

Aplicação da Cromatografia de Permeação em Gel na Avaliação da Interação entre Metais Pesados e a Matéria Orgânica - Lagoa de Patos, RS, Brasil

Ana Hilda Romero Costa^{a*}, Rommel Bezerra Viana^b, Nicolai Mirlean^c, Paulo Roberto Martins Baisch^d, Rivelino Martins Cavalcante^{e*}

^aSecretaria Municipal de Saúde, Departamento de Vigilância Sanitária, SEMSA/DVISA, Manaus, AM, Brasil.

^bInstituto de Química de São Carlos, Departamento de Química e Física Molecular, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil.

^cInstituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS, Brasil.

^dDepartamento de Geociências, Laboratório de Oceanografia Geológica, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS, Brasil.

^eLaboratório de Avaliação de Contaminantes Orgânicos, Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

Article history: Received: 16 May 2013; revised: 18 August 2013; accepted: 27 August 2013. Available online: 30 December 2013.

Abstract: Gel permeation chromatography method was applied to evaluate the Zn metal distribution levels in the organic fraction from sediments collected in the Patos Lagoon estuary. The analysis was performed based in metal distribution levels comparing with the dissolved organic carbon one and the molecular mass of the organic fraction. Initially, it was considered the analysis of three different metals: Cu, Pb and Zn. Nevertheless, while Cu and Pb levels were below the detection limit, Zn concentration ranges from 5 to 205 $\mu\text{g L}^{-1}$. In this study was analyzed four different points: I {[Zn] = 4.88-24.47 $\mu\text{g L}^{-1}$ } and II {[Zn] = 11.33-91.06 $\mu\text{g L}^{-1}$ } in north region; III {[Zn] = 5.82-39.26 $\mu\text{g L}^{-1}$ } and IV {[Zn] = 22.78-205.41 $\mu\text{g L}^{-1}$ } in south region. The Zn levels in south were ten times higher than in north region, which is due to several industrial and port activities in this area. In both regions, there are significant amounts of Zn associated with the organic fraction (1.8 Da-1.4 kDa), while in south region there is a high level of Zn in its free form. It is important to comment that Zn complexation in the estuary was highly variable between north and south region (Lagoon estuary), which may be attributable to the lower salinity level in north region when compared with south one.

Keywords: GPC; organic material; DOM; estuary

1. INTRODUÇÃO

A ocorrência de metais pesados no meio ambiente é um fenômeno perfeitamente natural, uma vez que vários destes são essenciais como micronutrientes aos ciclos biológicos [1]. Entretanto, alguns metais pesados podem ser perigosos para os ecossistemas devido a sua acumulação nas cadeias tróficas [1-4]. Os metais antropogênicos mais abundantes nos ambientes aquáticos são Cu, Cd, Ni, Pb e Zn [2]. A característica mais importante que diferencia os metais de outros poluentes, além do fato destes não serem biodegradáveis, é que o seu potencial tóxico é controlado por sua especiação, ou seja, por suas formas ou espécies químicas [5].

A maior parte da descarga antropogênica de metais pesados no ambiente aquático torna-se parte do

material em suspensão nos rios, que atua como um eficiente carreador [1-4]. Os sedimentos representam o depósito final de muitos contaminantes transportados pelos rios aos oceanos, e desta forma desempenham papel chave nos sistemas estuarinos como fontes potenciais e sumidouros dessas substâncias [2,5]. Após a deposição em sedimentos, mudanças nas condições redox frequentemente liberam (mobilizam) alguns metais pesados para a água intersticial dos sedimentos. Em sedimentos ricos em matéria orgânica, processos diagenéticos proporcionam a liberação de metais dissolvidos para a água intersticial, particularmente nas camadas superficiais dos sedimentos [1,2,5].

A afinidade de metais pesados por substâncias

*Corresponding author. E-mail: anahildar@yahoo.com.br, rivelino@ufc.br.

orgânicas é de grande importância para a compreensão do comportamento dessas espécies no ambiente aquático, uma vez que a disponibilidade de metais pesados é influenciada pela concentração da matéria orgânica dissolvida. As substâncias orgânicas são capazes de complexar com metais e aumentar sua solubilidade, alterar a distribuição entre as formas oxidadas e reduzidas dos metais, alterar a toxicidade e disponibilidade dos mesmos para os organismos aquáticos, influenciando a extensão da adsorção de metais no material em suspensão, e afetando a estabilidade de espécies associadas a colóides [1,2,5].

A cromatografia de permeação em gel (GPC) é uma técnica de cromatografia líquida baseada na separação segundo o tamanho molecular, sendo amplamente utilizada para processos de desalifcação preparatória, purificação de tampões, remoção de substâncias radioativas de pequena massa molecular, determinação da massa molecular de polímeros naturais, entre outras aplicações [6,7].

