

onde *D* (cm^2 s^{-1}) é coeficiente de difusão da espécie metálica do gel, C_b é a concentração do metal livre ou lábil na solução externa (μg mL^{-1}), *C'* é a concentração do metal na resina (μg mL^{-1}), e *Δg*, a espessura do gel de difusão (cm). Se os metais estiverem em rápido equilíbrio com a resina, com uma forte ligação, *C'* é efetivamente zero. Logo, a eq. 1 pode ser simplificada para eq. 2:

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

De acordo com a definição de fluxo $F = M / At$, onde *M* (μg) a massa do analito, *A* (cm^2) a área e *t* (s), o tempo da difusão, a eq. 3 pode ser reescrita da seguinte forma:

$$M = D.C_b.t.A/\Delta g \quad (3)$$

Determinando a massa do analito *M* difundida na resina, através da eluição em meio ácido, calcula-se a concentração do metal na solução externa através da eq. 4.

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

Geralmente, os metais retidos na resina são eluidos com 1-2 mL de HNO_3 2 mol L^{-1} e determinados por técnicas como a espectrometria de absorção atômica com atomizador eletrotérmico (ETAAS) (CAMUSSO; GASPARELLA, 2006; DOCEKAL; REZACOVA-SMETKOVA; DOCEKALOVA, 2005; SCALLY; DAVISON; ZHANG, 2003) e espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (CLEVEN et al., 2005; GIMPEL et al., 2003; MUNKSGAARD; PARRY, 2003).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Em um dos trabalhos pioneiros da técnica DGT, Zhang e Davison (1995) estudaram os efeitos do tempo de imersão, espessura da camada difusiva, agitação da amostra, temperatura, pH, força iônica e saturação do agente ligante no dispositivo DGT. Calcularam-se as eficiências de eluição na resina Chelex-100 para o Mn, Fe, Ni, Cu, Zn e Cd, utilizando ácido nítrico 2 mol L^{-1}. Realizaram-se ensaios *in situ* na água marinha de Menai Straits, no Reino Unido, e no oceano do Atlântico Norte, para a determinação de Mn, Fe, Zn e Cd. Este trabalho mostrou o potencial da técnica DGT para a determinação da fração lábil em sistemas aquosos, assim como os principais parâmetros que influenciam sua performance.

Zhang et al. (1998) determinou fósforo reativo em um lago eutrofizado pela técnica DGT, utilizando com meio difusivo gel de poliacrilamida e como agente ligante, o óxido de ferro em gel de poliacrilamida. Determinou-se, neste meio difusivo, o coeficiente de difusão para P através de uma cela de difusão. Estudaram-se os fatores de eluição do P com os ácidos sulfúrico e ascórbico, o efeito da força iônica, o acúmulo de fósforo em função do tempo e saturação do agente ligante. Os valores encontrados de fósforo nas amostras liofilizadas de um lago pela DGT foram concordantes com os valores do fósforo reativo obtido através da técnica espectrofotométrica. Assim, a técnica de difusão de filmes finos por gradiente de concentração mostra-se viável para a determinação de P em águas naturais. Os autores deste trabalho também indicam uma promissora aplicação da DGT para a determinação de P em sedimentos e solos.

Denney et al. (1999) avaliaram as frações lábeis de Mn, Cu e Cd em amostras na bacia dos rios Pieman e Hopkins e em seus afluentes, na Austrália, através da técnica DGT, utilizando com agente ligante a resina Chelex-100 em gel de poliacrilamida e como meio difusivo, o gel de poliacrilamida. Verificou-se, neste trabalho, o acúmulo linear dos analitos em função do tempo de imersão, de 0 a 72 h, indicando a não ocorrência de biofilmes. A precisão foi menor ou igual a 11. No rio Stitt, tributário do rio Pieman, os valores das frações lábeis de Mn, Cu e Zn foram

concordantes com suas concentrações dissolvidas e totais, indicando a não ocorrência de forte complexação destes metais com a matéria orgânica, embora este rio possua um elevada concentração de carbono orgânico dissolvido, 7,3 mg L^{-1}. Por outro lado, nos rios Que e Savage, tributário do rio Pieman, com COD de 7,5 e 7,2 mg L^{-1}, respectivamente, as concentrações do Cu dissolvido e total foram maiores que a fração de Cu lábil determinada pela DGT.

Gimpel et al. (2001) estudaram os efeitos da solução de imersão, rehidratação do dispositivo DGT, agitação e tempo de imersão na determinação de Mn, Co, Cu, Zn e Cd pela técnica de DGT. Utilizou-se como agente ligante a resina Chelex-100 em gel de poliacrilamida, e como meio difusivo, um gel de poliacrilamida. O Co, Mn e Zn foram avaliados com exatidão pela DGT entre os valores de pH 3,5 e 10, o Cu entre pH 2,0 e 10 e o Cd entre pH 5,0 e 10. Amostras com concentrações de Ca de 0,1 até 10 mmol L^{-1} não interferiram de medida de Cu e Cd. No entanto, em sistemas sem agitação, fluxo igual a 0 m s^{-1}, a medida da concentração foi próxima de 50 %, indicando que a espessura da camada difusiva limite (DBL, do inglês *diffusive boundary layer*) é próxima ao do meio difusivo, no caso 0,84 mm. Testou-se a rehidratação do dispositivo DGT após uma semana exposto ao ar, apresentando performance quantitativa após o ensaio. A DGT apresentou potencial para utilização em períodos longos de imersões (de 20 a 800 horas), entretanto o efeito da formação de biofilmes deve ser avaliado.

Dahlqvist et al. (2002) determinaram Ca e Mg em soluções sintéticas e em água de lago através da técnica DGT, utilizando como agente ligante a resina Chelex-100 em gel de poliacrilamida, e como meio difusivo, o gel de poliacrilamida. Verificou-se que em pH < 5 ocorre um diminuição do acúmulo destes dois analitos neste dispositivo DGT. Imersões *in situ* e os resultados pelo método de ultra-centrifugação sugerem que as concentrações de Mg medidas pela DGT é similar as encontradas na fração < 1 kdalton. Segundo estes autores, o tempo de imersão em água doce, para a determinação de Ca e Mg, deve ser limitada a 15 – 20 h, a fim de se evitar a saturação do agente ligante.

Li et al. (2002) estudaram o uso do papel P 81, uma membrana de celulose contento o grupo fosfato ligado covalentemente, com agente ligante na técnica DGT

para a determinação de Cu e Cd em águas naturais. Avaliaram-se os efeitos do pH, força iônica, reprodutibilidade e recuperação para esses dois analitos neste dispositivo DGT. Determinaram-se os fatores de eluição e a capacidade de ligação para os metais Cu, Cd, Zn, Mn, Ni, Ca, Mg, K e Na. A possibilidade de reuso do agente ligante P 81 também foi verificada. Esta membrana mostrou-se adequada para a determinação de Cu e Cd em água de lago sintética.

Larner e Seen (2005) avaliaram à DGT à base de celulose, utilizando com meios difusivos os papéis cromatográficos 1 Chr, 3 MM e 17 Chr, e como agente ligante a membrana de troca iônica fosfato de celulose P 81, nas determinações de Cd, Cu, Pb, Zn Co, Ni e Mn. Ao contrário da DGT à base de gel, a DGT em avaliação mostrou-se robusta e simples para montagem, ideal para monitoramento de rotina. Ainda, apresentou comportamento reproduzível em amostras sintéticas com baixa força iônica. Neste trabalho, a DGT à base de celulose não foi avaliada em amostras reais.

Vrana et al. (2005), revisaram os trabalhos sobre amostradores passivos no monitoramento ambiental de contaminantes orgânicos e inorgânicos em águas. Relatando o histórico, vantagens e restrições deste tipo de amostragem, estes autores compilaram os principais amostradores passivos descrevendo os seus *designs* de construção, propósito de amostragem, analitos e tempo de imersão, entre outros. Os amostradores passivos têm sido aplicados em *screening* para confirmar a presença e ausência de poluentes, no monitoramento temporal e espacial de contaminantes, estudos de especiação, comparação com a biota – devido biomimetismo deste tipo de amostragem-, e avaliação da toxicidade de poluentes biodisponíveis. Ressalta-se que está técnica apresenta um grande potencial para aplicação em redes de monitoramento. É citado como futuras tendências dos amostradores passivos, a minituarização dos dispositivos, a inclusão de novos analitos, aumento da robustez, o controle de condições ambientais sobre o desempenho do amostrador (e.g. biofilmes), acoplamento da análise química e biológica e o desenvolvimento de QA (garantia de qualidade, em inglês *quality assurance*) e QC (controle de qualidade, em inglês *quality control*), para uma maior aceitação em programas regulatórios.

Dakova et al. (2011) determinaram as frações dissolvida e lábil de Cd, Cu, Ni, e Pb em seis pontos de coleta no golfo Bourgas, na costa do Mar Negro, na Bulgária. As frações dissolvidas desses metais foram avaliadas por extração em fase sólida utilizando submicroesferas (nanoesferas de 344 nm de diâmetro) de sílica modificada com 3-aminopropiltrimetoxisilano, e a fração lábil, através da técnica DGT, utilizando com meio difusivo de poliacrilamida não restritivo e, como agente ligante a resina Chelex-100 em gel de poliacrilamida. A determinação foi realizada pela espectrometria de absorção eletrotérmica (ET-AAS). As razões lábil / dissolvida para o Cd e Ni foram de 0,6 a 0,8, sugerindo importante complexação destes metais por complexos inorgânicos e orgânicos cineticamente lábeis; para o Cu e o Pb esta razão foi de 0,20 a 0,38 e 0,24 a 0,40, respectivamente. Estes resultados para estes dois últimos elementos são consistentes com a alta complexação do Cu e Pb pela matéria orgânica dissolvida e partículas em suspensão. A concentração média de carbono orgânico dissolvido nas amostras foi de 2,9 mg L^{-1}.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Preparo do dispositivo DGT

3.1.1 Descontaminação e acondicionamento do agente ligante e do meio difusivo

Realizou-se a descontaminação da membrana de troca iônica fosfato de celulose P 81, utilizada como agente ligante, e do papel cromatográfico (3 MM), utilizado como meio difusivo, ambos fabricados pela Whatman, com ácido nítrico 1 mol L^{-1} por 24 h. Em seguida, lavaram-se o agente ligante e meio difusivo com água desionizada até a concentração hidrogeniônica da solução de lavagem atingir a neutralidade (pH entre 6,5 e 7,5). Após a descontaminação, a membrana P 81 e o papel cromatográfico 3 MM foram acondicionados em água desionizada e em solução de nitrato de sódio 0,050 mol L^{-1}, respectivamente. (LARNER; SEEN, 2005).

O pistão e a luva do dispositivo DGT (Figura 2) foram descontaminados com uma solução de ácido nítrico 10 % por 24 h. Seguiu-se o mesmo procedimento para a descontaminação de todas as outras vidrarias utilizadas neste trabalho.

A água desionizada utilizada na descontaminação e no acondicionamento foi de alta pureza, indicada por sua resistividade de 18 MΩ cm, obtida pelo desionizador USF Elga, modelo UHQ PS.

3.1.2 Montagem do dispositivo DGT

Como o auxílio de uma pinça plástica, colocou-se sobre o pistão a membrana P 81, seguido de duas folhas do papel 3 MM (ZHANG; DAVISON, 1995; LARNER; SEEN, 2005). Em seguida, fechou-se, então, o dispositivo DGT com a luva de polipropileno, como mostra a Figura 4. Todo o procedimento foi realizado em capela de fluxo laminar no Laboratório de Instrumentação Nuclear, CENA/USP.

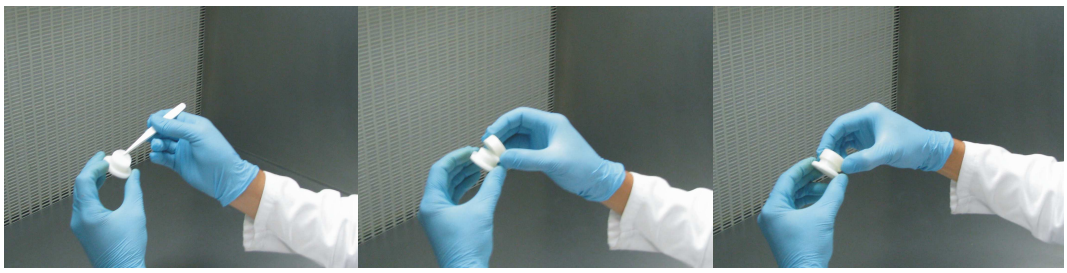

Figura 4 - Montagem do dispositivo DGT

3.2 Cálculo do fator de eluição

3.2.1 Imersão direta da P 81 em uma solução sintética contendo Ca, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb

Colocou-se uma membrana P 81 em um tubo plástico contendo 30 mL de uma solução com 500 μg L^{-1} de Ca, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb, pH 5,50 e força iônica ajustada com $NaNO_3$ a 0,050 mol L^{-1}. O tubo foi mantido sob agitação por 4 horas. Este procedimento foi realizado em 9 tubos. Em seguida, transferiram-se as membranas P 81 para tubos de microcentrífuga e adicionaram-se os volumes de 0,250, 0,500 e 1,000 mL de ácido nítrico 2 mol L^{-1}, em triplicata; como branco, fez-se o uso da membrana P 81 descontaminada.

3.2.2 Procedimento de eluição

Os tubos de microcentrífuga foram agitados por 4 h e, em seguida, centrifugados na rotação de 10000 rpm por 5 min (centrífuga Sanyo MSE Microcentaur), com o objetivo de separar o agente ligante da solução ácida de eluição. Retirou-se uma alíquota de 100 μL a qual foi transferida para outro tubo de microcentrífuga, para análise por TXRF, como descrito no item 3.10.1. Nas amostras, utilizou-se o volume de 0,25 mL de ácido nítrico 2 mol L^{-1}.

3.2.3 Cálculo do fator de eluição

Para o cálculo do fator de eluição dividiu-se a massa do metal eluido na membrana P 81 pela diferença da massa do metal na solução, antes e após a imersão. Calcularam-se as eficiências de eluição do Ca, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb nos volumes de 0,250, 0,500 e 1,000 mL de ácido nítrico 2 mol L^{-1}.

As massas do metal eluido da membrana P 81 e da solução após imersão foram determinadas pela técnica de fluorescência de raios X dispersiva em energia por reflexão total (TXRF), item 3.10.1. A massa do metal da solução antes da imersão foi calculada através do prévio conhecimento da concentração do metal e o volume desta solução.

3.3 Imersão do dispositivo DGT em solução sintética para o cálculo do coeficiente de difusão

Prepararam-se quatro litros de uma solução sintética contendo os metais Ca, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb na concentração de 0,500 mg L^{-1}; o pH foi ajustado para 5,50 e a força iônica à 0,050 mol L^{-1} com $NaNO_3$.

Oito dispositivos DGT foram imersos nesta solução sob agitação, utilizando-se um agitador magnético da marca Ética Equipamentos Científicos, na escala de rotação 70, e uma barra magnética revestida com o polímero politetrafluoretileno em contato com a solução, nas dimensões de 8 mm de diâmetro e 30 mm de comprimento; todas as agitações deste trabalho foram realizadas nessas condições. Estabeleceram-se os seguintes tempos de imersão: 0, 12, 24, 36 e 48 h; utilizou-se o branco da membrana P 81 descontaminada como t = 0 h. O ensaio foi realizado em duplicata.

Todas as imersões em soluções sintéticas e amostras reais em laboratório deste trabalho foram realizadas em sala com ar condicionado no Laboratório de Instrumentação Nuclear, CENA/USP. A temperatura das soluções de imersão foi de 23 ± 1 ^{o}C. Após a imersão, os dispositivos foram desmontados e o agente ligante analisado pela TXRF após eluição (itens 2.2 e 2.10.1). Realizou-se esse mesmo procedimento de imersão da DGT em solução sintética, mas, no entanto empregou-se a técnica de EDXRF na análise (item 3.10.3).

Assim, conhecendo a massa *M* retida no agente ligante, a espessura do meio difusivo (Δg, 0,098cm), a concentração do analito na amostra (C_b, 0,5 mg L^{-1}), o tempo de imersão (*t*, 48 h) e área efetiva de exposição do dispositivo (*A*, 3,141 cm^2) determinaram-se o *D* para o Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb através da Equação 5:

$$D = M.\Delta g / C_b.t.A \qquad (5)$$

3.4 Efeito das substâncias húmicas (SH) na determinação de Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb pela técnica DGT à base de celulose

Prepararam-se quatro soluções sintéticas contendo os metais Ca, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb na concentração de 100 μg L^{-1}, pH em 5,50, força iônica ajustada com $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}, e SH nas concentrações de (a) 0,00; (b) 0,35; (c) 3,5; e (d) 35,00 mg L^{-1}. O volume destas soluções foi de quatro litros. A Figura 5 mostra dispositivos DGT imersos na solução (b). A SH foi obtida do rio Sorocabinho através do método descrito por Romão et al. (2003).

Montaram-se os dispositivos de DGT, conforme o item 3.1.2, e realizaram-se as imersões em cada uma das soluções de diferentes teores de SH. O tempo de imersão foi 48 h. Após a retirada dos dispositivos, fez-se a eluição, conforme o item 3.2.2. Os metais Ca, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb foram determinados por TXRF, como descrito no item 3.10.1.

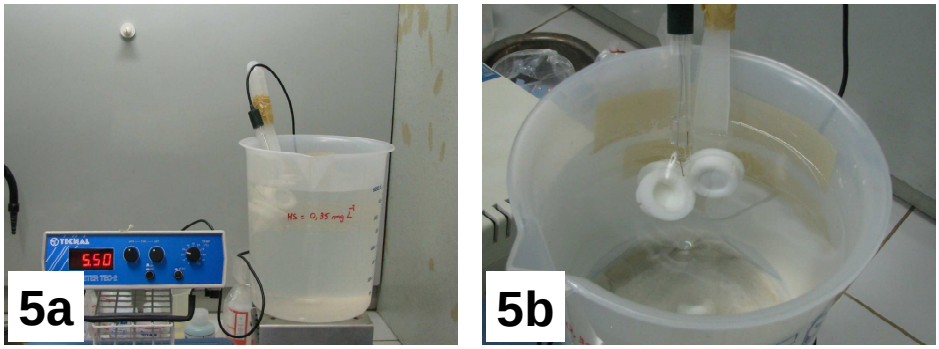

Figura 5 - Sistema de imersão em laboratório da DGT: **5a** - Béquer contendo 4 L de uma solução sintética com os metais Ca, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb na concentração de 500 μg ml^{-1}, substância húmica 0,35 mg L^{-1}, $NaNO_3$ 0,05 mol L^{-1} e pH 5,5 (monitorado através de um pHmetro); **5b** - Foto em detalhes dos dispositivos DGT imersos nesta solução sintética

3.4.1 Cálculo da percentagem teórica do Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb livres em relação as respectivas concentrações totais ($\Psi_{teórico}$), utilizando o software Visual MINTEQ, e os valores Ψ_{DGT} obtidos pela DGT, para estes elementos

As percentagens do Ca, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb livres e ligados à matéria orgânica, nas condições a, b e c do item 3.4, foram calculadas pelo aplicativo Visual MINTEQ, versão 2.61. Este aplicativo de modelagem de equilíbrio químico é utilizado no cálculo da especiação de metais, equilíbrio de solubilidade, sorção, etc., para águas naturais (VISUAL MINTEQ, 2009).

