

MÉTODOS ANALÍTICOS PARA AVALIAÇÃO E CONTROLE DE VANÁDIO E COBRE EM ÁGUA DE MAR E EFLUENTES DE REFINARIA DE PETRÓLEO

por

Adriana Santana Queiroz Melo



**Tese apresentada ao Colegiado do Curso de Pós-Graduação em Química como
parte dos requisitos para obtenção do
Grau de Doutor em Ciências.**

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Luís Costa Ferreira

**Salvador-Bahia
Dezembro / 2003**

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Sérgio Luís Costa Ferreira (IQ-UFBA)

Orientador

Prof. Dr. Antônio Celso Spínola Costa (IQ.-UFBA)

Prof^a. Dr^a Vera Lúcia Cândia Souza Santos (IQ- UFBA)

Prof. Dr. José Patrocínio Alves (UFS - SE)

Prof. Dr. Ricardo Erthal Santelli (UFF - RJ)

“Para atingir seu sonho, um guerreiro precisa de uma vontade firme e de uma imensa capacidade de entrega. Contudo, Deus jamais abandona seus filhos - mas Seus desígnios são insondáveis e Ele constrói a estrada com nossos próprios passos”.

Paulo Coelho - Manual do Guerreiro da Luz

Este trabalho é dedicado às minhas filhas Victoria e Nathalia e ao meu marido Paulo, pelos momentos de felicidade juntos. Tudo fica mais fácil quando sabemos que somos amados.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho não teria sentido sem a presença de DEUS em minha vida. Ele é a razão e o começo de tudo. O sentido da vida.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Sérgio Luís Costa Ferreira, conhecido por todos carinhosamente como “Serginho”, que é mais que um professor: é um amigo que tenho orgulho de dividir com todas as pessoas que o conhecem e o admiram como eu.

Agradeço à minha família, a base e o equilíbrio para me manter firme.

Ao meu marido Paulo, minha alma gêmea, que me compreende, me dá apoio e me acalma, muitas vezes só com um gesto ou um olhar.

Aos meus colegas dos laboratórios do Grupo de Pesquisa em Química Analítica, pela amizade e pelas horas de descontração, que dão às nossas vidas momentos especiais.

Em especial à minha amiga Hilda Costa dos Santos, que me deu força para continuar o caminho.

A Marcelo Santiago Fernandes, pela ajuda fundamental nas análises e pela sua amizade e dedicação.

À Joana Amaro, química da PETROBRAS, pela disponibilidade e atenção no envio das amostras de efluentes salinos.

A Cristóvão e Paulo da Coordenação de Pós-graduação, por sempre estarem dispostos a ajudar e aos funcionários da Biblioteca Setorial do Instituto de Química, pela compreensão e atenção dedicada.

À Marília Marta da Cunha Cruz, Luís Geraldo Sena e Hamilton Sacramento, meus colegas de trabalho do Instituto de Criminalística, sempre interessados e dispostos a ajudar.

Ao Diretor do Instituto de Criminalística Afrânio Peixoto do Departamento de Polícia Técnica do Estado da Bahia, e a todos os colegas da Coordenação de Documentoscopia e Perícias Contábeis, pela compreensão e apoio para a finalização deste trabalho.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram de alguma maneira para a solidificação deste trabalho.

Obrigada
Adriana Santana Queiroz Melo

SUMÁRIO

<u>LISTA DE FIGURAS.....</u>	<u>VIII</u>
<u>LISTA DE TABELAS</u>	<u>X</u>
<u>ABREVIATURAS E SIGLAS</u>	<u>XII</u>
<u>RESUMO.....</u>	<u>XIII</u>
<u>ABSTRACT.....</u>	<u>XV</u>
<u>CAPÍTULO I.....</u>	<u>1</u>
<u>INTRODUÇÃO.....</u>	<u>1</u>
1. A Química Analítica e a importância da determinação de metais traços em água de mar	1
<u>CAPÍTULO II.....</u>	<u>3</u>
<u>O ELEMENTO VANÁDIO</u>	<u>3</u>
2.1. Histórico	3
2.2. Ocorrência.....	3
2.3. Essencialidade e toxidez	6
2.4. Bioquímica do Vanádio.....	7
2.5. Vanádio na água de mar	8
<u>CAPÍTULO III.....</u>	<u>11</u>
<u>O ELEMENTO COBRE.....</u>	<u>11</u>

3.1. Histórico	11
3.2. Ocorrência.....	11
3.3. Essencialidade e toxidez.....	12
3.4. Bioquímica do cobre.....	14
3.5. Cobre na água de mar.....	15

CAPÍTULO IV..... 18

O REAGENTE 1-(2-PIRIDILAZO)-2-NAFTOL..... 18

4.1. Histórico	18
----------------------	----

CAPÍTULO V..... 21

ELEMENTOS TRAÇOS EM ÁGUA DE MAR..... 21

5.1. Constituintes da água de mar.....	21
5.2. Principais poluentes do ambiente marinho.....	25
5.3. Metais Pesados.....	26
5.4. Parâmetros a serem considerados na água de mar.....	30
5.4.1. Salinidade	30
5.4.2. pH	31
5.4.3. Temperatura.....	32
5.4.4. Oxigênio dissolvido (OD).....	32

CAPÍTULO VI..... 34

**TÉCNICAS ESPECTROANALÍTICAS PARA DETERMINAÇÃO DE METAIS
TRAÇOS EM ÁGUA DE MAR 34**

6.1. Introdução	34
6.2. Condições para a escolha da técnica analítica	36

6.3. Espectrometria de Absorção Atômica por Chama (FAAS).....	40
6.4. Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos.....	41
6.5. Espectrometria de Absorção Atômica com Vapor Frio (CV).....	42
6.6. Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (GFAAS)	43
6.7. Espectrometria de Emissão Atômica.....	47
6.7.1 Espectrometria de Emissão Ótica com Fonte de Plasma (ICP OES)	47
6.8. Espectrometria de Massa com Fonte de Plasma (ICP-MS)	50
6.9. Determinação de vanádio utilizando técnicas espectroanalíticas.....	54
6.10. Determinação de cobre utilizando técnicas espectroanalíticas	55
6.11. Métodos para redução de interferências de matriz	56
6.11.1. Método de Padrão Interno.....	57
6.11.2. Equivalência de Matriz	58
6.11.3. Método de Adição Padrão.....	58
6.11.4. Diluição	58
6.11.5. Separação da Matriz	59
6.12. Conclusão a respeito das técnicas espectroanalíticas	59
<u>CAPÍTULO VII.....</u>	61
<u>BAÍA DE TODOS OS SANTOS.....</u>	61
7.1. Localização	61
7.2. Exploração Industrial na Região da Baía de Todos os Santos.....	66
<u>CAPÍTULO VIII.....</u>	71
<u>APLICAÇÃO DE PLANEJAMENTOS FATORIAIS E MATRIZ DE DOEHLERT NA OTIMIZAÇÃO DE VARIÁVEIS EXPERIMENTAIS</u>	71
8.1. Introdução	71
8.2. Planejamento multivariado	72
8.3. Descrição de modelos experimentais.....	73

8.4.Planejamentos fatoriais de dois níveis	75
8.5.Planejamento Doehlert.....	75
8.6. Critério de Lagrange.....	79
8.7.Metodologia de Superfície de Resposta (MSR)	79
8.8. Análise de Variância (ANOVA).....	80

CAPÍTULO IX..... 83

PARTE EXPERIMENTAL 83

9.1. Objetivo Geral	83
9.2. Objetivos Específicos	83
9.3. Experimental	84
9.3.1.Instrumentação	84
9.3.2.Reagentes.....	85
9.3.3.Amostras Reais.....	86
9.4.Procedimento Geral	89
9.5.Procedimento usado no planejamento fatorial de dois níveis.....	89
9.6.Procedimentos usados na matriz de Doehlert.....	89
9.7.Validação do método.....	90

CAPÍTULO X..... 91

**DETERMINAÇÃO DAS PROPRIEDADES CINÉTICAS E TERMODINÂMICAS DA
ADSORÇÃO DO COMPLEXO VANÁDIO(IV)- PAN SOBRE O CARVÃO
ATIVADO 91**

10.1. Introdução	91
10.2. Processos nas superfícies sólidas	92
10.3.Procedimento de pré-concentração para os estudos termodinâmicos.....	93
10.4. Estudos de adsorção.....	93
10.4.1.Isotermas de adsorção.....	94

10.5. Estudos termodinâmicos	98
10.6. Estudos Cinéticos.....	100
10.7. Conclusão sobre os estudos termodinâmicos	106

CAPÍTULO XI..... 107

PLANEJAMENTO FATORIAL E OTIMIZAÇÃO DOEHLERT PARA DETERMINAÇÃO DE VANÁDIO EM AMOSTRAS SALINAS 107

11.1. Estudos prévios e definição de fatores para determinação de vanádio	107
11.2. Planejamento Fatorial	107
11.3. Otimização final para o planejamento Doehlert.....	113
11.3.1. Planejamento Doehlert 1- Condições de pH e massa de PAN para a extração de vanádio.....	113
11.3.2. Planejamento Doehlert 2- Condições de massa de carvão ativado e tempo de agitação para extração de vanádio.....	116

CAPÍTULO XII..... 119

PLANEJAMENTO FATORIAL E OTIMIZAÇÃO DOEHLERT PARA DETERMINAÇÃO DE COBRE EM AMOSTRAS SALINAS..... 119

12.1. Estudos prévios e definição de fatores para determinação de cobre	119
12.2. Planejamento Fatorial	119
12.3. Otimização final para o planejamento Doehlert.....	124
12.3.1. Planejamento Doehlert 1- Condições de pH e massa de PAN para a extração de cobre.	124
12.3.2. Planejamento Doehlert 2- Condições de massa de carvão ativado e tempo de agitação para extração de cobre.....	127
12.5. Conclusão sobre o processo de otimização de vanádio e cobre.....	130

CAPÍTULO XIII..... 131

VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO..... 131

13.1. Condições para validação do Método Analítico.....	131
13.1.1. Limites de Detecção e Quantificação.....	131
13.1.2. Precisão	132
13.1.3. Exatidão	133
13.1.4. Efeito de outros íons	135
13.1.5. Robustez	138

CAPÍTULO XIV 145

APLICAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO..... 145

14.1. Aplicação Analítica	145
14.2. Determinação de Vanádio	145
14.2.1. Determinação de Vanádio em amostras de água de mar da orla de Salvador.....	145
14.2.2. Determinação de Vanádio em amostras de água de mar da Baía de Todos os Santos	147
14.2.3. Determinação de Vanádio em amostras de efluentes hídricos	148
14.3. Determinação de Cobre	149
14.3.1. Determinação de Cobre em amostras de água de mar da orla de Salvador.....	149
14.3.2. Determinação de Cobre em amostras de água de mar da Baía de Todos os Santos	151
14.3.3. Determinação de Cobre em amostras de efluentes hídricos.....	151

CONCLUSÕES 153

CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 155

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 156

LISTA DE FIGURAS

Figura 4.1. – Estrutura molecular do 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN).....	19
Figura 4.2. - Estruturas dos complexos formados pelo PAN.	20
Figura 5.1 – Principais espécies em água de mar.....	22
Figura 5.2 - Elementos traços em água de mar.....	24
Figura 7.1. – Mapa da Baía de Todos os Santos	62
Figura 7.2. – Mapa da Profundidade da Baía de Todos os Santos	63
Figura 7.3. – Localidades situadas às margens da Baía de Todos os Santos	64
Figura 7.4. – Foto de satélite da Baía de Todos os Santos.....	65
Figura 7.5 – Refinaria Landulfo Alves de Mataripe – próximo ao ponto 3 da coleta de amostras de água de mar.....	66
Figuras 7.6 (a) e (b) - Terminal Marítimo de Madre de Deus (TEMADRE) – próximo ao ponto 04 da coleta de amostras de água de mar.	67
Figura 8.1. - Desenho Doehlert para duas variáveis com um ponto central gerado pelo simplex 1, 3, 7	76
Figura 10.1. - Isoterma de Langmuir para a adsorção do complexo vanádio(IV)-PAN.....	96
Figura 10.2. - Isoterma de Freundlich para a adsorção do complexo vanádio(IV)-PAN.....	98
Figura 10.3. - Adsorção do complexo vanádio(IV)-PAN em diferentes temperaturas em função do tempo de agitação.	102
Figura 10.4. – Eficiência de Extração do complexo vanádio(IV)-PAN em função do tempo de agitação em minutos (T) em diferentes temperaturas.	103
Figura 10.5. - Variação da constante de adsorção (K_t) em função da temperatura.	104
Figura 11.1. - Gráfico de Pareto dos Efeitos para Extração de Vanádio.	111
Figura 11.2. - Gráfico Cúbico para Extração de Vanádio.	112
Figura 11.3. - Superfície de resposta para extração de vanádio (%).....	115
Figura 11.4. - Superfície de resposta para extração de vanádio (%).....	118
Figura 12.1. - Gráfico de Pareto dos Efeitos para Extração de Cobre.....	122
Figura 12.2. - Gráfico Cúbico para Extração de Cobre.....	123

Figura 12.3. - Superfície de resposta para extração de cobre (%)	126
Figura 12.4. - Superfície de resposta para extração de cobre (%)	129
Figura 13.1. - Gráfico de Pareto demonstrando a significância das variáveis a um nível de 95% de confiança para o estudo da robustez com 10% de modificação na extração de vanádio.	141
Figura 13.2. - Gráfico de Pareto demonstrando a significância das variáveis a um nível de 95% de confiança para o estudo da robustez com 10% de modificação na extração de cobre.....	144

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1. - Trabalhos desenvolvidos para determinação de Vanádio em água de mar	10
Tabela 3.1. - Trabalhos desenvolvidos para determinação de Cobre em água de mar	17
Tabela 5.1. - Concentração média, quantidade total de metais na água de mar e seus prováveis compostos	29
Tabela 6.1. - Limites de detecção para as técnicas Espectrométricas ($\mu\text{g/L}$)	37
Tabela 6.2. – Interferências isobáricas em ICP-MS	52
Tabela 7.1. - Resultados das análises da água do mar da região de Madre Deus	69
Tabela 8.1. - Matriz de Doehlert para duas variáveis e um ponto central com os valores de X_1 e X_2 codificados	77
Tabela 9.1. - Parâmetros operacionais para o Espectrômetro de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente acoplado (ICP OES).....	84
Tabela 9.3. - Amostras de água de mar coletadas na região da Baía de Todos os Santos.....	88
Tabela 9.4. - Amostras de efluentes hídricos coletadas na Refinaria Landolfo Alves de Mataripe (RLAM).....	88
Tabela 10.1. - Propriedades termodinâmicas do complexo vanádio(IV)-PAN sobre o carvão ativado.....	100
Tabela 10.2. - Valores das constantes da taxa de adsorção.....	102
Tabela 10.3. - Constante da taxa de dessorção,	105
Tabela 11.1. - Fatores e níveis usados no planejamento fatorial para extração de vanádio e cobre.....	107
Tabela 11.2. - Planejamento da matriz e resultados para extração de vanádio (%).	109
Tabela 11.4. - Matriz de Doehlert para o planejamento1	114
Tabela 11.5. - Matriz de Doehlert para planejamento 2	117
Tabela 12.1. - Planejamento da matriz e resultados para extração de cobre (%).	120

Tabela 12.3. - Matriz de Doehlert para planejamento 1	125
Tabela 12.4. - Matriz de Doehlert para planejamento 2 (cobre).....	128
Tabela 12.5. - Fatores e níveis usados no planejamento fatorial para extração de vanádio e cobre e condições recomendadas após a otimização.	130
Tabela 13.1. - Determinação de vanádio em amostras certificadas e reais (n=3)	134
Tabela 13.2. - Determinação de cobre em amostras certificadas e reais (n=3)..	135
Tabela 13.4. - Variáveis experimentais e seus níveis para o estudo da robustez com modificação de 10% para extração de vanádio	139
Tabela 13.5. - Resultados da ANOVA para o estudo da robustez com modificação de 10% para extração de vanádio	140
Tabela 13.6. - Resultados do teste de robustez com variação de 10% para determinação de vanádio	141
Tabela 13.7. - Variáveis experimentais e seus níveis para o estudo da robustez com modificação de 10% para extração de cobre.....	142
Tabela 13.8. - Resultados da ANOVA para o estudo da robustez com modificação de 10% para extração de cobre	143
Tabela 13.9. - Resultados do teste de robustez com variação de 10% para determinação de cobre.....	144
Tabela 14.1. - Determinação de vanádio em amostras de água de mar da orla de Salvador (n= 3).....	146
Tabela 14.2. - Determinação de vanádio em amostras de água de mar da Baía de Todos os Santos.	147
Tabela 14.3. - Determinação de vanádio em amostras de efluentes hídricos (n= 3)	148
Tabela 14.4. - Determinação de cobre em amostras de água de mar da orla de Salvador (n= 3).....	150
Tabela 14.5. - Determinação de cobre em amostras de água de mar da Baía de Todos os Santos.	151
Tabela 14.6. - Determinação de cobre em amostras de efluentes hídricos (n= 3).	152

ABREVIATURAS E SIGLAS

PAN	1-(2-piridilazo)-2-naftol
ANP	Agência Nacional de Petróleo
ANOVA	Análise de variância
CSV	Cathodic Stripping Voltammetry (Voltametria de Redissolução Catódica)
FAAS	Flame Absorption Atomic Spectrometry (Espectrometria de Absorção Atômica com Chama)
GFAAS	Graphite Furnace Absorption Atomic Spectrometry (Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite)
ICP OES	Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado)
ICP-MS	Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado)
CV	Cold Vapor (Vapor Frio)
HG	Hidret Geration (Geração de Hidretos)
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
IUPAC	International Union of Pure Applied Chemistry
RLAM	Refinaria Landolfo Alves de Mataripe
TEMADRE	Terminal Marítimo de Madre Deus
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CEPRAM	Conselho Estadual de Meio Ambiente
CRA	Centro de Recursos Ambientais

RESUMO

No presente trabalho, foi proposto um protocolo analítico para pré-concentração e determinação de vanádio e cobre em água de mar, tendo como ferramenta a Quimiometria, através da aplicação de planejamento multivariado e otimização das variáveis por matriz de Doehlert, utilizando Espectrometria de Emissão Ótica por Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES) como técnica de medida. O procedimento é baseado na extração em fase sólida de complexos de íons vanádio (IV) e cobre (II) com PAN (1-2-(piridilazo)-2-naftol), utilizando carvão ativado como fase sólida. Quatro variáveis (massa de PAN, pH, massa de carvão ativado e tempo de agitação) foram consideradas como fatores na otimização. Os resultados do planejamento fatorial para extração de vanádio, baseada na análise de variância (ANOVA) demonstraram que os fatores pH e massa de carvão ativado e a interação (pH X massa de carvão ativado) são estatisticamente significativos. Para cobre, a ANOVA revelou que os fatores massa de PAN, pH e massa de carvão ativado, bem como suas interações (massa de PAN X pH) e (pH x massa de carvão ativado) são estatisticamente significativos. Os planejamentos Doehlert foram aplicados para determinar as condições ótimas de extração. Também foram estudadas as propriedades termodinâmicas do complexo vanádio (IV) – PAN sobre o carvão ativado, onde os resultados observados sugerem que o processo de sorção sobre a fase sólida é favorável nas condições estabelecidas.

O procedimento proposto permitiu a determinação de vanádio e cobre com fator de pré-concentração de 80, limites de detecção de ($3\sigma/S$) de 73 e 94 ng L⁻¹, e uma precisão calculada com desvio padrão relativo (RSD) de 1,22 % e 1,37 % para concentração de vanádio e cobre de 12,50 µg L⁻¹, respectivamente. A recuperação para determinação de vanádio e cobre na presença de vários cátions demonstrou que este procedimento é adequado para análise em água de mar. O procedimento foi avaliado através de alguns parâmetros, como por exemplo, a medida da exatidão através da determinação de vanádio e cobre em amostras certificadas de água de mar (CASS-4), folhas de maçãs (NIST 1515) e folhas de pêssegos (NIST 1547), demonstrando recuperações entre 92.4% e 105%. O

procedimento foi aplicado na determinação de vanádio e cobre em amostras de água de mar superficiais da costa de Salvador, região da Baía de Todos os Santos e efluentes salinos da Refinaria Landolfo Alves de Mataripe (RLAM), demonstrando coerência com outros dados encontrados na literatura.