A utilização da GPC no estudo da interação de contaminantes e fração da matéria orgânica possibilita a avaliação da extensão das associações entre os metais e a matéria orgânica no ambiente, pois permite a determinação simultânea das concentrações de carbono orgânico e metais tóxicos sob condições muito próximas dos sistemas naturais [7]. Portanto, o objetivo deste trabalho é investigar as interações dos metais Cu, Zn e Pb com a fração da matéria orgânica no sedimento utilizando a GPC.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Área de Estudo

As amostras utilizadas foram provenientes da zona estuarina da Lagoa dos Patos localizada na cidade de Rio Grande, Rio Grande do Sul, RS - Brasil. A região é caracterizada por abrigar o distrito industrial de Rio Grande, constituído de indústrias de fertilizantes, têxtil, extração e refino de óleo vegetal, pescado, refinaria de petróleo, conservas alimentícias, moagem e beneficiamento de farinha, bem como atividade portuária. A cidade é responsável pela existência de vários pontos de descarga de efluentes de natureza variada e sem tratamento para o estuário, principalmente efluentes domésticos e industriais.

Visando a caracterização da distribuição natural dos complexos dos metais Cu, Zn e Pb com a matéria orgânica dissolvida nos sedimentos, foram utilizados quatro pontos de amostragem. Os pontos I e

II estão localizados no norte da laguna, enquanto que os pontos III e IV estão na região sul (Figura 1). Os pontos I e II estão localizados na saída do sistema Guaíba, o qual é considerado como uma região onde se encontram geralmente menores níveis de poluição antropogênica. O ponto III está situado na zona estuarina, enquanto o ponto IV está localizado em uma enseada semi-fechada, denominada Saco do Justino, caracterizando-se como um ambiente protegido, utilizado como local de cultivo de peixes e crustáceos.

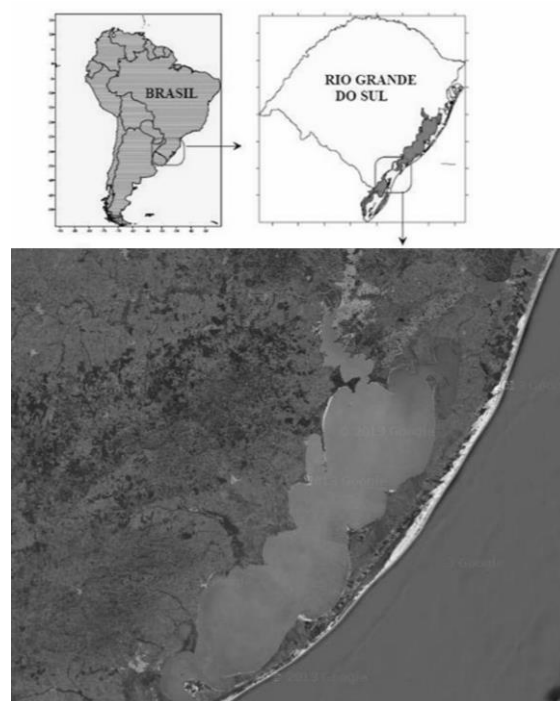


Figura 1. Mapa de localização da área de estudo.

Coleta e Amostragem

As amostragens de sedimento de fundo foram realizadas mediante o uso de testemunhadores do tipo “Van Veen” e de “gravidade”. As amostras de sedimento foram acondicionadas em sacos plásticos, sem ar no interior destes, e mantidas resfriadas até a realização das análises.

Tratamento das Amostras

A extração da água intersticial foi realizada segundo metodologia utilizada por Mirlean *et al.* [8], baseada na suspensão do sedimento em água destilada, na proporção 1:4 (sedimento:água), sob agitação por um período de 30 minutos. As fases sólidas e líquidas são separadas através de

centrifugação. O sobrenadante é então filtrado e pré-concentrado.

Métodos de Separação e Analíticos

a) Gel Cromatografia

Segundo o modelo de FLODIN, para gel cromatografia a distribuição líquido-gel depende de efeitos estéricos. O gel, formado de partículas com ligações cruzadas, ocupa um espaço grande e intrincado ao qual somente tem acesso moléculas pequenas, enquanto as moléculas maiores, cujo acesso é mais difícil, apresentam distribuição em favor do líquido e tendem a eluir da coluna mais cedo que as moléculas menores, sem considerar efeitos de adsorção.