As relações percentuais entre as concentrações do metal livre e a total (ψ) foram calculadas pela Equação 6 (LI, 2005).

$$\psi = \frac{concentração\ do\ metal\ livre}{concentração\ total\ do\ metal} \qquad (6)$$

Utilizou-se essa equação para o cálculo do $\psi_{teórico}$, através dos valores obtidos pelo aplicativo Visual MINTEQ, e o ψ "reais" através dos valores obtidos pela DGT.

3.5 Efeito da camada difusiva limite (CDL)

No intuito de se verificar o efeito da CDL na performance da técnica DGT à base de celulose, realizou-se, nas mesmas condições do item 3.4, uma imersão na solução "c", entretanto utilizando-se apenas uma membrana do papel cromatográfico 3 MM como meio difusivo, sob agitação. Este ensaio foi realizado em triplicata.

Os metais Ca, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb foram determinados por TXRF, como descrito no item 3.10.1.

3.6 Homogeneização na retenção dos metais sobre a membrana P 81

Avaliou-se a homogeneização na retenção dos metais na membrana P 81 através da análise de elementos químicos presentes em 9 “spots” distintos deste filtro pela da técnica de EDXRF (item 3.10.3), utilizando-se um colimador com diâmetro 1 mm entre o feixe de excitação e a amostra. Os círculos em amarelo da Figura 6 indicam os pontos que foram analisados. O tempo de aquisição foi de 300 s e a análise foi feita em duplicata.

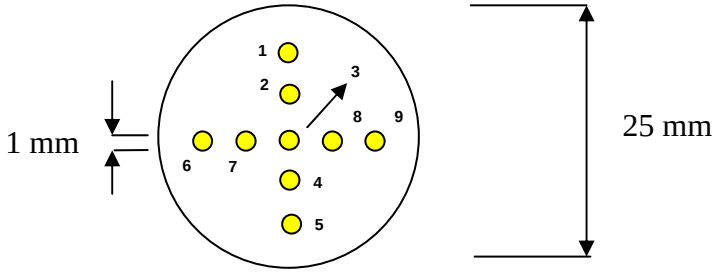

Figura 6 - Membrana P 81 analisada em 9 posições distintas (círculos amarelos) pela técnica de EDXRF, utilizando feixe de excitação com diâmetro de 1 mm

3.7 Comparação entre os agentes ligantes P 81 e Chelex-100

Prepararam-se quatro litros de uma solução sintética contendo os metais Ca, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb na concentração de 100 μg ml^{-1}, pH em 5,50, força iônica ajustada com $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1} com $NaNO_3$, e SH na concentração de 0,35 mg L^{-1}.

Montaram-se os dispositivos DGT contendo como meio difusivo o papel cromatográfico 3 MM e como agentes ligantes (a) membrana P 81 e (b) resina Chelex-100 embebida em gel de poliacrilamida, conforme o item 3.1.2. O tempo de imersão foi de 48 h. Após a retirada dos dispositivos, fez-se a eluição da membrana

P 81, conforme o item 3. 2. 2. Os metais Ca, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb foram determinados por EDXRF na membrana P 81, como descrito no item 3.10.3. A resina Chelex-100, por sua vez, foi eluida com 2,0 mL de uma solução de ácido nítrico 1 mol L^{-1}, durante 24 h, e os metais Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb determinados por ICP-OES (TONELLO et al., 2007).

3.8 Comparação entre os meios difusivos papel cromatográfico 3 MM e géis de poliacrilamida não restritivo e restritivo

Prepararam-se quatro litros de uma solução sintética contendo os metais Ca, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb na concentração de 0,100 mg L^{-1}, pH em 5,50, força iônica ajustada com $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}, e SH na concentração de 3,5 mg L^{-1}.

Montaram-se os seguintes dispositivos DGT contendo como agente ligante a membrana P 81, e como meio difusivo: (a) duas membranas do papel cromatográfico 3 MM; (b) gel de poliacrilamida não restritivo; e (c) gel de poliacrilamida restritivo, conforme o item 3.1. O tempo de imersão foi 48 h. Os metais Ca, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb foram determinados por EDXRF, como descrito no item 3.10.3.

3.9 Imersões da DGT à base de celulose em amostras de água de rios da bacia do rio Piracicaba

3.9.1 Imersões em laboratório (1ª coleta)

3.9.1.1 Procedimento de coleta

Coletaram-se 10 L de amostra de água, em galões de polietileno previamente descontaminados, em quatro pontos da bacia do rio Piracicaba. A Tabela 1 indica o rio, coordenadas, município, data e horário dos quatro pontos de coleta. A Figura 7 mostra os pontos de amostragem no mapa desta bacia. Mediram-se a condutividade elétrica ($\mu S\ cm^{-1}$) com o equipamento da marca Testo, modelo 240, e também a concentração hidrogeniônica, através de um medidor de pH da marca Tecnal, modelo pH meter TEC-2, no momento em que as amostras chegaram ao laboratório. As coordenadas UTM dos pontos de coleta foram obtidas através do equipamento GPS Garmin, modelo GPS 76.

Tabela 1 - Localização dos pontos de coleta de 4 amostras de água coletadas na bacia do rio Piracicaba (TXRF)

	Rio	Coordenadas UTM	Município	Data da coleta	Horário
01	Corumbataí	23 K 0225146 748931	Piracicaba	15/fev/2010	7h56
02	Atibaia	23 K 0278251 7483041	Paulínia	19/fev/2010	10h16
03	Piracicaba	23 K 0214541 7487760	Distrito de Artemis, Piracicaba	21/fev/2010	10h26
04	Piracicaba	23 K 0234619 7488545	Piracicaba	23/fev/2010	14h33

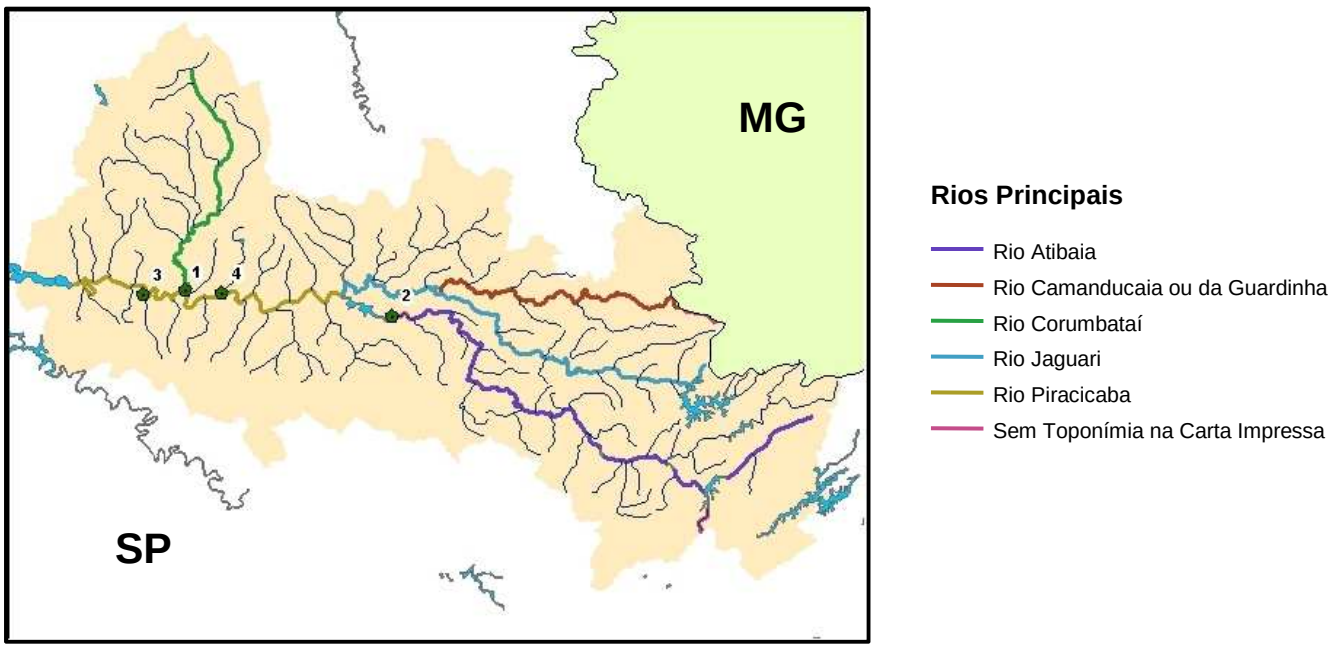

Figura 7 - Mapa da bacia do rio Piracicaba com os quatro pontos de coleta descritos na Tabela 1 (ANA, 2001)

3.9.1.2 Imersão do dispositivo DGT (papel cromatográfico 3 MM como meio difusivo e membrana P 81 como agente ligante), em amostras de água da bacia do rio Piracicaba, seguido da determinação dos metais lábeis pela SRTXRF

Montou-se o dispositivo DGT, conforme o item 3.1.2. Em um béquer plástico, transferiram-se 4 L da amostra de água da bacia do rio Piracicaba e, em seguida, fez-se a imersão do dispositivo. Realizou-se o experimento em triplicata para os 4 pontos de coleta com o tempo de imersão de 48 h. Após a retirada dos dispositivos, fez-se a eluição, conforme o item 3.2.2. Os metais Ca, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb foram determinados por SRTXRF, como descrito no item 3.10.2.

3.9.1.3 Determinação de metais dissolvidos nas amostras de água da bacia do rio Piracicaba pela SRTXRF

Fez-se a filtração de 5 mL da amostra nos quatro pontos de coleta, utilizando-se uma membrana com porosidade de 0,45 μm, da marca Millipore, modelo Millex-HV, acoplada a uma seringa plástica, sistema de filtragem mostrado na Figura 8, para a determinação dos metais dissolvidos.

Figura 8 - Sistema de filtragem com membrana da Millipore, modelo Millex-HV, para amostras de água da bacia do rio Piracicaba para a determinação de metais dissolvidos

As amostras filtradas foram acidificadas com HNO_3 *sub-boiled* e analisadas por SRTXRF (item 3.10.2).

3.9.2 Imersões *in situ* (2ª coleta)

3.9.2.1 Localização dos pontos de imersão *in situ*

Realizaram-se as imersões da DGT à base de celulose *in situ* em cinco pontos da bacia do Piracicaba, indicados na Tabela 2 e visualizados na Figura 9.

Tabela 2 - Localização dos pontos de coleta de 5 amostras de água coletadas na bacia do rio Piracicaba (EDXRF)

Ponto	Rio	Coordenadas UTM	Município	Período de imersão
01	Ribeirão Claro	23 K 0233514 7511732	Rio Claro	31/ago – 02/set/2010
02	Piracicaba	23 K 0230717 7487484	Piracicaba	08/set – 10/set/2010
03	Piracicamirim	23 K 0230093 74886605	Piracicaba	08/set – 10/set/2010
04	Corumbataí	23 K 0233280 7511702	Rio Claro	15/set – 17/set/2010
05	Camanducaia	23 K 0291554 7492663	Jaguariúna	21/set – 23/set/2010

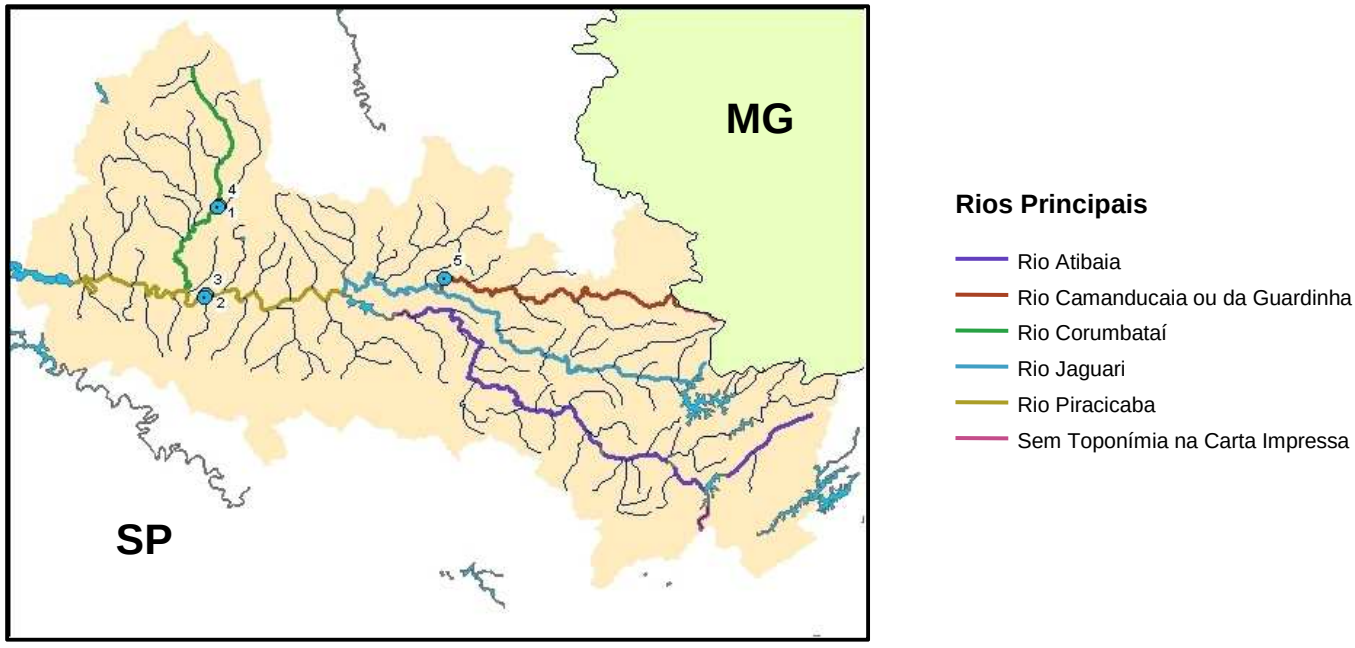

Figura 9 - Mapa da bacia do rio Piracicaba com os cinco pontos de coleta indicados na Tabela 2 (ANA, 2001)

3.9.2.2 Procedimento de imersão *in situ* da DGT à base de celulose

Montou-se o dispositivo DGT, conforme o item 3.1.2. Com o auxílio de um bóia de isopor, linha de pesca de poliamida (diâmetro de 0,5 mm) e um "peso" plástico, como mostra a Figura 10, fez-se as imersões, em triplicata, dos dispositivos DGT à base de celulose em 5 pontos da bacia do rio Piracicaba. A profundidade de imersão em relação à superfície do rio foi de 10 cm e o tempo de imersão de 48 h. Após a retirada dos dispositivos do sistema aquático, fez-se a transferência para sacos plásticos de polietileno novos, acondicionado-os em uma caixa de isopor contendo gelo. No laboratório os DGTs foram desmontados e as membranas P 81 transferidas para uma placa de Petri plástica e, em seguida, secas em estufa na temperatura de 50 ^{o}C. Os metais Ca, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb foram determinados por EDXRF, como descrito no item 3.10.3.

Figura 10 - Sistema de imersão *in situ* dos dispositivos DGT em rios da bacia do rio Piracicaba. Esta foto refere-se ao ponto de amostragem no ribeirão Piracicamirim

3.10 Análise por fluorescência de raios X dispersiva em energia

3.10.1 Análise por fluorescência de raios X dispersiva em energia por reflexão total com excitação por tubo de raios X (TXRF)

3.10.1.1 Preparo dos padrões

Os padrões para as curva analíticas foram preparadas a partir de soluções padrões estoque de 1000 μg mL^{-1} de Cr, Mn, Co, Ni, Cu e Pb e 1005 μg mL^{-1} de Ca e Zn, fabricadas pela Aldrich Inc. e Specsol.

No preparo dos padrões para a análise por TXRF, com excitação por tubo de raios X, adicionou-se Ga como padrão interno na concentração de 5,125 mg L^{-1}; em seguida, após homogeneização, 25 μL do padrão foram pipetados sobre o suporte de quartzo. A secagem foi realizada em estufa à temperatura de 60 ^{o}C.

3.10.1.2 Preparo das amostras

Na etapa de preparo da amostra para análise por TXRF seguiu-se o mesmo procedimento descrito para os padrões. Todo o preparo das amostras e padrões foi realizado em uma capela de fluxo laminar.

3.10.1.3 Parâmetros do equipamento

Utilizou-se um módulo de reflexão total fabricado pela “Atominstitut der Österreichischen Universitäten”, composto de unidade colimadora, seletor de energia “cut-off” de Duran nas dimensões 50 x 20 x 7 mm, e um suporte para refletor de 215 mm, acoplado a um tubo de raios X de Mo, fabricado pela Philips, modelo PW 1316, como mostra a Figura 11. Em todas as análises realizadas neste equipamento, utilizou-se filtro de Zr na saída do feixe de excitação, utilizando-se sempre uma alta tensão de 30 kV e corrente elétrica de 40 mA no tubo de raios X.

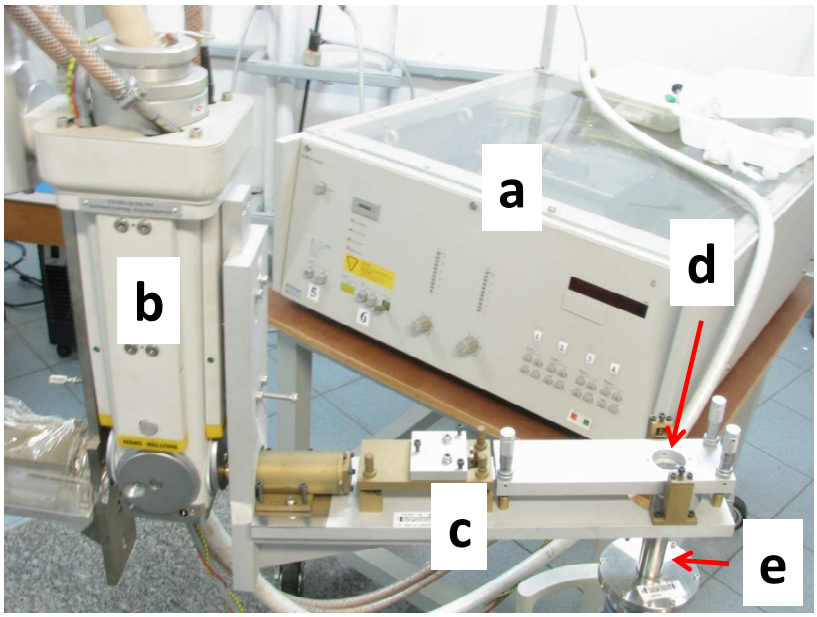

Figura 11 - Espectrômetro de fluorescência de raios X dispersivo em energia por reflexão total: **a** - gerador de alta tensão; **b** - tubo de raios X, com alvo de Mo e filtro de Zr; **c** - módulo de reflexão total; **d** - suporte para o quartzo contendo a amostra ou padrão; **e** - detector Si(Li)

3.10.1.4 Quantificação na TXRF

Na técnica de TXRF, a intensidade dos raios X característicos do elemento de interesse (I_i) é correlacionada diretamente com a sensibilidade (S_i) e concentração (C_i), segundo a Eq. 7.

$$I_i = S_i . C_i \tag{7}$$

Por outro lado, devido à variação do fluxo de raios X na excitação, imprecisão na pipetagem e, principalmente, erros na geometria na secagem da amostra, a adição de um padrão interno torna-se necessária. Sendo assim, a Eq. 7 pode ser reescrita, corrigindo-se as intensidades dos raios X dos elementos de interesse pela intensidade do padrão interno, como mostra a Eq. 8 (NASCIMENTO FILHO et al., 1999):

$$R_i = S'_i . C_i \tag{8}$$

sendo:

$$R_i = \frac{I_i}{I_{Ga} / C_{Ga}} \tag{9}$$

e

$$S'_i = \frac{S_i}{S_{Ga}} \tag{10}$$

onde: I_i, R_i, S_i, S'_i, C_i = intensidade (cps) e intensidade relativa (mg L^{-1}) dos raios X característicos, sensibilidade analítica (cps mg^{-1} L) e sensibilidade relativa

(adimensional), concentração do analito i (mg L^{-1}), e I_{Ga}, S_{Ga}, C_{Ga} = intensidade (cps) dos raios X característicos, sensibilidade analítica (cps mg^{-1} L) e concentração do elemento Ga (mg L^{-1}), respectivamente. O tempo de aquisição (excitação/detecção) das amostras e padrões foi de 300 s.