ABSTRACT

In the present paper a procedure for preconcentration and determination of vanadium and copper in seawater using Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) was proposed. It was based on solid phase extraction of vanadium(V) and copper(II) ions as PAN complexes by active carbon. The optimization process was carried out using two-level full factorials and Doehlert matrix designs. Four variables (PAN mass, pH, active carbon mass and shaking time) were regarded as factors in the optimization. Results of the two-level full factorial design 2^4 with 16 runs for vanadium extraction, based on the variance analysis (ANOVA) demonstrated that the factors, pH and active carbon mass besides the interaction (pH x active carbon mass) are statistically significant. For copper, the (ANOVA) revealed that the factors PAN mass, pH and active carbon mass and the interactions (PAN mass x pH) and (pH x active carbon mass) are statistically significant. Doehlert designs were applied in order to determine the optimum conditions for extraction.

The proposed procedure allowed determination of vanadium and copper with detection limit ($3\sigma/S$) of 73 and 94 ng L⁻¹, and a precision, calculated as relative standard deviation (RSD) of 1.22 and 1.37 % for concentration of vanadium and copper of 12.50 µg L⁻¹, respectively. The preconcentration factor is 80. The recovery achieved for determination of vanadium and copper in presence of several cations demonstrated that this procedure improved required selectivity for seawater analysis. The procedure was available for some parameters like, the accuracy for vanadium and copper determination in certificated seawater samples (CASS-4), apples leaves (NIST 1515) and peach leaves (NIST 1547), demonstrated recuperations among 92.4% e 105%. This procedure was applied for determination of vanadium and copper in seawater samples collected in sea-shore Salvador City, Todos os Santos Bay and salines effluents samples of Refinery Landulfo Alves of Mataripe. Results showed good agreement with other reported data from literature.

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

1. A Química Analítica e a importância da determinação de metais traços em água de mar

A toxidez de espécies químicas é um problema que preocupa todas as comunidades, incluindo cientistas, ecologistas e órgãos de regulamentação. O aumento da industrialização vem trazendo conseqüências graves, devido ao aparecimento de contaminantes no ambiente. Quando se trata de ambiente marinho, atualmente, a principal preocupação mundial está focada nas águas costeiras. Entretanto, a maior parte da poluição marinha tem origem em terra e incluem os subprodutos da indústria, águas contaminadas com pesticidas, herbicidas agrícolas e metais pesados e os efluentes urbanos, substâncias que entram no mar por diversas maneiras: através dos rios, das chuvas e dos ventos. Não importa o tamanho da chaminé ou a sua distância do mar, 70 % de tudo o que é emitido na atmosfera retorna diretamente aos oceanos. Estes poluentes interferem no ciclo biogeoquímico marinho e causam efeitos, muitas vezes acumulativos, dependendo da espécie e sua capacidade de degradação.

Além da adição de poluentes, existe também a necessidade de entendimento dos processos bioquímicos que ocorrem nos oceanos. Como exemplo, ainda pouco se sabe sobre os ciclos marinhos que envolvem alguns elementos traços, qual a sua função e importância nas reações e como se distribuem neste ambiente tão complexo. Um dos motivos pelo qual isto ocorre é porque este estudo é realizado com base no efeito de uma única espécie em situações controladas. Ainda se tem pouco entendimento a respeito das

interações existentes entre mais de uma espécie química e suas influências sobre o ciclo marinho e os organismos vivos.

A Química Analítica torna-se então uma ferramenta indispensável na análise, determinação de espécies químicas e avaliação dos resultados obtidos, através de protocolos e técnicas analíticas adequadas, desenvolvidas para atender uma determinada finalidade, com o objetivo de serem obtidos subsídios para o entendimento de questões ainda não elucidadas. Aliada à Química Analítica, a Quimiometria, que trata da utilização de sistemas estatísticos aplicados à Química, vem ganhando espaço para dar mais eficiência aos procedimentos analíticos.

CAPÍTULO II

O ELEMENTO VANÁDIO

2.1. Histórico

Em 1801, foi anunciada a descoberta de um novo metal, o ainda não conhecido elemento 23, chamado então de “erythronium”, encontrado em um mineral de chumbo no México por Andrés Manuel del Rio. Entretanto, quatro anos mais tarde, H. V. Collett-Desotils, examinando o mineral, relatou que o “erythronium” era, na realidade, cromato de chumbo, e a idéia de um novo elemento foi descartada ^[1].

Em 1830, o sueco Gabriel Sefström descreveu um novo elemento encontrado em um minério de ferro em Taberg (Suécia). Por causa da sua beleza e variedade de cores, deu o nome de “vanadium”, em homenagem a Vanadis, deusa escandinava da juventude e da beleza. Um ano mais tarde F. Wohler estabeleceu uma identidade entre o “erythronium” e o “vanadium”, constatando se tratar do mesmo elemento ^[2].

Em 1867, o metal foi isolado pela primeira vez por Henry Enfield Roscoe, por redução do cloreto de vanádio (VCl_2) com hidrogênio gasoso, no qual em 1870 foi corretamente colocado no quinto grupo da tabela periódica.

2.2. Ocorrência

O vanádio possui configuração $[Ar] 3d^3 4s^2$, de número atômico 23 e massa atômica $50,9415 \text{ g.mol}^{-1}$, é o décimo nono elemento mais abundante da crosta terrestre, em peso, e o quinto mais abundante dos elementos de transição ^[3].

Encontra-se distribuído em grande variedade de rochas, mas não tende a concentrar-se e formar depósitos como metal principal. Boa parte deste metal é obtida como subproduto de outros, como por exemplo, a ocorrência em minérios de chumbo como a vanadita $PbCl_2 \cdot 3Pb_3(VO_4)_2$, em minérios de urânio como a carnotita, $K_2(UO_2)_2(VO_4) \cdot 3H_2O$, e em alguns petróleos da Venezuela, Canadá e México. A maior parte do vanádio produzido no mundo é extraída de escórias de minérios de ferro ou de outros produtos intermediários.

O metal vanádio dificilmente é usado puro, pois é difícil de se preparar, porque nas elevadas temperaturas necessárias para a sua metalurgia, reage com O_2 , N_2 e C. O vanádio puro pode ser obtido com a redução de VCl_2 com H_2 ou Mg ou reduzindo V_2O_5 com cálcio ^[3].

O vanádio apresenta estados de oxidação de (+II) a (+V). O íon vanádio é um redutor nos estados (+II) e (+III), é estável no estado (+IV) e ligeiramente oxidante no estado (+V).

O vanádio possui cor prateada e elevado ponto de fusão (ponto de fusão mais alto da primeira série de metais de transição), é moderadamente mole e dúctil, é extremamente resistente à corrosão, por causa da formação de uma película superficial de óxido. Dissolve-se em ácidos oxidantes, como H_2SO_4 concentrado e quente, HNO_3 e água-régia. O vanádio não é afetado por álcalis, mostrando que é tipicamente básico.

Os íons V^{+2} e V^{+3} existem tanto no estado sólido como em solução, como hexaidratados. O estado de oxidação (+IV) é dominado pelo íon VO^{+2} . Este é muito estável e existe numa grande variedade de compostos, tanto sólidos como em solução (como íon hidratado).

O V_2O_5 é anfótero, embora seja geralmente ácido. Dissolve-se ligeiramente em água, formando uma solução ácida de cor amarelo pálida. Dissolve-se rapidamente em NaOH, formando uma solução incolor, que contém uma variedade de íons vanadato. O íon formado depende do pH. Em valores intermediários de pH, formam-se vários isopolivanadatos, e em pH elevado o ortovanadato, VO_4^{-3} . A química dos polivanadatos em solução aquosa é bastante

complexa. O V_2O_5 também se dissolve ligeiramente em H_2SO_4 concentrado, formando o íon vanadila amarelo pálido VO_2^+ .

Na indústria, o vanádio é importante como componente da liga ferro-vanádio, que participa da fabricação de aços, na qual esta combinação confere propriedades mecânicas e de resistência. O V_2O_5 é extremamente importante como catalisador na conversão de SO_2 em SO_3 no processo de contato para a fabricação de H_2SO_4 ^[4], pois substituiu a Pt como catalisador, por ser mais barato e menos suscetível ao envenenamento por impurezas. O vanádio é um importante catalisador em reações de oxidação, na transformação de naftaleno em ácido ftálico ou de tolueno em benzaldeído. Uma liga de Cu/V é usada como catalisador na oxidação de misturas ciclohexanol/ciclohexanona a ácido adípico, no qual é empregado na fabricação do nylon-66. O vanádio também é utilizado como catalisador para redução (hidrogenação) de alcenos e hidrocarbonetos aromáticos, na indústria de corantes, como mordente e na fabricação de anilina negra.

O vanádio também é um subproduto do petróleo, possuindo caráter corrosivo quando fundido no interior das câmaras de combustão dos sistemas que utilizam aquecimento, como fornos e caldeiras. A formação do pentóxido de vanádio (V_2O_5) ocorre da oxidação do V_2O_3 e V_2O_4 . O ponto de fusão do V_2O_3 e do V_2O_4 é extremamente alto, aproximadamente $1700^\circ C$, temperatura que não é atingida no interior das câmaras de combustão, impossibilitando a fusão desses óxidos. Entretanto, o ponto de fusão do V_2O_5 é $670^\circ C$, temperatura que é atingida no interior da fornalha das caldeiras e fornos, fundindo esse material, tendo-se, assim, o início do processo de corrosão.

A Agência Nacional de Petróleo (ANP), estabeleceu através da Portaria nº 80, de 30 de abril de 1999, a concentração máxima de vanádio de 200 mg/Kg ^[5], presente em óleos combustíveis comercializados em todo o território nacional, de origem nacional ou importados, obtidos do refino do petróleo ou através da mistura de destilados pesados com óleos residuais da refinaria. Este limite de concentração visa prevenir a formação de depósitos por incrustação nas

superfícies externas de tubos aquecidos, os quais causam a corrosão e a perda da eficiência térmica dos equipamentos.

Vanádio é um elemento relativamente abundante nos alimentos. É comumente encontrado no leite, frutos do mar, cereais e vegetais. Possui afinidade por óleos e gorduras. Níveis acima de 43 ppm de vanádio são encontrados nos óleos como milho, oliva e soja. A necessidade diária de vanádio no corpo humano é cerca de 25µg/100g. A água potável deve conter aproximadamente 1,0 – 6,0 µg.L⁻¹ de vanádio [4,6]. O ar urbano contém vanádio, devido ao uso de derivados do petróleo e à proximidade de refinarias nas grandes cidades.

2.3. Essencialidade e toxidez

Existem estudos que sugerem a utilidade do vanádio em vários sistemas biológicos. Em mamíferos este metal pode acelerar a mineralização dos ossos e exercer um efeito anticárie, além de se mostrar um bom inibidor da síntese do colesterol, da incidência de doenças cardiovasculares e auxiliar na cura da tuberculose [4].

Vanádio é um elemento traço essencial para plantas e animais que estimula a síntese de clorofila e promove o crescimento de animais jovens. O vanádio mostrou-se ser um elemento essencial quando foi testado em frangos, onde, na ausência deste metal, apresentaram distúrbios de crescimento nas pernas. Foi também testado em ratos, nos quais melhoraram as funções reprodutoras e o crescimento, quando administrado nas rações. Além disso, vários sais de vanádio têm sido utilizados como anti-sépticos, contra a tuberculose e como agentes no combate à anemia [1].

O vanádio pode ser tido como essencial nos microorganismos *Aspergillus niger* e a alga verde *Scenedesmus obliquus* no processo da fotossíntese [4]. O vanádio também possui habilidade para substituir o molibdênio como catalisador na fixação de nitrogênio nas azobactérias.

Este metal também demonstra ser essencial como constituinte do sangue e em enzimas de uma espécie de alga *Ascophyllum nodosum* (alga marinha de cor marrom). As enzimas são capazes de transferir halogênios em sua forma iônica para moléculas orgânicas [7].

A contaminação excessiva do vanádio se dá principalmente no trato respiratório após a exposição por inalação. Os efeitos causados pela exposição excessiva são: irritação nos olhos e trato respiratório, lesões e descoloração da pele. Estudos realizados em ratos expostos a $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$ de V_2O_5 , confirmaram a possibilidade de efeitos pulmonares severos em animais [4]. Para o tratamento da intoxicação por vanádio, recomenda-se o uso de vitamina C ou do etilenodiaminotetracetato de cálcio.

Embora haja alguns estudos a respeito da toxidez do vanádio, ainda há pouca informação a respeito do seu comportamento e seus efeitos bioacumulativos. Por esta razão, é necessária uma maior investigação sobre a ocorrência e a distribuição deste metal no ambiente.

2.4. Bioquímica do Vanádio

Certos vertebrados possuem grande capacidade em armazenar vanádio em seu sangue, como por exemplo, a ascidia *Phallusia mammilata*, que possui concentração de vanádio acima de 1.900 ppm, que representa mais de um milhão de vezes a concentração de vanádio em água de mar. A *Ascidia nigra* tem um acúmulo de 1,45 % V (14.500 ppm) em suas células do sangue. Acredita-se que a *ascidia* acumula íons vanadato e polivanadato em lugar do fosfato e polifosfatos [2].

Muitos dos elementos traços concentrados pelos organismos marinhos são essenciais para o seu crescimento como ferro, manganês, cobre, cobalto, zinco, molibdênio e vanádio. Os sítios dos elementos traços parecem estar em superfícies das mucosas dos animais marinhos, como glândulas digestivas ou quelras. Elas contêm macromoléculas como glico-proteínas que possui habilidade em formar fortes quelatos com metais de transição e assim remover esses metais facilmente da água de mar. Muitos organismos, particularmente “filtradores de

alimentos”, são hábeis em satisfazerem suas necessidades de metais traços, complexando os metais adsorvidos presentes sobre o material marinho particulado. A habilidade de organismos para concentrar elementos traços específicos pode estar associada à presença de moléculas de glicoproteínas, possuindo poderes quelantes específicos.

2.5. Vanádio na água de mar

Na água do mar o vanádio encontra-se principalmente no estado de oxidação (+V). As formas predominantes são HVO_4^{-2} , H_2VO_4^- e o complexo NaHVO_4^- [8]. A concentração de vanádio na água de mar está em torno de 1,0 - 3,0 $\mu\text{g.L}^{-1}$ [9,10].

A queima do petróleo faz com que grandes quantidades de vanádio penetrem na atmosfera. Na superfície de mar aberto têm-se encontrado maiores concentrações de vanádio do que abaixo da superfície da água, comprovando a presença de vanádio proveniente do ar. Isto é devido à contaminação da atmosfera por óleos ou processo de acumulação natural do filme aquático da superfície [11]. Pesquisas foram realizadas em relação à concentração de vanádio, utilizando-o como “rastreador” da poluição provocada por petróleo entre as costas do Caribe e Panamá. Foram desenvolvidos estudos cronológicos, baseados no crescimento de determinados corais, onde pode ser observado que após o ano de 1962, com o início da operação de refino de petróleo, houve o aumento da concentração de vanádio na água de mar [12].

O vanádio na água de mar é conhecido por ter altos fatores de acumulação por alguns organismos marinhos. Geralmente pequenos organismos concentram elementos traços mais fortemente que outros. O poder para concentrar um determinado elemento ou grupo de elementos é muitas vezes atribuído a uma família de organismos de uma espécie em particular [13]. O vanádio é concentrado por certas *ascídias (ascídias ceratides)* que possuem o complexo vanádio-fosfirina como um pigmento do sangue. Alguns indivíduos do *Molgula manhattensis*, membros da mesma família, também concentram vanádio.

Em geral, metais de transição d^{10} estão concentrados nos órgãos renais e digestivos e, em menor quantidade, no coração, músculos, gônadas e conchas [1]. O vanádio na forma dissolvida, presente na água de mar além de ser transportado para alguns organismos aquáticos, também é adsorvido pelo hidróxido de ferro [14].

Pesquisas foram realizadas a respeito da concentração de vanádio nos mexilhões e algas tipo *Ascophyllum nodosum*, a fim de realizar investigações sobre a importância do vanádio nestas espécies [6]. Estudos também foram realizados com relação à adsorção do vanádio (V) nas algas *Scenedesmus obliquus*, que, segundo Jie [15], seu entendimento ainda não ficou totalmente estabelecido. Neste estudo, observou-se que a adsorção de vanádio pela alga é maior na presença de zinco.

O vanádio dissolvido existente na água de mar também é proveniente dos rios e estuários. A quantidade de vanádio dos rios, por sua vez, é oriunda de rochas de silicatos, existindo, portanto uma correlação entre V/Si [16].

A especiação do vanádio na água de mar também é importante para o esclarecimento de alguns aspectos nutricionais e toxicológicos que ocorrem em relação à forma em que metal está participando dos ciclos bioquímicos e acumulativos no ambiente marinho, sua mobilidade e disponibilidade [17, 18]. Diferentes formas de vanádio como os íons vanadato VO_4^{-3} e vanadila VO_2^+ , presentes em meios alcalinos e ácidos, respectivamente, na forma de vanádio (+V) e íons VO^{+2} , como vanádio (+IV), que é estável em meio ácido e é facilmente oxidado a vanádio (+V) em soluções alcalinas, possuem diferentes ações fisiológicas e de toxidez. Em uma faixa de pH de 2 - 6, as principais espécies são íons decavanadatos de cor laranja, que podem existir em várias formas protonadas [19]. O vanádio (+V) é mais ativo do que os outros íons e é também o que possui efeitos tóxicos mais severos, podendo causar várias doenças, como a degradação do DNA e mudanças nas proteínas do sangue [20]. Diferentes fatores afetam a distribuição de vanádio entre estes dois estados de oxidação, como por exemplo, a presença de matéria orgânica e a acidez do meio. O vanádio (V) pode ser reduzido a vanádio (IV) por vários agentes como ascorbato e cisteína. Em pH abaixo de 2,4, o vanádio (IV) é estável na presença de oxigênio [21].

Na literatura, dentre alguns trabalhos para determinação de vanádio em água de mar, Das ^[22] realizou uma revisão a respeito da importância de metais traços no ambiente marinho, comprovando que o vanádio está entre os metais traços menos investigados, dentre 26 elementos estudados. A tabela 2.1, lista alguns métodos desenvolvidos para a determinação de vanádio em água de mar.

Tabela 2.1. - Trabalhos desenvolvidos para determinação de Vanádio em água de mar

Concentração de Vanádio ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Local	Técnica	Referência bibliográfica
2,08 \pm 0,05	Costa da França	ICP OES	21
0,9 \pm 0,1	Santa Catarina/Brasil	ICP-MS	23
1,02 – 1,74*	Bacia de Campos RJ/Brasil	ICP-MS	24
1,27 \pm 0,04	Irlanda	CSV	25
1,99 \pm 0,03	França	ICP OES	26
1,62 \pm 0,03	Espanha	Espectrofotometria Molecular	18

* Faixa de concentração de vanádio em três níveis de profundidade

Obs: Não há registros da concentração limite estabelecida, para vanádio em água de mar, pela Resolução CONAMA nº 20 de 18 de junho de 1986 ^[27].

CAPÍTULO III

O ELEMENTO COBRE

3.1. Histórico

O cobre é um metal conhecido e utilizado desde a antiguidade. No norte do Iraque foram encontrados objetos de cobre datados de 8.500 A.C.^[28]. Por ser facilmente acessível, era utilizado na manufatura de ferramentas e utensílios em geral. O cobre foi um dos metais utilizados na antiguidade como moeda no Egito por volta de 3400 A.C., bem como nas artes e arquitetura, e em torno de 3000 A.C. a liga de estanho e cobre passou a ser utilizada na Índia, Grécia e Mesopotâmia, estabelecendo então a “Idade do Bronze”. No entanto, foram os romanos que mais utilizaram o metal como adornos e armas de guerra.

Atualmente, o cobre é usado na indústria elétrica por causa de sua elevada condutividade e em tubulações de água por causa de sua inércia química. É ainda empregado em ligas, radiadores de automóveis e na cunhagem de moedas sob a forma de bronze.

