



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE



INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA
FÍSICA, QUÍMICA E GEOLÓGICA

ESPECIAÇÃO ORGÂNICA DE FERRO DISSOLVIDO NA PLATAFORMA CONTINENTAL SUL BRASILEIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Oceanografia Física, Química e Geológica da Universidade Federal do Rio Grande, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Camila Fiaux Sukekava

Orientador Prof. Dr. Carlos Francisco Ferreira de Andrade

Co- Orientador Dr. Leonardo Contreira Pereira

Rio Grande, maio de 2017

Agradecimentos

Esses dois anos de mestrado foram terrivelmente cansativos e ao mesmo tempo divertidos, acho que não teria conseguido se não fosse pelo apoio de dos meus pais. Dona Eli, mãe, que embora seja brava 90% do tempo e reclame mais 10%, ainda assim ri o resto do tempo e nos diverte sempre. Velho, pai, que está sempre ali para contar aquela piada que não faz ninguém rir, mas que fingimos ser divertida para quebrar o gelo. E, porque não falar Isadora, essa peste que mora comigo que eu quero esganar todos os dias, mas que eu amo mesmo assim, e não viveria sem ela nenhum dia, pois não saberia viver um dia sem essa tormenta de emoções em casa. Como não esquecer a Michelle que é praticamente da família, não verdade, que aprendi a amar mesmo, com toda essa bagunça que vem junto e que me ajuda a escrever e discutir todos os resultados.

Nesses dois anos, eu aprendi muito, chorei muito, e voltei a aprender muito mais e graças a toda as pessoas que me acompanharam nesse trajeto. O Leonardo me ajudou muito mais que um Co orientador, praticamente me colocou nos trilhos algumas vezes e posso dizer que essa mania de ficar o tempo todo buscando coisas novas para ler e conhecer, aprendi com ele. O Carlos com a sua calma e paciência, sempre disposto a ouvir também esteve sempre ali presente.

Aos alunos da Hidroquímica: Gabriel, Thayane, Carlos e Mariele, que sempre estiveram presentes em todos os momentos, posso só agradecer por todos os momentos e ensinamentos. A Kayla por todos os embarques, todas as correções, todas os dias de laboratório das as conversas todos esses anos de amizade, só tenho a agradecer. A Laís e o Talisson meus amigos que sempre estiveram ali do meu lado, assim como o Nathan que nunca fugiu apesar não faltar oportunidades. Assim como a todas as pessoas da banca: Professora Idel e Professora Eunice. Principalmente o Felipe que me acompanha a tantos anos, muito obrigada!

RIO E O OCEANO

“Diz-se que, mesmo antes de um rio cair no oceano ele treme

De medo.

Olha para trás, para toda a jornada, os cumes, as montanhas,

O longo caminho sinuoso através das florestas, através dos

Povoados, e vê à sua frente um oceano tão vasto que entrar

Nele nada mais é do que desaparecer para sempre.

Mas não há outra maneira. O rio não pode voltar.

Ninguém pode voltar. Voltar é impossível na existência. Você

Pode apenas ir em frente.

O rio precisa se arriscar e entrar no oceano.

E somente quando ele entra no oceano é que o medo

Desaparece.

Porque apenas então o rio saberá que não se trata de

Desaparecer no oceano, mas tornar-se oceano.

Por um lado, é desaparecimento e por outro lado é

Renascimento.

Assim somos nós.

Só podemos ir em frente e arriscar.

Coragem!! Avance firme e torne-se Oceano! ”

Osho

A minha avó e Tia Maria

SUMÁRIO

Agradecimentos	ii
SUMÁRIO.....	v
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE ANEXOS	xi
Lista de acrônimos	xii
RESUMO GERAL	xiv
ABSTRACT	xvi
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	11
2. REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1. Teoria dos cálculos	16
2.2. Ligantes já identificados e sua relação com a biota	21
3. Objetivo geral.....	23
3.1. Objetivos específicos	23
CAPÍTULO I - Adaptação do método voltamétrico usando salicilaldoxima para especiação orgânica do Ferro.	24
Resumo	24
1. Introdução	24
2. Comparação dos métodos usando SA.....	29
3. Parte experimental	33
3.1. Equipamentos:	33
3.2. Reagentes, limpeza do material e dos reagentes:	33
3.3. Amostragem e condicionamento da amostra	34
4. Resultados e Discussão	34
4.1. Estabilidade do sinal.....	34
4.2. pH e temperatura	38
4.3. Avaliação da concentração de Salicilaldoxima	40
4.4. Teste de potencial de deposição	42
4.5 Velocidade de varredura para a especiação:	43

4.6. Equilíbrio do Ligante competitivo.....	44
4.7. Parâmetros de validação.....	47
4.7.1. Limite de detecção e quantificação	48
4.7.3. Linearidade.....	49
5. Protocolo de Especiação:.....	50
Determinação de ferro dissolvido total:.....	50
Especiação orgânica.....	52
6. Conclusão.....	53

CAPITULO 2 – ESPECIAÇÃO ORGÂNICA DO FERRO NA PLATAFORMA CONTINENTAL DO SUL DO BRASIL.....55

Resumo.....	55
1. Introdução.....	55
2. Área de estudo.....	57
3. Materiais e métodos.....	60
4. Resultados e Discussão	62
Massas de água.....	62
Nutrientes dissolvidos	64
Distribuição de Ferro dissolvido	69
Especiação orgânica de Ferro.....	72
Transecto do Albardão	73
Especiação orgânica do ferro no transecto de Santa Marta.....	76
Comparação dos resultados com outros estudos	77
5. Conclusões.....	80
4. CONCLUSÃO FINAL.....	81
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83
6. ANEXOS.....	93

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema demonstrativo de preparo do método de especiação orgânica. .	15
Figura 2. Representação gráfica da curva de titulação e seus respectivos modelos. A) Curva de titulação. B) Modelo da isoterma de Langmuir. C) Modelo de Ruzic/ van den Berg. D) Modelo de Scatchard.	19
Figura 3. Amostra de água do mar com 1 nM de ferro, tamponada com borato de amonio pH 8.2, SA 25 μ M, potencial de varredura 0 a -0,85 V, como método descrito por Buck et al (2012). Análise de amostra com o as linhas 1, 2 e 3 referem-se a primeira, segunda e terceira leitura efetuada.	35
Figura 4. Disposição das mangueira de ar. Mangueira denominada blanket usada na superfície da amostra (A). Mangueira instalada para vácuo (B).....	36
Figura 5. Célula voltamétrica. Sistema. Esquema demonstrativo de ar: mudanças feitas no Layout ilustrando como A. Eletrodo de referência, B. Eletrodo de Trabalho, C Eletrodo auxiliar e D agitador de teflon	37
Figura 6. Teste de estabilidade de intensidade de sinal. Amostra de Nass-6 (material de referência) referente a leitura e suas respectivas adições de solução de ferro (2, 2,5 3, 3,5 4, 4,5 5, 5,5, 6 nM). Entre cada leitura houve perda de 29 % de intensidade de corrente (nA). Resultados podem ser verificados em Anexo I.....	39
Figura 7. Concentração de salicilaldoxima em água do mar contendo 5 nM de Fe. Média e desvio padrão, respectivamente. Resultado pode ser verificado em Anexo III.	41
Figura 8. Grafico de Teste de potencial. Amostra da água do mar com 5 nM, com tempo de deposição de 2 minutos. Resultado pode ser verificado em Anexo V.	43
Figura 9. Teste de velocidade de varredura, 0.06 V/s e 0,03V/s. Feito com uma amostra coletada em Mostardas com concentração inicial 10,06. Resultado pode ser verificado em Anexo VII.	44
Figura 10. Teste do tempo de reação com amostra coletada em Cabo de Santa Marta (representando águas da plataforma) 28°S. Tempo de equilíbrio de 15 minutos (A) e de 16 horas (B), entre o equilíbrio entre os ligantes naturais e SA e a leitura. Resultados podem ser verificados em Anexo VIII.	47
Figura 11. Teste da linearidade de uma amostra de água do mar, com adições de até 10 nM de Fe. Resultados podem ser encontrados em Anexo X.	50

Figura 12.. Esquema da especiação orgânica. A) primeira etapa em que é adicionada solução tampão e SA. B) Adição de solução de padrão de ferro. C) Resultado obtido na voltametria (curva de titulação). D) Resultado da especiação orgânica (concentração de ligantes totais e constante de estabilidade)	53
Figura 13 Esquema de massas de água modificado de Möller et al. (2008), A) representa inverno e B) verão.	59
Figura 14. (A) Transecto Albardão (Ax) verão 2015 até 178 km da costa (A07 E A08) refere-se a Contreira-Pereira(em preparo), também coletados neste mesmo transecto, e (B) Transecto de inverno (ao Sul Albardão(Ax) ao norte Santa Marta (STx).	61
Figura 15. Diagrama TS e concentração de Oxigênio Dissolvido, no transecto do Albardão - A) de verão e B) de inverno. ACAS- Água Central do Atlantico Sul ; AT- Água Tropical; ASTP – Água Subtropical de Plataforma; ASAP- Água Subantartica de Plataforma e PRP – Pluma do Rio da Prata. Resultados em Anexo XI.	63
Figura 16. Diagrama TS e Oxigênio Dissolvido no inverno, no transecto de Santa Marta. ACAS- Água Central do Atlantico Sul ; AT- Água Tropical; ASTP – Água Subtropical de Plataforma; ASAP- Água Subantartica de Plataforma e PRP – Pluma do Rio da Prata. Resultados em Anexo XI.	64
Figura 17. Distribuição da concentração de silicato inorgânico dissolvido (μM) no periodo de verão ao longo do diagrama TS. A) Referente a transecto do Albardão (Verão). B) Referente ao transecto do Albardão (Inverno). AT- Água Tropical; ASTP – Água Subtropical de Plataforma; ASAP- Água Subantartica de Plataforma e PRP – Pluma do Rio da Prata. Resultados em Anexo XI.	65
Figura 18. Distribuição da concentração de nitrato inorgânico dissolvido (μM) para o periodo de verão ao longo do diagrama TS A) Referente ao transecto do Albardão (Verão). B) Referente ao transecto Do Albardão. AT- Água Tropical; ASTP – Água Subtropical de Plataforma; ASAP- Água Subantartica de Plataforma e PRP – Pluma do Rio da Prata. Resultados em Anexo XI.	66
Figura 19. Distribuição da concentração de fosfato inorgânico dissolvido (μM) para o periodo de verão ao longo do diagrama TS. A) Referente ao transecto do Albardão (Verão). B) Referente ao transecto do Albardão (inverno). AT- Água Tropical; ASTP – Água Subtropical de Plataforma; ASAP- Água Subantartica de Plataforma e PRP – Pluma do Rio da Prata. Resultados em Anexo XI.	67

Figura 20. Distribuição da concentração de Silicato [μM] (A), Fosfato [μM] (B) e Nitrato [μM] (C) inorgânico dissolvido para o período de inverno ao longo do diagrama TS no Transecto de Santa Marta .AT- Água Tropical; ASTP – Água Subtropical de Plataforma; ASAP- Água Subantártica de Plataforma e PRP – Pluma do Rio da Prata. Resultados em Anexo XI.	68
Figura 21. Distribuição da concentração de FeD (nM) no transecto do Albardão no Verão 2015. Dados deste trabalho até 100 km da costa e dados Contreira-Pereira (em preparo). (n=12). . Resultados em Anexo XI.	69
Figura 22. Distribuição da concentração de FeD (nM) no transecto do Albardão no Verão de 2015. Nas estações próximas à costa está presente somente a Pluma do Rio da Prata (PRP).....	70
Figura 23. Distribuição de FeD [nM] no inverno do Transecto do Albardão.	71
Figura 24. Distribuição de Fe ao longo do Transecto de Santa Marta no Inverno. . Resultados em Anexo XI.	71
Figura 25. Distribuição de Ligantes orgânicos (L [nM]) (A), constante de estabilidade condicional (K'_{FeL}) (B) e excesso de ligante (eL [nM]) (C) no Transecto do Albardão no período de verão. Resultados em Anexo XI.	74
Figura 26. Distribuição de Ligantes orgânicos na superfície (L [nM]) (A), constante de estabilidade condicional (K'_{FeL}) (B) e excesso de ligante (eL [nM]) (C) no Transecto do Albardão no período de inverno.	76
Figura 27. Distribuição de capacidade de complexação(A), constante de estabilidade (B) e excesso de ligantes (C) no Transecto de Santa Marta.	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Ligantes artificiais já empregados na literatura e suas vantagens e desvantagens em regiões costeiras.	27
Tabela 2. Resumo dos parâmetros metodológicos voltamétricos que utilizam a SA como ligante artificial utilizados em diferentes estudos.	29
Tabela 3. Resultados de Validação do método, (n=6). Resultados brutos encontram-se em Anexo IX.	49
Tabela 4. Tabela de parâmetros voltamétricos para determinação e especiação de ferro. * Para a determinação a velocidade de varredura empregada é inferior 0,03V/s.	51
Tabela 5. Resumo dos dados de temperatura e salinidade para a Classificações de massas de água. Fonte: Ciotti et al. (2014).	60
Tabela 6. Parâmetros chave da especiação orgânica do ferro, FeD, L, K'Fel e eL, estimados neste estudo e de outros locais no mundo. Os resultados mostram os valores mínimos e máximos de cada trabalho.	78

LISTA DE ANEXOS

Anexo I. Teste de repetibilidade. Teste feito com NASS-6 e suas respectivas adições de solução padrão de ferro, foram feitas ao todo 3 repetições.	93
Anexo II. Teste t do teste de concentração de SA (5, 10, 15, 20, 25 μ M) com $p < 0,05$, os valores em vermelho reference aquele cujos valores de p são inferiores a 0,05, ou seja, significa que existe diferença entre as médias.	94
Anexo III. Resultados referentes ao teste de concentração de salicilaldoxima (5, 10, 15, 20, 25 μ M), com os valores de média e desvio padrão das 5 repetições feitas. .	95
Anexo IV. Teste T de student, com $p < 0,05$, refere-se ao teste de potencial de deposição feito com 5nM de Fe em água do mar. Os valores em vermelho representam se existe diferença entre as médias, e em preto caso não exista.	96
Anexo V. Resultados de teste de potencial de deposição, feitos com 5 nM de Fe em água do mar.	97
Anexo VI. Resultados de todas as determinação de ferro total (nM) , amostra coletadas nesse trabalho, assim como os resultados dos dois materiais de referencia usados, NASS-5 e NASS-6, feitas e suas respectivas sensibilidades (S) de cada reta encontrada.	98
Anexo VII. Teste de especificação para melhora da sensibilidade, foi testado o aumento na velocidade de varredura.	99
Anexo VIII. Resultado do teste de tempo de equilibrio entre a SA e os ligantes naturais,	100
Anexo IX. Resultados brutos dos materiais de referencia, usados para calculos de limite de detecção, limite de quantificação, precisão e recuperação.....	101
Anexo X, Resultados de corrente ip (nA) e concentração de FeD	102
Anexo XI: Tabela final com os dados ambientais dos três transectos , Albardão e Santa Marta, no inverno e verão,	103