3.10.1.5 Limite de detecção na TXRF

O limite de detecção (*LD*), por sua vez, é calculado pela Eq. 11 (NASCIMENTO FILHO et al., 1999; CURRIE, 1968).

$$LD = 3\sqrt{\frac{I_{i(BG)}}{t}}\,\frac{C_{Ga}}{I_{Ga}S'_i} \qquad (11)$$

onde: *LD* = limite de detecção (µg L^{-1}), $I_{i(BG)}$ = intensidade (cps) do *background* sob o pico do analito, C_{Ga} = concentração do elemento Ga (µg L^{-1}), I_{Ga} = intensidade dos raios X característico do elemento Ga (cps), S_i' = sensibilidade relativa do analito (cps μg^{-1} L), e *t* = tempo de aquisição (excitação/detecção, s).

3.10.2 Análise por fluorescência de raios X dispersivo em energia por reflexão total com excitação por luz síncrotron (SRTXRF)

A excitação foi realizada com um feixe policromático (de 4 a 22 keV) com as dimensões de 5 mm de largura e 0,1 mm de altura sob o ângulo de reflexão total na linha D09B- XRF, do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron, Campinas, SP (Figuras 12 e 13). O tempo de aquisição foi de 300 s.

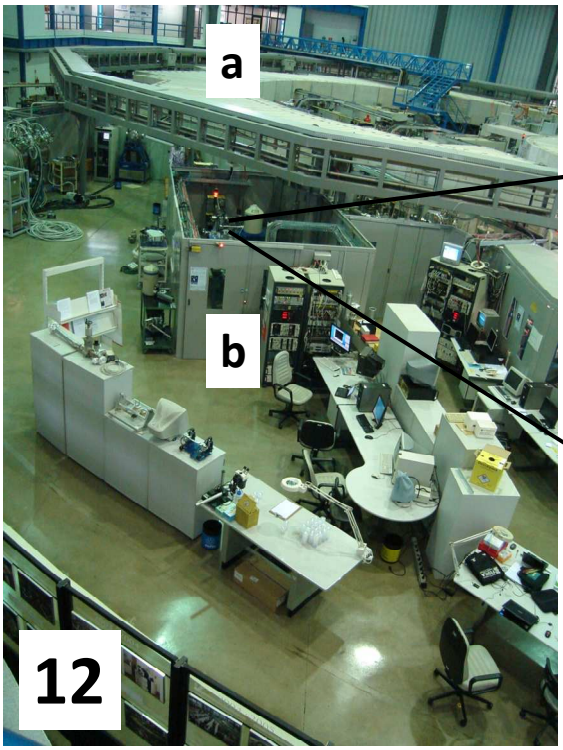

Figura 12 - Vista aérea interna parcial do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron: **a** - Anel de armazenamento de elétron (perímetro de 93 m); **b** - Linha de fluorescência de raios X (D09B-XRF)

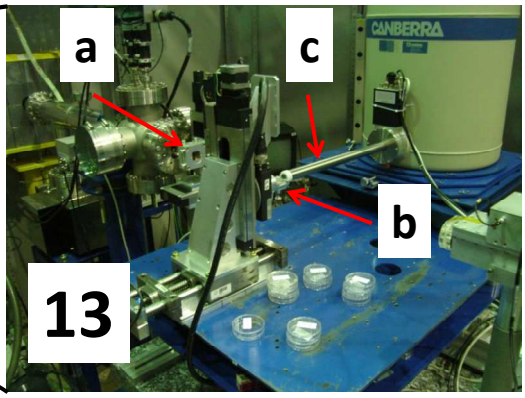

Figura 13 - Módulo de fluorescência de raios X por reflexão total, excitado com Luz Síncrotron: **a** - Feixe de excitação; **b** - Suporte para amostra; **c** - Detector de Si(Li)

Na SRTXRF seguiu-se o mesmo procedimento de preparo dos padrões e amostras, itens 2.10.1.1 e 2.10.1.2, exceto o suporte e o volume pipetado do padrão que foram de lucite de 10 µL, respectivamente. Na quantificação dos metais e cálculo do LD, seguiram-se os itens 2.10.1.4 e 2.10.1.5.

3.10.2.1 Avaliação da exatidão na SRTXRF

Avaliou-se a exatidão do método SRTXRF através da análise do padrão *Drinking water pollutants*, nº 41394-1, produzido pela Aldrich Chemical Company. A análise foi realizada em triplica e o tempo de excitação/detecção foi de 200 s na primeira coleta e 300 s na segunda.

3.10.3 Análise por fluorescência de raios X dispersivo em energia convencional (EDXRF)

3.10.3.1 Parâmetros do equipamento

Utilizou-se um espectrômetro de fluorescência de raios X dispersiva em energia, da marca Shimadzu, modelo EDX-720. Este equipamento possui um tubo de raios X com alvo de Rh e um detector de raios X de Si(Li). Todas as análises desse trabalho por EDXRF foram realizadas com tempo de aquisição de 300 s. A Figura 14 mostra a foto da membrana P 81 obtida com uma câmera de CCD (dispositivo de carga acoplada, em inglês *charged coupled device*) no equipamento EDX-720, com a possibilidade de irradiação da amostra com colimadores de 10, 5, 3 e 1 mm de diâmetro.

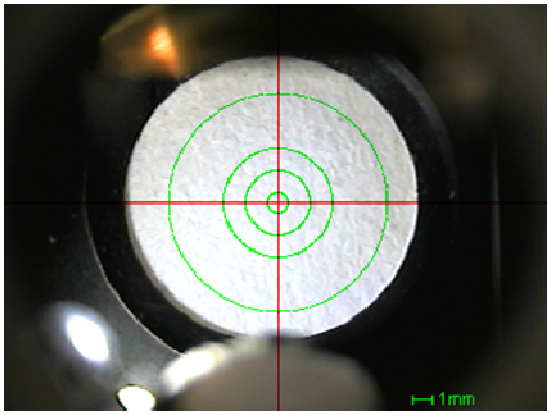

Figura 14 - Foto da membrana P 81 obtida através de uma câmera de CCD do equipamento EDX-720, da marca Shimadzu

3.10.3.2 Quantificação na EDXRF

Na técnica de EDXRF, a concentração do elemento de interesse (C_i, μg cm^2) é determinada através da equação 12 (NASCIMENTO FILHO, 2007):

$$C_i = \frac{I_1}{S_i . A_i} \qquad (12)$$

onde: I_i,S_i e A_i representam, respectivamente, a intensidade de raios X (cps μA^{-1}), a sensibilidade elementar (cps cm^2 μg^{-1} μA^{-1}) e o fator de absorção do elemento de interesse (adimensional).

No cálculo da sensibilidade elementar S_i foram utilizados padrões de filmes finos fornecidos pela MicroMatter^{TM}. As concentrações destes padrões são mostradas na Tabela 3.

Tabela 3 - Concentrações elementares (μg cm^{-2}) de padrões de filmes finos (MicroMatter™)

Elemento	Concentração (μg cm^{-2})
Al	46,5
Si	32,2
P	14,0
S	12,0
Cl	24,2
K	26,7
Ca	30,9
Sc	21,9
Ti	43,3
Mn	60,0
Fe	49,5
Cu	42,3
Zn	16,2
Se	49,5
Sr	32,7
Pb	48,3

Por sua vez, o fator de absorção A_i é definido através da Equação 13 (NASCIMENTO FILHO, 2007):

$$A = \frac{1 - e^{-\chi . \rho_o . D}}{\chi . \rho_o . D} \qquad (13)$$

sendo: $\boldsymbol{\rho_o}$ = densidade superficial da amostra (g cm^{-3}), $\boldsymbol{\chi}$ = coeficiente total de absorção de massa (cm^2 g^{-1}), e $\boldsymbol{D}$ = espessura da amostra (cm).

O fator χ, por sua vez, é determinado pela equação 14 (NASCIMENTO FILHO, 2007):

$$\chi = \mu_0 / \text{sen}\theta_0 + \mu / \text{sen}\theta \qquad (14)$$

onde: μ_o = coeficiente de absorção de massa da matriz ($cm^2\ g^{-1}$) na energia do raio X de excitação, μ = coeficiente de absorção de massa da matriz ($cm^2\ g^{-1}$) na energia do raio X do elemento de interesse, θ_o = ângulo de excitação (entre a direção do feixe de excitação e a superfície da amostra), e θ = ângulo de detecção (entre a superfície da amostra e a direção do feixe emergente).

3.10.3.3 Cálculo do fator de absorção

O fator de absorção A_i foi calculado com o auxílio do programa AXIL 3.6. (QXAS, 2005). Neste programa, para a determinação de A_i na membrana P 81, solicita-se: (1) os ângulos de excitação e detecção, (2) a densidade superficial da amostra, (3) a sua composição, e (4) as energias de excitação e dos raios X característico do elemento de interesse. Os ângulos de excitação e detecção empregados foram 60^o e 45^o, respectivamente.

A densidade superficial da membrana P 81 foi calculada como a razão entre as medidas das massas e áreas de três filtros novos (ensaio em triplicata). Utilizou-se uma balança analítica da marca Shimadzu, modelo AEG-45SM, com precisão de 10 μg. O diâmetro da membrana P 81 é 25 mm (valor fornecido pelo fabricante e verificado com um paquímetro da marca Mitotoyo, com precisão de 0,1 mm). Como composição a amostra foi considerada como celulose, ou seja, $(C_6H_{10}O_5)_n$.

Na análise das membranas P 81 por EDXRF utilizou-se dois modos de operação. Um modo a foi utilizado para a determinação dos elementos do $_{11}$Na ao $_{21}$Sc, com alta tensão no tubo de 15 kV e uma corrente de 1 mA, e outro modo b para a determinação dos elementos do $_{22}$Ti ao $_{92}$U, com 50 kV e 0,372 mA. Em ambos os modos a análise foi realizada sob vácuo, sem filtro e tempo de aquisição de 300 s. Sendo a amostra irradiada com tubo de raios X na condição sem filtro, o espectro de excitação compreendeu uma região contínua (radiação de freamento) nos dois modos de operação, e no segundo modo, acrescido das linhas discretas Kα e Kβ do Rh, com energias de 20,170 e 22,725 keV, respectivamente.

Assim, para o cálculo do fator de absorção A_i no modo a considerou-se como energia dos raios X de excitação, a energia com intensidade máxima no espectro contínuo - que corresponde a 2/3 da energia máxima dos raios X produzido pelo tubo de raios X nesta condição (BERTIN, 1975; MARKOWICZ, 2002). Segundo BERTIN (1975), para fins práticos, os raios X com máxima intensidade podem ser considerados como a energia efetiva do espectro contínuo, possuindo a mesma absorção em dado absorvedor. Assim, sendo a energia máxima de 15 keV, a energia dos raios X de excitação utilizada no cálculo de A_i, do $_{11}$Na ao $_{21}$Sc, foi de 10 keV.

As energias dos raios X característicos de cada elemento são encontradas na literatura (MARKOWICZ, 2002).

Por outro lado, no modo b, além da região contínua, têm-se as linhas Kα e Kβ do Rh. Nesse caso considerou-se para o cálculo de absorção a linha de intensidade máxima do contínuo nesta condição, no caso 33,3 keV (2/3 da energia de 50 keV), e também as intensidades relativas das linhas discretas (Kα e Kβ). Pela literatura é sabido também que a razão Kα/Kβ do Rh é 0,795:0,205. Assim, o A_i, para os elementos do $_{22}$Ti ao $_{92}$U, foi calculado através da equação 15:

$$A_i = 0{,}5*[A\ (33{,}3\ keV) + 0{,}795*A\ (K\alpha\ do\ Rh) + 0{,}205*A\ (K\beta\ do\ Rh)] \qquad (15)$$

3.10.3.4 Avaliação da exatidão na EDXRF

Avaliaram-se as exatidões do método de EDXRF para os colimadores de 10, 5 e 1 mm através amostra de referência certificada *Standard Reference Material® 2783 – Air particulate on filter media,* produzido pelo Instituto Nacional de Padrões & Tecnologia (*National Institute of Standards & Technology,* NIST). A análise foi realizada em triplica e o tempo de excitação/detecção foi de 300 s.

3.10.3.5 Limite de quantificação na EDXRF

O limite de detecção (*LD*), por sua vez, é calculado pela Eq. 16 (NASCIMENTO FILHO, 2007; CURRIE, 1968).

$$LD = \frac{3}{S_i A_i}\sqrt{\frac{I_{i(BG)}}{t}} \qquad (16)$$

onde: *LD* = limite de detecção (μg cm^{-2}), $I_{i(BG)}$ = intensidade (cps μA^{-1}) do *background* sob o pico do analito, S_i = sensibilidade elementar (cps cm^2 μA^{-1} μg^{-1}), A_i = fator de absorção, e *t* = tempo de aquisição (excitação/detecção, s).

3.11 Determinação do carbono orgânico dissolvido

Coletou-se um litro da amostra em cada ponto de coleta na bacia do rio Piracicaba (1ª e 2ª coletas) seguido do acondicionamento na temperatura de -17 ^{o}C. Antes de ser analisada, a amostra foi descongelada e filtrada no filtro Whatman "*Glass microfiber filter*", com 25 mm de diâmetro, nº 1825025. Em seguida, adicionaram-se 100 μL de uma solução de HCl na concentração de 2 mol L^{-1} em uma alíquota de 20 mL da amostra. Purgou-se a amostra com o gás N_2 e injetou-se no equipamento Shimadzu, modelo TOC (*Total Organic Carbon Analyser*) – 500A, o volume de 50 μL da amostra.

3.12 Análise estatística

Nas comparações entre médias com seus respectivos desvios padrões, nos diferentes ensaios deste trabalho, empregou-se o teste estatístico *t-Student*, com α = 0,05. Este teste estatístico foi realizado com o auxílio do programa Bioestat 2.0 (BIOESTAT, 2000).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Preparo do dispositivo DGT

As descontaminações do agente ligante P 81 e do papel cromatográfico 3 MM, utilizado como meio difusivo, através de uma solução de ácido nítrico 1 mol L^{-1}, não ocasionaram, visualmente, nenhum dano estrutural (desintegração) no período de 24 h. Deve-se comentar, no entanto, que a neutralização na faixa de pH entre 6,5 e 7,5 foi obtida apenas após sucessivas lavagens com água desionizada.

Devido às estruturas da membrana P 81 e do papel cromatográfico 3 MM serem relativamente rígidas, a montagem da DGT à base da celulose é simples e rápida.

4.2 Soluções sintéticas

Todas as soluções sintéticas utilizadas neste trabalho continham os metais Ca, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb na concentração de 0,1 ou 0,5 mg L^{-1}, força iônica ajustadas em 0,05 mol L^{-1} e pH no valor de 5,5. Entretanto, mesmo após o procedimento de descontaminação da membrana de celulose P 81, observou-se a contaminação de Ca na “amostra branco”, verificado pelas técnicas EDXRF e TXRF. Kubay et al. (1999) reporta que as membranas de celulose com grupo fosfato apresentam uma forte interação com cátions divalentes.

Não se optou por uma descontaminação mais agressiva, pois neste ambiente a membrana P 81 poderia se degradada. Assim, decidiu-se avaliar o desempenho da DGT à base de celulose, em diferentes condições, para os metais Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb.

Vale salientar que a força iônica das soluções sintéticas foram ajustada com $NaNO_3$ na concentração de 0,05 mol L^{-1}, o que representa uma concentração de 1,145 g de Na L^{-1}, ou seja, uma concentração 2290 vezes maior que a do Ca nesta solução.

4.3 Fator de eluição

A Tabela 4 mostra os fatores de eluição (%) para os metais Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb na membrana P 81 utilizando os volumes de 0,250, 0,500 e 1,000 mL de ácido nítrico 2 mol L^{-1} (item 3.2.). Observa-se na Tabela 4 um baixo fator de eluição para o Cr e Mn, nos diferentes volumes.

Tabela 4 - Fatores de eluição (%) e os respectivos desvios padrões, para os metais Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb na membrana P 81, para volumes de 0,250, 0,500 e 1,000 mL de ácido nítrico 2 mol L^{-1}

	0,250 mL	0,500 mL	1,000 mL
Elemento	Fator de eluição (%)	Fator de eluição (%)	Fator de eluição (%)
Cr	47± 8	51 ± 7	52 ± 5
Mn	55 ± 7	64 ± 4	77 ± 5
Co	79 ± 8	89 ± 11	81± 2
Ni	91 ± 9	113 ± 20	106 ± 6
Cu	86 ± 2	100 ± 11	99 ± 5
Zn	89 ± 11	94 ± 9	110 ± 5
Pb	76 ± 13	95 ± 11	97 ± 12

Larner e Seen (2005) calcularam a eficiência de eluição para os metais Cd, Mn, Co, Ni Cu, Zn e Pb na membrana P 81 utilizando 5 mL de ácido nítrico 2 mol L^{-1} por 24 h, sob leve agitação. Foram encontrados valores superiores a 96 % para estes metais.

Embora utilizando outro agente ligante, a Chelex-100, Zhang e Davison (1995), em um dos primeiros trabalhos utilizando DGT, verificaram que a eficiência de eluição para o Zn, Cd, Cu, Ni, Mn e Fe, utilizando ácido nítrico 2 mol L^{-1},

é independente do tempo de eluição (de uma hora a uma semana), e não se alterava com o aumento da concentração de HNO_3 até 3 mol L^{-1}.

Neste trabalho, após 4 horas de eluição percebeu-se que a membrana P 81 sofreu degradação, que se atribuiu à agitação e à concentração do ácido nítrico (2 mol L^{-1}). Por este motivo, utilizou-se uma centrífuga para separar eventuais fragmentos da membrana após a eluição. Contudo, este fato, a princípio, não impede uma efetiva eluição do metal de interesse, embora impossibilite o reuso do agente ligante em futuras análises.

Embora o fator de recuperação utilizando 0,250 mL de HNO_3 2 mol L^{-1} em relação aos volume de 0,5 mL e 1,0 mL tenha sido menor, fez-se a escolha desta condição, pois assim têm-se maiores fatores de pré-concentração. Ressalta-se que a escolha deste pequeno volume foi possível, pois a análise instrumental utilizada foi a fluorescência de raios X por reflexão total, que necessita apenas de um volume da ordem de micro-litros da amostra líquida (KLOCKENKÄMPER, 1997).

4.3.1 Cálculo do coeficiente de difusão (DGT-TXRF)

4.3.1.1 Retenção de metais na DGT em função do tempo

As determinações dos coeficientes de difusão para o Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb no papel cromatográfico Whatman 3 MM foram realizadas através da imersão dos dispositivos DGT em solução sintética, item 3.3, obtendo-se uma acúmulo do metal em função do tempo.

A Figura 15 mostra a massa (µg) de Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb retida no dispositivo DGT em função do tempo de imersão (h), procedimento descrito no item 3.3. As massas dos metais foram determinadas através da eluição (item 3.2) do agente ligante, seguido da leitura pela TXRF (item 3.10.1).

