

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE  
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA  
TECNOLÓGICA E AMBIENTAL**

**ESPECIAÇÃO QUÍMICA DE ARSÊNIO  
INORGÂNICO NO ESTUÁRIO DA LAGOA DOS  
PATOS-RS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Josiane dos Santos Farias**

**Rio Grande/RS – Brasil  
2011**

# **ESPECIAÇÃO QUÍMICA DE ARSÊNIO INORGÂNICO NO ESTUÁRIO DA LAGOA DOS PATOS-RS**

**Por**

**Josiane dos Santos Farias**

**Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Química  
Tecnológica e Ambiental da Universidade Federal do Rio Grande  
(FURG), como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em  
Química Tecnológica e Ambiental**

**Orientador: Prof. Dr. Márcio Raimundo Milani**

**Rio Grande-RS/Brasil**

**2011**

**Universidade Federal do Rio Grande – FURG**  
**Escola de Química e Alimentos**  
**Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação

**ESPECIAÇÃO QUÍMICA DE ARSÊNIO INORGÂNICO NO  
ESTUÁRIO DA LAGOA DOS PATOS-RS**

Elaborada por  
**Josiane dos Santos Farias**

**Como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química  
Tecnológica e Ambiental**

**Comissão examinadora**

---

**Prof. Dr. Márcio Raimundo Milani**  
(Orientador-Presidente)

---

**Prof. Dr. Fábio Andrei Duarte (FURG)**

---

**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Idel Cristiana Bigliardi Milani (UFPEl)**

Rio Grande, 8 de setembro de 2011.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, agradeço a minha mãe, Maria, e aos meus irmãos, Leôncio e Marcelo, por sempre estarem me ajudando e me incentivando nos meus estudos, principalmente, na minha vida acadêmica para que eu pudesse sempre concluir os meus estudos.

Ao meu noivo, Rafael, pelo carinho e compreensão que teve comigo durante todo o mestrado. Obrigada por me confortar nos momentos em que mais precisei.

Às minhas amigas e colegas, Luiza Dy e Regina, por sempre estarem comigo e também por me ajudar várias vezes na rotina diária do laboratório.

Ao meu orientador, Márcio, por ter aceitado a me orientar e ter me ajudado durante o desenvolvimento deste trabalho.

A Mariele por ter me auxiliado nas análises e também a todos os meus colegas e professores que fazem parte do grupo do laboratório de Hidroquímica pelo companheirismo que tiveram comigo durante esse tempo e por ter me acolhido e permitido a realização deste trabalho.

Aos professores Idel Milani e Fábio Andrei por terem aceitado participar desta banca.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior), pelo apoio financeiro durante os dois anos de mestrado.

Por fim, agradeço a todos meus familiares e amigos que sempre estiveram ao meu lado me incentivando e torcendo por mim.

**Muito Obrigada a todos!!!**

## RESUMO

Universidade Federal do Rio Grande – FURG

Programa de Pós Graduação em Química Tecnológica e Ambiental

### **ESPECIAÇÃO QUÍMICA DE ARSÊNIO INORGÂNICO NO ESTUÁRIO DA LAGOA DOS PATOS-RS**

Autora: Josiane dos Santos Farias

Orientador: Prof. Dr. Márcio Raimundo Milani

Rio Grande, 8 setembro de 2011.

A poluição das águas por metais, principalmente os metais pesados, vem chamando a atenção no mundo, pois estes poluentes aquáticos representam um risco em potencial, devido ao seu caráter acumulativo. Entre os metais, o arsênio recebe destaque pelo seu potencial tóxico. O arsênio inorgânico ocorre na natureza em quatro estados de oxidação:  $As^{5+}$ ,  $As^{3+}$ ,  $As^0$  e  $As^{3-}$ . O estado de oxidação do arsênio tem um papel importante no seu comportamento e toxicidade nos sistemas aquáticos. Pelo fato do arsênio ser extremamente perigoso e nocivo para o meio ambiente, novos métodos analíticos de especiação química no meio ambiente têm sido publicados. Neste estudo foi otimizado e validado um método para realizar a especiação química de arsênio inorgânico presente em amostras de água coletadas nos meses de julho e outubro de 2010 no estuário da Lagoa dos Patos (RS, Brasil), como parte das atividades do Programa de Monitoramento Ambiental do Porto do Rio Grande-RS. Foi usada a técnica de espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos e injeção em fluxo (FI-HG AAS), podendo ser quantificadas espécies de  $As^{3+}$  e  $As^{5+}$  nas amostras de água estuarina. A concentração do arsênio trivalente inorgânico foi determinada, após adição de solução tampão citrato de sódio ( $0,4 \text{ mol L}^{-1}$ ;  $\text{pH} = 6,0$ ). A concentração de arsênio inorgânico total foi determinada, após uma etapa de pré-redução da espécie pentavalente para a forma trivalente usando uma mistura de iodeto de potássio, ácido ascórbico em meio ácido clorídrico concentrado. A concentração de arsênio pentavalente foi calculada pela diferença das concentrações de arsênio inorgânico total e trivalente. A interpretação dos resultados gerados pelo método proposto usado ao

analisar amostras de águas coletadas no estuário da Lagoa dos Patos foi feita pela análise dos componentes principais. Os dados tratados estatisticamente revelaram uma interação significativa neste estudo entre o arsênio, o material em suspensão (MS) e o  $\text{NH}_4^+$  na superfície da coluna d'água no período da primavera.

Palavras-chave: arsênio; especiação; espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos e injeção em fluxo.

## **ABSTRACT**

Universidade Federal do Rio Grande – FURG

Programa de Pós Graduação em Química Tecnológica e Ambiental

### **CHEMICAL SPECIATION OF INORGANIC ARSENIC IN THE ESTUARY OF LAGOA DOS PATOS-RS**

Author: Josiane dos Santos Farias

Advisor: Prof. Dr. Márcio Raimundo Milani

Rio Grande, 8 September 2011.

Water pollution by metals, mainly by heavy metals, has been drawing the world's attention once these aquatic pollutants present potential danger, due to its cumulative properties and, among heavy metals, the arsenic stands out because of its toxic potential. Inorganic arsenic occurs in nature under four oxidation states:  $\text{As}^{5+}$ ,  $\text{As}^{3+}$ ,  $\text{As}^0$  e  $\text{As}^{3-}$ . Arsenic oxidation state is an important factor regarding its behavior and toxicity in aquatic systems. Because arsenic presents extreme danger and harm to environment, new analytic methods for chemical speciation in environment have been studied. This study optimized and validated a method to perform chemical speciation of inorganic arsenic in water samples collected in the Environmental Monitoring Program of the Port of Rio Grande-RS in July and October 2010 in the estuary of Lagoa dos Patos (RS, Brazil). The Flow Injection Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry technique was employed, allowing the quantification of  $\text{As}^{3+}$  e  $\text{As}^{5+}$ , present in estuarine water samples. The concentration of inorganic trivalent arsenic was determined after the addition of sodium citrate buffer solution ( $0.4 \text{ mol L}^{-1}$ ;  $\text{pH}= 6.0$ ). Total inorganic arsenic concentration was determined after a step of pentavalent species pre-reduction, to trivalent form, by using a solution of potassium iodate and ascorbic acid in concentrated chloridric acid. Arsenate concentration was calculated by total and trivalent inorganic arsenic concentration differences. Data interpretation, of results generated by the

improved method employed to analyze water samples collected from estuary of Lagoa dos Patos was done by the main components analysis. The processed data revealed a statistically significant interaction in this study between the arsenic, suspended matter (MS) and  $\text{NH}_4^+$  on the surface of the water column during the spring.

Keywords: arsenic; speciation; flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Compostos de arsênio. Adaptado de Barra <i>et al.</i> (2000). .....	24
Figura 2 - Gráfico da variação da absorbância em função .....	28
Figura 3 - Esquema de um sistema FIA. M: amostra; R: redutor ( $\text{NaBH}_4$ ); A: solução carregadora (HCl); BP: sistema de bomba peristáltica; VI: válvula de injeção; Ar: argônio; Ri: Alça de reação; S: separador gás-líquido; At: atomizador; D: descarte. Adaptado de Armienta <i>et al.</i> (2009). .....	32
Figura 4 - Desenho amostral das 11 estações de coleta. ....	39
Figura 5 - Espectrômetro de absorção atômica com geração de hidretos e injeção em fluxo da Perkin Elmer.....	44
Figura 6 - Concentração de ácido clorídrico ( $n=3$ ) em função da absorbância obtida. ....	60
Figura 7 - Concentração de borohidreto de sódio ( $n=3$ ) em função da absorbância obtida. ....	61
Figura 8 - pH da solução tampão citrato ( $n=3$ ) em função da absorbância obtida. ....	62
Figura 9 - Vazão do gás argônio ( $n=3$ ) em função da absorbância. ....	63
Figura 10 - Volume de ácido clorídrico e o tempo de reação para determinação de arsênio inorgânico total ( $n=2$ ) em função da absorbância obtida. ....	64
Figura 11 - Representação da linearidade do método analítico para determinação de $\text{As}^{3+}$ e $\text{As}^{5+}$ . .....	66
Figura 12 - Concentração de $\text{As}^{3+}$ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) na superfície da coluna d'água na Lagoa dos Patos no inverno e na primavera. ....	71
Figura 13 - Correlação entre as concentrações de $\text{As}^{3+}$ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) na superfície da coluna d'água na Lagoa dos Patos no inverno e na primavera. ....	72
Figura 14 - Concentração de $\text{As}^{3+}$ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) no fundo da coluna d'água na Lagoa dos Patos no inverno e na primavera. ....	73
Figura 15 - Correlação entre as concentrações de $\text{As}^{3+}$ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) no fundo da coluna d'água na Lagoa dos Patos no inverno e na primavera. ....	73

Figura 16 - Concentração de $As^{5+}$ ( $\mu g L^{-1}$ ) na superfície da coluna d'água na Lagoa dos Patos no inverno e na primavera.....	74
Figura 17 - Correlação entre a concentração de $As^{5+}$ ( $\mu g L^{-1}$ ) na superfície da coluna d'água na Lagoa dos Patos no inverno e na primavera.....	75
Figura 18 - Concentração de $As^{5+}$ ( $\mu g L^{-1}$ ) no fundo da coluna d'água na Lagoa dos Patos no inverno e na primavera.....	76
Figura 19 - Correlação entre as concentrações de $As^{5+}$ ( $\mu g L^{-1}$ ) no fundo da coluna d'água na Lagoa dos Patos no inverno e na primavera.....	77
Figura 20 - Gráfico representando as variáveis em relação ao fator 1 e 2. ....	80
Figura 21 - Gráfico representando as variáveis em relação ao fator 3 e 4. ....	81
Figura 22 - Distribuição das 11 estações de coleta em função dos fatores 1 e 2.....	82
Figura 23 - Gráfico representando as variáveis em função aos fatores 1 e 2. ....	84
Figura 24 - Gráfico representando as variáveis em função aos fatores 3 e 4. ....	85
Figura 25 - Representação das 11 estações de coleta em função dos fatores 1 e 2.....	86
Figura 26 – Representação das variáveis em relação aos fatores 1 e 2. ....	88
Figura 27 – Representação das variáveis em relação aos fatores 3 e 4. ....	88
Figura 28 - Gráfico da representação das 11 estações distribuídas ao longo da Lagoa dos Patos. ....	89
Figura 29 - Gráfico da representação das variáveis em função dos fatores 1 e 2.....	91
Figura 30 - Gráfico da representação das variáveis em relação aos fatores 3 e 4. ....	92
Figura 31 - Gráfico da representação das 11 estações de coleta distribuídas na Lagoa dos Patos. ....	92

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição das estações de coleta.....	40
Tabela 2 - Dados para a construção da reta analítica na determinação de amônio. ....	51
Tabela 3 - Dados para a construção da reta analítica na determinação de nitrito.....	54
Tabela 4 - Concentrações de $As^{3+}$ e $As^{5+}$ ( $\mu g L^{-1}$ ) na superfície da coluna d'água na Lagoa dos Patos no inverno e na primavera seguido de suas médias, desvios padrão, valor máximo e mínimo. ....	69
Tabela 5 - Concentrações de $As^{3+}$ e $As^{5+}$ nas 11 estações de coleta ao longo da Lagoa dos Patos no fundo da coluna d'água no inverno e na primavera seguido de suas médias, desvios padrão, valor máximo e mínimo. ....	70
Tabela 6 - Principais fatores extraídos a partir dos dados brutos da superfície da coluna d'água no período do inverno pelo método ACP.....	79
Tabela 7 - Principais fatores extraídos a partir dos dados brutos do fundo da coluna d'água no período do inverno pelo método ACP.....	83
Tabela 8 - Principais fatores extraídos a partir dos dados brutos da superfície da coluna d'água no período da primavera pelo método ACP. ....	87
Tabela 9 - Principais fatores extraídos a partir dos dados brutos do fundo da coluna d'água no período da primavera pelo método ACP.....	90

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS**

ET AAS: Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica, do inglês *electrothermal atomic absorption spectrometry*

FI-HG AAS: Espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos e sistema de injeção em fluxo, do inglês *Flow Injection Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry*

MS: Material em suspensão

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	8
LISTA DE TABELAS .....	10
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	11
1 INTRODUÇÃO .....	17
1.1 APRESENTAÇÃO .....	17
1.2 CONSIDERAÇÕES GERAIS DO TRABALHO.....	18
1.3 JUSTIFICATIVA.....	21
1.4 OBJETIVOS .....	23
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	24
2.1 ARSÊNIO .....	24
2.2 ESPECIAÇÃO QUÍMICA.....	26
2.3 DETERMINAÇÃO DE ARSÊNIO POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM GERAÇÃO DE HIDRETOS E SISTEMA DE INJEÇÃO EM FLUXO .....	28
2.3.1 Fundamentos teóricos.....	28
2.3.2 Geração de hidretos .....	30
2.3.3 Espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos e sistema de injeção em fluxo .....	31
2.4 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO.....	33
2.4.1 Linearidade.....	33
2.4.2 Limite de detecção .....	33
2.4.3 Limite de quantificação.....	34
2.4.4 Exatidão.....	35

2.4.5 Precisão .....	36
2.5 ANÁLISE DE FATORES COM ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS .....	36
3 PARTE EXPERIMENTAL.....	38
3.1 MONITORAMENTO CONTÍNUO EM ESTAÇÕES DE COLETAS .....	38
3.2 PROCEDIMENTO DE COLETA E TRATAMENTO DAS AMOSTRAS COLETADAS	40
3.3 MATERIAIS E MÉTODOS .....	41
3.3.1 Instrumentação e material utilizado .....	41
3.3.1.1 Material .....	41
3.3.1.2 Instrumentos.....	42
3.3.1.3 Equipamentos.....	42
3.3.2 Condições espectrométricas .....	42
3.3.2.1 Espectrômetro de absorção atômica.....	42
3.3.2.2 Sistema de geração de hidretos e injeção em fluxo (condições indicadas pelo fabricante) .....	43
3.3.3 Reagentes e padrões .....	44
3.3.3.1 Reagentes .....	44
3.3.3.2 Padrões .....	45
3.3.4 Limpeza do material.....	45
3.3.5 Preparação das soluções estoques .....	46
3.3.5.1 Solução estoque de 100 mg L <sup>-1</sup> de As <sup>3+</sup> .....	46
3.3.5.2 Solução estoque de As <sup>5+</sup> .....	46
3.3.6 Preparação das soluções trabalho.....	46
3.3.6.1 Solução trabalho de As <sup>5+</sup> .....	46
3.3.6.2 Solução trabalho de As <sup>3+</sup> .....	46
3.3.7 Outras soluções .....	47
3.3.7.1 HCl 3 mol L <sup>-1</sup> .....	47
3.3.7.2 NaOH 0,05 % (m/V) .....	47
3.3.7.3 NaBH <sub>4</sub> 0,3 % (m/V) em NaOH 0,05% (m/V).....	47

3.3.7.4 KI 5 % (m/V) em ácido ascórbico 5 % (m/V).....	47
3.3.7.5 Tampão citrato 0,4 mol L <sup>-1</sup> (pH= 6,0).....	48
3.3.7.6 Ácido cítrico 1 mol L <sup>-1</sup> .....	48
3.4 PROCEDIMENTO PARA DETERMINAÇÃO DAS ESPÉCIES INORGÂNICAS DE ARSÊNIO .....	48
3.5 PROCEDIMENTO PARA DETERMINAÇÃO DOS NUTRIENTES INORGÂNICOS DISSOLVIDOS.....	50
3.5.1 Amônio.....	50
3.5.1.1 Reagentes .....	50
3.5.1.2 Construção da reta padrão .....	51
3.5.1.3 Determinação das amostras .....	52
3.5.2 Nitrito.....	52
3.5.2.1 Reagentes .....	52
3.5.2.2 Construção da reta padrão .....	54
3.5.2.3 Determinação das amostras .....	55
3.5.3 Nitrato .....	55
3.5.3.1 Reagentes .....	55
3.5.3.2 Preparo da coluna de cádmio .....	56
3.5.3.3 Rendimento da coluna.....	57
3.5.3.4 Determinação das amostras .....	57
3.6 PROCEDIMENTO DE DESCARTE DOS RESÍDUOS GERADOS NA ANÁLISE.....	58
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	59
4.1 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS EXPERIMENTAIS .....	59
4.1.1 Otimização da concentração de HCl .....	59
4.1.2 Otimização da concentração do NaBH <sub>4</sub> .....	60
4.1.3 Otimização do pH da solução tampão.....	62
4.1.4 Otimização da vazão de argônio .....	63
4.1.5 Otimização do tempo de reação .....	64
4.2 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO.....	65

4.2.1 Validação do método para a determinação de $As^{3+}$ e $As^{5+}$ .....	65
4.2.1.1 Linearidade.....	65
4.2.1.2 Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) .....	66
4.2.1.3 Precisão .....	66
4.2.1.4 Exatidão.....	67
4.3 COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES MÉDIAS DE $As^{3+}$ E $As^{5+}$ NO INVERNO E NA PRIMAVERA .....	68
4.3.1 Superfície da coluna d'água .....	68
4.3.2 Fundo da coluna d'água .....	70
4.4 COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE $As^{3+}$ NAS 11 ESTAÇÕES DE COLETA NO INVERNO E NA PRIMAVERA .....	71
4.4.1 Superfície da coluna d'água .....	71
4.4.2 Fundo da coluna d'água .....	72
4.5 COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE $As^{5+}$ NAS 11 ESTAÇÕES DE COLETA NO INVERNO E NA PRIMAVERA .....	74
4.5.1 Superfície da coluna d'água .....	74
4.5.2 Fundo da coluna d'água .....	75
4.6 RESULTADOS DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E DOS NUTRIENTES INORGÂNICOS DISSOLVIDOS .....	77
4.7 TRATAMENTO ESTATÍSTICO .....	78
4.7.1 Período do Inverno (superfície).....	79
4.7.2 Período do Inverno (fundo).....	83
4.7.3 Período da primavera (superfície).....	87
4.7.4 Período da primavera (fundo) .....	90
5 CONCLUSÕES.....	94
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	95
ANEXOS.....	101
ANEXO A. RESULTADOS DAS CONCENTRAÇÕES DE ARSÊNIO NO ESTUÁRIO DA LAGOA DOS PATOS-RS .....	101

ANEXO B. RESULTADOS BRUTOS DOS DOIS CRUZEIROS SAZONAIS (INVERNO E PRIMAVERA) REALIZADOS NO ESTUÁRIO DA LAGOA DOS PATOS .....	102
ANEXO C. TABELA DOS AUTOVALORES PARA O PERÍODO DO INVERNO NA SUPERFÍCIE DA COLUNA D'ÁGUA .....	104
ANEXO D. TABELA DOS AUTOVALORES PARA O PERÍODO DO INVERNO NO FUNDO DA COLUNA D'ÁGUA .....	105
ANEXO E. TABELA DOS AUTOVALORES PARA O PERÍODO DA PRIMAVERA NA SUPERFÍCIE DA COLUNA D'ÁGUA .....	106
ANEXO F. TABELA DOS AUTOVALORES PARA O PERÍODO DA PRIMAVERA NO FUNDO DA COLUNA D'ÁGUA .....	107
ANEXO G. PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA .....	108

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 APRESENTAÇÃO

O trabalho foi desenvolvido no laboratório de Hidroquímica da Universidade Federal do Rio Grande, estando vinculado ao Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental. Os recursos utilizados nesse trabalho tais como equipamentos, reagentes e vidrarias pertencem às instalações do laboratório de Hidroquímica. As metodologias analíticas validadas foram usadas para analisar amostras de água coletadas em expedições do Programa de Monitoramento Ambiental do Porto de Rio Grande.

O Programa de Monitoramento Ambiental do Porto de Rio Grande vem sendo realizado pela FURG desde 2006 com a participação de vários grupos de pesquisa desta instituição. Dentre os participantes encontra-se o laboratório de Hidroquímica, realizando amostragens sazonais com frequência de quatro cruzeiros ao ano. As amostragens são realizadas na coluna d'água (superfície e fundo) ao longo do canal de navegação. O laboratório de Hidroquímica é responsável pela determinação de parâmetros físico-químicos, nutrientes e elementos traço, entre eles: o arsênio.

O estudo iniciou pela otimização e validação de uma metodologia para a análise da especiação química de arsênio inorgânico, usando a espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos e injeção em fluxo (FI-HG AAS).

Esta dissertação apresenta o desenvolvimento e os resultados obtidos desse estudo para a realização da especiação química de arsênio inorgânico no estuário da Lagoa dos Patos e está dividida em cinco partes.

- 1 Introdução;
- 2 Revisão da literatura;
- 3 Parte Experimental;
- 4 Resultados e discussões;
- 5 Conclusão.

## 1.2 CONSIDERAÇÕES GERAIS DO TRABALHO

Os metais são contaminantes ambientais estáveis e persistentes, pois não podem ser degradados e nem destruídos. Na crosta terrestre, os metais em geral existem em baixas concentrações, sendo chamados de metais traço ou elementos traço. Porém, a mineração no século XX aumentou significativamente as concentrações destes elementos no meio ambiente aquático (Silva, 2008).

Os metais no meio aquático são oriundos de fontes naturais como lixiviação dos solos e rochas, que estão em contato diretamente com a água e, também, por meio de fontes antrópicas como efluentes domésticos e industriais, pela aplicação de pesticidas, pelo processo de mineração e por precipitação atmosférica (Silva, 2008).

A poluição das águas por metais, principalmente os metais pesados, vem chamando a atenção no mundo, pois estes poluentes aquáticos representam um risco em potencial, devido ao seu caráter acumulativo (Assis, 2006).

Além disso, nos ecossistemas aquáticos, os metais e outros compostos têm a tendência de acumular nos sedimentos, podendo ser liberados na coluna d'água e tornando-se biodisponíveis. Dessa forma, pode ser incorporado ao longo da cadeia alimentar, afetando a biota e, conseqüentemente, causando danos à saúde humana (Silva, 2008).

No meio ambiente, a toxicidade do metal depende do estado de oxidação e da estrutura química da espécie metálica (Hung *et al.*, 2004). Por exemplo, os íons cromo (VI) são considerados mais tóxicos do que os íons cromo (III). Por outro lado, metilmercúrio e mercúrio inorgânico são tóxicos, porém apresentam diferentes padrões de toxicidade (Templeton *et al.*, 2000).

Além desses dois exemplos citados acima o estado de oxidação do arsênio tem um papel importante no seu comportamento e toxicidade nos sistemas aquáticos (Coelho *et al.*, 2002; Cabon e Cabon, 2000). O arsênio pode ser encontrado naturalmente no meio ambiente (Hung *et al.*, 2004) na forma de quatro estados de oxidação:  $As^{5+}$ ,  $As^{3+}$ ,  $As^0$  e  $As^{3-}$  (Leermakers *et al.*, 2006; Assis, 2006). Os compostos orgânicos de arsênio, como arsenocolina e a arsenobetaína que estão presentes nos organismos marinhos, não são tóxicos, mas os compostos inorgânicos são as espécies mais tóxicas encontradas no ambiente aquático (Leemarkers *et al.*, 2006).

Segundo Niencheski *et al.* (2004) os metais pesados são elementos cuja massa atômica situa-se entre 63,5 e 200,6 g mol<sup>-1</sup> podendo ser classificados em dois grupos: metais transacionais e metalóides. Os metais transacionais são aqueles elementos essenciais ao metabolismo em baixas concentrações, porém podem ser tóxicos em altas concentrações. O cobalto, cobre, ferro e manganês são exemplos deste grupo. Os metalóides são elementos que não são necessários às funções metabólicas e são tóxicos mesmo em concentrações baixas. Neste grupo se encontram o arsênio, cádmio, chumbo, mercúrio, selênio e estanho (ATSDR, 2007; Mazumder, 2008; Assis, 2006).

O arsênio pode ser encontrado na atmosfera, na água, em solos, sedimentos e organismos, ocorrendo naturalmente na crosta terrestre. Além disso, encontra-se distribuído em diferentes formas químicas, podendo sofrer transformação pela ação de microrganismos, por mudanças nas condições geoquímicas ou por outros processos que ocorrem no meio ambiente (Assis, 2006; ATSDR, 2007).

Na atmosfera o arsênio é liberado por fenômenos naturais ou fontes antropogênicas na proporção de 60:40 e retorna à superfície da terra por meio de deposição seca ou úmida (Assis, 2006). As principais fontes naturais de arsênio são a volatilização que libera, aproximadamente, 26.000 toneladas de arsênio por ano e a atividade vulcânica, que libera para a atmosfera em torno de 17.000 toneladas de arsênio por ano (ATSDR, 2007).

A contaminação humana ocorre através da ocupação industrial, na ingestão de comida ou bebida contaminada, pelo contato da pele com água ou solo contaminado com arsênio, pela respiração ou por atos intencionais (Assis, 2006).

Devido ao fato de o arsênio ser importante em relação a sua toxicidade; técnicas de determinação que permitam a detecção de arsênio em níveis-traço continuam a ser desenvolvidas. A espectrometria de absorção e emissão atômica são técnicas mais utilizadas para a detecção de arsênio. Porém, a espectrometria de emissão atômica com chama não apresenta uma boa sensibilidade e, por esse motivo, não é muito utilizada (Barra *et al.*, 2000).

Visto que, a espectrometria de absorção atômica com chama não é uma técnica de boa sensibilidade, esta é frequentemente empregada com a técnica de geração de hidretos, o que a torna uma ferramenta indispensável para a determinação de arsênio.

A espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS) tem sido usada para análise de diferentes amostras, por causa da sua sensibilidade e

exatidão (Barra *et al.*, 2000). No entanto, para análise de água do mar ou de águas não contaminadas por arsênio, esta técnica acaba se tornando inviável, pois a concentração de arsênio encontrada nessas águas está abaixo do limite de detecção, em torno de 1,1 – 1,9  $\mu\text{g L}^{-1}$  (Barra *et al.*, 2000). Necessitando de uma etapa de pré-concentração e separação do analito, o que a torna mais difícil de ser utilizada em análises de rotina.

Para a determinação de traços de arsênio, técnicas automatizadas como, por exemplo, a análise por injeção em fluxo (FI) tem atraído atenção por sua alta precisão, elevada taxa de amostragem e possibilidade de inclusão de pré-tratamentos e pré-concentração do analito em linha. Os métodos empregando a técnica injeção em fluxo são os melhores em termos de instrumentação simples e baixo custo, pois permite a determinação rápida de diversos elementos traço em linha (Barra *et al.*, 2000).

A análise por injeção em fluxo combinada com a geração de hidretos e espectrometria de absorção atômica (FI-HG AAS) como sistema de detecção é um acoplamento atrativo, por causa da sua simplicidade e alta sensibilidade. Estes procedimentos quando comparados com procedimento convencionais em batelada fazem o uso dos benefícios da introdução da amostra, volume reduzido, diminuição da possibilidade de contaminação e do aumento da tolerância para interferentes (Barra *et al.*, 2000).