Lista de acrônimos

ACAS – Água Central do Atlântico Sul

AH – Ácidos Húmicos

ASTP – Água Subtropical de Plataforma

ASAP – Água Subantártica de Plataforma

AT- Água Tropical

Blanket – cobertura usada por cima da amostra

CLE - AdCSV - Voltametria Adsorptiva de Redissolução Catódica aliada a Técnica de Troca por Ligante de Competição, no inglês *Competing Ligand Exchange-Adsorptive Cathodic Stripping Voltammetry*

DAS- Descarga De Água Subterrânea

DHN – 2,3-Dihidroxi-naftaleno

Ip- intensidade da corrente do pico

eL – Excesso de ligante

Fe' – representa a soma de todas as formas inorgânicas de ferro lábil

Fe (II) – ferro em estado de oxidação 2

Fe(III) – Ferro em estado de oxidação 3

Fe⁺³ – Ferro livre

FeD- Ferro total dissolvido

FeL_x – Ferro ligado a complexos orgânicos

HNLC -, regiões com alta concentração nutrientes de baixa-clorofila, no inglês *high-nutrient low chlorophyl*

K'_{FeI'} – constante de estabilidade condicional

K'_{SA}- Coeficiente de relação dos complexos de FeSA

L – Ligantes

L_x-Ligantes naturais

LA – Ligante Artificial

PRP- Pluma do Rio da Prata

SA- salicilaldoxima

NN – 1-Nitroso-2- naftol-1

TAC – 2- (2-tiazolilazo) -4-metilfenol

α_0 – Coeficiente de ligantes naturais

α_{FeSA} – Coeficiente de deslocamento de FeSA

α_{FeSA_2} – Coeficiente de deslocamento de Fe (SA)₂

$\alpha_{Fe'}$ - Coeficiente de ativação de Fe'

β'_{SA_2} - Coeficiente de relação dos complexos de FeSA₂

RESUMO GERAL

O Ferro é um micronutriente essencial para o fitoplâncton, presente em pequenas concentrações no meio marinho, apesar que, em zonas costeiras como a Plataforma Continental Sul Brasileira possa ser encontrado em concentrações mais elevadas. Sua biodisponibilidade e solubilidade na água do mar dependem principalmente da sua complexação por moléculas orgânicas. Deste modo, muitos estudos têm sido desenvolvidos e relacionados à especiação orgânica deste elemento. Para tanto, tem se buscado o aprimoramento e a implementação de métodos mais eficientes para a especiação orgânica desse elemento. Conhecendo a escassez de trabalhos relacionados à especiação orgânica de ferro na costa brasileira, principalmente na região sul, onde existe altas concentrações deste elemento. Este estudo tem como objetivo avaliar a especiação orgânica do ferro dissolvido na Plataforma Continental do Sul do Brasil (PCSB). Para isso, esse estudo foi dividido em dois capítulos: o primeiro, descreve a adaptação do método voltamétrico para a especiação orgânica de ferro (CLE-AdCSV) usando salicilaldoxima (SA) e a segunda parte deste trabalho foi feita a aplicação do método nas amostras oriundas da PCSB. No primeiro capítulo foram adaptados dois métodos: um para determinação do ferro e outro para especiação orgânica, além disso foram feitos estudos de estabilidade e intensidade do sinal analítico. Para garantir a repetibilidade, foi implementado um purga de ar filtrado acoplado a um sistema de vácuo na célula voltamétrica, a temperatura, o pH e o condicionamento da mesma também foram otimizados. Foram avaliados o potencial de deposição e a concentração de SA, tendo sido observado a melhor concentração $25\mu\text{M}$ de SA e 0 V como o melhor potencial de deposição. Dessa forma, para a análise de especiação orgânica de ferro algumas adaptações do método (CLE-AdCSV) foram feitas, dentre elas, a velocidade de varredura e o tempo de equilíbrio entre os ligantes naturais e a SA. Desse modo, adquiriu-se dois métodos nesse capítulo, sendo ambos validados usando um material certificado, obtendo-se limites de quantificação (LQ) para a determinação de Fe total e especiação de 1,06 nM e 1,43 nM, respectivamente. A partir da confiabilidade de ambos métodos foi possível investigar a biogeoquímica do ferro, em relação a especiações orgânica, na região escolhida como local de coleta de amostras. Assim, no segundo capítulo é descrito as regiões amostrais, uma localizada em frente ao Farol do Albardão e outra na região do Cabo Santa Marta, entre 32°S e $28,5^{\circ}\text{S}$, respectivamente. A bordo do Navio Oceanográfico Atlântico Sul foram coletadas amostras de água durante o verão e inverno de 2015 no transecto do Albardão e durante o inverno de 2015 em Santa Marta. Em ambas as localidades, as amostras de água foram com garrafas Go-Flo (coletadas superfície e fundo) no verão e um sistema do tipo "fish" (somente superfície) no inverno. Foram analisados nutrientes inorgânicos dissolvidos (nitrato, silicato e fosfato) e perfis verticais de temperatura e salinidade, obtidos utilizando um CTD. As maiores concentrações de ferro dissolvido (FeD) foram verificadas na pluma do Rio da Prata em ambos transectos. As concentrações de FeD e todos os nutrientes analisados foram menores nas massas de água mais oligotróficas, tais como, Água Tropical (AT) e Água Subtropical de Plataforma, com exceção do nitrato em Santa Marta. Essa anomalia também foi observada na presença de ligantes orgânicos na mesma região, associada à produção biológica. Como esperado, foram encontradas baixas concentrações de ferro livre, Fe^{+3} , não chegando a 1% do FeD na amostra. Além disso, foram verificadas altas capacidades de complexação (L), e

excesso de ligantes (eL) em todos os transectos, superando os valores de ferro dissolvido encontrados. Os valores da constante de estabilidade apresentado em todos os períodos amostrados variaram entre 12,32 – 8,97 o que indica até três classes de ligantes. Os resultados destes transectos foram comparados com outras localidades do mundo, mostrando semelhança com regiões ricas em ácidos húmicos, regiões de descarga fluviais e altas produções biológicas. As altas concentrações de FeD sobre a plataforma podem influenciar a formação de ligantes, gerando alta capacidade de complexação ao longo de todos os transectos, mantendo o ferro solúvel na coluna d'água e, conseqüentemente, tornando-o biodisponível. Assim acredita-se que a ação de correntes oceânicas pode atuar na distribuição deste elemento, em sua forma solúvel, para o oceano adjacente o que promoveria a fertilização de locais mais afastados da costa.

Palavras chaves: ligantes, constantes de estabilidade, especiação de ferro, plataforma brasileira

ABSTRACT

Iron is an micronutrient for phytoplankton, its concentration is small in the marine environment, although, in coastal areas like the Southern Brazilian Continental Shelf it can be found in higher concentrations. Its bioavailability and solubility in seawater depends on mainly your complexation by organic molecules. In this way, many studies have been developed and related to organic speciation of this element. To this end, has sought the improvement and the implementation of more efficient methods for organic speciation of this element. Knowing the shortage of organic speciation-related jobs in the Brazilian coast, mainly in the South, where there are high concentrations of the element. This study aims to evaluate the organic speciation of dissolved iron in the Continental Shelf of southern Brazil (PCSB). To this end, this study was divided into two chapters: the first describes the adaptation of two voltammetric methods CLE-AdCSV using salicylaldehyde (SA) and the second presents organic speciation of iron in PCSB. In the first chapter were adapted two methods: one for determination of iron and another for organic speciation. In this chapter, the results guaranteed two factors signal stability and signal strength. For repeatability: was implemented one plus purge system of filtered air and a vacuum system in cell, temperature, pH and conditioning of this were also adaptations necessary for the stability of the signal. For a better intensity were tests of potential deposition and concentration of SA, having been observed better concentrating 25 μ M de SA and 0 V as the best potential for deposition. That way in the analysis of organic speciation adaptations were also needed, including the scanning speed and time of balance between the natural ligands and the SA. Thereby acquired two methods in this chapter, both being validated using a material certificate, obtaining low limits of quantification (LQ) .1.06 nM for the determination of Fe and 1.43 nM for speciation. The best method was used for determining LQ. From the reliability of both methods it was possible to investigate the Biogeochemistry of iron in relation to organic speciation in the region chosen as site of specimen collection. Thus, in chapter two described that there were two sampling campaigns in two regions, one located in front of the Albardão and another lighthouse in the Cape Santa Marta, between 32° S and 28.5° S. On board the ship South Atlantic Oceanographic water samples were collected during the summer and winter of 2015 in transect of the Albardão and during the winter of 2015 in Santa Marta. In both localities, water samples were sampled with Go-Flo bottles (collected surface and bottom) in the summer and a system of type "fish" (surface) in the winter. Under such samples were analyzed the dissolved inorganic nutrients (nitrate, phosphate and silicate) and vertical profiles of temperature and salinity, obtained using a CTD. The largest concentrations of dissolved iron (dFe) were observed in the plume of the Río de la Plata in both transects. The dFe and all the nutrients analyzed were lower in more oligotrophic water masses, Tropical Water (WT) and Subtropical Shelf Water (SSW), except for nitrate in Santa Marta. This anomaly was also observed in the presence of organic ligands in the same region, associated with organic production. The largest concentrations of dissolved iron (EDF) were observed in the plume of the La Plat River in both transects. As expected, were found low concentrations of free iron, Fe⁺³, not reaching 1% of the dFe. In addition, verified high complexation capacities (L), and excess ligand (eL) on all transects, exceeding the values of dissolved iron found. The stability constant values, presented in all periods sampled ranged from 12.32-8.97 indicating up to three classes of ligands. The results of these transects

were compared with other places in the world showing similarity to regions rich in humic acids, river discharge and high regions organic production. The high concentrations of dFe on the shelf can influence the formation of ligand, generating high complexation capacity along all transects, keeping the iron soluble in the water column and, consequently the making it bioavailable. Thus, it is believed that the action of ocean currents can act in the distribution of this element in your form soluble, adjacent to the ocean which would promote fertilization of these sites further away from the coast.

Keywords: ligand, stability constant, shelf, iron, organic speciation

1. INTRODUÇÃO GERAL

Estudos relacionados à química do ferro no oceano têm recebido atenção nas últimas décadas (Aldrich e van den Berg, 1998; Liu e Millero, 2002), primeiramente devido a sua importância como um dos micronutrientes mais importantes para os organismos autotróficos, assim como sendo um elemento chave para processos biogeoquímicos no meio marinho (Rue e Bruland, 1995). Servindo como ligante de proteínas, o ferro, age como eletromediador para inúmeros processos metabólicos, como por exemplo, assimilação de nitrogênio, fixação de N_2 , fotossíntese e transporte de elétrons na respiração e remoção de espécies ativas de oxigênio (Rijkenberg *et al.*, 2014).

Além disso, o ferro é considerado um elemento importante na biogeoquímica global, já que este elemento já foi relacionado com períodos de glaciação e mudanças de CO_2 atmosférico (Martin, Gordon e Fitzwater, 1990), tornando-o um dos elementos de maior interesse atualmente em estudos climatológicos (Behrenfeld e Kolber, 1999).

Durante muitos anos este elemento não pôde ser analisado, embora houvesse um forte interesse científico sobre ele. Isso porque, embora possa ser encontrado em grandes concentrações na crosta terrestre, em meio marinho, o ferro encontra-se em concentrações muito pequenas, devido à sua baixa solubilidade, já que a sua forma estável Fe (III) é a menos solúvel (Liu e Millero, 2002), tornando-o um elemento desafiador em termos analíticos.

Mesmo em pequenas concentrações, na ordem de $\leq 0,2nM$ na superfície e $\sim 1nM$ em águas profundas oceânicas (Liu e Millero, 2002), este elemento pode ser encontrado em maiores concentrações próximo a suas fontes, tais como, poeira atmosférica (Jickells, 2007), aportes fluviais (Rijkenberg *et al.*, 2014), remobilização sedimentar e inputs provenientes de fontes hidrotermais em regiões profundas (Sander e Koschinsky, 2011). Em águas costeiras, descargas de águas subterrâneas também podem ser consideradas fonte desse elemento (Windom *et al.*, 2006).

O ferro pode existir em dois estados de oxidação Fe(II) e Fe(III) e ocorrer livre ou complexado por ligantes orgânicos e inorgânicos. A sua solubilidade está relacionada principalmente pelo estado de oxidação (Liu e Millero, 2002). Na coluna de água esse elemento encontra-se, geralmente, inversamente proporcional a presença de oxigênio, nessa região no perfil vertical existe maior presença de Fe(II)

espécie mais solúvel de ferro dissolvido, todavia essa fração é insignificante perante a presença de Fe(III) forma mais comum e menor solúvel de ferro nos oceanos (Turner e Hunter, 2001).

Neste contexto, locais com altas concentrações de nitrato ou de fosfato, como regiões sub Antárticas, Antártica e Pacífico Equatorial têm em comum a presença de baixas concentrações desse elemento e taxas de produção primária reduzidas, sendo o ferro um fator limitante para o crescimento do fitoplâncton (Boye *et al.*, 2001; Hirose, 2006). Estas áreas são chamadas HNLC, regiões com altas concentrações de nutrientes e baixa clorofila, no inglês *high-nutrient low chlorophyl* (Martin, 1992).