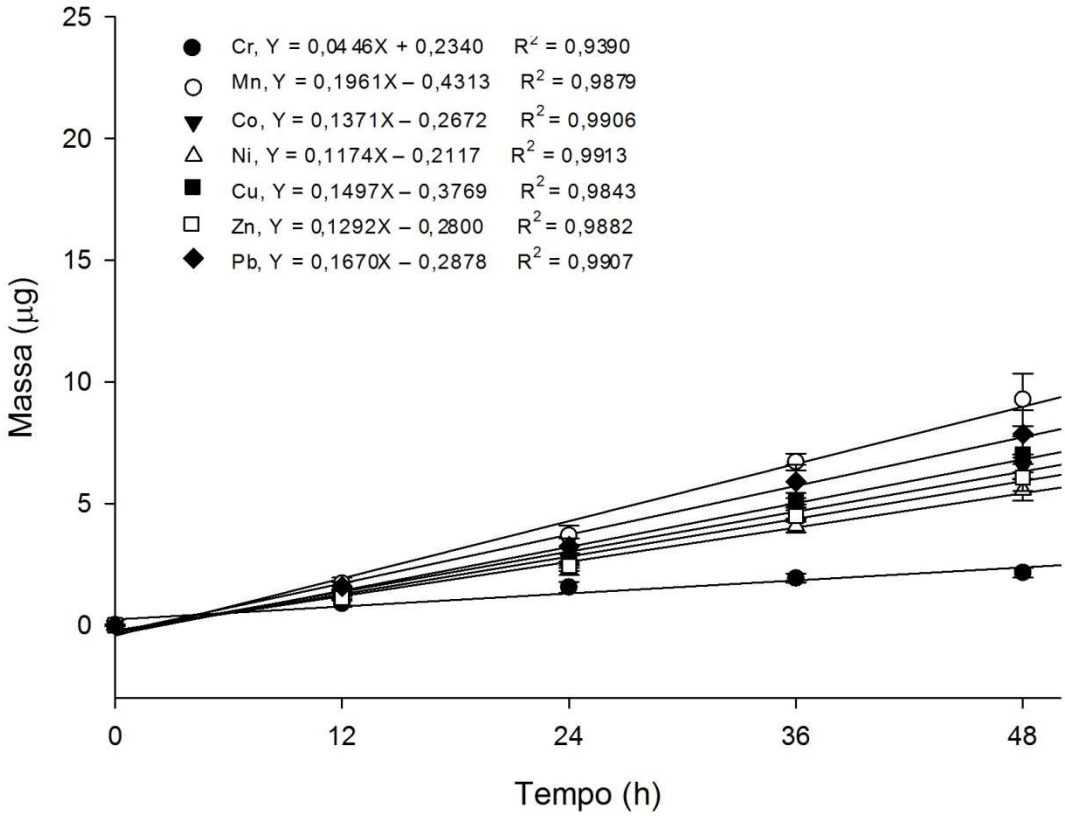

Figura 15 – Massas (µg) de Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb retidas na membrana P 81 em função do tempo de imersão (h), em uma solução sintética contendo 0,5 mg L^{-1} destes metais; pH = 5,5; e $NaNO_3$ 0,05 mol L^{-1}. As amostras foram analisadas pela técnica TXRF. As barras de erro representam um desvio padrão

Conhecendo-se a massa do metal retida no agente ligante em função do tempo de imersão, como mostra a Figura 15, calcularam-se os coeficientes de difusão do papel cromatográfico 3 MM para o Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb a partir da Eq. 5.

No preparo da solução sintética (item 3.3) o Cr na solução padrão 1000 mg L^{-1} desse elemento apresentava-se no estado de oxidação + 3. Segundo Ernstberger, Zhang e Davison (2002), em soluções aquosas com pH > 5 tem-se a formação majoritária da espécie $Cr(OH)_3$. Assim, o Cr^{3+} torna-se apenas passível de determinação pela DGT entre os valores de pH 3 e 5; esses autores utilizaram a resina Chelex-100 em gel de poliacrilamida como agente ligante. Em complemento,

Sule e Ingle Junior (1996) avaliaram um sistema automático para a determinação de Cr^{3+} e Cr^{6+} utilizando duas colunas de retenção. Na avaliação do Cr^{3+} foi empregada a resina Chelex-100, obtendo-se máxima retenção entre os valores de pH 4,0 e 4,5. Para valores entre 5 e 6 verificou-se uma notável diminuição da retenção do Cr^{3+} devido à diminuição da solubilidade desse analito. Ainda, segundo Stumm e Morgan (1996b) a maioria dos íons metálicos trivalentes são coordenados com OH^- dentro da faixa de água de águas naturais.

Nesse sentido, a menor retenção de massa de Cr pela DGT à base de celulose, como mostra as Figuras 15 e 16, deve-se a formação do $Cr(OH)_3$ em pH 5,5, concentração hidrogeniônica utilizada na solução sintética, e assim, não sendo sensível ao agente ligante P 81, contendo o grupo ligante fosfato.

Segundo Zhang e Davison (1995) o pH de água naturais variam entre 4 e 9, e, especificamente, na bacia do rio Piracicaba, é sabido que os valores de pH são próximos da neutralidade. Com isso, a DGT não é apropriada para determinação de Cr^{3+} para águas naturais, seja com o uso de agentes ligantes complexantes, e.g. Chelex-100, ou de troca iônica, como por exemplo, a P 81, devido à presença da espécie não dissolvida do Cr^{3+} na faixa de pH esperada nestas amostras. A determinação de Cr^{6+} pela DGT em águas naturais, no entanto, é factível e promissora através do uso de um agente ligante aniônico.

4.3.2 Cálculo do coeficiente de difusão (DGT-EDXRF)

4.3.2.1 Cálculo do fator de absorção da membrana P 81 na análise por EDXRF

O valor obtido da densidade superficial da membrana P 81 calculada através do item 3. 10. 3. 3, foi de 8,78 mg cm^{-2}. Wu et al. (2008) obteve o valor da densidade superficial de 8,65 mg cm^{-2} para essa mesma membrana; ou seja, um valor próximo ao calculado neste trabalho (erro relativo de 1,5 %).

A Tabela 5 mostra as energias dos raios X característicos Kα e os fatores de absorção *A* do $_{13}$Al ao $_{21}$Sc para a membrana de celulose P 81.

Tabela 5 - Energias dos raios X característicos Kα e os fatores de absorção para os elementos do $_{13}$Al ao $_{21}$Sc para membrana de celulose P 81

Elemento	Energia (keV) dos raios X Kα	Fator de absorção *A*
Al	1,487	0,0917
Si	1,740	0,140
P	2,013	0,209
S	2,308	0,298
Cl	2,622	0,398
K	3,313	0,601
Ca	3,691	0,683
Sc	4,089	0,748

A Tabela 6 mostra as energias dos raios X (Kα) e os fatores de absorção *A* para o Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Sr e Pb (Lβ1) na membrana de celulose P 81.

Tabela 6 - Energias dos raios X característicos Kα e os fatores de absorção *A* para o Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Sr e Pb (Lβ1) na membrana de celulose P 81

Elemento	Energia (keV)	Fator de absorção *A*
Ti	4,509	0,816
V	4,950	0,856
Cr	5,412	0,887
Mn	5,895	0,912
Fe	6,400	0,930
Co	6,925	0,944
Ni	7,473	0,955
Cu	8,042	0,963
Zn	8,632	0,970
Sr	14,142	0,992
Pb(Lβ1)	12,614	0,989

4.3.2.2 Retenção de metais na DGT em função do tempo

A Figura 16 mostra as massas destes metais acumuladas em função do tempo, entretanto, utilizando-se a técnica de EDXRF (item 3.10.3.). O motivo da baixa retenção do Cr foi discutido no item 4.3.1.1.

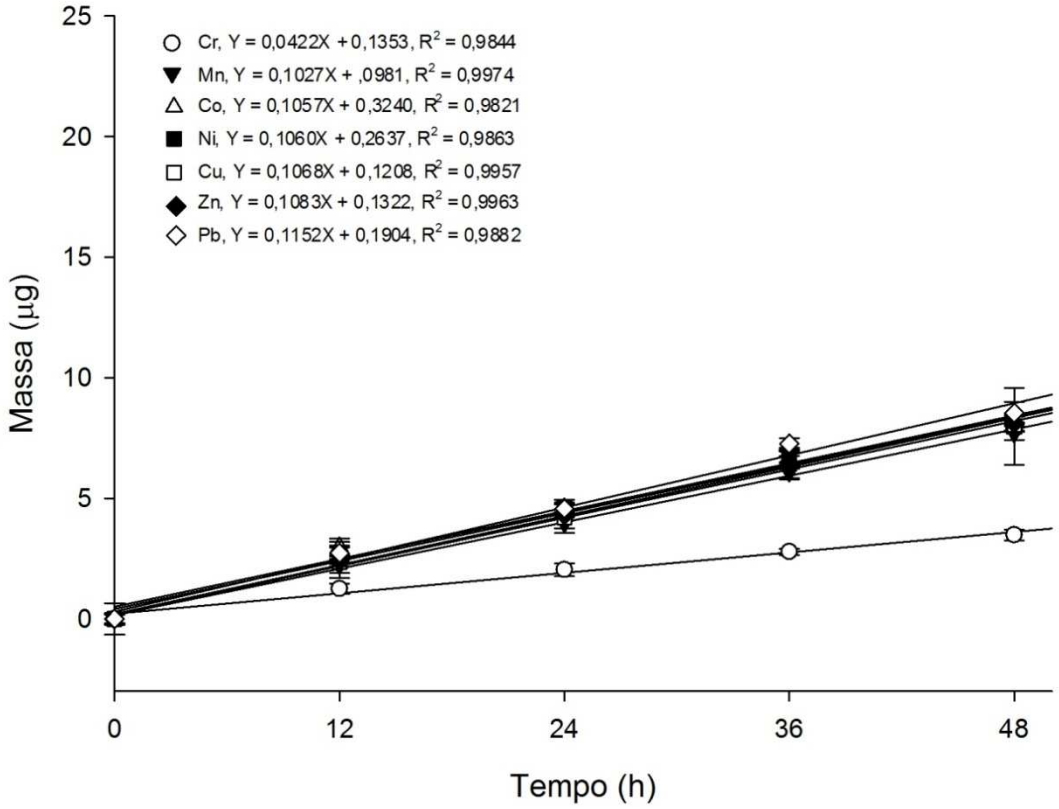

Figura 16 – Massas (µg) de Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb retidos na membrana P 81 em função do tempo (h), em uma solução sintética contendo 0,5 mg L^{-1} destes metais; pH = 5,5; e $NaNO_3$ 0,05 mol L^{-1}. As amostras foram analisadas pela técnica EDXRF. As barras de erro representam um desvio padrão

A Tabela 7 mostra os coeficientes de difusão *D* (10^{-6} cm^2 s^{-1}) para papel cromatográfico 3 MM obtidos pelas técnicas de TXRF e EDXRF, e os valores dos coeficientes para o gel de poliacrilamida restritivo e não-restritivo, na temperatura de 23 ^oC. Os valores de *D* para a 3 MM referem-se a duas camadas do papel cromatográfico.

Tabela 7 - Coeficientes de difusão *D* (10^{-6} cm^2 s^{-1}) para papel cromatográfico 3 MM obtidos através das técnicas de TXRF e EDXRF, e os valores de D para o gel de poliacrilamida restritivo e não-restritivo, na temperatura de 23 ^oC

Elemento	**Membrana 3 MM(*) TXRF**	**Membrana 3 MM(*) EDXRF**	Gel de poliacrilamida restritivo (**)	Gel de poliacrilamida não-restritivo
Cr	**0,726**	**0,687**	3,35	4,78
Mn	**3,19**	**1,67**	3,88	5,54
Co	**2,23**	**1,72**	3,94	5,63
Ni	**1,91**	**1,72**	3,83	5,47
Cu	**2,44**	**1,74**	4,13	5,90
Zn	**2,10**	**1,76**	4,03	5,76
Pb	**2,72**	**1,87**	5,32	7,61

* Valores referentes a duas camadas
** (DGT RESEARCH LTD., 2011a)

Segundo Larner e Seen (2005), os menores valores no coeficiente de difusão para o papel cromatográfico, comparado ao gel de poliacrilamida não se deve aos diâmetros dos poros do papel cromatográfico (porosidade de 6 – 11 μm ante 1 – 20 nm no gel de poliacrilamida), mas a um menor número de poros e teor de água (60 % de umidade no papel cromatográfico, ante 95 % no gel de poliacrilamida). Wellington (2011) obteve para o papel cromatográfico 3 MM o valor do coeficiente de difusão para o Ba de 3,22 10^{-6} cm^2 s^{-1}, através da imersão de dispositivos DGT em solução sintética contendo 0,5 mg L^{-1} desse elemento, pH 5,5 e força iônica ajustada com $NaNO_3$ na concentração 0,05 mol $L^{-1.}$

Segundo Blank e Eksperiandova (1998) o preparo da amostra é a principal fonte de erro na análise por fluorescência de raios X, podendo ser muitas ordens de magnitude maior que outros erros. Assim, a análise direta da membrana P 81 pela técnica de EDXRF reduz drasticamente os erros de preparo da amostra e minimiza eventuais contaminações, pois a amostra (membrana de celulose com o grupo fosfato) é irradiada diretamente após secagem. Este fato torna a EDXRF vantajosa em relação à TXRF ou a outras técnicas espectroquímicas tradicionais.

4.4 Fatores de pré-concentração para Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb no método DGT-TXRF

No item 4.3. discutiram-se os resultados da imersão da DGT à base de celulose em uma solução contendo Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb na concentração de 0, 5 mg L^{-1}, pH 5,5 e força iônica 0,05 mol L^{-1}. Os fatores de pré-concentração do método DGT-TXRF foram determinados a partir da razão entre as concentrações destes metais no eluído e na solução sintética de imersão. A Tabela 8 mostra os fatores de pré-concentração para Cr, Mn, Co, Ni, Cu e Zn da DGT à base de celulose através da técnica DGT-TXRF, considerando 48 h o tempo de imersão.

Tabela 8 - Fatores de pré-concentração para Cr, Mn, Co, Ni, Cu e Zn da DGT à base de celulose através da técnica DGT – TXRF, para um tempo de imersão de 48 h

	Cr	Mn	Co	Ni	Cu	Zn	Pb
Fatores de pré-concentração	4,9	26,8	27,1	26,7	31,2	28,4	31,1

4.5 Efeito da camada difusiva limite

O efeito da camada difusiva limite (CDL) foi estudado através da imersão de dispositivos DGT à base de celulose com uma e com duas membranas do papel cromatográfico 3 MM como meio difusivo em solução sintética (item 3.5). A Tabela 9 mostra as massas de Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb acumulados no agente ligante P 81 do dispositivo DGT nas configurações: (a) duas e (b) uma folha do papel cromatográfico 3 MM.

As massas retidas dos metais Mn e Co foram maiores com a utilização de duas membranas do papel cromatográfico 3 MM, considerando 95 % de probabilidade. Isto significa que para estes dois elementos, a CDL se torna significativa com o uso de uma camada do papel cromatográfico 3 MM como meio difusivo, em comparação com duas camadas. Ressalta-se ainda, que nas imersões *in situ* nos rios da bacia Piracicaba, a agitação não é tão intensa comparada com a imersão em laboratório realizadas no laboratório, assim o CDL pode-se tornar maior e mais crítica. Com isso, optou-se pela utilização de 2 membranas do papel cromatográfico 3 MM como meio difusivo durante todo este trabalho.

Tabela 9 - Massas (média ± um desvio padrão, μg) do Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb utilizando dispositivos DGT com duas e com uma folha do papel cromatográfico 3 MM como meio difusivo

Elemento	2 membranas	1 membrana*	Diferença estatítica
Cr	< LD	< LD	-
Mn	1,54 ± 0,14	0,91 ± 0,10	Sim
Co	0,98 ± 0,09	0,85 ± 0,04	Sim
Ni	0,77 ± 0,08	0,772 ± 0,018	Não
Cu	0,38 ± 0,05	0,38 ± 0,02	Não
Zn	0,92 ± 0,09	0,91 ± 0,03	Não
Pb	1,26 ± 0,19	0,99 ± 0,17	Não

* Valores nominais (massa multiplicada por 0,5)

4.6 Efeito do pH

A faixa ótima de pH da membrana P 81 (agente ligante) para os analitos Cd^{2+} e Cu^{2+} é 4,0 < pH < 9,0 (LI et al., 2002). Isto a faz apropriada para o uso em águas naturais, pois a faixa de pH destas amostras coincide com a faixa ótima de trabalho da P 81, no caso, para estes dois elementos (ZHANG; DAVISON , 1995). O pH da amostra afeta a forma química do metal no sistema aquático e os grupos funcionais do agente ligante na DGT. No caso da membrana P 81, o grupo funcional fosfato pode ter a carga 0, -1, -2 ou -3 dependendo do pH do meio. Em valores de pH menores que 4,0, o grupo fosfato está na forma ácida, apresentando menor capacidade de ligação com os íons metálicos. Entretanto, a capacidade de ligação aumenta em valores de pH > 4. Ainda, em pH próximo da neutralidade e levemente básico, a maioria dos metais bivalentes são coordenados com moléculas de água, os aquo-complexos (STUMM; MORGAN, 1996b).

Desta maneira, o mesmo comportamento do Cd^{2+} e Cu^{2+} é esperado para o Mn^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Zn^{2+} e Pb^{2+}. Em complemento, Wellington (2011) estudou a DGT à base de celulose, utilizando o papel cromatográfico 3 MM como meio difusivo e a membrana P 81 como agente ligante, e entre os valores de pH 4 e 10, faixa estudada por este autor, a retenção do metal manteve-se constante, considerando pH e força iônica ajustados em 5,5 e 0,05 mol L^{-1} de $NaNO_3$. Como comparação, a resina Chelex-100 possui uma faixa ótima de pH mais restrita, indo de 5,0 até 8,3 (ZHANG; DAVISON, 1995).

4.7 Efeito da força iônica

Vários autores discutiram o efeito da força iônica (*I*) no desempenho da DGT para águas naturais (ZHANG; DAVISON, 1995; ALFARO-DE LA TORRE; BEAULIEU; TESSIER, 2000; PETERS; ZHANG; DAVISON, 2003; WARNKEN;

ZHANG; DAVISON, 2005; LARNER; SEEN, 2005; PICHETTE et al., 2007). Em águas naturais, a força iônica torna-se limitante para $I < 0,2$ mmol L^{-1}, devido a um contra-fluxo de íons sódio utilizando gel de poliacrilamida como meio difusivo e a Chelex-100 como agente ligante, o que ocasiona um aumento no coeficiente de difusão. Segundo Larner e Seen (2005) na DGT à base de celulose, utilizando o papel cromatográfico 17 Chr e a membrana P 81 como agente ligante, o efeito da força iônica torna-se limitante para $I \leq 0,5$ mmol L^{-1}. Ainda, segundo esses autores, o meio difusivo cromatográfico, ao contrário do gel de poliacrilamida, mostra-se reprodutível em amostras com baixa força iônica, possibilitando assim uma prévia calibração através de uma solução similar à matriz da amostra. No entanto, no presente trabalho as amostras sintéticas e reais apresentaram valores de *I* significativamente maiores que estes valores críticos.

4.8 Efeito da substância húmica

A Figura 17 mostra os espectros de raios X dos metais Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb retidos no DGT à base de celulose imersos nas soluções “a”, “b” e “c”, item 3.4. Os picos de raios X do Ga são devidos a adição desse elemento na amostra como padrão interno.