Na literatura são encontrados diversos trabalhos enfatizando a especificação química de arsênio no meio ambiente utilizando a técnica FI-HG AAS. Chantai *et al.* (2007) determinaram a concentração das diferentes espécies de arsênio inorgânico e também, arsênio total presente nas amostras de vinho e bebidas destiladas, encontrando um teor de concentração de arsênio inorgânico bem maior do que a concentração de arsênio total. Quinaia e Rollemberg (1997) determinaram as concentrações de  $\text{As}^{3+}$ ,  $\text{As}^{5+}$  e DMA (ácido dimetilarsínico) em amostras de rio por FI-HG AAS. Borges *et al.* (2005) tiveram como objetivo específico a determinação de arsênio, bismuto e antimônio em rochas utilizando também a técnica de geração de hidretos. Pereira *et al.* (2009), aplicaram uma metodologia alternativa de determinação espectrométrica de arsênio em solos usando a diclohexilamina em  $\text{CHCl}_3$  em substituição a piridina. Coelho *et al.* (2002), propuseram a técnica FI-HG AAS, mencionando o uso desta técnica como uma boa alternativa para a determinação das concentrações de espécies de arsênio inorgânico, pois o método para análise da especificação de arsênio inorgânico apresentou uma boa sensibilidade e exatidão.

Sigrist *et al.* (2004), propuseram um método para a determinação das espécies inorgânicas de arsênio ( $\text{As}^{3+}$  e  $\text{As}^{5+}$ ) em amostras de água subterrânea, encontrando uma concentração muito baixa de  $\text{As}^{3+}$ . Borba *et al.* (2009), propuseram um método adequado para a determinação de  $\text{As}^{3+}$ ,  $\text{As}^{5+}$  e As inorgânico total em águas subterrâneas, como alternativa em um programa de monitoramento ambiental usando a técnica FI-HG AAS.

A legislação brasileira estabelece limites apenas para a concentração total do metal presente em ambientes hídricos quanto para água destinada ao consumo humano. A resolução nº 357, de 17 de março de 2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) estabelece um limite máximo para o teor de arsênio total de  $0,01 \text{ mg L}^{-1}$  para águas salobras. Esse teor é o mesmo estabelecido pela Portaria nº 518, de 25 de março de 2004 do Ministério da Saúde que visa à qualidade da água potável.

No entanto, a concentração total de arsênio não nos fornece informação sobre a sua toxicidade e reatividade, sendo necessário determinar as concentrações das diferentes espécies químicas de arsênio, para conhecer o grau de toxicidade desse metal no ambiente. Desta forma este trabalho vem apresentar uma metodologia para realizar a especiação química de arsênio inorgânico em amostras de água e assim mostrar a necessidade da adequação da legislação brasileira mediante a inserção de metais.

### 1.3 JUSTIFICATIVA

O arsênio é considerado um elemento carcinogênico para os seres humanos (Figueiredo *et al.*, 2004; Sharaim *et al.*, 1999), sendo a forma inorgânica a mais maléfica ao homem (Chantai *et al.*, 2007, Szkoda *et al.*, 2006). Em termos de toxicidade, as espécies de  $\text{As}^{3+}$  são consideradas várias vezes superiores à das espécies de  $\text{As}^{5+}$  (Figueiredo *et al.*, 2004; Sigrist e Beldoménico, 2004). O consumo de água contaminada é a via mais comum de exposição humana, considerando também a inalação de gases e a ingestão de pó (Assis, 2006; Mazumder, 2008).

A contaminação por arsênio no ambiente afeta diretamente as populações humanas, pois esse elemento uma vez presente na cadeia alimentar irá desencadear vários problemas potencialmente perigosos à saúde humana podendo levar ao óbito.

A exposição crônica ao arsênio pode causar graves problemas metabólicos aos seres humanos, como: hiperqueratose, câncer de pele, câncer de fígado, câncer pulmonar, câncer de bexiga, câncer de rins, distúrbios do sistema nervoso, aumento da frequência de abortos espontâneos e outras doenças graves (Pereira *et al.*, 2009; Figueiredo *et al.*, 2004; Howard e Arbab-Zavar, 1980; Mazumder, 2008; Hung *et al.*, 2004). O arsênio quando consumido em dose aguda é responsável por dano gastrointestinal, resultando em diarreia e vômitos intensos (Pereira *et al.*, 2009).

Segundo Pereira *et al.* (2009), a Organização Mundial de Saúde evidencia que o fumo do cigarro concomitantemente à exposição de arsênio presente no meio ambiente, aumenta a possibilidade de câncer de pulmão, pois o efeito desses dois fatores juntos se torna maior do que seus efeitos individuais.

Os casos mais graves de intoxicação por arsênio aconteceram em Bangladesh, Bengala Ocidental e também na América Latina (México, Chile e Argentina), devido ao consumo de água subterrânea contaminada, extraída de aquíferos em formações geológicas arseníferas de grandes extensões (Figueiredo *et al.*, 2004).

Pelo fato do arsênio ser extremamente perigoso e nocivo para o meio ambiente, foi proposto à otimização e adaptação de um método quantitativo, simples e de baixo custo baseado em trabalhos encontrados na literatura (Chanthai *et al.*, 2007; Sigrist *et al.*, 2004; Quinaia e Rollemberg, 1997) para a realização da especiação de arsênio inorgânico em águas doces, estuarinas e oceânicas. Além disto, este trabalho também foi aplicado às amostras coletadas no estuário da Lagoa dos Patos nas proximidades do Porto de Rio Grande-RS.

Dessa maneira, o desenvolvimento desse estudo se justifica pela necessidade de conhecer a especiação química de arsênio inorgânico no estuário da Lagoa dos Patos, visto que a legislação brasileira abrange somente limites para a concentração total de arsênio, não levando em consideração a especiação química, pois valores altos de arsênio total nem sempre correspondem a valores tóxicos para o ambiente, sendo necessário um maior acompanhamento da especiação química deste metal. Esse trabalho também pretende fornecer subsídios para alterar a legislação brasileira vigente, incluindo a especiação química, pois a legislação deveria estabelecer valores não apenas para o arsênio total, mas sim valores para as formas inorgânicas, que são as mais tóxicas aos organismos marinhos e ao homem.

## 1.4 OBJETIVOS

- ✓ Otimizar e adaptar as condições para a determinação das espécies de arsênio inorgânico ( $\text{As}^{3+}$  e  $\text{As}^{5+}$ );
- ✓ Validar o método otimizado;
- ✓ Aplicar o método para a análise de especiação de arsênio nas amostras de água estuarinas, doces e oceânicas coletadas no estuário da Lagoa dos Patos;
- ✓ Aplicar ferramentas estatísticas para verificar a correlação entre as espécies de arsênio e os demais parâmetros analisados.

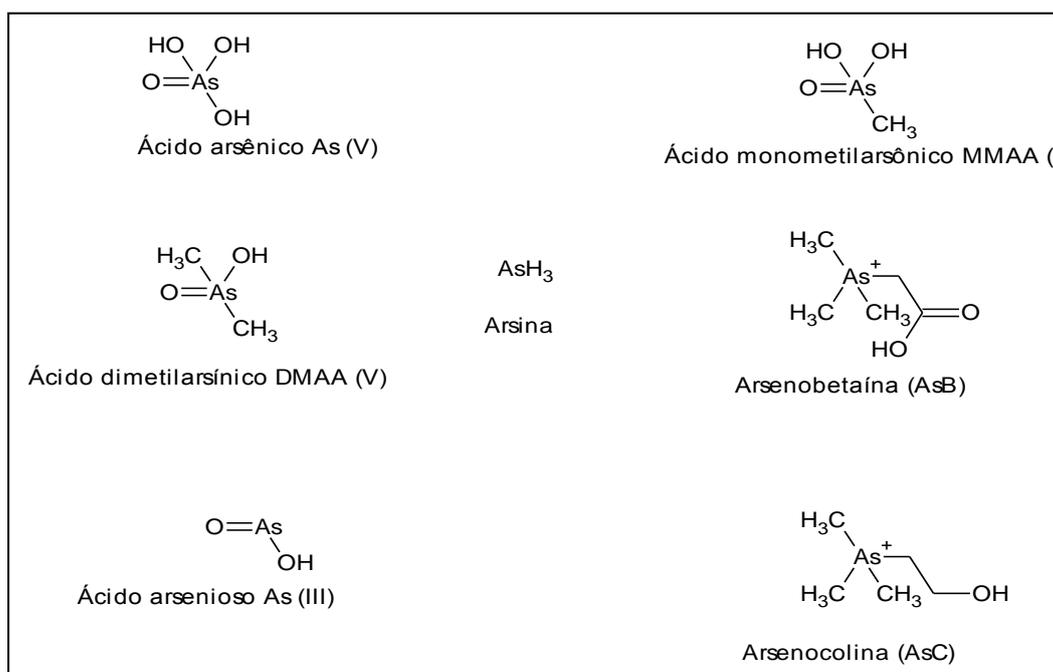
## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 ARSÊNIO

O arsênio está presente na natureza, em diferentes formas químicas, incluindo espécies orgânicas e inorgânicas, participando de complexos biológicos, processos químicos, entre outros. Também, é possível encontrar o arsênio em algumas aplicações industriais como manufatura de vidros, materiais semicondutores e fotocondutores, entre outros (Barra *et al.*, 2000).

Os compostos de arsênio são usados no tratamento de algumas doenças e na agricultura, como inseticida, herbicida e desfolhantes (Barra *et al.*, 2000; Assis, 2006). Além disso, a flora e a fauna possuem compostos de arsênio, pois nas vias metabólicas o nitrogênio e o fósforo podem ser facilmente substituídos por ele (Barra *et al.*, 2000).

A toxicidade dos compostos de arsênio é bastante alta, pois esses são absorvidos tanto oralmente quanto por inalação. Na Figura 1 são apresentadas algumas espécies químicas de arsênio.



**Figura 1** - Compostos de arsênio. Adaptado de Barra *et al.* (2000).

A toxicidade do arsênio depende da sua forma química. Em águas naturais, o arsênio pode estar na forma de arsenito ( $\text{As}^{3+}$ ), arseniato ( $\text{As}^{5+}$ ), íon metilarsênico (MMA) e íon dimetilarsênico (DMA). Arsenito e arseniato são as formas predominantes em águas subterrâneas (Sigrist e Beldoménico, 2004) e de rios (Borba *et al.*, 2009).

Havendo possibilidade de biometilação as formas de MMA e DMA podem estar presente junto com as formas de arsenito e arseniato (Barra *et al.*, 2000; Borba *et al.*, 2009; Cabon e Cabon, 2000). Além disso, os compostos de arsênio orgânicos são comumente encontrados em lagos e locais poluídos por herbicidas arseníferos (Borba *et al.*, 2009).

As espécies presentes na água são determinadas pelas condições de pH e de oxidação-redução do meio, que pode ser descrita pelo potencial redox (Eh). Nas águas subterrâneas e superficiais com um Eh > 100 mV e pH entre 5-8, ocorre o predomínio da forma de  $\text{As}^{3+}$ . À medida que o meio se torna mais oxidante, a forma predominante de  $\text{As}^{3+}$  passa para  $\text{As}^{5+}$ . Enquanto em águas superficiais, a forma de  $\text{As}^{5+}$  é mais comum (Borba *et al.*, 2009).

Nas águas subterrâneas de Bengala Ocidental, na Índia, e em Taiwan, onde as águas contaminadas por arsênio são consumidas por cerca de 30 milhões de pessoas, estima-se que a concentração de arsênio nessas águas é maior do que  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  (Chowdhury *et al.* 2000), além disso, as concentrações de  $\text{As}^{3+}$  são superiores às concentrações de  $\text{As}^{5+}$  (Borba *et al.*, 2009).

O consumo de água contaminada com altos teores de arsênio tem sido a principal causa de contaminação humana. Segundo Barra *et al.* (2000), o arsênio segue uma ordem de toxicidade: arsina > arsenito > arsenato > ácidos alquil-arsênicos > compostos de arsênio > arsênio elementar. Os compostos de arsênio inorgânico são 100 vezes mais tóxicos do que as espécies químicas parcialmente metiladas (MMA e DMA) (Borba *et al.*, 2009; Szkoda *et al.*, 2006).

A forma de arsênio trivalente (arsenito) é 60 vezes mais tóxica do que a forma oxidada pentavalente (arseniato) (Barra *et al.*, 2000; Borba *et al.*, 2009; Sigrist e Beldoménico, 2004). As formas de arsênio citadas são as mais tóxicas, ao contrário, da arsenobetaína e arsenocolina que não são tóxicas (Barra *et al.*, 2000; Shraim *et al.*, 1999).

No corpo humano, a metilação de arsênio inorgânico ocorre nos rins, sendo um processo de desintoxicação reduzindo a afinidade do composto para com o tecido. O

arsênio inorgânico ingerido é excretado na forma de seus metabolitos (DMA e MMA), através da urina, principal via de eliminação, pelas seguintes etapas de metilação: As (V) → MMA (V) → MMA (III) → DMA (V) (Barra *et al.*, 2000).

Os compostos orgânicos de arsênio encontrados em sistemas biológicos apresentam uma toxicidade muito pequena. Por exemplo, a arsenobetaina presente em alimentos de origem marinha é uma espécie química de arsênio não tóxica e excretada na urina sem nenhuma modificação, possuindo um tempo muito curto de residência, em torno de 6 a 24 horas, no máximo (Barra *et al.*, 2000).

A flora e fauna marinhas possuem uma variedade de compostos de arsênio incluindo além da arsenobetaina, arsenocolina e arseno-açúcares de origem algal. Pois, o arsênio parece substituir o nitrogênio e o fósforo nas vias metabólicas (Barra *et al.*, 2000).

Quantidades substanciais de arsênio são acumuladas com mais eficiência pelos organismos marinhos do que pelos organismos terrestres. Por exemplo, as algas marinhas absorvem arseniados, devido a sua similaridade com o fosfato que é essencial, e o transformam em diferentes ribosídeos contendo arsênio. O arsênio inorgânico adquirido pelos organismos marinhos através da cadeia alimentar é transformado em arsenobetaina pela desintoxicação do arsenioto fitotóxico por biometilação (Barra *et al.*, 2000).

A química ambiental do arsênio se torna bastante complexa, devido ao fato das grandes diferenças entre as propriedades dos seus compostos de origem natural ou antropogênica. No meio ambiente a metilação é o processo bioquímico mais observado. Mesmo que a agricultura utilizasse somente compostos de arsênio inorgânico, esses seriam convertidos para formas metiladas de arsênio, sendo liberados para o meio ambiente e assim, aumentando os níveis de arsênio na cadeia alimentar (Barra *et al.*, 2000).

## 2.2 ESPECIAÇÃO QUÍMICA

A especiação química determina as diferentes formas químicas de um elemento presentes em uma amostra, sendo que estas espécies juntas constituem a concentração

total do elemento. No passado, a determinação da concentração total de um elemento era suficiente para todas as considerações clínicas e ambientais (Barra *et al.*, 2000).

Atualmente, a determinação da concentração total de um elemento é uma informação limitada, pois sua medida não indica os verdadeiros níveis individuais de cada espécie. Sendo assim, não podemos prever o seu comportamento no meio ambiente e os danos que pode causar a saúde (Barra *et al.*, 2000).

No ambiente, a capacidade de certo elemento em formar espécies químicas diferentes será responsável por sua distribuição geoquímica, sua biodisponibilidade e o nível de toxicidade a que os organismos estarão submetidos. O conhecimento do estado em que o elemento se encontra e as reações envolvidas nas transformações das espécies podem elucidar o mecanismo através do qual um ambiente aquático pode ser afetado (Niencheski *et al.*, 2008).

Quando íons metálicos são liberados para o meio ambiente por meio de atividades naturais ou antropogênicas, acontecem várias reações das quais podem gerar novas espécies muito mais tóxicas do que os reativos isoladamente, como é o caso da metilação do mercúrio. A arsina, o arsênio trivalente inorgânico e o cromo hexavalente são as espécies mais tóxicas de arsênio e cromo, respectivamente, cuja toxicidade depende fortemente da sua forma química e do seu estado redox (Niencheski *et al.*, 2008).

Dependendo da forma química do metal, um ambiente aquático com uma alta concentração total do metal pode ser menos tóxico do que outra que apresente uma concentração total mais baixa (Niencheski *et al.*, 2008).

Para a determinação quantitativa visando à especiação de um elemento: a coleta, o tratamento e a preservação das amostras requerem um planejamento e um cuidado maior, pois os procedimentos para a determinação da concentração total de um elemento é diferente daqueles utilizados para a especiação química. Sendo assim, o procedimento a ser adotado é o de manter o equilíbrio estabelecido entre as formas químicas nas amostras, desde a coleta até a análise. As amostras devem ser analisadas o mais rápido possível, logo após a coleta, sem a acidificação do meio, que modifica o equilíbrio das espécies presentes (Barra *et al.*, 2000; Niencheski *et al.*, 2008).

A especiação química tem como proposta compreender a biodisponibilidade e toxicidade dos elementos em diferentes ambientes (Niencheski *et al.*, 2008), elucidando as diferentes formas químicas nas quais o elemento está distribuído. Pois, uma

determinada espécie de um elemento pode ter um impacto sobre os seres vivos, mesmo estando presente em concentrações baixas.

## 2.3 DETERMINAÇÃO DE ARSÊNIO POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM GERAÇÃO DE HIDRETOS E SISTEMA DE INJEÇÃO EM FLUXO

### 2.3.1 Fundamentos teóricos

A espectrometria de absorção atômica mede a quantidade de radiação absorvida pelos átomos de um elemento em um determinado comprimento de onda.



**Figura 2** - Gráfico da variação da absorbância em função da concentração do analito. Adaptado de Armenta *et al.* (2009).

A luz absorvida segue a lei de Lambert-Beer de acordo com as equações:

$$T = I/I_0 \quad (1)$$

$$\%A = 100 - \%T \quad (3)$$

$$A = \log(I_0/I) \quad (2)$$

$$A = \epsilon c l \quad (4)$$

Onde T= transmitância, I= intensidade da radiação depois de atravessar a solução contendo o analito,  $I_0$ = intensidade da radiação incidente, A= absorvância, l= caminho óptico (cm), c= concentração do analito ( $\text{mol L}^{-1}$ ),  $\epsilon$ = coeficiente de absorção molar ( $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ).

A radiação incidente é emitida por uma lâmpada de cátodo oco ou de descarga sem eletrodos. A lâmpada de cátodo oco consiste de um ânodo de tungstênio e um cátodo cilíndrico selado em um tubo de vidro preenchido com neônio ou argônio a uma pressão de 1 a 5 torr. O cátodo é construído com o metal cujo espectro é desejado ou serve para suportar a camada desse metal. A ionização do gás inerte ocorre quando é aplicado um potencial na ordem de 300 V através dos eletrodos, o que gera uma corrente de cerca de 5 a 15 mA conforme íons e elétrons migram para os eletrodos. Se o potencial for suficientemente grande, os cátions gasosos adquirem energia cinética suficiente para expelir alguns dos átomos metálicos da superfície do cátodo e produzir uma nuvem atômica em um processo de remoção chamado *sputtering*. Uma porção dos átomos metálicos removidos está no estado excitado e então emitem sua radiação característica quando retornam ao estado fundamental.

No entanto, as fontes de lâmpadas de descarga sem eletrodos são fontes úteis de espectros atômicos de linhas e fornecem intensidades radiantes normalmente uma ou duas ordens de magnitude maiores que as das lâmpadas de cátodo oco. Essa lâmpada é construída usando um tubo de quartzo selado contendo uns poucos torr de um gás inerte, como argônio, e uma pequena quantidade do metal (ou seu sal) cujo espectro é de interesse. A lâmpada não contém eletrodo, mas é energizada por um campo intenso de radiofrequência ou de microondas. A ionização do argônio ocorre fornecendo íons que são acelerados por um componente do campo de alta frequência até que ganhem energia suficiente para excitar os átomos do metal do qual se busca obter o espectro.

### 2.3.2 Geração de hidretos

A técnica de absorção atômica aliada com a geração de hidretos permite quantificar elementos como As, Se, Hg, Sn, Sb, Ge, Bi, e Te que tem a propriedade de formar hidretos voláteis, possibilitando a determinação desses elementos mediante a melhoria da sensibilidade e do limite de detecção obtido pela eficiência no transporte do analito.

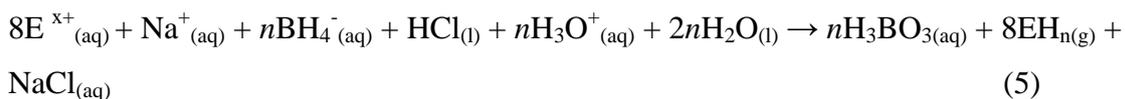
A amostra dissolvida em ácido diluído se mistura com um agente redutor. O agente redutor pode ser uma solução de zinco metálico com ácido clorídrico, cloreto de estanho ou o borohidreto de sódio. A reação produz hidrogênio atômico que reage com os elementos de interesse em solução para formar os correspondentes hidretos voláteis. O uso do borohidreto de sódio como agente redutor conduziu uma nítida mudança no método, possibilitando a determinação de outros metais que até o momento eram impossíveis de serem determinados usando os outros agentes redutores mencionados acima (Ribeiro, 2006).

Além disso, este redutor apresenta as seguintes vantagens:

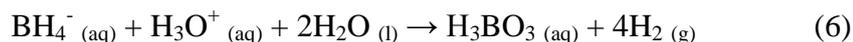
- ✓ Permite que a reação seja mais rápida e eficaz comparando com outros redutores;
- ✓ Apresenta baixos níveis de brancos;
- ✓ Aplica-se a análise de numerosos elementos.

As soluções de borohidreto de sódio são muito instáveis em meio ácido, necessitando da adição de hidróxido de sódio ou potássio para torná-las estáveis durante as análises.

Ao misturar uma solução do elemento a analisar com uma solução alcalina de borohidreto de sódio em meio ácido, acontece à oxidação do íon tetrahiborato a ácido bórico e a formação do hidreto correspondente:



O excesso de íon tetrahiborato também sofre decomposição em ácido bórico e dihidrogenio.



Na determinação de arsênio, por exemplo, a arsina ( $\text{AsH}_3$ ) é transportada por um gás inerte que pode ser nitrogênio ou argônio para uma célula de quartzo, a qual é aquecida por uma chama de ar-acetileno ou por um sistema de calefação a uma temperatura otimizada para produzir a atomização do analito.

Quando a arsina é arrastada para a célula de quartzo pelo gás de arraste, ocorre a decomposição térmica dos hidretos e os átomos do elemento são liberados:

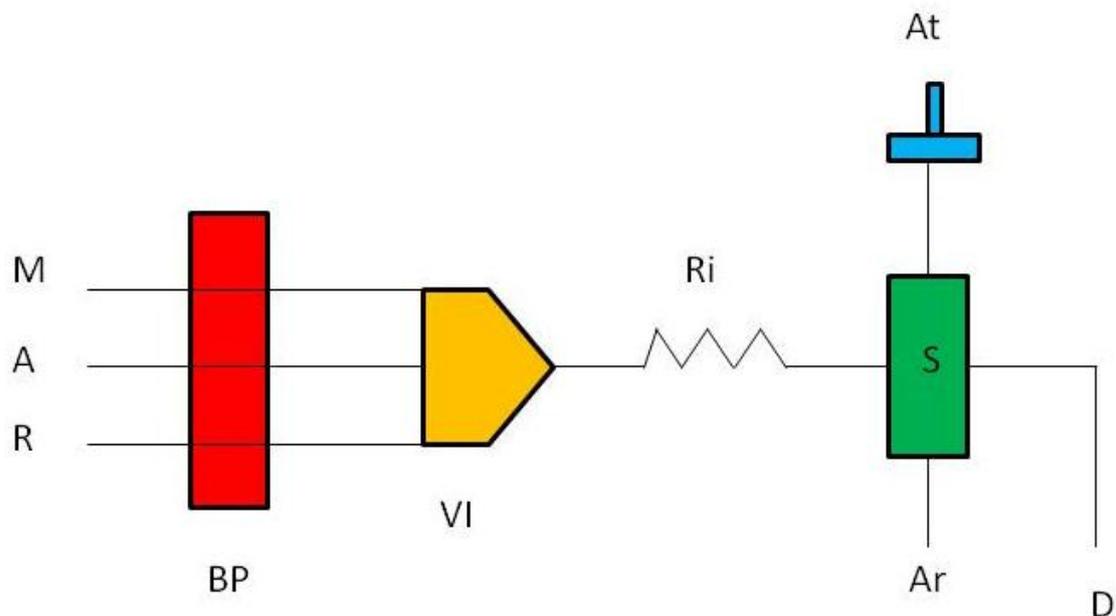


Os átomos absorvem a radiação emitida pela lâmpada e a absorção aumenta à medida que os átomos são liberados na célula, chegando a um máximo de absorção e diminuindo até consumir e se esgotar todos os átomos na célula de absorção. Possibilitando o registro do máximo de absorção, que corresponde à altura do pico ou a área do pico relacionando com a concentração do analito.

### **2.3.3 Espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos e injeção em fluxo**

A FI-HG AAS é uma técnica bastante adotada para quantificação de arsênio. Esta técnica permite a determinação de uma quantidade menor de amostra, diminui a produção de resíduos e de arsina, cuja toxicidade é elevada, e também, possibilita a automatização da mesma.

Um sistema FIA típico consiste de uma bomba peristáltica, uma válvula de injeção e um sistema de tubulações, como observado na Figura 3.



**Figura 3** - Esquema de um sistema FIA. M: amostra; R: reductor ( $\text{NaBH}_4$ ); A: solução carregadora ( $\text{HCl}$ ); BP: sistema de bomba peristáltica; VI: válvula de injeção; Ar: argônio; Ri: Alça de reação; S: separador gás-líquido; At: atomizador; D: descarte. Adaptado de Armienta *et al.* (2009).

A bomba peristáltica impulsiona o carregador ( $\text{HCl}$ ), a amostra e o reductor ( $\text{NaBH}_4$ ) pelo sistema, através de tubulações. Esse sistema é constituído por uma válvula de injeção, a qual é utilizada para introdução de volumes pequenos da amostra no fluxo carregador em um tempo pré-estabelecido. Na alça de reação, o fluxo do carregador contendo a amostra se mistura com o fluxo reductor formando o hidreto correspondente, o qual é transportado para o separador gás-líquido e posteriormente, detectado por um detector específico.

Além disso, ao utilizar o sistema FIA é muito importante saber que a sensibilidade depende da quantidade de amostra injetada, do tempo permitido para a reação, do fluxo de argônio e das condições da superfície da célula de quartzo.

## 2.4 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO

Dados analíticos não confiáveis podem levar a decisões desastrosas e prejuízos irreparáveis. Dessa forma, está sendo cada vez mais reconhecida e exigida a necessidade de mostrar a qualidade nas medições químicas, através de sua comparabilidade, rastreabilidade e confiabilidade. Para que um novo método tenha a garantia de gerar informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra, esse deve passar por uma avaliação chamada de validação.

A validação é um processo contínuo que se inicia no planejamento da estratégia analítica e continua ao longo de todo o seu desenvolvimento. Os órgãos reguladores do Brasil e de outros países exigem a validação de metodologia analítica para registro de novos produtos. A maioria deles tem estabelecido diretrizes a serem adotadas no processo de validação (Ribani *et al.*, 2004; Brito *et al.*, 2003; INMETRO, 2003).

### 2.4.1 Linearidade

A capacidade do método em fornecer resultados dentro de uma determinada faixa de concentração, diretamente proporcionais à concentração do analito, denomina-se linearidade (Ribani *et al.*, 2004; Brito *et al.*, 2003).

### 2.4.2 Limite de detecção

O limite de detecção constitui a menor concentração do analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, utilizando um determinado procedimento experimental (Ribani *et al.*, 2004; Brito *et al.*, 2003).

