

Artigo

Especiação de Metais e Metaloides em Ambientes Aquáticos: Conceitos, Técnicas e Aplicações

Gontijo, E. S. J.; Monteiro, A. S. C.; Rosa, A. H.

Rev. Virtual Quim., 2017, 9 (5), 1910-1929. Data de publicação na Web: 30 de agosto de 2017

<http://rvq.sbq.org.br>

Metal and Metalloid Speciation in Aquatic Environments: Concepts, Techniques and Applications

Abstract: Aquatic environments are dynamic systems, where metals and metalloids are continuously transformed and mobilised through different chemical forms among organic and inorganic substances and particulate material. These different forms of an element have different behaviours in a way that its total concentration provides just incomplete information related to mobility, bioavailability and toxicity. This work aimed to show the main features of the behaviour of metals and metalloids in aquatic environments and present the main techniques used in the investigation of chemical species and/or interactions with colloids and particulate material. Some of these techniques include filtration, ultrafiltration (UF), diffusive gradients in thin films (DGT), scanned deposition potential (SCP) and absence of gradients and nernstian equilibrium stripping (AGNES). Speciation and fractioning studies of water samples can indicate the potential bioavailability and mobility of metals and metalloids, especially when different techniques are used together.

Keywords: Ultrafiltration; DGT; electrochemical techniques; trace metals; organic ligands.

Resumo

Ambientes aquáticos são sistemas dinâmicos, onde metais e metaloides transformam-se constantemente e são mobilizados em diferentes formas químicas na presença de substâncias orgânicas, inorgânicas e material particulado. Essas diferentes formas de um dado elemento possuem diversos comportamentos no ambiente, de modo que apenas a análise da sua concentração total fornece informações incompletas relativas a mobilidade, biodisponibilidade e toxicidade. Este trabalho teve como objetivos mostrar os principais aspectos do comportamento de metais e metaloides no meio aquático e apresentar algumas das principais técnicas utilizadas para estudo das suas espécies químicas e/ou interações com coloides e material particulado. Algumas dessas técnicas incluem filtração, ultrafiltração, difusão em filmes finos por gradientes de concentração (DGT), cronopotenciometria de redissolução anódica (SCP) e redissolução nernstiana na ausência de gradientes (AGNES). Estudos de especiação e fracionamento de amostras de água podem indicar a potencial biodisponibilidade e mobilidade de metais e metaloides, especialmente quando diferentes técnicas são aplicadas em conjunto.

Palavras-chave: Ultrafiltração; DGT; técnicas eletroquímicas; metais-traço; ligantes orgânicos.

* Universidade Estadual Paulista, Instituto de Ciência e Tecnologia, Campus de Sorocaba, CEP 18087-180, Sorocaba-SP, Brasil.

✉ ahrosa@sorocaba.unesp.br

DOI: [10.21577/1984-6835.20170112](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20170112)

Especação de Metais e Metaloides em Ambientes Aquáticos: Conceitos, Técnicas e Aplicações

Erik S. J. Gontijo,^a Adnivia S. C. Monteiro,^{a,b} André Henrique Rosa^{a,*}

^a Universidade Estadual Paulista, Instituto de Ciência e Tecnologia, Campus de Sorocaba, CEP 18087-180, Sorocaba-SP, Brasil.

^b Universidade de São Paulo, Instituto de Química, São Paulo-SP, Brasil.

* ahrosa@sorocaba.unesp.br

Recebido em 24 de agosto de 2017. Aceito para publicação em 24 de agosto de 2017

1. Introdução
2. Metais e metaloides em ambientes aquáticos
3. Técnicas analíticas empregadas em estudos de metais e metaloides em ambientes aquáticos
 - 3.1. Difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT)
 - 3.2. Filtração e ultrafiltração
 - 3.3. Redissolução nernstiana na ausência de gradientes (AGNES)
 - 3.4. Cronopotenciometria de redissolução anódica (SCP)
 - 3.5. Eletrodos Íon-Seletivos (ISE)
 - 3.6. Troca por Ligante de Competição – Voltametria de Redissolução Adsorviva (CLE-AdSV)
4. Aplicações de técnicas de especação no estudo da distribuição de metais
5. Considerações finais

1. Introdução

O ambiente é um sistema complexo, dinâmico e dependente de processos físicos, químicos e biológicos, muitas vezes conectados e interdependentes. Por isso, qualquer alteração nas concentrações de seus constituintes maiores e menores é capaz de alterar o equilíbrio das espécies.^{1,2} Então, torna-se importante entender o comportamento de metais e metaloides em águas naturais, assim como a sua constante

troca entre compartimentos e a biota.²

A toxicidade e biodisponibilidade de metais-traço em meio aquático é dependente de vários fatores como a sua forma química, concentração no meio e tendência de formar compostos de coordenação com ligantes.^{1,3} Alguns elementos, por exemplo, já são muito tóxicos quando em concentrações muito baixas, particularmente o As, Cd, Pb, Hg, Cr e o Al. Outros, como o Mn, Fe, Cu, Zn, Ni, Co e o Se (elementos essenciais), são tóxicos somente quando presentes em

concentrações mais altas, dependendo também do tipo de organismo considerado e espécies químicas presentes no meio.¹ Assim, para prever a potencial biodisponibilidade, mobilidade e toxicidade de um dado elemento em águas naturais é necessário quantificar as suas diferentes espécies químicas, já que apenas uma pequena parte da sua fração total estará disponível para organismos vivos.⁴ Por isso, a determinação da concentração total de metais traços na definição de padrões de qualidade da água e estudos ambientais fornece apenas informações incompletas sobre seu comportamento e destino no ambiente.^{2,5}

No estudo de metais e metaloides é importante definir o conceito de especiação, especialmente considerando a importância do estudo das diferentes espécies e o contínuo desenvolvimento de novas técnicas que permitem estudar os elementos químicos em sistemas aquáticos, suas diferentes formas e transformações. Por isso a *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) padroniza o uso do termo especiação de metais e o diferencia de fracionamento.⁶ Dessa forma, a especiação é tratada como sinônimo de distribuição de espécies químicas de um elemento em um dado sistema, o que inclui a sua composição isotópica, seu estado de oxidação, sua distribuição entre diferentes compostos orgânicos e inorgânicos, incluindo a formação de compostos de coordenação. Já o fracionamento é definido como sinônimo de classificação de um analito de acordo com suas propriedades físicas ou químicas.⁶⁻⁸

Considerando a importância do estudo das diferentes espécies químicas em sistemas aquáticos no estudo da mobilidade, biodisponibilidade de metais e metaloides, esse artigo tem como objetivo apresentar os principais aspectos da ciclagem de metais e metaloides, decorrentes de fontes naturais e antrópicas, bem como, fatores que influenciam sua dinâmica no ambiente. Além

disso, esse trabalho apresenta algumas técnicas que têm sido utilizadas em estudos de especiação e fracionamento de águas no prognóstico do comportamento de metais e metaloides em rios, lagos e reservatórios.

2. Metais e metaloides em ambientes aquáticos

Metais e metaloides são liberados naturalmente de rochas no ambiente por meio do intemperismo até atingirem os sistemas aquáticos e sedimentos. Durante esse processo, esses elementos são ciclados entre os vários compartimentos ambientais por meio de processos bióticos e abióticos.⁹ Além de do intemperismo de rochas e lixiviação dos solos, os metais e metaloides em águas podem ter origens de emissões vulcânicas (como Ni, Hg, Cd, Cr, As e Zn).^{1,9}

A contaminação de sistemas aquáticos por metais e metaloides pelo homem é um problema capaz de afetar a funcionalidade de ecossistemas e a saúde humana.^{1,10} O desflorestamento e mineração têm contribuído para exposição e erosão acelerada de solos, o que intensifica sua degradação física, química e biológica, além da perda de nutrientes e lixiviação desses elementos para os sistemas aquáticos.¹¹ Minas de ferro, por exemplo são fontes de Fe, Mn e a extração de Au é fonte especialmente de As, o qual é liberado após oxidação de minerais sulfetados associados ao Au.^{10,12,13} O lançamento de efluentes domésticos e industriais é outra importante fonte de metais em meio aquático. A preocupação relativa ao impacto da liberação de metais-traço é ainda maior considerando que eles não se degradam no ambiente.¹ Um resumo das principais fontes naturais e antrópicas de metais e metaloides em sistemas aquáticos é apresentado na Figura 1.