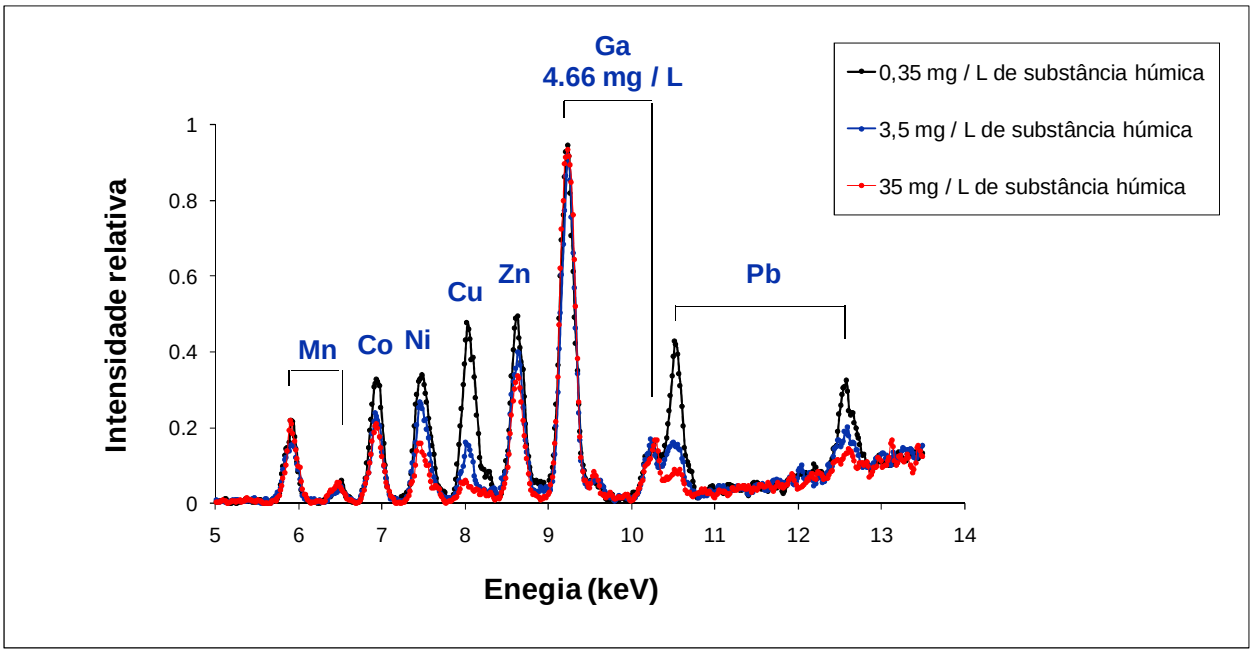

Figura 17 - Espectros de raios X do Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb retidos no DGT à base de celulose, imersos por 48 h em solução contendo 100 μg L^{-1} desses metais, pH 5,5, força iônica ajustada com $NaNO_3$ na concentração de 0,05 mol L^{-1}, e SH na concentrações de 0,35; 3,5 e 35 mg L^{-1}, soluções "a", "b" e "c", do item 3.4. Utilizou-se o Ga como padrão interno.

Substâncias húmicas (SH) aquáticas são ácidos poliméricos que podem ser isolados de águas naturais com trocadores iônicos de base fraca ou uma resina XAD, no qual a adsorção dos ácidos fúlvicos ou húmicos ocorrem devido as suas propriedade hidrofóbicas. SH são moléculas não voláteis com massa molar de 500 – 5000 g, sendo oriundas da transformação da matéria orgânica biogênica. Alguns grupos funcionais das SH são: ácidos carboxílicos, alcoóis saturados, fenóis, tióis saturados, tióis aromáticos, aminas saturadas, anilina, entre outros (STUMM; MORGAN, 1996a).

A Tabela 10 mostra as frações livres ($\Psi_{teórico}$) calculadas pelo programa Visual MINTEQ e pelo DGT (Ψ_{DGT}) em diferentes concentrações de SH.

Tabela 10 - Frações livres de Mn, Co, Ni, Cu, Zn and Pb ($\Psi_{teórico}$, %) calculadas pelo prgrama Visual MINTEQ e pelo DGT (Ψ_{DGT}, média ± um desvio padrão, %) em diferentes concentrações de SH

	Substância húmica (mg / L)		
	0,35	3,5	35
$\Psi_{teórico\ Mn}$	100,0	99,6	94,6
$\Psi_{DGT\ Mn}$	80 ± 11	87 ± 9	81,0 ± 1,8
$\Psi_{teórico\ Co}$	99,9	98,1	72,5
$\Psi_{DGT\ Co}$	89 ± 18	81 ± 4	58 ± 6
$\Psi_{teórico\ Ni}$	99,5	92,1	34,5
$\Psi_{DGT\ Ni}$	88 ± 14	75,0 ± 1,7	33 ± 5
$\Psi_{teórico\ Cu}$	96,1	46,0	0,6
$\Psi_{DGT\ Cu}$	72 ± 18	30,8 ± 1,6	nd
$\Psi_{teórico\ Zn}$	99,9	97,7	69,7
$\Psi_{DGT\ Zn}$	81 ± 11	82 ± 3	54 ± 7
$\Psi_{teórico\ Pb}$	96,5	61,3	6,1
$\Psi_{DGT\ Pb}$	135 ± 2	81 ± 14	32 ± 2
razão (HS/metal)	3,5	35	350

nd: não detectado

Observa-se na Tabela 10 que as percentagens das frações lábeis calculadas pelo programa Visual MINTEQ e as determinadas pela técnica DGT para os metais Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb, são concordantes, nas três diferentes concentrações de SH, exceto para o elemento Pb, na concentração de SH igual a 35 mg L^{-1}. Ainda, verifica-se uma elevada percentagem de complexação do Cu e Pb comparado com os outros metais. Resultados semelhantes para o Cu e Pb para águas doces foram encontrados e discutidos na literatura (TIPPING et al., 2008; WARKEN et al., 2009). As concentrações de Cr lábil nas três soluções sintéticas, avaliadas pela DGT, apresentaram-se abaixo do limite de detecção da TXRF.

Li et al. (2005) estudaram vários agentes ligantes na DGT, entre eles a resina Chelex-100 incorporada em gel de poliacrilamida, gel de poli(acrilamida-co-ácido acrílico), gel de poli(ácido acrilamidoglicólico-co-acrilamida), poli(4-estirenosulfonato) e a membrana P 81. Imersões em soluções sintéticas de Cd e Cu em diferentes concentrações dos complexantes EDTA e ácido húmico indicaram que todos os agentes ligantes acima avaliam apenas íons livres e complexo inorgânicos desses dois elementos. Utilizaram-se com o meio difusivo o gel de poliacrilamida não restritivo e membrana de celulose para diálise. Segundo Scally, Davison e Zhang (2006) e Warnken et al. (2009), no entanto, uma fração dos metais avaliadas pela DGT, utilizando gel de poliacrilamida como meio difusivo e Chelex-100 como agente ligante, deve-se ao metal ligado à matéria orgânica, pois o coeficiente de difusão dos complexos metal-ácido fúlvico é 20 % do valor *D* do metal livre.

Em complemento, os resultados da Tabela 10 são corroborados com o conceito de dureza de um metal. Os metais de transição são considerados como cátions “moles”, ou seja, a sua camada eletrônica de blindagem externa pode ser prontamente deformada. Como regra geral, esses metais tendem a formar fortes interações com bases “moles”. Para os metais de transição, uma regra bem estabelecida sobre a seqüência de estabilidade de um complexo, conhecida como a ordem de Irving-Williams, pode ser considerada. De acordo com esta regra, a estabilidade do complexo, aumenta na série abaixo (STUMM; MORGAN, 1996b).

$$Mn^{2+} < Fe^{2+} < Co^{2+} < Ni^{2+} < Cu^{2+} > Zn^{2+}$$

4.9 Capacidade de retenção da membrana P 81

A capacidade de retenção da membrana P 81 é 18 μeq cm^{-2} (WHATMAN, 2007-2009). Por outro lado, realizando-se a somatória dos metais Cr, Mn, Co, Ni,

Cu, Zn e Pb retidos na membrana P 81 após a imersão – dispositivo DGT com a P 81 como agente ligante e duas membranas cromatográficas 3 MM como meio difusivo-, em uma solução sintética contendo 0,500 mg L^{-1} destes metais, pH 5,5 e 0,01 mol L^{-1} de $NaNO_3$, tem-se o valor de 0,4314 μeq cm^{-2}, ou seja, um valor abaixo do valor de saturação do agente ligante P 81. Além disso, segundo Li et al. (2002) à membrana P 81 liga-se preferencialmente os metais de transição comparado com os alcalinos e alcalinos terrosos.

4.10 Análise das faces opostas da membrana P 81 pela EDXRF

A Tabela 11 mostra as concentrações (média ± um desvio padrão, μg cm^{-2}) de Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Pb e de P após imersão por 48 h em solução sintética destes metais (item 3.3.), nas faces opostas da membrana P 81, A e B, pela EDXRF.

Tabela 11 - Concentrações (média ± um desvio padrão, μg cm^{-2}) de Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Pb e de P após imersão por 48 h em solução sintética destes metais (item 3.3.), nas faces opostas da membrana P 81, A e B, pela EDXRF

Elemento	Lado A	Lado B	Diferença significativa (α =0,05)	Diferença (%)
P	50,05 ± 0,14	51,8± 0,9	Sim	3,4
Cr	0,732 ± 0,011	0,680 ± 0,011	Sim	- 7,2
Mn	1,718 ± 0,005	1,816 ± 0,002	Sim	5,7
Co	1,905 ± 0,009	2,005 ± 0,004	Sim	5,3
Ni	1,913 ± 0,013	2,01 ± 0,02	Sim	5,2
Cu	1,784 ± 0,006	1,87 ± 0,02	Sim	4,9
Zn	1,950 ± 0,007	2,073 ± 0,004	Sim	6,3
Pb	1,84 ± 0,03	1,91 ± 0,02	Sim	3,6

Embora as concentrações elementares obtidas foram significativamente distintas (95 %), comparando-se as duas faces da membrana P 81, a diferença entre as médias apresentaram-se ~ 5 % para a maioria dos metais. Ainda, considerando-se que os fatores de absorção *A* do Cr ao Pb apresentam valores entre 0,887 e 0,989 (Tabela 6), ou seja, valores próximos a 1, não se pode inferir que a retenção no agente ligante ocorre de um lado preferencial. Entretanto, referente ao grupo ligante da membrana P 81, caso a presença do grupo fosfato fosse majoritária em uma das faces, a diferença entre as concentrações superficiais de fósforo seria significativamente maior que 3,4 %, pois o elemento P possui um fator de absorção de *A* de 0,209.

4.11 Homogeneidade de retenção do Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb, e do elemento P (grupo fosfato) na superfície da membrana P 81

A Tabela 12 mostra as concentrações (média ± um desvio padrão, μg cm^{-2}) de Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Pb e de P após imersão por 48 h em solução sintética destes metais (item 3.3.), analisados em nove pontos diferentes empregando colimador de 1 mm (item 3.6.), comparado com as concentrações desses elementos obtidas utilizando-se um colimador de 10 mm através da técnica EDXRF.

Tabela 12 - Concentrações (média ± um desvio padrão, μg cm^{-2}) de Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Pb e de P após imersão por 48 h em solução sintética com 0,5 mg L^{-1} destes metais, analisados em nove pontos diferentes empregando colimador de 1 mm (item 3.6.), comparado com as concentrações desses elementos obtidas utilizando-se um colimador de 10 mm através da técnica EDXRF

	Colimador de 1 mm		Colimador de 10 mm	
	Média (9 pontos)	CV (%)	Média	CV (%)
P	46 ± 7	1.10^{1}	50,70 ± 0,19	0,37
Cr	0,8 ± 0,2	3.10^{1}	0,789 ± 0,019	0,24
Mn	1,7 ± 0,4	2.10^{1}	1,85 ± 0,08	4
Co	1,6 ± 0,3	2.10^{1}	1,76 ± 0,02	1
Ni	1,5 ± 0,3	2.10^{1}	1,71741±0,00016	0,0093
Cu	1,8 ± 0,4	2.10^{1}	1,976 ± 0,02	1
Zn	1,6 ± 0,4	3.10^{1}	1,83 ± 0,02	1
Pb	1,9 ± 0,5	3.10^{1}	1,94 ± 0,04	2

Obtiveram-se coeficientes de variação (CV) entre 20 e 30 % para o P e para os metais Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb nos noves pontos da membrana P 81 utilizando-se na análise um colimador com diâmetro de 1 mm, que corresponde a uma área de 0,785 mm^2. Entretanto, quando utilizado um colimador de 10 mm (área de 78,5 mm^2), observou-se um CV de 0,01 a 4 % para estes elementos. O valor mais alto do CV (%) para o P com o uso do colimador de 1 mm foi devido a não perfeita homogeneidade do grupo fosfato na superfície da membrana P 81 e a um maior erro na análise devido a uma menor contagem. Para os metais, essa diferença no CV (%) se deve, além dos dois fatores acima, a uma possível não uniformidade na espessura do meio difusivo. Não há não literatura nenhum trabalho sobre o estudo da uniformidade de retenção dos analitos na superfície do agente ligante na DGT. Técnicas analíticas que possibilitem análise direta de sólidos, como a EDXRF, mostram-se adequada para estes estudos.

Fez-se também uma avaliação da concentração superficial média do P em oito diferentes membranas P 81, após imersão em solução sintética (12, 24, 36 e 48h, em duplicata), item 3.3. Utilizou-se um colimador de 10 mm. Encontrou-se um valor médio de 50,0 ± 1,4 μg de P cm^{-2}. Este teor de fósforo, com coeficiente de variação de 2,9 %, representa uma satisfatória homogeneidade do grupo ligante fosfato nas membranas de celulose P 81, e assim sendo, apropriado para seu uso na técnica de DGT.

Convém ressaltar que a concentração de fósforo no branco foi de 60 ± 4 μg de P cm^{-2}. Pode-se inferir que esta diferença seja devido à presença de analitos retidos na membrana P 81 após imersão, alterando ao coeficiente de absorção para o fósforo nessa membrana, e também à mudança da superfície da membrana P 81, após a imersão e secagem em estufa. Estas alterações podem ser significativas para a determinação de elementos de baixo número atômico pela EDXRF.

4.12 Comparação entre diferentes agentes ligantes

Nesse ensaio, compararam-se os agentes ligantes membrana P 81 e a resina Chelex-100. A Tabela 13 mostra as concentrações de Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb determinadas pelos dispositivos DGT com meio difusivo papel cromatográfico 3 MM e agentes ligantes membrana P 81 e resina Chelex-100, imersos em uma solução contendo 100 μg L^{-1} destes elementos (C_b), 3,5 mg $^{-1}$ de SH, pH 5,5 e força iônica ajustada com $NaNO_3$ na concentração de 0,05 mol L^{-1}.

Tabela 13 - Concentrações (média ± um desvio padrão, μg L^{-1}) de Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb determinadas pelos dispositivos DGT com meio difusivo papel cromatográfico 3 MM e agentes ligantes membrana P 81 e resina Chelex-100, imersos em uma solução contendo 100 μg L^{-1} destes elementos (C_b), 3,5 mg $^{-1}$ de SH, pH 5,5 e força iônica ajustada com $NaNO_3$ na concentração de 0,05 mol L^{-1}

	Agente ligante: membrana P 81	Agente ligante: Chelex-100	Diferença significativa (α =0,05)	C_b	ψ teórico
Cr	74,4 ± 0,8	13 ± 3	Sim	100	
Mn	98 ± 13	104 ± 6	Não	100	99,6
Co	121 ± 19	106 ± 6	Não	100	98,1
Ni	94 ± 17	102 ± 16	Não	100	92,1
Cu	50 ± 20	43 ± 9	Não	100	46,0
Zn	99 ± 15	96 ± 6	Não	100	97,7
Pb	78 ± 12	46 ± 9	Sim	100	61,3

Para os elementos Mn, Co, Ni, Cu e Zn os dois agentes ligantes não apresentaram diferença significativa a 95 % de probabilidade, nas condições de imersão. Isto representa que a membrana P 81 e a resina Chelex-100 possuem forças de ligação semelhantes para estes elementos, considerando a matriz da solução sintética em estudo.

Ainda, a resina Chelex-100 incorporada no gel de poliacrilamida não possui uma interface ideal com o meio difusivo, pois os grupos funcionais ligantes não são alinhados uniformemente na superfície. Essa interface possui uma espessura, o que, em teoria, produz pequenos desvios e, com isso, subestimando a concentração do analito (LI et al., 2005). Esses autores verificaram também que para amostras de água doce do lago Parkwood, em Gold Coast, na Austrália, a força de ligação da P 81 para os analitos Cu e Cd foram maior em comparação com a Chelex-100. Na Tabela 13 verifica-se que para o Cr e Pb, os dois elementos que apresentaram diferença significativa nas suas concentrações lábil, comparando-se os dois agentes ligantes, a menor concentração lábil foi avaliada pela Chelex-100.

4.13 Comparação entre os meios difusivos: papel cromatográfico 3 MM e géis de poliacrilamida não restritivo e restritivo

A Tabela 14 mostra as concentrações de Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb (média ± um desvio padrão, $\mu g\ L^{-1}$) determinadas pelos dispositivos DGT com a membrana P 81 como agente ligante e como meios difusivos o **(a)** papel cromatográfico 3 MM, **(b)** o gel de poliacrilamida não-restritiva e **(c)** o restritivo, imersos em uma solução contendo 100 $\mu g\ L^{-1}$ destes elementos (C_b), 3,5 $mg\ L^{-1}$ de SH, pH 5,5 e força iônica ajustada com $NaNO_3$ na concentração de 0,05 $mol\ L^{-1}$.

Tabela 14 - Concentrações (média ± um desvio padrão, μg L^{-1}) de Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb determinadas pelos pelos dispositivos DGT com a membrana P 81 como agente ligante e como meios difusivos o **(a)** papel cromatográfico 3 MM, **(b)** o gel de poliacrilamida não-restritiva e **(c)** o restritivo, imersos em uma solução contendo 100 μg L^{-1} destes elementos (C_b), 3,5 mg L^{-1} de SH, pH 5,5 e força iônica ajustada com $NaNO_3$ na concentração de 0,05 mol L^{-1}

	Papel cromatográfico 3 MM	Gel de poliacrilamida não restritivo	Diferença significativa (α =0,05)	Gel de poliacrilamida restritivo	Diferença significativa (α =0,05)	C_b	ψ teórico
Cr	44 ± 17	18 ± 3	Sim	20,8 ± 1,4	Sim	100	
Mn	87 ± 7	53 ± 12	Sim	65 ± 9	Sim	100	99,6
Co	140 ± 8	65 ± 7	Sim	85 ± 11	Sim	100	98,1
Ni	106 ± 6	56 ± 6	Sim	71 ± 7	Sim	100	92,1
Cu	60 ± 9	35 ± 6	Sim	41 ± 5	Sim	100	46,0
Zn	99 ± 8	57 ± 9	Sim	71 ± 6	Sim	100	97,7
Pb	79 ± 3	45 ± 8	Sim	53,4 ± 1,0	Sim	100	61,3

O desempenho da membrana 3 MM foi estatisticamente distinto dos meios difusivos de gel de poliacriamida não-restritivo e do restritivo para Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb. Fatores que podem influenciar essa diferença seria o valor da porosidade entre 6 e 11 μm da membrana de cromatográfica 3 MM ante o valor menor que 1 nm para o gel de poliacrilamida restritivo e entre 1 a 20 nm, para o não restritivo. Ainda, o teor menor de água no meio difusivo à base de celulose é 60 %, entretanto, no gel de poliacrilamida este percentual é de água de 95 %. No entanto, ressalta-se que os valores das concentrações lábeis para estes metais obtidos na DGT com a membrana 3 MM, como meio difusivo, foram concordantes com a fração lábil calculada pelo programa Visual MINTEQ.