A maior parte (90~99 %) do ferro dissolvido na água do mar encontra-se ligado a moléculas orgânicas (Gerringa *et al.*, 2015; Gledhill e van den Berg, 1994), de maneira que já foi afirmado que a formação de complexos orgânicos desse elemento o torna mais solúvel e, por consequência, pode aumentar o seu tempo de residência na coluna d'água (Abualhaija e van den Berg, 2014) retardando os processos de remoção por precipitação e *scavenging* (Gerringa *et al.*, 2014). Assim muitos pesquisadores passaram a se interessar por essa forma de ferro, ou seja, pela especiação orgânica de ferro dissolvido.

A compreensão da especiação química e das reações envolvidas nas transformações das espécies é um fator importante para elucidar a sua solubilidade e, conseqüentemente, sua disponibilidade, quando em presença de excesso de ligantes, ou seja, permite estabelecer a interação entre o ciclo geoquímico e a biodisponibilidade de íons metálicos em sistemas aquáticos naturais (van den Berg, 1984). Sendo assim, a especiação orgânica do ferro dissolvido em água costeira é de extrema importância, tal qual a química deste elemento dominada por hidrólise continua, como também por processos redox de transformação (Batchelli *et al.*, 2010).

Neste contexto, ao longo das últimas décadas foram estudadas inúmeras formas de caracterizar as espécies químicas do ferro, utilizando técnicas analíticas distintas como, absorção de resinas hidrofóbicas, cromatografia líquida, resinas de trocas iônicas, técnicas de fluorescência, amperímetros e técnicas de voltametria. Dentre estas técnicas, a voltametria possui uma grande vantagem que é o mínimo manuseio da amostras (Gledhill e van den Berg, 1994), possibilitando uma menor contaminação, visto que análise de ferro em águas oceânicas é uma das mais desafiadoras (Turner e Hunter, 2001).

Ao longo dos últimos anos, muito trabalhos foram publicados visando à melhoria da análise de especiação desse elemento (Abualhaija e van den Berg, 2014; van den Berg, 2006; Buck *et al.*, 2012a; Croot e Johansson, 2000; Gledhill e van den Berg, 1994; Rue e Bruland, 1995), de maneira que, cada vez mais têm se buscado uma maior eficiência no que diz respeito à confiabilidade da coleta e da análise. Considerando a importância que o ferro tem no meio marinho é necessário avançar nas técnicas para avaliar apropriadamente o comportamento deste elemento, principalmente associado a complexos orgânicos em águas costeiras.

Em relação à aplicabilidade desses métodos no Oceano Atlântico Sul são encontrados somente quatro trabalhos, dois em região *offshore* e dois em zona costeira: referentes ao ferro. Gerringa *et al.* (2015) trabalham diretamente com a especiação orgânica do ferro, enquanto que Rijkenberg *et al.* (2014) descrevem a determinação de ferro total em um transecto a oeste do Atlântico a 1000 km da costa brasileira .

Em regiões costeiras também no Oceano Atlântico Sul, foram encontrados na literatura somente dois estudos relacionados à quantificação de ferro. Windom *et al.* (2006) relacionam a influência de descarga de água subterrânea (DAS) na costa do extremo sul do Brasil como fonte de ferro para a plataforma continental e, posteriormente, Niencheski *et al.* (2014) associaram os processos de transporte, distribuição e fontes de nutrientes, elementos traços (incluindo ferro) e alguns traçadores de DAS para a mesma região.

Embora ambos os trabalhos tenham sido direcionados à caracterização de fontes e distribuição de ferro na água costeira da referida região, nenhum deles abordou a especiação orgânica do ferro. Sendo assim, não foi elucidado até o presente momento nenhum aspecto relacionado tanto à capacidade de complexação desse elemento no meio costeiro, como ao tipo de classe em que esses complexos podem estar presentes.

O ferro dissolvido é um elemento geralmente encontrado na forma de complexos orgânicos (Turner e Hunter, 2001). Entretanto, há pouco estudo sobre o ferro na região Sudoeste do Atlântico Sul. A ausência de trabalhos relacionados aos complexos orgânicos de ferro em meio oceânico desta região se dá em função da elevada complexidade analítica inerente à análise, assim como a dificuldade de coleta

dessas amostras, tendo sido os primeiros cruzeiros a obterem amostras adequadamente coletadas realizados a partir de 2015 (INCT-COI).

Neste contexto, este trabalho avaliou pela primeira vez a capacidade de complexação de ferro e a sua constante de estabilidade na Plataforma Continental Sul Brasileira, a partir da adaptação de métodos voltamétricos usando salicilaldoxima e da aplicação dos mesmos em amostras obtidas em 2 cruzeiros.

Assim, este trabalho encontra-se subdividido em 3 partes, sendo:

(1) Referencial teórico, na qual estão descritos os métodos usando diferentes ligantes artificiais já descritos na literatura, os modelos químicos em que são baseados os cálculos para especiação orgânica (linearização de Ruzic/ van den Berg; isoterma de Langmuir e linearização de Scatchard), e, assim como, qual a relação entre especiação orgânica, seus ligantes, com a biota;

(2) A segunda parte deste trabalho encontra-se o primeiro capítulo denominado: Adaptação de dois métodos voltamétricos usando salicilaldoxima para especiação orgânica do Ferro. Neste capítulo foram descritas adaptações necessárias para análises de ferro em águas costeiras.

(3) A última parte, o segundo capítulo, refere-se à aplicação do método descrito na capítulo anterior, denominado: Especiação orgânica do Ferro na Plataforma Continental do sul do Brasil. Nesse capítulo foram apresentados resultados que abordam três transectos em dois períodos do ano de 2015, no Cabo de Santa Marta e Albardão, neles foram investigados a presença de ligantes e suas constantes de estabilidade condicional em relação a condições oceanográfica daquela região.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

A hipótese de que o ferro poderia estar complexado por moléculas orgânicas foi levantada em 1935 por Thompson e Bremner (1935). Nesse período, a comunidade científica buscava entender por que os micronutrientes nitrogênio e fósforo não eram totalmente esgotados na superfície de algumas regiões do oceano, mesmo estando em concentrações aptas à produção de fitoplâncton.

Em 1990 Martin (1990), levantou a hipótese conhecida como hipótese do Ferro, que relacionava períodos de glaciação e deglaciação, com presença de CO₂ atmosférico e ausência de limitação do ferro nos oceanos. No entanto, somente em meados dos anos noventa a hipótese de que o Fe poderia estar complexado por

moléculas orgânicas foi comprovada, em consequência de problemas analíticos que eram vivenciados até o momento. O método era baseado em uma titulação por dois estágios: a amostra era separada em inúmeras alíquotas, no primeiro estágio era adicionado uma solução padrão de ferro com concentrações diferentes em cada uma dessas alíquotas, permitindo um tempo de equilíbrio entre os ligantes naturais e a solução padrão. Em seguida era adicionada uma solução de ligante artificial, com concentração fixada, e esta permanecia mais um período em equilíbrio, para que houvesse uma competição entre os ligantes presentes. Por fim, cada uma das alíquotas era analisada por voltametria (Fig. 1).

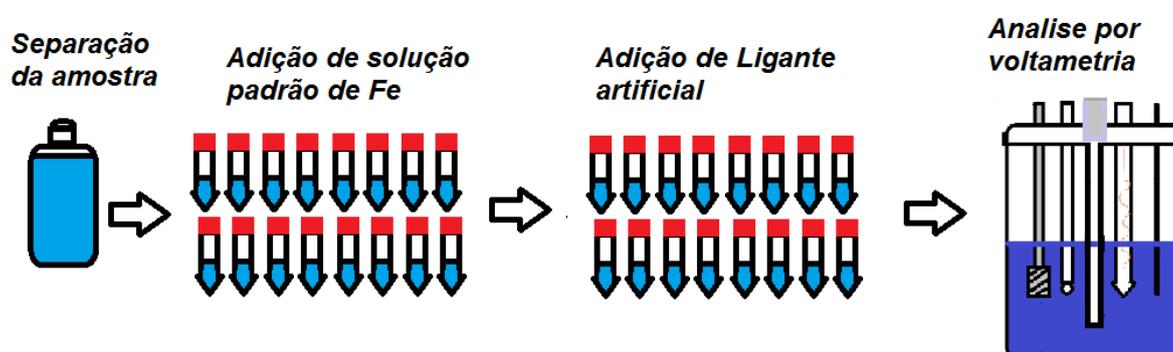


Figura 1. Esquema demonstrativo de preparo do método de especiação orgânica.

O primeiro método empregado para a especiação orgânica do ferro foi descrito por Gledhill e van den Berg (1994), no Estreito de Menai, no País de Gales, encontrando 99% do ferro dissolvido complexado por ligantes orgânicos. Sendo essa a primeira metodologia criada, na qual utilizou NN (1-nitroso-2-naphthol) como ligante artificial (LA). Nesse trabalho foi usado o modelo químico baseado na linearização de Ružic/van den Berg (van Den Berg, 1982; Ružić, 1982). Os valores de ligantes naturais (L) da amostra e constante de estabilidade condicional (K'_{FeI}) são resultado final desse modelo químico.

Outra metodologia desenvolvida por Rue e Bruland (1995), um ano depois e empregando salicilaldoxima (SA) como ligante artificial, encontrou 96% do ferro na forma complexada por ligantes orgânicos para a região central do Norte do Pacífico. Os modelos de cálculos empregados por nesse artigo utilizavam a linearização de Scatchard (Scatchard, 1949).

Em 2000, Croot e Johansson, descreveram um método próprio para ser empregado com um novo tipo de ligante chamado de TAC (2-(2-tiazolilazo) -4-

metilfenol) utilizando para os cálculos das constantes de estabilidade e capacidade de complexação (L) a função não linear de Langmuir (Sposito, 1982), já empregada para o Cobre (Campos e van den Berg, 1994). Por fim, em meados de 2006, van den Berg desenvolveu um método que empregava um ligante distinto para especiação orgânica do ferro, a 2,3-Dihidroxinaftaleno (DHN).

Esses métodos abriram caminho para análises de aproximadamente 20 mil amostras de bacias oceânicas ao longo de 25 anos, definindo a constante de estabilidade condicional ($K'_{FeL'}$ ou $K_{FeL'}$) e capacidade de complexação (L) (Caprara *et al.*, 2016). Tais estudos, identificavam o ligante mais forte de cada amostra denominado L₁, e os demais ligantes eram denominados de: L₂, L₃, L₄, ..., embora não existisse consenso para os valores de cada constante de estabilidade dos ligantes para uma comparação entre os estudos. Pensando nisso, Gledhill e Buck(2012) propuseram classificar como L₁ para $K'_{FeL'} > 12$, L₂ para $K'_{FeL'} 11-12$ e $K'_{FeL'} < 11$. Os resultados gerados de L e $K'_{FeL'}$ eram baseados nos modelos de linearização de Ružic/van den Berg e Scatchard e a função não linear Langmuir, descritos a seguir.

2.1. Teoria dos cálculos

A complexação orgânica de ferro dissolvido depende da concentração de ligantes na coluna d'água, capacidade de complexação de Fe (L_x) e sua constante de estabilidade condicional associado ($K'_{FeL'}$, ou $K_{FeL'}$), sendo ambos medidos na água do mar usando a técnica eletroanalítica CLE-AdCSV (Gledhill, e Buck, 2012).

A teoria por trás dessa técnica é baseada no balanço de massa do ferro na água do mar, por meio da fórmula:

$$[Fe_T] = [Fe'] + [FeL_x] \quad \text{Eq. 1}$$

Onde Fe' representa a soma de todas as formas inorgânicas de ferro lábil, sendo predominantemente Fe (OH)_x^{(3-x)+}. FeL_x representam o Fe ligado a compostos orgânicos. A especiação de Fe(II) não foi considerada, visto que em longos períodos de equilíbrio deve ocorrer oxidação dessas formas de ferro que ainda estejam presentes nessa solução. Reações entre uma classe de ligantes naturais e Fe inorgânicos podem ser expressos da seguinte forma (Eq. 2):



Onde L' é fornecido quando os complexos de Fe não estão aptos para ligar com Fe(III). Então, a expressão de equilíbrio é fornecida pela Eq. 3:

$$K'_{FeL} = \frac{[FeL]}{([Fe']][L']} \quad \text{Eq. 3}$$

Onde $K'_{Fe'L}$ é a constante condicional com seu respectivo Fe' em condições específicas de pH (nesse caso 8,2). Alguns autores usam a constante de estabilidade condicional incluindo a complexação inorgânica do Fe, também chamada Fe' . Essa constante é denominada $K'_{Fe'L}$, para converter $K'_{Fe'L}$ para K'_{FeL} (a constante de estabilidade para FeL com relação ao Fe^{+3} , considerado livre), usa-se um coeficiente de atividade: $\alpha_{Fe'} = [Fe']/[Fe^{+3}]$, que pode ser usado

Quando ocorre a adição do ligante artificial (LA), nesse caso a salicilaldoxima SA, esta nova condição de equilíbrio químico é restabelecida entre o LA e os ligantes naturais com o ferro, dando origem a um novo balanço de massa (Eq. 4):

$$[Fe_T] = [Fe'] + [FeL_x] + [Fe(SA)] + [Fe(SA)_2] \quad \text{Eq. 4}$$

Neste caso o Fe_T é fornecido pelo somatório das espécies: Fe' representam o somatório de todas as formas de ferro inorgânico, FeL_x o ferro complexado com ligantes orgânicos naturais e $Fe(SA)$ e $Fe(SA)_2$ são as formas de ferro complexado de Fe e salicilaldoxima.