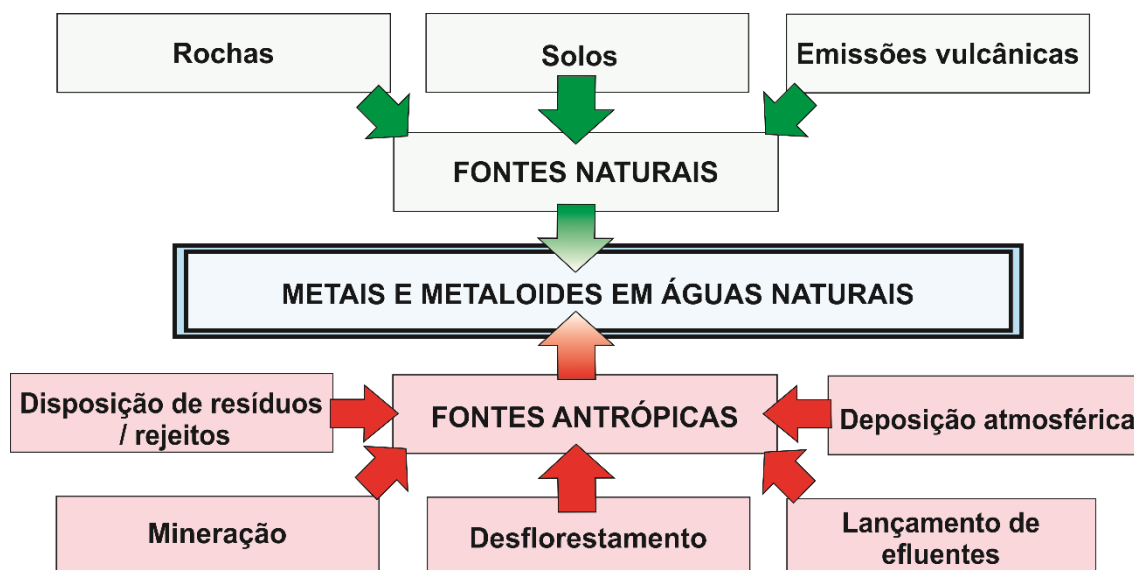
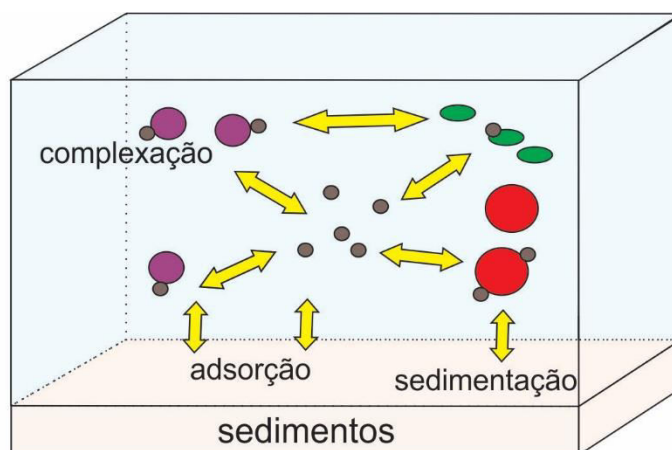


Figura 1. Principais fontes naturais e antrópicas de metais e metalóides em águas naturais

Quando atingem ambientes aquáticos, metais e metalóides podem ser transformados, mobilizados e distribuídos em diversas formas físicas e químicas. Eles podem estar na forma de íons livres (hidratados), coordenados com ligantes macromoleculares ou coloidais orgânicos ou inorgânicos, estar adsorvidos em partículas em suspensão, ou mesmo adsorvidos ou incorporados em organismos vivos.¹⁴ Essas diversas formas de um dado elemento possuem diversos comportamentos relativos a sua mobilidade, toxicidade e biodisponibilidade no ambiente.^{14,15} O estado de valência também vai influenciar a toxicidade, comportamento de sorção e consequentemente a mobilidade de metais traços em águas naturais.¹⁶ As espécies As(III) e o Sb(III), por exemplos são mais tóxicas que suas espécies pentavalentes.^{3,16} Por isso, torna-se importante distinguir entre essas diversas espécies, já que somente a

determinação da concentração total não é suficiente para prever os seus efeitos tóxicos em sistemas aquáticos.^{14,15} Um resumo das formas em que um íon metálico pode assumir em ambientes aquáticos é apresentado na Figura 2.

Dentre os agentes complexantes em águas naturais destacam-se as substâncias húmicas (SH), que são ácidos orgânicos de composição química heterogênea, compostos de moléculas com diferentes tamanhos moleculares.^{3,17,18} Grande parte da matéria orgânica dissolvida é composta de SH, que podem ser divididas em humina, ácidos húmicos e ácidos fúlvicos de acordo com a solubilidade em diferentes pH.¹⁹ Enquanto a humina é insolúvel e é presente especialmente nos sedimentos, os ácidos fúlvicos são solúveis em qualquer pH, diferente dos ácidos húmicos, que são pouco solúveis em condições ácidas (pH < 2).^{19,20}



- íons hidratados
- colóides (substâncias húmicas, argilas, óxidos de Fe)
- organismos vivos
- partículas em suspensão

Figura 2. Dinâmica de íons metálicos em ambientes aquáticos. As flechas amarelas indicam um sistema dinâmico, onde o íon livre (hidratado) pode adsorver-se em sedimentos ou partículas em suspensão e/ou sedimentar-se, complexar-se com partículas coloidais e/ou adsorver-se ou ser incorporado por organismos vivos

As SH são produtos da degradação de restos de organismos vivos e podem ter origem autóctone (dentro do próprio corpo d'água, como a partir de fitoplâncton e exsudatos) ou alóctone (a partir da lixiviação de solos e outras fontes externas).^{19,20} Os principais sítios complexantes das SH incluem grupos carboxilas, fenólicos, carbonilas e tióis, que são responsáveis pela sua interação com metais e metalóides.^{3,18,21,22} As suas características e reatividade são dependentes da sua origem, o que também vai afetar o comportamento de metais-traços em meio aquático.^{23,24}

As SH são conhecidas por formar homoagregados (agregação com mesmo tipo de coloide) ou heteroagregados (agregados com mais de um tipo de coloide), levando à formação de diferentes formas físico-químicas dos colóides, nas quais metais e metalóides podem interagir.³ As SH podem, por exemplo, manter oxi-hidróxidos de Fe em solução, influenciando sua mobilidade no ambiente.²⁵ Associações ternárias também

são possíveis, como para o As, onde as SH podem complexar diretamente ou através de complexos ternários com a participação de Al, Fe e outros cátions di- e trivalentes.^{22,26,27}

3. Técnicas analíticas empregadas em estudos de metais e metalóides em ambientes aquáticos

Os métodos analíticos convencionais (*off site*) para determinação de metais e metalóides em águas naturais envolvem etapas de amostragem, transporte, armazenamento e pré-tratamento da amostra para posterior quantificação em laboratório. Além de oneroso e aumentar o tempo de análise, esses procedimentos podem causar alterações (contaminação, alteração no equilíbrio das espécies químicas e/ou perdas por adsorção na parede do

recipiente) nas características originais da amostra e levar a formação de artefatos.^{1,5,28} Para minimizar os problemas associados aos métodos *off site*, novas abordagens analíticas (*on site* e *in situ*) têm sido propostas.^{28,32}