3.2. Ocorrência

O cobre é classificado no grupo 11 da tabela periódica, com número atômico 29 e massa atômica $63,546 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, possuindo configuração $[\text{Ar}] 3d^{10}4s^1$.

O cobre é obtido em larga escala, sendo o vigésimo quinto elemento mais abundante, em peso, da crosta terrestre. O minério mais comum é a calcopirita CuFeS_2 (é estimada em cerca de 50% de todo o cobre). Outros minérios são o

sulfeto Cu_2S , calcocita, de cor cinza escura, carbonato básico de cobre $\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$, chamado de malaquita, de cor verde, óxido cuproso Cu_2O , chamado de cuprita, de cor vermelha e o Cu_5FeSO_4 , a malaquita $\text{Cu}_2\text{CO}_3(\text{OH})_2$, bornita (mistura de cores incandescentes azul, vermelho, castanho e púrpura). A turquesa $\text{CuAl}_6(\text{PO}_4)_4(\text{OH})_8 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ é uma pedra semipreciosa de coloração azul [1].

O cobre possui estados de oxidação (+I), (+II) e (+III), sendo que o único íon hidratado é o Cu^{+2} na forma de hexa-aquocomplexo. O íon monovalente Cu^+ sofre desproporcionamento em água e, em consequência só existe em compostos sólidos insolúveis ou em complexos. O Cu^{+3} é um oxidante tão forte que consegue oxidar a água. Assim só ocorre quando estabilizado como complexos ou como compostos insolúveis [3].

Poucos óxidos de cobre podem ser reduzidos diretamente para o metal através de aquecimento com coque, mas a maior produção é através de minérios de sulfetos contendo ferro, sendo o tratamento mais complicado.

3.3. Essencialidade e toxidez

Por volta do século XIX, o cobre era tido somente como um metal tóxico, não havendo ainda estudos sólidos com relação a sua essencialidade e função nos organismos vivos.

Experimentos realizados em ratos demonstraram uma tendência teratogênica (formação de anormalidade) do cobre. O metal, quando injetado em doses relativamente altas em *hamsters* com oito dias de gestação, causou aumento de absorção pelo embrião, desenvolvimento de anormalidades e deformações no coração [4].

No reino vegetal, o cobre foi primeiramente identificado em 1816, em cinzas de plantas, por C. F. Bucholz e em 1817 por Meissner [1, 4]. Em animais, Sarzeau identificou a presença de cobre em sangue de boi, em 1830. Mas esses resultados foram interpretados como sendo decorrentes de contaminação do solo, de reagentes e materiais utilizados.

Em 1850, F. J. Malaguti e colaboradores detectaram a presença de cobre em várias espécies de *Fucus*, algas de cor castanha encontradas nas costas do Atlântico, Pacífico e Mar do Norte. Em 1865, J. G. Forchhammer anunciou a presença de cobre em sais de cálcio de animais marinhos, nas cinzas de algas e corais e em *Fucus vesiculosus* ^[2].

No entanto, em 1847, E. Harless provou que existia cobre no sangue de moluscos (no polvo *Octopus eledone* e no caracol *Helix pomatia*). Investigou o fenômeno no qual o sangue e tecidos de certos animais marinhos adquirem coloração azul quando expostos ao ar, onde o levou a descoberta de que o plasma sanguíneo destes animais contém cobre combinado com uma proteína. Por causa da analogia com a hemoglobina, que possui habilidade em transportar oxigênio, em 1878 L. Frederiq, ao constatar a presença do cobre na proteína do sangue da *Octopus* (“polvo de sangue azul”), nomeou vulgarmente de hemocianina ^[1]. A hemocianina é o pigmento carreador de oxigênio em um grande número de moluscos. É uma espécie de proteína com massa molecular da ordem de 10^6 , composta de diferentes números de subunidades, cada uma contendo um par de íons cobre, responsável pela coordenação de uma molécula de oxigênio. As formas desoxidadas não possuem cor, enquanto que a formas oxidadas são azuis, de maneira similar como ocorre com a hemoglobina no ser humano.

Embora várias descobertas tenham sido feitas constatando a presença de cobre em tecidos e fluídos, somente a partir do século XX, este metal foi reconhecido como constituinte fisiológico dos organismos vivos e não mais como contaminante. Em 1921 foi anunciada uma grande descoberta: a presença de cobre no cérebro humano por Badansky, onde foi suspeitado que o metal desempenhava um papel de catalisador nos processos bioquímicos, o que atualmente já é fato comprovado. Além disso, já é sabido que o cobre participa no processo de transporte de elétrons, além do oxigênio. O cobre tem importância biológica como agente de transporte de oxigênio em diversas enzimas do grupo das oxidases, em invertebrados e na fotossíntese.

3.4. Bioquímica do cobre

No corpo humano, o cobre está distribuído nos tecidos, ossos, músculos, plasma e soro sanguíneo, saliva, órgãos, dentes e tecidos, comprovando que este elemento encontra-se presente em todo o organismo, caracterizando sua importância funcional.

Um homem adulto possui cerca de 100 mg de cobre. A deficiência de cobre (hipocupremia) resulta em anemia e a incapacidade congênita para excretar cobre, resulta em sua acumulação (hipercupremia) e na chamada doença de Wilson. Nesta doença, o cobre se acumula no fígado e a doença permanece assintomática até quando uma mobilização repentina do cobre provoca sintomas parecidos aos da intoxicação aguda pelo metal acompanhada de uma hepatite crônica que pode levar a cirrose ou necrose maciça do fígado ^[29].

Além da doença de Wilson, existe outro tipo de doença progressiva do cérebro que afeta crianças, e geralmente causa a morte antes dos 3 anos de idade, na qual é caracterizada pelo retardamento no crescimento e desenvolvimento e está associada à hipocupremia profunda, baixo teor de ceruloplasmina e baixas concentrações de cobre que podem ser detectadas no cabelo ^[4].

A ceruloplasmina é uma enzima que contém sete sítios de cobre, encontrada em mamíferos. É uma proteína insubstituível e maior indicador do teor de cobre no organismo, cuja deficiência causa a doença de Wilson. Alguns estudos relacionam esta proteína com o transporte de ferro no sangue, sendo então responsável por certas anemias. Isto pode ser comprovado com o estudo feito em 1928 por E. B. Hart e colaboradores, onde realizaram pesquisas alimentando ratos confinados em estado de anemia progressiva com sais de ferro, não obtendo resultados efetivos. Quando estas mesmas cobaias foram submetidas a uma dieta prévia de sais de cobre, o resultado foi alcançado rapidamente.

Em relação aos alimentos, o cobre está presente nas carnes, nos frutos do mar, vegetais, cereais e nozes. A dieta alimentar deve conter aproximadamente 2

a 5 mg de cobre por dia ^[1], e esta quantidade deve ser eliminada do organismo diariamente para que o equilíbrio fique estabelecido.

3.5. Cobre na água de mar

Na água de mar, o cobre está presente em torno de 0,2 - 4,0 $\mu\text{g.L}^{-1}$ ^[9, 10]. Em altas concentrações se torna tóxico para a maioria dos organismos marinhos que dependem da fotossíntese, prejudicando sua difusão como pigmento. Mas em nível traço o cobre é essencial, participando de ciclos de oxi-redução.

As plantas marinhas necessitam de um número de elementos traços para seu crescimento além de elementos micronutrientes. Isto inclui ferro, manganês, molibdênio, zinco, cobalto, cobre e vanádio. Os ciclos desses elementos têm sido estabelecidos no metabolismo de algas e animais marinhos. Como exemplo, existem estudos sobre a concentração de cobre em lagostas e sua correlação com a água de mar ^[30]. As lagostas, em sua fase adulta, são animais sedentários que se movimentam pouco e permanecem nas bacias e enseadas. Este comportamento ocasiona o acúmulo de metais pesados, pois as lagostas ficam expostas diretamente às reações que ocorrem entre os sedimentos e a água de mar. Logo, o estudo destes tipos de animais pode ser um indicativo de contaminação no seu habitat, sendo o cobre um dos metais presentes em níveis relativamente altos em crustáceos.

Efeitos de interações, como sinergia e antagonismos que ocorrem entre metais, também são estudados. Fargašová ^[31], em um estudo realizado para identificar as interações existentes entre manganês, molibdênio, níquel, cobre (I), cobre (II) e vanádio sobre as algas *Scenedesmus quadricauda*, observou que as combinações binárias dos metais causam um efeito de antagonismo em relação ao crescimento das algas, ou seja, a combinação destes elementos reduz o efeito desfavorável de alguns metais sobre as algas com mais eficiência do que se estivesse na presença de um único metal, favorecendo então seu crescimento. Por outro lado, algumas combinações como: Cu(I)+Ni, Cu(II)+Ni e Mn+Cu(I), causam um efeito de sinergia sobre a produção de clorofila, isto é, a combinação

desses metais aumenta o efeito tóxico desses metais entre si, diminuindo então a produção de clorofila das algas.

O efeito tóxico da combinação entre cobre e alumínio sobre a *Paramelita nigroculus*, uma espécie de crustáceo, também foi avaliado ^[32]. Após exposição a uma determinada concentração de Al e Cu, foi observado que o risco de morte com a adição de cobre aumenta 2,6 vezes, sugerindo que a quantidade de cobre, em dosagens excessivas, pode ser letal para determinadas espécies.

Estudos de especiação do cobre também são importantes para avaliar as influências das várias formas com que este metal se apresenta no meio marinho, sua necessidade como micronutriente e biodisponibilidade em relação a certas espécies ^[33]. Pesquisas revelam que o cobre em sua forma iônica é mais tóxico no ambiente aquático do que suas formas complexadas ^[34]. Sunda e colaboradores, estudaram a toxidez do cobre em forma de íons livres e na presença de um complexante, observando que a sua toxidez é diminuída na presença do reagente orgânico que serve como ligante ^[35, 36].

Em um trabalho de revisão recente, o cobre foi classificado como um dos metais mais tóxicos, dentre Pb, Cd, Zn e Hg ^[22]. A tabela 3.1 mostra alguns trabalhos para determinação de cobre em água de mar. A Resolução CONAMA nº 20 de 18 de junho de 1986 ^[27] estabelece a concentração abaixo de 0,05 mg.L⁻¹ para águas classificadas como classe 5. Apesar de muitos trabalhos realizados para a determinação de cobre, o relatório do ano de 2002, de avaliação da qualidade das águas costeiras superficiais na região da Baía de Todos os Santos, elaborado pelo CRA ^[37], informa a utilização de método para determinação de cobre nos pontos de amostragem estudados, com limites de detecção acima da concentração estabelecida na resolução CONAMA.

Tabela 3.1. - Trabalhos desenvolvidos para determinação de Cobre em água de mar

Concentração de Cobre ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Local	Técnica	Referência bibliográfica
12 – 32*	Rússia	FAAS	38
$0,240 \pm 0,074$	Santa Catarina/Brasil	ICP-MS	23
$<0,090 - 2,75^{**}$	Bacia de Campos RJ/Brasil	ICP-MS	24
0,22 – 1,70	Amostras certificadas	GFAAS	39
$0,05 \pm 0,01$	Japão	ICP OES	40

* Faixa de concentração de cobre em vários pontos do estuário

** Faixa de concentração de cobre em três níveis de profundidade

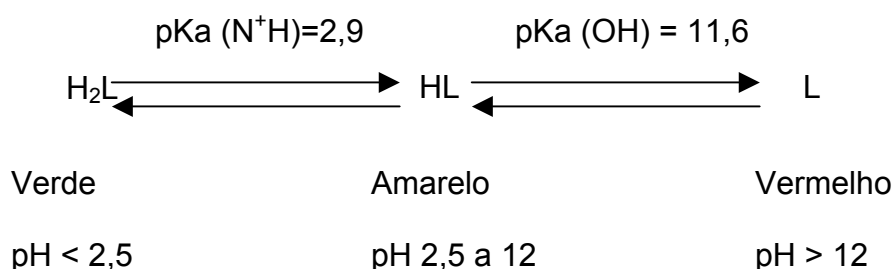
CAPÍTULO IV

O REAGENTE 1-(2-PIRIDILAZO)-2-NAFTOL

4.1. Histórico

Em 1915 e 1918, Tschitschibabin realizou a síntese de alguns compostos α -hidroxil. Liu encontrou dentre estes corantes o 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN), um reagente orgânico que forma quelatos com muitos metais pesados. Daí foram estudadas as possibilidades deste corante para propósitos analíticos ^[41].

O PAN é uma substância amorfa laranja-avermelhada que sublima entre 130-140 °C, muito estável em fase sólida, praticamente insolúvel em água, fracamente solúvel em ácidos fortes, mas solúvel em soluções alcalinas e em uma variedade de solventes orgânicos, nos quais assume comumente uma coloração amarela.



Pode ser preparado pelo acoplamento do 2-naftol com piridil diazotado em álcool absoluto com lenta passagem de dióxido de carbono. O diazotado pode ser preparado pela adição de uma solução de etilato de sódio a uma mistura de 1-aminopiridina e butil nitrito sob refluxo ^[41].

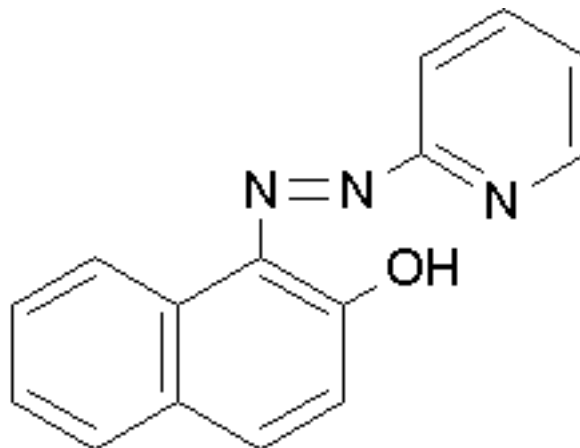
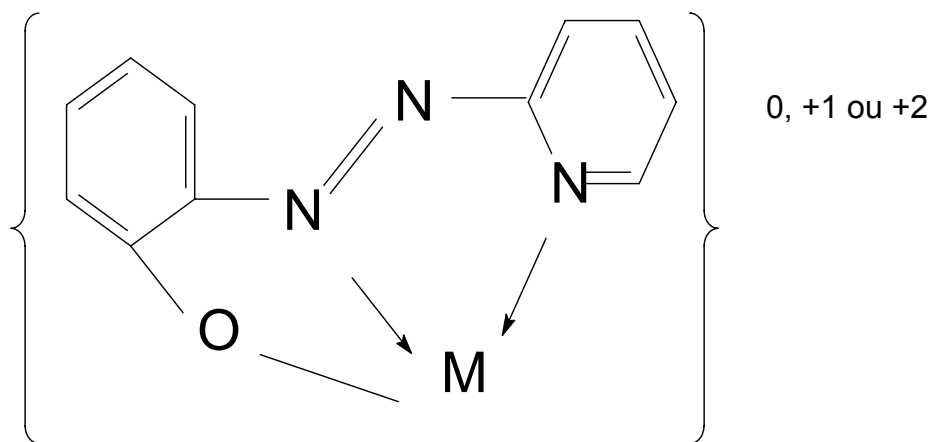


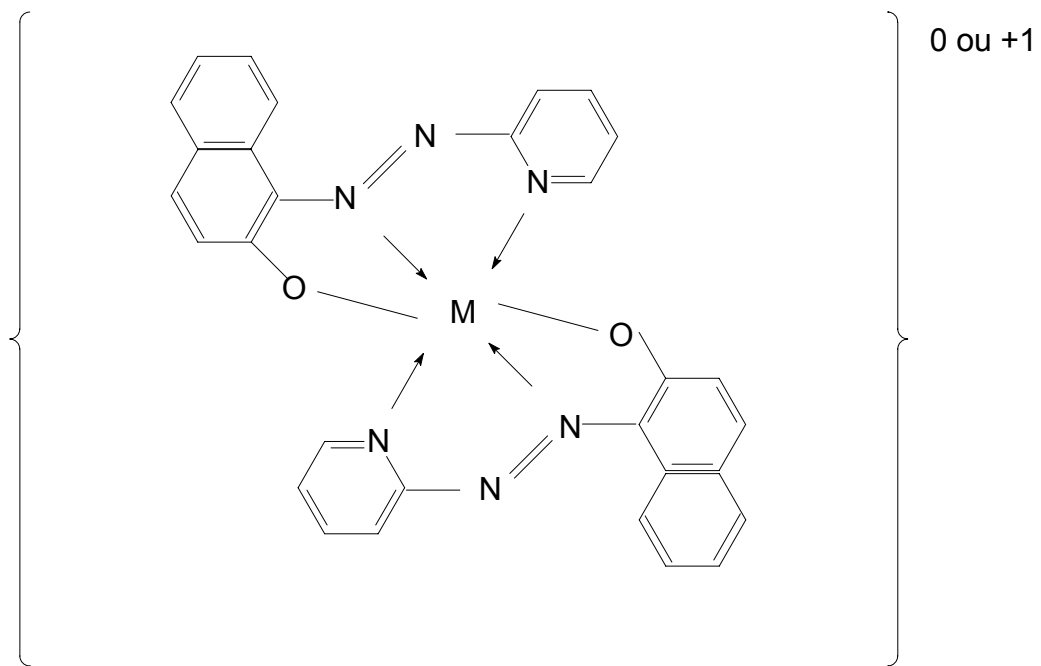
Figura 4.1. – Estrutura molecular do 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN)

O 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN) forma complexos com uma variedade de íons metálicos. Sua estabilidade é fortemente afetada pela acidez. Os íons vanádio (+IV), vanádio (+V) formam complexos com o PAN, assumindo coloração púrpura e os íons cobre(II) também formam complexos de coloração vermelha com este reagente ^[42]. Em procedimentos de pré-concentração, o PAN já foi utilizado várias vezes para diferentes estratégias analíticas de separação como: extração em fase sólida usando coluna de carvão ativado ^[43], sílica gel ^[44, 45], naftaleno ^[46], Amberlite XAD-2000 ^[47], alumina ^[48], Amberlite XAD-2 ^[49, 50], Amberlite XAD-4 ^[51], poliestireno clorometilado ^[52] e também com extração em ponto nuvem ^[53, 54].

O comportamento do PAN é como ligante tridentado para formar complexos do tipo MLX (sendo X um ligante unidentado), com número de coordenação 4, e do tipo ML₂, com número de coordenação 6 (estruturas (a) e (b) da figura 4.2). Em alguns casos, o PAN comporta-se como ligante bidentado para formar complexos com número de coordenação 4.



(a)



(b)

Figura 4.2. - Estruturas dos complexos formados pelo PAN.

CAPÍTULO V

ELEMENTOS TRAÇOS EM ÁGUA DE MAR

5.1. Constituintes da água de mar

A água é a espécie mais abundante, compreendendo 97% da água de mar. O restante consiste de uma solução de sais, gases atmosféricos, traços de matéria orgânica e material particulado. Existem algumas formas de classificação dos constituintes da água de mar na literatura ^[9, 55, 56]. Os constituintes dissolvidos da água de mar podem ser agrupados em duas categorias: principais ou conservativos e componentes traços. Os elementos da água de mar também podem ser classificados de outra maneira: majoritários, minoritários, elementos traços e nutrientes. Cada grupo é vital para o crescimento dos organismos no oceano.

Onze espécies podem ser consideradas como componentes principais ou constituintes majoritários da água de mar: os cátions sódio, potássio, magnésio, cálcio, estrôncio e os ânions: cloreto, sulfato, brometo, carbonato, borato (ácido bórico) e fluoreto com concentrações maiores que 1 mg/kg. Estes principais constituintes dissolvidos formam acima de 99% das espécies iônicas solúveis em água de mar. A concentração dos quatro maiores constituintes (sódio, magnésio, cloreto e sulfato) compreende mais de 95% dos sólidos dissolvidos. A concentração dos menores íons juntos é menor que 2 mg/Kg.

Os elementos chamados de nutrientes são nitrogênio, fósforo e silício. São normalmente encontrados em concentrações maiores que 1 mg/Kg. Eles representam a chave limitante para a produção dos fitoplânctons, menor unidade de ser vivo existente no ambiente marinho.