A complexação de Fe' pela SA pode ser descrita pela Eq. 5:

$$\beta'_{Fe(SA)_2} = \frac{[Fe(SA)_2]}{[Fe'][SA]^2} \text{ e } K'_{FeSA} = \frac{[FeSA]}{[Fe'][SA]} \quad \text{Eq. 5}$$

O coeficiente de deslocamento da reação para $Fe(SA)_2$ e $FeSA$ em relação a Fe' , é estabelecido pela Eq. 6:

$$\alpha_{Fe'(SA)_2} + \alpha_{Fe'SA} = \frac{[Fe(SA)_2]}{[Fe']} + \frac{[FeSA]}{[Fe']} = \beta'_{Fe(SA)_2} [SA']^2 + K'_{FeSA} [SA]' \quad \text{Eq. 6}$$

A sensibilidade (S), é dada pela relação entre a corrente, em nA, e a concentração de FeSA ou Fe_{elábil}:

$$S = \frac{i_p}{[Fe_{Labil}]} \quad \text{Eq. 7}$$

A sensibilidade (S), determinada pela titulação, é fornecida pela relação entre intensidade de corrente e concentração. Neste caso, adições de Fe são realizadas na amostra e, para cada adição, é fornecido um valor de corrente (ip). A medida da inclinação da reta é encontrada ao final dessa titulação, quando os ligantes naturais não estão mais competindo com SA. Segundo (Croot e Johansson, 2000), os valores de S de águas oceânicas são geralmente os mesmos obtidos por adição de padrão de ferro em amostras irradiadas por UV. Entretanto, amostras costeiras como as deste trabalho, S pode ser inferior a 50% do valor obtido na determinação de Fe total, por isso o valor de S é determinado para cada uma das titulações (Croot e Johansson, 2000).

A relação entre S e [Fe] é fornecida pela Eq. 8:

$$Fe' = \frac{i_p}{\sum \alpha \times S} \quad \text{Eq. 8}$$

Onde Fe' é dado pela a corrente ip dividido pelo somatório de α vezes a sensibilidade. A titulação acontece usando a técnica CLE-AdCSV, na qual uma fração de ferro é complexada por SA, com o aumento quantitativo da concentração de Fe (spike da amostra), obtendo-se diferentes concentrações. Essa fração está relacionada com o coeficiente do deslocamento da reação fornecida pela relação a seguir (Eq. 9), ambos relacionado com Fe':

$$\frac{[Fe(SA)_2][Fe(SA)]}{[Fe_T]} = \frac{\beta'_2[SA]^2 + K'_{SA2}}{1 + \sum K'_i L_i + \beta'_2[SA]^2 + K'_{SA2}} = \frac{\alpha_{Fe'(SA)_2} + \alpha_{Fe'SA}}{1 + \alpha_0 + \alpha_{Fe'(SA)_2} + \alpha_{Fe'SA}} \quad \text{Eq. 9}$$

Onde K'_i é a constante de estabilidade, L_i é a concentração de ligantes naturais, α_0 é o coeficiente de ligantes naturais, $\beta'_2[SA]^2$ e K'_{SA2} é o coeficiente de reação dos complexos de SA, que são determinados após estabelecido o equilíbrio químico, como já demonstrado por modelos de ligantes como EDTA ou DTPA. Os valores

empregados neste trabalho foram baseados no último modelo publicado por Abualhaija e van den Berg(2014), sabendo que SA forma dois complexos, FeSA e FeSA₂, e que ambas as formas são responsáveis pela formação do pico do ferro, formados por dois coeficientes de deslocamentos de SA, onde $\text{Log } \beta'_2 [\text{SA}]^2 = 10,2$ e $\text{Log } K'_{\text{SA}2} = 6,53$,. Ambos os coeficientes são calculados através das seguintes equações.

$$\alpha_{\text{FeSA}} = K'_{\text{SA}2} \times [\text{SA}] \dots\dots\dots \text{Eq. 10}$$

$$\alpha_{\text{FeSA}2} = \beta'_2 [\text{SA}]^2 \times [\text{SA}]^2 \dots\dots\dots \text{Eq. 11}$$

Através de todas as equações descritas acima e principalmente na equação do equilíbrio de massa modificado da Eq2 para a Eq. 3 é possível descrever os três modelos anteriormente apresentados nos trabalhos de linearização de Ružic/van den Berg, linearização de Scatchard e o modelo não linear de Langmuir.

Este estudo empregou um programa denominado PromCC capaz de analisar de forma simultânea e gráfica os três modelos, como descrito no artigo de Omanović, Garnier e Pižeta (2014) (Figura 2). Estes modelos são baseados na Eq. 2.

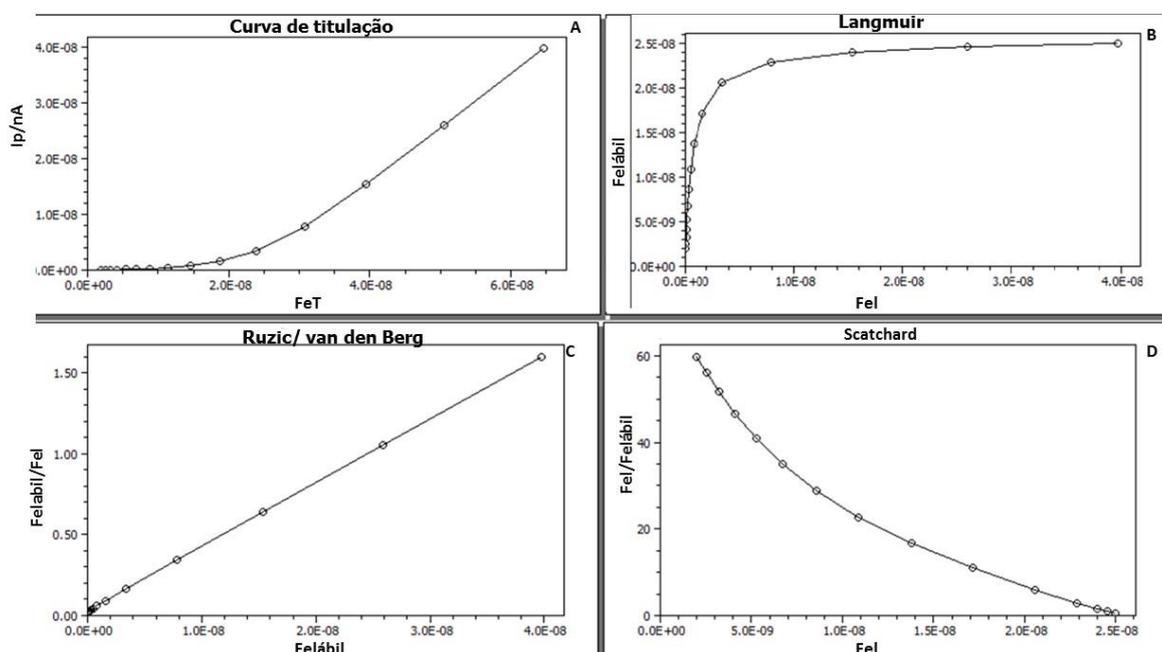


Figura 2. Representação gráfica da curva de titulação e seus respectivos modelos. A) Curva de titulação. B) Modelo da isoterma de Langmuir. C) Modelo de Ružic/ van den Berg. D) Modelo de Scatchard.

A inserção de mais um ligante modifica a constante de estabilidade, de maneira que os ligantes antes não complexados (L'), tornam-se complexados pela inserção da solução padrão de Ferro(III), inserido na etapa de titulação. Assim os termos de L' da Eq. 3 são substituídos pelos da equação abaixo (Eq. 11):

$$L = FeL + L' \quad \text{Eq. 12}$$

Onde L são os ligantes naturais totais, FeL o ferro complexado e L' os ligantes não complexados por Fe^{+3} (forma livre na solução).

O modelo linear de Ružic/ van den Berg (Figura 1C), baseado na equação 3 e equação 11, pode ser descrito da seguinte forma (Eq. 12):

$$\frac{[Fe_{l\acute{a}bil}]}{[FeL]} = \frac{[Fe_{l\acute{a}bil}]}{L} + \frac{\alpha_{Fe} + \alpha_{FeSA} + \alpha_{FeSA_2}}{K'_{FeL}} \quad \text{Eq. 13}$$

Onde $Fe_{l\acute{a}bil}$ é calculado segundo a equação 7 ($FeL = ip/S$), o valor de L será o inverso da inclinação da reta e FeL são os valores encontrados de Fe-SA. Os valores de K'_{FeL} são referentes a intercepção da reta dividido pela inclinação da reta.

Outro modelo linear que também é baseado nas equações 3 e 11 é o modelo Scatchard (Figura 1D), apresentado na equação 14:

$$\frac{[FeL]}{[Fe_{l\acute{a}bil}]} = -K'_{FeL}[FeL] + K'_{FeL}L \quad \text{Eq. 14}$$

A distinção entre um e outro modelo é o emprego de valores diferentes para x e y nessa situação. Ružic/ van den Berg (van Den Berg, 1982; Ružic, 1982) emprega $y = [Fe_{l\acute{a}bil}/FeL]$, já para o modelo de Scatchard (Scatchard, 1949), a razão passa a ser o inverso onde $x = [FeL]$ representa o valor medido durante a titulação.

Dentre estes modelos, o único não linear apresenta a isoterma de Langmuir para a especiação orgânica de Fe (Eq. 15). Este também é baseado nas equações 4 e 12.

$$[FeL] = \frac{K'_{FeL}L[Fe']}{1 + K'_{FeL}Fe'} \quad \text{Eq. 15}$$

Onde Fe_l corresponde ao valor medido de Fe-SA. O Fe' pode ser calculado pela equação 7 e os demais valores são retirados do gráfico criado pelo modelo baseado na isoterma de Langmuir (Figura 2B).

Também, é possível quantificar a presença de Fe^{+3} , considerado livre, através da equação 16, dada por:

$$Fe^{+3} = \frac{[Fe']}{\alpha'} \quad \text{Eq. 16}$$

A partir desses cálculos é possível quantificar a capacidade de complexação (L) e qualificar quanto a constante de estabilidade de seus ligantes (K'_{FeL}). Através destas equações é possível compreender se o ferro encontra-se ligado de forma estável com ligantes fortes ou fracos, indicando a solubilidade e conseqüentemente a sua biodisponibilidade.

2.2. Ligantes já identificados e sua relação com a biota

Na especiação orgânica do ferro através método CLE-AdCSV é geralmente encontrado somente uma classe de ligantes, denominada de L_1 , que também corresponde a classe mais forte, principalmente em bacias oceânicas (Caprara *et al.*, 2016). Dentre os ligantes mais fortes, encontram-se os sideróforos, com constantes de estabilidade superior a $K'_{FeL} > 12$. Estes geralmente são encontrados em regiões superficiais da coluna d'água (van den Berg, 1995; Rue e Bruland, 1995).

Sideróforos são quelantes criados por cianobactérias e bactérias, possuindo baixa massa molar (500 – 1000 Da), quando comparado ao EDTA (292 KDa), por exemplo. As bactérias liberam o ligante, que absorve o Fe inorgânico criando quelatos de Fe-sideróforo. Estes podem ser quebrados por foto redução, liberando Fe(II), mais biodisponível (Neilands, 1981). Existem duas grandes classes de sideróforos (hidroxamato e catecol) produzidos por bactérias. Atualmente, são reconhecidas cerca de 30 espécies de bactérias marinhas capazes de produzi-lo, além de algumas espécies de cianobactérias (Turner e Hunter, 2001).

Ao todo foram identificados 13 sideróforos em ambientes marinhos (Gledhill *et al.*, 2004; Mawji *et al.*, 2008; Velasquez *et al.*, 2011). São encontrados em grandes quantidades somente em locais em que existe alta concentração de carbono e

limitação de ferro (Mawji *et al.*, 2008). Devido a suas características fotoquímicas, acredita-se que esse ligante seja facilmente biodegradado, apesar de ser mais estável que os demais ligantes naturais como os ácidos húmicos, fúlvicos, sacarídeos, etc. (Barbeau *et al.*, 2001).

Os ligantes fracos podem ter sua origem a partir de duas fontes: a continental (deságue de rios e estuários) e através da produção biológica. Dentre os ligantes de origem continental destacam-se as substâncias húmicas, produtos da degradação material terrestre e também matéria orgânica marinha, encontradas geralmente em regiões costeiras, (Laglera e van den Berg, 2009). Gledhill, e Buck (2012) descrevem valores de constantes de estabilidade para substâncias húmicas entre 11-12 para águas oceânicas.

Os ligantes originados pela produção biológica, pode ser formado por fragmentos de proteínas a partir da ação de decomposição por bactérias heterotróficas ou liberação de substância proteica em decorrência de quebra celular (Hogle *et al.*, 2014). Por isso foi possível encontrar os mesmos valores de constante de estabilidade em um experimento por quebra celular de vírus (Poorvin *et al.*, 2004), levando à hipótese de que os vírus também poderiam criar novo tipo de ligante (Bonnain *et al.*, 2016).

As demais classes mais fracas de ligantes, denominadas na sua grande maioria por “sopa de ligantes” (Hunter e Boyd, 2007), passaram a ser melhor estudadas nos últimos anos. Até então, eram poucos os grupos de pesquisa que podiam encontrar mais de uma classe de ligantes. Geralmente, os ligantes destas classes são produzidos de forma “passiva”, como é o caso de exudações do fitoplâncton (Hassler *et al.*, 2014). Norman *et al.* (2015) em experimentos “in situ” que isolou uma espécie de bactéria *Pseudoalteromonas sp.* e duas espécies de fitoplâncton, *Phaeocystis antarctica* e *Prymnesiophyceae P. Antarctica* e *Emiliania huxleyi* identificaram *E. Huxleyi*, identificando substâncias exopoliméricas formadas por polissacarídeos e ácidos úricos, ambos caracterizados como ligantes fracos.

A especiação orgânica permite definir o ponto de partida para compreender a biogeoquímica do ferro. Os resultados da especiação orgânica permitem classificar e quantificar os ligantes orgânicos naturais e suas constantes de estabilidade. A partir desses resultados é possível, então, definir quais fontes seriam pontos chave para formação de complexos de ferro de determinada localidade, ou seja, basear estudos

relacionados a complexos de ferro tais como, por exemplo: bactérias (sideróforos), descargas continentais ricas em ácidos húmicos, exudações/substâncias exopoliméricas, ou mesmo ruptura celular de vírus, caso estes sejam importantes em determinada localidade.

3. Objetivo geral

Avaliar a capacidade de complexação e a constante de estabilidade condicional do ferro dissolvido na Plataforma Continental do Sul do Brasil.

3.1. Objetivos específicos

- I. Adaptar método analítico proposta por Abualhija e van den Berg (2014) e (Buck et al., 2012) para a determinação e especiação orgânica do ferro usando a salicilaldoxima como ligante artificial, baseado na determinação voltamétrica de ferro em águas costeiras.
- II. Avaliar a faixa ideal de trabalho, linearidade, limite de detecção, exatidão e precisão dos métodos adaptados
- III. Estabelecer um protocolo analítico para realizar a análise da especiação do ferro, definindo desde a coleta e preparo das amostras até as condições analíticas específicas para diferentes níveis de concentração do analito.
- IV. Aplicar o protocolo proposto em amostras naturais coletadas em três transectos na Plataforma Continental do Sul do Brasil, verificando os fatores ambientais que influenciam a distribuição e caracterização dos ligantes encontrados.