Verificou-se que a montagem do agente ligante e dos meios difusivos à base de gel (itens 3.10 e 3.11), é mais trabalhosa e demorada devido a sua característica gelatinosa. Outra desvantagem é a possibilidade de erro na escolha do correto lado do agente ligante na montagem do dispositivo, no qual o lado contendo a resina Chelex-100 deve estar em contato direto com o meio difusivo. Esse erro subestimará a concentração lábil do metal no sistema aquático (LI et al., 2005).

Segundo Vrana et al. (2005), uma desvantagem da DGT à base de gel é o complicado preparo do dispositivo. A montagem da DGT à base de celulose mostra-se prática, rápida e simples.

4.14 Reuso da membrana P 81 e papel cromatográfico 3 MM

Embora seja sugerida a possibilidade de reuso da membrana P 81 na DGT na avaliação de Cu^{+2} e Cd^{+2} por, no mínimo, quatro imersões (LI et al., 2002), verificou-se uma significante degradação desse agente ligante durante a eluição com 0,25 mL de HNO_3 2.0 mol L^{-1}, sob agitação por 4 horas, tornando-se, assim, impraticável o reuso dessa membrana no procedimento de eluição para a determinação dos metais pela TXRF. Na análise por EDXRF, no entanto, considerou-se importante o armazenamento da amostra, caso fosse necessária uma

re-leitura. Além disso, o custo unitário da membrana P 81 é de R$ 0,35 (RODRIGUES, 2011)[1]. Desse modo, devido ao baixo custo considerou-se não premente a reutilização dessa membrana. Em complemento, em um estudo sobre o reuso da P 81 dificilmente serão contemplados as diferentes características das amostras reais, e assim sendo, uma eventual contaminação e interferência pela matriz no reuso sempre será possível.

A mesma lógica se estende sobre a viabilidade de reutilização do papel cromatográfico 3 MM, cujo custo unitário é R$ 0,35, ou R$ 0,70 por dispositivo – uso de folhas de 3 MM por DGT (RODRIGUES, 2011).

Em comparação, os custos do meio difusivo à base de gel de poliacrilamida e do agente ligante Chelex-100 na DGT, em relação ao papel 3 MM e à membrana P 81, são 8,4 e 24,9 vezes maiores, respectivamente (DGT RESEARCH LTD., 2011b)

4.15 Efeito da temperatura

As imersões da DGT em soluções sintéticas e amostras reais em laboratório foram realizadas em sala climatizada no Laboratório de Instrumentação Nuclear do CENA/USP. A temperatura das soluções de imersão foi de 23 ± 1 ^{o}C.

Nas imersões *in situ* deve-se monitorar e registrar a temperatura do sistema aquático, e através da equação de Stoke-Einstein (GARMO et al., 2003), corrigir o coeficiente de difusão dos analitos. Nas imersões *in situ* deste trabalho, na 2^{a} coleta, mediu-se a temperatura no início e no final da imersão e considerou-se o valor médio como a efetiva temperatura de imersão.

[1] Rodrigues, A. M. A. GE Healthcare Life Sciences do Brasil – Orçamento. Mensagem recebida por edualm@usp.br em 10 de maio 2011.

4.16 Imersões em amostras reais em laboratório e *in situ*

4.16.1 Imersões em amostras reais em laboratório

Realizaram-se imersões em laboratório em quatro amostras coletadas na bacia do rio Piracicaba (item 3. 9. 1).

A Tabela 15 mostra a concentração de carbono orgânico dissolvido (COD, mg L^{-1}), pH, condutividade (μS cm^{-1}) e força iônica (10^{-3} mol L^{-1}) em quatro pontos de coleta na bacia do rio Piracicaba, item 3.9.1 a temperatura de imersão foi de 23 ± 1 ^{o}C.

Tabela 15 - Concentração de carbono orgânico dissolvido (COD, mg L^{-1}), pH, condutividade (μS cm^{-1}) e força iônica (10^{-3} mol L^{-1}) em quatro pontos de coleta na bacia do rio Piracicaba

	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4
COD mg L^{-1}	4,136 ± 0,06	3,402 ± 0,002	3,66 ± 0,06	3,664 ± 0,014
pH	7,46	7,30	7,20	7,15
Temperatura (^{o}C)	23 ± 1	23 ± 1	23 ± 1	23 ± 1
Condutividade (μS cm^{-1})	169,0	146,1	146,0	117,6
Força iônica * (mmol L^{-1})	2,15	1,86	1,85	1,49

* Força iônica calculada a partir da condutividade, segundo Griffin e Jurinak (1973).

Através dos parâmetros físico-químicos da Tabela 15 e das concentrações da fração dissolvida dos metais K, Ca, Mn, Fe, Cu e Zn determinados pela SRTXRF, calcularam-se as frações livres (não ligada à matéria orgânica) do Mn, Cu e Zn utilizando o programa Visual MINTEQ, como mostra a Tabela 16.

Tabela 16 - Percentual da fração livre (%) dos metais Mn, Cu e Zn nos quatro pontos de coleta da bacia do rio Piracicaba

	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4
Mn^{2+}	98,8	-	98,4	98,5
Cu^{2+}	2,4	-	3,0	4,6
Zn^{+2}	-	-	90,8	-

As frações livres do Mn^{2+} e Cu^{2+} no ponto 2, assim como a do Zn^{2+} nos pontos 1, 2 e 4, não foram calculadas, pois as suas concentrações dissolvidas estavam abaixo do limite de detecção da SRTXRF. Para se calcular a fração livre do metal em um sistema aquático pelo programa Visual MINTEQ necessita-se do conhecimento de suas concentrações dissolvidas.

A Figura 18 mostra a concentração ($\mu g\ L^{-1}$) de Mn lábil avaliado pela DGT e o dissolvido determinado pela SRTXRF, em quatro pontos de coleta na bacia do rio Piracicaba.

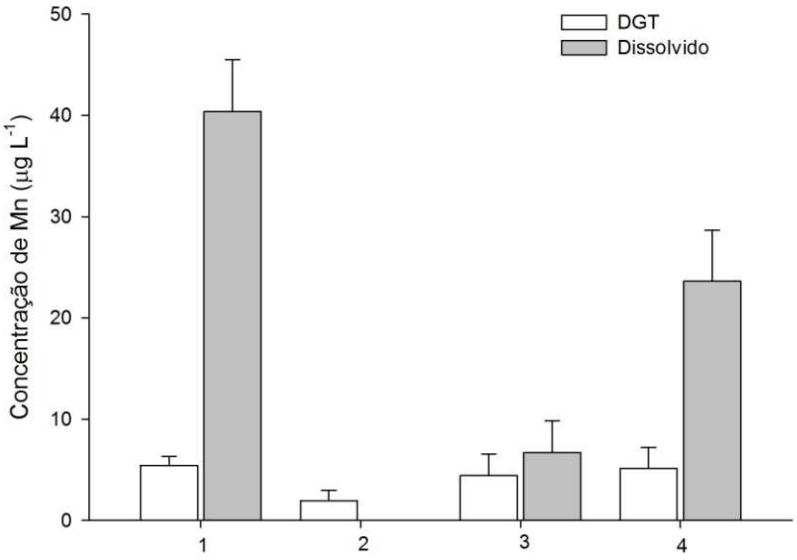

Figura 18 - Concentração (µg L^{-1}) de Mn lábil avaliado pela DGT e o dissolvido determinado pela SRTXRF, em quatro pontos de coleta na bacia do rio Piracicaba

Observa-se na Figura 18 que nos pontos de coleta 1, 3 e 4 a fração solúvel do Mn foi 7,8, 1,6 e 5,0 vezes maior que a fração lábil, respectivamente. Entretanto, esperavam-se valores de concentrações da fração solúvel próximos da fração lábil nestes três pontos de coleta, pois como mostra a Tabela 16, um percentual maior que 98 % do Mn encontra-se lábil. No entanto, uma possível explicação para a baixa de concentração da fração lábil do Mn é a formação coloidal do óxido deste elemento (TIPPING et al., 2008; WARKEN et al., 2009).

O Cu dissolvido, por sua vez, foi determinado nas amostras 1 e 4, como mostra a Figura 19. O elevado desvio padrão nessas determinações pode ser explicado pela proximidade das concentrações dissolvidas desse elemento, nas amostras 1 e 4, comparado com o valor de 2,2 µg L^{-1} do limite de detecção da SRTXRF para este elemento (Tabela 17). Esperava-se um baixo percentual de Cu lábil nessas duas amostras, como mostra a Tabela 16.

Como comparação com resultados na literatura, a fração do Cu lábil foi avaliada através da técnica DGT no rio Svitava, em Obrany, República Tcheca (DIVIŠ et al., 2007). Esse trabalho mostra que este metal não se apresentava lábil nas amostras analisadas. Resultados similares foram encontrados no rio Leith, in Dunedin, Nova Zelândia (SANGI; HALSTEAD; HUNTER, 2002). Nesses dois trabalhos, a concentração de carbono orgânico dissolvido não foi avaliada.

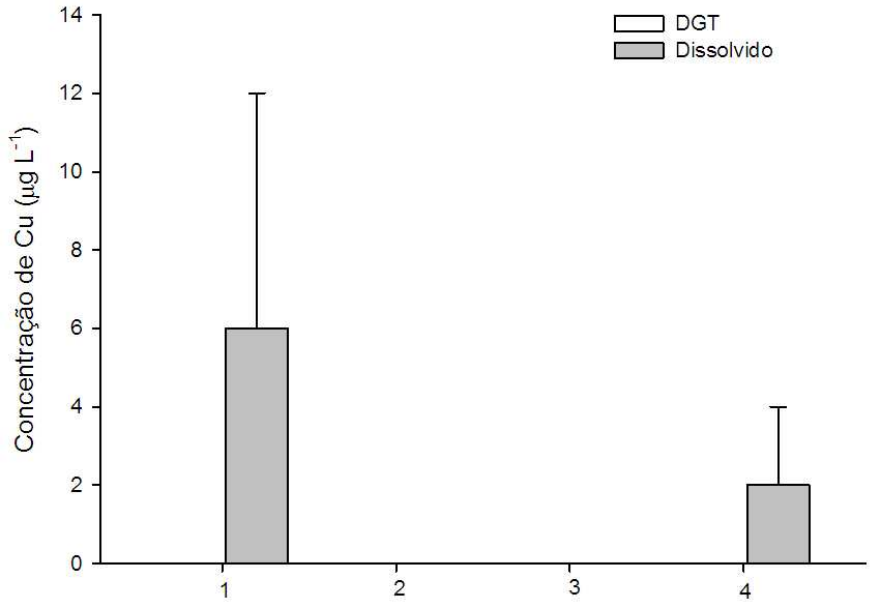

Figura 19 - Concentração de Cu (µg L^{-1}) lábil, avaliado pela DGT, e dissolvido em quatro pontos de coleta na bacia do rio Piracicaba

A concentração do Zn dissolvido no ponto 3 foi de 8 ± 3 µg L^{-1}. Embora a percentagem lábil do zinco, avaliado pelo programa Visual MINTEQ seja de 90,8 % nesse ponto, como mostra a Tabela 16, a concentração de sua fração lábil apresentou-se abaixo do limite de detecção do método DGT-SRTXRF.

Nos espectros de raios X das amostras eluídas - método DGT-SRTXRF, observou-se o pico Kα do Ca de 3,691 keV com alta intensidade, devido a presença deste elemento na faixa de concentração de 15 – 28 mg L^{-1} nas quatro amostras

coletadas. Deve-se considerar ainda o fator de pré-concentração da DGT para esse elemento, cujo valor supõe-se próximo ao dos outros metais em estudo (~ 30 vezes, Tabela 8). O pico Kα do Ca em alta intensidade produz um pico soma com energia de 7,382 keV (3,691 + 3,691 keV = 7,382 keV), que interfere na linha Kα do Ni, cuja energia é 7,473 keV. O Ni também sofre interferência espectral do pico escape do padrão interno Ga, com energia de 7,503 keV (9,243 – 1,740 keV), embora esta última interferência seja menos crítica em relação ao do pico soma do Ca. Assim, a determinação de Ni em baixas concentrações em amostras de água na bacia do rio Piracicaba pelo método DGT-SRTXRF é prejudicada pela presença de Ca na amostra e pelo uso do padrão interno Ga. Melhores resultados para o Ni seriam esperados pela troca do padrão interno de Ga para Ge, cujo pico escape seria de 9,854 – 1,740 = 8,129 keV. As concentrações de Cr, Co, Ni e Pb nas frações dissolvida e lábil apresentaram-se abaixo do limite de detecção nos quatro pontos de coleta.

Segundo o Comitê das Bacias Hidrográficas dos rios Piracicaba, Capivari e Jundiaí, os corpos d´água da bacia do rio Piracicaba enquadram-se como classes 1 a 4 (COMITÊ DAS BACIAS HIDROGRÁFICAS DOS RIOS PIRACICABA, CAPIVARI E JUNDIAÍ, 2011). No entanto, os quatro pontos de coleta enquadram-se como classe 2, que se destina: (a) ao abastecimento doméstico, após tratamento convencional; (b) à proteção das comunidades aquáticas; (c) à recreação de contato primário (natação, esqui-aquático e mergulho); (d) à irrigação de hortaliças e plantas frutíferas; (e) à criação natural e/ou intensiva (aqüicultura) de espécies destinadas à alimentação humana (COMITÊ DAS BACIAS HIDROGRÁFICAS DOS RIOS PIRACICABA, CAPIVARI E JUNDIAÍ, 2011).

Segundo o Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA (2005), os valores máximos para Mn total e Cu dissolvido são 0,1 e 0,009 mg L^{-1}, respectivamente, para corpos d´água classe 2. Neste trabalho, na 1ª coleta, as concentrações de Mn e Cu dissolvidos foram menores que os valores máximos permitidos para o Mn total e Cu dissolvido nos quatro pontos de coleta (Figuras 18 e 19). Nessa Resolução do CONAMA não há limites máximos para o Mn dissolvido.

O valor máximo permitido para o Zn dissolvido em corpos de água classe 2 é 0,18 mg L^{-1} (CONAMA, 2005). Nesse trabalho, na 1ª coleta, determinou-se o Zn dissolvido no ponto 3, cuja concentração apresentava-se abaixo do limite máximo estabelecido pelo CONAMA.

Falótico (2001) determinou a concentração de Cr, Mn, Cu, Zn e Pb na fração dissolvida em amostras coletadas mensalmente entre outubro/96 a setembro/97 em sete pontos na bacia do rio Piracicaba. Os maiores valores de concentrações para esses elementos foram 26, 66, 5, 66 e 15 μg L^{-1}, respectivamente.

Ressalta-se ainda que não há legislação no Brasil, seja no âmbito federal, estadual ou municipal, que contemplem frações lábeis de contaminantes inorgânicos. Segundo Cleven et al. (2005), a maioria das normas regulatórias sobre a qualidade baseia-se na concentração total dos metais.

A Tabela 17 mostra os limites de detecção (μg L^{-1}) para o Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb para a fração lábil, avaliada pela DGT-SRTXRF, e os dissolvidos, determinados pela SRTXRF.

Tabela 17 - Limites de detecção (μg L^{-1}) para o Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb para a fração lábil, avaliada pela DGT-SRTXRF, e os dissolvidos, determinados pela SRTXRF

	Cr	Mn	Co	Ni	Cu	Zn	Pb
Lábil DGT-SRTXRF	3,6	0,45	0,28	0,25	0,21	0,26	0,29
Dissolvido SRTXRF	5,3	3,9	2,4	2,2	2,2	2,3	2,5

Verifica-se na Tabela 17 que os *LD*s do método DGT-SRTXRF é aproximadamente 10 vezes menor para os metais Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb em relação ao método SRTXRF. A princípio, esses valores são discordantes da Tabela 8, no qual os fatores de pré-concentração do Mn, Co, Cu, Zn e Pb variaram entre 26 e 32 vezes, e para o Cr, 4,9 vezes. Entretanto, deve-se considerar que o eluído da DGT possui uma maior quantidade de sólidos dissolvidos, e assim, ocasionando um maior espalhamento do feixe de excitação e, conseqüentemente, um maior limite de detecção. Ainda, deve-se considerar nesta comparação que o primeiro método avalia a fração lábil e o segundo a fração dissolvida, ou seja, frações diferentes do metal na amostra.

Como comparação, segundo Falótico (2001), os limites de detecção para o Cr, Mn, Cu, Zn e Pb em soluções aquosas pela técnica de espectrometria de emissão ótica por plasma indutivamente acoplado, ICP-OES (do inglês, *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*), são 7 – 2 – 3 - 3 e 23 μg L^{-1}, respectivamente. Pela técnica de espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-MS*,inductive coupled plasma mass spectrometry*), nessa mesma matriz, os limites para esses elementos foram respectivamente 1,9 - 0,4 - 0,4 - 2,9 e 0,9 μg L^{-1}.

No intuito de se detectar o Cu em um maior número amostras, assim como avaliar Cr, Co, Ni e Pb, nas frações lábeis e dissolvidas, sugere-se a utilização do suporte de quartzo ao invés de lucite na técnica de SRTXRF. Isto reduziria significativamente o espalhamento da radiação de excitação, e com isso, diminuiria o limite de detecção para esses elementos. Na oportunidade da utilização da linha de fluorescência de raios X no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS/MCT), não se dispunha de suportes de quartzo em número suficiente.

Avaliou-se a exatidão do método SRTXRF através da análise do padrão *Drinking water pollutants*, nº 41394-1 - Aldrich. A Tabela 18 mostra os resultados das concentrações de Mn, Fe, Cu e Zn obtidos pela SRTXRF e comparados com os valores de referência. Este padrão foi diluído 1000 vezes para análise, não permitindo assim a detecção dos analitos Mn e Fe.

Tabela 18 - Concentrações (média ± um desvio padrão, mg L^{-1}) de Mn, Fe, Cu e Zn do padrão *Drinking water pollutants*, nº 41394-1 obtidos pela SRTXRF e comparados com os valores de referência

	SRTXRF	Valores de referência
Mn	-	5
Fe	-	30
Cu	91 ± 11	100
Zn	500 ± 30	500

4.16.2 Imersões em amostras reais *in situ*

Segundo Gimpel et al. (2001), em rios com fluxo razoáveis, com valores acima de 0,02 m s^{-1}, a performance da DGT é independente do fluxo, dentro de uma variação 5 %. Ainda, segundo esses autores, variando-se o ângulo da superfície da DGT em relação ao fluxo, mostrou-se apenas um pequeno efeito no acumulo dos metais. Assim, fez-se a imersão direta dos dispositivos DGT à base de celulose em 5 pontos da bacia do rio Piracicaba, com mostra a Figura 9.

Diviš et al. (2007) utilizou uma profundidade de imersão dos dispositivos DGT de 15 cm em relação a superfície da amostra. Entretanto, considerando pontos de amostragem da DGT com baixa profundidade, como no caso do Ribeirão Claro e, em especial, o ribeirão Piracicamirim, optou-se pela imersão na profundidade de 10 cm. Ainda, no sistema de imersão *in situ* utilizado nesse trabalho, necessita-se de um espaço adicional para o “peso” plástico, como mostra a Figura 10.