O gel utilizado neste trabalho foi o gel de Dextrano (Sephadex), mais especificamente o Sephadex G-25, indicado em procedimentos de separação de substâncias, sendo de fácil manuseio e apresentando poucos problemas. A coluna foi calibrada utilizando-se soluções de polietilenoglicol com massa molecular variando de 400 até 3000g mol⁻¹. Os limites de inclusão (inferior) e de exclusão (livre) da coluna G-25, foram determinados utilizando-se as soluções de glicose e de Blue Dextran 2000, respectivamente, ambos com concentração de 2mg ml⁻¹. Estes limites determinam a zona de trabalho da coluna, definida pela passagem de dois compostos, um de baixa e outro de alta massa molecular.

Posteriormente a pré-concentração em gelo, as amostras foram submetidas à cromatografia em gel. No processo de separação na coluna foi utilizado um volume de 5 mL de cada amostra e o volume das alíquotas coletadas foi também de 5 mL. Foram empregadas colunas de 25 cm por 1 cm diâmetro. O fluxo da coluna foi mantido em 1mL min⁻¹. A coluna foi empacotada com uma suspensão de gel em solução salina (NaCl, 0,3% w/v) com um fluxo de 1 mL min⁻¹ da fase móvel. Após o acondicionamento da coluna, a partir de 200 mL de eluente a um fluxo de 1,5 mL min⁻¹, as soluções padrões foram eluídas individualmente com água bidestilada, (com resistividade de 19 MΩ-cm *Barnstead Easy Pure System*[®]). Ao final da eluição, foi adicionado uma solução de citrato de sódio (0,1 mol L⁻¹, 2,6 mS cm⁻¹) para remover traços de metais que podem ter sido adsorvidos pelo gel. Neste ponto é importante comentar que devido à pequena quantidade de

amostra obtida em cada ponto na época, não foi possível realizar as análises em triplicata, ou mesmo duplicata.

b) Espectrofotometria de Absorção Atômica

Os metais traço foram dosados nas alíquotas segundo a técnica de Espectrofotometria de Absorção Atômica. As determinações em chama foram realizadas por aspiração das soluções em chama de ar/acetileno. Nas análises dos metais em forno grafite, foram utilizadas lâmpadas de cátodo oco. Foram realizadas réplicas para cada amostra.

c) Espectrofotometria de UV/Vis:

As análises de carbono orgânico foram realizadas utilizando-se um espectrofotômetro de UV/VIS. As medidas da absorção foram realizadas em um comprimento de onda de 280 nm, segundo recomendações de Chin *et al.* [9].

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Calibração da Coluna G-25

A Figura 2 mostra as curvas de eluição de cada composto padrão utilizado na calibração da coluna. O limite de inclusão da coluna foi de 200 mL e o volume de exclusão ou volume livre (V₀) foi de 100mL.

Na Tabela 1, estão os resultados da calibração da coluna G-25 com as soluções padrão de glicose e polietilenoglicol. Podemos perceber que o volume de eluição (V_e) do padrão de polietilenoglicol de massa molecular de 3000g mol⁻¹ é idêntico ao V_e do polietilenoglicol de massa molecular de 1500 g mol⁻¹. Este resultado indica que o limite de exclusão desta coluna G-25 está entre 1500 e 3000 g mol⁻¹.

Segundo Collins e Braga [6], para uma série de compostos com moléculas de formas e densidades similares, existe uma relação linear entre os valores de K_{av} (constante de distribuição) e o logaritmo de suas massas moleculares. Da mesma forma, podemos verificar que, em um intervalo razoável, existe uma relação linear entre o volume de eluição (V_e) e o logaritmo de suas massas moleculares (Log MM). Através desta observação podemos construir uma curva de calibração ou de seletividade para a coluna G-25, utilizando a razão entre o volume de eluição (V_e) e o volume livre (V₀), denominada de volume de

eluição relativo (V_e/V_o), e relacionar este volume relativo com o logaritmo dos pesos moleculares dos padrões (Log MM), como mostra a Figura 3. Para a calibração da coluna, o valor de V_o foi de 100 mL

sendo as análises realizadas em triplicata. A partir da equação de correlação linear é possível estimar o MM das espécies orgânicas presentes nas amostras para uma coluna específica.

Tabela 1. Resultados de calibração da coluna G-25: Massa molecular (MM, Da), volume de eluição (V_e , mL) e o volume de eluição relativo (V_e/V_o)*.