CAPÍTULO I - Adaptação do método voltamétrico usando salicilaldoxima para especiação orgânica do Ferro.

Resumo

Ao longo dos últimos anos inúmeros métodos têm buscado aprimorar a especiação orgânica do ferro, principalmente porque esta forma corresponde a 99% do ferro dissolvido total, além de modificar a disponibilidade e solubilidade do elemento. Sendo assim, este trabalho adaptou dois métodos voltamétricos usando como ligante artificial (LA) a salicilaldoxima (SA) para a análise de águas costeiras, visando a implementação em regiões com alta incidência de aportes fluviais, uma vez que tais regiões apresentam características peculiares quanto a sua disponibilidade de ferro e possivelmente de ligantes orgânicos. Para tanto, foram testadas formas de aprimoramento do sinal analítico aliadas à estabilidade de sinal. Os resultados mostraram que, ao contrário do que o método original dizia, seria necessário a retirada da purga de nitrogênio e inserção contínua de ar na célula voltamétrica. Para isso foram implementadas bombas de baixa pressão, uma para a geração de vácuo e outra para a inserção de ar na célula, acopladas a um filtro de ar para a remoção de partículas. A adaptação permitiu manter a estabilidade e reprodutibilidade do sinal. Este aparato eliminou a necessidade de inserção de ar comprimido diretamente no eletrodo de trabalho, diminuindo os custos operacionais. Foram feitos testes de intensidade de sinal, faixa de concentrações de SA, testes de potencial e velocidade de varredura para a especiação. Para a SA a concentração ideal encontrada foi quantificada em 25 μ M de SA, seguida de aplicação de um potencial de 0V para deposição e velocidade de varredura de 0,6V/s para a especiação. Com este método, os limites de detecção e quantificação foram de 1,06 nM e 1,43 nM, respectivamente, podendo o mesmo ser implementado em regiões costeiras, com essas modificações. Este método também proporcionou o acoplamento de dois métodos, uma para determinação de ferro dissolvido (FeD) e um para especiação orgânica de FeD, criando, por fim, um protocolo de análise eficiente e de menor custo.

1. Introdução

Existem muitos desafios quando se trabalha com elementos traço em águas naturais. Geralmente, estas análises requerem muitas etapas de preparo do material e da amostra e o uso de equipamentos de grande porte, o que aumenta o custo da análise tornando inviáveis muitos estudos ambientais. A não observância de determinados cuidados ao longo da manipulação destas amostras as tornam

suscetíveis a contaminação, tanto na etapa de coleta quanto no preparo e, mesmo, durante a análise.

Em águas oceânicas, a elevada reatividade e a sua baixa solubilidade fazem com que o ferro dissolvido esteja presente em baixas concentrações entre 0,05 e 2 nM (Bruland, Orians e Cowen, 1994; Landing e Bruland, 1987; Martin, Gordon e Fitzwater, 1990; Measures e Vink, 1999). Devido à facilidade de contaminação, aliada à sua baixa concentração, sua análise constitui um desafio para muitos pesquisadores. Ao longo de mais de 30 anos, inúmeros estudos foram conduzidos para a determinação de ferro dissolvido nos oceanos, de maneira que muitas técnicas analíticas foram desenvolvidas e adaptadas com o propósito de alcançar baixos limites de detecção e redução do efeito matriz causado pelos cloretos. Atualmente, dentre as principais técnicas para a determinação de ferro encontram-se a quimiluminescência (Fluorímetro), a Espectrometria de absorção atômica em forno grafite (GFAAS), a Espectrometria de massa por plasma acoplado indutivamente (ICP-MS). Muitas destas técnicas precisam da aplicação de métodos para pré-concentração do analito e a eliminação da matriz salina. Para tanto, são empregados na análise: pré-concentrar e co-precipitar com o uso de $Mg(OH)_2$, métodos de extração líquido/ líquido ou por eluição ácida seguida de uma pré-concentração feita em diferentes resinas orgânicas (Achterberg *et al.*, 2001).

Além das técnicas usadas para determinação de ferro dissolvido em águas oceânicas, atualmente pesquisadores tem se voltado também para determinação da forma orgânica complexada desse elemento (Caprara *et al.*, 2016), devido a sua elevada solubilidade e estabilidade em águas oceânicas. Por se tratar de estudos recentes, pouco se conhece a respeito de seu comportamento químico, fonte e, mesmo, o seu transporte e distribuição nas regiões costeiras e oceânicas, o que tem limitado o entendimento sobre a biogeoquímica deste elemento no ambiente marinho.

A hipótese de que o Fe permanecia complexado foi trazida por Thompson e Bremner (1935). Todavia, nesta época a ausência de técnicas limpas fazia com que a contaminação das amostras impedisse a obtenção de dados coerentes do ponto de vista biogeoquímico, assim como não se dispunha de sensibilidade analítica que comprovasse tal hipótese. Somente em meados dos anos 90, com o aperfeiçoamento de algumas técnicas analíticas, foi possível estudar a distribuição dos complexos de ferro, quando verificou-se que cerca de 90~99% do ferro encontrado em Aloha (Norte do Pacífico) e no Estreito de Menai (País de Gales) estavam complexados por ligantes

orgânicos naturais (Gledhill e van den Berg, 1994; Rue e Bruland, 1995). Atualmente, esta estimativa ampliou-se para todas as bacias oceânicas (Caprara *et al.*, 2016).

A formação desses complexos é de extrema importância para a compreensão dos mecanismos de precipitação de Fe, uma vez que a formação de complexos ferrosos retarda a sua precipitação, o que é mais pronunciado quando o Fe se apresenta na forma oxidada livre. Isto se faz importante em estudos de dissolução quando este elemento é oriundo de poeira atmosférica (Rijkenberg *et al.*, 2008), ou mesmo para manter o Fe na fração solúvel quando este provém de fontes continentais ou hidrotermais (Gerringa *et al.*, 2012; Kleint *et al.*, 2016; Thuróczy *et al.*, 2012), influenciando sua biodisponibilidade, que pode ser alterada por processos de fotorredução na água (Barbeau *et al.*, 2001).

A técnica, para caracterizar esses complexos de Fe, mais comum e amplamente utilizada é a análise voltamétrica, sendo esta uma técnica de alta sensibilidade e baixo custo (Ozkan e Uslu, 2016). Diferente das técnicas de determinação em que há necessidade de retirar a matriz salina, a voltametria, se beneficia da presença de cloretos durante a análise, reduzindo uma das etapas de pré-análise. Dentre os métodos voltamétricos, a voltametria adsortiva de redissolução catódica por competição de ligante (CLE-AdCSV) se destaca como o mais empregado para a especiação orgânica, a qual quantifica e qualifica os ligantes naturais. Esta técnica consiste na polarização anódica do eletrodo de mercúrio, em cuja superfície do eletrodo se deposita uma camada de um composto pouco solúvel, neste caso FeLA (elemento complexado com um ligante artificial), seguida da eletrorredução da camada depositada através da varredura de potencial no sentido catódico. Envolve um equilíbrio entre um ligante artificial (LA) e os ligantes naturais (Lx), portanto uma reação eletroquímica entre o complexo do analito com o eletrodo de trabalho, o qual deve ocorrer antes da varredura e aquisição de sinal.

Para avaliar a presença dos ligantes naturais do Fe, existem quatro ligantes artificiais (LA) aplicáveis citados na literatura: 1-nitroso-2-naphthol (NN) (Gledhill e Van den Berg, 1994), salicilaldoxima (SA) (Rue e Bruland, 1995), 2-(2-thiazolylazo)-4-methylphenol (TAC) (Croot e Johansson, 2000) e 2,3-Dihidroxinaftaleno (DHN) (Van den Berg, 2006), cujas características gerais podem ser visualizadas na Tabela 1.

Tabela 1. Ligantes artificiais já empregados na literatura e suas vantagens e desvantagens em regiões costeiras.

Ligante artificial	Oxidante	Tempo de análise	Ácidos Húmicos	Referência
TAC	H ₂ O ₂	5 minutos	Pode não detectar a presença (depende da concentração)	Croot e Johansson, (2000)
NN	H ₂ O ₂ Bromato	4 minutos	Mascara a presença do pico de AH	Aldrich e van den Berg (1998)
AS	Ar comprimido	4 minutos	-	Abualhaja (2014)
DHN	Bromato de potássio	4 minutos	Pico duplo.	Van den Berg (2006)

O ambiente costeiro é constituído por zonas transitórias, sendo caracterizado por inúmeras fontes de carbono dissolvido e, conseqüentemente, por diversas formas de ligantes. Algumas regiões costeiras podem apresentar altas concentrações de tais ligantes orgânicos, tanto na plataforma continental (Batchelli *et al.*, 2010; Buck e Bruland, 2007; Croot e Johansson, 2000; Gobler *et al.*, 2002) como em plumas (Buck e Bruland, 2007), compostos regularmente por ácidos húmicos e fúlvicos, comuns em zonas costeiras (Laglera, Battaglia e van den Berg, 2007). Na escolha do ligante empregado deve levar em consideração a possível presença de compostos, tais como as substâncias húmicas que podem ser interferentes para análise.

Dentre os ligantes artificiais empregados, o DHN, quando utilizado em presença de bromato, pode gerar uma alta sensibilidade (S), em torno de 34 nA.nM⁻¹min⁻¹ (Van den Berg, 2006; Obata e van den Berg, 2001), embora o bromato em meio ácido possa ser prejudicial ao analista, por ser cancerígeno nessas condições (Laglera, Caprara e Monticelli, 2016). Além disso, este ligante, quando empregado, forma um sinal duplo em presença de ácidos húmicos (AH) (Laglera, Battaglia e van den Berg, 2007), superestimando presença de ferro e seus complexos. Geralmente, regiões costeiras apresentam maiores concentrações de ácidos húmicos, com origem em rios, estuários, marismas (Clark, Bruyn, De e Aiona, 2016), não sendo o mais indicado para análise de especiação orgânica em áreas costeiras.

O TAC também demonstra este problema quando aplicado a amostras de águas costeiras, uma vez que esse ligante mascara a presença de AH (Laglera, Battaglia e van den Berg, 2011). Já o NN pode ser usado sem um oxidante (Gledhill e van den Berg, 1994), porém isto reduz drasticamente sua sensibilidade, embutindo erros nos cálculos de especiação, diretamente dependente da sensibilidade mesmo com o emprego de peróxido como oxidante (Gledhill e Van den Berg, 1995) ou bromato (Aldrich e Van den Berg, 1998). Todavia, os oxidantes podem proporcionar problemas durante a análise, em algumas situações podendo comprometer os resultados. E, quando em ausência de oxidante mencionado, a análise se torna muito mais vagarosa e com menor sensibilidade, afetando, novamente, os resultados (Abualhaija e Van den Berg, 2014), não sendo recomendado outra vez o uso deste ligante para regiões costeiras.

Dentre todos esses ligantes artificiais a SA, além de possuir uma alta sensibilidade analítica, é aquela que emprega o menor número de reagentes e não necessita de adição de um oxidante quando analisando em meio aerado (Abualhaija e Van den Berg, 2014). Além disso, em análises de amostras de regiões costeiras em que há alta influência fluvial, ou seja, caracterizada pela presença de altas concentrações de AH, durante a análise não há formação de picos duplos, sendo um método muito bem aceito para as zonas costeiras (Laglera *et al.* 2011).

Até o presente, não se tem conhecimento de trabalhos realizados na costa do Brasil que envolvam de especiação orgânica de Fe. Os trabalhos já publicados no Atlântico Sul são somente da fração total dissolvida de Fe (Rijkenberg *et al.*, 2014) e especiação usando TAC (Gerringa *et al.*, 2015). Todavia, estes trabalhos foram feitos há aproximadamente 1000 km da costa brasileira, não se considerando, portanto, sua influência. Sendo assim, a busca de uma metodologia que se enquadre nessas áreas costeiras se faz necessária, principalmente porque a origem e a complexidade do Fe ocorrem primeiramente no ambiente costeiro (Batchelli *et al.*, 2010).

Este trabalho busca de forma inédita adaptar o método voltamétrico usando a salicilaldoxima como ligante artificial, visando a implementação deste em uma região costeira do Brasil, rica em aportes fluviais e, possivelmente, abundante em ácidos húmicos.

2. Comparação dos métodos usando SA

Ao longo dos anos muitos autores têm buscado melhorar os procedimentos analíticos a fim de quantificar o ferro na sua forma complexada. Os métodos envolvendo SA, como ligante artificial, passaram ao longo de 22 anos por mudanças, de maneira que foram evoluindo e sendo adaptados. Como fruto desta evolução tem-se os trabalhos publicados por Abualhaija e van den Berg (2014) (Tabela 2), o que tornou possível implementar esse método em águas estuarinas (Mahmood *et al.*, 2015) e próximas a hidrotermais (Kleint *et al.*, 2016), ou seja, águas com características bem distintas. O uso deste método, sem qualquer modificação só foi possível no estuário de Liverpool (Abualhaija, Whitby e van den Berg, 2015).

Tabela 2. Resumo dos parâmetros metodológicos voltamétricos que utilizam a SA como ligante artificial utilizados em diferentes estudos.

Parâmetros voltamétricos	Rue e Bruland (1995)	Buck et al. (2012)	Abualhaija e van den Berg (2014)
Purga	Nitrogênio	Nenhum	Ar comprimido
Tempo de Purga	4 minutos	-	2 minutos
Tempo de deposição	10 minutos	3 minutos	2 minutos
Potencial de deposição	- 0.05 V	-0.05V	0 V
Velocidade de Varredura	0.020 V/s	0.030V/s	0.060V/s
Tempo de equilíbrio	15 segundos	15 segundos	10 segundos

O primeiro estudo a utilizar a SA foi descrito por Rue e Bruland (1995). Este método possuía um artifício inovador, pois mantinha o pH das amostras e não introduzia um oxidante. Este método foi o segundo método descrito na literatura sobre especiação orgânica de ferro, somente do método descrito por Gledhill e van den Berg (1994). A inovação deste, além de trazer um ligante artificial novo para esse tipo de análise, tornava possível o trabalho com o pH 8, semelhante ao pH da água do mar

então fazia uso de um agente oxidante, utilizando apenas o ligante artificial (LA) como reagente e a solução tampão, reduzindo assim as chances de contaminação.