As análises *on site* são feitas próximos ao local de coleta, como nas margens de um rio, imediatamente após a amostragem. Para isso, os instrumentos são previamente testados e validados em laboratório para uso em campo, diminuindo assim a produção de artefatos, que possivelmente seriam produzidos durante transporte e armazenamento da amostra. As análises *in situ* são realizadas diretamente no corpo d'água e ainda têm a vantagem de minimizar a adulteração da amostra causada durante a etapa de amostragem, mantendo o equilíbrio original do sistema. As medidas feitas por análises *on site* e especialmente *in situ* são mais representativas da distribuição original das espécies em sistemas aquáticas e, por isso, são as mais desejáveis em estudos de especiação.⁵

Os estudos de especiação podem envolver a determinação das espécies de interesse por detecção direta, após digestão ácida e/ou pré-tratamento simples (acidificação e/ou filtração), ou por etapas de separação das espécies seguida de posterior quantificação.⁵ Algumas técnicas eletroanalíticas como a redissolução nernstiana na ausência de gradientes (AGNES) e a cronopotenciometria de redissolução anódica (SCP) podem ser utilizadas para detecção direta das concentrações das espécies livres e metal total, respectivamente.³¹ Os métodos mais utilizados na separação e/ou estudo das espécies são filtração, ultrafiltração (UF), cromatografia e difusão em filmes finos por gradientes de concentração (DGT). Dentre os métodos de quantificação das espécies de interesse estão os métodos eletroanalíticos

(como SCP e técnicas voltamétricas) e métodos espectroscópicos (como absorção atômica com sistema de atomização por forno de grafite, GF-AAS e espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, ICP OES).³⁰

3.1. Difusão em filmes finos por gradiente de concentração (DGT)

A difusão de filmes finos por gradientes de concentração é uma técnica baseada em um amostrador de plástico passivo simples do tipo pistão, composto de uma membrana de ésteres mistos de celulose (filtro protetor, geralmente de 0,22 ou 0,45 μm), uma camada de gel difusivo de poli(acrilamida-agarose) e uma camada de agente ligante (Figura 3). Basicamente, esse dispositivo é imerso em rios, lagos, reservatórios ou oceanos durante um período de tempo conhecido, no qual espécies livres e lábeis acumulam no gel ligante.^{33,34} É importante destacar que o DGT permite a difusão de íons metálicos livres e pequenos compostos de coordenação orgânicos e inorgânicos. Complexos maiores devem dissociar durante o tempo de imersão para serem retidos pela resina.³⁴ A concentração de metais ou metalóides no gel ligante é determinada após retirada do dispositivo do corpo d'água e eluição do gel ligante.³³

Além de sua simplicidade, o DGT possui a vantagem de permitir medições *in situ*, o que minimiza problemas de alteração da amostra relacionados a análises *off-site*.^{30,33,35} Outros pontos positivos da técnica incluem o seu caráter multielementar e a possibilidade de medir a concentração média das espécies de interesse durante longos períodos de imersão, que podem variar de dias a meses.^{33,36}



Figura 3. Esquema de um DGT e sua estrutura interna

Diferentes agentes ligantes podem ser utilizados dependendo das espécies a serem investigadas por meio de DGT. A resina Chelex-100 imobilizada em gel de poli(acrilamida-agarose) é o agente mais

utilizado e é adequada para análise de metais divalentes e/ou trivalentes (por exemplo Al, Cd e Fe).³⁷ Outros agentes ligantes utilizados em DGT para outros metais e metalóides específicos são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Agentes ligantes e espécies de interesse a serem determinadas pelo DGT

Espécies de interesse	Agente ligante e referência
As e P (fosfatos)	Ferridrita ^{32,36}
Cs e Sr	Resina de troca catiônica AG50W-X8 ³⁸
Sulfetos	AgI ³⁹
Hg	Resinas com grupos tióis ³⁷
Íons divalentes e trivalentes	Chelex 100 ^{32,34,35}

O DGT fundamenta-se na primeira lei de difusão de Fick, que descreve a difusão da matéria em meio estacionário quando em princípio não há equilíbrio, estabelecendo-se um gradiente de concentração.⁴⁰ Após

eluição do agente ligante, a massa (M) e a concentração (C_a) da(s) espécie(s) de interesse são determinadas a partir de equações (Equação 1 e Equação 2) baseadas na lei de Fick.³³

$$M = C_e(V_e - V_g)/F_e$$

Equação 1

$$C_a = M\Delta g/DtA$$

Equação 2

Nessas equações ainda são considerados a espessura do gel difusivo e do filtro de nitrato de celulose (Δg), a área em que os íons atravessam o gel difusivo (A), o fator de eluição (F_e), o volume de gel na camada de gel ligante (v_g), o volume de eluente (v_e), o

tempo de imersão dos dispositivos e o coeficiente de difusão do analito no gel difusivo (D).³³

3.2. Filtração e ultrafiltração

A filtração e ultrafiltração (UF) são utilizadas para fracionar amostras de água em diferentes frações de acordo com a porosidade das membranas e a definição operacional utilizada. O uso dessas técnicas permite separar os elementos nas frações

particuladas, dissolvidas, coloidais e livres (Figura 4), onde metais e metaloides estão presentes como uma variedade de espécies químicas.^{14,32} A técnica de UF especificamente é geralmente utilizada para separar as espécies coloidais das espécies 'livres' com o uso de membranas de baixo tamanho molecular (geralmente 1 ou 3 kDa).^{5,35,41}

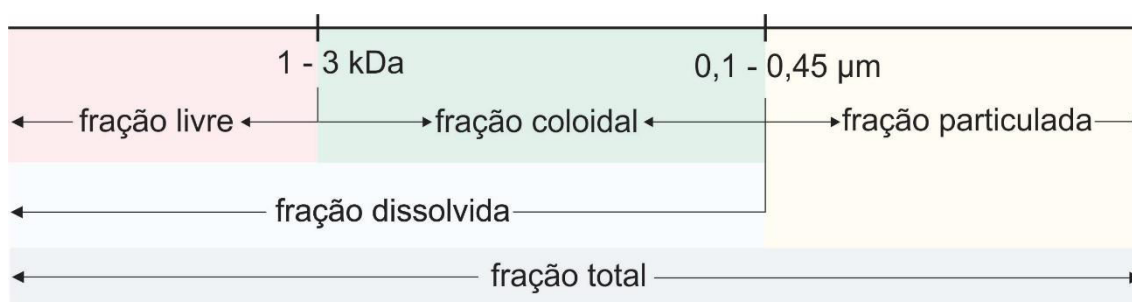


Figura 4. Fracionamento de amostras de acordo com a definição operacional

O fracionamento de amostras é uma ferramenta importante no entendimento da disponibilidade e ciclagem de metais traços em ambientes aquáticos.^{42,43} A fração particulada, por exemplo, é pouco biodisponível e tem baixa mobilidade, já que os metais e metaloides presentes nessa fração sedimentam-se mais rapidamente no fundo de sistemas aquáticos.³² Na fração coloidal, as partículas permanecem em suspensão por um maior período de tempo devido ao tamanho e estabilização eletroquímica.⁴⁴ Desse modo, as espécies presentes nessa fração têm maior mobilidade em relação a fração particulada e maior potencial de adsorção de contaminantes devido à alta área superficial de suas partículas.⁴⁴ Óxidos de Fe e Mn, argilas e

matéria orgânica, especialmente SH são exemplos de ligantes (coloidais) presentes na fração coloidal.^{3,45} A fração de menor tamanho (obtida após ultrafiltração em membranas de 1 ou 3 kDa) é considerada a mais móvel de todas e potencialmente biodisponível.³² Apesar de ser denominada fração livre por alguns autores, nela podem estar presentes pequenos complexos orgânicos e inorgânicos, além dos íons hidratados (livres). A fração denominada dissolvida compreende as frações livre e coloidal e corresponde ao permeado da filtração de amostras em membranas com porosidade entre 0,1 e 0,45 µm, dependendo da definição operacional. Um resumo das características gerais de cada fração com mais detalhes é apresentado na Tabela 2.