A Tabela 19 mostra as concentrações do carbono orgânico dissolvido (COD, mg L^{-1}), pH, condutividade (μS cm^{-1}) e força iônica (10^{-3} mol L^{-1}), na imersão e na retirada (após 48h) dos dispositivos DGT, nos 5 pontos de coleta na bacia do rio Piracicaba, item 3.9.2. Calcularam-se os valores médios desses parâmetros físico-químicos.

Os pontos de coleta foram distintos da amostragem 3.9.1, pois se necessitava de locais seguros para as imersões de 48 h (*in situ*) dos dispositivos DGT.

Tabela 19 - Concentração de carbono orgânico dissolvido (COD, mg L^{-1}), pH, condutividade (µS cm^{-1}) e força iônica (10^{-3} mol L^{-1}) nos cincos pontos de coleta na bacia do rio Piracicaba. Valores expressos em média ± um desvio padrão

	Ponto 1		Ponto 2		Ponto 3		Ponto 4		Ponto 5	
COD (mg L^{-1})	10,55 ± 0,09	10,46 ± 0,09	8,22 ± 0,14	7,54 ± 0,14	11,42 ± 0,06	16,690 ± 0,003	6,042 ± 0,005	5,110 ± 0,001	4,26 ± 0,02	3,77 ± 0,13
$COD_{médio}$ (mg L^{-1})	10,51 ± 0,13		7,9 ± 0,2		14,06 ± 0,06		5,576 ± 0,005		4,02 ± 0,13	
pH	6,98	7,40	6,80	7,02	7,37	7,30	6,77	6,82	7,47	7,00
pH_{medio}	7,2 ± 0,3		6,91 ± 0,16		7,34 ± 0,05		6,80 ± 0,04		7,2 ± 0,3	
Condutividade (µS cm^{-1})	664	900	520	510	607	702	232	194	206	194
Condutividade (µS cm^{-1})$_{médio}$	780 ± 170		515 ± 7		660 ± 70		210 ± 30		200 ± 9	
Força iônica (mmol L^{-1})$_{médio}$	10 ± 2		6,54 ± 0,09		8,4 ± 0,9		2,7 ± 0,4		2,54 ± 0,11	
Temperatura (^oC)	22,9	- **	22,6	23,5	21,7	22,5	22,5	24,1	23,0	23,4
Temperatura (^oC)$_{médio}$	22,9		23,1 ± 0,6		22,1 ± 0,6		23,3 ± 1,1		23,2 ± 0,3	

* força iônica calculada a partir da condutividade, segundo Griffin e Jurinak (1973).
** ponto não medido

Através dos parâmetros físico-químicos da Tabela 19 e das concentrações da fração dissolvida dos metais K, Ca, Mn, Fe, Cu e Zn determinados pela SRTXRF, calcularam-se as frações livres (não ligada à matéria orgânica) do Mn, Cu e Zn utilizando o programa Visual MINTEQ, como mostra a Tabela 20.

Tabela 20 - Percentual da fração livre (%) dos metais Mn, Cu e Zn nos cincos pontos de coleta da bacia do rio Piracicaba

	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4	Ponto 5
Mn^{2+}	96,7	97,1	98,1	97,2	97,9
Cu^{2+}	2,5	-	0,32	-	-
Zn^{+2}	-	86,1	80,7	88,6	-

As frações livres do Cu^{2+} nos pontos 2, 4 e 5, assim como a do Zn^{2+} nos pontos 1e 5, não foram calculadas, pois suas concentrações dissolvidas estavam abaixo do limite de detecção da SRTXRF para esses elementos. Para se calcular a fração livre do metal em um sistema aquático pelo programa Visual MINTEQ necessita-se do conhecimento de suas concentrações dissolvidas.

A Figura 20 mostra a concentração ($\mu g\ L^{-1}$) de Mn lábil avaliado pela DGT e o dissolvido determinado pela SRTXRF, em cinco pontos da bacia do rio Piracicaba.

Segundo o Comitê das Bacias Hidrográficas dos rios Piracicaba, Capivari e Jundiaí, os cinco pontos de coleta enquadram-se como classe 2 (COMITÊ DAS BACIAS HIDROGRÁFICAS DOS RIOS PIRACICABA, CAPIVARI E JUNDIAÍ, 2011). Todos os pontos de amostragem apresentaram concentrações de Mn dissolvido acima do valor máximo permitido da concentração total de Mn de 0,100 mg L^{-1} (CONAMA, 2005), sendo que os pontos de 1 a 5 apresentaram concentrações de Mn dissolvido 2,1 - 1,7 - 8,8 - 1,4 e 2,6 vezes maior que a concentração total máxima de permitida desse elemento, respectivamente.

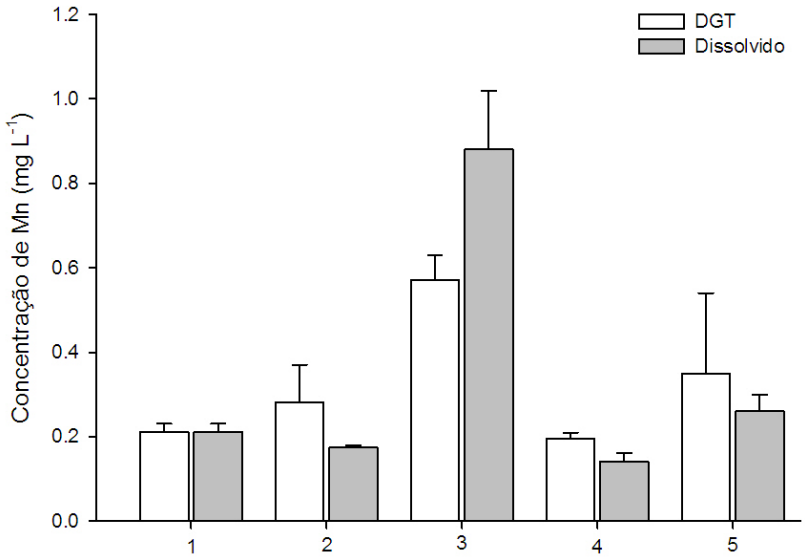

Figura 20 - Concentração de Mn (µg L^{-1}) lábil, avaliado pela DGT, e dissolvido em cinco pontos de coleta na bacia do rio Piracicaba

Esperavam-se valores próximos das concentrações das frações dissolvidos e lábiis para o Mn nos cinco pontos de amostragem, pois, segundo estimativa do programa Visual Minteq, o esse elemento encontra-se majoritariamente na forma lábil, como mostra a Tabela 20. Observa-se que os valores de concentrações das frações dissolvida e lábil para esse elemento foram próximos. Acrescenta-se que na amostragem pela DGT *in situ* tem-se uma concentração média do metal lábil durante as 48 h de imersão. No entanto, a fração dissolvida refere-se à média de duas coletas pontuais, nos tempos 0 e 48 h. Assim, valores não concordantes entre as frações dissolvida e lábil deste metal podem ser devido a variação de sua concentração e dos parâmetros físico-químicos da amostra durante o tempo de imersão. Falótico (2001) verificou uma notável variação das concentrações de metais na fração dissolvida, para um mesmo ponto e horário de coleta, na bacia do rio Piracicaba, em amostras coletadas entre outubro/96 a setembro/97.

Segundo a Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental - CETESB (2009b), o manganês ocorre naturalmente na água superficial e subterrânea, entretanto, contaminações podem ocorrer devido às atividades antropogênicas. Dentre as fontes podem-se citar a indústria do aço, ligas metálicas, baterias, vidros,

oxidantes para limpeza, fertilizantes, vernizes, suplementos veterinários, entre outros. Normalmente, encontra-se em concentrações de 0,2 mg L^{-1} ou menos, e raramente, atinge concentrações de 1 mg L^{-1} em águas superficiais naturais.

A Figura 21 mostra a concentração (μg L^{-1}) de Cu lábil avaliado pela DGT e o dissolvido determinado pela SRTXRF, em cinco pontos da bacia do rio Piracicaba.

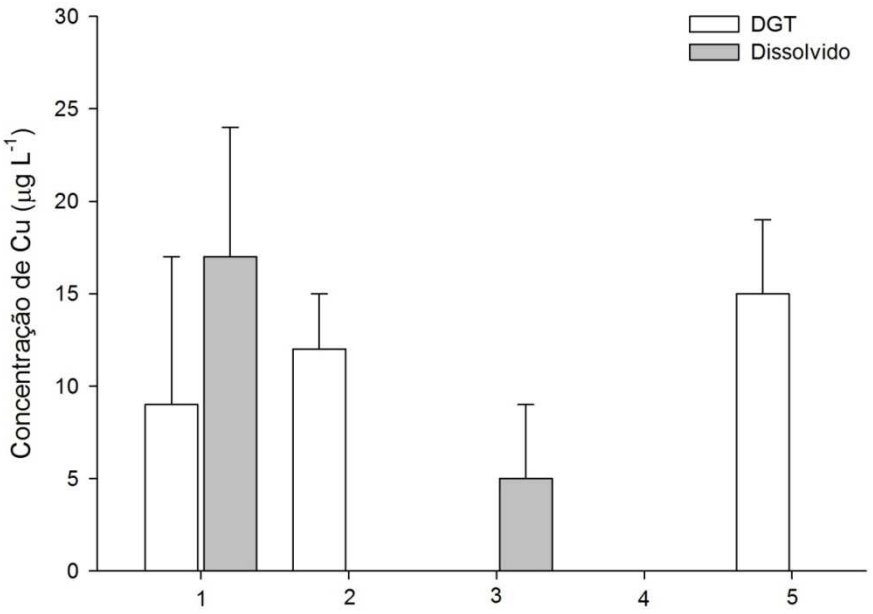

Figura 21 - Concentração de Cu (μg L^{-1}) lábil, avaliado pela DGT, e dissolvido em cinco pontos de coleta na bacia do rio Piracicaba

Esperava-se um baixo percentual de Cu lábil em relação à fração dissolvida nos pontos 1 e 3, como mostra a Tabela 20. Entretanto, no ponto 1 a fração lábil correspondeu a 52 % da fração dissolvida. No ponto 3, a concentração de Cu da fração dissolvida foi de 5 ± 4 μg L^{-1}, uma concentração menor que o limite de detecção para o método DGT-EDXRF. O alto erro nesta determinação é devido à proximidade ao limite de detecção, como mostra a Tabela 21. Nos pontos 1 e 5, determinou-se o Cu lábil nas concentrações de 12 ± 3 e 15 ± 4 μg L^{-1}, respectivamente.

Como já mencionado, na amostragem pela DGT *in situ* tem-se uma concentração média no metal lábil durante as 48 h de imersão. No entanto, a fração dissolvida refere-se a média de duas coletas pontuais, nos tempos 0 e 48 h. Assim, valores não concordantes entre as frações dissolvida e lábil deste metal podem ser devido a variação de sua concentração e dos parâmetros físico-químicos da amostra ao longo do tempo de imersão.

Os pontos 1, 3 e 5 apresentaram concentrações de Cu dissolvido e/ou lábil acima do valor máximo permitido da concentração dissolvida de Cu de 0,009 mg L^{-1} (CONAMA, 2005).

Embora a concentração do Zn lábil se apresente abaixo do limite de detecção do método DGT-EDXRF nos cinco pontos de coleta, as concentrações dissolvidas deste elemento nos pontos 2 a 4 foram 24 ± 5, 7 ± 2, 25 ± 5 μg L^{-1}. O valor máximo permitido para o Zn dissolvido em corpos de água classe 2 é 0,18 mg L^{-1} (CONAMA, 2005), estando, portanto, os três pontos abaixo deste valor. As concentrações de Cr, Co, Ni e Pb nas frações solúvel e lábil apresentaram-se abaixo do limite de detecção nos cinco pontos de amostragem.

Verificou-se nas imersões *in situ* e também em laboratório uma deposição de material particulado sobre a superfície do dispositivo DGT. Esse material depositado provavelmente diminui a difusão do metal, e assim, subestima a sua concentração lábil no sistema aquático (AUNG; NAKAJIMA; FURUMAI, 2008). A Figura 22 mostra os dispositivos DGT logo após sua retirada no ponto do rio Corumbataí (2ª coleta).

Figura 22 - Foto do dispositivo DGT após sua retirada no ponto do rio Corumbataí (2ª coleta)

Segundo Li et al. (2005), biofilmes podem ocorrer em águas naturais, onde o organismo adere e cresce sobre o meio difusivo ou a membrana que cobre esse meio. Esses organismos podem mudar o coeficiente de difusão do dispositivo DGT e/ou adsorver alguns metais, efetivamente removendo-os da solução e assim não sendo acumulado na DGT.

Denney et. al. (1999) determinou a fração lábil de Cu, Cd e Mn no rio Savage, tributário do Pieman, na Austrália, pela técnica DGT durante o período de 72 h. Verificou-se, durante esse período, o aumento linear da massa acumulada em função do tempo. Essa linearidade sugere que o biofilme não afetou o resultado durante esse período.

Andrade (2005) avaliou a fração lábil do Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn na Lagoa dos Patos, Rio Grande, RS, pela técnica DGT. Nas imersões realizadas em 2, 6 e 8 dias (ou 48, 144 e 192 h, respectivamente) observou-se uma diminuição da concentração da fração lábil desses metais com o aumento do tempo de imersão. Verificou-se também variação da salinidade durante o tempo de imersão. Assim, nesse ambiente aquático, esse autor sugeriu imersão de 8 a 48 h. Ainda, segundo Cleven et al. (2005) imersões de dispositivos DGT nos rios Meuse e Reno, na

Holanda, acima do período de uma semana ocasionam um substancial aumento de biofilme na DGT.

Nesse sentido a escolha do tempo de imersão de 48 h mostrou-se apropriado para a avaliação da concentração lábil de Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb no intuito de maximizar o tempo de imersão, para se obter uma maior pré-concentração pela DGT, e, concomitantemente, evitar o crescimento de biofilmes.

Em complemento, deve-se observar a possibilidade de alterações bruscas no fluxo do rio durante o período de imersão. Como exemplo, na primeira tentativa da amostragem no rio Corumbataí, os dispositivos DGT foram colocados logo abaixo (a alguns metros) das comportas da usina no rio Corumbataí. No entanto, após 48h de imersão, os dispositivos DGT foram deslocados para fora do leito desse rio devido a elevada variação do fluxo do rio no período de 48 h.

A Tabela 21 mostra os limites de detecção ($\mu g\ L^{-1}$) para o Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb para a fração lábil, avaliada pela DGT-EDXRF, e os dissolvidos, determinados pela SRTXRF.

Tabela 21 - Limites de detecção ($\mu g\ L^{-1}$) para o Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb para a fração lábil, avaliada pela DGT-EDXRF, e os dissolvidos, determinados pela SRTXRF

	Cr	Mn	Co	Ni	Cu	Zn	Pb
DGT-EDXRF	18,0	7,5	7,3	7,5	7,6	7,2	24,1
SRTXRF	10,1	7,5	5,8	4,9	4,3	4,2	10,0

Avaliou-se a exatidão do método DGT-EDXRF através da análise na amostra de referência certificada *Standard Reference Material® 2783 – Air particulate on filter media,* produzido pelo Instituto Nacional de Padrões & Tecnologia

(*National Institute of Standards & Technology,* NIST). A Tabela 22 mostra as massas elementares (média ± um desvio padrão, ng) da análise dessa amostra de referência pela técnica de EDXRF, utilizando-se os colimadores de 1, 5 e 10 mm, e comparado com os valores certificados.

Tabela 22 - Massas elementares (média ± um desvio padrão, ng) contidas na amostra de referência certificada *Standard Reference Material® 2783 – Air particulate on filter media,* produzido pelo *National Institute of Standards & Technology,* NIST/USA, determinadas pela EDXRF, utilizando-se os colimadores de 1, 5 e 10 mm, e comparado com os valores certificados

	1 mm	5 mm	10 mm	Valor certificado
Al	17000 ± 2000	17600 ± 1700	18000 ± 500	23210 ± 530
Si	43000 ± 4000	44000 ± 5000	45200 ± 2000	58600 ± 1600
K	7600 ± 500	4400 ± 400	4800 ± 300	5280 ± 520
Ca	18000 ± 15000	11400 ± 800	10800 ± 300	13200 ± 1700
Cr	nd	nd	nd	135 ± 25
Mn	nd	252 ± 17	260 ± 90	320 ± 12
Fe	27000 ± 4000	27000 ± 3000	26100 ± 1500	26500 ± 1600
Co	nd	nd	nd	7,7 ± 1,2
Ni	nd	nd	nd	68 ± 12
Cu	nd	530 ± 50	660 ± 30	404 ± 42
Zn	2000 ± 600	2010 ± 100	2030 ± 70	1790 ± 130
Pb	nd	nd	nd	317 ± 54

nd: não detectado

Verificou-se na Tabela 22 que os valores das concentrações elementares da amostra de referência certificada *SRM 2783* obtidos pela EDXRF foram concordantes com os valores certificados para a maioria dos elementos. Observou-se um aumento do desvio padrão da análise pela EDXRF com a diminuição do diâmetro do colimador. Esse fato se deve a uma menor contagem dos raios X característicos na utilização de colimadores com menor diâmetro.

Avaliou-se a exatidão do método SRTXRF através da análise do padrão *Drinking water pollutants*, nº 41394-1 - Aldrich. A Tabela 23 mostra as concentrações de Mn, Fe, Cu e Zn obtidos pela SRTXRF e comparados com os valores de referência. Este padrão foi diluído 10 vezes para análise.

Tabela 23 - Concentrações (média ± um desvio padrão, mg L^{-1}) de Mn, Fe, Cu e Zn do padrão *Drinking water pollutants*, nº 41394-1 – Aldrich, obtidos pela SRTXRF e comparados com os valores de referência

	SRTXRF	Valores de referência
Mn	5,80 ± 0,09	5
Fe	27,1 ± 0,5	30
Cu	115 ± 7	100
Zn	630 ± 14	500

5 CONCLUSÕES

A montagem da DGT à base de celulose mostrou-se simples e rápida. Apresenta um custo notavelmente inferior em relação à DGT à base de gel de poliacrilamida. Após a etapa de descontaminação, verificou-se contaminação da membrana P 81 por Ca, utilizando-se as técnicas de TXRF e EDXRF. Para a determinação desse elemento sugere-se o estudo de outros ácidos e protocolos de descontaminação.

A DGT à base de celulose mostrou-se apropriada para a determinação de Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb, obtendo-se uma acúmulo linear de massa em função do tempo, através de imersões em soluções sintéticas em pH 5,5 e força iônica ajustada em 0,05 mol L^{-1} com $NaNO_3$.

Em pH maior que 5,0, devido a formação da espécie $Cr(OH)_3$, a fração lábil do Cr^{3+} diminui notavelmente . Assim, em pH próximos da neutralidade, como os rios da bacia do rio Piracicaba, o Cr^{3+} não se apresentou mensurável pela DGT à base de celulose.

No acoplamento DGT-TXRF obteve-se um fator de pré-concentração de aproximadamente de 30 vezes para os metais Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Pb, para um tempo de imersão de 48 h. Na DGT à base de celulose verificou-se a necessidade da utilização de duas membranas do papel cromatográfico 3 MM como meio difusivo, devido ao efeito da camada difusiva limite.