Além dos elementos já citados, existem os chamados elementos traços. São essenciais para o crescimento de muitos organismos em baixas concentrações, podendo ser tóxicos em níveis mais elevados. Entram no oceano através dos rios, fluxo atmosférico, de forma antropogênica e por convexão hidrotérmica da água do mar por crostas oceânicas em centros de expansão do solo marinho.

De todos os gases atmosféricos dissolvidos, oxigênio e dióxido de carbono provavelmente são os gases mais críticos. O oxigênio serve como elemento essencial no processo metabólico de organismos, como indicador de qualidade da água do ambiente marinho, e como rastreador do movimento das massas de água do fundo dos oceanos ^[10].

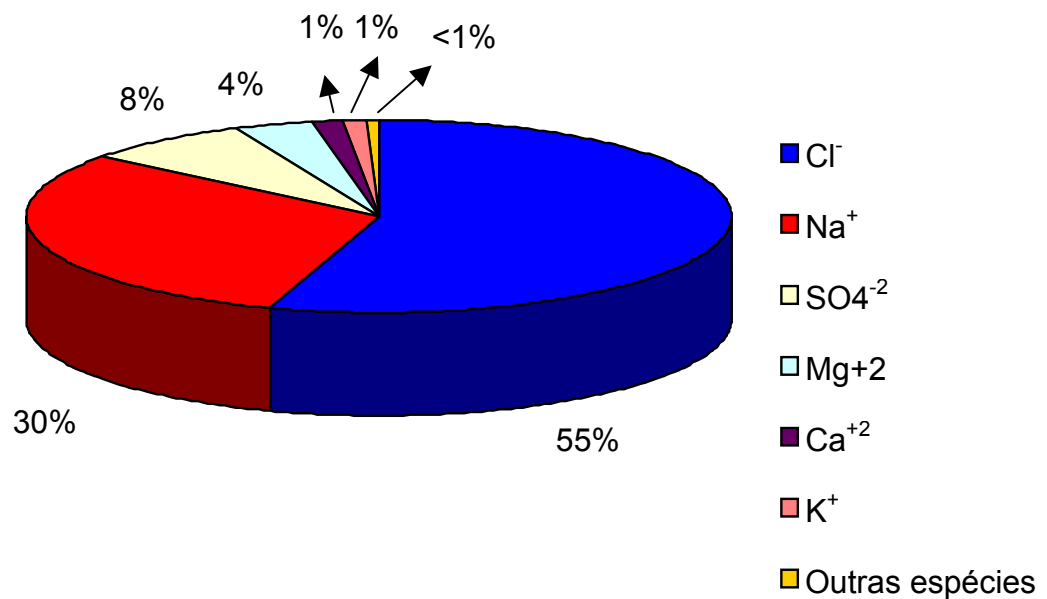


Figura 5.1 – Principais espécies em água de mar

As razões entre os elementos principais são relativamente constantes em todo o oceano e sua concentração muda somente devido à adição ou subtração de água (conceito do conservatismo). Entretanto, é possível caracterizar a composição determinando somente um constituinte que seja facilmente mensurável e seja conservativo em seu comportamento, como por exemplo, a determinação da concentração de cloreto. Através do conhecimento da

concentração de determinados elementos pode-se estabelecer relações de proporcionalidade em relação a outros.

Existem alguns processos que controlam a constituição das principais espécies dissolvidas na água de mar e que são responsáveis por manter a mesma concentração por bilhões de anos. As principais fontes dos sais dissolvidos são:

- ↳ Erupções vulcânicas, produzindo grandes quantidades de gases que alcançam os oceanos, tendo com principais espécies sulfato e cloreto;
- ↳ Reações químicas entre a água e rochas vulcânicas com a ajuda do calor, removendo magnésio e sulfato da água de mar, com a adição de lítio e rubídio;
- ↳ Desgaste das rochas, liberando sódio, cálcio, potássio e magnésio;
- ↳ Reações entre água e sedimento com formação de nódulos de manganês;
- ↳ Remoção de sílica, nitrato, cálcio e carbonato por organismos;
- ↳ Depósitos naturais de sais com remoção de cloreto e sódio (depósitos de evaporitas);

Embora as razões das concentrações dos principais constituintes da água de mar sejam relativamente constantes, alguns de fatores podem causar consideráveis variações regionais em algumas áreas como: estuários, bacias anóxicas, regiões polares e regiões com alta concentração salina (Mar Vermelho).

Por sua vez, os elementos traços podem ser classificados em conservativos (C), reciclados (R) e depositados (D) ^[9]. Segundo alguns estudos, os constituintes conservativos não são influenciados significativamente por processos biológicos e o tempo necessário para as mudanças de concentração devido aos processos químicos e geoquímicos, é muito longo ($>10^5$ anos). Entretanto, sua distribuição é controlada principalmente por processos físicos.

Os elementos reciclados ou nutrientes (Cd e Zn) estão envolvidos em ciclos internos de material particulado e suas concentrações estão esgotadas na superfície da água e aumentam com a profundidade. O tempo de residência está em torno de $10^3 - 10^5$ anos. Os elementos depositados (Al, Co, Pb, Mn) possuem

curto tempo de residência ($< 10^3$ anos) devido às fortes interações com as partículas. Eles possuem concentrações máximas próximos a fontes como rios, deposição atmosférica, ventos hidrotermais e sedimentos e diminui com a distância delas. Alguns elementos possuem comportamento híbrido e são influenciados por processos de nutrição e deposição como Cu e Fe que são esgotados na superfície da água e regenerados na profundidade. No entanto, as concentrações de Cu e Fe aumentam somente gradualmente com a profundidade devido aos efeitos de regeneração e deposição combinados no fundo da água.

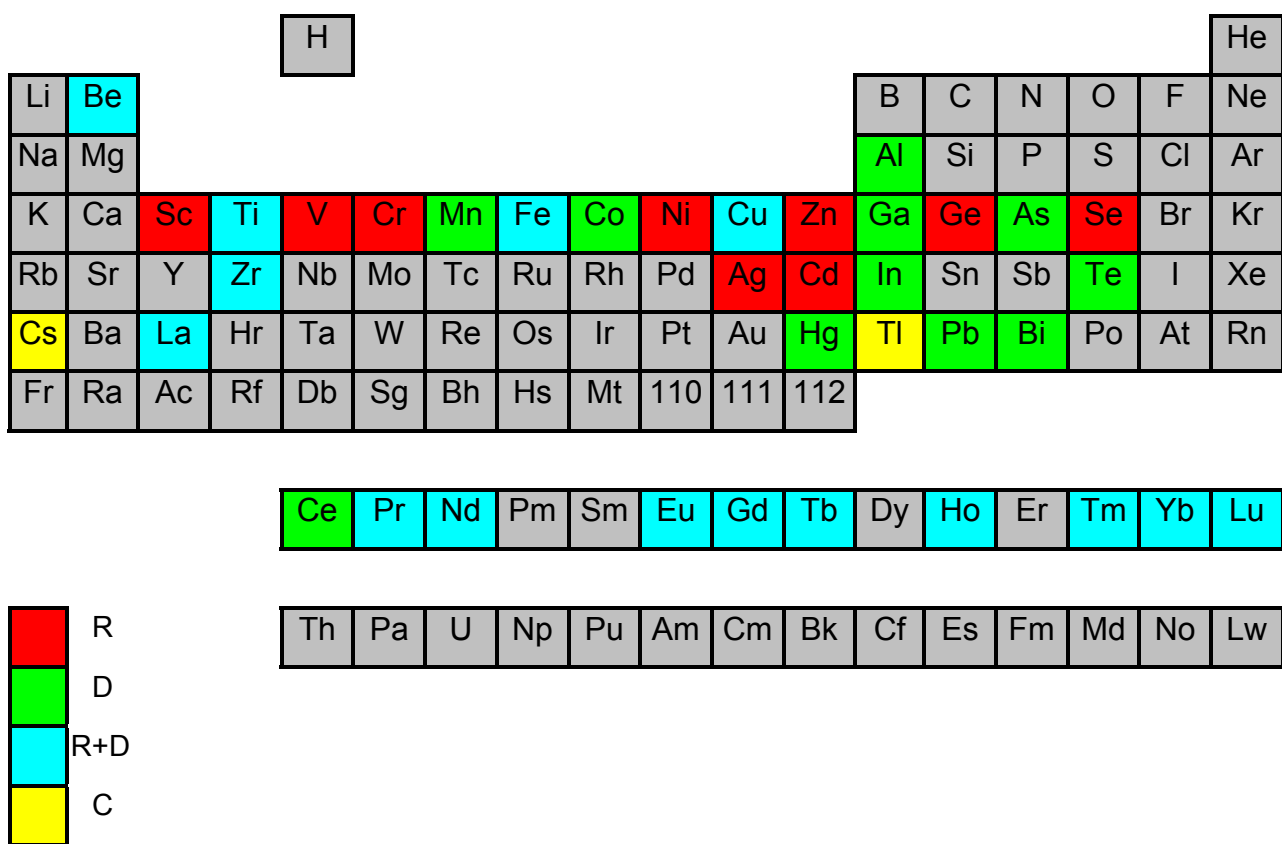


Figura 5.2 - Elementos traços em água de mar

Portanto, os constituintes traços, em sua grande maioria, são afetados por processos físicos, são também influenciados por processos biológicos de excreção e biodegradação. Além disso, reações físico-químicas de troca acontecem em superfícies de partículas orgânicas e litogênicas e em interfaces, tais com ar-mar ou água-sedimento.

Nas últimas décadas vários estudos têm sido desenvolvidos no sentido de se conhecer a distribuição e o comportamento químico dos elementos traços em água de mar. Em contraste com os oceanos, os processos que controlam a distribuição e a concentração de elementos traços nas costas são muito pouco conhecidos, por causa da proximidade dos continentes, pela intensa influência de rios, atmosfera ou sedimentos.

5.2. Principais poluentes do ambiente marinho

Os metais traços são introduzidos no oceano principalmente por meio da queima de combustíveis fósseis e metalúrgicas, onde são mobilizados e carreados pelo mar por transporte atmosférico, correntes continentais e emissários submarinos. A influência antropogênica tem sido muito marcante, principalmente pela adição de metais traços por meio da atmosfera na queima de combustíveis automotores.

As principais fontes poluentes do ambiente marinho são:

- ↳ Esgotos e outros resíduos pobres em oxigênio (principalmente matéria orgânica) que podem levar a anoxia ou hipoxia das águas costeiras pela degradação microbial;
- ↳ Enriquecimento progressivo das águas de estuários e da costa marinha devido à adição de nutrientes orgânicos e inorgânicos em descargas de águas de esgotos;
- ↳ Patogênicos e outros agentes infecciosos muitas vezes associados à água de esgotos;
- ↳ Óleo originado de acidentes de cargueiros e outros derramamentos, operações de rotina durante o transporte e fluxo das chuvas;
- ↳ Metais pesados derivados de uma variedade de atividades antropogênicas como queima de combustíveis fósseis, fundição, transmissão de esgotos, material degradado, tintas, produtos inibidores de corrosão (Cu, Cr e Zn),

emissões de automóveis (Pb), efluentes de refinarias e outros processos industriais;

- ↳ Hidrocarbonetos aromáticos que entram no ecossistema por dejetos e efluentes industriais, derramamento de petróleo, óleo e combustíveis fósseis;
- ↳ Compostos organoclorados usados na agricultura e indústrias;
- ↳ Águas radioativas geradas por minas de urânio e uso de materiais radioativos por indústrias, na medicina e no meio científico;
- ↳ Calefação de águas naturais largamente utilizadas nas descargas de águas de resfriamento condensadas de estações de geração de eletricidade;

5.3. Metais Pesados

Os metais cuja massa atômica excede 20 u.m.a. são chamados metais pesados. Eles são estudados particularmente e com maior atenção, pois grande parte deles é tóxica em concentrações relativamente baixas. Os metais pesados cujo seus ciclos biológicos tem sido afetados pela atividade humana são Cd, Cu, Cr, Hg, Pb, Ni, V e Zn. Alguns metais como Zn, são também micronutrientes e seu efeito tóxico irá depender da concentração e de sua atividade metabólica. Um meio adequado existe quando cada metal está presente em uma quantidade bastante para a vida existir, mas não o suficiente para ser tóxico. Os elementos que possuem efeito estimulante sobre a atividade biológica quando presentes em baixas concentrações são denominados elementos essenciais. Os elementos não essenciais, tais como Hg, não exercem efeito estimulante e em baixas concentrações provoca efeito tóxico.

Alguns fatores influenciam na toxidez dos metais pesados, como:

- ↳ A forma em que o metal se encontra na água (inorgânica, orgânica, solúvel, particulado, íon, complexo, molécula, coloidal, precipitado, adsorvido);
- ↳ A presença de outros metais (sinergia, sem interações, antagonismo);

- ↳ Fatores ambientais (pH, temperatura, concentração de oxigênio dissolvido, intensidade da luz, salinidade);
- ↳ Condições do organismo (estágio da vida, mudanças no ciclo, idade e tamanho, sexo, atividade, adaptação para metais);
- ↳ Resposta comportamental.

Os estuários e águas costeiras recebem metais pesados por três principais fontes: chuvas, atmosfera e atividade antropogênica. Enquanto que o intemperismo das rochas e lixiviações dos solos são responsáveis por parte da concentração de metais pesados nas águas dos rios, a influência antropogênica por dejetos domésticos e industriais e atividades com barcos e navios excede a fração de metais derivada dos processos do meio ambiente. Os estuários representam sítios de acúmulo de metais pesados. Nesses sistemas, os sedimentos de fundo agem como um “dreno” para que os metais pesados “escoem” pelo rio e, portanto, servem como fontes desses elementos para as águas. O fundo de um estuário é o depósito de metais pesados, transportados da terra para o mar, a circulação estuária tende a ser uma “armadilha” para esses poluentes, por isso reduz a saída para águas costeiras.

As principais fontes antropogênicas de metais pesados são operações de asfaltagem, transmissão de fumaça, queima de combustíveis. Grandes quantidades de cobre, chumbo e zinco de pipas e tanques de sistemas domésticos comumente entram em contato com estuários e águas costeiras. Fontes industriais (fabricação de ligas, manufatura de objetos metálicos, corantes, tintas produto têxtil), adicionam quantidades significantes de metais pesados ao ambiente. Descargas municipais e industriais em regiões urbanizadas geralmente causam impactos.

Os metais pesados são um grupo com potencialidades tóxicas para organismos aquáticos. Entretanto, muitos desses elementos têm sido classificados como essenciais para o próprio metabolismo da biota em baixas concentrações. Cobalto, cobre, ferro, manganês, molibdênio, vanádio, estrôncio e zinco, por

exemplo, são metais necessários ao processo da vida marinha em nível traço, mas eles podem ser tóxicos aos organismos, pois muitos deles agem com inibidores do metabolismo em concentrações elevadas. Por esta razão os níveis de toxidez têm sido estabelecidos para metais pesados em ambientes aquáticos. Padrões de qualidade da água têm sido desenvolvidos com base em dados de toxidez e tabelas extensivas de metais pesados em água fresca para peixe, invertebrados e organismos marinhos.

Os metais pesados em ordem decrescente de toxidez são: Hg, Cd, Cu, Zn, Ni, Pb, Cr, As e Co. Entretanto esta seqüência está sujeita a mudança das condições físico-químicas no ambiente que afeta a especiação de metais.

Organismos de estuários, particularmente moluscos (mexilhões azuis “*Mytilus edulis*”), concentram metais pesados. Conseqüentemente, têm sido empregados como bio-indicadores da poluição causada por estes metais.

Tabela 5.1. - Concentração média, quantidade total de metais na água de mar e seus prováveis compostos ^[9]

Metal	Concentração média em água de mar ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Espécies prováveis dissolvidas	Total (milhões de toneladas)
Estanho	0,01	(OH)?	14
Cobalto	0,02	Co^{+2} , CoCl^+	27
Chumbo	0,03	PbCl_2 , PbCl^+ , PbOH^+	41
Mercúrio	0,05	HgCl_4^{-2} , HgClBr^{-2} , HgCl_3^-	68
Cádmio	0,05	CdCl_2 , CdCl^+ , CdCl_3^-	68
Prata	0,1	AgCl_4^{-3} , AgCl_3^{-2} , AgCl_2^-	137
Antimônio	0,2	Sb(OH)_6^-	274
Selênio	0,45	SeO_4^{-2}	616
Cromo	0,6	(OH)?	822
Vanádio	2,0	$\text{H}_2\text{V}_4\text{O}_{13}^{-4}$, HVO_4^{-2}, VO_3^-	2060
Níquel	2,0	Ni^{+2} , NiCl^+	2740
Manganês	2,0	$\text{Mn(OH)}_{3,4}?$	2740
Arsênio	2,3	HAsO_4^{-2}	3150
Cobre	1,0	CuCO_3, Cu^{+2}, CuOH^+	4110
Ferro	3,0	$\text{Fe(OH)}_3?$	4110
Alumínio	5,0	Al(OH)_4^-	6850
Zinco	5,0	Zn^{+2} , ZnCl^+	6850
Molibdênio	10	MoO_4^{-2}	13700

5.4. Parâmetros a serem considerados na água de mar

A avaliação dos riscos ambientais associados à introdução de metais no mar deverá ser baseada em dados de como são introduzidos no ambiente marinho, com medidas de concentração feitas “in situ”. Essa avaliação é influenciada, entretanto, por parâmetros individuais de determinadas áreas, como por exemplo, a salinidade, pH e temperatura. Isso significa que determinadas áreas marinhas devem ser particularmente sensíveis a determinados metais. Portanto, a relação entre esses parâmetros, e os níveis desses metais no ambiente estudado, pode auxiliar no entendimento de processos bioquímicos que ocorrem em uma determinada região.

Além disso, algumas regiões devem ser estudadas com maior importância, devido aos efeitos de longo prazo causados pela influência das áreas urbanas, cidades costeiras e parques industriais.

5.4.1. Salinidade

A salinidade é definida como o peso em gramas de sais dissolvidos em 1 Kg de água de mar (após todos os haletos serem tomados por cloreto, todo carbonato convertido à óxido e toda a matéria orgânica destruída) ^[10]. É geralmente expresso em partes por mil (‰), mas pode ser reportado em miligrama por litro (mg/L), miliequivalente por litro (meq/L), grama por quilograma (g/Kg) ou porcentagem (%). A constância das proporções dos constituintes majoritários dissolvidos na água de mar tem permitido que a salinidade seja determinada pela concentração de cloreto. Através do método titulométrico com nitrato de prata, a quantidade de cloreto equivalente a brometo e iodeto pode ser obtida ^[57].

Pode-se calcular a salinidade a partir da concentração de cloreto, utilizando esta relação:

$$S(\text{‰}) = 1,80655 \cdot \text{Cl} (\text{‰})$$

[Eq. 1]

A salinidade também pode ser medida por condutividade elétrica, já que a água de mar trata-se de um eletrólito. As medidas de concentração de cloreto são menos exatas (0,02% para 32 a 38‰) que as técnicas de condutividade (0,003‰) de estimativa de salinidade. Medidas de densidade (com hidrômetro), índice de refração (refratômetro) e ponto de congelamento, são métodos alternativos para estimar a salinidade.

A salinidade da água de mar possui uma média de 35‰, mas pode variar de 33 a 38‰. Desvios de medida de salinidade ocorrem localmente em correntes oceânicas devido à diluição de corrida de rios, ventos hidrotermais e expansão de minerais provenientes das crostas do solo marinho. Sob uma escala regional, desvios de médias de salinidade são devido às diferenças na evaporação e precipitação. A evaporação e a formação de gelo no mar aumentam a salinidade no oceano, ao passo que grandes ciclos de precipitação e fluxos de rios, diminuem a salinidade.

5.4.2. pH

Este parâmetro pode definir o caráter ácido, básico ou neutro de uma solução, devendo ser considerado. Os organismos marinhos estão geralmente adaptados às condições de neutralidade e, em consequência, alterações bruscas do pH da água podem acarretar o desaparecimento dos seres nela presentes. Normalmente o pH da água de mar encontra-se em torno de 8,0. Uma variação muito brusca neste valor indica uma provável influência de fatores externos.