Tabela 2. Características gerais das frações obtidas após fracionamento de amostras de águas naturais por meio de filtração e ultrafiltração

Fração	Características gerais
Particulada	Partículas que sedimentam no fundo de um corpo d'água e transportam metais e metaloides para os sedimentos. ^{44,45} Inclui espécies adsorvidas ou ligadas à detritos minerais. ⁴³
Coloidal	Fração que possui potencial para adsorção de contaminantes, metais e metaloides devido à alta área superficial de suas partículas, que são pequenas o suficiente para não sedimentar sem agregação. A estabilização eletroquímica também é responsável por evitar a sedimentação das partículas coloidais. ⁴⁴ Dependendo das condições ambientais (como pH, salinidade e temperatura), as partículas coloidais podem agregar-se e sedimentar-se. ^{42,44}
Livre	Fração também definida como verdadeiramente dissolvida. Apesar de ser chamada de fração livre, ela é composta de íons hidratados e pequenos complexos orgânicos e inorgânicos. ⁴³ As espécies nessa fração são consideradas mais tóxicas e mais biodisponíveis. ⁴⁶

A UF pode ser aplicada para um grande número de elementos, já que o limite de detecção será dependente da técnica utilizada para determinação das espécies de interesse (como ICP OES, SCP ou GF-AAS). Além disso, o procedimento não necessita o uso de reagentes.^{35,41,47} A possível sorção de metais na membrana, a separação por cargas, a necessidade de múltiplas coletas para capturar variações temporais das espécies e a alta demanda de tempo e constituem alguns dos pontos negativos da UF.^{34,47,48} Além disso, a necessidade de armazenamento de água implica em mudanças (oxidação e/ou agregação) nas espécies originalmente presentes.³⁴ Entretanto, tem-se desenvolvido métodos para ultrafiltração e estudos de especiação *on site*, o que minimiza esses problemas.^{5,28,29,48}

Procedimentos de filtração e UF também têm sido utilizados no estudo de complexação de metais e metaloides com a matéria orgânica, especialmente com SH, em alternativa a métodos de diálise, que são mais lentos, embora possuam vantagens como redução de fontes de contaminação

(como tubos, filtros e recipiente de filtração) e minimização de entupimento da membrana pela filtração forçada.^{5,49}

3.3. Redissolução nernstiana na ausência de gradientes (AGNES)

AGNES é uma técnica eletroquímica de redissolução nernstiana na ausência de gradientes (do inglês *absence of gradients and nernstian equilibrium stripping*) desenvolvida para a determinação direta da concentração do íon metálico livre. A determinação dos íons utilizando AGNES ocorre através de duas etapas sequenciais: (1) deposição e (2) reoxidação do metal.^{3,31,50,51}

Na primeira etapa, ocorre a pré-concentração do metal na superfície do eletrodo de trabalho (gota pendente ou filme fino de mercúrio) após a aplicação de um potencial (E) próximo ao seu potencial padrão de redução, até atingir o equilíbrio termodinâmico entre o metal amalgamado e o interior da solução, seguindo a equação de

Nernst, ou seja, nesse ponto, não haverá gradientes de concentração entre o metal reduzido e oxidado.^{3,31,50,51} Na segunda etapa ocorre a reoxidação do metal amalgamado e a concentração do metal reduzido é determinada e o sinal analítico que é a resposta da técnica eletroanalítica utilizada, como a SCP, é diretamente proporcional à concentração dos íons metálicos livres no interior da solução.^{3,51}

A determinação direta do íon metálico livre na solução realizada por AGNES se assemelha a de um eletrodo de íons seletivo (EIS), porém, AGNES tem a vantagem de apresentar melhores de limite de detecção, com valores da ordem de nmol L^{-1} .^{31,50,51} Além de uma boa sensibilidade e seletividade, outra vantagem de utilizar AGNES para determinação de íons metálicos em águas naturais é a sua indiferença à adsorção de matéria orgânica na superfície do eletrodo de mercúrio. Monteiro e colaboradores (2016) demonstraram que não foi necessária a digestão das amostras de água provenientes de rios com concentrações elevadas de carbono orgânico para a quantificação dos íons Cd(II) livre utilizando AGNES.³¹

Contudo, a limitação para o uso da técnica AGNES é que poucos metais podem formar amálgama reversivelmente com o Hg (Cu, Cd, Pb, Zn, In, Tl, Bi e Sn) e sua principal desvantagem é o tempo de duração da etapa de deposição necessário para atingir o equilíbrio, que pode requerer tempos de análise muito elevados (de minutos a horas), aumentando com a diminuição da concentração do íon em solução.^{3,31,50,51}

Estudos recentes mostram a possibilidade da aplicação de AGNES em eletrodos sólidos de outros materiais, como Bi e Au, apesar dessa técnica ter sido desenvolvida originalmente para aplicação em eletrodos de Hg. A busca por materiais alternativos que apresentem desempenho eletroquímico e resultados semelhantes aos obtidos com os eletrodos de Hg surgiu devido aos problemas associados com a utilização e manipulação desse metal como toxicidade, volatilidade e descarte adequado.^{50,52}

3.4. Cronopotenciometria de redissolução anódica (SCP)

SCP é uma técnica eletroquímica de redissolução que além de apresentar sensibilidade adequada para a determinação de metais em águas naturais ($<10^{-8} \text{ nmol L}^{-1}$), permite a compreensão da especiação dinâmica do metal e da heterogeneidade dos complexos formados com ligantes, por exemplo, as SH, através de parâmetros dinâmicos, os quais podem ser extraídos das curvas de SSCP (cronopotenciometria de varredura de potencial de deposição, do inglês *scanned deposition potential*) que são construídas fazendo uma série de deposições a diferentes potenciais (medidas individuais de SCP) e representando os tempos de transição em função dos potenciais de deposição ("Pseudo-polarograma").^{3,53}

As técnicas eletroquímicas de redissolução anódica apresentam duas etapas: 1) deposição e 2) quantificação. Durante a etapa de deposição, os íons metálicos são reduzidos a um potencial constante. A quantificação da acumulação do íon metálico é realizada durante a etapa 2), chamada de redissolução, onde o íon metálico é reoxidado. A etapa 1 é idêntica em todas as técnicas de redissolução, enquanto a segunda etapa difere para cada técnica usada. Em SCP, por exemplo, a oxidação do metal é feita pela aplicação de uma corrente de oxidação constante e o sinal analítico é o tempo de eletrólise (também conhecido como tempo de transição), sendo uma variação do potencial, E , em função do tempo.^{3,53}

A vantagem em utilizar SCP em detrimento das demais técnicas eletroquímicas de redissolução é que as medidas em SCP não são sensíveis à adsorção de substâncias orgânicas na superfície do eletrodo, a qual pode afetar significativamente o sinal dos íons metálicos.^{53,54} E, em relação à SSCP, uma de suas principais vantagens é a possibilidade de determinar as constantes de

associação/dissociação do sistema em estudo, contanto que o coeficiente de difusão do ligante seja conhecido.³

Os resultados obtidos com SCP têm sido comparados com os resultados obtidos por GF-AAS e tem a vantagem de uma instrumentação mais simples, de baixo custo e a possibilidade de ser aplicada em análises *on site*.³¹

3.5. Eletrodos Íon-Seletivos (ISE)

A técnica de eletrodos de íons-seletivos (ISE) é utilizada para determinação de íons metálicos livres e tem como vantagens a facilidade de operação e medição direta sem que haja perturbação no equilíbrio e na composição da amostra.^{3,7} A técnica ser disponível apenas para um número limitado de metais e os limites de detecção do método não serem satisfatórios (geralmente entre 10^{-6} a 10^{-8} nmol L⁻¹) para muitas aplicações ambientais são pontos negativos do método.⁷

O procedimento é baseado na formação de um potencial entre a interface da membrana e a solução, quando o ISE entre em contato com a amostra. Esse potencial é medido em relação a um eletrodo de referência com uma magnitude que é proporcional a concentração de íons livres na amostra.³