Existem diferentes maneiras de calcular o limite de detecção, como por exemplo: método visual, método sinal-ruído, método baseado em parâmetros da curva analítica.

O método visual determina o limite de detecção através da adição de concentrações conhecidas da substância de interesse na matriz, de tal maneira que se possa distinguir o ruído do sinal analítico.

O método da relação sinal-ruído consiste na comparação dos sinais medidos da amostra com baixas concentrações conhecidas do analito com as do branco, estabelecendo-se a concentração mínima na qual o analito pode ser detectado. A relação sinal-ruído pode ser de 3:1 ou 2:1, proporções geralmente aceitas como estimativas do limite de detecção.

O limite de detecção pode ser calculado também pelo método baseado em parâmetros da curva analítica através da equação abaixo.

$$LD = 3,3 \times s / S \quad (8)$$

Onde  $s$  é o desvio-padrão da reposta e  $S$  o coeficiente angular do gráfico de calibração (sensibilidade do aparelho).

Para calcular estes dados, uma curva analítica deverá ser construída utilizando a matriz contendo o analito na faixa de concentração próxima ao limite de detecção (Brito *et al.*, 2003; Ribani *et al.*, 2004).

### 2.4.3 Limite de quantificação

O limite de quantificação, também chamado de limite de determinação (INMETRO, 2003), representa a menor concentração do analito que pode ser medida, com um nível aceitável de precisão e exatidão, utilizando um determinado procedimento experimental (Ribani *et al.*, 2004; INMETRO, 2003).

Podendo ser determinado pelos mesmos critérios do LD, utilizando a relação 10:1, ou seja, o LQ pode ser determinado pelo método visual, pela relação sinal-ruído ou pela relação entre a estimativa do desvio-padrão da resposta ( $s$ ) e a inclinação da curva analítica ( $S$ ) através da equação:

$$LQ = 10 \times s / S \quad (9)$$

s: estimativa do desvio-padrão do branco;

S: inclinação da curva analítica.

#### 2.4.4 Exatidão

O grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro é chamado de exatidão (Ribani *et al.*, 2004; Brito *et al.*, 2003; INMETRO, 2003).

Os cinco métodos propostos para o estudo da exatidão são: material de referência certificado (CRM), comparação do método proposto com um método de referência, ensaios de recuperação na matriz, estudos colaborativos e adição padrão (Brito *et al.*, 2003; Ribani *et al.*, 2004).

Os CRM são materiais de referência que possuem o valor de concentração de uma dada substância, se tornando os materiais de controle preferidos, pois estão diretamente relacionados com padrões internacionais. A exatidão também pode ser expressa através da comparação de métodos, que consiste na comparação entre os resultados obtidos com o método proposto e os resultados de um método de referência, avaliando o grau de exatidão do método em desenvolvimento em relação ao de referência (Ribani *et al.*, 2004; Brito *et al.*, 2003).

O ensaio de recuperação é o método mais utilizado para a validação de métodos analíticos pela facilidade e custos reduzidos. A recuperação está relacionada com a exatidão, pois é a quantidade do analito recuperado pelo método analítico. O estudo da recuperação consiste na adição de soluções de concentrações conhecidas do analito na amostra seguida pela determinação da concentração do analito adicionado (Brito *et al.*, 2003).

Estudos colaborativos implicam no mínimo oito laboratórios para desenvolver um determinado método. A maior dificuldade encontrada em estudos colaborativos envolve a garantia de estabilidade do analito durante o decorrer do estudo, sendo impossível em métodos de especiação (Ribani *et al.*, 2004; Brito *et al.*, 2003).

O método da adição de padrão é usado quando for difícil ou impossível de preparar um branco da matriz sem a substância de interesse. Nesse método, quantidades

conhecidas são adicionadas em diferentes níveis na amostra, antes do procedimento de preparo da mesma (Ribani *et al.*, 2004).

#### 2.4.5 Precisão

A precisão do método analítico é o parâmetro que avalia a proximidade entre várias medidas efetuada na mesma amostra (Brito *et al.*, 2003).

Frequentemente é expressa como o desvio-padrão, variância ou coeficiente de variação (CV) de diversas medidas. O CV é dado pela equação:

$$CV\% = s / M \times 100 \quad (10)$$

Na qual: s = estimativa do desvio-padrão da amostra.

M = média das leituras da amostra.

A precisão pode ser considerada em três níveis diferentes: repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade. A repetitividade expressa à precisão nas mesmas condições de operação (equipamento, analista, reagentes, dia e mesmas condições ambientais) em curto espaço de tempo. A precisão intermediária expressa às variações no mesmo laboratório em dias diferentes, com diferentes analistas e diferentes equipamentos, entre outros.

A reprodutividade expressa à precisão entre laboratórios, através de estudos colaborativos frequentemente aplicados para padronização de metodologias (Brito *et al.*, 2003).

## 2.5 ANÁLISE DE FATORES COM ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS

A técnica estatística análise fatorial busca através da avaliação de um conjunto de variáveis, identificar dimensões de variabilidade comuns existentes em um conjunto de fenômenos, com intuito de desvendar estruturas existentes, porém não observáveis

diretamente. Cada uma dessas dimensões de variabilidade comum recebe o nome de fator (Bezerra, 2009).

Um dos objetivos principais da análise fatorial é descrever um conjunto de variáveis originais, criando um número menor de fatores. Na análise fatorial as variáveis que possuem altas correlações entre si são agrupadas em fatores. O fator explica a correlação em determinado grupo de variáveis. Ao desvendar os fatores esta técnica acaba por simplificar estruturas complexas de relacionamento, permitindo um entendimento melhor das estruturas dos dados.

Dessa forma, a análise fatorial é utilizada para identificar fatores, que podem ser usados para explicar o relacionamento entre um conjunto de variáveis. Partindo do pressuposto de que a correlação entre as variáveis surge, porque essas variáveis compartilham ou estão relacionadas pelo mesmo fator. Tendo, como objetivo identificar fatores não diretamente observáveis, a partir da correlação entre um conjunto de variáveis, estas sim observáveis e passíveis de medição.

Ao se utilizar da análise fatorial o pesquisador deve realizar algumas escolhas como, por exemplo: o método de extração dos fatores, a escolha dos fatores, explicação dos fatores antes de começar o tratamento estatístico.

A análise dos componentes principais como método de extração dos fatores, permite determinar fatores que contenham o maior grau de explicação da variância possível.

A escolha do número de fatores é um ponto fundamental na elaboração da análise fatorial, o critério do autovalor também denominado critério de Kaiser considera apenas os fatores com autovalores acima de 1,0, pois o autovalor corresponde a quanto o fator pode explicar da variância. Como os dados são padronizados, ou seja, cada variável tem média zero e variância igual a 1, os fatores com autovalores abaixo de 1,0 são considerados menos significativos do que uma variável original (Bezerra, 2009).

Com o objetivo de aumentar o poder explicativo dos fatores, a rotação Varimax Normalizada, permite que uma variável seja facilmente identificada em um único fator (Reis, 2001), pois esta rotação tem característica de minimizar a ocorrência de uma mesma variável possuir altas cargas fatoriais para diferentes fatores. As cargas fatoriais representam a correlação (co-variância) entre o fator e as variáveis em estudo.

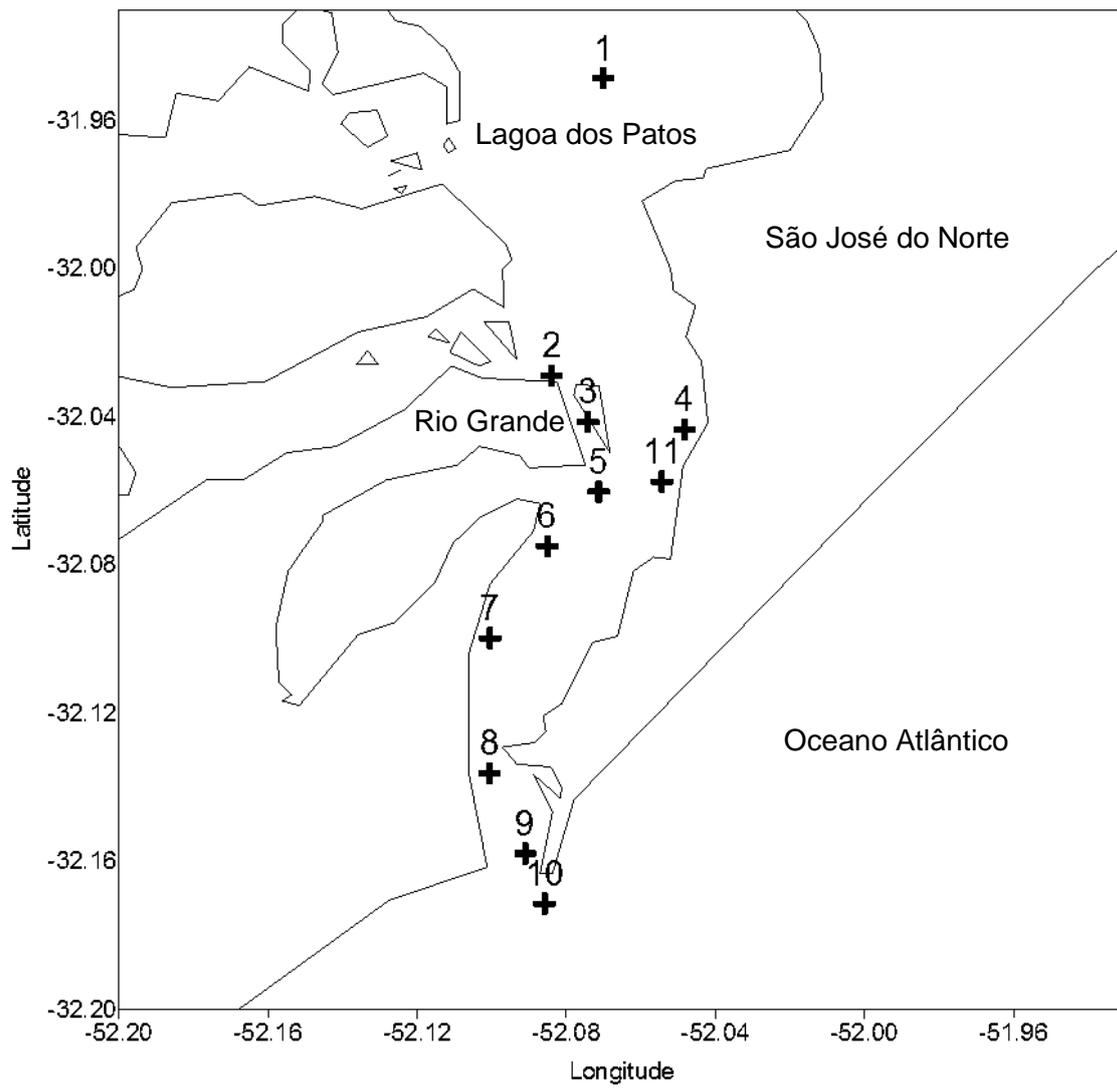
### **3 PARTE EXPERIMENTAL**

O desenvolvimento da parte experimental deste trabalho foi realizado nas dependências do laboratório de Hidroquímica da Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Foram utilizados os equipamentos e meios disponíveis no laboratório, principalmente, o equipamento de espectrometria de absorção atômica e todos os recursos essenciais, como: material de laboratório, reagentes e padrões.

Além disso, as coletas das amostras foram realizadas durante o Programa de Monitoramento Ambiental do Porto de Rio Grande, realizado pelo laboratório de Hidroquímica da Universidade Federal do Rio Grande (FURG).

#### **3.1 MONITORAMENTO CONTÍNUO EM ESTAÇÕES DE COLETAS**

Durante o ano de 2010 foram realizados quatro cruzeiros sazonais para amostragens de água, os quais ocorreram no verão, outono, inverno e primavera em 11 estações de coleta distribuídas ao longo da área portuária, conforme a Figura 4. O canal de acesso do estuário (Canal do Rio Grande) abriga 10 estações de coleta, enquanto no Porto Velho (Canal do Norte) encontra-se uma estação. As coordenadas das estações de amostragem são apresentadas na Tabela 1.



**Figura 4** - Desenho amostral das 11 estações de coleta.

**Tabela 1** - Distribuição das estações de coleta.

Estações de amostragem	Latitude	Longitude	Distância da costa (km)*
01 - Farol do Diamante	31°56,913'	52°04,207'	26,66
02 - Porto Velho	32°01,730'	52°05,031'	17,77
03 - Porto Novo	32°02,482'	52°04,447'	16,51
04 - Cocuruto	32°02,600'	52°02,900'	16,46
05 - Bóia 1	32°03,609'	52°04,277'	13,94
06 - Pier Petroquímico	32°04,491'	52°05,106'	12,47
07 - Bóia 13	32°05,982'	52°06,026'	9,81
08 - Zona de Praticagem	32°08,173'	52°06,033'	5,96
09 - Raiz dos Molhes	32°09,472'	52°05,459'	3,47
10 - Ponta dos Molhes	32°10,286'	52°05,150'	1,79
11- Bóia 19	32°03,447'	52°03,260'	14,82

\*Considerando a partir da ponta dos Molhes da Barra.

### 3.2 PROCEDIMENTO DE COLETA E TRATAMENTO DAS AMOSTRAS COLETADAS

As amostras para a especificação de arsênio inorgânico foram coletadas ao longo da coluna d'água no período do inverno e da primavera, na superfície e fundo a bordo da lancha LARUS, da FURG, nos dias 19 de agosto e 06 de outubro de 2010. Na superfície da coluna d'água a profundidade de coleta foi a 0,5 metros da superfície e no fundo da coluna d'água a coleta ocorreu a 1 metro do fundo, variando entre 6 e 17 metros conforme a profundidade local.

As amostras de água superficial foram coletadas com auxílio de balde incolor pré-lavado com ácido na proa da embarcação, evitando-se assim que a água a ser coletada atinja a embarcação e seja contaminada pela mesma. Também, houve o cuidado de submergir o balde a 0,5 metros abaixo da superfície para evitar a coleta seletiva da micro-camada rica em matéria orgânica e metais pesados, a qual possui

características distintas do restante da camada de superfície do ambiente em estudo (Campos *et al.* 2002).

Imediatamente após a coleta, a amostra foi transferida para frascos de polietileno devidamente limpos e condicionadas em caixas de isopor, sendo mantidas refrigeradas até a chegada ao laboratório. Durante a amostragem as amostras foram manuseadas com auxílio de luvas e manguito a fim de evitar a sua contaminação.

As amostras de água de fundo foram coletadas com auxílio de garrafa Niskin pré-lavada com ácido, a qual possui uma mangueira acoplada de onde a amostra é transferida diretamente para os frascos de polietileno. Após, a coleta as amostras também foram mantidas refrigeradas em caixas de isopor até a chegada ao laboratório.

No laboratório, as amostras foram filtradas em Sistema Sartorius® com membranas de acetato de celulose 0,20  $\mu\text{m}$  e mantidas resfriadas até a realização das análises. As análises foram realizadas em um curto intervalo de tempo (3 a 5 dias) entre a coleta e o armazenamento, porém também considerou-se as determinações realizadas após 10 dias, pois de acordo com a literatura resultados satisfatórios são obtidos dentro deste período (Borba *et al.* 2009).

Também foram coletadas nestes dois cruzeiros aproximadamente 500 mL de amostra para a determinação dos nutrientes inorgânicos dissolvidos (nitrato, nitrito, nitrogênio amoniacal, fosfato e silicato). Estas amostras foram recolhidas em frascos de polietileno e conservadas ao gelo até a sua chegada ao laboratório.

Além disso, foram medidos *in situ*: salinidade, pH, temperatura, oxigênio dissolvido e condutividade.

### **3.3 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.3.1 Instrumentação e material utilizado**

##### **3.3.1.1 Material**

- Balão volumétrico (25, 50, 100, 200, 250 e 500 mL);

- Funil de vidro;
- Béquer de vidro (50, 100 e 400 mL)
- Bastão de vidro;
- Proveta (25 e 100 mL);
- Frascos de polietileno (100 e 1000 mL).

### 3.3.1.2 Instrumentos

- Balança analítica (Sartorius Modelo BA: 210S);
- pHmetro (Digimed, Modelo DM-22);
- Agitador magnético;
- Mesa agitadora (Quimis);
- Salinômetro (YSI Modelo 30/10 FT);
- pHmetro (Mettler Toledo Modelo MP 120);
- Oxímetro (Mettler Toledo Modelo 128);
- Condutivímetro (Mettler Toledo Modelo MP 120).

### 3.3.1.3 Equipamentos

- Espectrômetro de absorção atômica da Perkin Elmer, modelo AAnalyst 600;
- Sistema de geração de hidretos e injeção em fluxo da Perkin Elmer, modelo FIAS 100;
- Espectrofotômetro marca GBC UV/Vis 911A.

## 3.3.2 Condições espectrométricas

### 3.3.2.1 Espectrômetro de absorção atômica

- Lâmpada de descarga sem eletrodos (EDL) de arsênio;

- Comprimento de onda: 193,7 nm;
- Largura da fenda: 0,7 nm;
- Medição do sinal: altura do pico.

### 3.3.2.2 Sistema de geração de hidretos e injeção em fluxo (condições indicadas pelo fabricante)

- Temperatura da célula: 900 °C;
- Programa de fluxo e injeção da amostra:
  - ✓ Preenchimento do sistema (prefill): 18 s;
  - ✓ Preenchimento da alça da amostra (passo 1): 10 s;
  - ✓ Injeção da amostra no fluxo carregador (passo 2): 15 s.
  
- Velocidade da bomba peristáltica: 120 rpm;
- Volume da amostra: 500  $\mu$ L
- Fluxo da solução carregadora: 9-12 mL min<sup>-1</sup>.;
- Fluxo do agente redutor: 5-7 mL min<sup>-1</sup>.;
  
- Loop de reação:
  - ✓ Comprimento: 110 mm;
  - ✓ Diâmetro: 1,0 mm.
  
- Diâmetro da tubulação:
  - ✓ Amostra: 1,52 mm;
  - ✓ Carregador: 1,52 mm;
  - ✓ Agente redutor: 1,14 mm;
  - ✓ Descarte: 3,18 mm.



**Figura 5** - Espectrômetro de absorção atômica com geração de hidretos e injeção em fluxo da Perkin Elmer.

### 3.3.3 Reagentes e padrões

Todos os padrões e reagentes utilizados durante a análise foram de grau analítico ou suprapuros e todas as soluções aquosas foram preparadas com água ultrapura obtida a partir de um sistema de purificação Milli-Q da Millipore®.

#### 3.3.3.1 Reagentes

- Ácido clorídrico 37% (HCl) p.a. da Merck (Darmstadt, Germany);
- Ácido nítrico 65% (HNO<sub>3</sub>) p.a. da Merck (Darmstadt, Germany);
- Hidróxido de sódio (NaOH) puriss. p.a da Merck (Darmstadt, Germany);

- Borohidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ) puriss. p.a. da VETEC (Rio de Janeiro, Brasil);
- Ácido ascórbico ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ ) p.a da Quimex (Rio de Janeiro, Brasil);
- Iodeto de potássio (KI) p.a da F. Maia (São Paulo, Brasil)
- Citrato de sódio p.a da Merck (Darmstadt, Germany);
- Ácido cítrico p.a da Merck (Darmstadt, Germany).

#### 3.3.3.2 Padrões

- Padrão de trióxido de arsênio ( $\text{As}_2\text{O}_3$ ) p.a. da Sigma-Aldrich (Missouri, EUA);
- Solução padrão de As V  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  da Spex Certiprep (New Jersey, EUA).

#### 3.3.4 Limpeza do material

O procedimento de limpeza da vidraria e dos frascos de polietileno adotado neste estudo foi o mesmo utilizado no laboratório de Hidroquímica recordado por Milani (2004) e Borges (2009). Toda a vidraria e frascos de polietileno foram imersos em ácido nítrico 20% (V/V), durante três dias e, em seguida, por um dia em água ultrapura. Sendo que antes da imersão no ácido, todo o material foi enxaguado com água da torneira e cinco vezes com água destilada. O material foi seco em capela de fluxo laminar e embalado individualmente em sacos de polietileno (Milani, 2004; Borges, 2009).

### 3.3.5 Preparação das soluções estoques

#### 3.3.5.1 Solução estoque de $100 \text{ mg L}^{-1}$ de $\text{As}^{3+}$

A solução estoque de  $\text{As}^{3+}$  foi preparada a partir do padrão de trióxido de arsênio p.a em 20 mL de hidróxido de sódio  $1 \text{ mol L}^{-1}$ , neutralizada com 20 mL de ácido clorídrico  $2 \text{ mol L}^{-1}$  e diluída para 1000 mL com  $0,6 \text{ mol L}^{-1}$  de ácido clorídrico.

#### 3.3.5.2 Solução estoque de $\text{As}^{5+}$

Neste trabalho foi utilizada uma solução estoque de  $\text{As}^{5+}$  ( $1000 \text{ mg L}^{-1}$ ) utilizada para determinação de espectrometria atômica da Spex Certiprep (New Jersey, EUA).

### 3.3.6 Preparação das soluções trabalho

#### 3.3.6.1 Solução trabalho de $\text{As}^{5+}$

A partir da solução estoque de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  foi preparada uma solução-padrão de  $500 \mu\text{g L}^{-1}$ . Para o preparo dessa solução, uma alíquota de  $50 \mu\text{L}$  da solução estoque foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL e o seu volume foi ajustado com água ultrapura.

#### 3.3.6.2 Solução trabalho de $\text{As}^{3+}$

A solução foi preparada transferindo uma alíquota de 5 mL da solução estoque de  $100 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{As}^{3+}$  para um balão volumétrico de 100 mL e então, diluída com água ultrapura.

### 3.3.7 Outras soluções

#### 3.3.7.1 HCl 3 mol L<sup>-1</sup>

A solução de ácido clorídrico foi preparada pela diluição de 250 mL de ácido clorídrico concentrado p.a. com água ultrapura em um balão volumétrico de 1000 mL.

#### 3.3.7.2 NaOH 0,05 % (m/V)

A solução de hidróxido de sódio foi preparada diariamente, pesando cerca de 0,25 g em um béquer. Essa massa foi dissolvida com água ultrapura e posteriormente, transferida para um balão volumétrico de 500 mL.

#### 3.3.7.3 NaBH<sub>4</sub> 0,3 % (m/V) em NaOH 0,05% (m/V)

A solução redutora foi preparada diariamente, pesando uma massa com cerca de 0,6 g de borohidreto de sódio em um béquer. Em seguida, essa massa foi dissolvida com água ultrapura e transferida para um balão volumétrico de 200 mL.

#### 3.3.7.4 KI 5 % (m/V) em ácido ascórbico 5 % (m/V)

A solução foi preparada diariamente, pesando aproximadamente 5 g de iodeto de potássio em um béquer, dissolvendo o sal em 20 mL de água ultrapura. Em outro béquer, uma massa de aproximadamente 5 g de ácido ascórbico foi pesada, dissolvendo-a em 20 mL de água ultrapura. Em seguida, as duas soluções foram transferidas para um balão volumétrico de 100 mL e diluídas até a marca com água ultrapura.

### 3.3.7.5 Tampão citrato 0,4 mol L<sup>-1</sup> (pH= 6,0)

A solução tampão foi preparada pesando aproximadamente 11,764 g de citrato de tri-sódio decahidratado em um béquer, dissolvendo a massa com cerca de 80 mL com água ultrapura. Logo, um eletrodo previamente calibrado foi colocado na solução para monitorar o pH até 6,0. Para alcançar esse pH foi adicionado incrementos da solução de ácido cítrico 1 mol L<sup>-1</sup>. Por fim, a solução foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL e diluída até a marca com água ultrapura.

### 3.3.7.6 Ácido cítrico 1 mol L<sup>-1</sup>

A solução foi preparada pesando cerca de 21,014 g de ácido cítrico. A massa foi dissolvida com água ultrapura e transferida para um balão volumétrico de 100 mL, sendo diluída até a marca com água ultrapura.

## 3.4 PROCEDIMENTO PARA DETERMINAÇÃO DAS ESPÉCIES INORGÂNICAS DE ARSÊNIO

As concentrações de As<sup>3+</sup> e As<sup>5+</sup> foram determinadas pela técnica FI-HG AAS. O sistema de geração de hidretos e injeção em fluxo (FIAS-100) consiste de uma bomba peristáltica, válvula de injeção e um regulador de gás. O argônio foi o gás usado para transportar o hidreto para a célula de quartzo aquecida por um sistema de calefação. Na análise foi utilizada uma lâmpada de descarga sem eletrodos e o sinal foi registrado pelo programa computacional (AAWinLab), relacionando a altura dos picos obtidos com a concentração do analito.

O método para determinação de As<sup>3+</sup> foi otimizado antes das análises da amostra. Dessa maneira, foram estudadas as concentrações de ácido clorídrico (0,5; 1,0; 2,0 e 3,0 mol L<sup>-1</sup>), borohidreto de sódio (0,1; 0,2 e 0,3%) e o pH (4,4; 5,0; 5,5; 6,0) da solução tampão citrato 0,4 mol L<sup>-1</sup>.

O método para determinação de  $\text{As}^{5+}$  também foi otimizado. Sendo assim, as concentrações de ácido clorídrico e borohidreto de sódio foram as mesmas estudadas anteriormente. Porém, houve a necessidade de estudar o tempo de pré-redução (30, 45, 60 e 90 min.) da amostra com uma mistura de iodeto de potássio e ácido ascórbico 5% por cerca de uma hora antes da análise e o volume de ácido clorídrico concentrado (1 e 3 mL) com objetivo de acelerar a reação.

Essa pré-redução se torna necessária visto que, a reação de formação do hidreto a partir de arsênio no estado de oxidação V na presença de borohidreto de sódio é muito lenta, tornando-se inviável para análise de rotina. A concentração de  $\text{As}^{5+}$  foi obtida pela subtração da concentração de arsênio inorgânico total pela concentração de  $\text{As}^{3+}$ .

Para determinação de  $\text{As}^{3+}$  e  $\text{As}^{5+}$  foram construídas separadamente duas curvas de calibração com 6 soluções-padrões de diferentes concentrações. Em cada balão volumétrico de 50 mL foi adicionado uma alíquota da solução-trabalho de  $5 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{As}^{3+}$  para que a concentração das soluções-padrões fossem:  $0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ;  $1 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ;  $3 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ;  $5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ;  $8 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ;  $12 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{As}^{3+}$ . E também, foi adicionado cerca de 4 mL da solução tampão citrato  $0,4 \text{ mol L}^{-1}$  com pH 6,0 e o volume foi aferido com água ultrapura.

Para construção da curva de calibração na determinação de  $\text{As}^{5+}$  foi adicionado em cada balão volumétrico de 50 mL uma alíquota da solução-trabalho de  $500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{As}^{5+}$  para que a concentração das soluções-padrões fossem as mesmas utilizadas na determinação de  $\text{As}^{3+}$ . Sendo assim, foi adicionado também cerca de 5 mL da mistura pré-redutora de iodeto de potássio/ácido ascórbico, 3 mL de ácido clorídrico concentrado e o volume foi completado com água ultrapura. As soluções-padrões de  $\text{As}^{3+}$  e  $\text{As}^{5+}$  foram analisadas na presença de ácido clorídrico  $3 \text{ mol L}^{-1}$  e borohidreto de sódio 0,3 % (m/V). Foram realizadas três leituras da absorbância e calculada a média das leituras.

A amostra para determinação de  $\text{As}^{3+}$  foi analisada na presença de ácido clorídrico  $3 \text{ mol L}^{-1}$ , borohidreto de sódio 0,3 % (m/V) e tampão citrato  $0,4 \text{ mol L}^{-1}$  com pH 6,0. Em um balão volumétrico de 50 mL foi adicionado cerca de 4 mL de tampão citrato, juntamente com 46 mL da amostra. E para determinação de  $\text{As}^{5+}$ , a amostra foi analisada utilizando as mesmas concentrações de ácido clorídrico e borohidreto de sódio na determinação de  $\text{As}^{3+}$ . Dessa maneira, foi adicionado 5 mL da

mistura pré-redutora em um balão volumétrico de 50 mL, 3 mL de ácido clorídrico concentrado e 42 mL da amostra.