5.4.3. Temperatura

Variações de temperatura são parte do regime climático normal, e corpos d'água naturais apresentam variações sazonais e diurnas. A temperatura da água é influenciada por fatores tais como latitude, altitude, estação do ano, período do dia, taxa de fluxo e profundidade. A elevação anormal da temperatura em um corpo d'água geralmente é provocada por despejos industriais e usinas termoelétricas. A temperatura desempenha um papel fundamental de controle no meio aquático, condicionando as influências de uma série de parâmetros físico-químicos. Em geral, à medida que a temperatura aumenta, de 0 a 30°C, a viscosidade, tensão superficial, compressibilidade, calor específico, constante de ionização e calor latente de vaporização diminuem, enquanto que a condutividade térmica e a pressão de vapor aumenta com o aumento da temperatura. Organismos aquáticos possuem limites de tolerância térmica superior ou inferior, temperaturas ótimas para o crescimento e limitações de temperatura para migração, desova e incubação do ovo.

A temperatura se relaciona com várias outras variáveis, incluindo solubilidade do oxigênio e densidade da água, dentre outras. Variações bruscas na temperatura podem levar à impactos nos ecossistemas aquáticos se as faixas de tolerância da fauna aquática forem ultrapassadas.

5.4.4. Oxigênio dissolvido (OD)

É um parâmetro de maior importância para a manutenção do equilíbrio ecológico em ecossistemas aquáticos, sendo necessário para a respiração da fauna e a manutenção dos processos de degradação e reciclagem da matéria orgânica. O despejo de resíduos com a capacidade de retirar OD das águas pode comprometer severamente o equilíbrio do meio marinho, levando, em casos extremos, à mortalidade da fauna na área afetada.

Os níveis de oxigênio dissolvido têm papel importante na capacidade de um corpo d'água natural manter a vida aquática. Uma adequada provisão de

oxigênio dissolvido é essencial para a manutenção dos processos naturais de auto-depuração em sistemas aquáticos. Através do monitoramento do teor de oxigênio dissolvido, podem ser avaliados os efeitos dos resíduos oxidáveis sobre as águas.

CAPÍTULO VI

TÉCNICAS ESPECTROANALÍTICAS PARA DETERMINAÇÃO DE METAIS TRAÇOS EM ÁGUA DE MAR

6.1. Introdução

A partir de algumas décadas, a atenção está sendo focada na poluição de ambientes naturais. O controle de poluição do ar, das águas naturais, dos oceanos e solos é uma tarefa importante que requer a cooperação de especialistas de várias áreas, incluindo a Química Analítica. Através de estudos já se conhece, por exemplo, o perigo da poluição provocada por metais pesados, sendo os seus ciclos de degradação muito lentos.

A determinação das espécies presentes na água de mar se faz com a necessidade de se conhecer quais elementos e suas concentrações, seus estados de oxidação, suas distribuições regionais e temporais, para estabelecer relações entre as espécies e avaliar as rotas de um dado elemento no sistema biológico, e a partir daí, entender quais os processos que ocorrem nos oceanos. No entanto, as análises são geralmente difíceis devido à complexidade das amostras e às baixas concentrações das espécies envolvidas.

A determinação de metais em água de mar requer particularmente uma maior atenção no que se refere principalmente às interferências provocadas pela matriz, devido à sua complexidade, quantidade de metais e sólidos dissolvidos, onde sua composição muitas vezes irá depender de aspectos não controlados pelo analista, como, por exemplo, fatores ambientais.

As interferências de matriz, chamadas também de interferências multiplicativas, são causadas por espécies ou substâncias que alteram o sinal do

analito. A interferência de matriz pode afetar a medida do sinal analítico e causar um erro na determinação se o interferente estiver presente na amostra, mas não estiver nos padrões. Portanto a determinação de elementos traços em água de mar pode ser feita com satisfatória precisão e exatidão utilizando técnicas analíticas sem a influência da matriz salina. A pré-concentração muitas vezes é necessária para garantir que o analito esteja em uma concentração tal que permita a sua determinação através de métodos instrumentais convencionais. Técnicas analíticas de reconhecida sensibilidade tais como: Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS), Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES) e a Espectrometria de Absorção Atômica usando chama ou forno de grafite (FAAS e GFAAS), são exemplos de técnicas onde o alto teor salino representa uma séria limitação. Para eliminar as interferências causadas pela matriz, em muitos casos, deve-se recorrer a métodos como: adição padrão, uso de padrão interno ou o uso de modificadores químicos. Entretanto, na maioria dos casos, principalmente tratando-se de amostras de água de mar, uma etapa de separação da matriz é muitas vezes utilizada. Além disto, quando o teor de constituinte na amostra é inferior ou próximo ao limite de detecção do método escolhido, uma pré-concentração torna-se também necessária.

Assim, diferentes técnicas espectroanalíticas têm sido usadas para a determinação de metais traços em água de mar, sendo que algumas delas utiliza-se da amostra diretamente [58, 59, 60, 61], mas na maioria dos casos faz-se necessária a separação da matriz, bem como a pré-concentração do analito, a fim de evitar interferências severas e aumentar a sensibilidade da técnica aplicada [47, 62, 63, 64].

6.2. Condições para a escolha da técnica analítica

As técnicas espectroanalíticas possuem reconhecida aplicação na determinação de traços de metais. Entretanto, quando a amostra em questão possui uma elevada concentração de sais, como no caso de amostras de água de mar, o uso destas técnicas torna-se limitado, devido a alguns fatores, principalmente interferências químicas e espectrais.

A escolha da técnica apropriada para a análise de elementos traços requer conhecimento das capacidades e limitações das diferentes técnicas disponíveis.

A escolha da técnica analítica irá depender de alguns aspectos que devem ser considerados:

- ↳ Sensibilidade e limite de detecção;
- ↳ Precisão analítica;
- ↳ Faixa de concentração;
- ↳ Tempo;
- ↳ Custo;
- ↳ Grau de automação;
- ↳ Habilidade necessária do operador;
- ↳ Interferências analíticas e sua capacidade de controle;
- ↳ Dificuldades com contaminação.

As técnicas espectroanalíticas divergem em alguns desses parâmetros, o que pode ser decisivo para a escolha daquela que irá se adequar melhor ao método que se pretende utilizar. No entanto, um desses parâmetros parece ser fator comum de preocupação em todas as técnicas estudadas quando a amostra possui uma matriz complexa: são as interferências analíticas. A maioria dos métodos instrumentais de análise não fornece sensibilidade satisfatória ou estão livres de interferências de matriz para determinar diretamente elementos traços

em água de mar em níveis em torno de pg/L ou ng/L. Neste caso, faz-se necessário o uso de métodos para a eliminação de interferências da matriz.

As técnicas espectroanalíticas mais utilizadas para determinação de metais traços em água de mar são Espectrometria de Absorção Atômica por Chama (FAAS), Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (GFAAS), Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES), e Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS).

Tabela 6.1. - Limites de detecção para as técnicas Espectrométricas ($\mu\text{g/L}$) ^[65]

Elemento	FAAS	GFAAS	ICP OES	ICP-MS
Ag	0,9	0,005	1	0,005
Al	30	0,04	4	0,008
As	100	0,2	20	0,008
Au	6	0,1	4	0,001
B	700	20	2	0,1
Ba	8	0,1	0,1	0,004
Be	1	0,01	0,06	0,06
Bi	20	0,1	20	0,0007
C			50	
Ca	1	0,05	0,08	4
Cd	0,5	0,003	1	0,01
Ce			10	0,0006
Co	6	0,01	2	0,0009
Cr	2	0,01	2	0,04
Cs	8	0,05		0,0007
Cu	1	0,02	0,9	0,005

Elemento	FAAS	GFAAS	ICP OES	ICP-MS
Dy	50			0,001
Er	40			0,0009
Eu	20			0,0008
Fe	3	0,02	1	0,6
Ga	50	0,1	10	0,001
Gd	1200			0,004
Ge	200	0,2	10	0,005
Hf	200			0,0007
Hg	200	1	20	0,007
Ho	40			0,0006
In	20	0,05	30	0,0006
Ir	600	2	20	0,0007
K	2	0,02	50	1
La	2000		1	0,0007
Li	0,5	0,05	0,9	0,06
Lu	700			0,0006
Mg	0,1	0,004	0,08	0,009
Mn	1	0,01	0,4	0,004
Mo	30	0,04	5	0,005
Na	0,2	0,05	4	0,07
Nb	1000		3	0,0009
Nd	1000			0,004
Ni	4	0,1	4	0,008
Os	80			
P	50000	30	30	0,5

Elemento	FAAS	GFAAS	ICP OES	ICP-MS
Pb	10	0,05	20	0,001
Pd	20	0,25	1	0,005
Pr	5000			0,0006
Pt	40	0,5	20	0,004
Rb	2	0,05		0,005
Re	500		20	0,0007
Rh	4		20	
Ru	70		4	
S			50	
Sb	30	0,2	60	0,002
Sc	20		0,2	
Se	70	0,02	60	0,002
Si	60		3	0,002
Sm	2000			
Sn	100		40	0,004
Sr	2		0,05	
Ta	1000		20	
Tb	600			
Te	20	0,02	50	0,02
Ti	50		0,5	
Tl	9		40	0,004
Tm	10			
U	10000		10	
V	40		2	0,0004
W	1000		20	

Elemento	FAAS	GFAAS	ICP OES	ICP-MS
Y	50		0,2	
Yb	5			
Zn	0,8		1	0,009
Zr	300		0,8	

6.3. Espectrometria de Absorção Atômica por Chama (FAAS)

Esta técnica é ideal quando o objetivo é determinar um ou poucos elementos em um grande número de amostras, em volumes consideravelmente grandes, quando comparados com outras técnicas como GFAAS. A Espectrometria de Absorção Atômica não possui considerável interferência espectral por causa do tipo da fonte de radiação usada. Esta é uma das principais razões pela qual a Espectrometria de Absorção Atômica é preferida ao invés da Emissão Atômica por chama.

Uma das limitações são os elementos refratários, que não podem ser determinados com alta sensibilidade porque a temperatura da chama não é suficientemente alta para atomizar completamente estes elementos.

As interferências químicas mais freqüentes na FAAS surgem quando ocorrem reações químicas na célula de atomização que removem os átomos do analito, diminuindo o sinal da absorvância. O tipo mais importante de interferência química é quando ânions formam compostos de baixa volatilidade com o elemento de interesse, que não se dissociam na chama, causando uma diminuição da concentração do analito. Na chama, quando o oxigênio está disponível, óxidos refratários do analito podem ser formados com Al, Fe, B, Ti, W, U, V ou Zr ^[66]. Neste tipo de interferência, podem ser utilizados alguns procedimentos como o uso de um composto que forme uma substância mais insolúvel com o elemento que está causando a interferência, deixando assim o analito livre. Outra forma é a separação da matriz ^[67] ou reações de complexação ^[68, 69]. Kościelniak ^[70] estudou

as interferências químicas em FAAS, utilizando sistema em fluxo, onde observou que a concentração do analito e a influência do interferente depende de vários processos físico-químicos.

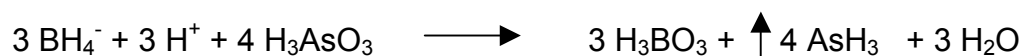
As interferências físicas independem do tipo do analito e possuem comportamento semelhante em emissão, absorção e fluorescência em relação ao atomizador. As interferências podem ser devido às mudanças na viscosidade da solução, afetando a taxa de aspiração e conseqüentemente a concentração do analito. A viscosidade dos padrões e amostras pode ser diferente se a amostra apresentar componentes orgânicos ou alta concentração de sais dissolvidos, e os padrões não.

6.4. Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Hidretos

O método de Geração de Hidretos é um meio de introdução de amostras aplicável a elementos que possuem pouca sensibilidade e facilidade em formar hidretos, como: arsênio, antimônio, estanho, selênio, bismuto e chumbo. Tal procedimento melhora o limite de detecção desses elementos de 10 a 100 vezes, além de eliminar interferências. Pelo fato de muitos desses elementos serem extremamente tóxicos, sua determinação em baixas concentrações é de considerável importância ^[71].

Em 1969, Holak foi o primeiro a aplicar a geração de hidretos para a determinação de arsênio usando AAS ^[66].

A rápida geração de hidretos voláteis pode geralmente ser feita pela adição de uma solução aquosa acidificada e uma solução de borohidreto de sódio, em um recipiente fechado:



Neste caso, a arsina, um hidreto volátil, entra na câmara de atomização por meio de um gás inerte. A câmara é geralmente um tubo de sílica aquecido,

onde a decomposição do hidreto é feita, levando à formação de átomos do analito, na qual a concentração é determinada, utilizando uma técnica de Espectrometria Atômica. Atualmente, é possível realizar a especificação de determinados elementos em amostras de água de mar através desta técnica, utilizando a pré-concentração e recursos de automação por injeção em fluxo ^[72]. Várias espécies de hidretos, tais como: AsH_3 , CH_3AsH_2 e $(\text{CH}_3)\text{AsH}$, podem ser separadas e determinadas.

Alguns trabalhos foram realizados para a determinação simultânea de elementos através da geração de hidretos, com o auxílio da Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES). Segundo alguns autores, esta técnica possui algumas vantagens em relação à Espectrometria de Absorção Atômica, sendo uma delas o estudo mais eficiente de interferentes e possíveis interações entre os elementos ^[73].

6.5. Espectrometria de Absorção Atômica com Vapor Frio (CV)

O método do vapor frio é um meio de introdução de amostra aplicável somente para a determinação de mercúrio, pois é o único elemento metálico que possui uma considerável pressão de vapor em temperatura ambiente. A determinação de mercúrio em vários tipos de amostras é de vital importância, devido à sua toxidez na forma de vários compostos orgânicos e sua distribuição no ambiente.

Nesta técnica, o mercúrio é convertido a Hg^{+2} através do tratamento da amostra com uma mistura oxidante de ácidos nítrico e sulfúrico, seguida da redução do Hg^{+2} à forma elementar com SnCl_2 . O mercúrio então é transportado através de um tubo longo de absorção com ajuda de um gás inerte. A determinação é completada pela medida da absorvância em 253,7 nm e os limites de detecção alcançam níveis de partes por bilhão (ppb).

6.6. Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (GFAAS)

A técnica de Espectrometria de Absorção Atômica por Forno de Grafite tem sido uma das mais importantes para a determinação de metais de transição em água de mar, pois possui como principal vantagem sua alta sensibilidade, com o uso de pequenos volumes de amostra (10-50 μ L). No entanto, sua principal desvantagem é interferência de matriz, onde geralmente é necessária a separação do analito antes da determinação, quando o uso de modificadores químicos não é eficaz.

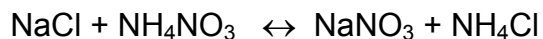
Na GFAAS utiliza-se um programa de temperatura para separar o analito das demais espécies *in situ* antes do passo de atomização. Para isto, é necessária a mais alta temperatura de pirólise possível para separar os concomitantes efetivamente. No entanto, desde que o analito não seja volátil durante a etapa da pirólise, existem limitações para a temperatura máxima, cuja determinação pode ser feita através da chamada curva de pirólise.

A curva de pirólise depende das espécies presentes, pois muitos elementos podem existir em um grande número de compostos químicos que muitas vezes diferem substancialmente em suas propriedades físicas e conseqüentemente sua volatilidade. As espécies presentes em uma amostra ou as que são formadas durante a pirólise dependem dos concomitantes e muitas vezes não é conhecida. Se a curva de pirólise é estabelecida usando soluções aquosas ou livres de matriz para se efetuar a calibração, não se tem garantia que o analito presente na amostra se comportará da mesma maneira. Para eliminar esta incerteza e ter o controle sobre a forma na qual o analito está presente, são utilizadas substâncias químicas que tornem as propriedades físicas e químicas do analito nas amostras e soluções padrão de calibração o mais próximo possível. Este procedimento é chamado modificação química. O procedimento adequado é formar um composto do analito mais estável termicamente. Em casos ideais, a estabilidade térmica das demais espécies é ao mesmo tempo diminuída. Sob nenhuma circunstância a estabilidade térmica dos concomitantes deve ser

aumentada com adição do modificador químico para efetuar a separação da matriz e analito durante o passo de pirólise.

Portanto, a técnica usando modificadores de matriz consiste em utilizar aditivos químicos para obter uma alteração controlada das propriedades físicas e químicas dos constituintes da amostra. Assim, a formação de compostos termicamente estáveis do analito ou concomitantes pode ser aumentada ou diminuída.

Vários autores descrevem o uso de modificadores químicos para melhor controlar o comportamento do analito e concomitantes durante os passos de pirólise e atomização ^[74], como a utilização de nitrato de amônio para determinação de cobre em água de mar para eliminar a interferência do cloreto de sódio durante a pirólise:



O cloreto de sódio não volátil (ponto de fusão 801°C; ponto de ebulição 1413°C) é convertido a NaNO_3 , que decompõe em 380°C e cloreto de amônio que sublima em 335°C. O excesso de nitrato de amônio decompõe acima de 210°C, tanto que todos os concomitantes podem ser removidos em temperatura relativamente baixa ou convertidos em compostos que não interferem.

Através de estudos, é bem conhecido o fato de que alguns modificadores como paládio e magnésio podem ser usados para determinar Cu, Mn e Mo ^[58] e também para a determinação de antimônio em água de mar ^[75], níquel e nitrato de amônio para a determinação de selênio em água de mar ^[76], níquel para estabilizar arsênico, selênio e telúrio ^[66], fluoreto de amônio, sulfato de amônio e hidrogenofosfato de amônio para determinação de cádmio ^[59] e peróxido de hidrogênio em ácido nítrico para determinar germânio e gálio ^[66].

Em um estudo para determinação de manganês em águas costeiras, Rangel e colaboradores ^[77] estudaram diferentes procedimentos para a análise em GFAAS, na presença de modificador de paládio, com o uso ou não da plataforma,

chegando à conclusão de que o uso somente de altas temperaturas de atomização não previne a amostra dos efeitos de matriz.

Cabon ^[78], em um de seus trabalhos, estudou os efeitos de vários sais na determinação de arsênio por GFAAS, na ausência e presença do modificador de paládio, confirmando que a influência dos sais na determinação de arsênio é muito maior sem o uso do modificador. Observou ainda que o sinal do analito é fortemente modificado pela concentração de cloreto e nitrato e um efeito de interferência importante é exercido pelos sulfatos de sódio e cálcio. Contudo, a maior parte dessas espécies salinas pode ser removida a uma temperatura de 1400⁰C, na presença de paládio.

Alguns autores também utilizam modelagem experimental para estudar os efeitos de matriz na GFAAS, como por exemplo, na determinação de manganês em água de mar, Grotti e outros ^[79], estudaram os efeitos causados por nitratos de sódio, potássio, magnésio e cálcio, utilizando o método de múltipla regressão linear em conjunto com planejamento experimental para estudar os efeitos causados por estes sais simultaneamente.

Um estudo crítico foi feito para o uso de modificadores químicos na determinação direta de elementos que possuem alta volatilidade e metais refratários (Ag, As, Cd, Cr, Hg, Ni e Pb) em amostras de água de mar, para investigar a influência da matriz salina sob o sinal do analito. Foram avaliados diferentes modificadores como nitrato de paládio, nitrato de magnésio e paládio reduzido. A influência da matriz salina foi considerada mais importante na determinação de Ag, As e Pb. Com o uso dos modificadores, foi possível a determinação dos metais, com exceção do Pb ^[80].

Alguns critérios devem ser considerados para a seleção do modificador químico:

- ↳ Deve permitir a separação do analito em temperatura mais alta possível.
- ↳ Deve estabilizar o maior número de elementos possíveis para facilitar métodos multielementares;

- ↳ Não deve conter algum elemento que possa ser determinado em nível traço, que cause interferências na análise;
- ↳ Deve ter o tempo de vida curto no tubo de grafite e plataforma (com exceção dos modificadores permanentes);
- ↳ Deve dar pouca contribuição para o sinal de background.