Rue e Bruland (1995) propuseram usar a saliciladoxima, primeiramente como um ligante artificial para competir com os ligantes naturais da amostra, criando um novo balanço de massa (Eq. 16).

$$[Fe_T] = [Fe'] + [Fe(SA)_2] + [FeL] \dots \dots \dots \text{Eq. 17}$$

Onde o Fe_T seria o ferro total dissolvido; o Fe' representa somatório de todas as formas de ferro inorgânico; $Fe(SA)_2$ representa a forma de ferro complexado ao ligante artificial e, por fim, o ferro que estaria ligado a complexos orgânicos naturais (FeL). A partir dessa nova equação seria possível, de forma indireta, determinar a presença desses complexos de FeL .

A segunda etapa ocorre depois que a amostra atinge o equilíbrio entre LA e ligantes naturais (L). Nela o complexo $Fe(SA)_2$, devido a sua estrutura octaédrica distorcida, torna os anéis aromáticos da SA orientados no mesmo plano, permitindo uma rápida adsorção na superfície do eletrodo de trabalho (Hg) e permitindo que o $Fe(III)$ seja acessível para redução.

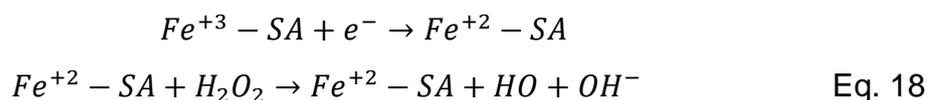
Segundo os autores, a escolha desse ligante se baseia no fato de que este LA, mesmo em concentrações entre 10^{-4} a 10^{-6} M, possui K'_{AL} (constante de estabilidade condicional) constante, sendo útil para quantificar os ligantes naturais da amostra (Rue e Bruland, 1995), uma vez que o K'_{FeL} das amostras é calculado baseado em K'_{AL} .

A principal modificação do método ao longo do tempo foi a presença de purga. Inicialmente as amostras necessitavam de uma purga de 4 minutos, com o intuito de eliminar o oxigênio (Rue e Bruland, 1995), usando como gás inerte o nitrogênio. A eliminação do oxigênio se fazia necessária porque, quando em sua presença, a corrente residual se mantinha alta mascarando a corrente da espécie eletroativa. Para evitar a superposição das correntes faradaicas e efeitos químicos resultantes dos processos de oxidação do oxigênio, promovia-se a expulsão do oxigênio dissolvido mediante o borbulhamento de um gás eletroquimicamente inerte através da solução (Milani, 2004).

Anos mais tarde, foi interpretado de modo diferente a saturação de ar na amostra. Buck *et al.* (2007) modificaram o método para águas costeiras, em regiões

de plumas. Anos mais tarde o mesmo método foi adaptado com a inserção de ar e redução de tempo de análise, por Buck *et al.*(2012) permitindo que a amostra permanecesse com a presença natural de ar.

Nesse último caso, durante as medidas, o oxigênio dissolvido gerava duas ondas de redução no eletrodo de mercúrio: a primeira entre o potencial -0.1V, correspondente a redução do peróxido e dos íons de hidroxila; a segunda onda no potencial de -1.0V era devido a redução do peróxido de hidrogênio com íons de hidroxila como produtos finais. A eletroformação de H₂O₂ na superfície do eletrodo era responsável pelo efeito catalítico encontrado pela determinação de mecanismo de Haber-Weiss, como descrito em Kolthoff e Parry(1951) e reafirmado em Laglera, Caprara e Monticelli (2016), como descrito na equação 18.



Segundo Abualhaija e Van den Berg (2014), mesmo depois de purgar com um gás inerte por alguns minutos, como foi feito por Rue e Bruland (1995), ainda assim restava resquícios de oxigênio, que são facilmente convertidos na superfície do eletrodo, provando que o processo ocorria independentemente, mas de forma ineficiente. Assim sendo, o ideal seria distinguir a entrada de gás inerente para que a formação de peróxido fosse possível.

Desse modo, Abualhaija e Van den Berg (2014) modificaram o método, mantendo a prerrogativa de que ao adicionar mais ar na amostra seria possível aumentar drasticamente a sensibilidade. Além disso, foi modificada a velocidade de varredura e a concentração de SA utilizada. A mudança na sensibilidade estava associada a três fatores, a primeira no que diz respeito a formação de peróxido na superfície do eletrodo, ou mesmo quando adicionado reagente em si na amostra. Segundo os autores, a altura do pico poderia dobrar quando adicionado 0.6Mm H₂O₂, mas isso também ocasionaria perda de ligantes, alterando a especiação e, portanto, não indicado para análises de especiação. A velocidade de varredura e a concentração de SA, seriam os outros fatores a serem mudados, que também auxiliariam para a melhora na sensibilidade do método, de maneira que esses foram avaliados e modificados.

Este método, segundo o autor, possuía um problema instrumental. Quando o sistema de nitrogênio era fechado, havia problemas na formação da gota o que ocasionava perdas de sinal. Para solucionar esse problema foi acoplada uma linha de ar comprimido ligada diretamente ao eletrodo de trabalho. Isso solucionou a homogeneidade da gota, no entanto aumentou a oxidação da gota de Hg.

Embora muitos trabalhos tenham se voltado para a diminuição ou mesmo a extinção do emprego de mercúrio (Hg) como eletrodo de trabalho, devido a sua toxicidade, mesmo assim a voltametria e, principalmente, a CLE-AdCSV, ainda é uma das técnicas mais robustas e empregadas para a determinação de complexos orgânicos de ferro na água do mar (Gledhill, e Buck, 2012).

Dos métodos em que se emprega a SA como ligante artificial, o que emprega ar borbulhando diretamente na célula de leitura possui maior sensibilidade (Abualhaija e van den Berg, 2014). No entanto, uma rápida oxidação de Hg, faz com que o analista tenha que manipular este líquido pelo menos uma vez ao mês (Abualhaija e van den Berg, 2014), aumentando os cuidados analíticos e, além disso, tornando o método mais caro devido a troca constante do Hg.

Além das mudanças em relação a purga, o tempo de análise também foi modificado. O método de Buck *et al.* (2012) trouxera benefício quanto ao tempo de análise, em comparação ao que propunha o primeiro método, diminuía o tempo de deposição de 10 minutos para 3, tornando a análise muito mais rápida. Isso seria devido à ausência da entrada de nitrogênio na célula, possivelmente ocasionando uma pequena formação de H_2O_2 , o que proporcionaria a redução de $Fe(SA)_2$ e ajudaria na própria redução de Fe(II) aumentando a sensibilidade do método.

As modificações dos métodos foram realizadas devido não só a mudanças necessárias quanto as características das amostras, dependente dos locais de coleta, como também para o aprimoramento do método ao longo do tempo, buscando sempre a qualidade analítica. Este trabalho, baseado em todas as técnicas aqui já apresentadas, busca adaptar os últimos métodos que empregaram SA, como ligante artificial, Buck *et al.* (2012) e Abualhaija e van den Berg (2014), para águas costeiras da região sul do Brasil com suas especificidades de composição.

3. Parte experimental

3.1. Equipamentos:

Para determinação analítica de ferro orgânico foi utilizado um equipamento eletroanalítico μ Autolab III, potenciostato da PGSTAT101 conectado com standard eletrodo com gota pendente de mercúrio VA663, um eletrodo auxiliar/contra eletrodo de carbono e um eletrodo de referência com uma junção dupla de Ag/AgCl, preenchido por KCl 3M. Este equipamento foi controlado por um software específico denominado NOVA 1.11. Foram utilizadas células voltamétricas de quartzo.

A abertura fotoquímica das amostras foi realizada em um sistema fotodigestor fabricado no Laboratório de Hidroquímica, constituído por lâmpada com pressão de vapor de mercúrio, 60W. Foram utilizados tubos de quartzo, com tampa esmerilhada com 50 ml de capacidade de amostra, baseando em Campos *et al.*, (2001). As determinações de pH foram feitas usando o pHmetro (654 Metrohm) com resolução de três casas decimais após a vírgula.

3.2. Reagentes, limpeza do material e dos reagentes:

Foi empregada água ultrapura (resistividade 18,2 M Ω .cm) através do equipamento da Milli-Q usado para o preparo da limpeza do material e preparo dos reagentes. Todo o material utilizado foi descontaminado com banhos de ácido nítrico 5 M, seguidos de banhos com ácido clorídrico 2 M e, por fim, enxaguados com água Milli-Q e secos em capelas de fluxo laminar. Os reagentes foram limpos usando uma solução de 100 μ M MnO₂, seguida de filtração, descrito por van den Berg (2006).

Os reagentes utilizados foram preparados a partir de solução estoque de ligante artificial, 0,1 M de salicilaldoxima (Sigma Aldrich, 98% de pureza), diluída em metanol (Merck P.A), ou mesmo em ácido clorídrico 10% (Suprapur® Merck HCl 30%). O tampão empregado, borato de amônio, foi preparado com concentração de 1M de ácido bórico e 0,5 de hidróxido de amônio supra puro, pH final de 8.2.

3.3. Amostragem e condicionamento da amostra

As amostras de água coletadas para análise de ferro dissolvido foram coletadas de duas formas: com garrafas coletoras do tipo teflonada Go-Flo, para amostragens em diferentes profundidades; uso do sistema “fish”, com o qual, através de uma bomba peristáltica, coletou-se água da superfície.

As amostras coletadas foram filtradas imediatamente com o auxílio de filtros 0,2 μ m (acetato de celulose). Para a determinação de ferro total, as amostras foram acidificadas a um pH ~1,8, utilizando HCl e, após, mantidas refrigeradas. As amostras para especiação orgânica de ferro, não acidificadas, foram acondicionadas em frascos de polietileno e congeladas imediatamente após a coleta.

4. Resultados e Discussão

Foram realizados ensaios analíticos com o objetivo de melhorar a estabilidade do sinal e a intensidade. Para isso, o primeiro passo buscou estabilizar o sinal analítico, sendo necessário adaptar o sistema de entrada de ar comprimido na célula.

Após foi avaliado o tempo necessário para o equilíbrio químico entre a SA e o Fe, aliada a varredura de potencial e, por fim, foram feitos os testes de limite de detecção e quantificação, recuperação, exatidão do método para, assim, garantir sua confiabilidade.

4.1. Estabilidade do sinal

A estabilidade do sinal voltamétrico pode ser facilmente afetada devido à inúmeros fatores. Quando se emprega a salicilaldoxima como um ligante artificial algumas peculiaridades podem ocasionar diminuição da sensibilidade, necessitando um alto tempo de deposição, ou mesmo, gerando interferência de outros elementos, como a formação da intensidade do sinal do cobre, que pode surgir muito próximo ao pico do ferro (Vega *et al.*, 2010).

O cobre é um interferente comum nas análises em presença de um gás inerte, como o nitrogênio, uma vez que a salicilaldoxima possui um tempo de reação mais rápido para esse complexo em relação ao ferro (Abualhaija e Berg, van den, 2014).

Porém, o cobre pode ser considerado um interferente somente se sua concentração for superior a 25 nM (Abualhaija e van den Berg, 2014), não sendo um problema nas análises de amostras costeiras, onde geralmente suas concentrações são inferiores a 4 nM na plataforma sul brasileira (Niencheski *et al.* 2014).

Pensando nisso, este trabalho, primeiramente, testou o método descrito por Buck *et al.* (2012), cuja a qual velocidade de varredura ($0,03 \text{ V s}^{-1}$) era inferior ao trabalho mais recente publicado. Nesta metodologia, a amostra não era purgada, permanecendo em equilíbrio com o ambiente em que era analisado, e a concentração de SA era $25 \mu\text{M}$.

No entanto, o equipamento utilizado no presente estudo é diferente do utilizado por Buck *et al.*, (2012), de maneira que existe a inserção do nitrogênio sobre a solução no momento em que as gotas de mercúrio são dispensadas. Conseqüentemente, a ação do nitrogênio causa uma diminuição no pico de Fe e H_2O_2 , assim como a aparição de pico de Cu em -0.3V (Figura 3).

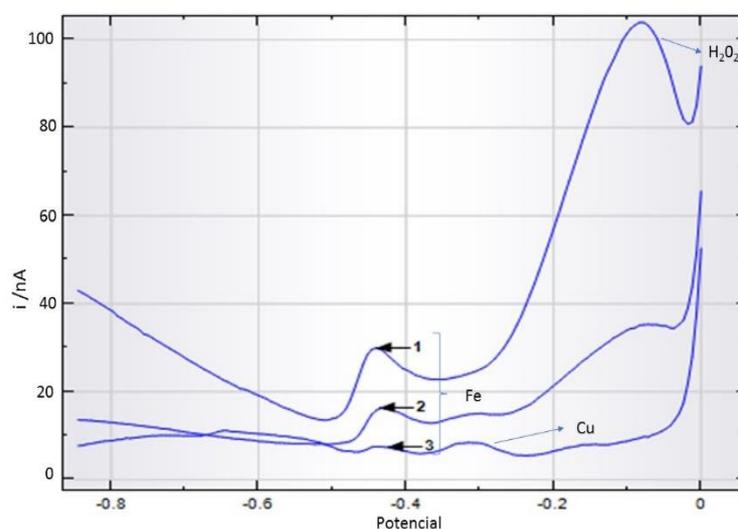


Figura 3. Amostra de água do mar com 1 nM de ferro, tamponada com borato de amônio pH 8.2, SA $25 \mu\text{M}$, potencial de varredura 0 a $-0,85 \text{ V}$, como método descrito por Buck *et al.* (2012). Análise de amostra com o as linhas 1, 2 e 3 referem-se a primeira, segunda e terceira leitura efetuada.