Foram feitas três repetições das amostras e em cada repetição a leitura da absorbância foi lida três vezes e a média foi calculada.

## **3.5 PROCEDIMENTO PARA DETERMINAÇÃO DOS NUTRIENTES INORGÂNICOS DISSOLVIDOS**

### **3.5.1 Amônio**

Amônio foi determinado pelo método colorimétrico descrito por Solorzano (Baumgarten *et al.*, 1996).

#### **3.5.1.1 Reagentes**

##### **R<sub>1</sub>: Fenol**

- ✓ Pesar 3,8 g de fenol, dissolver com 20 mL de etanol.
- ✓ Dissolver 0,04 g de nitroprusiato dissódico dihidratado em 60 mL de água destilada.
- ✓ Misturar as duas soluções e aferir a 100 mL com água destilada.
- ✓ Guardar a solução na geladeira em frasco de vidro.

##### **R<sub>2</sub>: Solução tampão de citrato**

- ✓ Pesar 48 g de citrato tri-sódico dihidratado e 0,08 g de hidróxido de sódio.
- ✓ Dissolver os reagentes em um béquer com 120 mL de água destilada na chapa a 100 °C.
- ✓ Deixar ferver até chegar ao volume de 100 mL.
- ✓ Deixar esfriar e guardar na geladeira.

**R<sub>3</sub>: Solução DTT (cloro) Hipoclorito**

- ✓ Pesar separadamente 0,2 g de ácido diclorocianúrico e 1,6 g de hidróxido de sódio.
- ✓ Dissolver em 60 mL de água destilada fervida e completar a 100 mL.

**Solução estoque: (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)**

- ✓ Secar aproximadamente 0,8 g de cloreto de amônio a 100 °C na estufa.
- ✓ Esfriar em dessecador durante 4 h.
- ✓ Dissolver 0,535 g do cloreto de amônio em 1000 mL de água destilada fervida, esta solução contém 10 mmol L<sup>-1</sup>.

**3.5.1.2 Construção da reta padrão**

Branco: Serão feitos 3 brancos de 20 mL com água destilada.

Padrão de Amônio: 5 mmol L<sup>-1</sup>.

Balão volumétrico: 100 e 50 mL.

**Tabela 2** - Dados para a construção da reta analítica na determinação de amônio.

Nº de balão	Volume do balão (mL)	Concentração da solução (µmol L <sup>-1</sup> )	Volume (µL)
1	100	1	10
2	50	2	10
3	50	4	20
4	50	6	30
5	50	10	50
6	50	20	100
7	50	30	150
8	50	40	200

Após serem feitas as diluições coloca-se 20 mL nos tubos de centrífuga adicionando os reativos em ordem crescente:

$$R_1 = 1 \text{ mL}$$

$$R_2 = 750 \text{ }\mu\text{L}$$

$$R_3 = 1 \text{ mL}$$

A seguir, guardar as amostras no escuro por no mínimo 6 h e máximo 30 h. Faz-se a leitura no espectrofotômetro no comprimento de onda de 630 nm e em cubeta de 1 cm.

### 3.5.1.3 Determinação das amostras

Volume dos reativos adicionados para 20 mL de amostra:

$$R_1 = 1 \text{ mL}$$

$$R_2 = 750 \text{ }\mu\text{L}$$

$$R_3 = 1 \text{ mL}$$

- ✓ Deixar as amostras no escuro por no mínimo 6 h e no máximo 30 h.
- ✓ Fazer a leitura no comprimento de onda de 630 nm e utilizar cubeta de 5 cm.

## 3.5.2 Nitrito

Nitrito foi determinado pelo método colorimétrico proposto por Aminot e Chaussepied (Baumgarten *et al.*, 1996).

### 3.5.2.1 Reagentes

**R<sub>1</sub>**: Solução de Sulfanilamida

- ✓ Em 300 mL de água destilada, diluir 50 mL de ácido clorídrico concentrado e após dissolver 5 g de sulfanilamida.

- ✓ Guardar em frasco bem fechado e no refrigerador. Essa solução é estável indefinidamente.

**R<sub>2</sub>: Solução de N- (1-Naftil) Etilenodiamina diclorohidrato**

- ✓ Em 500 mL de água destilada, dissolver 0,5 g N- (1-Naftil) Etilenodiamina diclorohidrato.
- ✓ Guardar a solução em frasco escuro e no refrigerador. Deverá ser renovada quando desenvolver uma coloração escura.

**Solução estoque de nitrito: 5 mmol L<sup>-1</sup> N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>**

- ✓ Secar a 100 °C durante 4 h 0,6 g nitrito de sódio anidro.
- ✓ Esfriar em dessecador e pesar exatamente 0,345 g.
- ✓ Diluir a água destilada aferindo a 1L.
- ✓ Conservar em frasco de vidro escuro. Essa solução é estável por vários meses no refrigerador, mas deve ser renovada todo ano.

**Solução trabalho de nitrito (ST): 50 μmol L<sup>-1</sup> N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>**

- ✓ Retirar 5 mL da solução estoque e aferir a 500 mL com água destilada.
- ✓ Essa solução deverá ser renovada a cada bateria de análises, só se conserva por algumas horas.

## 3.5.2.2 Construção da reta padrão

Preparar uma bateria de padrões, conforme a tabela a seguir:

**Tabela 3** - Dados para a construção da reta analítica na determinação de nitrito.

Nº de balão	Volume do balão (mL)	Concentração da solução ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Volume ( $\mu\text{L}$ )
<b>Branco (triplicata)</b>	0	-----	-----
<b>1</b>	0,5	250	25
<b>2</b>	1	250	50
<b>3</b>	1,5	250	75
<b>4</b>	2	250	100
<b>5</b>	2,5	100	50
<b>6</b>	5	100	100
<b>7</b>	10	100	200
<b>8</b>	15	100	300
<b>9</b>	20	100	400

Amostra: 15 mL

$R_1=300 \mu\text{L}$

$R_2=300 \mu\text{L}$

- ✓ Ler em cubeta de 1 cm e 5 cm.
- ✓ Adicionar o  $R_1$  e agitar.
- ✓ Deixar repousar de 2 a 8 minutos.
- ✓ Juntar 1 mL do  $R_2$  e agitar.
- ✓ Esperar de 10 min a 2 h e medir a densidade ótica a 543 nm.
- ✓ Anotar o valor obtido.

### 3.5.2.3 Determinação das amostras

- ✓ Em 50 mL de amostra, adicionar 1 mL do reativo R<sub>1</sub> e agitar, deixar repousar de 2 a 8 min.
- ✓ Juntar 1 mL do R<sub>2</sub> e agitar, esperar de 10 min a 2 h e medir a densidade ótica a 543 nm, ler em cubeta de 1 cm.
- ✓ Anotar o valor obtido.

### 3.5.3 Nitrato

Nitrato foi determinado pelo método colorimétrico proposto por Aminot e Chaussepied (Baumgarten *et al.*, 1996).

#### 3.5.3.1 Reagentes

**R<sub>1</sub>**: Solução de Sulfanilamida

**R<sub>2</sub>**: Solução de N-Naftil etilenodiamina

Solução Padrão Estoque de Nitrito (SE) com 5 mmol L<sup>-1</sup> N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>

Solução trabalho de nitrito com concentração de 50 μmol L<sup>-1</sup>.

#### **Solução padrão estoque de nitrato (SE) com 5 mmol L<sup>-1</sup> N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>**

- ✓ Secar 0,8 de nitrato de potássio anidro a 100 °C durante 1 h e esfriar em dessecador.
- ✓ Dissolver 0,506 g desse composto em água destilada e aferir a 1 L.
- ✓ Essa solução deve ser guardada em frasco escuro e no refrigerador. Conserva-se por vários meses, mas deve ser renovada, no mínimo anualmente.

### **Solução concentrada de Cloreto de Amônio**

- ✓ Dissolver 125 g desse reagente em 500 mL de água destilada.

### **Solução diluída de Cloreto de Amônio**

- ✓ Diluir 40 vezes a solução anterior, ou seja, 25 mL dessa solução diluídos a 1L de água destilada.

### **Preparo das soluções a partir da solução estoque**

Solução padrão de  $10 \mu\text{mol L}^{-1} \text{N-NO}_3^-$  e  $10 \mu\text{mol L}^{-1} \text{N-NO}_2^-$

- ✓ Retirar 1 mL da solução padrão estoque de  $\text{N-NO}_3^-$  ( $5 \text{ mmol L}^{-1} \text{N-NO}_3^-$ ) e, num balão volumétrico, diluir a 500 mL com água destilada.
- ✓ Para o padrão de nitrito, seguir o mesmo procedimento, mas usando a solução padrão estoque de  $\text{N-NO}_2^-$  ( $5 \text{ mmol L}^{-1} \text{N-NO}_2^-$ ) como matriz de diluição.

#### **3.5.3.2 Preparo da coluna de cádmio**

- ✓ Colocar água destilada na coluna ficando sem bolhas.
- ✓ Tapar a saída e agitar, fazer isso até sair toda sujeira da resina e a água sair limpa. Não deixar entrar ar na coluna.
- ✓ Lavar o recipiente com destilada e colocar a solução preparada de cloreto de amônio diluída.
- ✓ Ligar o sistema e tirar as bolhas que restaram (dobra a saída da coluna, tirar a tampa superior, completar com água destilada e fecha a tampa superior, em seguida, solta a saída também para passar a solução).
- ✓ Fazer isso com todas as colunas.
- ✓ Deixar o sistema funcionando por 2 h.

### 3.5.3.3 Rendimento da coluna

- ✓ Transferir para uma proveta de 100 mL os padrões em separado de  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NO}_2^-$ .
- ✓ Preencher uma proveta de 100 mL com água destilada.
- ✓ Adicionar a cada proveta 2 mL de solução concentrada de cloreto de amônio.
- ✓ Passar, em separado, cada porção na coluna (água destilada,  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NO}_2^-$ ), e quando chegar ao nível de 30 mL passados, recolher 5 mL.
- ✓ Após recolhida a solução, adicionar 100  $\mu\text{L}$  dos reativos  $\text{R}_1$  e  $\text{R}_2$ .
- ✓ Fazer padrão de  $\text{NO}_2^-$  (não passar na coluna, apenas recolher 5 mL e colocar os reativos)

Cálculo da % (rendimento) da coluna

$$\frac{\text{Absorbância da amostra} \times 100}{\text{Absorbância Padrão NO}_2^-} \quad (11)$$

### 3.5.3.4 Determinação das amostras

- ✓ Deixar passando pela coluna um pouco de cloreto de amônio diluído.
- ✓ Colocar 400  $\mu\text{L}$  de cloreto de amônio concentrado nas amostras.
- ✓ Agitar um pouco as amostras.
- ✓ Colocar as mangueirinhas no tubo das amostras e deixar passar 10 mL pela coluna
- ✓ Desligar o aparelho, colocar os tubinhos de recolhimento e recolher 5 mL.
- ✓ Recolher as próximas amostras, lavar as mangueirinhas com água destilada, secar e coloca nas novas amostras, repetir este procedimento para todas as outras amostras.

Para 20 mL de amostra adicionar:

$\text{R}_1=300 \mu\text{L}$  deixar repousando de 2 a 8 min.

$\text{R}_2=300 \mu\text{L}$  agitar e esperar de 10 min a 2 h e verificar a densidade ótica a 543 nm em cubeta de 1 cm.

### **3.6 PROCEDIMENTO DE DESCARTE DOS RESÍDUOS GERADOS NA ANÁLISE**

Os resíduos gerados na análise foram devidamente armazenados em garrafas PET. Sendo as mesmas vedadas com parafilme para que não houvesse nenhum derramamento ou acidente durante o manuseio. Está sendo estudada a possibilidade de precipitar o arsênio na forma de trissulfeto de arsenio ( $As_2S_3$ ) em meio ácido.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS EXPERIMENTAIS

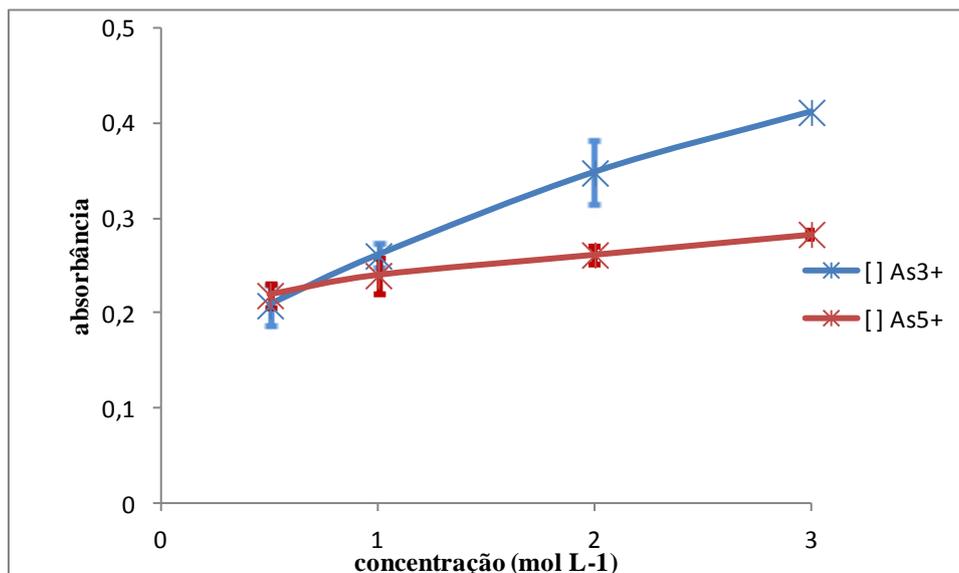
Foram realizados experimentos com intuito de encontrar as melhores condições experimentais para a análise da especiação química de arsênio inorgânico.

Assim, na determinação das concentrações de  $\text{As}^{3+}$  e  $\text{As}^{5+}$ , foram otimizadas as concentrações de ácido clorídrico e borohidreto de sódio. As concentrações de hidróxido de sódio, iodeto de potássio e ácido ascórbico foram as mesmas usadas por Chanthai *et al.* (2007). A concentração do tampão citrato usada neste estudo foi a mesma relatada por Quináia e Rollemberg (1997), todavia o pH da solução tampão foi estudado.

O tempo de reação necessário para completar a redução das formas de  $\text{As}^{5+}$  para  $\text{As}^{3+}$  foi investigado em diferentes volumes de ácido clorídrico concentrado com objetivo de verificar a melhor resposta. A vazão de argônio também foi estudada.

#### 4.1.1 Otimização da concentração de HCl

As concentrações de 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 mol L<sup>-1</sup> de ácido clorídrico foram investigadas com uma concentração de borohidreto de sódio 0,1% (m/V) em NaOH 0,05% (m/V). Para determinação de  $\text{As}^{3+}$  foi utilizada uma solução tampão citrato 0,4 mol L<sup>-1</sup> em pH= 4,4 na otimização deste parâmetro. Para determinação de  $\text{As}^{5+}$ , uma mistura pré-redutora de iodeto de potássio/ácido ascórbico 5% em meio ácido clorídrico concentrado foi utilizada. A variação da absorbância em função da concentração do ácido está mostrada na Figura 6.



**Figura 6** - Concentração de ácido clorídrico ( $n=3$ ) em função da absorbância obtida.

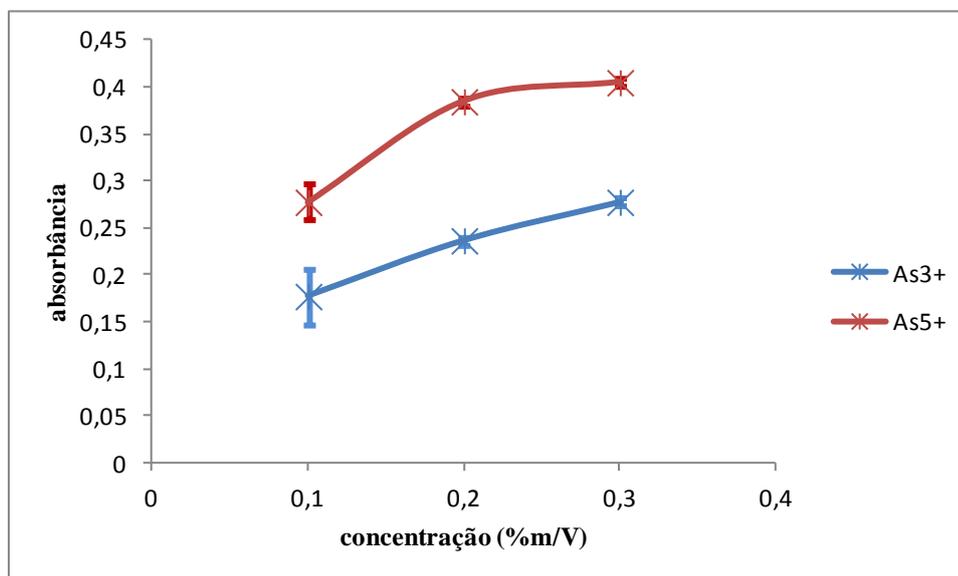
Concentrações maiores de  $3 \text{ mol L}^{-1}$  foram testadas, porém a operação do separador gás-líquido ficou comprometida, diminuindo drasticamente o sinal analítico, e por isso, não está apresentada na Figura 6. Esta situação foi a mesma encontrada por Chanthai *et al.* (2007). Eles relataram que isto ocorre, devido à rápida reação de formação do hidreto volátil havendo acúmulo de gás hidrogênio no separador, contribuindo para o transporte da solução para a célula de quartzo e ocasionando o embaçamento da mesma.

De acordo com a Figura 6 pode-se observar uma melhor resposta quando usada concentração de  $3 \text{ mol L}^{-1}$ , tanto para determinação de  $\text{As}^{3+}$  quanto para  $\text{As}^{5+}$ .

#### 4.1.2 Otimização da concentração do $\text{NaBH}_4$

As concentrações de 0,1; 0,2; 0,3% (m/V) de borohidreto de sódio em NaOH 0,05% (m/V) foram verificadas neste estudo com uma concentração fixa de ácido clorídrico  $3 \text{ mol L}^{-1}$  e tampão citrato  $0,4 \text{ mol L}^{-1}$  (pH= 4,4) para determinação de  $\text{As}^{3+}$ . Sendo que para determinação de  $\text{As}^{5+}$  não foi utilizado tampão citrato e sim, a mistura pré-redutora de iodeto de potássio/ácido ascórbico 5% em meio ácido clorídrico

concentrado. A variação da absorbância em função da concentração de  $\text{NaBH}_4$  está apresentada na Figura 7.



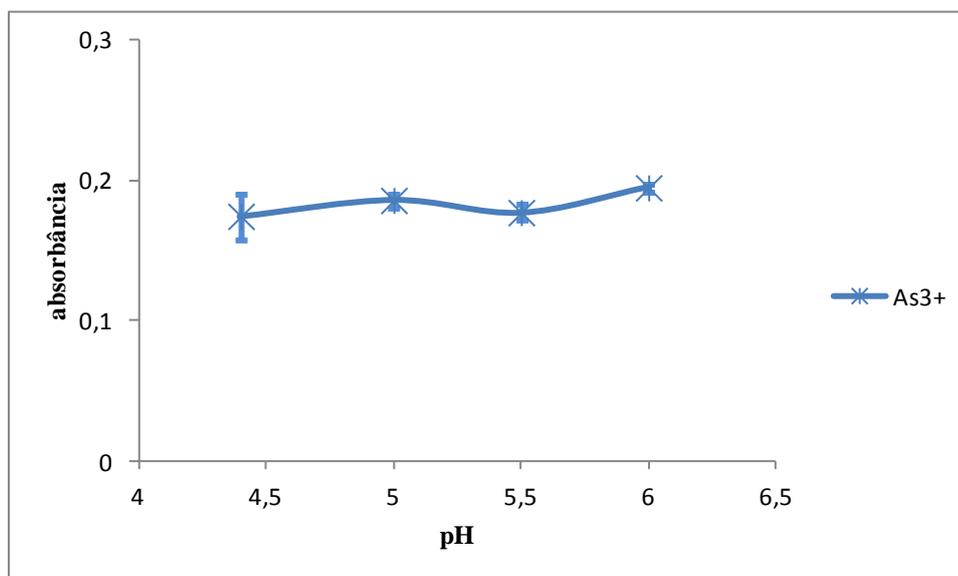
**Figura 7** - Concentração de borohidreto de sódio ( $n=3$ ) em função da absorbância obtida.

Durante os experimentos, concentrações maiores de 0,3% foram testadas, mas da mesma maneira do verificado para altas concentrações de HCl a operação do separador gás-líquido ficou comprometida, ocorrendo arraste de gotículas de solução para a célula de quartzo, ocasionando a total perda do sinal e a necessidade de limpeza da célula com a imersão da mesma em 10% (V/V) de ácido clorídrico. Dessa maneira, os experimentos não foram realizados com concentrações maiores de 0,3% (m/V).

De acordo com a Figura 7, foi identificado uma melhor resposta com uma concentração de 0,3 % (m/V) de borohidreto de sódio para determinação de  $\text{As}^{3+}$  e  $\text{As}^{5+}$ .

### 4.1.3 Otimização do pH da solução tampão

A Figura 8 mostra a absorvância de  $\text{As}^{3+}$  em função do pH em  $0,4 \text{ mol L}^{-1}$  de solução tampão citrato. Para este estudo foi preparada a solução tampão citrato em diferentes pH: 4,4; 5,0; 5,5; 6,0. A otimização deste parâmetro foi realizada na presença de  $\text{HCl } 3 \text{ mol L}^{-1}$  e  $\text{NaBH}_4$  0,3% (m/V) em  $\text{NaOH } 0,05\%$  (m/V).

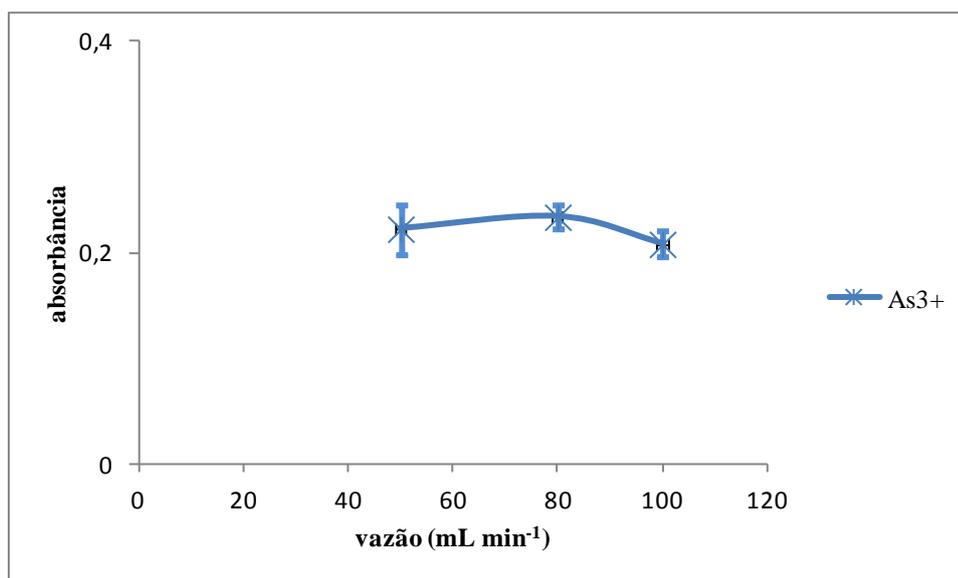


**Figura 8** - pH da solução tampão citrato (n=3) em função da absorvância obtida.

A reação de formação do hidreto a partir de  $\text{As}^{3+}$  é dependente do pH do meio. Sendo assim, houve a necessidade de verificar qual o pH mais adequado para que essa reação acontecesse sem perda significativa de arsina. Conforme visto na Figura 8, em pH 5,0 há uma boa resposta, porém os picos se apresentaram de forma distorcida, por esse motivo o pH 6,0 foi escolhido, pois apresentou uma boa absorvância e picos com boa resolução.

#### 4.1.4 Otimização da vazão de argônio

Neste estudo, foram estudadas as seguintes vazões de argônio: 50; 80 e 100 mL min<sup>-1</sup>. O fluxo de gás de transporte tem uma grande influência na sensibilidade. Portanto, se torna necessário investigar o fluxo adequado para que o hidreto seja transportado para a célula de quartzo sem perdas significativas. A vazão de argônio foi verificada com uma concentração fixa de HCl 1 mol L<sup>-1</sup> e NaBH<sub>4</sub> 0,2% (m/V). Segundo a Figura 9, uma vazão de 80 mL min<sup>-1</sup> se torna suficiente para transportar o hidreto para a célula atomizadora.



**Figura 9** - Vazão do gás argônio ( $n=3$ ) em função da absorbância.

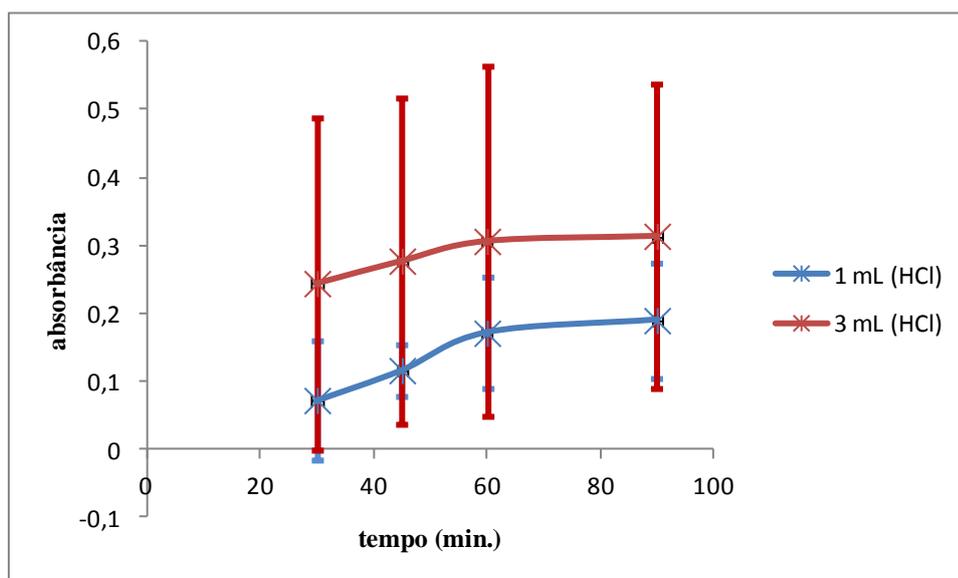
Cabe salientar, que com uma vazão de 80 mL min<sup>-1</sup> foi obtida uma melhor absorbância e uma boa resolução dos picos. Não houve diferença na resolução dos picos quando foi utilizadas vazões de 80 e 100 mL min<sup>-1</sup>, mas nesta última houve uma queda de absorbância. Já para a vazão de 50 mL min<sup>-1</sup> houve uma boa absorbância, porém os picos foram bastante distorcidos.

#### 4.1.5 Otimização do tempo de reação

A redução de  $\text{As}^{5+}$  com borohidreto de sódio é lenta em temperatura ambiente e pH baixo ( $\text{pH} < 1$ ). Ao contrário de  $\text{As}^{3+}$ , que é rapidamente convertido para arsina na presença de borohidreto (Chanthai *et al.*, 2007).

Sendo assim, com o intuito de aumentar a velocidade da reação e a sensibilidade do método, houve a necessidade de redução do  $\text{As}^{5+}$  para  $\text{As}^{3+}$  antes da etapa de redução com borohidreto de sódio. Para isso, foi utilizada uma mistura pré-redutora de iodeto de potássio com ácido ascórbico 5% na presença de ácido clorídrico concentrado. O uso de iodeto de potássio junto com ácido ascórbico previne a oxidação do iodeto para triiodeto pelo oxigênio presente no ar ou com oxidantes, assim como o ferro (III) e o cobre (II) (Chantai *et al.*, 2007; Brindle e Le, 1992). Nessas condições ocorre a redução de todas as formas de arsênio inorgânico para arsênio trivalente e a absorvância medida é proporcional à concentração de arsênio inorgânico total.