Composto Padrão	MM	Log MM	V_e	V_e/V_o
Glicose	180	2,25	200	2,00
Polietilenoglicol	400	2,60	160	1,60
Polietilenoglicol	600	2,77	145	1,45
Polietilenoglicol	1000	3,00	125	1,25
Polietilenoglicol	1500	3,17	110	1,10
Polietilenoglicol	3000	3,47	110	1,10

*os valores de V_e e V_e/V_o apresentados na tabela são referentes aos valores médios

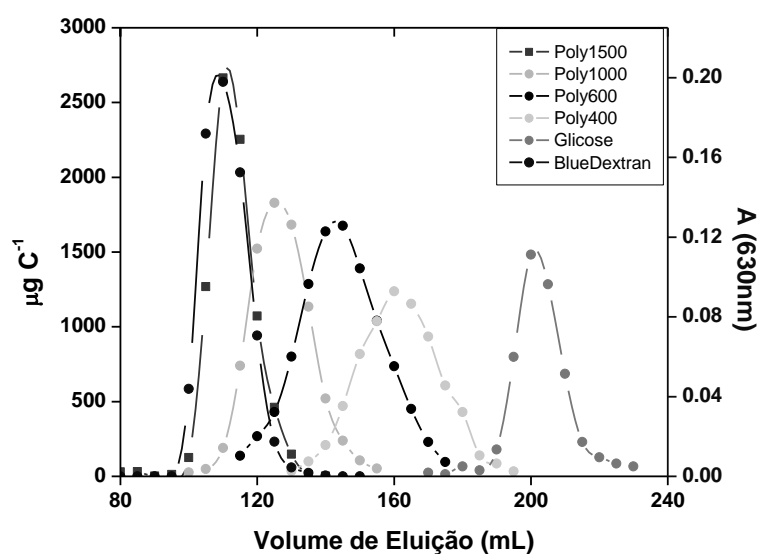


Figura 2. Curvas de eluição dos padrões de calibração da coluna G-25 ($\lambda = 630$ nm).

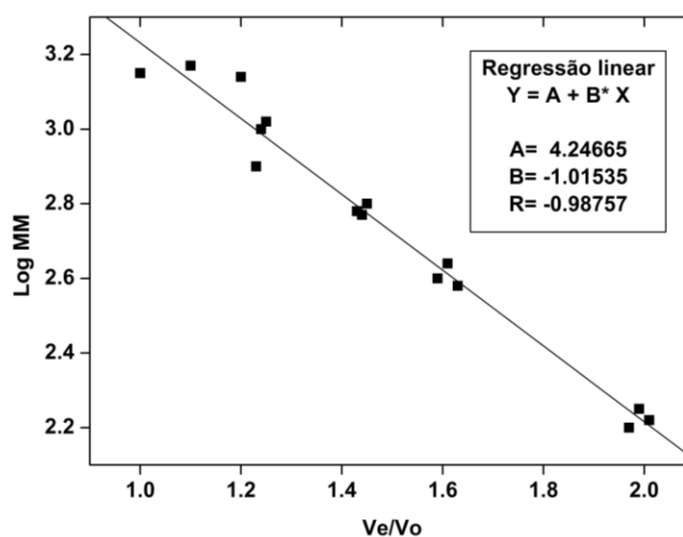


Figura 3. Reta de calibração da coluna G-25.

Distribuição dos Metais Complexados com a Matéria Orgânica

A análise dos pontos estudados foi realizada a partir da distribuição dos metais comparativamente com a distribuição do carbono orgânico dissolvido, e a massa molecular da fração orgânica. É importante observar que em todos os pontos estudados o metal predominante foi o Zn, enquanto que os demais analisados, Cu e Pb, encontram-se abaixo do limite de detecção. A distribuição do Zn em relação à fração de matéria orgânica dissolvida, nos pontos amostrados, é mostrada nas figuras 4-7.

Os menores valores relativos à concentração de Zn complexado com a fração da matéria orgânica dissolvida foram observados na região norte da laguna, compostas pelos pontos I e II. A avaliação dos pontos I e II podem ser observados nas Figuras 4 e 5, respectivamente. No ponto I, a concentração de Zn variou de 4,88 a 24,47 $\mu\text{g L}^{-1}$, enquanto que no ponto II apresentaram valores entre 11,33 e 91,06 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Considerando o volume de eluição, ao invés dos valores referentes à massa molecular das frações orgânicas, foi traçada uma curva de tendência entre a concentração de Zn e o volume de eluição das frações orgânica. No ponto I foi observada uma relação crescente entre ambos, apresentando um coeficiente de regressão linear de 0,867. A partir deste valor é possível afirmar que o Zn apresenta uma preferência pelas frações orgânicas que apresentam valores menores que 400 Da. É importante salientar que entre todos os pontos analisados nesse estudo, o ponto I foi o único que apresentou uma correlação linear entre a concentração de Zn e a massa molecular da matéria orgânica. Embora o ponto II seja localizado na mesma região, o mesmo comportamento não foi observado, sendo que nesse ponto o Zn complexou preferencialmente com as frações orgânicas de maior massa molecular. Outras tentativas foram realizadas para todos os pontos, no entanto não foi observada nenhuma relação linear do carbono orgânico com a massa molecular, ou mesmo entre a concentração de Zn e o carbono orgânico