3.6. Troca por Ligante de Competição – Voltametria de Redissolução Adsorvida (CLE-AdSV)

A competição através de troca por ligante associada com voltametria de redissolução adsorvida (CLE-AdSV) é uma técnica voltamétrica baseada em uma etapa de adição de um ligante (L_{ad}), que é adicionado na solução da amostra com metais de interesse (M). Após o equilíbrio na solução, aplica-se um potencial apropriado para acumulação adsorvida do complexo ML_{ad} na superfície do eletrodo de Hg. Depois dessa

etapa ocorre a redução do íon metálico adsorvido e a concentração medida corresponde à concentração do ML_{ad} na solução.^{3,55} O ligante adicionado deve ser bem caracterizado, com alta força competitiva e deve apresentar afinidade tanto com as espécies de interesse, como com a superfície do eletrodo de mercúrio. A escolha da concentração e ligante adicionado (afinidade do ligante) deve ser feita com cuidado, já que técnica pode medir tanto a concentração total de um dado metal (se afinidade do ligante for forte) em meio aquático, quanto a concentração livre ou parte dela (se a afinidade for fraca).^{3,55}

A técnica possui a vantagem da medição das espécies de interesse em concentração baixas como as encontradas em águas naturais. Além disso, ela não é restrita a metais que forma amálgama com eletrodo de Hg.⁵⁵ Limitações cinéticas entre ligantes que formam complexos muito estáveis com metais de interesse constitui um ponto negativo da técnica.⁵⁶

4. Aplicações de técnicas de especiação no estudo da distribuição de metais

Técnicas de filtração e UF geralmente são usadas para estudar a distribuição dos elementos tanto em águas naturais quanto em soluções sintéticas. Gontijo e colaboradores estudaram a distribuição de Al, As e Fe em águas naturais após filtração e UF de amostras de água e imersão de dispositivos DGT *in situ*.³² O estudo também buscou avaliar a influência da matéria orgânica na distribuição desses elementos e comparar as duas técnicas utilizadas.³² As diferenças observadas nos resultados de ambas as técnicas no trabalho foram atribuídas à labilidade das espécies coloidais durante o período de imersão. Por outro lado, as medidas do DGT ocorrem em um longo e contínuo período de tempo, diferente da UF, onde os resultados referem-se somente as espécies presentes no

momento da coleta (não reflete variação temporal).³² Enquanto Al e Fe estavam predominante na fração coloidal sendo mais inertes, o As estava presente na fração livre, sendo predominantemente lábil, móvel e potencialmente biodisponível.³²

Forsberg e colaboradores também utilizaram DGT e UF (1 kDa) para comparação de técnicas e estudos dos metais traço Cd, Cu, Mn, Ni e Zn.³⁴ Os autores apontaram os principais pontos positivos e negativos de ambas as técnicas. Enquanto os resultados de Mn, Zn e Cd medidos pelo DGT e UF foram concordantes, os resultados da UF para Cu e Ni excederam os do DGT. Essa diferença para o Cu e Ni foi atribuída a presença de espécies suficientemente pequenas para passar pelo sistema de UF, mas que não foram capazes de dissociar-se durante o tempo de imersão para serem retidas pelo DGT.³⁴ Tonello e associados também usaram DGT e UF para fracionar Al e Cu em águas ricas em matéria orgânica e afirmaram que o emprego das duas técnicas fornecem informações complementares, o que foi reforçado por Liu *et al.*^{35,43} Bauer *et al* investigaram a distribuição do As em diversas frações de soluções ricas em Fe, matéria orgânica e As(V).⁵⁷ Basicamente o estudo reforçou o papel da matéria orgânica e do Fe na mobilidade do As em sistemas aquáticos.⁵⁷

Estudos com DGT em ambientes ricos em matéria orgânica também foram conduzidos em rios amazônicos no Brasil para medição dos metais Al, Cd, Co, Cu, Mn, Ni e Zn livres e lábeis.⁵⁸ Os coeficientes de difusão aparente dos metais analisados foram determinados em laboratório a partir das amostras coletadas em campo e comparados com os coeficientes teóricos. Os experimentos *in situ* com DGT para o Co, Mn, Ni e Zn foram discordantes dos valores da fração dissolvida (<0,45 μm), o que foi atribuído a possível contaminação, imprecisões na medida do coeficiente de difusão aparente ou pelo fato do DGT medir a concentração média de um dado elemento em um período contínuo de tempo, diferente da análise dos metais dissolvidos.⁵⁸

Diferentes versões de DGT (poro aberto e restritivo) foram comparadas com a UF (1 kDa) por Österlund *et al* na determinação de Cu e Ni *in situ* em diversas profundidades no mar Báltico. Os poros do gel difusivo de DGT de poro aberto têm tamanho aproximado de 5 nm e a versão de poro restritivo de 1 nm, o que afeta as espécies que podem ser determinadas pela técnica.⁵⁹

Recentemente a técnica SCP foi utilizada tanto para a quantificação das “espécies livres”, quanto para a determinação da concentração total do Cd(II) após UF em membranas de 1 kDa, filtração e acidificação, respectivamente, das amostras de águas provenientes dos rios Itapanhaú e Sorocabinha, localizados no Estado de São Paulo-Brasil e os resultados foram comparados com os do GF-AAS para validação da metodologia. Os resultados evidenciaram o potencial e bom desempenho de SCP para ambas as análises, com limite de detecção no intervalo de 3,6 a $9,8 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ que foi da mesma ordem de grandeza do obtido por GF-AAS ($5,0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$). Além disso, os autores relatam que o método desenvolvido pode ser aplicado em futuras análises *on site*.³¹

AGNES foi implementada em eletrodo de ouro para a quantificação de Cu(II) livre pela primeira vez por Domingos e colaboradores.⁵⁰ O desempenho de AGNES foi avaliado para dois sistemas lábeis (ácido malônico (MAL) e ácido iminodiacético (IDA)) usando potencial $E=0,230 \text{ V}$ e tempo de deposição de 240 s e os resultados encontrados apresentaram concordância com os obtidos pela técnica de voltametria com varredura de potencial e com as previsões teóricas obtidas com o *software* Visual Minteq. Segundo os autores, a metodologia de AGNES em eletrodos de ouro é uma alternativa para a especiação de Cu(II) devido: ao limite de detecção obtido que foi de $11 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, o qual ainda pode ser melhorado para aplicação em águas naturais, a não toxicidade do ouro comparado aos eletrodos de Hg e ainda pela capacidade em realizar medidas sem a remoção do O_2 , o que

é um pré-requisito em análise com os eletrodos de Hg.

Monteiro *et al* aplicaram AGNES em eletrodos de filme fino de mercúrio para a determinação direta de Cd(II) livre em amostras de águas de dois rios com elevada concentração de matéria orgânica após *spike* de Cd, utilizando usando potencial $E=0,720$ V e tempo de deposição de 240 s.³¹ A metodologia proposta por esses autores oferece uma nova perspectiva para especiação de Cd(II) em águas naturais, no que diz respeito às futuras análises *on site*, uma vez que, as amostras precisam apenas ser filtradas em filtros de 0,45 μm antes das medidas. Os resultados de limite de detecção de 0,7 a $3,6 \times 10^{-9}$ mol L⁻¹ encontrados são duas ordens de grandezas menores que os encontrados por ISE.³¹ Além disso, os resultados permitiram visualizar que a especiação do Cd(II) foi diferente para os rios estudados e que a concentração do Cd(II) livre foi menor para o rio Sorocabinha em detrimento do rio Itapanhaú e a ligação do Cd(II) com a matéria orgânica natural foi principalmente eletrostática e a competição com outros íons possivelmente foi muito efetiva.³¹

A SSCP foi utilizada por Rocha e colaboradores para a obtenção dos valores dos coeficientes de difusão em sistemas completamente lábeis com polidispersidade do tamanho do ligante significativa (ligação de Cd(II) e Pb(II) em misturas binárias e ternárias do polímero quimicamente homogêneo, sulfato de poliestireno (PSS), com três tamanhos moleculares 4, 10 e 30 kDa.⁶⁰ Os resultados desse estudo revelaram que é possível determinar confiavelmente os coeficientes de difusão e os valores das constantes de estabilidade para Cd(II) e Pb(II) usando um íon metálico como sonda e, dessa forma, obter informações adicionais sobre um sistema

particular. Além disso, esses autores enfatizam a possibilidade de usar a SSCP para realizar análises de especiação *in situ* sem o procedimento de fracionamento de amostra.⁶⁰