A concentração de  $\text{As}^{5+}$  foi calculada pela diferença da concentração de arsênio inorgânico total e da concentração de  $\text{As}^{3+}$ . Neste estudo, foram otimizados o volume de ácido clorídrico e o tempo de reação. Na otimização destes parâmetros foram utilizados volumes de ácido clorídrico de 1 e 3 mL e diferentes tempos de reação de 30; 45; 60 e 90 min.



**Figura 10** - Volume de ácido clorídrico e o tempo de reação para determinação de arsênio inorgânico total ( $n=2$ ) em função da absorvância obtida.

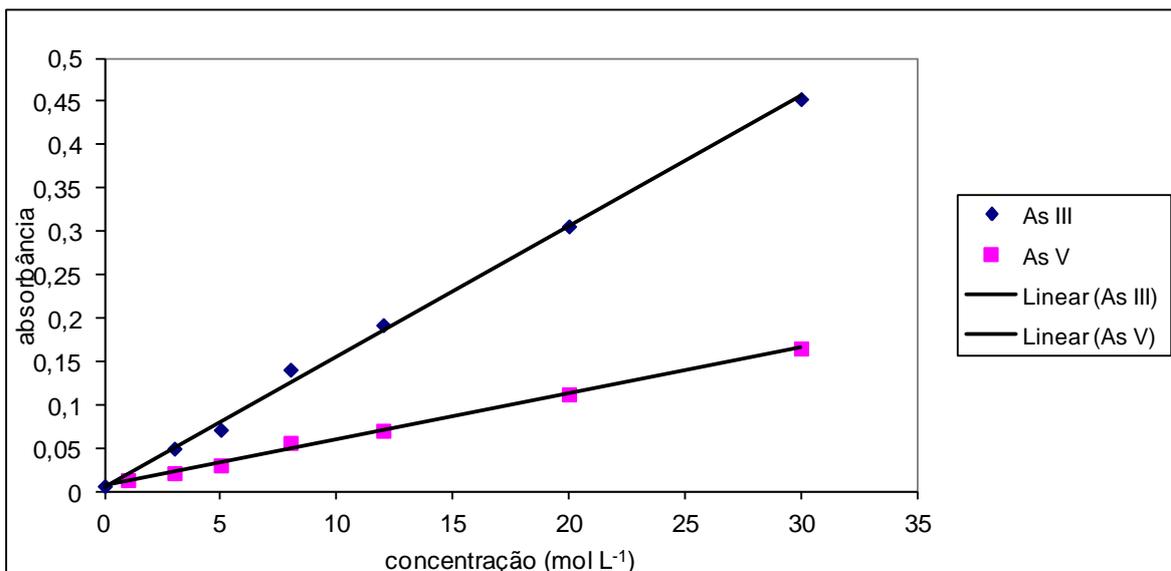
Para as condições deste estudo, uma pré-redução adequada foi alcançada com volume de 3 mL de ácido clorídrico concentrado em 60 minutos, conforme visto na Figura 10. Sigrist e colaboradores (2004) realizaram a análise da especiação de arsênio em águas subterrâneas em Santa Fé, Argentina, utilizando 3 mL de ácido clorídrico concentrado e uma mistura pré-redutora de iodeto de potássio 5% (m/V) e ácido ascórbico 5% (m/V) garantindo uma pré-redução quantitativa na determinação de arsênio inorgânico total.

## 4.2 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO

### 4.2.1 Validação do método para a determinação de $\text{As}^{3+}$ e $\text{As}^{5+}$

#### 4.2.1.1 Linearidade

Para verificar a linearidade do método proposto para determinação de  $\text{As}^{3+}$  e  $\text{As}^{5+}$  foram construídas duas curvas de calibração no intervalo de 1 a  $30 \mu\text{g L}^{-1}$ . A curva de calibração para  $\text{As}^{3+}$  apresentou coeficiente de correlação de 0,99 e equação da reta  $y = 0,0151[\text{As}] + 0,0052$ . Para  $\text{As}^{5+}$  foi obtida uma curva de calibração com coeficiente de correlação de 0,99 e equação da reta  $y = 0,0053[\text{As}] + 0,0072$ , conforme a Figura 11. Não foram investigadas concentrações mais altas, pois não são previstas tais concentrações para condições ambientais a serem estudadas.



**Figura 11** - Representação da linearidade do método analítico para determinação de  $\text{As}^{3+}$  e  $\text{As}^{5+}$ .

#### 4.2.1.2 Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ)

O LD e o LQ foram estimados considerando o critério de três desvios-padrões (3s) e o critério de dez desvios-padrões (10s), respectivamente. Para os cálculos dos respectivos LD e LQ tanto para o método de determinação de  $\text{As}^{3+}$  quanto para  $\text{As}^{5+}$  foram feitas seis repetições de uma solução de  $\text{As}^{3+}$  e  $\text{As}^{5+}$  de  $1 \mu\text{g L}^{-1}$ . Em cada determinação foi realizada a leitura em triplicata.

O LD foi calculado multiplicando o desvio-padrão das replicatas por três, ou seja, (3s). Já o LQ foi multiplicado por 10 (10s).

Para o método de determinação de  $\text{As}^{3+}$  o valor estimado do LD foi de  $0,192 \mu\text{g L}^{-1}$  e do LQ foi de  $0,575 \mu\text{g L}^{-1}$ . Para o método de determinação de  $\text{As}^{5+}$ , o valor do LD foi de  $0,313 \mu\text{g L}^{-1}$  e do LQ foi de  $0,939 \mu\text{g L}^{-1}$ .

#### 4.2.1.3 Precisão

A precisão do método para determinação de  $\text{As}^{3+}$  e  $\text{As}^{5+}$  foi expressa em termos de repetitividade, através do cálculo da estimativa do desvio-padrão relativo (RSD). A

repetitividade foi verificada a partir de nove determinações realizadas em amostras de água salgada e doce. A amostra proveniente de água doce foi coletada em um lago próximo ao prédio do laboratório de Hidroquímica da FURG. E a amostra de água salgada foi coletada a 30 milhas da costa gaúcha em frente aos Molhes da Barra de Rio Grande - RS.

As amostras foram fortificadas com três concentrações diferentes de  $\text{As}^{3+}$  e  $\text{As}^{5+}$ : 1, 8 e  $30 \mu\text{g L}^{-1}$ . Em cada nível de concentração foi realizada três repetições e as leituras foram feitas em triplicata.

Os valores de RSD encontrados para o método de  $\text{As}^{3+}$  nas amostras de água salgada para 1, 8 e  $30 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{As}^{3+}$  foram 7,8; 2,2; 2,7%. Nas amostras de água doce os valores foram 11,7; 6,3; 1,3% para as mesmas concentrações, respectivamente.

Para o método de  $\text{As}^{5+}$  na água salgada os valores de RSD encontrados foram 5,8; 2,6; 2,6% para as concentrações 1, 8 e  $30 \mu\text{g L}^{-1}$ . Para água doce foram encontrados valores de 13,1; 3,3; 1,9% para os mesmos níveis de concentração, respectivamente.

Os valores de RSD são plenamente aceitáveis para os níveis de concentração testada. Estando na faixa aceitável, pois segundo Ribani *et.al* (2004) são aceitos valores de RSD de até 20% para determinação de traços ou impurezas.

#### 4.2.1.4 Exatidão

A exatidão do método para determinação de  $\text{As}^{3+}$  e  $\text{As}^{5+}$  foi avaliada por ensaios de recuperação realizados em diferentes matrizes: amostras de água doce e salgada. As amostras de água doce e salgada foram as mesmas utilizadas para avaliar a precisão do método. Foram realizadas fortificações de 1, 8 e  $30 \mu\text{g L}^{-1}$  com uma solução de  $\text{As}^{3+}$  e  $\text{As}^{5+}$   $1 \text{ mg L}^{-1}$  nas amostras de água doce e salgada. Para cada nível de fortificação foram realizados três repetições. As recuperações foram calculadas através da equação expressa na equação abaixo (Brito *et al.*, 2003).

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{[\text{valor obtido} - \text{valor real}]}{\text{valor real}} \times 100 \quad (12)$$

Os resultados para as recuperações de  $\text{As}^{3+}$  nas amostras de água doce fortificadas com 1, 8 e  $30 \mu\text{g L}^{-1}$  foram: 99,1; 105,0 e 94,8%. As recuperações de  $\text{As}^{3+}$  nas amostras de água salgada fortificadas com os mesmos níveis de concentração foram: 87,5; 96,6 e 91,4%, respectivamente.

Os valores obtidos para as recuperações de  $\text{As}^{5+}$  nas amostras de água doce fortificadas com 1, 8 e  $30 \mu\text{g L}^{-1}$  foram: 79,1; 79,9 e 97,9%. E para amostras de água salgada fortificadas com os mesmos níveis de concentração de  $\text{As}^{5+}$  foram obtidas recuperações de: 114,6; 100,4 e 86,7%, respectivamente.

Segundo Ribani *et. al* (2004) são aceitos valores de recuperação entre 70 e 120% para análise de resíduos, com precisão de  $\pm 20\%$ . No entanto, dependendo da complexidade analítica e da amostra, estes intervalos aceitáveis de recuperação podem ser de 50 a 120%, com precisão de até  $\pm 15\%$ .

Em suma, os resultados para as recuperações tanto na matriz de água doce quanto na matriz de água salgada foram satisfatórios, pois recuperações dentro do intervalo aceitável de recuperação foram obtidas.

### **4.3 COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES MÉDIAS DE $\text{As}^{3+}$ E $\text{As}^{5+}$ NO INVERNO E NA PRIMAVERA**

#### **4.3.1 Superfície da coluna d'água**

A Tabela 4 apresenta as concentrações médias de  $\text{As}^{3+}$  e  $\text{As}^{5+}$  no inverno e na primavera na superfície da coluna d'água nas 11 estações de coletas na Lagoa dos Patos.

**Tabela 4** - Concentrações de  $As^{3+}$  e  $As^{5+}$  ( $\mu g L^{-1}$ ) na superfície da coluna d'água na Lagoa dos Patos no inverno e na primavera seguido de suas médias, desvios padrão, valor máximo e mínimo.

Estações	Inverno		Primavera	
	$As^{3+}$ ( $\mu g L^{-1}$ )	$As^{5+}$ ( $\mu g L^{-1}$ )	$As^{3+}$ ( $\mu g L^{-1}$ )	$As^{5+}$ ( $\mu g L^{-1}$ )
estação 1	0,27	2,258	0,55	1,08
estação 2	0,243	2,623	0,612	1,299
estação 3	0,226	2,302	0,579	1,331
estação 4	0,253	2,051	0,557	0,904
estação 5	0,214	1,921	0,58	0,881
estação 6	0,25	1,604	0,583	0,934
estação 7	0,222	2,531	0,545	1,927
estação 8	0,212	2,428	0,543	2,041
estação 9	0,218	1,636	0,536	1,262
estação 10	0,249	2,279	0,59	1,714
estação 11	0,22	2,758	0,583	1,777
média	0,234	2,217	0,569	1,377
desvio-padrão	0,019	0,380	0,024	0,423
valor máximo	0,27	2,758	0,612	2,041
valor mínimo	0,212	1,604	0,536	0,881

Conforme pode ser visto na Tabela 4, a concentração de  $As^{3+}$  na primavera foi superior a concentração de  $As^{3+}$  no inverno na superfície da coluna d'água na Lagoa dos Patos. E a concentração de  $As^{5+}$  no inverno foi maior que a concentração de  $As^{5+}$  encontrada na primavera. Indicando algum tipo de atividade que pode estar sendo responsável por essa elevação, havendo a necessidade de estudos mais aprofundados.

No entanto, não se pode afirmar se a concentração encontrada está abaixo ou acima do limite estipulado pela legislação, pois a legislação brasileira contempla apenas a concentração de arsênio total e algumas legislações estrangeiras no máximo a concentração de alguns metais na fração dissolvida, não apresentando nenhuma informação quanto à especiação química, a qual se torna fundamental o seu conhecimento principalmente em se tratando de metais pesados, os quais representam um risco em potencial ao ambiente aquático.

### 4.3.2 Fundo da coluna d'água

A Tabela 5 mostra as concentrações médias de  $As^{3+}$  e  $As^{5+}$  no inverno e na primavera no fundo da coluna d'água, os quais foram determinados nas 11 amostras coletadas nas estações de coleta distribuídas na Lagoa dos Patos.

**Tabela 5** - Concentrações de  $As^{3+}$  e  $As^{5+}$  nas 11 estações de coleta ao longo da Lagoa dos Patos no fundo da coluna d'água no inverno e na primavera seguido de suas médias, desvios padrão, valor máximo e mínimo.

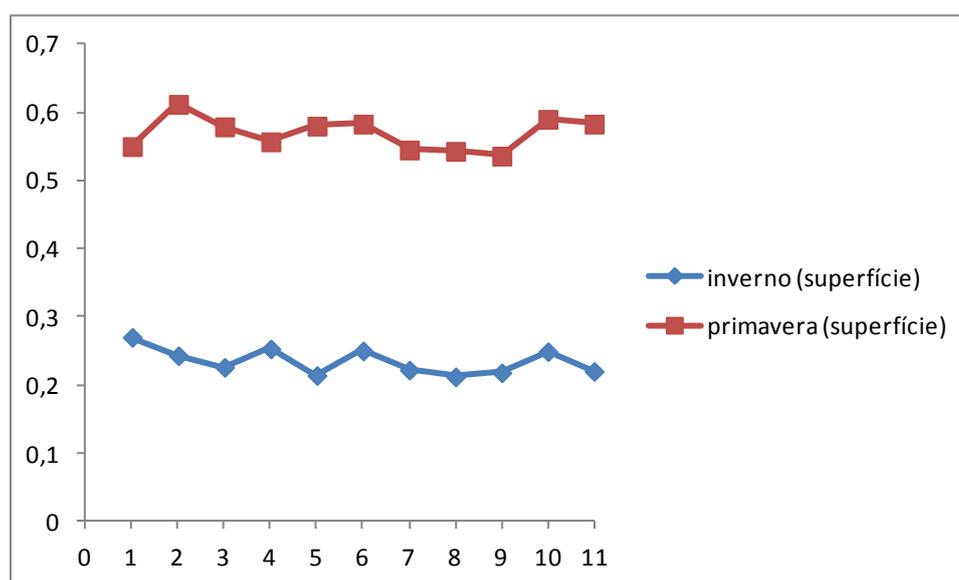
Estações	Inverno		Primavera	
	$As^{3+}$ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	$As^{5+}$ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	$As^{3+}$ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	$As^{5+}$ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
estação 1	0,259	2,045	0,546	0,802
estação 2	0,249	2,223	0,726	1,634
estação 3	0,228	1,626	0,54	1,932
estação 4	0,252	2,108	0,542	0,975
estação 5	0,259	2,606	0,511	1,343
estação 6	0,205	2,436	0,544	0,636
estação 7	0,223	2,586	0,599	1,367
estação 8	0,233	1,621	0,577	1,389
estação 9	0,2	2,048	0,586	1,268
estação 10	0,228	1,402	0,565	1,682
estação 11	0,204	1,538	0,585	1,494
média	0,230	2,021	0,574	1,320
desvio-padrão	0,021	0,426	0,056	0,387
valor máximo	0,259	2,606	0,726	1,932
valor mínimo	0,2	1,402	0,511	0,636

Como visto na Tabela 5, a concentração de  $As^{3+}$  na primavera foi superior a concentração de  $As^{3+}$  no inverno no fundo da coluna d'água na Lagoa dos Patos. Já a concentração de  $As^{5+}$  no inverno foi maior que a concentração de  $As^{5+}$  encontrada na primavera. Apresentando o mesmo comportamento encontrado para a superfície da coluna d'água.

#### 4.4 COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE $As^{3+}$ NAS 11 ESTAÇÕES DE COLETA NO INVERNO E NA PRIMAVERA

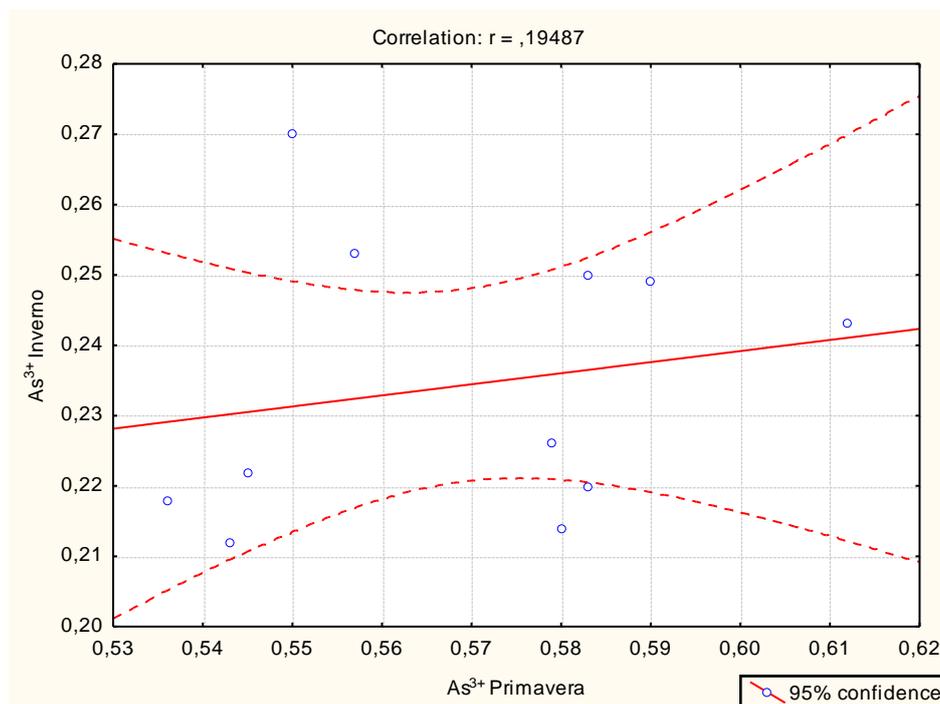
##### 4.4.1 Superfície da coluna d'água

A Figura 12 mostra os perfis de distribuição de  $As^{3+}$  na superfície da coluna d'água nas 11 estações de coleta da Lagoa dos Patos no inverno e na primavera.



**Figura 12** - Concentração de  $As^{3+}$  ( $\mu g L^{-1}$ ) na superfície da coluna d'água na Lagoa dos Patos no inverno e na primavera.

De acordo com a Figura 12, em todas as 11 estações de coleta a concentração de  $As^{3+}$  foi maior no período da primavera comparando com o período do inverno, para as amostras de água de superfície. A Figura 13 mostra o resultado da correlação de Pearson entre as concentrações de  $As^{3+}$  no inverno e primavera na Lagoa dos Patos.

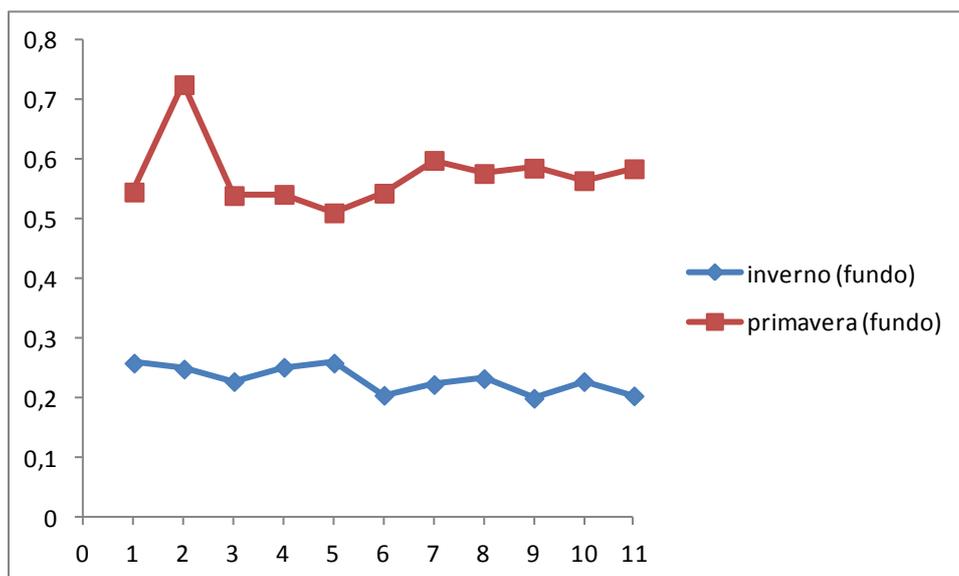


**Figura 13** - Correlação entre as concentrações de  $\text{As}^{3+}$  ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) na superfície da coluna d'água na Lagoa dos Patos no inverno e na primavera.

A correlação encontrada entre o inverno e a primavera é de 19%, demonstrando que apesar da concentração ser maior na primavera não existe correlação entre as duas estações sazonais. Além disso, as altas concentrações de  $\text{As}^{3+}$  na primavera podem ser atribuídas ao período de pouca precipitação que ocorreu nesta época do ano, indicando a redução do aporte de água doce do estuário para o oceano, aumentando o tempo de permanência desse metal no estuário.

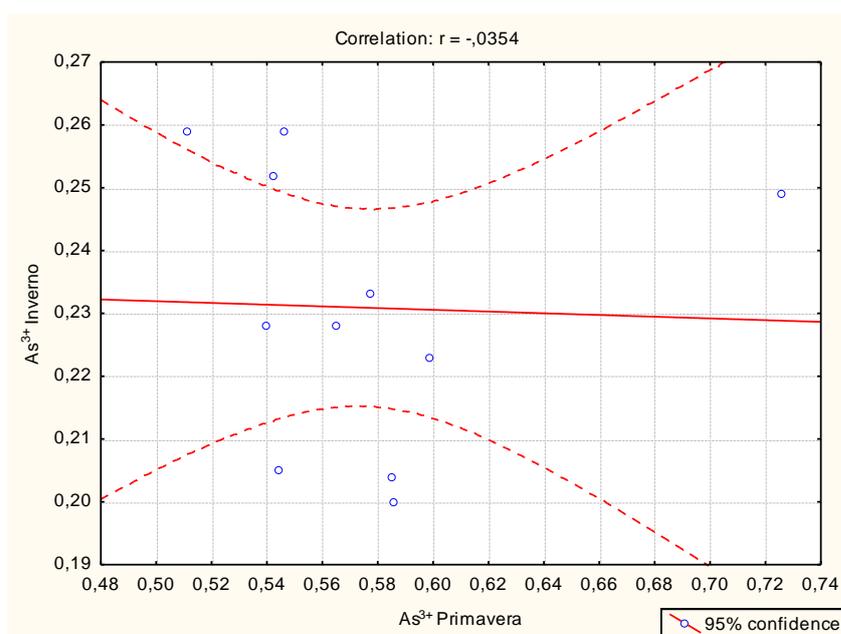
#### 4.4.2 Fundo da coluna d'água

A Figura 14 mostra a distribuição da concentração de  $\text{As}^{3+}$  no inverno e na primavera nas 11 estações de coleta no fundo da coluna d'água. De acordo com a Figura 14 a concentração de  $\text{As}^{3+}$  foi maior na primavera do que no inverno em todas as estações de coleta. Além disso, na estação 2 no período da primavera a concentração de  $\text{As}^{3+}$  foi maior do que nas outras estações de coleta, o que não se repetiu no inverno.



**Figura 14** - Concentração de  $\text{As}^{3+}$  ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) no fundo da coluna d'água na Lagoa dos Patos no inverno e na primavera.

O gráfico da Figura 15 mostra o resultado da correlação de Pearson entre as concentrações de  $\text{As}^{3+}$  no inverno e na primavera nas diversas estações da Lagoa dos Patos.



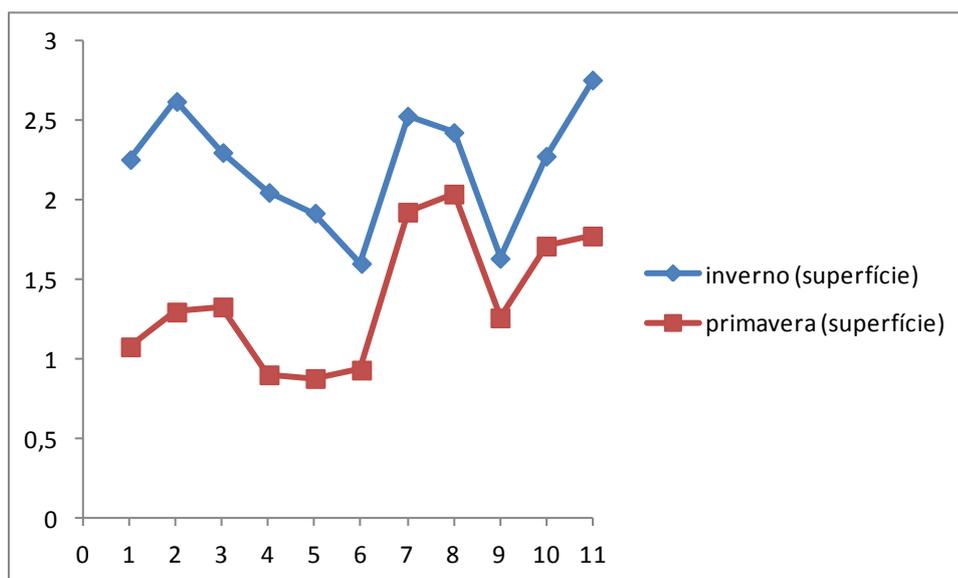
**Figura 15** - Correlação entre as concentrações de  $\text{As}^{3+}$  ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) no fundo da coluna d'água na Lagoa dos Patos no inverno e na primavera.

A correlação encontrada entre eles é de apenas 3,5%, mostrando que os perfis de distribuição são independentes para o inverno e primavera semelhante ao que ocorreu para as amostras coletadas na superfície.

## 4.5 COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE $As^{5+}$ NAS 11 ESTAÇÕES DE COLETA NO INVERNO E NA PRIMAVERA

### 4.5.1 Superfície da coluna d'água

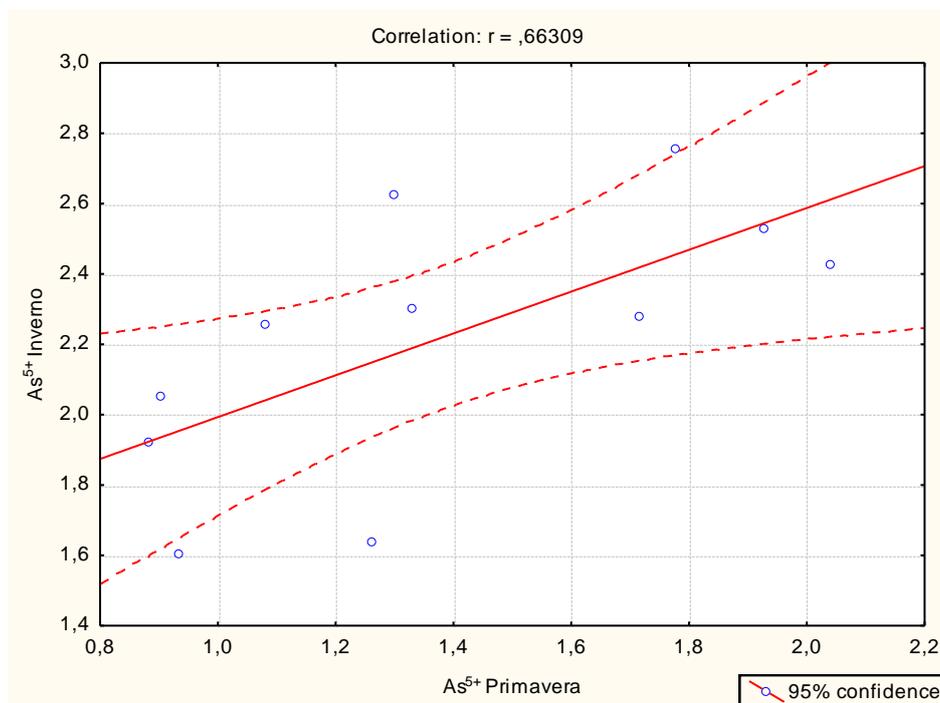
A Figura 16 mostra os perfis de distribuição de  $As^{5+}$  na superfície da coluna d'água no inverno e na primavera ao longo das estações de coleta da Lagoa dos Patos.