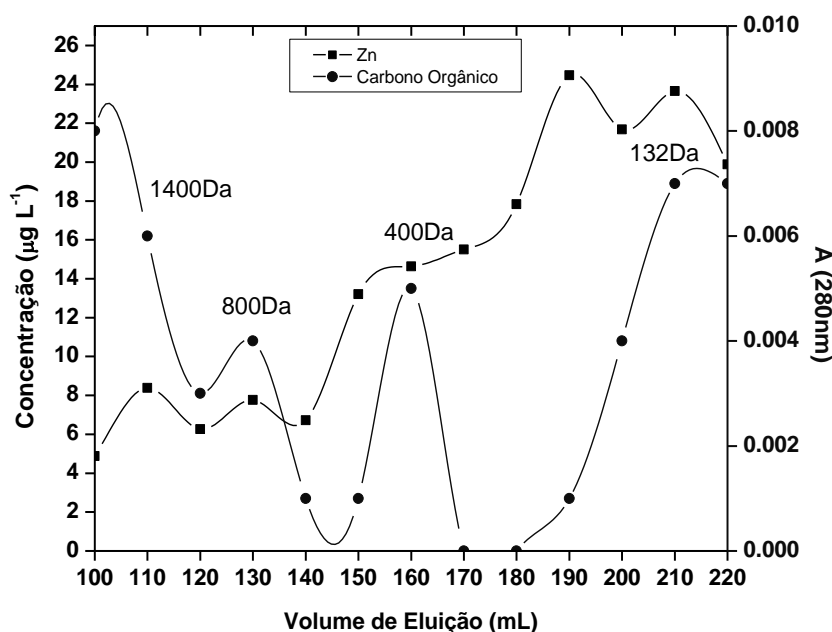


Figura 4. Distribuição do Zn com a matéria orgânica dissolvida no ponto I.

Na região sul do estuário da laguna foi detectado os níveis mais elevados de Zn associado às frações orgânicas. No ponto IV, a maior concentração determinada foi de 205,41 $\mu\text{g L}^{-1}$, enquanto que o menor valor foi de aproximadamente 22,78 $\mu\text{g L}^{-1}$. É importante ressaltar que o menor valor determinado nesta região é muito próximo dos valores máximos detectados na região norte. Já no ponto III o valor máximo e mínimo foi de 39,26 e 5,82 $\mu\text{g L}^{-1}$,

respectivamente. As distinções entre a região norte e sul não se limitam apenas aos níveis de Zn complexados à matéria orgânica dissolvida. Uma das diferenças é a absorbância da matéria orgânica entre ambas as regiões. Calculando a relação entre os valores de absorbância das duas regiões, $A_{\text{sul}}/A_{\text{norte}}$, em cada uma das frações, o resultado pode apresentar um valor mínimo de 0,07 e atingindo um máximo de 80. Outro fator importante referente à diferença entre

estas duas regiões é a massa molecular das frações orgânicas e a interação com o Zn. A associação preferencial do Zn, na parte norte da laguna, foi com a fração que apresentaram massa molecular de até 1.4 kDa e com mais leves, de massa molecular de até 180 Da. Em contrapartida, na região sul, no estuário da laguna, o Zn além de associado a fração de massa molecular de até 1.4 kDa, apresentou-se predominantemente em sua forma livre ou não associada à matéria orgânica. Quando esta interação ocorre com a fração de massa molecular abaixo de 180 Da é um forte indicativo de que as complexações do íon metálico estão ocorrendo principalmente com ácidos orgânicos simples [10]; como observado na região norte da laguna. No entanto, considerando o

método aplicado neste estudo, pesos moleculares abaixo de 180 Da estariam fora do limite de inclusão da coluna.

Alguns estudos têm sugerido que a quantidade total de Zn dissolvido é complexada por uma ou duas classes de ligantes orgânicos nas águas estuarinas, e que essa fração complexada pode variar de 1 a 95% [11,12]. Wells *et al.* [13] observou que na Baía de Narragansett aproximadamente 90% de todo Zn livre complexou com frações orgânicas menores que 1kDa. No entanto, outros estudos têm demonstrado que o Zn apresenta-se apenas dissolvido nas frações mais coloidais, com pesos moleculares acima de 10kDa [14,15].