No estudo da influência das substâncias húmicas no desempenho da DGT à base de celulose, observaram-se que os valores das concentrações determinadas pela DGT foram, de modo geral, concordantes com a fração livre (não ligada à matéria orgânica) estimada pelo software Visual MINTEQ, indicando assim, que a DGT à base de celulose avalia apenas a fração lábil do sistema aquático

Comparando-se a P 81 com resina Chelex-100 observou-se que, para os metais avaliados, esses dois agentes ligantes possuem força de ligação semelhantes, exceto para o Cr e Pb. Na comparação entre os meios difusivos, verificou-se diferença significativa entre a 3 MM e os géis de poliacrilamida restritivo e não restritivo. Os motivos que ocasionariam esta diferença seriam a distinta porosidade e teor de água entre estes materiais.

Nas imersões em amostras dos rios da bacia do rio Piracicaba determinaram-se Mn, Cu e Zn na fração dissolvida pela SRTXRF e na lábil pelas técnicas DGT-SRTXRF (em laboratório) e DGT-EDXRF (*in situ*). Nas imersões *in situ*, as concentrações de Mn estavam acima da concentração máxima permitida pelo CONAMA, nos cincos pontos de amostragem. No entanto, as concentrações de Cr, Co, Ni e Pb estavam abaixo do limite de detecção das técnicas utilizadas. Não se esperava a determinação do Cr^{3+} nas frações dissolvida e lábil, devido a formação do $Cr(OH)_3$ em pH próximo de 7. Ainda, a determinação de Ni em concentrações traço, utilizando a DGT-SRTXRF ou a DGT-EDXRF, é limitante em amostras dos rios da bacia do rio Piracicaba, pois a linha dos raios X Kα do Ni sofre interferências espectrais do pico soma do Ca, elemento em elevada concentração nas amostras analisadas, e do pico escape do Ga, utilizado como padrão interno da TXRF, Sugerindo-se a utilização do Ge como padrão interno.

Sugere-se para as técnicas SRTXRF e DGT-STXRF a utilização de suporte de quartzo para a análise por fluorescência de raios X por reflexão total. Ainda, apenas foi possível determinar o Zn em algumas amostras, devido a sua baixa concentração.

O acoplamento DGT-EDXRF mostrou-se interessante devido à possibilidade de análise direta do agente ligante, sem a necessidade da etapa de eluição. Esta técnica apresentou-se apropriada para o monitoramento da fração lábil do Cu e, em especial, para o Mn em amostras na bacia do rio Piracicaba. No entanto, as concentrações Co, Ni e Pb, e para Zn, na maioria da amostras avaliadas nas imersões *in situ*, estavam abaixo do limite de detecção dessa técnica. Sugere-se um estudo sobre períodos mais longos de imersão da DGT à base de celulose (e.g. avaliação da formação de biofilmes na superfície ativa da DGT e seu efeito no

desempenho dessa técnica de amostragem), no intuito de se aumentar o fator de pré-concentração. Na DGT-EDXRF verifica-se a possibilidade do uso de géis semissólidos como agente ligante, seguido da análise direta. Ainda, observa-se um grande potencial da DGT-EDXRF à base de celulose para análise de águas residuais.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DAS ÁGUAS - ANA. **HidroWeb**: arquivos digitais. Brasília, DF, 2001. Disponível em: <http://hidroweb.ana.gov.br/HidroWeb.asp?TocItem =4100>. Acesso em 20 de junho 2011.

AGÊNCIA NACIONAL DAS ÁGUAS - ANA. **A implementação da cobrança pelo uso de recursos hídricos e agências de água das bacias dos rios Piracicaba, Capivari e Jundiaí**. Brasília, 2007. 112 p.

ALFARO-DE LA TORRE, M. C.; BEAULIEU, P. –Y.; TESSIER, A. *In situ* measurement of trace metals in lakewater using the dialysis and DGT techniques. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 418, p. 53-68, 2000.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for examination of water and wastewater**. 20. ed. Washington, DC, 2000. 1 CD-ROM.

ANDRADE, C. F. F. **Avaliação *in situ* da especiação de metais traço no estuário da lagoa de patos utilizando o sistema DGT**. 2005. 74 p. Dissertação (Dissertação em Oceanografia Física, Química e Geológica) – Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande do Sul, 2005.

AUNG, N. N.; NAKAJIMA, F.; FURUMAI, H. Trace metal speciation during dry and wet weather flows in the Tama river, Japan, by using diffusive gradients in thin films (DGT). **Journal of Environment Monitoring**, London, v. 10, p. 219-230, 2008.

BARAKAT, S.; GIUSTI, L. Chromium speciation by different methods of practical use for routine *in situ* measurement. **Journal de Physique**, Paris, v. 107, p. 111-114, 2003.

BERTIN, E.P. **Principles and practice of X-ray spectrometric analysis**. London: Plenum Press, 1975. 1079p.

BIOESTAT. **BioEstat 2.0.** Belém: UFPA, 2000. 1 CD-ROM.

BLANK, A. B.; EKSPERIANDOVA, L. P. Specimen preparation in X-ray fluorescence analysis of materials and natural objects. **X-ray Spectrometry**, London, v. 27, p. 147 – 160, 1998.

BUZIER, R.; TUSSEAU-VUILLEMIN, M.; MOUCHEL J. Evaluation of DGT as a metal speciation in wastewater. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 358, p. 277-285, 2006.

CAMUSSO, M.; GASPARELLA, A. Measuring bioavailable trace metals from freshwater sediments by diffusive gradients in thin films (DGT) in monitoring procedures for quality assessment. **Annali di Chimica**, Roma, v. 96, p. 205-213, 2006.

CARAM, R. O. **Mundanças no uso e cobertura do solo e resposta hidrológica da bacia do rio Piracicaba**. 2010. 140 p. Tese (Doutorado em Irrigação e Drenagem) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

CLEVEN, R.; NUR, Y.; KRYSTEK, P.; van der BERG, G. Monitoring metal speciation in the rivers Meuse and Rhine using DGT. **Water Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v. 165, p. 249-263, 2005.

COLUMBIA ENVIRONMENTAL RESEARCH CENTER/USGS. **Semipermeable Membrane Devices (SPMD)**. Columbia, MI, 2010. Disponível em: <http://www.cerc.usgs.gov/pubs /center/pdfDocs/SPMD.pdf>. Acesso em: 28 nov. 2010.

COMITÊ DAS BACIAS HIDROGRÁFICAS DOS RIOS PIRACICABA, CAPIVARI E JUNDIAÍ. **Situação dos recursos hídricos** - águas superficiais e subterrâneas. Relatório de Situação dos Recursos Hídricos da UGRHI 5. Lins: CETEC. Disponível em:<http://arquivos.ana.gov.br/institucional/sag/CobrancaUso/BaciaPCJ/Textos/Sao_Paulo-Bacia_do_Piracicaba.pdf>. Acesso em: 05 mar. 2011.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL - CETESB. **Curiosidades**. São Paulo. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/rios/curiosidades>. Acesso em: 07 dez. 2006.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL - CETESB. **Ciclo das águas**. São Paulo, 2009a. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/agua/aguas-superficiais/28-ciclo-das-aguas>. Acesso em: 15 abr. 2011.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL - CETESB. **Qualidade das águas interiores no estado de São Paulo**. São Paulo, 2009b. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/agua/aguas-uperficiais/variaveis.pdf>. Acesso em: 13 jun. 2011.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE - CONAMA. Resolução N. 357, de 17 de Março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 mar. 2005. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/agua/legislacao/federal/res-357-17032005.pdf>. Acesso em: 05 mar. 2011

CURRIE, L. A. Limits for qualitative detection and quantitative determination. Application to radiochemistry. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 40, p. 473-664, 1968.

DAHLQVIST, R.; ZHANG, H.; INGRI, J.; DAVISON, W. Performance of the gradients in thin films technique for measuring Ca and Mg in freshwater. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 460, p. 247-256, 2002.

DAKOVA, I.; VASILEVA, P.; KARADJOVA, I.; KARADJOVA, M.; SLAVEYKOVA, V. Solid phase extraction and diffusive gradients in thin films techniques for determination of total and labile concentrations of Cd(II), Cu(II), Ni (II) and Pb(II) in Black Sea water. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry,** London, v. 91, p. 62-73, 2011.

DENNEY, S.; SHEWOOD, J.; LEYDEN, J. In situ measurements of labile Cu, Cd and Mn in river waters using DGT. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 239, p. 71-80, 1999.

DGT RESEARCH LTD. **DGT** – for measurements in waters, soils and sediments. Lancaster, UK. Disponível em: <http://www.dgtresearch.com/dgtresearch/dgtresearch.pdf>. Acesso em: 13 abr. 2011a.

DGT RESEARCH LTD. **DGT** – for measurements in waters, soils and sediments. Lancaster, UK. Disponível em: <http://www.dgtresearch.com/WebProducts.aspx?CATID=RES>. Acesso em: 10 maio 2011b.

DIVIŠ P.; DOČEKALOVÁ, H.; BRULÍK, L.; PAVLIŠ, M.; HEKERA, P. Use of the diffusive in thin films technique to evaluate (bio)available trace metal concentrations in river water. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 387, p. 2239-2244, 2007.

DOCEKAL, B.; REZACOVA-SMETKOVA, V.; DOCEKALOVA, H. Effect of humic acid on metal uptake measured by diffusive gradients in thin films techniques. **Chemical Papers – Chemicke Zvesti**, Bratislava, Slovakia, v. 59, p. 298-303, 2005.

ERNSTBERGER, H.; ZHANG, H.; DAVISON, W. Determination of chromium speciation in natural systems using DGT. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 373, p. 873-879, 2002.

FALÓTICO, M. H. B. **Distribuição das concentrações de metais em água, matéria em suspensão e sedimento de fundo na bacia do rio Piracicaba/SP**. 2001. 92 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

FORSBERG, J.; DAHLQVIST, R.; GELTING-NYSTROM, J.; INGRI, J. Trace metal speciation in brackish water using diffusive gradients in thin films and ultrafiltration: comparation of techniques. **Environmental Science & Technology**, Easton, v. 40, p. 3901-3905, 2006.

FRENCH, M. A.; ZHANG, H.; PATES, J. M.; BRYAN, S. E.; WILSON, R. C. Development and performance of the diffusive gradients in thin-films technique for the measurement of technetium-99 in seawater. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 77, p. 135-139, 2005.

GARMO, Y. A.; RYSET, O.; STEINNES, E.; FLATEN, T. P. Performance study of diffusive gradients in thin films for 55 elements. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 75, p. 3573-3580, 2003.

GIMPEL, J.; ZHANG, H.; HUTCHINSON, W.; DAVISON, W. Effect of solution composition, flow and deployment time on the measurement of trace metals by the diffusive gradient in thin films technique. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 448, p. 93-103, 2001.

GIMPEL, J.; ZHANG, H.; DAVISON, W.; EDWARDS, A. C. *In situ* trace metal speciation in lake surface waters using DGT, dialysis and filtration. **Environmental Science & Technology**, Easton, v. 37, p. 138-146, 2003.

GRIEKEN, R. van. Preconcentration methods for the analysis of water by X-ray spectrometric techniques. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 143, p. 3 - 34, 1982.

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

HALE, S. E.; MARTIN, T. L.; GOSS, K.-U.; ARP, H. P. H.; WERNER, D. Partitioning of organochlorine pesticides from water to polyethylene passive samplers. **Environmental Pollution**, London, v. 158, p. 2511-2517, 2010.

HUCKINS, J. N.; TUBERGEN, M. W.; MANWEERA, G. K. Semipermeable membrane devices containing model lipid: a new approach to monitoring the bioavailability of lipophilic contaminants and estimating their bioconcentration potential. **Chemosphere**, Oxford, v. 20, p. 533–552, 1990.

KABAY, N.; DEMIRCIOGLU, M.; YAYLI, S.; YUKSEL, M.; SAGLAM, M. Removal of metal ions from aqueous solution by cellulose ion exchangers. **Separation Science and Technology**, New York, v. 34, p. 41-51, 1999.

KLOCKENKÄMPER, R. **Total reflection X-ray fluorescence analysis.** New York: Wiley-Interscience Publisher, 1997. 245 p.

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

LI, W.; ZHAO, H.; TEASDALE, P. R.; JOHN, R.; ZHANG, S. Application of a cellulose phosphate ion exchange membrane as a binding phase in the diffusive gradients in thin films technique for measurement of trace metals. **Analytical Chimica Acta**, Amsterdam, v. 464, p. 331-339, 2002.

LI, W.; ZHAO, H.; TEASDALE, P. R.; JOHN, R.; WANG, F. Metal speciation measurement by diffusive in thin films technique with different binding phases. **Analytical Chimica Acta**, Amsterdam, v. 533, p. 193-202, 2005.

MANAHAN, S. E. Fundamentals of aquatic chemistry. In: _____. **Environmental chemistry**. 7. ed. Boca Raton: Lewis Publishers, 2000. cap. 3.

MARGUÍ, E.; VAN GRIEKEN, R.; FONTÁS, C.; HIDALGO, M.; QUERALT, I. Preconcentration methods for the analysis of liquid samples by X-ray fluorescence techniques. **Applied Spectroscopy Reviews**, New York, v. 45, p. 179-205, 2010.

MARKOWICZ, A. A. X-ray physics. In: VAN GRIEKEN, R. E.; MARKOWICZ, A. A. (Ed.). **Handbook of X-ray spectrometry**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 2002. cap. 1.

MARTINELLI, L. A. A biogeoquímica dos rios da bacia do Piracicaba – profundas alterações já ocorreram. In: FERRAZ, E. S. B.; MARTINELLI, L. A.; VICTÓRIA, R. L. (Ed.). **Coletânea de Notícias PiraCena – A Bacia do Rio Piracicaba**. Piracicaba, 2001. p. 85-88.

MENZIES, N. W.; KUSUMO, B.; MOODY, P. W. Assessment of P availability in heavily fertilized soils using the diffusive gradient in thin films (DGT) technique. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 269, p. 1-9, 2005.

MILLS, G. A.; GREENWOOD, R.; ALLAN, I. J.; LOPUCHIN, E.; BRÜMMER, J.; KNUTSSON, J.; VRANA, B. Application of passive sampling for monitoring the aquatic environment. In: NAMIESNIK, J.; SZEFER, P. (Ed.). **Analytical measurement in aquatic environments**. Boca Raton: CRC Press, 2010. cap. 3.

MUNKSGAARD, N. C.; PARRY, D. L. Monitoring of labile metals in turbid costal seawater using diffusive gradients in thin films. **Journal of Environmental Monitoring**, London, v. 5, p. 145-149, 2003.

NASCIMENTO FILHO, V. F. Fundamentals of X-ray fluorescence analysis. In: COMISIÓN NACIONAL DE ENERGIA ATÓMICA - CNEA. (Org.). **Topics in X-ray spectrometry**. Buenos Ayres: Talleres Gráficos; Centro Atómico Constituyentes - CNEA, 2007. p. 9-47.

NASCIMENTO FILHO, V. F.; POBLETE, V. H.; PARREIRA, P. S.; MATSUMOTO, E.; SIMABUCO, S. M.; ESPINOZA, E. P.; NAVARRO, A. A. Limits of detection of a total reflection X-ray fluorescence system with double reflection module. **Biological Trace Element Research**, London, v. 71/72, p. 423-430, 1999.

PETERS, A. J.; ZHANG, H.; DAVISON, W. Performance of the difussive gradients in thin films technique for measurement of trace metals in low ionic strength frewswaters. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 478, p. 237-244, 2003.

PICHETTE, C.; ZHANG, H.; DAVISON, W.; SÉBASTIEN, S. Preventing biofilm development on DGT devices using metals and antibiotics. **Talanta**, Amsterdam, v. 72, p. 716-722, 2007.

QXAS. **Qxas 3.6.** Vienna: IAEA, 2005. Disponível em: <http://www.iaea.org/OurWork/ST/NA/NAAL/pci/ins/xrf/pciXRFdown.php> Acesso em: 01 jul. 2007.

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

SANGI, M. R.; HALSTEAD, M. J.; HUNTER, K. A. Use of the diffusion gradient thin film method to measure trace metals in fresh waters at low ionic strength. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 456, p. 241-251, 2002.

SCALLY, S.; DAVISON, W.; ZHANG, H. *In situ* measurements of dissociation kinetics and labilities of metal complexes in solution using DGT. **Environmental Science & Technology**, Easton, v. 37, p. 1379-1384, 2003.

SCALLY, S.; DAVISON, W.; ZHANG, H. Diffusion coefficients of metals and metal complexes in hydrogels used in diffusive gradients in thin films. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 558, p. 222-229, 2006.

SHERWOOD, J. E.; BARNETT, D.; BARNETT, N. W.; DOVER, K.; HOWITT, J.; II, H.; KEW, P.; MONDON, J. Deployment of DGT units in marine waters to assess the environmental risk from a deep sea tailings outfall. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 652, p. 215-223, 2009.

STUER-LAURIDSEN, F. Review of passive accumulation devices for monitoring organic micropollutants in the aquatic environment. **Environmental Pollution**, London, v. 136, p. 503-524, 2005.

STUMM, W.; MORGAN, J. J. Acids and bases. In: _____ (Ed.). **Aquatic chemistry**: chemical equilibria and rates in natural waters. 3. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 1996a. cap. 3.

STUMM, W.; MORGAN, J. J. Metals ions in aqueous solution: aspects of coordination chemistry. In: _____ (Ed.). **Aquatic chemistry**: chemical equilibria and rates in natural waters. 3. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 1996b. cap. 6.

SULE, P. A.; INGLE Jr., J. D. Determination of the speciation of chromium with an automated two-column ion-exchange system. **Analytica Chimica Acta,** Amsterdam, v. 326, p. 85-93, 1996.

TIPPING, E.; VICENT, C. D.; LAWLOR, A. J.; LOFTS, S. Metal accumulation by stream bryophytes, related to chemical speciation. **Environmental Pollution**, London, v. 156, p. 936-947, 2008.

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

TUSSEAU-VUILLEMIN, M.; GOURLAY, C.; LORGEOUX, C.; MOUCHEL, J.; BUZIER, R.; GILBIN, R.; SEIDEL, J.; ELBAZ-POULICHET, F. Dissolved and bioavailable contaminants in the Seine river basin. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 375, p. 244-256, 2007.

VISUAL MINTEQ. **Visual Minteq 2.61.** Stockholm, 2009. Disponível em: <http:// www.lwr.kth.se/English/OurSoftware/vminteq/download.html>. Acesso em: 14 abr. 2010.

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

WARNKEN, K. W.; ZHANG, H.; DAVISON, W. Trace metal measurement in low ionic strength synthetic solutions by diffusive gradients in thin films. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 77, p. 5440-5446, 2005.

WARNKEN, K. W.; LAWLOR, A. J.; LOFTS, S.; TIPPING, E.; DAVISON, W.; ZHANG, H. In situ speciation measurements of trace metals in headwaters streams. **Environmental Science & Technology**, Easton, v. 43, p. 7230-7236, 2009.

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

WHATMAN Ltd. **Ion exchange papers**. Kent, UK, 2007-2009. Disponível em: <http:// www.whatman.com/IonExchangePapers.aspx>. Acesso em: 23 jul. 2008.

WU, J.; LIU, C.; CHU, K. H.; SUEN, S. Removal of cationic dye methyl violet 2 B from water by cation exchange membranes. **Journal of Membrane Science**, Amsterdam, v. 309, p. 239-245, 2008.

ZHANG, H.; DAVISON, W. Performance characteristic of diffusion gradients in thin films for the *in situ* measurement of trace metals in aqueous solution. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 67, p. 3391-3400, 1995.

ZHANG, H.; DAVISON, W.; GADI, R.; KOBAYASHI, T. *In situ* measurement of dissolved phosphorus in natural waters using DGT. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 370, p. 29-38, 1998.