**Figura 16** - Concentração de  $As^{5+}$  ( $\mu g L^{-1}$ ) na superfície da coluna d'água na Lagoa dos Patos no inverno e na primavera.

De acordo com a Figura 16, pode-se visualizar que, a concentração de  $As^{5+}$  no inverno é maior do que na primavera em todas as estações.

A Figura 17 mostra o resultado da correlação de Pearson entre a concentração de  $\text{As}^{5+}$  no inverno e na primavera.



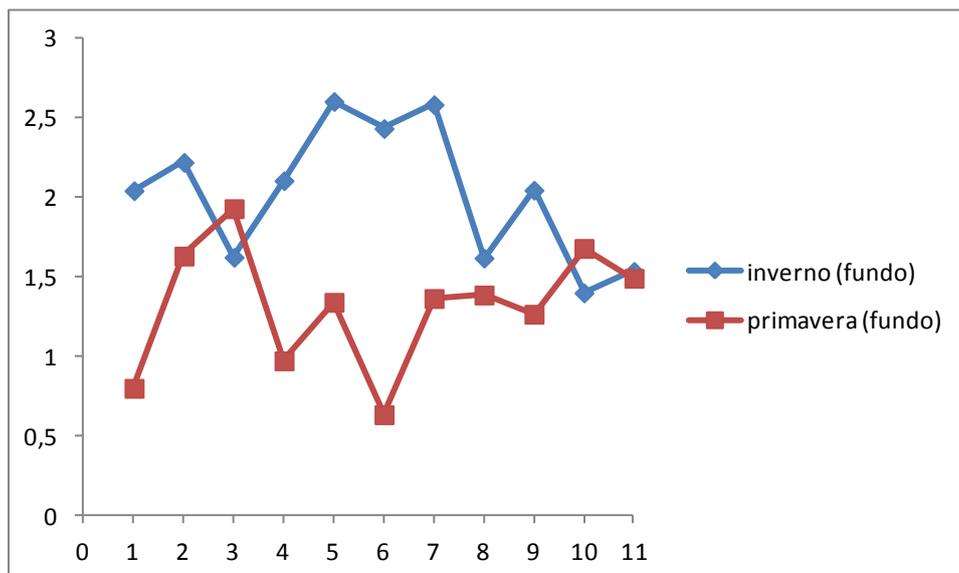
**Figura 17** - Correlação entre a concentração de  $\text{As}^{5+}$  ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) na superfície da coluna d'água na Lagoa dos Patos no inverno e na primavera.

A correlação encontrada entre eles é de 66%, mostrando que existe correlação entre a concentração de  $\text{As}^{5+}$  das amostras coletadas nas duas estações sazonais na superfície, diferentemente do observado para o  $\text{As}^{3+}$ .

#### 4.5.2 Fundo da coluna d'água

A Figura 18 mostra o perfil de distribuição das concentrações de  $\text{As}^{5+}$  na Lagoa dos Patos, ao longo das estações de coleta.

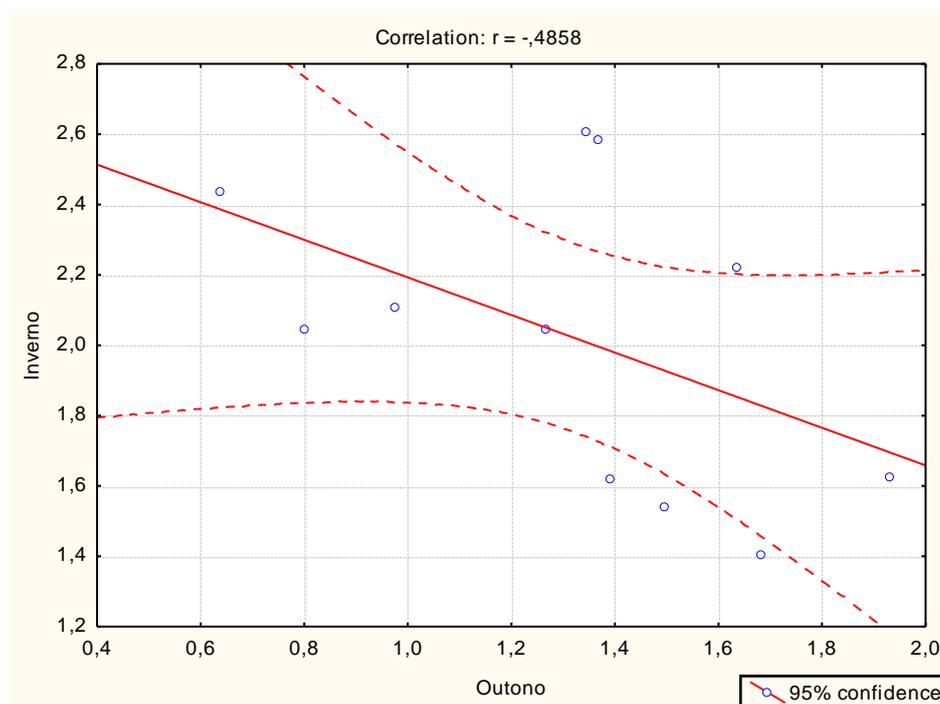
De acordo com a Figura 18, pode-se verificar que as concentrações de  $\text{As}^{5+}$  em quase todas as 11 estações de coleta são superiores no inverno.



**Figura 18** - Concentração de  $As^{5+}$  ( $\mu g L^{-1}$ ) no fundo da coluna d'água na Lagoa dos Patos no inverno e na primavera.

No entanto, a concentração de  $As^{5+}$  nas estações de coleta 3 e 10 é maior no período da primavera.

O gráfico da Figura 19 mostra o resultado da correlação de Pearson entre as concentrações de  $As^{5+}$  no inverno e na primavera nas 11 estações de coleta da Lagoa dos Patos.



**Figura 19** - Correlação entre as concentrações de  $\text{As}^{5+}$  ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) no fundo da coluna d'água na Lagoa dos Patos no inverno e na primavera.

A correlação encontrada é de 48%, permitindo afirmar que haja correlação entre as amostras coletadas nos dois períodos sazonais.

#### 4.6 RESULTADOS DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E DOS NUTRIENTES INORGÂNICOS DISSOLVIDOS

No inverno a salinidade na superfície da coluna d'água variou entre 0 e 1,7 e no fundo da coluna d'água variou entre 0 e 18,2. Na primavera a salinidade na superfície da coluna d'água permaneceu constante (salinidade 0) e no fundo da coluna d'água a salinidade variou entre 0 e 27,3. A temperatura na superfície da coluna d'água no inverno variou entre 15,3 e 18,8 e no fundo da coluna d'água variou entre 14,7 e 16,9. Na primavera a temperatura na superfície da coluna d'água variou entre 19,4 e 20,2 e no fundo da coluna d'água a temperatura variou entre 17,2 e 20,2. O pH na superfície da coluna d'água no inverno variou entre 7,1 e 7,9 e no fundo da coluna d'água variou

entre 7,2 e 7,6. Na primavera na superfície da coluna d'água o pH variou entre 5,9 e 7,3 e no fundo da coluna d'água variou entre 6,2 e 7,9

No inverno o oxigênio dissolvido na superfície da coluna d'água variou entre 9,4 e 9,8 mg L<sup>-1</sup> e no fundo da coluna d'água variou entre 9,4 e 9,9 mg L<sup>-1</sup>. E a condutividade variou entre 0,14 e 2,78 na superfície da coluna d'água e no fundo da coluna d'água variou entre 0,15 e 23,30 no mesmo período. Para a superfície da coluna d'água na primavera, o oxigênio dissolvido variou entre 8,3 e 9,3 mg L<sup>-1</sup> e a condutividade variou entre 0,10 e 112,20. No fundo da coluna d'água no mesmo período sazonal o oxigênio dissolvido variou entre 8,5 e 9,3 e a condutividade variou entre 0,11 e 36,00.

## 4.7 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Os dados brutos monitorados nos dois níveis da coluna d'água (superfície e fundo) do período do inverno e da primavera (ver anexo B) foram tratados pela análise de fatores com análise dos componentes principais, como mencionado e explicado no item 2.5.

Primeiramente, os dados brutos foram padronizados de modo que a média ficasse igual a zero e o desvio padrão igual a 1. Após, a padronização dos dados brutos, os fatores foram extraídos pelo método da análise dos componentes principais (ACP). A escolha do número de fatores foi feita pelo critério de Kaiser. Além disso, foi feita a rotação dos fatores pelo método Varimax Normalizada.

A Tabela C.1 e a Tabela D.1 (ver anexo C e D) mostram os cinco primeiros fatores importantes extraídos e os respectivos percentuais de variação explicada para a superfície e fundo da coluna d'água no período do inverno.

De acordo com a Tabela C.1 (anexo C), os cinco primeiros fatores explicaram 83,9% da variância. E segundo a Tabela D.1 (anexo D), os cinco fatores escolhidos apresentaram um percentual de variância de 85,3%. Ambos apresentando um percentual de variância adequado para compreender o ambiente. Apesar, dos cinco primeiros fatores apresentarem um bom percentual de explicação segundo o critério de Kaiser, como mencionado anteriormente, somente os quatro primeiros fatores foram usados no tratamento estatístico dos dados brutos da superfície e do fundo da coluna d'água no

período do inverno, pois o quinto fator apresentou apenas 9,8% e 13,2% de explicação dos dados, respectivamente.

A Tabela E.1 e F.1 (ver anexo E e F) apresentam os resultados dos quatro primeiros fatores extraídos para a superfície e fundo da coluna d'água no período da primavera, os quais foram os mais importantes para a interpretação dos dados. Esses fatores juntos representaram 80,1 % e 79,7% de explicação da variância encontrada, respectivamente.

#### 4.7.1 Período do Inverno (superfície)

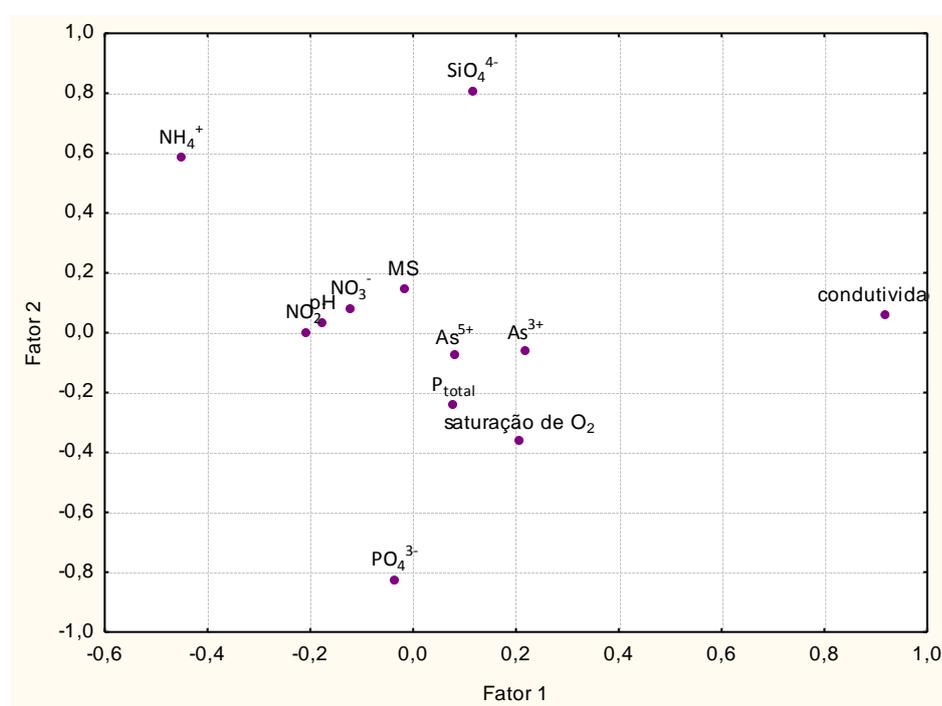
A Tabela 6 mostra o resultado da rotação dos fatores pelo método de rotação Varimax Normalizada com as cargas fatoriais das 12 variáveis para cada fator.

**Tabela 6** - Principais fatores extraídos a partir dos dados brutos da superfície da coluna d'água no período do inverno pelo método ACP.

Variáveis	Fator 1	Fator 2	Fator 3	Fator 4
condutividade	<b>0,918394</b>	0,062848	0,083728	0,012414
pH	-0,176242	0,036049	0,228344	0,031525
saturação de O <sub>2</sub>	0,207299	-0,358258	0,127160	<b>-0,664408</b>
MS	-0,017606	0,146513	-0,079586	<b>-0,615883</b>
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	-0,451474	<b>0,585383</b>	-0,004440	-0,103568
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	-0,036300	<b>-0,824350</b>	0,440834	0,078512
P <sub>total</sub>	0,078847	-0,242771	0,157617	<b>0,941968</b>
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	-0,209137	0,002961	0,194987	0,096755
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-0,121875	0,083599	0,035356	0,153524
SiO <sub>4</sub> <sup>4-</sup>	0,115165	<b>0,808753</b>	0,209053	-0,170515
As <sup>3+</sup>	0,218829	-0,059126	-0,035992	-0,058103
As <sup>5+</sup>	0,080369	-0,074622	<b>0,948101</b>	0,110299
% da variância explicada	27,82517	20,19193	14,28291	11,79455

Na Tabela 6, as variáveis que possuem uma carga fatorial igual ou superior a 0,5, ignorando o sinal, estão em **negrito**, pois essas cargas fatoriais indicam como as variáveis estão relacionadas com os fatores.

O primeiro fator é o mais importante gerado pela ACP, pois explica o máximo de variância na análise. O segundo fator é o segundo mais importante e assim sucessivamente. A Figura 20 apresenta o gráfico dos dois primeiros fatores gerados pela ACP e a Figura 21 apresenta os demais fatores.

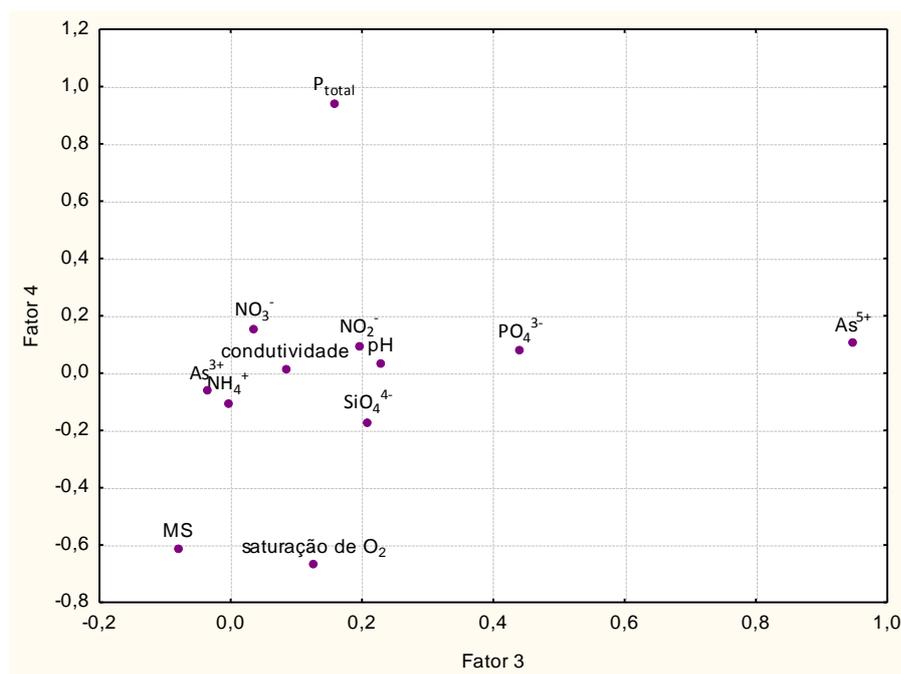


**Figura 20** - Gráfico representando as variáveis em relação ao fator 1 e 2.

De acordo com a Tabela 6, o fator 1 foi o mais importante neste estudo, pois apresentou o maior autovalor (3,33; Anexo C.1) e teve uma explicação de 27,82% da variabilidade total dos dados. O fator 1 foi representado pela condutividade, por causa da sua carga positiva alta (0,91;  $p > 0,05$ ). Dessa maneira, a condutividade neste estudo foi a principal variável capaz de representar o que aconteceu na Lagoa dos Patos na superfície da coluna d'água no inverno. A partir dessa variável foi possível tentar avaliar quais as alterações que estavam ocorrendo na Lagoa dos Patos.

O fator 2 explicou 20,19% da variabilidade total dos dados, sendo o  $\text{NH}_4^+$  (0,58;  $p>0,05$ ),  $\text{PO}_4^{3-}$  (-0,82;  $p>0,05$ ) e  $\text{SiO}_4^{4-}$  (0,80;  $p>0,05$ ) as variáveis relevantes neste fator.

Já o fator 3 explicou 14,28% da variabilidade total dos dados e a variável  $\text{As}^{5+}$  foi a única variável significativa neste fator, pois apresentou uma carga positiva alta (0,94;  $p>0,05$ ).

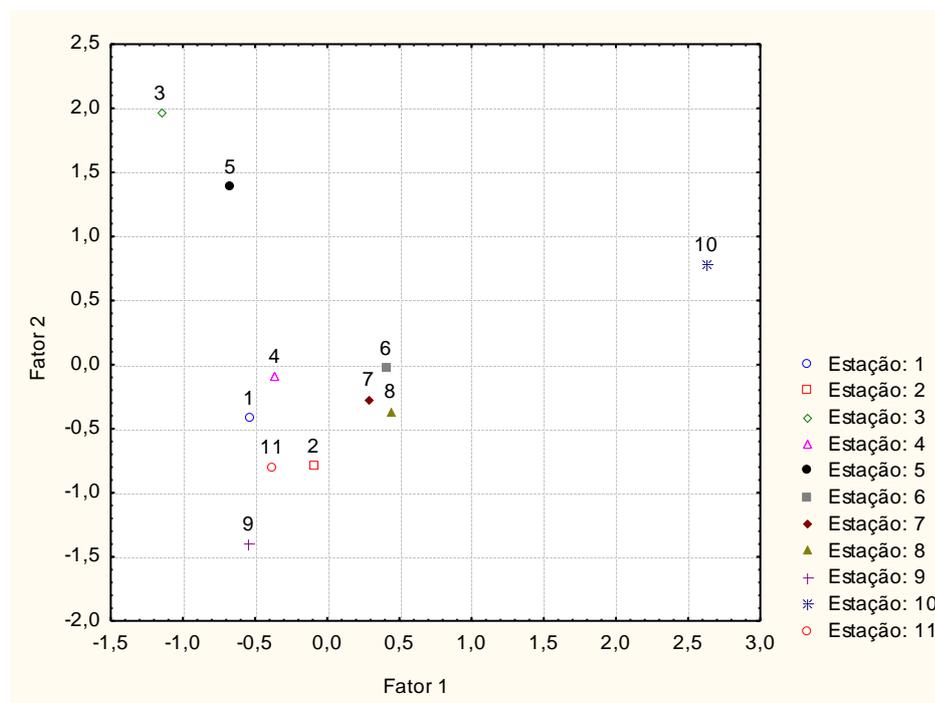


**Figura 21** - Gráfico representando as variáveis em relação ao fator 3 e 4.

O fator 4 explicou 11,79% da variabilidade total dos dados e as variáveis que foram importantes neste fator foram as variáveis  $P_{\text{total}}$  (0,94;  $p>0,05$ ), saturação de  $\text{O}_2$  (-0,66;  $p>0,05$ ) e MS (-0,61;  $p>0,05$ ).

A avaliação das variáveis que representam melhor o que ocorre na Lagoa dos Patos não dá subsídios para saber quais as estações de coleta estão sendo afetadas por essas variáveis, as quais são representativas dos fatores gerados. Sendo assim, para compreender de uma maneira mais clara os resultados obtidos nesta análise, o gráfico em função dos dois mais importantes fatores gerados pela ACP foi construído, conforme a Figura 22. Com o intuito de avaliar, quais estações de coleta distribuídas ao

longo da Lagoa dos Patos estão sendo afetadas pelos fatores mais importantes gerados na análise fatorial.



**Figura 22** - Distribuição das 11 estações de coleta em função dos fatores 1 e 2.

Como mencionado anteriormente, o fator 1 foi representado pela variável condutividade. Dessa forma, o fator 1 pode ser representativo da variação de salinidade, uma vez que a condutividade mede a presença de íons majoritários, sobretudo os íons  $\text{Cl}^-$ . A estação 10 foi a mais afetada por esse fator, por causa do seu alto valor positivo, conforme mostrado na Figura 22. Essa estação está situada na ponta dos Molhes da Barra, estando sujeita a rápidas mudanças de salinidade, pois é o local mais próximo ao oceano, sofrendo grande influência do regime hidrodinâmico do estuário. Assim, quando o regime do estuário muda de vazante para enchente a estação 10 será a primeira a registrar a entrada de água salgada.

Para o fator 2, as variáveis que tiveram maior importância foram  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{SiO}_4^{4-}$  (carga positiva) e  $\text{PO}_4^{3-}$  (carga negativa). O aporte de amônio e silicato pode estar relacionado com a ressuspensão dos sedimentos, por causa da forte hidrodinâmica apresentada no período amostral, liberando  $\text{NH}_4^+$  presente na água intersticial da coluna

sedimentar para a coluna d'água e  $\text{SiO}_4^{4-}$  no processo de dissolução dos sedimentos silicosos abundantes nesta região. Sendo assim, o fator 2 pode ser representativo da ressuspensão dos sedimentos e a estação de coleta 3 foi afetada por este fator, por causa do seu alto valor positivo.

#### 4.7.2 Período do Inverno (fundo)

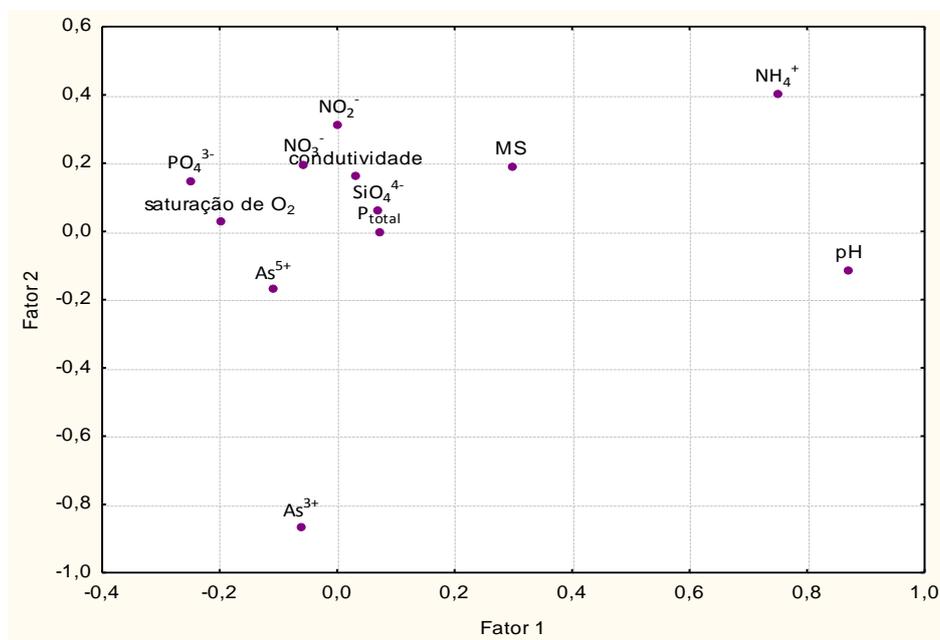
A Tabela 7 mostra o resultado dos quatro primeiros fatores extraídos pelo método da ACP, utilizando o método de rotação Varimax Normalizada.

**Tabela 7** - Principais fatores extraídos a partir dos dados brutos do fundo da coluna d'água no período do inverno pelo método ACP.

Variáveis	Fator 1	Fator 2	Fator 3	Fator 4
Condutividade	0,032616	0,160560	<b>0,677799</b>	-0,398463
pH	<b>0,871074</b>	-0,112527	-0,044559	-0,065814
saturação de O <sub>2</sub>	-0,199473	0,031354	<b>-0,739697</b>	-0,007172
MS	0,296875	0,192228	0,015786	0,001826
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	<b>0,748813</b>	0,401202	0,078660	0,231812
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	-0,249522	0,148564	-0,002501	-0,090390
P <sub>total</sub>	0,071635	-0,000401	0,055959	-0,165582
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0,002320	0,310216	-0,002344	0,298716
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-0,057368	0,196981	0,055350	<b>-0,936864</b>
SiO <sub>4</sub> <sup>4-</sup>	0,069790	0,060656	0,160272	0,024585
As <sup>3+</sup>	-0,061196	<b>-0,864325</b>	0,131682	0,298853
As <sup>5+</sup>	-0,109038	-0,169535	<b>0,900857</b>	0,034798
% da variância explicada	22,36624	19,21157	16,40073	14,10182

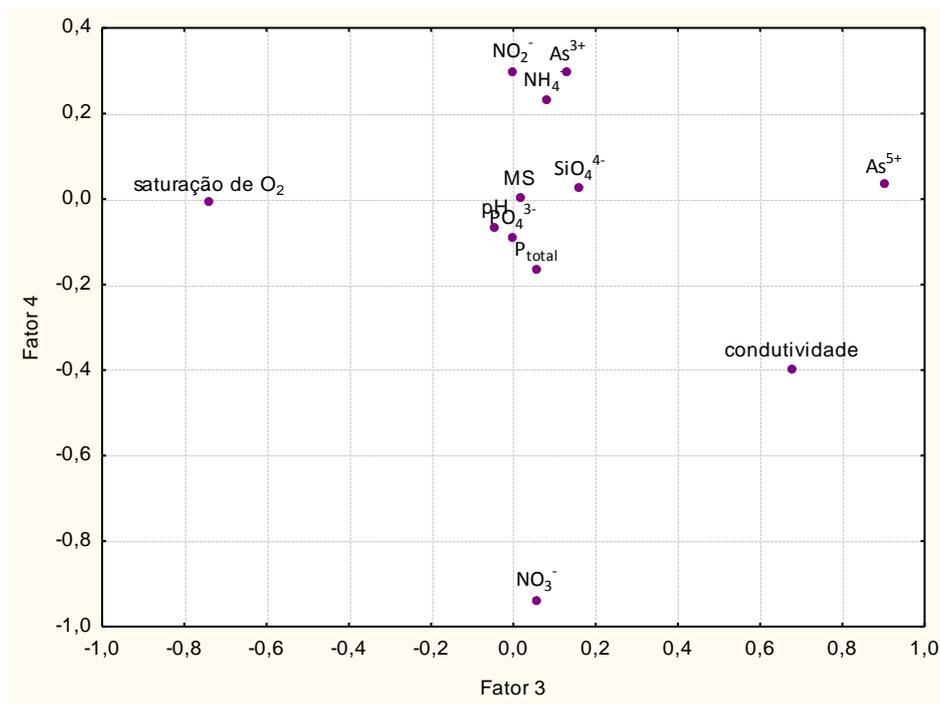
O fator 1 foi derivado do maior autovalor (2,68; Anexo D.1) e teve uma explicação de 22,36% (Tabela 7), sendo o mais importante neste estudo. As variáveis que mais contribuíram neste fator foram o pH e NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, por causa das altas cargas positivas (0,87; p>0,05) e (0,74; p>0,05). O fator 2 foi responsável pela explicação de 19,21% e foi representado apenas pela variável As<sup>3+</sup> (-0,86; p>0,05). A Figura 23

mostra o gráfico dos dois primeiros fatores com as 12 variáveis para uma melhor compreensão.