O peróxido localizado no potencial de -0.1V em três leituras já havia se extinguido, formado somente em consequência de presença de ar. O aumento da altura do pico de cobre (Cu), também pode ser por efeito da ausência de ar na célula,

uma vez que este, em presença de gás inerte (nitrogênio), possui rápida absorção e formação de CuSA (Campos e Van den Berg, 1994;), forma de cobre mais eletroativa que FeSA e FeSA_2 .

No início pensou-se em fechar a entrada de nitrogênio da célula, mas isso inibiria a formação da gota, impedindo a leitura. A troca por um cilindro contendo ar também não foi viável devido ao problema de oxidação do Hg, o que ocasionaria um aumento no custo da análise e maior geração de resíduos. Sabendo que o equipamento possui a capacidade de entrada de gases por vias diferentes, ou seja, uma entrada para a célula e outra para o eletrodo, pensou-se em uma adaptação mais plausível. A entrada de nitrogênio para o eletrodo de Hg foi mantida.

Para garantir que o nitrogênio que entra no sistema a partir do eletrodo de Hg não entrasse em contato com a amostra foi inserida uma mangueira de vácuo, acoplada a uma pequena bomba (Figura 4B).

A fim de que houvesse um controle maior foi inserido ar comprimido no período de purga de 2 minutos e, também durante o período de deposição. Esse era mantido na forma de *blanket* (pequena entrada de ar continua sobre a amostra) (Figura 4A), com uma pequena mangueira instalada dentro da célula, inserindo ar pouco acima da superfície da solução.

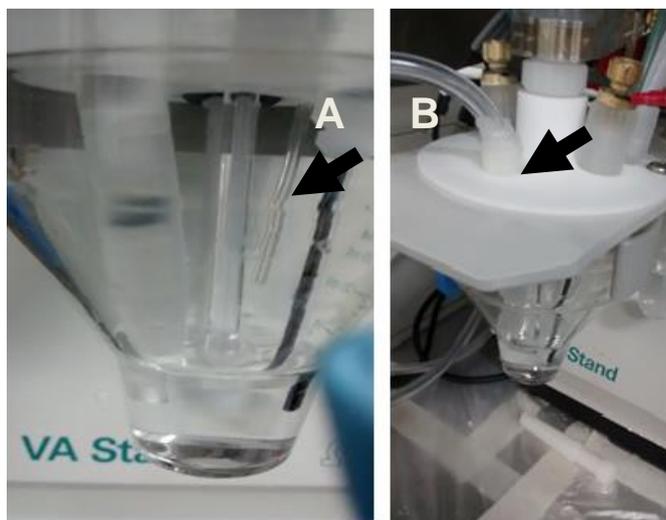
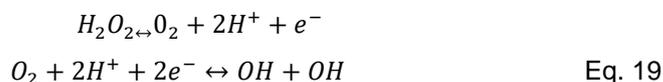


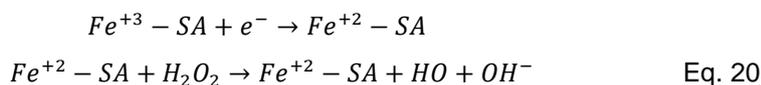
Figura 4. Disposição das mangueira de ar. Mangueira denominada *blanket* usada na superfície da amostra (A). Mangueira instalada para vácuo (B).

A entrada continua de ar na célula, somado a uma pequena bomba de vácuo impedindo a entrada de nitrogênio na mesma, permite o equilíbrio entre ela e a

solução. A formação de primeiro pico em -0,1 pode ser justificado pela descrição feita por Aleixo (2003) , segundo o autor, nesse caso: voltametria em meio catódico com presença de O_2 é produzida uma onda -0,1V, já que o oxigênio é eletroativo.



Esse eletro formação de H_2O_2 na superfície do eletrodo é responsável pelo efeito catalítico do Fe e SA mostrado Eq. 20. Esta configuração impediu a ação do nitrogênio na solução estabilizando o sinal analítico. A presença de peróxido gerada nessa equação causaria o efeito catalítico na formação de FeSA (Eq. 20).



Assim com a entrada de ar e diminuição da interferência do nitrogênio foi garantida a estabilidade do sinal, em relação a problemas causados pelo nitrogênio, com a adaptação do método descrito por Buck *et al.* (2012) através da inserção de ar e a inserção de mangueira acopladas ao sistema como pode ser visto na Figura 5.

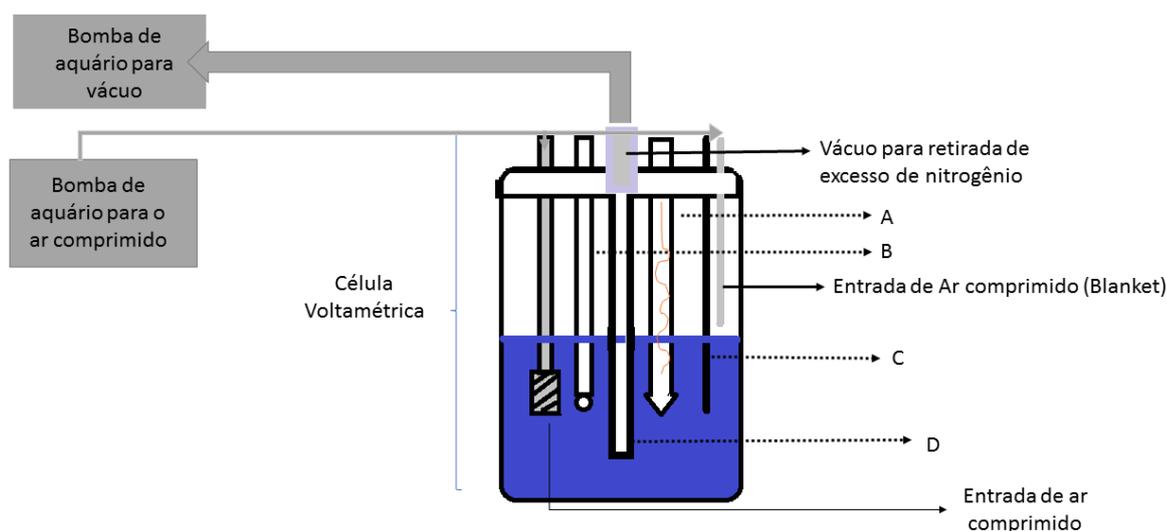


Figura 5. Célula voltamétrica. Sistema. Esquema demonstrativo de ar: mudanças feitas no Layout ilustrando como A. Eletrodo de referência, B. Eletrodo de Trabalho, C Eletrodo auxiliar e D agitador de teflon .

A adaptação do equilíbrio dos gases, esquematizado na Figura 5, foi a forma encontrada para que houvesse uma estabilidade do sinal e a não formação de CuSA decorrente da entrada de nitrogênio na célula, assim como a formação de peróxido, catalizador da reação de FeSA e FeSA₂. Essa adaptação pode ser implementada em qualquer laboratório, onde a SA seja necessário, ou seja, em locais costeiros, e deseje empregar ar como catalisador da reação, sem que haja necessidade de inserção de cilindro de ar comprimido diretamente no eletrodo de trabalho. De maneira que, não há necessidade de trocas contínuas de mercúrio como foi descrito por Abualhaija, Whitby e van den Berg (2015) tornando o método mais limpo.

4.2. pH e temperatura

Além da atmosfera da célula, outros fatores, como temperatura e pH, foram levados em consideração na análise da estabilidade do sinal analítico.

A temperatura pode alterar as análises tanto de especiação quanto na determinação de ferro dissolvido total. Hassler *et al.* (2013) fez uma avaliação do comportamento do método utilizando TAC a 4°C. Embora a temperatura possa afetar a solubilidade do Fe e a distribuição de suas espécies, mudanças na temperatura não mostraram aumento na sensibilidade, ou mesmo, melhora na metodologia. Assim, este trabalho, manteve a temperatura padrão de 25 °C no ambiente de trabalho. Mudanças na temperatura da sala alteram facilmente a repetibilidade da análise.

Outro fator que interfere na estabilidade do sinal é o pH. Neste contexto durante a determinação, a amostra já acidificada, uma vez que esta passa por uma digestão, é neutralizada com hidróxido de amônio, substância volátil, passando por uma purga de dois minutos. Dado que haveria possibilidade de perda de NH₄OH durante a análise, as amostras eram então tamponadas com um tampão de borato de amônio que mantinha a amostra na mesma faixa de pH, pois a formação do complexo metal-LA é dependente do mesmo (Achterberg *et al.*, 2013). Ademais, as constantes de estabilidades são calculadas com o valor do pH da água do mar. O pH usado nesse trabalho foi estipulado com base em todos os outros métodos já descritos usando SA, 8.2, valor próximo da água do mar em equilíbrio com o ar (Abualhaija e Van den Berg, 2014).

Em caso diminuição do efeito tampão decorrente da inserção de solução padrão de ferro (solução acidificada) que torna amostra a baixo de um pH 7,5 a amostra poderia perder a estabilidade, reduzindo ~30% da sua intensidade de pico a cada 2 minutos, como mostra a Figura 6.

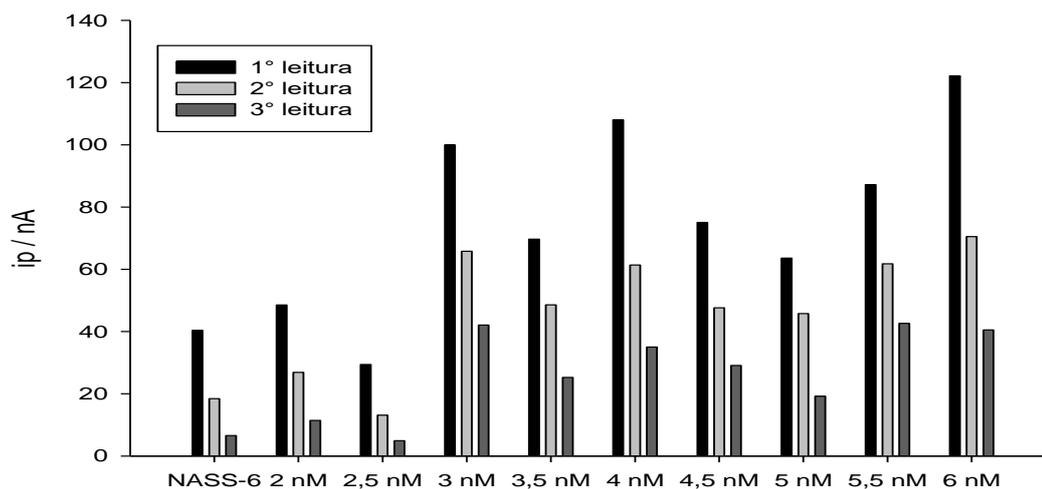


Figura 6. Teste de estabilidade de intensidade de sinal. Amostra de Nass-6 (material de referência) referente a leitura e suas respectivas adições de solução de ferro (2, 2,5 3, 3,5 4, 4,5 5, 5,5, 6 nM). Entre cada leitura houve perda de 29 % de intensidade de corrente (nA). Resultados podem ser verificados em Anexo I.

Na análise de uma amostra de NASS-6 (Figura 6) notou-se que conforme são feitas as leituras há perda da repetibilidade do sinal tendo uma drástica redução do mesmo, deste modo mesmo com adições de solução padrão de Fe não existiu aumento da intensidade de corrente e ao final o pH encontrava-se a baixo de 7.

A redução do pH poderia ser em decorrência da volatilização do hidróxido de amônio, desse modo foi estipulado que as amostras não teriam mais que 3 adições. Assim não seria inserido um volume de solução ácida que pudesse superar a capacidade de tamponamento do borato de amônio, além disso o tempo de análise seria inferior impedindo que houvesse possível dissipação de NH_4OH da amostra.

A redução do pH abaixo do 8 pode alterar o equilíbrio entre a solução e a célula voltamétrica, assim como o equilíbrio entre a solução e os gases. O equilíbrio entre a solução e a célula voltamétrica é necessário, uma vez que a adsorção de $\text{Fe}(\text{SA})_2$ na parede da célula pode comprometer as análises (Buck *et al.*, 2007) e também tornar

instável o sinal analítico, reduzindo o sinal conforme são feitas repetições da mesma amostra.

A fim de que não haja problema em relação a adsorção de $\text{Fe}(\text{SA})_2$ impedindo a repetibilidade da leitura voltamétrica foi feito uma solução de água do mar (contendo todos os reagentes, tampão e salicilaldoxima, mas também 10 nM de solução de ferro). Esta solução era, então, analisada inúmeras vezes, conforme eram formados novos voltamogramas, à medida que a intensidade do sinal de FeSA_x era reduzida na amostra, praticamente se extinguindo, trocava-se a solução e iniciava-se o procedimento novamente, até que houvesse um percentual de perda de altura de pico inferior a 1%. Este método foi descrito por Buck (*comunicação, contato pessoal*). A célula era então lavada continuamente com soluções de água milli-Q, com pH ajustado com hidróxido de sódio, para manter o mesmo pH em contato com a célula e reduzir a chances de contaminação da amostra.

Desse modo, com a inserção de gases ar e nitrogênio de maneira controlada, o controle do pH, a temperatura estipulada e fixa, assim como o condicionamento da célula foi possível garantir uma repetibilidade, ou seja, estabilidade de sinal durante as análises.

4.3. Avaliação da concentração de Salicilaldoxima

A concentração necessária de Salicilaldoxima, tanto para a determinação quanto para a especiação orgânica de ferro, deve ser levada em consideração no momento da análise, já que é controversa a concentração ideal necessária para cada ambiente.

A salicilaldoxima foi empregada por inúmeros trabalhos, em várias concentrações: 100 μM (Kleint *et al.*, 2016), 27,5 μM (Rue e Bruland, 1995), 25 μM (Buck *et al.*, 2007; Buck e Bruland, 2007) e, por último, 5 μM (Abualhaija e Van den Berg, 2014; Mahmood *et al.*, 2015), não havendo um consenso entre as concentrações utilizadas para os estudos, variando sua aplicação de ambiente para ambiente.

Buscou-se, portanto, encontrar a concentração ideal para as condições e para o tipo de água proveniente da plataforma continental. Foram feitos testes mantendo fixos os parâmetros a seguir: primeiro era adicionado SA e solução padrão de Fe com concentração final de 5 nM de ferro (III) em água do esperando 15 minutos entre o

equilíbrio do ligante artificial e metal, a amostra era, então, neutralizada e, por fim, tamponada com borato de amônio pH 8,2; tempo de deposição de 2 minutos. Os testes foram realizados com um total de cinco leituras cada.