Existem também outras estratégias para eliminação de efeitos de matriz, como a atomização em duas etapas, utilizando um atomizador adaptado para separar a etapa de vaporização e da atomização. Contudo este método possui algumas limitações como perdas durante a vaporização e diminuição da sensibilidade, principalmente com metais refratários ^[81].

A GFAAS é uma técnica para análise de traços. Este excesso de concomitantes automaticamente leva ao aumento do risco de interferências. Este problema pode ser reduzido separando os interferentes da matriz antes da etapa da atomização. Mas a completa separação depende principalmente da volatilidade do analito e interferentes. Nem sempre é possível alterar os parâmetros por meio de modificadores químicos. Existem casos em que o uso de modificadores não é possível, como amostras com grandes quantidades de matéria orgânica ou onde a concentração de sais é muito alta, como cloreto de sódio, sendo necessária então a remoção da matriz, através de técnicas de separação. Isto pode ser constatado através de trabalhos que vêm sendo desenvolvidos para a determinação de água de mar, sendo a maioria deles com métodos de separação para posterior determinação, como demonstrado por Grotti e outros ^[64], onde foi utilizada extração em fase sólida para pré-concentração de Cd, Pb, Fe e Mn e completa separação da água de mar para eliminação dos efeitos de interferência provocados por íons sódio, potássio, cálcio e magnésio sobre a atomização dos referidos metais, quando utilizada a técnica de GFAAS. Neste método foram ainda estudadas as duas maneiras para eliminação de interferências de matriz: a adição de modificadores químicos e a separação por extração em fase sólida, sendo que

esta última se mostrou mais efetiva na supressão dos efeitos provocados pela matriz para os elementos considerados.

6.7. Espectrometria de Emissão Atômica

A Espectrometria de Emissão Atômica é uma das mais antigas técnicas espectrométricas multielementar, pois parte do princípio de que todos os elementos podem emitir um espectro característico sob determinadas condições. Entretanto não existe uma única fonte que possa excitar todos os elementos em uma condição ótima. A Espectrometria de emissão é dividida de acordo com a fonte de energia que causa a excitação do elemento. A mesma fonte é, em geral, utilizada para atomizar e excitar os átomos. As técnicas que utilizam as fontes clássicas (chama, arco e centelha) são ainda aplicadas, mas possuem certas limitações. Entretanto, nas últimas décadas, as fontes de plasma mostraram-se mais eficientes revivendo a técnica de emissão atômica.

6.7.1 Espectrometria de Emissão Ótica com Fonte de Plasma (ICP OES)

A vantagem da Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES) é que esta técnica pode ser aplicada à maioria dos elementos da tabela periódica. Entretanto, os espectros de emissão de alguns elementos como halogênios e gases nobres só podem ser observados em condição de purga do sistema ótico. Além disso, o ICP OES permite uma análise qualitativa e quantitativa rápida, simultânea e multielementar, devido à capacidade de possuir fonte de excitação que permite atomizar e excitar elementos sob várias formas físicas, como também devido à sua alta temperatura e estabilidade, consegue eliminar muitas interferências encontradas nas técnicas convencionais, pois permite a completa vaporização da amostra e uma atomização e excitação mais eficientes.

Na Espectrometria de Emissão Ótica por Plasma Indutivamente Acoplado, as interferências e efeitos de matriz são menos severos que em Espectrometria de Emissão Atômica por Chama. Isto é atribuído às altas temperaturas do plasma (4000-10000 K) e ao tempo relativamente longo de residência do analito na fonte e em um ambiente mais inerte. Mas o ICP OES não está livre de outros tipos de interferências como as espectrais. As interferências espectrais são causadas por níveis de energia (linhas de emissão ou absorção) de um elemento, íon ou molécula que sobrepõe o nível energético do elemento que está sendo determinado. Devido à alta temperatura do plasma, seus espectros de emissão podem ser complexos, gerando linhas sobrepostas. Estas linhas podem também ser originadas do espectro do argônio ou espectro contínuo de espécies atômicas e moleculares previamente existentes na amostra ou formadas no plasma.

Os tipos de interferências que mais influenciam na determinação por ICP OES, principalmente quando se trata de matrizes complexas, são interferências químicas e interferências de ionização. As interferências químicas são causadas por qualquer componente da amostra que cause a diminuição da atomização do analito, como por exemplo, a presença de algum componente no sistema que forme com o metal um sal não volátil, de maneira similar a FAAS. Alguns agentes podem ser adicionados ao sistema para evitar este tipo de interferência, não permitindo que compostos pouco voláteis se formem.

A interferência de ionização geralmente ocorre quando o grau de ionização do analito é diminuído pela presença da matriz, por causa da alta densidade de elétrons encontrada no plasma (isto é comum na determinação de metais alcalinos). Os metais alcalinos possuem menor potencial de ionização, por isso são facilmente ionizáveis, portanto possuem níveis de energia diferentes dos átomos neutros, e o sinal do analito diminui. Este é o principal motivo para a eliminação da interferência de matriz em água de mar ^[82].

As interferências químicas e de efeito de matriz são menos significantes nas fontes com plasma do que em outros atomizadores, como na chama. Entretanto, quando o analito se encontra em um nível de concentração relativamente baixo, o sinal da radiação de fundo torna-se significativo. Neste

caso, faz-se também necessário o uso de métodos de pré-concentração para aumentar a sensibilidade da técnica utilizada ^[83].

O ICP OES elimina muitas interferências comuns por causa da sua temperatura alta e mais uniforme e por possuir uma atomização mais completa, aumentando assim o sinal da concentração do analito e fornecendo curvas de calibração mais lineares. A formação de óxidos e hidróxidos é negligenciável, pois a atomização ocorre em um ambiente quimicamente inerte.

As interferências associadas às etapas de nebulização, transporte, solvatação e vaporização estão ligadas à mudança na velocidade com que a amostra é transportada para a fonte de excitação e formação do aerossol e são devidas às propriedades físicas da amostra em solução. De modo que se deve levar em consideração viscosidade, tensão superficial, densidade e presença de sólidos em suspensão, sendo recomendável a preparação de padrões semelhantes à amostra como o método de equivalência de matriz ou outros métodos para eliminação destes tipos de interferências.

O desempenho de um ICP OES em termos de limite de detecção é melhor do que outras técnicas de emissão convencionais, por possuir alta estabilidade, baixo ruído, baixo sinal de *background* e eliminação de interferências causadas por fontes, quando operadas em condições experimentais apropriadas. Entretanto, os limites de detecção do ICP OES, quando comparados com absorção com chama e o forno, se encontram em um nível intermediário.

O ICP OES tem como desvantagens em relação a outras técnicas instrumentais, o seu alto custo, e a necessidade de tratamento de determinadas amostras antes de serem introduzidas no nebulizador. Em casos de matrizes salinas ou com alto teor de sólidos dissolvidos, por exemplo, normalmente o analito deve sofrer um processo de separação da mesma, para evitar problemas de obstrução do nebulizador, deposição na tocha ou até mesmo interferências iônicas causadas pela alta concentração de metais alcalinos contidos neste tipo de matriz, além de outras espécies ^[9, 74].

Desta forma, estes metais são freqüentemente determinados em água de mar. Entretanto, a análise destas amostras por ICP OES torna-se difícil pois esta

técnica possui baixa sensibilidade para a determinação desses elementos. Além disso, o alto teor salino causa problemas durante a análise.

6.8. Espectrometria de Massa com Fonte de Plasma (ICP-MS)

Esta técnica tem sido utilizada para a determinação simultânea de metais de transição em água de mar e terras raras. Tem como principais vantagens alta sensibilidade e simultaneidade, pois permite a determinação multielementar com limites de detecção de cerca de 50 ng/L.

No entanto, quando se utiliza o ICP-MS, a determinação direta em água de mar torna-se bastante difícil, devido ao alto teor de sólidos encontrado na matriz ^[24], (em torno de 3% m/v, enquanto que o espectrômetro tolera aproximadamente 0,2% m/v) e também às interferências causadas por íons poliatômicos provenientes de elementos como Ca, Cl, Na e S.

Portanto, suas maiores desvantagens são o alto custo do equipamento e interferências de matriz, sendo necessária sua separação para a maioria dos elementos traços em água de mar ^[84, 85, 86, 87, 88].

Uma importante limitação do ICP-MS em relação aos efeitos de matriz é a mudança na intensidade do sinal do íon. Os efeitos de matriz em ICP-MS são mais severos que em ICP OES. Por isto, a amostra não deve conter mais que 10g/L de sólidos dissolvidos.

As interferências de matriz dependem do analito, da matriz, das condições de operação e do tipo de instrumento usado. Parâmetros instrumentais, como fluxo de gás carreador, mudanças físicas no plasma e velocidade de aspiração da amostra são influenciados por efeitos de matriz. O efeito mais óbvio é a obstrução da abertura de entrada do cone de amostragem quando a amostra contém alta concentração de sais. A deposição de sais leva à diminuição no diâmetro de abertura, tanto que a sensibilidade piora e o sinal cai gradativamente em função do tempo.

As principais interferências encontradas no ICP-MS são supressão do sinal por elementos de baixo potencial de ionização, tais como sódio e potássio, já

descrita pela técnica de ICP OES, e formação de íons poliatômicos, gerando interferência isobárica.

A origem dos íons poliatômicos ainda não é totalmente conhecida. Íons MO^+ podem ser formados no plasma. Uma outra hipótese seria a formação de íons poliatômicos na interface entre a abertura e o cone de amostragem com a introdução de amostras relativamente frias que entram em contato com o plasma, levando a formação de íons MO^+ . Por outro lado, os íons poliatômicos podem ser formados pelas reações de recombinação que ocorrem entre a região do amostrador e o orifício do cone. Quando a água pura é nebulizada, átomos de Ar, O, H e N encontrados no plasma, são ionizados a Ar^+ , O^+ , H^+ e N^+ , juntamente com alguns íons poliatômicos como $^{17}[OH]^+$, $^{18}[OH_2]^+$, $^{19}[OH_3]^+$, $^{32}[O_2]^+$, $^{41}[ArH]^+$, $^{56}[ArO]^+$ e $^{80}[Ar_2]^+$, que estão presentes no espectro de background. O $^{56}[ArO]^+$ interfere no sinal do $^{56}Fe^+$, o principal isótopo do ferro. Por isto, geralmente a amostra não é dissolvida em água pura, mas em uma solução ácida e os íons poliatômicos formados são detectados no branco. O ácido nítrico é o meio preferido para análise em ICP-MS em lugar dos ácidos clorídrico, sulfúrico e perclórico, por causa das baixas energias de ionização destes ácidos e a maior capacidade em formar íons poliatômicos [65].

A formação de íons poliatômicos gera uma forte interferência que afeta o resultado da análise em ICP-MS, chamada de interferência isobárica (Tabela 6.2). Com exceção do Índio, não existe elemento que esteja livre de interferência isobárica. A interferência isobárica se dá por meio de isótopos de outro elemento que tem o mesmo número de massa. Abaixo estão listados os principais elementos traços da água de mar e suas interferências em ICP-MS.

Tabela 6.2. – Interferências isobáricas em ICP-MS [65]

Elemento	Massa	Interferente	Elemento	Massa	Interferente
Fe	54	$^{36}\text{S}^{18}\text{O}$	Zn	64	$^{38}\text{Ar}^{12}\text{C}^{14}$ N ^{32}S $^{32}\text{S}^{16}\text{O}_2$ $^{16}\text{O}_4$ ArC_2 $^{36}\text{Ar}^{12}\text{C}^{16}$ O $^{48}\text{Ti}^{16}\text{O}$ $^{48}\text{Ca}^{16}\text{O}$ $^{46}\text{Ca}^{17}\text{OH}$ $^{37}\text{Cl}^{15}\text{N}^{12}\text{C}$ $^{29}\text{Si}^{35}\text{Cl}$ $^{38}\text{Si}^{35}\text{ClH}$
Mn	55	$^{39}\text{K}^{16}\text{O}$ $^{37}\text{Cl}^{18}\text{O}$ $^{37}\text{Cl}^{17}\text{OH}$ $^{23}\text{Na}^{32}\text{S}$	Zn	66	$^{35}\text{Cl}^{14}\text{N}^{16}$ OH $^{37}\text{Cl}^{12}\text{C}^{16}$ OH $^{33}\text{S}_2$ $^{32}\text{S}^{16}\text{O}^{18}\text{O}$ $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^{14}$ N $^{48}\text{Ca}^{18}\text{O}$ TiO
Ni	58	S_2	Zn	67	$^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}_2$ $^{37}\text{Cl}^{14}\text{N}^{16}$ O $^{32}\text{S}^{35}\text{Cl}$

Elemento	Massa	Interferente	Elemento	Massa	Interferente
					$^{33}\text{S}^{34}\text{S}$ $^{34}\text{S}^{16}\text{O}_2\text{H}$
Ni	60	Na^{37}Cl $^{44}\text{Ca}^{16}\text{O}$	Zn	68	$^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}_2\text{H}$ $^{36}\text{Ar}^{32}\text{S}$ $^{34}\text{S}_2$
Ni	62	$^{46}\text{Ti}^{16}\text{O}$ $^{44}\text{Ca}^{18}\text{O}$ $^{44}\text{Ca}^{17}\text{OH}$	Zn	70	$^{35}\text{Cl}_2$
Co	59	$^{43}\text{Ca}^{16}\text{O}$ $^{36}\text{Ar}^{23}\text{Na}$ $^{42}\text{Ca}^{16}\text{OH}$			
Cu	63	$^{40}\text{Ar}^{23}\text{Na}$ $^{31}\text{P}^{16}\text{O}_2$ $^{36}\text{Ar}^{12}\text{C}^{14}\text{NH}$ $^{14}\text{N}^{12}\text{C}^{37}\text{Cl}$ $^{16}\text{O}^{12}\text{C}^{35}\text{Cl}$ $^{46}\text{Ca}^{17}\text{O}$ $^{44}\text{Ca}^{16}\text{OH}$ $^{28}\text{Si}^{35}\text{Cl}$ $^{47}\text{Ti}^{16}\text{O}$			
Cu	65	TiO $^{33}\text{S}^{16}\text{O}_2$ $^{32}\text{S}^{16}\text{O}_2\text{H}$ $^{48}\text{Ca}^{17}\text{O}$ $^{48}\text{Ca}^{16}\text{OH}$ $^{36}\text{Ar}^{13}\text{C}^{16}\text{O}$ $^{28}\text{Si}^{37}\text{Cl}$ $^{37}\text{Cl}^{12}\text{C}^{16}\text{O}$			

6.9. Determinação de vanádio utilizando técnicas espectroanalíticas

Devido à natureza refratária de muitos compostos de vanádio, a Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS) não exibe uma boa sensibilidade para este elemento, pois a atomização ocorre geralmente em temperaturas acima de 2500°C e concentrações acima de 2 mg.L⁻¹ [21, 89]. Porém, com algumas precauções e/ou utilização de etapas preliminares de pré-concentração, a determinação de vanádio é possível. Além disso, torna-se necessária a utilização de chamas mais energéticas, como por exemplo óxido nitroso-acetileno (2850°C) para quebrar as ligações dos compostos refratários e, conseqüentemente, permitir a atomização [66].

Em trabalhos já realizados para especiação de vanádio em águas naturais, utilizou-se uma resina sintetizada para a pré-concentração de vanádio (IV) e (V), utilizando FAAS com chama de acetileno e óxido nitroso em comprimento de onda de 318,3 nm [20].

A determinação de vanádio por GFAAS possui também dificuldades devido às suas propriedades refratárias, já mencionadas em FAAS. Isto faz com que a temperatura de atomização seja relativamente alta (cerca de 2500°C) e sua sensibilidade não seja suficiente. Isto faz com que sejam utilizados outros recursos, como modificadores, tipos de plataformas e um programa de temperatura adequado para tornar a determinação possível [7].

Botelho e colaboradores [90] determinaram vanádio em amostras carbonáceas por Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite, estudando aspectos como temperatura de pirólise, concentração de surfactantes e procedimento de homogeneização das amostras, sendo então aplicado em amostras certificadas de carvão. As temperaturas de pirólise e atomização para vanádio foram de 1200°C e 2650°C, respectivamente.

A técnica de ICP OES para determinação de vanádio fornece vantagens além de sua especificidade, como baixos limites de detecção e sensibilidade analítica. Utilizando técnicas adequadas para separação da matriz e pré-

concentração do analito, é possível conseguir resultados bastante satisfatórios, mesmo em matrizes complexas como água de mar ^[26], em determinações multielementares ^[40], especiações ^[83] ou utilização de sistema de injeção em fluxo ^[6].

Existem também muitos métodos desenvolvidos para a determinação de vanádio por ICP-MS, como especiação de vanádio (IV) e (V) em amostras de solo ^[17] e um estudo cronológico sobre a poluição na região do Caribe, costa do Panamá, baseado na concentração de vanádio em água de mar ao longo dos anos ^[12].

6.10. Determinação de cobre utilizando técnicas espectroanalíticas

A determinação de cobre por FAAS possui considerável sensibilidade e pode ser realizada sem maiores dificuldades, sendo no entanto, necessária uma etapa de pré-concentração, como por exemplo extração em fase sólida com coluna Amberlite XAD-2000 ^[47], naftaleno ^[91] e carvão ativado ^[92], com comprimento de onda de 324,7 nm em chama de ar-acetileno.

Na técnica de GFAAS, Hosten e Welz ^[39] determinaram cobre, cádmio e chumbo em estuários, água de mar, água de rios e amostras de urina, utilizando pré-concentração em fase sólida, em sistema de fluxo acoplado ao GFAAS, para eliminar os efeitos de matriz. Estudaram também a influência causada pela determinação direta destes metais, sem a separação da matriz, onde ficou confirmada que a separação fornece melhores condições para a determinação dos metais.

Em estudos para investigar o uso de modificadores, Su e Huang ^[93] determinaram cobre em água de mar por GFAAS, utilizando uma mistura de modificadores de $Mg(NO_3)_2$ e $Pd(NO_3)_2$. As interferências de matriz foram eliminadas.

Grotti e colaboradores ^[64] utilizaram fase sólida para separar e pré-concentrar cobre em água de mar e posterior determinação por GFAAS, onde

também foram avaliadas as possibilidades de uso de modificadores, sendo a separação da matriz mais eficiente.

Já é comprovado que o cloreto presente na água de mar interfere severamente na determinação de cobre por GFAAS ^[94], sendo a sua recuperação menor que 20 %. O problema pode ser resolvido com a utilização de ácido nítrico ou oxálico e cloreto de magnésio.

Utilizando ICP OES, um método para determinação multielementar incluindo cobre, foi desenvolvido por Sohrin e outros ^[95], usando extração em fase sólida com 8-hidroxiquinolina.

Em trabalhos realizados em nosso laboratório, cobre foi determinado, juntamente com zinco, em amostras de águas naturais por ICP OES, após complexação e sorção com Amberlite XAD-2 ^[96].

Pequenos volumes de amostras também podem ser analisados por ICP OES. Pesquisas foram realizadas para determinação de cobre em água de mar com co-precipitação com gálio e técnica de microamostragem ^[40].

Utilizando a técnica de ICP-MS, Gueguen ^[97] também usou pequenos volumes de amostra para determinar cobre em água de mar, após pré-concentração com resina Chelex-100. Em um outro estudo, Beck e colaboradores acoplaram um sistema em fluxo ao espectrômetro para pré-concentrar e determinar cobre em águas de estuários. As investigações a respeito do potencial de interferência ilustram a importância do uso do isótopo apropriado ^[98].

6.11. Métodos para redução de interferências de matriz

Uma técnica analítica ideal é totalmente seletiva quando, na presença de concomitantes, o sinal analítico não é afetado. No entanto, na prática, principalmente na análise de amostras complexas, como água de mar, onde o analito está presente em uma concentração muito menor que a matriz, isto não ocorre. Para a determinação por técnicas espectrométricas sem interferências da matriz, deve-se então recorrer a métodos de minimização das interferências.