Nason e colaboradores utilizaram a técnica voltamétrica CLE-AdSV para especiação e caracterização dos tipos de ligantes e suas interações com íons Cu(II) livre em amostras de escoamento de águas pluviais rodoviárias coletadas em quatro locais em Oregon, EUA.⁶¹ Os resultados evidenciaram que embora as concentrações totais de cobre dissolvido encontradas estiveram entre 2 e 20 $\mu\text{g L}^{-1}$, as concentrações Cu(II) livre calculadas analiticamente não excederam 6,3 ng L⁻¹ em qualquer uma das amostras sugerindo que grande parte do cobre presente nas águas pluviais rodoviárias não são biodisponíveis, existindo preferencialmente como complexos fortes de Cu-MOD.⁶¹

Em uma nova abordagem a CLE-AdSV foi empregada numa investigação mais rigorosa da relação entre a especiação e a biodisponibilidade do Fe(III) em ecossistemas marinhos, revelando que as medidas de Fe(III) por CLE-AdSV na água do mar geralmente correspondem apenas aos complexos de hidróxido dissolvido e por esta razão, estes complexos são componentes-chave do grupo de Fe(III) biodisponível.⁶² Esse estudo mostrou que as medidas usando a CLE-AdSV apresentam limitações cinéticas inerentes, representam a quantidade máxima de Fe(III) fortemente ligado e ocorrem variações consideráveis nas medidas de Fe(III) total na amostra original.⁶²

Um resumo com trabalhos onde a distribuição e/ou comportamento de metais e metaloides foram estudadas utilizando DGT, UF e outras técnicas de fracionamento e/ou especiação é mostrado na Tabela 3.

Tabela 3. Estudos de distribuição de metais e metaloides em sistemas aquáticos

Referência	Técnica utilizada	Objetivos
49	Diálise com membranas de 1 kDa	Investigar formação de associações entre matéria orgânica, As(V) e Fe(III).
32	Filtração (0,45 µm), UF (1 kDa) e DGT	Estudar distribuição de Al, As e Fe em águas naturais, influência da matéria orgânica dissolvida e comparar técnicas utilizadas.
43	Filtração (1 µm), UF (1 kDa) e DGT	Estudar a distribuição de Al, Cd, Co, Cu, Cr, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn nas frações particulada, coloidal e ultrafiltrada por UF e investigar a labilidade dos ultrafiltrados com uso de DGT.
34	UF (1 e 10 kDa) e DGT	Comparação das técnicas estudadas.
63	DGT	Estudar a especiação de metais traço no rio Tama (Japão) em diferentes regimes de vazão.
58	Filtração (0,45 µm) e DGT	Estudo dos metais Al, Cd, Co, Cu, Mn, Ni e Zn livres+lábeis por meio do DGT em rios amazônicos no Brasil e comparação dos resultados com a fração dissolvida. Determinação de coeficiente de difusão aparente dos metais analisados e comparação com coeficientes teóricos.
59	UF (1 kDa) e DGT (poro aberto e poro restritivo)	Determinação de Cu e Ni <i>in situ</i> de águas em várias profundidades do mar Báltico por meio de dois tipos de DGT (poro aberto e restritivo) e comparação com UF (1 kDa)
64	Filtração (0,22 µm), UF (1 kDa) e DGT	Técnicas de filtração, ultrafiltração e DGT foram aplicadas simultaneamente em um córrego contaminado no norte da Suécia na determinação dos metais Al, Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn. Os resultados dos metais medidos nas diferentes técnicas também foram comparados.

31	SCP, AGNES e UF (1 kDa)	Desenvolver metodologia para determinar as frações de Cd(II) total e livre utilizando SCP, AGNES e a UF-SCP, para futuras aplicações <i>on site</i> .
50	AGNES	Desenvolver metodologia eletroquímica utilizando AGNES em eletrodos sólidos vibratórios de microfios de ouro para determinar as espécies de Cu(II) na presença de sistemas lábeis.
52	AGNES-SCP	Implementar AGNES em eletrodo sólido de filme de bismuto (Bi-FE) para determinação das espécies de Pb(II) em sistema lábil e sistema não-lábil.
53	SSCP	Apresentar curvas de SSCP resultantes da complexação de Cu(II), Pb(II) e Cd(II) com água natural e suas frações de ácidos húmicos e fúlvicos e turfas.
60	SSCP	Validar os valores dos coeficientes de difusão em sistemas completamente lábeis com polidispersidade do tamanho do ligante.
61	CLE-AdSV	Especiação e caracterização dos tipos de ligantes e suas interações com íons Cu(II) livre em amostras de escoamento de águas pluviais rodoviárias.
62	CLE-AdSV	Investigar rigorosamente a relação entre a especiação e a biodisponibilidade do Fe(III) em ecossistemas marinhos.

5. Considerações finais

Metais e metaloides estão presentes em uma variedade de formas químicas que interagem com ligantes coloidais, partículas em suspensão e sedimentos em um sistema dinâmico. Isso reforça a necessidade de

analisar não apenas a suas concentrações totais, mas também frações e/ou espécies que têm impacto direto na sua biodisponibilidade, mobilidade e toxicidade. Considerando a crescente intervenção humana no ambiente e o conseqüente aumento do aporte de metais e metaloides em meio aquático, a temática de especiação torna-se relevante. Desse modo, são

desenvolvidas técnicas analíticas que permitam a determinação das espécies com sensibilidade adequada. A combinação dessas diferentes técnicas podem fornecer informações complementares sobre a dinâmica dos elementos químicos em águas naturais.

Agradecimentos

Agradecemos o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, processos 2012/17727-8; 2013/14122-0; 2016/08215-4) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), que juntamente com Serviço Alemão de Intercâmbio Acadêmico (DAAD) deram suporte por meio do projeto “*Organic Carbon cycling in Water Reservoirs of Brazil and Germany: influence of land use and hydrology*” (CAPES/DAAD, processo 99999.008107/2015-07). Os autores também agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) por bolsas e suporte financeiro.

Referências Bibliográficas

- ¹ Tercier-Waeber, M. L.; Taillefert, M. Remote *in situ* voltammetric techniques to characterize the biogeochemical cycling of trace metals in aquatic systems. *Journal of Environmental Monitoring* **2008**, *10*, 30. [CrossRef] [PubMed]
- ² Van Leeuwen, H.; Town, R. M.; Buffle, J.; Cleven, R.; Davison, W.; Puy, J.; Van Riemsdijk, W.; Sigg, L. Dynamic speciation analysis and bioavailability of metals in aquatic systems. *Environmental Science & Technology* **2005**, *39*, 8545. [CrossRef] [PubMed]
- ³ Domingos, R. F.; Gelabert, A.; Carreira, S.; Cordeiro, A.; Sivry, Y.; Benedetti, M. F. Metals in the Aquatic Environment-Interactions and Implications for the Speciation and Bioavailability: A Critical Overview. *Aquatic Geochemistry* **2015**, *21*, 231. [CrossRef] [PubMed]
- ⁴ Zhang, H.; Davison, W. Use of diffusive gradients in thin-films for studies of chemical speciation and bioavailability. *Environmental Chemistry* **2015**, *12*, 85. [CrossRef]
- ⁵ Goveia, D.; Lobo, F. A.; Burba, P.; Fraceto, L. F.; Dias Filho, N. L.; Rosa, A. H. Approach combining on-line metal exchange and tangential-flow ultrafiltration for in-situ characterization of metal species in humic hydrocolloids. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2010**, *397*, 851. [CrossRef] [PubMed]
- ⁶ Templeton, D. M.; Ariese, F.; Cornelis, R.; Danielsson, L.; Muntau, H.; Van Leeuwen, H.; Lobinski, R. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches (IUPAC Recommendations 2000). *Pure and Applied Chemistry* **2000**, *72*, 1453. [CrossRef]
- ⁷ Batley, G.; Apte, S. C.; Stauber, J. Speciation and bioavailability of trace metals in water: Progress since 1982. *Australian Journal of Chemistry* **2004**, *57*, 903. [CrossRef]
- ⁸ Nolan, A. L.; Lombi, E.; Mclaughlin, M. J. Metal bioaccumulation and toxicity in soils why bother with speciation? *Australian Journal of Chemistry* **2003**, *56*, 77. [CrossRef]
- ⁹ Garrett, R. G. Natural Sources of Metals to the Environment. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal* **2000**, *6*, 945. [CrossRef]
- ¹⁰ Pereira, A.; Van Hattum, B.; Brouwer, A.; Van Bodegom, P.; Rezende, C.; Salomons, W. Effects of iron-ore mining and processing on metal bioavailability in a tropical coastal lagoon. *Journal of Soils and Sediments* **2008**, *8*, 239. [CrossRef]
- ¹¹ An, S.; Zheng, F.; Zhang, F.; Van Pelt, S.; Hamer, U.; Makeshin, F. Soil quality degradation processes along a deforestation chronosequence in the Ziwuling area, China. *CATENA* **2008**, *75*, 248. [CrossRef]