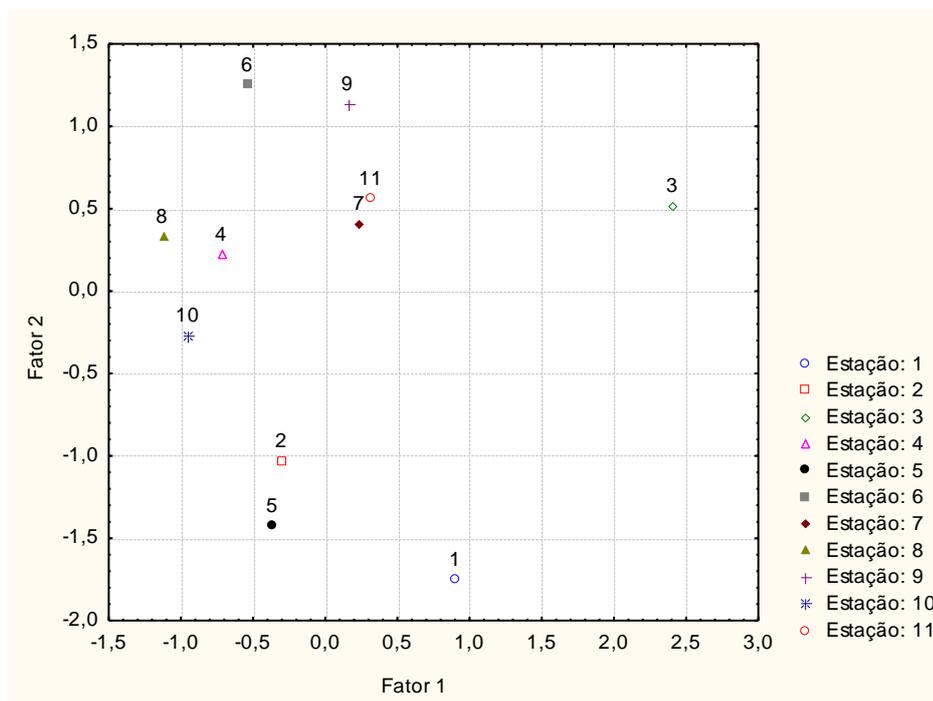
**Figura 23** - Gráfico representando as variáveis em função aos fatores 1 e 2.

O fator 3 apresentou 16,4% de explicação e as variáveis condutividade (0,67;  $p > 0,05$ ), saturação de  $\text{O}_2$  (-0,73;  $p > 0,05$ ) e  $\text{As}^{5+}$  (0,90;  $p > 0,05$ ) foram as variáveis mais significativas neste fator, apresentando cargas positivas altas para as variáveis condutividade e  $\text{As}^{5+}$ . E também, uma carga negativa alta para saturação de  $\text{O}_2$ . Já o fator 4 com 14,10% de explicação foi representado pela variável  $\text{NO}_3^-$ , devido a sua carga negativa alta (-0,93;  $p > 0,05$ ), como mostra a Figura 24.



**Figura 24** - Gráfico representando as variáveis em função aos fatores 3 e 4.

Para melhor interpretar os resultados obtidos, também foi construído o mesmo gráfico para avaliar, quais as estações de coleta da Lagoa dos Patos estavam sendo mais afetadas diretamente pelos principais fatores no fundo da coluna d'água.



**Figura 25** - Representação das 11 estações de coleta em função dos fatores 1 e 2.

Como mencionando anteriormente, o pH e  $\text{NH}_4^+$  foram as variáveis com maior relevância no fator 1. Dessa forma, o fator 1 pode ser representativo da ressuspensão dos sedimentos, pois este fenômeno pode ser responsável pelo aporte deste nutriente para a Lagoa dos Patos. De acordo com o gráfico da Figura 25, os valores para o fator 1 indicam que a estação 3 foi afetada pelo aporte de  $\text{NH}_4^+$ , pois teve um alto valor positivo.

Para o fator 2 a variável  $\text{As}^{3+}$  teve uma carga negativa alta e este fator pode ser representativo da falta de contaminação de  $\text{As}^{3+}$  no estuário. E os valores para o fator 2 indicam que a estação 1 foi influenciada por este fator, pois apresentou alto valor negativo. A estação 1 está situada no interior da Lagoa dos Patos, sendo assim essa estação não é influenciada por nenhuma fonte antropogênica deste metal.

### 4.7.3 Período da primavera (superfície)

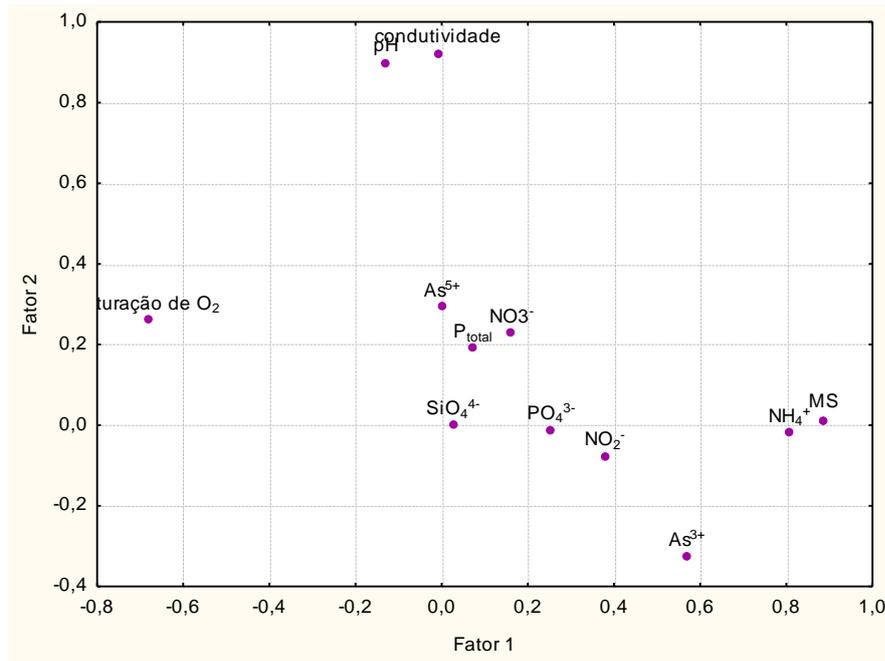
A Tabela 8 refere-se aos resultados obtidos pela rotação Varimax Normalizada dos quatro primeiros fatores extraídos pela ACP. Os valores em negrito são as cargas fatoriais maiores que 0,5 (ignorando sinal) das 12 variáveis para cada fator.

**Tabela 8** - Principais fatores extraídos a partir dos dados brutos da superfície da coluna d'água no período da primavera pelo método ACP.

Variáveis	Fator 1	Fator 2	Fator 3	Fator 4
condutividade	-0,008260	<b>0,918821</b>	-0,021312	0,205578
pH	-0,129719	<b>0,897018</b>	0,292260	-0,213649
saturação de O <sub>2</sub>	<b>-0,680392</b>	0,260658	0,158790	-0,047683
MS	<b>0,887764</b>	0,012859	0,250059	0,081874
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	<b>0,807052</b>	-0,018504	-0,155455	-0,013840
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	0,253810	-0,010888	0,049990	0,126618
P <sub>total</sub>	0,073595	0,190928	<b>0,939125</b>	-0,099887
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0,378239	-0,076303	-0,133032	0,179911
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,161803	0,229766	-0,205689	0,220197
SiO <sub>4</sub> <sup>4-</sup>	0,025969	0,000635	-0,106551	<b>0,923479</b>
As <sup>3+</sup>	<b>0,569454</b>	-0,325106	0,307514	-0,261041
As <sup>5+</sup>	0,000792	0,293957	0,103176	0,215836
% da variância explicada	33,58927	21,60718	15,97405	9,01330

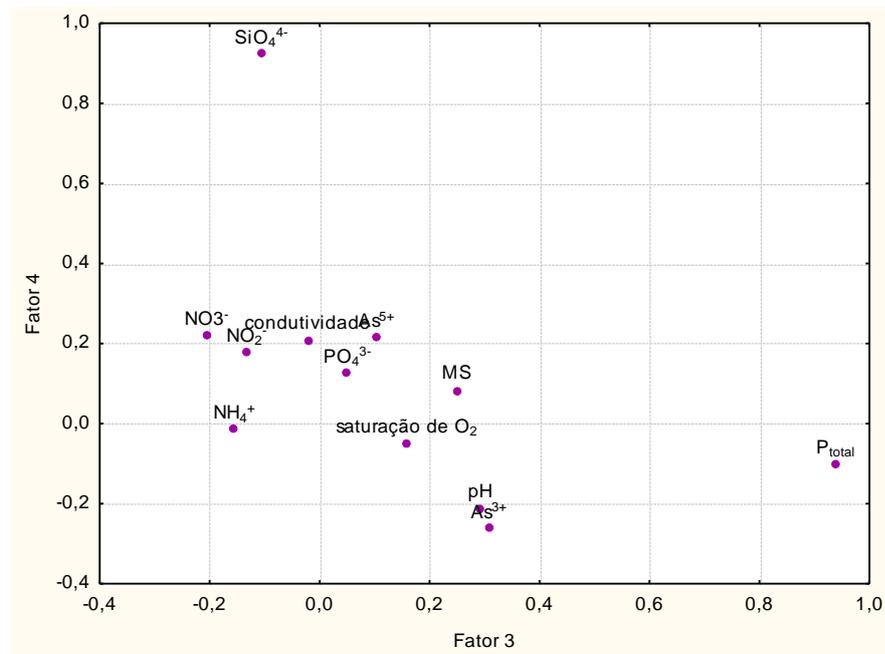
O fator 1 foi originado do maior autovalor (4,03; Anexo E.1) e explicou 33,58% da variabilidade dos dados, sendo portanto o fator mais importante para avaliar o ambiente em estudo. Este fator foi representado pelas variáveis MS, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e As<sup>3+</sup>, pois essas três variáveis apresentaram cargas positivas altas em torno de (0,88; p>0,05), (0,80; p>0,05) e (0,56; p>0,05) respectivamente. E também, pela variável saturação de O<sub>2</sub>, pois teve uma carga negativa (-0,68; p>0,05).

O fator 2 foi responsável por 21,60% da explicação da variabilidade dos dados, sendo representado por apenas duas variáveis: pH e condutividade. Devido ao fato das duas variáveis apresentarem cargas positivas altas em torno de (0,89; p>0,05) e (0,91; p>0,05), respectivamente.



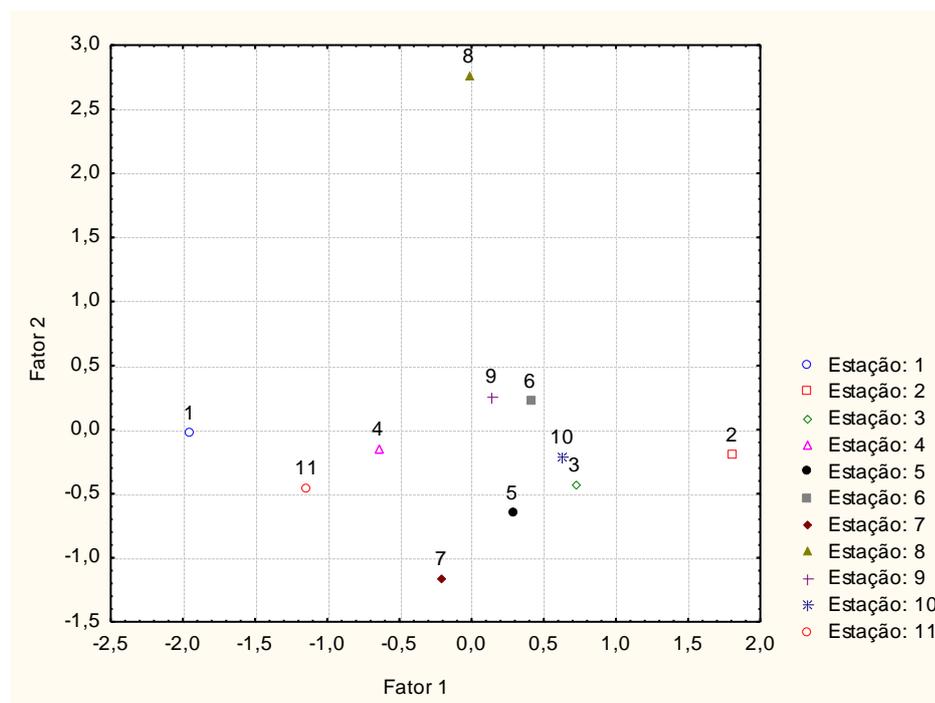
**Figura 26** – Representação das variáveis em relação aos fatores 1 e 2.

O fator 3 foi responsável pela explicação de 15,97% dos dados e representado pela variável P<sub>total</sub> (0,93; p>0,05) e o fator 4 explicou 9,01% dos dados e teve como variável significativa o SiO<sub>4</sub><sup>4-</sup> (0,92; p>0,05).



**Figura 27** – Representação das variáveis em relação aos fatores 3 e 4.

As estações de coleta que foram afetadas pelas variáveis em estudo são apresentadas no gráfico da Figura 28, objetivando avaliar a influência dos fatores sobre as estações de coleta.



**Figura 28** - Gráfico da representação das 11 estações distribuídas ao longo da Lagoa dos Patos.

Como mostrado anteriormente, as variáveis com maior importância no fator 1 foram  $As^{3+}$ , MS,  $NH_4^+$  (com carga positiva) e saturação de  $O_2$  (com carga negativa). Sendo assim, o fator 1 pode ser representativo da ressuspensão dos sedimentos. E a estação que foi afetada por esse fator foi a estação 2, por causa do seu alto valor positivo. Ao contrário, da estação 1 que não foi afetada por este fator, pois apresentou alto valor negativo. A estação de coleta 1 é considerada como ponto controle, pois está localizada em uma região que não sofre nenhuma influência antrópica dos efluentes domésticos e industriais não tratados, que são grandes fontes de  $NH_4^+$  e arsênio, respectivamente. E também, das atividades portuárias do Terminal de carga e descarga de grãos vegetais, por exemplo, os quais podem liberar detritos de matéria orgânica para

as águas, que se depositam junto ao fundo e, quando se degradam contribuem para o aumento da concentração de  $\text{NH}_4^+$  no ambiente em estudo.

O fator 2 teve como variáveis significativas o pH e a condutividade (carga positiva alta), podendo ser representativo da variação de salinidade e a estação 8 foi afetada por esse fator.

#### 4.7.4 Período da primavera (fundo)

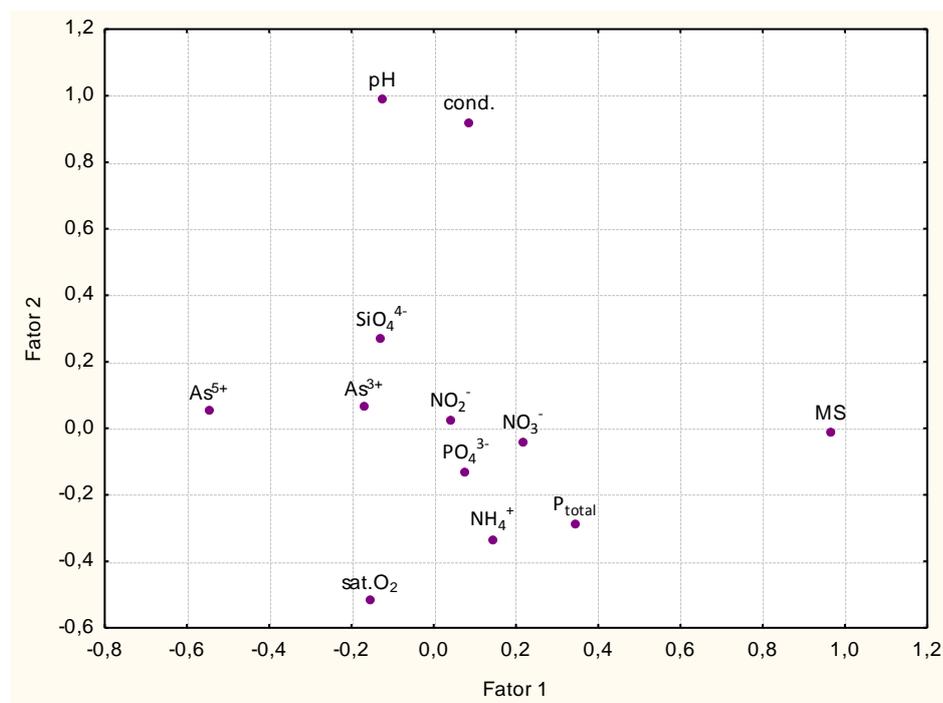
A Tabela 9 refere-se aos resultados dos quatro primeiros fatores extraídos pela ACP com rotação Varimax Normalizada. E a Figura 29, apresenta o gráfico dos dois primeiros fatores gerados pela ACP.

**Tabela 9** - Principais fatores extraídos a partir dos dados brutos do fundo da coluna d'água no período da primavera pelo método ACP.

Variáveis	Fator 1	Fator 2	Fator 3	Fator 4
condutividade	0,087300	<b>0,919169</b>	0,030252	-0,044349
pH	-0,125492	<b>0,987677</b>	0,037251	0,022146
saturação de $\text{O}_2$	-0,155550	<b>-0,515648</b>	-0,469998	0,253288
MS	<b>0,966649</b>	-0,011799	-0,101934	0,169391
$\text{NH}_4^+$	0,141935	-0,334197	0,400483	-0,469586
$\text{PO}_4^{3-}$	0,077225	-0,131660	0,005493	0,133523
$\text{P}_{\text{total}}$	0,343106	-0,287858	0,068642	0,336377
$\text{NO}_2^-$	0,039299	0,024000	0,229125	0,040936
$\text{NO}_3^-$	0,215300	-0,041213	0,105575	<b>0,946171</b>
$\text{SiO}_4^{4-}$	-0,127704	0,267388	0,122260	-0,118978
$\text{As}^{3+}$	-0,170548	0,066597	<b>0,940423</b>	0,090485
$\text{As}^{5+}$	<b>-0,547692</b>	0,053045	0,202003	<b>-0,542629</b>
% da variância explicada	35,28386	18,25808	16,97546	9,26098

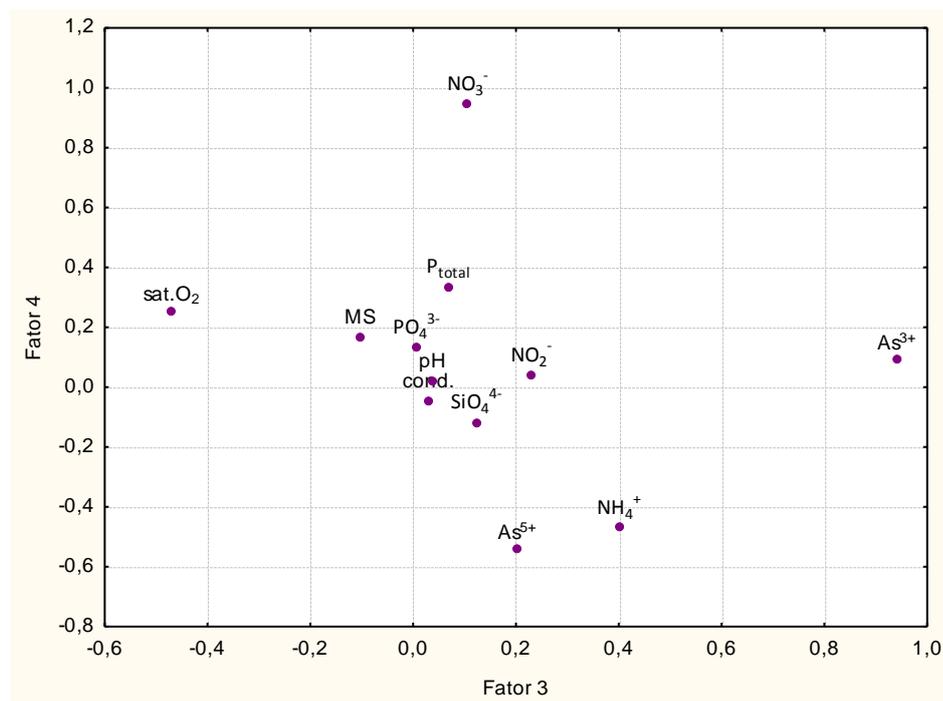
O fator 1 foi responsável pela explicação de 35,28% dos dados e teve a maior porcentagem de explicação da variabilidade dos dados e além disso, foi originado do maior autovalor (4,23; Anexo F.1), sendo assim este fator foi o mais importante neste estudo. Neste fator, as variáveis representativas foram o MS, por causa da sua carga

positiva alta de (0,96;  $p>0,05$ ) e  $As^{5+}$ , devido a sua carga negativa (-0,54;  $p>0,05$ ). O fator 2 foi representado pelas variáveis pH (0,98;  $p>0,05$ ), condutividade (0,91;  $p>0,05$ ) e saturação de  $O_2$  (-0,51;  $p>0,05$ ) explicando 18,25% da variabilidade total dos dados.



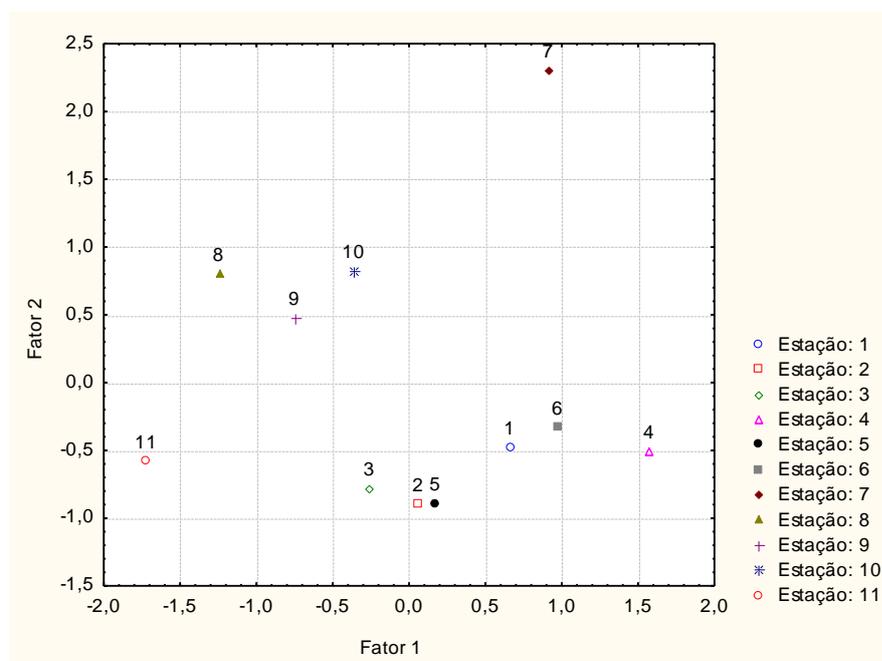
**Figura 29** - Gráfico da representação das variáveis em função dos fatores 1 e 2.

O fator 3 foi explicado pela variável  $As^{3+}$  (0,94;  $p>0,05$ ) com 16,97% da variabilidade do dados e o fator 4 pelas variáveis  $NO_3^-$  (0,94;  $p>0,05$ ) e  $As^{5+}$  (-0,54;  $p>0,05$ ) explicando 9,26% dos dados.



**Figura 30** - Gráfico da representação das variáveis em relação aos fatores 3 e 4.

Com objetivo de avaliar a influência das variáveis representadas pelos principais fatores sobre as estações de coleta foi construído o gráfico da Figura 31.



**Figura 31** - Gráfico da representação das 11 estações de coleta distribuídas na Lagoa dos Patos.

A variável mais importante no fator 1 foi MS e  $As^{5+}$ , porque apresentou uma carga positiva alta e uma carga negativa, respectivamente. Dessa maneira, o fator 1 pode ser representativo do carreamento do material particulado pelo estuário da Lagoa dos Patos. A estação que apresentou alto valor positivo foi a estação 4, sendo assim essa estação foi afetada por este fator. Ao contrário, da estação 11 que não foi afetada pelo fator 1, pois apresentou um alto valor negativo.

No fator 2 as variáveis com maior peso significativo foram o pH e a condutividade, devido a suas cargas positivas altas. Dessa forma, o fator 2 pode ser representativo da variação de salinidade. E a única estação afetada por este fator foi a estação 7.

## 5 CONCLUSÕES

Foi adaptado e otimizado um método analítico para determinar as espécies de arsênio inorgânico em amostras de água. As figuras de mérito demonstraram um método perfeitamente adequado para analisar o ambiente proposto.

Além disso, este estudo evidência a importância da adequação da legislação brasileira em relação à especificação química inorgânica de arsênio para estabelecer valores não apenas para a fração total de arsênio, mas também, para a  $\text{As}^{3+}$  e  $\text{As}^{5+}$  que são as espécies inorgânicas mais tóxicas para o meio ambiente.

A análise de componentes principais utilizada para apresentar e interpretar os dados mostrou ser uma ferramenta estatística de fácil interpretação e adequada no tratamento dos dados. Além disso, os dados tratados estatisticamente revelaram uma interação significativa entre o arsênio e, as variáveis MS e  $\text{NH}_4^+$  na superfície da coluna d'água na primavera.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). TOXICOLOGICAL PROFILE FOR ARSENIC. 2007.

ASSIS, R. A. **Aperfeiçoamento e aplicações de uma metodologia para análise de especiação de arsênio por eletroforese capilar com detector de ICPMS. 2006.** Tese (Doutorado em Química) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

ARMIENTA, M. A. et al. Determinación de arsênico por El método: absorción atômica-generación de hidruros-FIAS. In: LITTER, M.; ARMIENTA, M. A.; FARIAS, S. S. **Metodologías analíticas para La determinación y especiación de arsênico em aguas y suelos.** Buenos Aires, CYTED, oct. 2009, p. 65-78.

ARBAB-ZAVAR, M. H.; HOWARD, A. G. Automated procedure for the determination of soluble arsenic using hydride generation atomic-absorption spectroscopy. **Analyst**, v. 105, p. 744-750, 1980.

BARRA, C. M. et al. Especiação de arsênio – uma revisão. **Química Nova**, v. 23, p. 58-69, 2000.

BAUMGARTEN, M. G. Z.; ROCHA, J. M. B; NIENCHESKI, L. F. H. **Manual de análises em oceanografia química.** Rio Grande: Editora da Furg, 1996. p.126.

BEZERRA, F. A. Análise fatorial. In: CORRAR, L. J.; PAULO, E.; FILHO, J. M. D. **Análise multivariada.** 1. ed. São Paulo: Atlas, 2009.p. 73-130.

BORBA, R. P et al. Estudo da especiação de arsênio inorgânico e determinação de arsênio total no monitoramento ambiental da qualidade de águas subterrâneas. **Química Nova**, v. 32, p. 970-975, 2009.

BORGES, A. R. **Análise da especiação química do cromo em águas naturais e de abastecimento em Rio Grande/RS. 2009.** Dissertação (Mestrado em Química Tecnológica e Ambiental) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2009.

BORGES, E. M.; NARDY, A. J. R.; MALAGUTTI, M. I. A. Determinação de arsênio, antimônio e bismuto em rochas por espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) e geração de hidretos. **Geociências**, v. 24, p. 319-326, 2005.

BRASIL. Portaria n. 518, de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. **Diário Oficial da União. República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 25 mar. 2004. Disponível em: <[www.legis.anvisa.gov.br](http://www.legis.anvisa.gov.br)>. Acessado em: 09 abr. 2011.

BRASIL. 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: <[www.mma.gov.br/conama](http://www.mma.gov.br/conama)>. Acesso em: 13 out. 2010.