6.11.1. Método de Padrão Interno

O método é aplicado quando um elemento sob de forma padrão de concentração conhecida, diferente do analito, é adicionado à todas as amostras, padrões e brancos. Geralmente, uma série de soluções de calibração é preparada contendo a mesma concentração de padrão interno. A curva de calibração é obtida onde a razão do sinal do analito e o sinal do padrão interno é traçada contra a concentração do analito. O método de padrão interno pode compensar vários tipos de erros na espectrometria atômica. Erros sistemáticos devido a efeitos de matriz podem ser evitados. O uso de padrão interno pode também corrigir flutuações em condições experimentais. A vantagem do uso de padrão interno sobre a curva de calibração é o aumento da precisão e exatidão. Mas este método é limitado pela aceitabilidade e disponibilidade de espécies que sirvam como padrão interno. O padrão interno deve ter propriedades similares ao analito e deve ser determinado facilmente com exatidão, não deve reagir com a amostra para formar compostos insolúveis ou de difícil atomização ou interferir na medida do analito. Além disto, há certas restrições com relação a amostras complexas ou com alto teor de sólidos dissolvidos, como água de mar. O método de padrão interno neste tipo de amostra para posterior determinação por ICP OES, por exemplo, seria inviável, devido à outras interferências já mencionadas anteriormente.

Em um estudo realizado para a determinação de elementos traços em planctons marinhos por ICP-MS ^[99], foram usados como padrões internos germânio, índio, ródio, escândio e ítrio, sendo que estes não conseguiram eliminar as interferências causadas pela supressão de ionização para os elementos: Al, Ca, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Si, Sr, V e Zn, sendo necessário diluir a solução.

6.11.2. Equivalência de Matriz

Neste método, os padrões são preparados com sua composição a mais próxima das amostras quanto possível para evitar interferências multiplicativas. Geralmente, quando o meio em que se está trabalhando é simples (meio ácido, solvente, etc.) fica fácil reproduzir os padrões de acordo com a amostra. Contudo, quando se trata de matrizes complexas ou de composição desconhecida, é praticamente impossível reproduzi-las de forma idêntica. Neste caso, a influência de um concomitante desconhecido pode afetar o sinal analítico e fornecer resultados que não são condizentes com a amostra real. Além disto, a pureza com que são preparados os padrões para equivalência da matriz devem atender a um critério rigoroso de pureza, para não causar outras interferências.

6.11.3. Método de Adição Padrão

Neste método são adicionadas quantidades conhecidas e gradativas do elemento que se quer determinar, em volumes iguais de amostra, sendo todas as soluções diluídas à volumes iguais e analisadas posteriormente. Mas este método só poderá ser utilizado quando atender a certos pré-requisitos, como a relação de linearidade entre o parâmetro que será medido e a concentração do analito; a sensibilidade do método não deverá mudar com a adição e o valor do branco poderá ser corrigido. Este método também pode encontrar algumas dificuldades, quando utilizados para amostras complexas em determinadas técnicas espectroanalíticas.

6.11.4. Diluição

Consiste em diluir a amostra numa concentração tal que a matriz não interfira na determinação do analito. No entanto, deve-se ressaltar que o analito também é diluído proporcionalmente junto com a matriz, diminuindo assim sua

concentração, a ponto de correr o risco de atingir concentrações abaixo do limite de detecção do método utilizado, quando se trata de elementos traços. Se por um lado a interferência causada pela matriz pode ser diminuída pela diluição, por outro, a sensibilidade fica comprometida juntamente com toda a análise.

Existem estudos para avaliar a influência de interferentes em FAAS, utilizando o método de diluição para determinação de cálcio e magnésio em águas [100]. Em ICP-MS, a determinação direta de metais traços em água de mar foi usada através da introdução da amostra por FIA e vaporização eletrotérmica (ETV) [101].

6.11.5. Separação da Matriz

Ultimamente muitos estudos vem sendo desenvolvidos para aprimorar os métodos de separação de matriz a fim de evitar interferências. Além disso, as técnicas analíticas vêm buscando métodos mais sensíveis e precisos nos sentido de atender as necessidades cada vez maiores na medida em que novos desafios surgem com relação à amostras complexas e métodos analíticos para determiná-las. A pré-concentração do analito, juntamente com a separação da matriz, formam juntas uma combinação para análises mais seletivas e sensíveis. As mais variadas metodologias para separação e pré-concentração demonstram as vantagens na eliminação dos efeitos de matriz que tanto trazem inconvenientes durante a análise, como também aumentam a sensibilidade a partir do momento em que a concentração do analito está sendo enriquecida. Desta maneira, métodos mais simples podem ser utilizados, permitindo muitas vezes sua automação [51, 62, 63, 87, 102].

6.12. Conclusão a respeito das técnicas espectroanalíticas

Todas as técnicas espectroanalíticas possuem suas vantagens e inconvenientes. A AAS necessita de uma fonte de excitação para cada elemento, sendo então mais lenta; no entanto está praticamente livre de interferências

espectrais, ao contrário do ICP OES que apesar de sua alta temperatura, está sujeito a uma série de interferências, principalmente quando se trata de matrizes complexas. Por outro lado, a alta temperatura do plasma reduz uma série de interferências químicas que podem ser problemas na AAS. A GFAAS possui como principal inconveniente, as interferências de matriz, já que sua sensibilidade é considerada alta em relação às outras técnicas, mas alguns problemas podem ser contornados com o uso de modificadores químicos, plataformas visando atomizações mais isotérmicas e corretores de background. O ICP-MS é uma técnica multielementar bastante sensível, mas possui como principal desvantagem a forte interferência isobárica provocada por íons poliatômicos, todavia podem ser superadas com técnicas de separação da matriz.

Uma técnica ideal para análise de água de mar deve ser sensível, específica, exata, aplicável tanto para os constituintes principais, quanto para traços, de alta velocidade, que não esteja sujeita às interferências e de fácil análise que possibilite sua automação. Apesar de nenhuma das técnicas citadas possuírem todos estes pré-requisitos, nada impede de se adequar métodos analíticos que tirem proveito do máximo que cada técnica possa oferecer ou continuar na busca por aquela que irá atender, pelo menos uma grande parte destes critérios.

CAPÍTULO VII

BAÍA DE TODOS OS SANTOS

7.1. Localização

A Baía de Todos os Santos compreende cerca de 927 km² e 184 km de extensão costeira continental, abriga 56 ilhas e recebe as águas doces de inúmeros rios e riachos, sendo os principais o Paraguaçu e o Subaé. O mar penetra no interior do continente através do estreitamento principal entre a cidade de Salvador e a Ilha de Itaparica. Este estreitamento possui cerca de 9 km de largura e profundidades de até 50 m. É a maior baía navegável do Brasil, com temperatura média anual de 26° C.

As bacias hidrográficas componentes deste sistema hídrico são de tamanhos variados, a exemplo das Bacias dos Rios Paraguaçu (55,317 km²), São Paulo (37 km²), Mataripe (11,07 km²), Jaguaripe (1480 km²) e Subaé (465 km²).

À frente das duas entradas da Baía de Todos os Santos, está o canal de Salvador e de Itaparica, onde é possível observar deltas de maré vazante, indicativo da direção de correntes de maré que prevalecem na baía. O canal de Itaparica, a oeste, tem cerca de 2 km de largura e profundidades inferiores a 10 m.

A Baía possui canais internos, sendo também possível a visualização do delta de vazante do canal de Salvador. O delta bifurca-se em três canais secundários responsáveis pela troca de água entre o corpo principal da baía e suas reentrâncias. Um canal mais à oeste, com profundidade média de 25 m, dirige-se à Baía de Aratu, chegando a profundidades de até 53 m. Ao norte, um segundo canal com profundidades variando de entre 35 e 12 m, comunica-se com

a Baía de Todos os Santos, através do estreito entre as ilhas dos Frades e Madre de Deus, com profundidades de até 61 m ^[37].



Figura 7.1. – Mapa da Baía de Todos os Santos

As áreas mais rasas estão localizadas na reentrância de São Francisco do Conde, canal de Itaparica e Baía de Iguape.

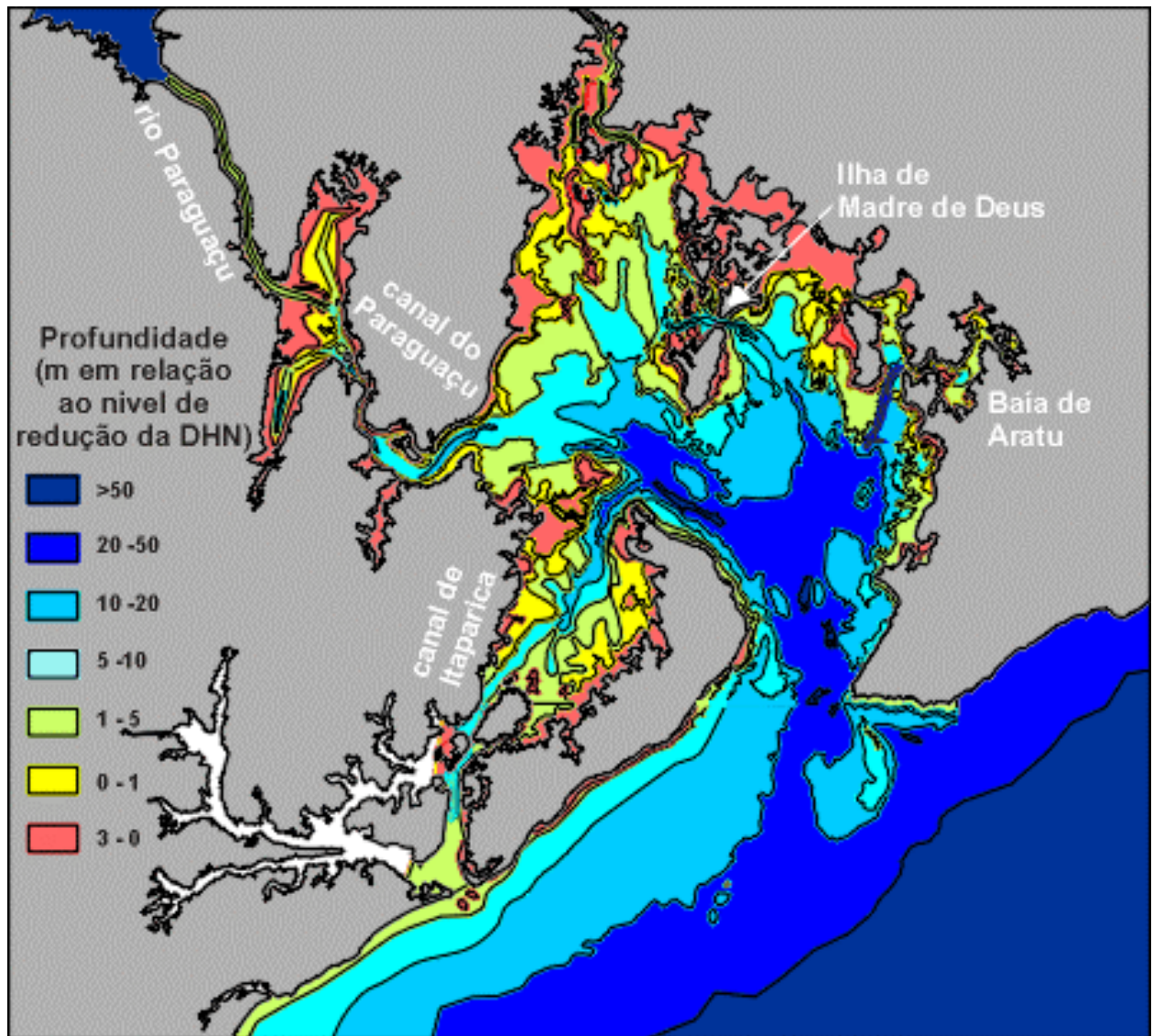


Figura 7.2. – Mapa da Profundidade da Baía de Todos os Santos



Figura 7.3. – Localidades situadas às margens da Baía de Todos os Santos

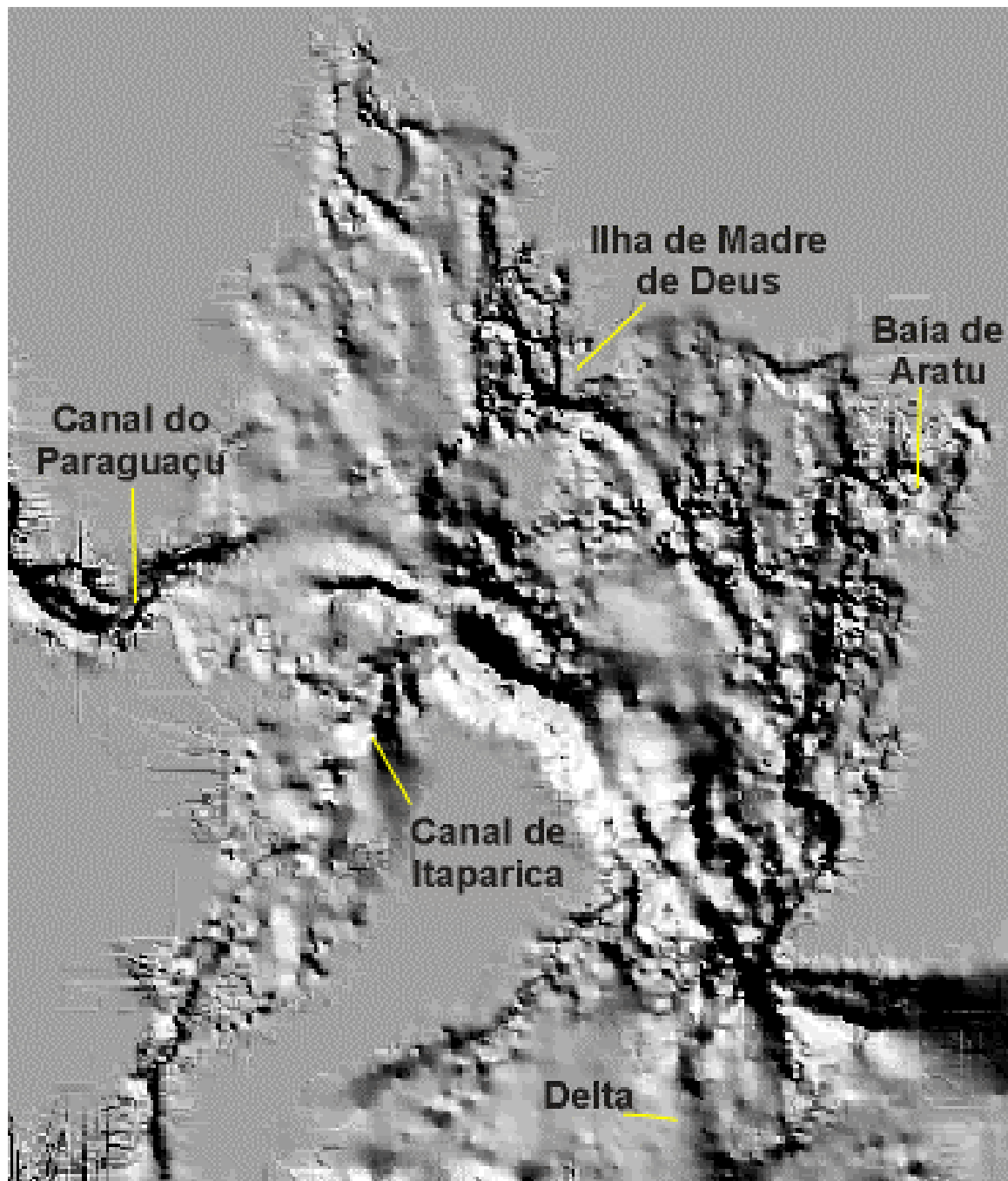


Figura 7.4. – Foto de satélite da Baía de Todos os Santos

7.2. Exploração Industrial na Região da Baía de Todos os Santos

A partir da década de 50, iniciou-se o processo de industrialização, com a implantação do Complexo Petrolífero e a instalação do Centro Industrial de Aratu e na década de 70, o Complexo Petroquímico de Camaçari. A Refinaria Landulfo Alves de Mataripe (RLAM) também foi implantada, juntamente com outras áreas industriais da Enseada dos Tainheiros. Estes centros industriais concentram uma grande variedade de indústrias destinadas à produção de insumos petroquímicos, metalurgias, siderurgia, fabricação de papel, bebidas, produtos químicos e outros. Toda esta atividade propiciou o surgimento de Terminais Portuários, como o Porto de Aratu e o Terminal Marítimo de Madre de Deus. As fotografias digitalizadas abaixo mostram alguns pontos de coleta, sendo um deles próximo à Refinaria Landulfo Alves de Mataripe e outro próximo ao Porto do Terminal Marítimo de Madre de Deus (TEMADRE).



Figura 7.5 – Refinaria Landulfo Alves de Mataripe – próximo ao ponto 3 da coleta de amostras de água de mar



(a)



(b)

Figuras 7.6 (a) e (b) - Terminal Marítimo de Madre de Deus (TEMADRE) – próximo ao ponto 04 da coleta de amostras de água de mar.

Além das indústrias foram implantadas atividades de exploração de jazidas petrolíferas na baía e no solo, como campos petrolíferos terrestres em Candeias e Mataripe. As atividades da indústria de petróleo geram vários efluentes, sendo a maior parte água de produção e em menor quantidade, fluido de perfuração, emulsões oleosas, resíduos sólidos, etc.

Os constituintes da água de mar incluem óleo disperso, hidrocarbonetos dissolvidos, ácidos orgânicos, metais e produtos químicos que são adicionados na separação e na linha de produção. Apesar destes constituintes estarem presentes em pequenas concentrações, os volumes descartados no mar são elevados. O que já é conhecido é que alguns metais como níquel e vanádio são constituintes de porfirinas presentes em concentrações significativas no óleo disperso na água proveniente das plataformas ^[103, 104].

Os problemas da industrialização provocam a destruição dos ecossistemas naturais, contribuem para a degradação do solo, das águas superficiais, podendo chegar a atingir a baía e comprometer a qualidade de suas águas e sedimentos.

A Resolução CEPRAM nº 1.152/95 enquadrou a Baía de Todos os Santos na Classe 5, segundo Resolução CONAMA 20/86 ^[27]. Esta classe contempla os seguintes usos:

1. Recreação de contato primário;
2. Proteção das comunidades aquáticas;
3. Criação natural e/ou intensiva (aquicultura) de espécies destinadas à alimentação humana.

Portanto, o monitoramento das espécies presentes em água de mar se torna indispensável, através da análise de condições adequadas para que os requisitos estabelecidos sejam atendidos.

Na tabela 7.1, encontram-se os dados referentes às análises realizadas em cinco pontos da Baía de Todos os Santos, na região de Madre Deus, conforme relatório do CRA do ano de 2002, de avaliação da qualidade das águas costeiras superficiais, juntamente com os limites relativos à Resolução CONAMA 20/86 para águas salinas Classe 5.

Tabela 7.1. - Resultados das análises da água do mar da região de Madre Deus^[37]

Parâmetros	Unidade	BS5040	BS5050	BS5150	BS5155	Res.CONAMA 20/86
Temperatura	°C	28	27	28	28	-
pH	-	7,92	8,19	8,30	8,2	6,5-8,5
OD	mg/L O ₂	6,56	6,48	6,14	6,05	> 6,0
DBO ₅	mg/L O ₂	13	13	5,4	< 2	< 5,0
Salinidade	‰	32,18	33,82	21,6	35,2	-
Fosfato total	PO ₄	0,02	ND	0,011	0,017	
Nit. amoniacoal	mg/L N- NH ₃	ND	ND	0,20	0,14	-
Turbidez		1,52	1,81	1,3	3,36	-
Sólidos totais	mg/L	33988	35126	38394	38184	-
Óleos e graxas	mg/L	ND	ND	< 5	< 5	Virt. Ausente
Cádmio	mg/L	ND	ND	< 0,02	< 0,02	0,005
Chumbo	mg/L	ND	ND	< 0,2	< 0,2	0,01
Zinco	mg/L	ND	ND	< 0,1	< 0,1	0,17
Cobre total		ND	ND	< 0,05	< 0,05	0,05
Ferro total	mg/L	ND	ND	0,33	0,48	0,3
Mercúrio	mg/L	ND	ND	< 0,0002	< 0,0002	0,0001
Cromo VI	mg/L	ND	ND	< 0,05	< 0,05	0,05
Coliforme fecal	UFC/100 mL	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	10 ³ N col/100 mL

Os valores em vermelho referem-se às violações dos limites estabelecidos pelo CONAMA.