- ¹² Varcjao, E. V. V.; Bellato, C. R.; Fontes, M. P. F.; Mello, J. W. V. Arsenic and trace metals in river water and sediments from the southeast portion of the Iron Quadrangle, Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment* **2011**, *172*, 631. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹³ Smedley, P. L.; Kinniburgh, D. G. A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry* **2002**, *17*, 517. [[CrossRef](#)]
- ¹⁴ Buffle, J.; *Complexation Reactions in Aquatic Systems: An Analytical Approach*, 1a. ed., Ellis Horwood Ltd: Chichester, 1991.
- ¹⁵ Zhang, H.; Davison, W. Use of diffusive gradients in thin-films for studies of chemical speciation and bioavailability. *Environmental Chemistry* **2015**, *12*, 85. [[CrossRef](#)]
- ¹⁶ Chou, S.; Harper, C.; Ingerman, L.; Lladós, F.; Colman, J.; Chappell, L.; Osier, M.; Odin, M.; Sage, G.; *Toxicological Profile for Arsenic*. U.S Department of Health and Human Services: Atlanta, 2007
- ¹⁷ Sargentini Junior, E.; Rocha, J. C.; Rosa, A. H.; Zara, L. F.; Santos, A. Substâncias Húmicas Aquáticas: Fracionamento Molecular e Caracterização de Rearranjos Internos Após Complexação com Íons Metálicos. *Química Nova* **2001**, *24*, 339. [[CrossRef](#)]
- ¹⁸ Wander Gustavo, B.; Shenja De Oliveira, S.; Oseas Silva, S.; Luciana Camargo De, O.; Cristine Bastos Do, A. Influência das substâncias húmicas de sedimentos na biodisponibilidade de metais para o sistema aquático. *Química Nova* **2014**, *37*, 943. [[CrossRef](#)]
- ¹⁹ McDonald, S.; Bishop, A. G.; Prenzler, P. D.; Robards, K. Analytical chemistry of freshwater humic substances. *Analytica Chimica Acta* **2004**, *527*, 105. [[CrossRef](#)]
- ²⁰ Rocha, J. C.; Rosa, A. H.; *Substâncias húmicas aquáticas: interação com espécies metálicas*. 1a. ed. Editora Unesp: São Paulo, 2003.
- ²¹ Catrouillet, C.; Davranche, M.; Dia, A.; Bouhnik-Le Coz, M.; Pédrot, M.; Marsac, R.; Gruau, G. Thiol groups controls on arsenite binding by organic matter: New experimental and modeling evidence. *Journal of Colloid and Interface Science* **2015**, *460*, 310. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²² Catrouillet, C.; Davranche, M.; Dia, A.; Coz, M. B. L.; Demangeat, E.; Gruau, G. Does As(III) interact with Fe(II), Fe(III) and organic matter through ternary complexes? *Journal of Colloid and Interface Science* **2016**, *470*, 153. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²³ Mladenov, N.; Zheng, Y.; Simone, B.; Bilinski, T. M.; Mcknight, D. M.; Nemergut, D.; Radloff, K. A.; Rahman, M. M.; Ahmed, K. M. Dissolved Organic Matter Quality in a Shallow Aquifer of Bangladesh: Implications for Arsenic Mobility. *Environmental Science & Technology* **2015**, *49*, 10815. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁴ Stevenson, F. J.; *Humus Chemistry: Genesis, Composition and Reactions*. 2a. ed. New York: John Wiley & Sons: New York, 1994.
- ²⁵ Krachler, R.; Krachler, R. F.; Wallner, G.; Hann, S.; Laux, M.; Cervantes Recalde, M. F.; Jirsa, F.; Neubauer, E.; Von Der Kammer, F.; Hofmann, T.; Keppler, B. K. River-derived humic substances as iron chelators in seawater. *Marine Chemistry* **2015**, *174*, 85. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁶ Buschmann, J.; Kappeler, A.; Lindauer, U.; Kistler, D.; Berg, M.; Sigg, L. Arsenite and Arsenate Binding to Dissolved Humic Acids: Influence of pH, Type of Humic Acid, and Aluminum. *Environmental Science & Technology* **2006**, *40*, 6015. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁷ Hoffmann, M.; Mikutta, C.; Kretzschmar, R. Arsenite Binding to Natural Organic Matter: Spectroscopic Evidence for Ligand Exchange and Ternary Complex Formation. *Environmental Science & Technology* **2013**, *47*, 12165. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁸ Burba, P.; Van Den Bergh, J.; Klockow, D. On-site characterization of humic-rich hydrocolloids and their metal loading by means of mobile size-fractionation and exchange techniques. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* **2001**, *37*, 660. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

- ²⁹ Rocha, J. C.; Rosa, A. H.; Van Den Bergh, J.; Burba, P. Characterization of humic-rich hydrocolloids and their metal species by means of competing ligand and metal exchange--an on-site approach. *Journal of Environmental Monitoring* **2002**, *4*, 799. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁰ Goveia, D.; Rocha, J. C.; Oliveira, L. C. D.; Morais, L. C. D.; Campos, V. D.; Fraceto, L. F.; Rosa, A. H. Caracterização estrutural das substâncias húmicas aquáticas extraídas dos rios itapanhaú e ribeira de iguape. *Química Nova* **2011**, *34*, 753. [[CrossRef](#)]
- ³¹ Monteiro, A. S. C.; Parat, C.; Rosa, A. H.; Pinheiro, J. P. Towards field trace metal speciation using electroanalytical techniques and tangential ultrafiltration. *Talanta* **2016**, *152*, 112. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³² Gontijo, E. S. J.; Watanabe, C. H.; Monteiro, A. S. C.; Tonello, P. S.; Da Silva, G. A.; Friese, K.; Roeser, H. M. P.; Rosa, A. H. Distribution and bioavailability of arsenic in natural waters of a mining area studied by ultrafiltration and diffusive gradients in thin films. *Chemosphere* **2016**, *164*, 290. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³³ Zhang, H.; Davison, W. Performance Characteristics of Diffusion Gradients in Thin Films for the in Situ Measurement of Trace Metals in Aqueous Solution. *Analytical Chemistry* **1995**, *67*, 3391. [[CrossRef](#)]
- ³⁴ Forsberg, J.; Dahlgvist, R.; Gelting-Nystrom, J.; Ingri, J. Trace metal speciation in brackish water using diffusive gradients in thin films and ultrafiltration: Comparison of techniques. *Environmental Science & Technology* **2006**, *40*, 3905. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁵ Tonello, P. S.; Rosa, A. H.; Abreu Jr, C. H.; Menegário, A. A. Use of diffusive gradients in thin films and tangential flow ultrafiltration for fractionation of Al(III) and Cu(II) in organic-rich river waters. *Analytica Chimica Acta* **2007**, *598*, 162. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁶ Panther, J. G.; Stillwell, K. P.; Powell, K. J.; Downard, A. J. Development and application of the diffusive gradients in thin films technique for the measurement of total dissolved inorganic arsenic in waters. *Analytica Chimica Acta* **2008**, *622*, 133. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³⁷ Fernández-Gómez, C.; Bayona, J. M.; Díez, S. Laboratory and field evaluation of diffusive gradient in thin films (DGT) for monitoring levels of dissolved mercury in natural river water. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* **2012**, *92*, 1689. [[CrossRef](#)]
- ³⁸ Chang, L.-Y.; Davison, W.; Zhang, H.; Kelly, M. Performance characteristics for the measurement of Cs and Sr by diffusive gradients in thin films (DGT). *Analytica Chimica Acta* **1998**, *368*, 243. [[CrossRef](#)]
- ³⁹ Teasdale, P. R.; Hayward, S.; Davison, W. In situ, high-resolution measurement of dissolved sulfide using diffusive gradients in thin films with computer-imaging densitometry. *Analytical Chemistry* **1999**, *71*, 2186. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁰ Colaço, C. D.; Yabuki, L. N. M.; Alcântara, A. L.; Menegário, A. A. Coeficientes de difusão de metais em materiais não convencionais (agarose e acetato de celulose) usados na técnica de difusão em filmes finos por gradientes de concentração. *Química Nova* **2012**, *7*, 1360. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴¹ Santos, A. C.; Romão, L. P. C.; Oliveira, V. L. D.; Santos, M. C.; Garcia, C. a. B.; Pescara, I. C.; Zara, L. F. Characterization of interactions between natural organic matter and metals by tangential-flow ultrafiltration and ICP OES. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2011**, *22*, 98. [[CrossRef](#)]
- ⁴² Howell, K.; Achterberg, E.; Tappin, A.; Worsfold, P. Colloidal Metals in the Tamar Estuary and their Influence on Metal Fractionation by Membrane Filtration. *Environmental Chemistry* **2006**, *3*, 199. [[CrossRef](#)]
- ⁴³ Liu, R.; Lead, J. R.; Zhang, H. Combining cross flow ultrafiltration and diffusion gradients in thin-films approaches to determine trace metal speciation in freshwaters. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **2013**, *109*, 14. [[CrossRef](#)]