BRINDLE, I. D.; LE, X. Prereduction of arsenic (V) to arsenic (III), enhancement of the signal, and reduction of interferences by L-Cysteine in the determination of arsenic by hydride generation. **Analytical Chemistry**, v. 64, p. 667-672, 1992.

BRITO, N. M. et al. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 129-146, 2003.

CABON, J. Y.; CABON, N. Determination of arsenic species in seawater by flow injection hydride generation in situ collection flowed by graphite furnace atomic absorption spectrometry stability of As (III). **Analytica Chimica**, v. 418, p. 19-31, 2000.

CABON, J. Y.; CABON, N. Speciation of major arsenic species in seawater by flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v. 368, p. 484-489, 2000.

CAMPOS, M. L.; BENDO, A.; VIEL, F. C. Métodos de baixo custo para purificação de reagentes e controle da contaminação para a determinação de metais traços em águas naturais. **Química Nova**, vol. 25, p. 808-813, 2002.

CARRERO, P. et al. Determination of various arsenic species by flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry: investigation of the effects of the acid concentration of different reaction media on the generation of arsines. **Analytica Chimica Acta**, v. 438, p. 195-204, 2001.

CHANTHAI, S. et al. Speciation analysis of arsenic (III), arsenic (V) and total arsenic by continuous flow HG-AAS in thai fruit wines and distilled spirits. **ASEAN Food Journal**, v. 14, p. 181-196, 2007.

CHOWDHURY, U. K. et al. Groundwater arsenic contamination in Bangladesh and west Bengal, India. **Environmental Health Perspectives**, v. 108, p. 393-397, 2000.

COELHO, N. M. M.; SILVA, A. C.; SILVA, C. M. Determination of As (III) and total inorganic arsenic by flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 460, p. 227-233, 2002.

FIGUEIREDO, B. R.; BORBA, R. P; ANGÉLICA, R. S.; Arsênio no Brasil e exposição humana. In: SILVA, C. R et al. Geologia médica no Brasil. Rio de Janeiro: CPRM-Serviço geológico do Brasil, 2006, v. , p. 64-70.

FIGUEIREDO, V. et al. Heterogeneidade temporal em curta escala de tempo em uma lagoa costeira tropical espacialmente homogênea (Lagoa Rodrigo de Freitas, RJ). In: VIII Congresso de Ecologia do Brasil; 23-28 set. 2007; Caxambu – MG.

FUNDAÇÃO ESTADUAL DE PROTEÇÃO AMBIENTAL (Rio Grande do Sul). Portaria SSMA n. 7. Norma Técnica 003/95, de 24 de maio de 1995. Enquadramento dos recursos aquáticos da parte sul do estuário da Lagoa dos Patos. **Diário Oficial da União**, Porto Alegre, 24 maio 1995.

GUO, T.; BAASNER, D. L; TSALEV, D. L. Fast automated determination of toxicologically relevant arsenic in urine by flow injection – hydride generation atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 349, p. 313-318, 1997.

HOWARD, A. G.; ARBAB-ZAVAR, M. H. Automated procedure for the determination of soluble arsenic using hydride generation atomic-absorption spectroscopy. **Analyst**, v. 105, p. 744-750, 1980.

HIROSE, K. Chemical speciation of trace metals in seawater: a review. **Analytical Sciences**, v. 22, p. 1055-1060, 2006.

HUNG, D. Q.; NEKRASSOVA, O.; COMPTON, R. G. Analytical methods for inorganic arsenic in water: a review. **Talanta**, v. 64, p. 269-277, 2004.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. DOQ-CGRE-008. Revisão 01: ORIENTAÇÕES SOBRE VALIDAÇÃO DE MÉTODOS DE ENSAIOS QUÍMICOS. 2003.

KOEHLER, P. H. W.; ASMUS, M. L. Gestão ambiental integrada em portos organizados: uma análise baseada no caso do porto de Rio Grande, Rs – Brasil. **Revista da Gestão Costeira Integrada**, v. 10, p. 201-215, 2010.

KRAMER, V. M. S. Indicativos de poluição na bacia do Ribeirão Paranaíba-Paranaíba-PR, um desrespeito ao ambiente. Disponível em:  
<[anais.unicentro.br/epg2009/pdf/trabalho\\_107.pdf](http://anais.unicentro.br/epg2009/pdf/trabalho_107.pdf)>

LEERMAKERS, M. L. et al. Toxic arsenic compounds in environmental samples: speciation and validation. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 25, p. 1-9, 2006.

LEVENT, S.; BECKTAS, S.; Speciation of arsenic by hydride generation – atomic absorption spectrometry (HG-AAS). In: 4<sup>th</sup> AACD Congress; 29-03 set. 2004; Aydin-Kusadasi.

MANLY, B. J. F. Análise de fatores. In: **Métodos estatísticos multivariados – Uma introdução**. 3. ed. Porto Alegre: Bookman, 2008. p. 105-118.

MILANI, I. C. B. **Determinação polarográfica de metais em ambientes do sistema Patos-Mirim**. 2004. Dissertação (Mestrado em Engenharia Oceânica) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2004.

MAZUMDER, D. N., Chronic arsenic toxicity & human health. **Indian Journal of Medical Research**, v. 128, p. 436-447, 2008.

NIENCHESKI, L. F.; MILANI, M. R.; MILANI, I. C. Metais traço: água. In: NETO, J. A. B.; WALLNER-KERSANACH, M.; PATCHINEELAM, S. M. **Poluição Marinha**. 1. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2008. p. 179-195.

PEREIRA, S. F. P et al. Determinação espectrofotométrica do arsênio em solo da cidade de Santana-AP usando o método do dietilditiocarbato de prata (SDDC) modificado. **Acta Amazonica**, v. 39, p. 953-960, 2009.

PORTO DO RIO GRANDE. Disponível em:  
<<http://www.antaq.gov.br/portal/pdf/Portos/RioGrande.pdf>> Acesso em: 25 mar.2011.

QUINÁIA, S. P.; ROLLEMBERG, M. C. Selective reduction of arsenic species by hydride generation – atomic absorption spectrometry. Part 1 – Reduction media. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 8, p. 349-356, 1997.

QUINÁIA, S. P.; ROLLEMBERG, M. C. Selective reduction of arsenic species by hydride generation – atomic absorption spectrometry. Part 2 – Sample storage and arsenic determination in natural waters. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 12, p. 37-41, 2001.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, p. 771-780, 2004.

RIBEIRO, C. M. C. M. **Estabelecimento de uma rotina laboratorial para análise química de sedimentos e sua aplicação a sedimentos continentais do Minho (NW Portugal): contribuição para a reconstituição paleoambiental da região.** 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências do Ambiente) – Universidade do Minho, 2006.

RECOMMENDED ANALYTICAL CONDITIONS AND GENERAL INFORMATION FOR FLOW INJECTION MERCURY/HYDRIDE ANALYSES USING THE PERKINELMER FIAS-100/400. Technical note. Disponível em: <[http://www.perkinelmer.ca/en-CA/CMSResources/Images/44-74841TCH\\_FIASAnalyticalConditions.pdf](http://www.perkinelmer.ca/en-CA/CMSResources/Images/44-74841TCH_FIASAnalyticalConditions.pdf)>

REIS, E. Análise de componentes principais. In: **Estatística multivariada aplicada**. 2. ed. Lisboa: Edições Sílabo, 2001. p. 252-284.

SHRAIM, A.; CHISWELL, B.; OLSZOWY, H. Speciation of arsenic by hydride generation – atomic absorption spectrometry (HG – AAS) in hydrochloric acid reaction medium. **Talanta**, v. 50, p. 1109-1127, 1999.

SIGRIST, M. E.; BELDOMÉNICO, H. R. Determination of inorganic arsenic species by flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry with variable sodium tetrahydroborate concentrations. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 59, p. 1041-1045, 2004.

SKOOG, D. A. **Princípios de análise instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 836p.

SILVA, S. C. **Heterogeneidade especial e a qualidade das águas superficiais do reservatório Guarapiranga (São Paulo-SP-Brasil)**. 2008. Dissertação (Mestre em Ciências, na área de ecologia de ecossistemas terrestres e aquáticos). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008. p. 54.

SZKODA, J.; ZMUDZKI, J.; GRZEBALSKA, A. Determination of arsenic in biological material by hydride generation atomic absorption spectrometry method. **Bulletin of the Veterinary Institute Pulawy**, v. 50, p. 269-272, 2006.

TEMPLETON, D. M. et al. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches. **Pure and Applied Chemistry**, v. 72, p. 1453-1470, 2000.

YAMOTO, M.; YASUDA, M.; YAMOTO, Y. Hydride – generation atomic absorption spectrometry coupled with flow injection analysis, **Analytical Chemistry**, v. 57, p. 1382-1385, 1985.

YERSEL, M. et al. Separation of trace antimony and arsenic prior to hydride generation atomic absorption spectrometric determination. **Analytica Chimica Acta**, v. 534, p. 293-300, 2005.

ZOLOTOV, Y. A. et al. Continuous flow analysis: simultaneous spectrophotometric determinations of metals. **Analytica Chimica Acta**, v. 308, p. 386-396, 1995.

## ANEXOS

**ANEXO A. RESULTADOS DAS CONCENTRAÇÕES DE ARSÊNIO NO ESTUÁRIO DA LAGOA DOS PATOS-RS**

**Tabela A.1** - Especificação de arsênio (concentração em  $\mu\text{g L}$ ) para a coleta de Julho 2010.

Metal	Posição	Est.1	Est.2	Est.3	Est.4	Est.5	Est.6	Est.7	Est.8	Est.9	Est.10	Est.11
As III	Superfície	0,270	0,243	0,226	0,253	0,214	0,250	0,222	0,212	0,218	0,249	0,220
	Fundo	0,259	0,249	0,228	0,252	0,259	0,205	0,223	0,233	0,200	0,228	0,204
As V	Superfície	2,258	2,623	2,302	2,051	1,921	1,604	2,531	2,428	1,636	2,279	2,758
	Fundo	2,045	2,223	1,626	2,108	2,606	2,436	2,586	1,621	2,048	1,402	1,538

**Tabela A.2** - Especificação de arsênio (concentração em  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) para a coleta de Outubro 2010.

Metal	Posição	Est.1	Est.2	Est.3	Est.4	Est.5	Est.6	Est.7	Est.8	Est.9	Est.10	Est.11
As III	Superfície	0,550	0,612	0,579	0,557	0,580	0,583	0,545	0,543	0,536	0,590	0,583
	Fundo	0,546	0,726	0,540	0,542	0,511	0,544	0,599	0,577	0,586	0,565	0,585
As V	Superfície	1,080	1,299	1,331	0,904	0,881	0,934	1,927	2,041	1,262	1,714	1,777
	Fundo	0,802	1,634	1,932	0,975	1,343	0,636	1,367	1,389	1,268	1,682	1,494

## ANEXO B. RESULTADOS BRUTOS DOS DOIS CRUZEIROS SAZONAIS (INVERNO E PRIMAVERA) REALIZADOS NO ESTUÁRIO DA LAGOA DOS PATOS

**Tabela B.1** – Dados brutos das variáveis monitoradas do cruzeiro do Inverno.

Monitoramento Contínuo - julho de 2010

Parâmetro	Unidade	Profundidade	est. 1	est. 2	est. 3	est. 4	est. 5	est. 6	est. 7	est. 8	est. 9	est. 10	est. 11	Referências
Hora		Superfície	13:55	9:15	10:00	14:40	10:15	10:05	13:30	10:30	11:00	10:50	14:20	-
Latitude			31 56,913	32 01,730	32 02,482	32 02,600	32 03,609	32 04,491	32 05,982	32 08,173	32 09,472	32 10 286	32 03,447	-
Longitude			52 04,207	52 05,031	52 04,447	52 02,900	52 04,277	52 05,106	52 06,026	52 06,033	52 05,459	52 05,150	52° 03,260'	-
Temp. água	°C	Superfície	18,8	15,9	15,8	16,2	15,3	15,3	16,2	16,0	15,6	15,9	17,0	-
		Fundo	16,9	15,9	15,4	15,4	15,3	15,2	14,7	15,2	15,5	15,7	15,9	-
Temp. ar	°C		21,1	17,0	17,0	17,0	22,0	17,0	22,0	17,0	17,0	17,0	22,0	-
Direção Vento			NE	-										
Regime Hid.			vazante	-										
Profundidade	m	Superfície	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
		Fundo	14	6	10	9	8	13	17	17	8	16	11	-
Condutividade		Superfície	1,04	0,87	0,20	1,04	0,27	0,89	0,98	1,07	0,35	2,78	0,14	-
		Fundo	0,82	0,87	0,33	1,00	0,26	0,93	23,30	2,74	1,28	0,37	0,15	-
Salinidade		Superfície	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,7	0,0	-
		Fundo	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	18,2	1,7	0,6	0,0	0,0	-
pH		Superfície	7,3	7,3	7,6	7,2	7,3	7,2	7,1	7,4	7,4	7,4	7,9	6,5 a 8,5 *
		Fundo	7,4	7,3	7,6	7,2	7,3	7,2	7,4	7,3	7,3	7,3	7,3	-
Oxigênio	mg/L	Superfície	9,7	9,4	9,8	9,7	9,5	9,8	9,7	9,7	9,8	9,8	9,5	> 5 *, >4**
		Fundo	9,8	9,4	9,6	9,8	9,6	9,9	9,6	9,8	9,8	9,8	9,6	-
Saturação Oxigênio	%	Superfície	103,8	94,9	95,8	98,8	94,9	97,8	98,8	98,8	98,5	99,3	98,0	100 **
		Fundo	99,8	95,0	95,7	98,2	95,4	97,9	94,1	97,7	98,2	99,0	98,0	-
DBO	mg/L	Superfície	0,78	1,70	1,28	0,95	0,34	0,39	0,53	0,79	0,59	0,53	0,50	< 5*
		Fundo	0,75	1,17	0,85	0,66	0,51	0,52	0,59	0,79	0,42	0,65	0,96	-
Mat. Susp.	mg/L	Superfície	102,7	58,7	90,7	34,0	98,0	152,0	105,3	102,7	53,3	64,7	102,7	-
		Fundo	68,0	70,7	110,0	58,7	104,7	84,0	112,0	88,0	74,0	98,0	124,0	-
Turbidez	NTU	Superfície	48,4	41,2	58,3	55,9	61,1	50,7	54,9	55,8	54,3	40,1	55,7	-
		Fundo	48,1	41,2	63,4	54,8	59,9	67,4	45,2	40,1	54,3	40,8	67,6	-
Transparência	cm		50,0	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0	40,0	-
Clorofila a	µg/L	Superfície	27,89	17,13	10,05	8,93	8,50	15,34	11,83	2,13	3,69	11,02	24,92	<30 **
		Fundo	23,43	9,32	0,40	7,46	6,80	11,79	2,12	0,83	2,80	8,04	21,95	Classe 2
Nit. Amoniacal	µM de N	Superfície	2,70	3,00	5,00	2,30	3,70	3,93	3,40	3,07	2,53	2,27	3,37	< 5 ****
		Fundo	2,37	3,17	5,17	2,73	3,27	3,10	3,10	2,47	4,00	2,23	3,87	(ou 0,7mg/L)
Fosfato	µM de P	Superfície	0,38	0,42	0,16	0,29	0,16	0,22	0,27	0,39	0,34	0,24	0,46	< 1 ***
		Fundo	0,28	0,31	0,14	0,25	0,32	0,48	0,21	0,23	0,27	0,20	0,48	-
Fósforo Total	mg/L	Superfície	0,075	0,153	0,089	0,094	0,094	0,081	0,082	0,091	0,102	0,102	0,096	0,186 **
		Fundo	0,084	0,144	0,097	0,091	0,082	0,104	0,069	0,085	0,102	0,068	0,095	-
N/P		Superfície	22,5	23,0	60,5	22,6	65,8	45,5	30,0	22,4	19,4	29,0	19,8	10 a 16****
		Fundo	25,7	30,4	62,2	23,0	17,1	18,4	42,7	31,4	32,8	34,0	18,9	-
Nitrito	µM de N	Superfície	0,33	0,56	0,55	0,45	0,47	0,53	0,68	0,43	0,44	0,38	0,56	-
		Fundo	0,45	0,45	0,53	0,47	0,69	0,61	0,44	0,47	0,81	0,52	0,56	-
Nitrito	µM de N	Superfície	5,40	6,06	4,10	3,92	6,58	5,74	3,93	5,17	3,71	4,25	5,16	<10 a 15***
		Fundo	4,45	5,78	3,12	2,62	1,47	5,04	5,52	4,16	4,03	4,21	4,58	(ou 0,7mg/L)
Silicato	µM de Si	Superfície	103,7	89,0	120,8	91,2	120,6	101,7	88,0	109,5	73,6	115,0	106,2	< 150 ***
		Fundo	102,5	70,4	91,4	57,2	118,2	109,8	102,2	115,0	109,5	73,6	82,6	-

\* FEPAM, Classe C água salobra (1995)

\*\*\* Aminot & Chaussepied (1983)

\*\* = CONAMA nº 357, Classe 2 água salobra (2005)

\*\*\*\* = Day et al. (1986)

**Tabela B.2** – Dados brutos das variáveis monitoradas do cruzeiro da Primavera.

## Monitoramento contínuo - outubro de 2010

Parâmetro	Unidade	Profundidade	est.1	est. 2	est. 3	est. 4	est. 5	est. 6	est. 7	est. 8	est. 9	est. 10	est. 11	Referências
Hora		Superfície	14:30	8:45	9:00	13:40	9:14	11:14	9:39	10:00	10:32	10:18	11:33	-
Latitude			31 56,913	32 01,730	32 02,482	32 02,600	32 03,609	32 04,491	32 05,982	32 08,173	32 09,472	32 10 286	32 03,447'	-
Longitude			52 04,207	52 05,031	52 04,447	52 02,900	52 04,277	52 05,106	52 06,026	52 06,033	52 05,459	52 05,150	52° 03,260'	-
Temp. água	°C	Superfície	20,0	20,2	19,8	19,5	19,7	19,4	19,5	19,7	19,6	19,8	19,7	-
		Fundo	19,8	20,2	19,4	19,3	19,6	19,4	17,2	19,0	19,4	17,8	19,6	-
Temp. ar	°C		20,0	19,5	19,5	19,5	19,0	20,5	21,0	22,0	21,0	21,5	20,5	-
Direção Vento			E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	-
Regime Hid.			Vazante	-										
Profundidade	m	Superfície	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-
		Fundo	12,0	6,0	11,0	10,0	8,0	12,0	17,0	16,0	8,0	15,0	12,0	-
Condutividade		Superfície	0,77	0,39	0,17	0,78	0,17	0,99	0,10	112,20	0,42	0,33	0,10	-
		Fundo	0,72	0,41	0,11	0,81	0,14	0,86	36,00	10,31	3,46	25,10	0,10	-
Salinidade		Superfície	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-
		Fundo	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	27,3	6,7	2,0	18,0	0,0	-
pH		Superfície	6,4	6,2	6,1	6,4	6,1	6,4	5,9	7,3	6,5	6,7	6,5	6,5 a 8,5 *
		Fundo	6,5	6,3	6,3	6,4	6,2	6,5	7,9	7,2	7,1	7,3	6,6	-
Oxigênio	mg/L	Superfície	9,2	8,3	8,8	9,2	8,8	9,2	9,3	9,3	9,3	9,3	9,2	> 5 *, >4**
		Fundo	9,2	8,5	9,0	9,3	9,0	9,3	8,6	9,1	9,2	9,0	9,2	-
Saturação Oxigênio	%	Superfície	101,1	91,5	96,3	100,1	96,7	10,0	101,2	101,7	101,3	101,2	101,0	100 **
		Fundo	101,2	93,0	97,9	100,4	97,7	100,3	90,9	98,9	99,6	95,2	101,1	-
DBO	mg/L	Superfície	2,00	1,29	0,80	2,08	1,95	2,01	1,50	2,21	2,20	2,37	2,09	< 5*
		Fundo	2,36	1,22	0,68	2,33	1,58	2,52	0,81	2,40	2,13	1,75	1,45	-
Mat. Susp.	mg/L	Superfície	29,2	104,0	78,0	32,0	55,0	52,5	57,3	62,7	62,5	94,2	40,0	-
		Fundo	198,5	123,0	86,2	269,2	167,5	230,0	220,7	50,5	58,5	59,2	15,3	-
Turbidez	NTU	Superfície	51,0	92,0	54,6	49,6	57,9	49,2	55,2	54,2	55,2	54,7	57,6	-
		Fundo	51,4	95,8	61,9	50,7	57,0	69,6	18,6	46,5	56,1	28,7	59,8	-
Transparência	cm		40	30	30	40	30	40	40	40	40	40	40	-
Clorofila a	µg/L	Superfície	11,47	1,81	6,25	4,69	6,33	1,77	3,50	4,23	2,80	7,50	7,44	<30 **
		Fundo	1,05	0,17	0,00	0,43	0,83	0,00	0,00	0,28	0,49	0,00	0,00	Classe 2
Nit. Amoniacal	µM de N	Superfície	0,27	5,47	3,61	2,66	2,66	2,71	1,76	2,35	1,01	1,60	1,19	< 5 ****
		Fundo	3,09	6,39	8,15	2,71	2,30	2,94	3,45	2,07	1,99	1,81	1,92	(ou 0,7mg/L)
Fosfato	µM de P	Superfície	0,76	1,19	0,48	0,74	0,56	0,53	0,66	0,66	0,67	0,67	0,69	< 1 ***
		Fundo	0,94	0,72	0,77	0,63	0,69	0,72	0,79	0,61	0,84	0,49	0,77	-
Fósforo Total	mg/L	Superfície	0,079	0,073	0,062	0,076	0,066	0,076	0,064	0,080	0,066	0,118	0,069	0,186 **
		Fundo	0,088	0,077	0,058	0,080	0,073	0,085	0,063	0,083	0,072	0,051	0,063	-
N/P		Superfície	6,7	9,6	19,8	10,3	16,1	14,2	11,0	13,3	8,1	9,5	10,2	10 a 16****
		Fundo	9,7	17,0	15,7	13,4	11,1	12,9	11,9	11,9	8,3	13,3	10,9	-
Nitrito	µM de N	Superfície	0,48	0,61	0,76	0,28	0,35	0,33	0,36	0,39	0,30	0,33	0,31	-
		Fundo	0,36	0,55	0,33	0,43	0,54	0,27	0,53	0,35	0,41	0,34	0,46	-
Nitrato	µM de N	Superfície	4,36	5,32	5,10	4,72	6,05	4,55	5,19	6,05	4,12	4,40	5,49	<10 a 15***
		Fundo	5,69	5,27	3,56	5,28	4,73	6,07	5,37	4,87	4,59	4,29	6,00	(ou 0,7mg/L)
Silicato	µM de Si	Superfície	103,5	103,4	63,0	13,9	82,6	22,9	152,5	105,1	28,5	37,8	30,5	< 150 ***
		Fundo	109,5	105,6	121,5	11,9	76,7	18,0	155,2	45,2	31,5	115,4	102,4	-

\* FEPAM, Classe C água salobra (1995)

\*\*\* Aminot &amp; Chaussepied (1983)

\*\* = CONAMA n° 357, Classe 2 água salobra (2005)

\*\*\*\* = Day et al. (1986)

**ANEXO C. TABELA DOS AUTOVALORES PARA O PERÍODO DO INVERNO  
NA SUPERFÍCIE DA COLUNA D'ÁGUA**

**Tabela C.1** - Autovalores e percentual da variância explicada de cada fator para o inverno (superfície da coluna d'água).

Fatores	Autovalores	% da variância explicada	Autovalores acumulados	% da variância explicada acumulada
<b>1</b>	3,339021	<b>27,82517</b>	3,33902	<b>27,8252</b>
<b>2</b>	2,423031	<b>20,19193</b>	5,76205	<b>48,0171</b>
<b>3</b>	1,713950	<b>14,28291</b>	7,47600	<b>62,3000</b>
<b>4</b>	1,415345	<b>11,79455</b>	8,89135	<b>74,0946</b>
<b>5</b>	1,173467	<b>9,77889</b>	10,06481	<b>83,8735</b>
6	0,987088	8,22574	11,05190	92,0992
7	0,523704	4,36420	11,57561	96,4634
8	0,292788	2,43990	11,86839	98,9033
9	0,106116	0,88430	11,97451	99,7876
10	0,025489	0,21241	12,00000	100,0000

**ANEXO D. TABELA DOS AUTOVALORES PARA O PERÍODO DO INVERNO  
NO FUNDO DA COLUNA D'ÁGUA**

**Tabela D.1** - Autovalores e percentual da variância explicada de cada fator para o inverno (fundo da coluna d'água).

Fatores	Autovalores	% da variância explicada	Autovalores acumulados	% da variância explicada acumulada
<b>1</b>	2,683949	<b>22,36624</b>	2,68395	<b>22,3662</b>
<b>2</b>	2,305388	<b>19,21157</b>	4,98934	<b>41,5778</b>
<b>3</b>	1,968087	<b>16,40073</b>	6,95742	<b>57,9785</b>
<b>4</b>	1,692218	<b>14,10182</b>	8,64964	<b>72,0804</b>
<b>5</b>	1,582638	<b>13,18865</b>	10,23228	<b>85,2690</b>
6	0,773777	6,44814	11,00606	91,7171
7	0,590093	4,91744	11,59615	96,6346
8	0,263364	2,19470	11,85952	98,8293
9	0,111359	0,92799	11,97087	99,7573
10	0,029126	0,24272	12,00000	100,0000

**ANEXO E. TABELA DOS AUTOVALORES PARA O PERÍODO DA PRIMAVERA NA SUPERFÍCIE DA COLUNA D'ÁGUA**

**Tabela E.1** - Autovalores e percentual de variância explicada de cada fator para a superfície da coluna d'água na primavera.

Fatores	Autovalores	% da variância explicada	Autovalores acumulados	% da variância explicada acumulada
<b>1</b>	4,030713	<b>33,58927</b>	4,03071	<b>33,5893</b>
<b>2</b>	2,592862	<b>21,60718</b>	6,62357	<b>55,1965</b>
<b>3</b>	1,916886	<b>15,97405</b>	8,54046	<b>71,1705</b>
<b>4</b>	1,081596	<b>9,01330</b>	9,62206	<b>80,1838</b>
5	0,818680	6,82233	10,44074	87,0061
6	0,693708	5,78090	11,13444	92,7870
7	0,391374	3,26145	11,52582	96,0485
8	0,308561	2,57134	11,83438	98,6198
9	0,114403	0,95336	11,94878	99,5732
10	0,051217	0,42681	12,00000	100,0000

**ANEXO F. TABELA DOS AUTOVALORES PARA O PERÍODO DA  
PRIMAVERA NO FUNDO DA COLUNA D'ÁGUA**

**Tabela F.1** - Autovalores e percentual da variância explicada de cada fator para o fundo da coluna d'água na primavera.

Fatores	Autovalores	% da variância explicada	Autovalores acumulados	% da variância explicada acumulada
<b>1</b>	4,234064	<b>35,28386</b>	4,23406	<b>35,2839</b>
<b>2</b>	2,190969	<b>18,25808</b>	6,42503	<b>53,5419</b>
<b>3</b>	2,037055	<b>16,97546</b>	8,46209	<b>70,5174</b>
<b>4</b>	1,111318	<b>9,26098</b>	9,57341	<b>79,7784</b>
5	0,997788	8,31490	10,57119	88,0933
6	0,716979	5,97482	11,28817	94,0681
7	0,428331	3,56943	11,71650	97,6375
8	0,175197	1,45997	11,89170	99,0975
9	0,071063	0,59219	11,96276	99,6897
10	0,037236	0,31030	12,00000	100,0000

**ANEXO G. PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA**

FARIAS, J. F.; MILANI, M. R.; NIENCHESKI, L. F. Estudo da Distribuição de Ferro em um Estuário Subterrâneo. In: Encontro de Química da Região Sul, Curitiba. XVIII Encontro de Química da Região Sul, 2010.