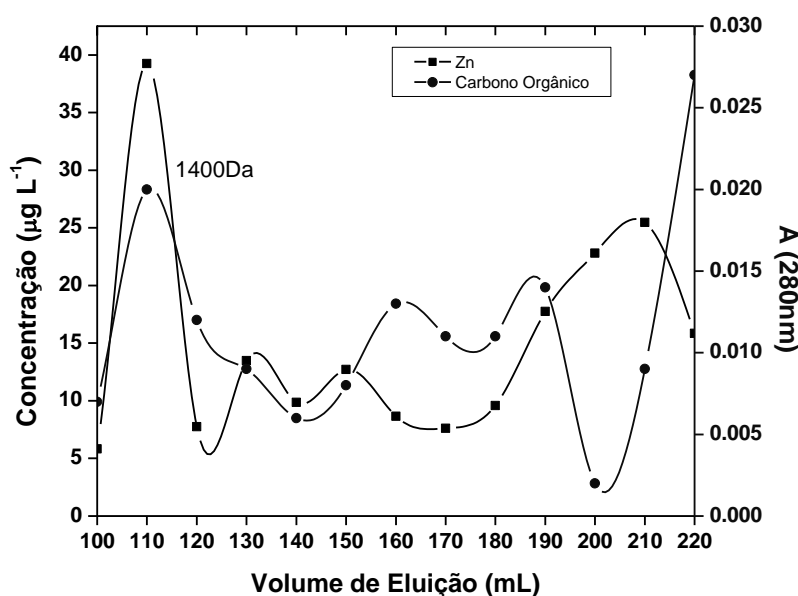


Figura 05: Distribuição do Zn com a matéria orgânica dissolvida no ponto II.

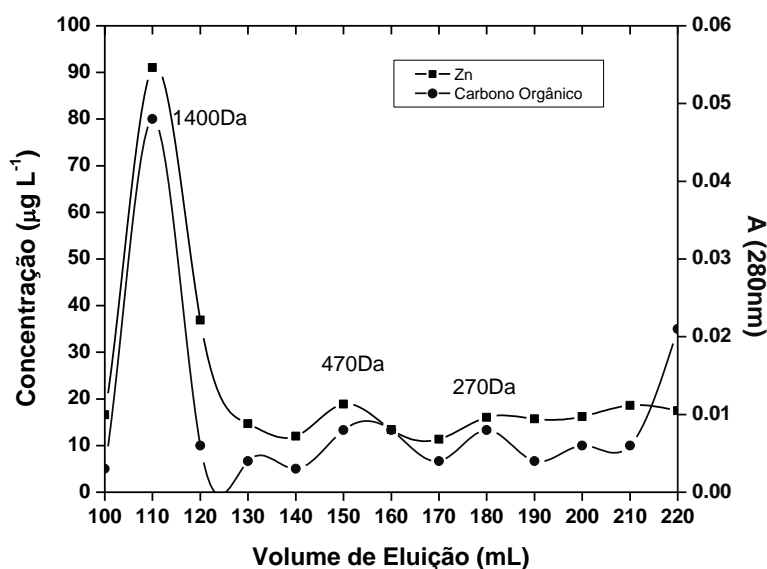


Figura 6: Distribuição do Zn com a matéria orgânica dissolvida no ponto III.

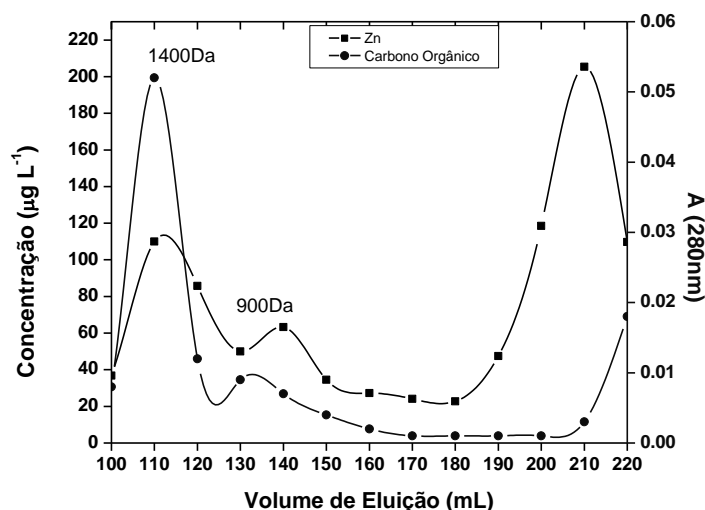


Figura 7: Distribuição do Zn com a matéria orgânica dissolvida no ponto IV.