- ⁴⁴ Contado, C.; Blo, G.; Conato, C.; Dondi, F.; Beckett, R. Experimental approaches for size-based metal speciation in rivers. *Journal of Environmental Monitoring* **2003**, *5*, 45. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴⁵ Allard, T.; Menguy, N.; Salomon, J.; Calligaro, T.; Weber, T.; Calas, G.; Benedetti, M. F. Revealing forms of iron in river-borne material from major tropical rivers of the Amazon Basin (Brazil)1. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **2004**, *68*, 3079. [[CrossRef](#)]
- ⁴⁶ Wen, L.-S.; Santschi, P. H.; Gill, G. A.; Paternostro, C. L.; Lehman, R. D. Colloidal and Particulate Silver in River and Estuarine Waters of Texas. *Environmental Science & Technology* **1997**, *31*, 723. [[CrossRef](#)]
- ⁴⁷ Romão, L. P. C.; Castro, G. R.; Rosa, A. H.; Rocha, J. C.; Padilha, P. M.; Silva, H. C. Tangential-flow ultrafiltration: a versatile methodology for determination of complexation parameters in refractory organic matter from Brazilian water and soil samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2003**, *375*, 1097. [[CrossRef](#)]
- ⁴⁸ Vasyukova, E. V.; Pokrovsky, O. S.; Viers, J.; Oliva, P.; Dupré, B.; Martin, F.; Candaudap, F. Trace elements in organic- and iron-rich surficial fluids of the boreal zone: Assessing colloidal forms via dialysis and ultrafiltration. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **2010**, *74*, 449. [[CrossRef](#)]
- ⁴⁹ Ritter, K.; Aiken, G. R.; Ranville, J. F.; Bauer, M.; Macalady, D. L. Evidence for the aquatic binding of arsenate by natural organic matter-suspended Fe(III). *Environmental Science & Technology* **2006**, *40*, 5380. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁰ Domingos, R. F.; Carreira, S.; Galceran, J.; Salaün, P.; Pinheiro, J. P. AGNES at vibrated gold microwire electrode for the direct quantification of free copper concentrations. *Analytica Chimica Acta* **2016**, *920*, 29. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵¹ Galceran, J.; Companys, E.; Puy, J.; Cecilia, J.; Garces, J. L. AGNES: a new electroanalytical technique for measuring free metal ion concentration. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2004**, *566*, 95. [[CrossRef](#)]
- ⁵² Rocha, L. S.; Galceran, J.; Puy, J.; Pinheiro, J. P. Determination of the Free Metal Ion Concentration Using AGNES Implemented with Environmentally Friendly Bismuth Film Electrodes. *Analytical Chemistry* **2015**, *87*, 6071. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵³ Van Leeuwen, H. P.; Town, R. M. Electrochemical Metal Speciation Analysis of Chemically Heterogeneous Samples: The Outstanding Features of Stripping Chronopotentiometry at Scanned Deposition Potential. *Environmental Science & Technology* **2003**, *37*, 3945. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁴ Town, R. M.; Van Leeuwen, H. P. Effects of adsorption in stripping chronopotentiometric metal speciation analysis. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2002**, *523*, 1. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁵ Van Leeuwen, H. P.; Jansen, S. Dynamic aspects of metal speciation by competitive ligand exchange-adsorptive stripping voltammetry (CLE-AdSV). *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2005**, *579*, 337. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁶ Van Leeuwen, H.; Town, R. Kinetic Limitations in Measuring Stabilities of Metal Complexes by Competitive Ligand Exchange-Adsorptive Stripping Voltammetry (CLE-AdSV). *Environmental Science & Technology* **2005**, *39*, 7217. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵⁷ Bauer, M.; Blodau, C. Arsenic distribution in the dissolved, colloidal and particulate size fraction of experimental solutions rich in dissolved organic matter and ferric iron. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **2009**, *73*, 529. [[CrossRef](#)]
- ⁵⁸ Yabuki, L. N. M.; Colaço, C. D.; Menegário, A. A.; Domingos, R. N.; Kiang, C. H.; Pascoaloto, D. Evaluation of diffusive gradients in thin films technique (DGT) for measuring Al, Cd, Co, Cu, Mn, Ni, and Zn in Amazonian rivers. *Environmental Monitoring and Assessment* **2014**, *186*, 961. [[PubMed](#)][[CrossRef](#)]

- ⁵⁹ Österlund, H.; Gelting, J.; Nordblad, F.; Baxter, D. C.; Ingri, J. Copper and nickel in ultrafiltered brackish water: Labile or non-labile? *Marine Chemistry* **2012**, *132*, 34. [[CrossRef](#)]
- ⁶⁰ Rocha, L. S.; Botero, W. G.; Moreira, J. A.; Costa, A. M. R.; Pinheiro, J. P. Ligand size polydispersity effect on sscp signal interpretation. *Electrochimica Acta* **2015**, *166*, 395. [[CrossRef](#)]
- ⁶¹ Nason, J. A.; Sprick, M. S.; Bloomquist, D. J. Determination of copper speciation in highway stormwater runoff using competitive ligand exchange - Adsorptive cathodic stripping voltammetry. *Water Research* **2012**, *46*, 5788. [[PubMed](#)][[CrossRef](#)]
- ⁶² Town, R. M.; van Leeuwen, H. P. Measuring marine iron(III) complexes by CLE-AdSV. *Environmental Science* **2005**, *2*, 80. [[CrossRef](#)]
- ⁶³ Aung, N. N.; Nakajima, F.; Furumai, H. Trace metal speciation during dry and wet weather flows in the Tama River, Japan, by using diffusive gradients in thin films (DGT). *Journal of Environmental Monitoring* **2008**, *10*, 219. [[PubMed](#)][[CrossRef](#)]
- ⁶⁴ Öhlander, B.; Forsberg, J.; Osterlund, H.; Ingri, J.; Ecke, F.; Alakangas, L. Fractionation of trace metals in a contaminated freshwater stream using membrane filtration, ultrafiltration, DGT and transplanted aquatic moss. *Geochemistry-Exploration Environment Analysis* **2012**, *12*, 303. [[CrossRef](#)]