Vale ressaltar que os métodos utilizados para determinação de metais possuem limites de detecção acima das concentrações estabelecidas pela Resolução CONAMA 20/86 ^[27].

CAPÍTULO VIII

APLICAÇÃO DE PLANEJAMENTOS FATORIAIS E MATRIZ DE DOEHLERT NA OTIMIZAÇÃO DE VARIÁVEIS EXPERIMENTAIS

8.1.Introdução

O termo “Quimiometria” passou a ser conhecido em 1972 ^[105] e é definido como uma área da Química que se refere à aplicação de métodos estatísticos e matemáticos ou outros métodos que empregam a lógica, para planejar ou selecionar a resposta ótima de procedimentos ou experimentos e fornecer as principais informações e dados relevantes de uma análise química.

Com o avanço e a sofisticação das técnicas instrumentais de análise, utilizando microcomputadores no laboratório, foram necessários tratamentos de dados mais complexos em termos estatísticos, a fim de relacionar os dados obtidos com os resultados desejados.

Na Química Analítica, as análises quantitativas tradicionais como a titulometria, por exemplo, que são mais demoradas e muitas vezes pouco sensíveis, estão dando lugar a técnicas instrumentais como Espectroscopia de Absorção Atômica, Espectroscopia de Emissão Atômica, Espectroscopia de Massa, Análise por Injeção de Fluxo, etc. Nessas técnicas é obtida uma gama de sinais (curvas, picos) que podem ser tratados para uma boa interpretação dos resultados e, conseqüentemente, uma boa quantificação. A Quimiometria se torna

então, útil para que o analista selecione e planeje o melhor procedimento analítico, realizando a otimização de maneira mais eficiente e interprete os resultados corretamente com o máximo de informações relevantes sobre os resultados.

Além disso, a maioria dos procedimentos propostos é desenvolvida através de otimização univariada convencional. Esta metodologia de otimização é considerada mais simples por apresentar resultados referentes a uma variável por vez. Contudo, este processo se mostra mais trabalhoso, pois requer um grande número de experimentos e consome uma considerável quantidade de reagentes e tempo, além de não corresponder à realidade, já que não é levada em consideração a influência das interações entre as variáveis estudadas.

8.2.Planejamento multivariado

Os sistemas multivariados podem medir muitas variáveis simultaneamente. Nesses sistemas, a conversão da resposta instrumental em um dado de interesse requer a utilização de técnicas de estatística multivariada, álgebra matricial e análise numérica. Essas técnicas constituem no momento, a melhor alternativa para a interpretação de dados e aquisição do máximo de informação sobre o sistema.

Os procedimentos de otimização de fatores com técnicas multivariadas têm sido aplicados por serem mais rápidos, econômicos e efetivos ^[106, 107], fornecendo mais informações sobre o sistema estudado, pois as interações entre os fatores são consideradas. Esta otimização pode ser acompanhada do uso de planejamento experimental que pode ser de primeira ou segunda ordem ^[108]. Os planejamentos de segunda ordem possuem vantagens sobre os de primeira porque eles não somente determinam a influência das variáveis a serem otimizadas sobre a resposta, como também melhoram a função resposta a ser obtida e otimizada.

Na execução da otimização pelo método multivariado, técnicas de planejamento experimental tais como Box-Behnken, composto central, planejamento Doehlert, entre outros podem ser utilizados.

8.3.Descrição de modelos experimentais

Como o resultado de um experimento é dependente das variáveis experimentais, o mesmo pode ser descrito como uma função baseada nessas variáveis:

$$Y = f(x) \quad [\text{Eq. 1}]$$

A função $f(x)$ é aproximadamente uma função polinomial e deve representar uma boa descrição da relação entre as variáveis experimentais e a resposta. Três tipos de modelos polinomiais podem ser utilizados para duas variáveis A e B ^[109].

O modelo polinomial trata-se do modelo de primeira ordem mais simples, contendo apenas termos lineares e descreve apenas a relação linear entre as variáveis experimentais e as respostas. Nesse modelo, as duas variáveis A e B, são expressas como:

$$Y = a + bA + cB + \varepsilon \quad [\text{Eq. 2}]$$

Onde **Y** é a resposta experimental, **A** e **B** representam as variáveis a serem otimizadas, **a** é um termo independente, **b** e **c** são os coeficientes dos termos lineares e ε o erro experimental.

A próxima função polinomial, também de primeira ordem, contém termos adicionais que descrevem as interações entre as diferentes variáveis, sendo a equação definida como:

$$Y = a + bA + cB + dAB + \varepsilon \quad [\text{Eq. 3}]$$

Onde **Y** é a resposta experimental, **A** e **B** representam as variáveis a serem otimizadas, **a** é um termo independente, **b** e **c** são os coeficientes dos termos lineares, **d** é o coeficiente do termo de interação **A** e **B** e ε é o erro experimental.

O terceiro modelo trata-se de polinômio de segunda ordem, descrito segundo a equação:

$$Y = a + bA + cB + dA^2 + eB^2 + fAB + \varepsilon \quad [\text{Eq. 4}]$$

Onde **Y** é a resposta experimental, **A** e **B** representam as variáveis a serem otimizadas, **a** é um termo independente, **b** e **c** são os coeficientes dos termos lineares, **d** e **e** são coeficientes dos termos quadráticos, **f** é o coeficiente do termo de interação e ε é o erro experimental.

É possível determinar o ponto ótimo (máximo, mínimo ou sela), através da introdução do termo quadrático no modelo, o que consiste uma vantagem da função de 2ª ordem.

Para verificar a adequação do modelo matemático, a normalidade é checada examinando o gráfico normal de probabilidade dos resíduos das respostas experimentais e dos valores estimados. A análise da dispersão dos resíduos (homoscedasticidade), é observada através do gráfico dos resíduos contra cada fator. Se o gráfico gerar uma linha horizontal com pontos igualmente distribuídos acerca do zero, sem uma forma definida, significa que os resíduos possuem a mesma dispersão e não houve erro sistemático, sendo então a indicação de homoscedasticidade, podendo o modelo ser utilizado.

A determinação dos parâmetros descritos nas funções dos modelos pode ser feita por diferentes tipos de planejamentos experimentais, incluindo, por exemplo, a matriz de Doehlert.

Assim, o sistema atua como uma função desconhecida que opera sobre variáveis de entrada (fatores) e produz como saída as respostas observadas. O objetivo do experimento é descobrir esta função, ou pelo menos obter uma

aproximação satisfatória para ela. Com este conhecimento, ponderar-se-á entender melhor a natureza da reação em estudo e assim conhecer as melhores condições de operação do sistema.

8.4.Planejamentos fatoriais de dois níveis

Considerando as variáveis de entrada como fatores (K), estes serão investigados em dois níveis, ou seja, dois valores distintos, e o planejamento fatorial consistirá em 2^k experimentos. São estipulados valores máximos (+) e mínimos (-) para os níveis estudados (podem ser também identificados como +1 e -1, respectivamente). Desta forma, fica claro que a medida em que o número de fatores aumenta, há um aumento considerável do número de experimentos que devem ser realizados. Por isto, é importante observar quais os fatores relevantes para o processo de otimização.

8.5.Planejamento Doehlert

Este desenho experimental foi introduzido por Doehlert ^[110] em 1970 e descreve uma distribuição uniforme dos pontos sobre um espaço experimental esférico com um número menor de experimentos em relação ao desenho composto central ^[111],

Os pontos da matriz de Doehlert para k fatores são gerados a partir de um modelo simplex básico de $k + 1$ pontos. Um desses pontos é o centro do planejamento e é utilizado para determinar os demais pontos experimentais pelo seu movimento em torno do eixo central, sendo então, o número total de corridas igual a $k^2 + k + 1$. Desta maneira, este planejamento leva à máxima eficiência, ou seja, a razão entre o número de coeficientes a serem avaliados e o número de corridas é maior. Embora o planejamento não seja ortogonal, não significa perda de qualidade necessária para seu uso efetivo, possuindo os requisitos de um bom

procedimento de otimização. A matriz originalmente regular, pode ser levemente deformada quando existe a necessidade de se obter os valores adequados para conduzir cada experimento. Este planejamento deformado é também uniforme por causa da área de domínio experimental constante para todos os pontos do planejamento, mostrando as condições para uniformidade das distâncias do modelo proposto por Doehlert ^[112].

A figura 8.1 mostra o desenho Doehlert para duas variáveis que consiste de um ponto central e seis pontos formando um hexágono, situado em um círculo, cuja distância de cada ponto ao ponto central são as mesmas. A matriz gerada está representada na tabela 8.1.

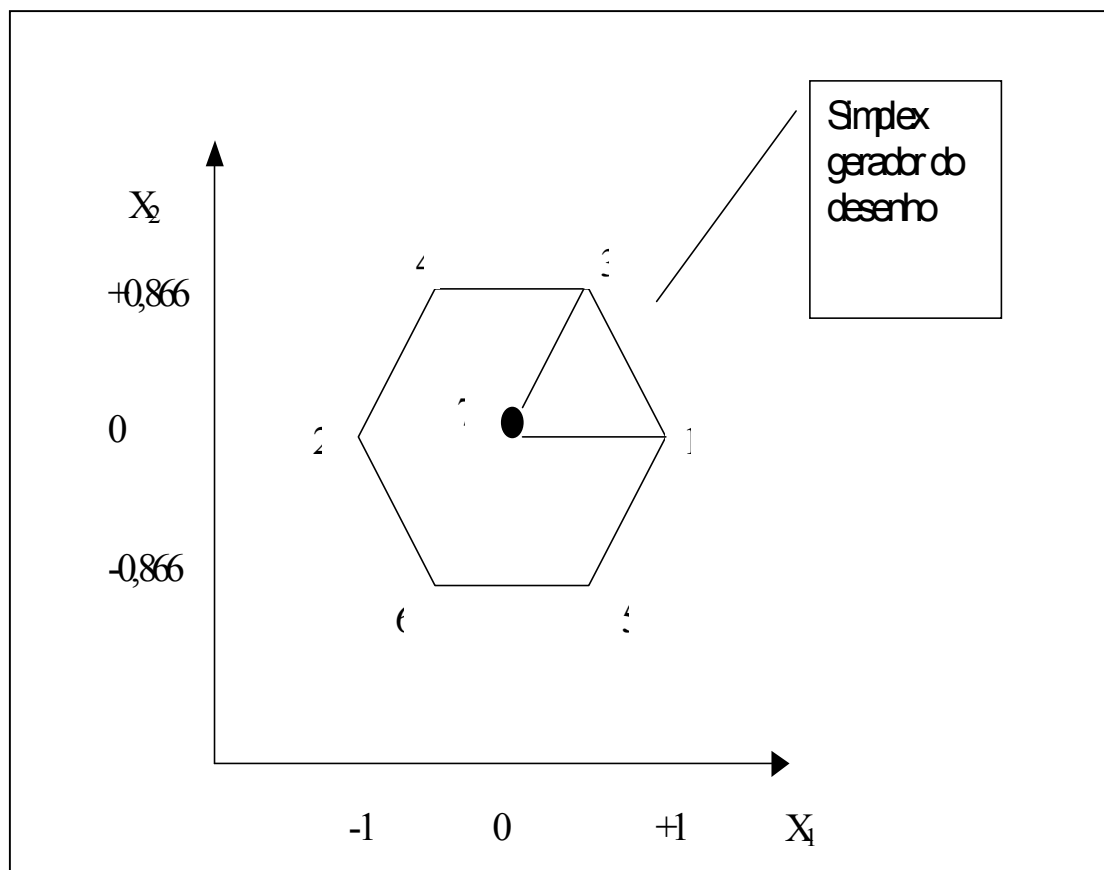


Figura 8.1. - Desenho Doehlert para duas variáveis com um ponto central gerado pelo simplex 1, 3, 7

Tabela 8.1. - Matriz de Doehlert para duas variáveis e um ponto central com os valores de X_1 e X_2 codificados

Experimento	X_1	X_2
1	+1	0
2	-1	0
3	0,5	0,866
4	-0,5	0,866
5	0,5	-0,866
6	-0,5	-0,866
7	0	0

Os planejamentos Doehlert são facilmente aplicados para otimizar variáveis experimentais e possuem vantagens em relação aos planejamentos mais utilizados como o composto central e Box-Behnken, pois necessitam de poucos experimentos e podem ser movidos através de um campo experimental, através de um planejamento seqüencial, sendo então possível empregar pontos obtidos de um planejamento prévio em um outro desenho, quando estes pontos são adjacentes. Possui ainda uma estrutura apropriada para se usar a metodologia de superfície de resposta, pois permite estimar os parâmetros experimentais por um modelo quadrático e a detecção da falta de ajuste para o modelo por meio de replicatas dos pontos centrais ^[113]. Além disso, a quantidade de níveis relatada para cada fator pode ser selecionada, para obter mais informações a respeito dos fatores significantes ou problemáticos, dependendo de sua importância experimental ou dificuldade nas condições estabelecidas.

A matriz de Doehlert é um sistema de otimização definido como planejamento de segunda ordem ^[110]. Para processos envolvendo duas variáveis (**A** e **B**) e uma resposta experimental (**Y**), o modelo é apresentado conforme a equação 4, já descrita anteriormente:

$$Y = a + bA + cB + dA^2 + eB^2 + fAB + \varepsilon \quad [\text{Eq. 4}]$$

Analisando a equação, é possível encontrar os valores ótimos de cada fator em um dado máximo da resposta analítica. A identificação dos pontos críticos (máximo, mínimo ou ponto de sela) é feita com aplicação do critério de Lagrange na equação obtida durante o processo de otimização usando os dados experimentais ^[111].

Na Química Analítica, a matriz de Doehlert tem sido aplicada em várias situações tais como: desenvolvimento de procedimento on-line para pré-concentração e determinação de zinco por Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES) ^[111], otimização de variáveis experimentais em espectrofotometria em fase sólida ^[114, 115], processo de otimização para extração simultânea de vários metais com solvente ^[112, 113], metodologia para determinação espectrofotométrica ^[116], otimização para determinação espectrofluorimétrica ^[117], metodologia para processos de separação usando cromatografia com capilar micelar eletrocínético ^[118], extração usando microondas ^[119], otimização para determinação por voltametria ^[120] e investigação de efeitos de matriz em ICP OES ^[121]. Em nosso laboratório, os planejamentos Doehlert foram usados para processos de otimização de variáveis para pré-concentração e determinação de molibdênio em água de mar por ICP OES ^[122].

No presente trabalho um novo protocolo analítico está sendo proposto para a pré-concentração e determinação de vanádio e cobre em água de mar, utilizando ICP OES. Nele, foram utilizados planejamentos fatoriais e matriz de Doehlert para otimização das variáveis experimentais, baseados na extração em fase sólida dos complexos dos íons vanádio e cobre com PAN sobre carvão ativado.

8.6. Critério de Lagrange

O critério de Lagrange é usado para a determinação do ponto crítico em equação de 2ª ordem e é baseado no cálculo da determinante de Hessian para Y. Para o caso de duas variáveis, é dado pela expressão:

$$H(A,B) = (\delta^2 Y / \delta A^2) (\delta^2 Y / \delta B^2) - (\delta^2 Y / \delta A \delta B)^2 \quad [\text{Eq. 12}]$$

O ponto crítico (a_0, b_0) é máximo se $H(a_0, b_0) > 0$ e $\delta^2 Y / \delta A^2 (a_0, b_0) < 0$ e é mínimo se $H(a_0, b_0) > 0$ e $\delta^2 Y / \delta A^2 (a_0, b_0) > 0$. A existência de uma sela ocorre, se $H(a_0, b_0) < 0$. Se a superfície de resposta tiver um ponto máximo, suas coordenadas são encontradas através da resolução do sistema de equações:

$$\delta^2 Y / \delta A^2 = 0 \text{ e } \delta^2 Y / \delta B^2 = 0 \quad [\text{Eq.13}]$$

O arranjo de um novo planejamento depende dos resultados derivados da aplicação do critério de Lagrange para a função da resposta estimada. A falta de um máximo dentro do domínio experimental do planejamento, torna necessário um novo desenho na região onde a resposta ótima desejada é pretendida.

8.7. Metodologia de Superfície de Resposta (MSR)

A Metodologia de Superfície de Resposta (MSR) inclui um grupo de técnicas estatísticas e matemáticas designadas a otimizar a resposta analítica, produzindo um modelo, no qual a função resposta corresponda a várias variáveis chamadas de fatores.

Uma maneira de obter melhores condições dos resultados é o uso do método de operação evolucionária (EVOP- *evolutionary operation*), proposto por Box ^[114], onde neste planejamento, aconselha-se variar dois ou três fatores de cada vez, em dois níveis. Trata-se de uma estratégia de multioptimização formal,

que utiliza a combinação da MSR com o método gradiente. Este último indica a direção da região ótima caso seja necessária a construção de um novo planejamento. A cada passo, o ponto crítico (máximo, mínimo ou sela) é localizado, e a partir de cálculo do vetor gradiente é possível encontrar a região experimental sobre a qual o planejamento consecutivo deve ser construído, se necessário.

8.8. Análise de Variância (ANOVA)

Para identificar quais os fatores significativos e/ou suas interações em um planejamento experimental, é necessário um tratamento estatístico confiável e eficiente que permita reconhecer quais os fatores que possuem relevância quando o procedimento analítico é submetido a determinadas condições.

A Análise de Variância, conhecida como ANOVA, é uma técnica estatística extremamente reconhecida que pode ser usada para separar e estimar as diferentes causas da variação. Pode ser usada para separar qualquer variação que é causada por mudanças do fator controlado, de uma variação proveniente de erros aleatórios.

Para avaliar a qualidade do ajuste do modelo experimental, é de fundamental importância a análise dos resíduos. Para um modelo ser considerado como próximo do ideal, o resíduo deve ser o mínimo possível.

A análise de variância de um modelo é feita através da decomposição algébrica dos desvios das respostas observadas em relação à resposta média global ($y_i - \bar{y}$) e pode ser decomposto em duas parcelas:

$$(y_i - \bar{y}) = (\hat{y}_i - \bar{y}) + (y_i - \hat{y}_i) \quad [\text{Eq.5}]$$

Onde a primeira parcela ($\hat{y}_i - \bar{y}$) representa o desvio da previsão feita pelo modelo para o ponto em questão \hat{y}_i , em relação a média global \bar{y} . A segunda

parcela é a diferença entre o valor observado e o valor previsto. Em um modelo bem ajustado, essa segunda diferença deve ser pequena.

Para expressar a comparação dos desvios em termos quantitativos é necessário elevar a equação ao quadrado e fazer o somatório sobre todos os pontos. Tem-se então:

$$\sum (y_i - \check{y})^2 = \sum [(\hat{y}_i - \check{y}) + (y_i - \hat{y}_i)]^2 \quad [\text{Eq. 6}]$$

$$\sum (y_i - \check{y})^2 = \sum (y_i - \check{y})^2 + \sum (\hat{y}_i - \check{y})(y_i - \hat{y}_i) + \sum (y_i - \hat{y}_i)^2 \quad [\text{Eq. 7}]$$

O somatório dos produtos $(\hat{y}_i - \check{y})(y_i - \hat{y}_i)$ é zero, portanto:

$$\sum (y_i - \check{y})^2 = \sum (\hat{y}_i - \check{y})^2 + \sum (y_i - \hat{y}_i)^2$$

[Eq. 8]

Estas somas dos quadrados dos desvios são chamadas de somas quadráticas (S.Q.), sendo que:

S.Q. em torno da média = S.Q. devido à regressão + S.Q. residual

Ou,

$$SQ_T = SQ_R + SQ_r \quad [\text{Eq. 9}]$$

Quanto maior for a fração descrita pela regressão, melhor será o ajuste do modelo, já que uma parte da variação total das observações em torno da média é descrita pela equação de regressão.

$$R^2 = \frac{SQ_R}{SQ_T} = \frac{\sum (\hat{y}_i - \check{y})^2}{\sum (y_i - \check{y})^2} \quad [\text{Eq.10}]$$

R^2 é chamado de coeficiente de determinação do modelo, sendo seu valor máximo 1. Significa dizer que quanto mais próximo de 1, menor o resíduo e melhor o ajuste do modelo.