Skrabal *et al.* [10] comenta que a massa molecular da fração orgânica e a interação do Zn dissolvido com as frações mais coloidais varia entre os estuários devido as distintas características da matéria orgânica de cada localidade, embora que algumas dessas variações observadas possa ser resultado dos diferentes métodos de fracionamento. Vale ressaltar que a distribuição e comportamento entre o Zn complexado e dissolvido não está necessariamente relacionado com a massa molecular da matéria orgânica, já que muitas vezes é possível que a partição entre outras fases (como o material particulado) seja mais relevante [16]. Neste caso, o Zn pode ser adsorvido ou incorporado em algumas fases como os sulfetos, oxi-hidróxidos de ferro e manganês ou a matéria orgânica que compõe os sedimentos [17, 18]. A remoção dessas fases pode ocorrer por meio de degradação (no caso da matéria orgânica), oxidação (sulfetos) ou redução (oxi-hidróxidos de ferro e manganês). No caso da matéria orgânica dissolvida, ela pode ser encontrada adsorvida ao oxi-hidróxidos [10].

Estudos realizados na Lagoa dos Patos com relação à influência da salinidade na liberação de metais para a coluna d'água, concluíram que a maioria dos metais é retirada da coluna d'água em regiões da laguna apresentando baixa salinidade, enquanto em regiões que apresentam alta salinidade essas espécies tendem a ser liberadas geralmente em associação com processos de remineralização da matéria orgânica [19,20]. Baseado nestes resultados é possível afirmar que, devido à influência da salinidade, a região sul da laguna apresenta uma tendência maior de liberar as espécies metálicas de seus sedimentos. É provável que este efeito seja o

responsável pelos níveis mais elevados de Zn na região sul do que na região norte da laguna. Uma possível explicação para este fenômeno é que devido o aumento da salinidade, há uma elevação nos níveis de alguns cátions (Na, K, Ca, Mg) que porventura competem com o Zn pela adsorção dos sítios ativos da matéria orgânica [21]. Em alguns casos, o aumento da salinidade pode vir a diminuir em até 20% a quantidade de Zn complexada à matéria orgânica sedimentar [21]. Em contrapartida, dependendo da elevação nos níveis de salinidade, a mesma pode vir a diminuir os efeitos tóxicos de alguns metais no estuário, como já demonstrado em alguns trabalhos [22]. Embora a toxicidade do Zn não seja tão afetada pela salinidade, em metais como o Pd esse efeito é mais acentuado, o que é atribuído ao fato destes metais complexarem com os íons de cloro [22].

Como previamente comentado, os níveis de Cu e Pb não foram possíveis de serem determinados, provavelmente devido a limitações da metodologia de determinação aplicada. De acordo com alguns estudos realizados em lagos e oceanos demonstraram que o Cu é mais fortemente complexado com a matéria orgânica, enquanto que a complexação do Zn apresentou valores menores resultando em uma grande concentração Zn fracamente ligado, ou mesmo livre no meio [12,16,18]. Esta diferença entre as constantes de estabilidade para o Zn e Cu é consistente com os valores determinados entre vários ligantes quelantes como, por exemplo, o ácido etilendiamino tetra-acético (EDTA), o ácido nitrilotriacético (NTA) e a cisteína (Bradl, 2004). No entanto, é importante ressaltar que há uma divergência entre inúmeros estudos quanto à ordem de afinidade entre estes três metais e a matéria orgânica.

Enquanto que Millward e Liu [21] demonstraram a maior afinidade do Zn em relação aos outros dois metais (Zn > Pd > Cu), outros estudos observaram diferentes valores: Cu > Pb > Zn [23,24]; Pb > Cu > Zn [25]; Pb > Zn > Cu [4]. Estas diferenças entre os níveis de afinidade são devidas principalmente às diferentes características de cada matéria orgânica presente em cada localidade. Por fim, é possível assinalar três importantes fatores que são determinantes para estabelecer o nível de afinidade de cada elemento químico em questão: (i) a concentração total do metal dissolvido, (ii) a concentração de ligantes na matéria orgânica e sua respectiva afinidade pelo metal em questão e (iii) a constante de equilíbrio que determina a estabilidade dos complexos [2].

4. CONCLUSÕES

Os resultados do estudo da interação entre o metal tóxico Zn e as frações da matéria orgânica sedimentares da Lagoa dos Patos, mostraram que o metal se liga de forma diferenciada, mesmo quando essa comparação é entre locais do mesmo sistema flúvio-estuarino. O Zn apresentou uma maior associação com a fração da matéria orgânica de massa molecular entre 180 Da a 1.4 kDa na região norte da Lagoa dos Patos. Em contrapartida, na parte sul, o Zn além de associado à fração da matéria orgânica de massa molecular até 1.4 kDa, apresentou também predominância em sua forma livre ou não associada à matéria orgânica. Os resultados indicam que, possivelmente, devido à influência da salinidade, a região sul da laguna apresenta uma tendência maior de liberar as espécies metálicas de seus sedimentos do que a região norte, onde ocorre a predominância de água doce proveniente do sistema Guaíba. É provável assim que este efeito seja o responsável pelos níveis mais elevados de Zn na região sul do que na região norte da laguna.

5. AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, pelo aporte financeiro. R. B. Viana agradece à FAPESP pela bolsa de pesquisa (12/19175-2).

6. REFERÊNCIAS E NOTAS

- [1] Santos-Encheandia, J.; Prego, R.; Cobelo-Garcia, A.; Millward, G. E. *Mar. Chem.* **2009**, *117*, 77. [[CrossRef](#)]

- [2] Laing, D. U.; Rinklebe, J.; Vandecasteele, B.; Meers, E.; Tack, F. M. G. *Sci. Total Environ.* **2009**, *407*, 3972. [[CrossRef](#)]
- [3] Luengen, A. C. *Limnol. Oceanogr.* **2007**, *52*, 1112. [[CrossRef](#)]
- [4] Point, D.; Bareille, G.; Amouroux, D.; Etcheber, H.; Donard, O. F. X. *J. Environ. Monit.* **2007**, *9*, 157. [[CrossRef](#)]
- [5] Bradl, H. K. *J. Colloid Interf. Sci.* **2004**, *277*, 1. [[CrossRef](#)]
- [6] Collins, C. H.; Braga, G. L.; Introdução a Métodos Cromatográficos, Editora da UNICAMP. Série Manuais, 3 ed., 1998.
- [7] Janos, P. *J. Chromatogr. A* **2003**, *983*, 1. [[CrossRef](#)]
- [8] Mirlean, N.; Baraj, B.; Niencheski, L. F.; Baisch, P.; Robinson, D. *Mar. Pollut. Bull.* **2001**, *42*, 1114. [[CrossRef](#)]
- [9] Chin, Y-P.; Aiken, G.; O'Loughlin, E. *Environ. Sci. Technol.* **1994**, *28*, 1853. [[CrossRef](#)]
- [10] Skrabal, S. A.; Lieseke, K. L.; Kieber, R. J. *Mar. Chem.* **2006**, *100*, 108. [[CrossRef](#)]
- [11] Kozelka, P. B.; Bruland, K. W. *Mar. Chem.* **1998**, *60*, 267. [[CrossRef](#)]
- [12] Bruland, K. W. *Limnol. Oceanogr.* **1989**, *34*, 269. [[CrossRef](#)]
- [13] Wells, M. L.; Kozelka, P. B.; Bruland, K. W. *Mar. Chem.* **1998**, *62*, 203. [[CrossRef](#)]
- [14] Sanudo-Wilhelmy, S. A.; Rivera-Duarte, I.; Flegal, A. R. *Geochim. Cosmochim. Acta* **1996**, *60*, 4933. [[CrossRef](#)]
- [15] Wen, L.; Santschi, P.; Gill, G. A.; Paternostro, C. *Mar. Chem.* **1999**, *63*, 185. [[CrossRef](#)]
- [16] Shafer, M. M.; Hoffmann, S. R.; Overdier, J. T.; Armstrong, D. E. *Environ. Sci. Technol.* **2004**, *38*, 3810. [[CrossRef](#)]
- [17] Cooper, D. C.; Morse, J. W. *Environ. Sci. Technol.* **1998**, *32*, 327. [[CrossRef](#)]
- [18] Shank, G. C.; Skrabal, S. A.; Whitehead, R. F.; Kieber, R. J. *Mar. Chem.* **2004**, *88*, 21. [[CrossRef](#)]
- [19] Windom, H. L.; Niencheski, L. F.; Smith, R. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **1999**, *48*, 113. [[CrossRef](#)]
- [20] Windom, H. L.; Smith, R.; Niencheski, L. F.; Alexander, C. *Mar. Chem.* **2000**, *68*, 307. [[CrossRef](#)]
- [21] Millward, G. E.; Liu, Y. P. *Sci. Total Environ.* **2003**, *314*, 613. [[CrossRef](#)]
- [22] Verslycke, T.; Vangheluwe, M.; Heijerick, D.; De Schampelaere, K.; Van Sprang, P.; Janssen, C. R. *Aquat. Toxicol.* **2003**, *64*, 307. [[CrossRef](#)]
- [23] Li, X.; Shen, Z.; Wai, O. W.; Li, Y. S. *Mar. Pollut. Bull.* **2001**, *42*, 215. [[CrossRef](#)]
- [24] Gardner, M. *Chemosphere* **1999**, *38*, 2117. [[CrossRef](#)]
- [25] Kerndorf, H.; Schnitzer, M. *Geochim. Cosmochim. Acta* **1980**, *44*, 1701. [[CrossRef](#)].