Foram utilizadas as seguintes concentrações de Salicilaldoxima 10, 15, 20 e 25 μM , baseado em trabalhos anteriores. Os resultados demonstraram que não ocorreu diferença significativa entre as médias das cinco leituras para cada concentração (e quando foi avaliado o resultado pelo teste de t-student; $p < 0,05$, resultados podem ser verificados em Anexo II). Neste teste foi identificado que a concentração de SA de 25 μM foi a mais adequada para este tipo de amostra (Figura 7), pois apresentou a maior corrente em relação as demais.

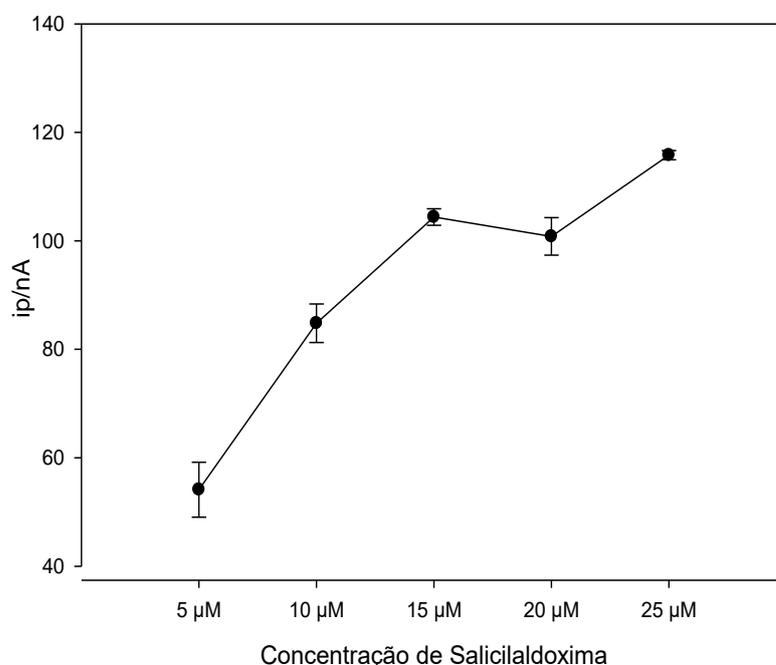


Figura 7. Concentração de salicilaldoxima em água do mar contendo 5 nM de Fe. Média e desvio padrão, respectivamente. Resultado pode ser verificado em Anexo III.

A escolha da concentração de SA influenciou na intensidade do sinal analítico como também nos cálculos empregados para a especiação, uma vez que alteram diretamente o coeficiente de ativação $\alpha'_{\text{Fe}(\text{SA})_2}$ e $\alpha'_{\text{Fe}(\text{SA})}$, alterando os resultados dos cálculos de especiação diretamente e, conseqüentemente, a presença de ligantes (L) e suas constantes de estabilidade (K'_{Fel}) (Pižeta *et al.*, 2015). Por exemplo, linearização de Ruzic/ van den Berg (Ružić, 1982).

$$\frac{[Fe_{l\acute{a}bil}]}{[FeL]} = \frac{[Fe_{l\acute{a}bil}]}{L} + \frac{\alpha_{FeI} + \alpha'_{FeSA} + \alpha'_{FeSA2}}{K'_{FeI}L}$$

O emprego de uma concentração maior de ligante foi definida ainda conforme o que se esperava para essa região, uma vez que se acredita que uma concentração superior tornaria mais fácil o equilíbrio com uma concentração maior de ligantes.

4.4. Teste de potencial de deposição

A fim de aumentar a intensidade do sinal analítico (a maior corrente) foi feito um teste de potencial de deposição, verificado a partir de amostra de água do mar contendo 5 nM de Fe. Assim, como nos testes de concentração de SA, foi utilizado 2 minutos como tempo de deposição e 15 minutos como tempo de equilíbrio entre a Salicilaldoxima e o Fe antes da leitura. Neste teste definiu-se o melhor potencial de deposição 0 V (Figura 8), o mesmo usado em outros trabalhos envolvendo SA (Abualhaija e Van den Berg, 2014; Buck *et al.*, 2007; Rue e Bruland, 1995).

O teste *t* de student mostrou que os valores -0,1 e 0 V, apresentavam similaridade nas médias (resultados encontram-se em anexo IV). Isto explicaria por que razão existe alguns estudos que utilizam como valores de referência estes dois potenciais como é o caso de Buck (2012), por exemplo.

Este potencial, 0 V, é próximo do potencial de oxidação do mercúrio, que limita a faixa positiva de potencial. Em caso de cargas positivas haveria menor absorção dessas espécies (Abualhaija e Van den Berg, 2014), por isso este valor é considerado ideal para a deposição das espécies de Fe.

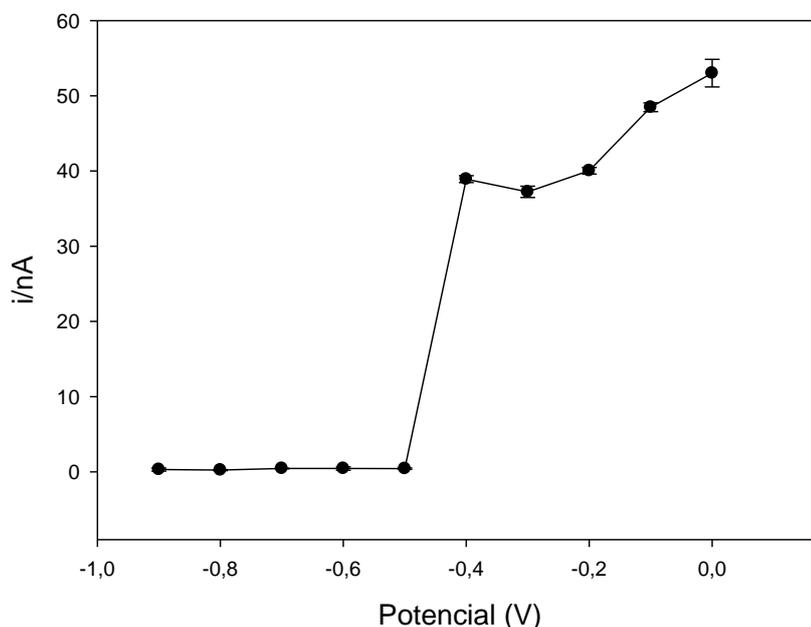


Figura 8. Gráfico de Teste de potencial. Amostra da água do mar com 5 nM, com tempo de deposição de 2 minutos. Resultado pode ser verificado em Anexo V.

4.5 Velocidade de varredura para a especiação:

Os resultados de determinação de Ferro dissolvido mostraram repetibilidade do sinal analítico sendo considerados ideais para a determinação deste elemento, alcançando alta sensibilidade, com valores de até ~10 nA /nM (Anexo VI). Todavia, durante a análise de especiação houve uma redução drástica na sensibilidade, de 10 para 1nA/nM. Segundo Croot e Johansson (2000) a redução da sensibilidade em águas costeiras pode ocorrer, devido a presença de moléculas orgânicas surfactantes.

A sensibilidade (S) neste estudo é usada para calcular FeL ($Fe_{l\acute{a}bil} = S \cdot ip$), empregado para reproduzir um segundo gráfico, em que se baseiam os modelos de equilíbrio químico, utilizados para calcular a capacidade de complexação e a constante de estabilidade condicional, resultado final da especiação orgânica. O S é calculado usando a inclinação entre a intensidade da corrente com a concentração de ferro onde, geralmente, não há mais competição entre ligantes orgânicos e a SA, obtendo uma resposta semelhante a que ocorre com a curva de adição de padrão às amostras (Omanović, Garnier e Pižeta, 2014).

Uma das formas de aumentar a sensibilidade seria através do incremento da velocidade de varredura, um dos parâmetros modificados no método descrito por Abualhaija e van den Berg (2014). Para isso, foram testadas duas velocidades de varreduras sendo elas lidas com tempo de deposição de 120 segundos, em amostras de águas costeiras coletadas próximas ao Mostardas região também semelhante a este trabalho (n=2) (Figura 9).

Notou-se, portanto, que a aplicação de uma velocidade de varredura superior, de 0,06V/s, como mostrado na figura 9, ocasionava um aumento de sensibilidade ($S=4.18$), praticamente o dobro do valor encontrado na varredura com velocidade menor, de 0,03V/s ($S = 2.35$), utilizada em estudos de Buck *et al.* (2012). Essa mesma mudança na velocidade de varredura foi feita nos artigo Abualhaija e van den Berg (2014) Portanto, para as análises de especiação foi utilizada uma velocidade de varredura de 0,06 V/s.

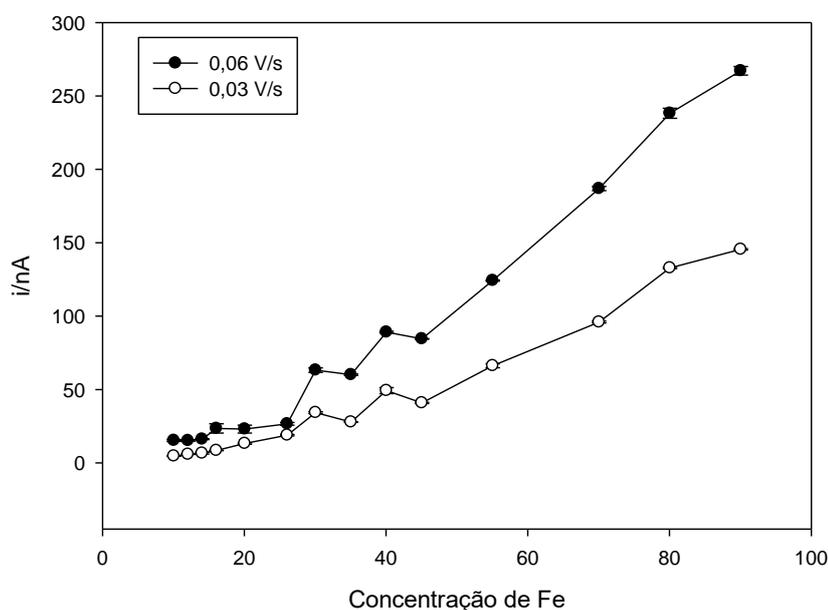


Figura 9. Teste de velocidade de varredura, 0,06 V/s e 0,03V/s. Feito com uma amostra coletada em Mostardas com concentração inicial 10,06. Resultado pode ser verificado em Anexo VII.

4.6. Equilíbrio do Ligante competitivo

O emprego de um ligante artificial na voltametria de redissolução catódica de pulso diferencial consiste em duas fases: primeiro existe um equilíbrio entre os ligantes naturais, o ligante artificial e a adição de solução padrão de Ferro (III); a segunda fase diz respeito a análise voltamétrica de pulso diferencial, que determina o complexo formado complexo FeSA, sendo usado como base para o cálculo de L de K'_{FeL} . O tempo de reação entre o ligante artificial e os ligantes naturais varia de amostra para amostra, dependendo de quais seriam o LA adicionado e os ligantes naturais presentes, de modo que estes devem ser previamente testados antes de serem analisados.

Tendo isso como base, foram feitos testes em amostras coletadas na costa do Rio Grande do Sul: primeiro testou-se com adições de ferro, esperando cerca de 15 minutos e, por fim, 15 minutos antes da análise no potenciostato era adicionado SA, ou seja, o tempo de equilíbrio entre os ligantes naturais e o LA seria somente de 15 minutos, o mesmo tempo usando por Rue e Bruland(1995). O segundo teste era adicionado SA esperando 15 minutos, depois eram feitas adições de solução padrão de Fe(III) e esperava-se 16 horas (*overnight*), (Figura 10). O tempo de espera determinado para o teste foi estimado baseado nos trabalhos de Rue e Bruland (1995) e Abualhaija *et al.* (2014).

As amostras que permaneceram um tempo de 16 horas ou mais apresentaram uma linearidade ao final da curva de titulação, necessária para o cálculo de FeL. Nessa etapa, existe menor competição entre os ligantes naturais e o ligante artificial introduzido, reproduzindo uma curva de titulação muito semelhante a curva de determinação (Croot e Johansson, 2000). O mesmo protocolo havia sido descrito por (Mahmood *et al.*, 2015) em águas estuarinas.

Existe muita controvérsia quanto ao tempo de reação necessário para que se estabeleça o tempo de equilíbrio entre os ligantes artificiais e a amostra. Para amostras de zonas em que o ferro é um fator limitante, região Central Norte do Pacífico, foi necessário uma hora entre os ligantes e o ferro adicionado para cada alíquota da amostra. Em 10 minutos após a adição de SA a amostra era, então, analisada. O mesmo método foi usado em ensaios fitoplantônicos, em que não existe limitação de ferro (Barbeau *et al.*, 2001).

O menor tempo de equilíbrio foi descrito por Kleint *et al.*(2016), para amostras coletadas em uma hidrotermal, somente 15 minutos de tempo de espera antes da análise, e todas as adições de solução padrão de Fe efetuadas durante a análise com

tempo de espera de 15 minutos entre cada uma delas. Estas amostras provinham de condições anômalas em termos de concentrações de Fe e sem a ocorrência de produção primária envolvida ou influência de plumas de rios.

Outros LA podem apresentar diferentes tempos de tempo de reação. Para o DHN na região costeira do Leste da China foi empregado 30 minutos entre o LA e o L_x como tempo de equilíbrio, sendo necessário entre as adições de ferro de 17 horas (Su *et al.*, 2015), o mesmo tempo estipulado por van Den Berg (2006). Este também foi o tempo estipulado para a análise de amostras oceânicas do oeste do Atlântico usando TAC (> 15 horas) (Rijkenberg *et al.*, 2008).

As mudanças de tempo para cada adição de ferro ou mesmo de LA reiteram a ideia de que cada amostra irá se comportar de uma maneira distinta, uma vez que existe um número maior ou menor de ligantes ali presentes que podem necessitar de maiores ou menores tempos de reação. Assim, esse teste mostra claramente que para amostras costeiras do Rio Grande do Sul seriam necessários esperar 16 horas para que houvesse um equilíbrio entre a SA e ligantes naturais (Figura 10).

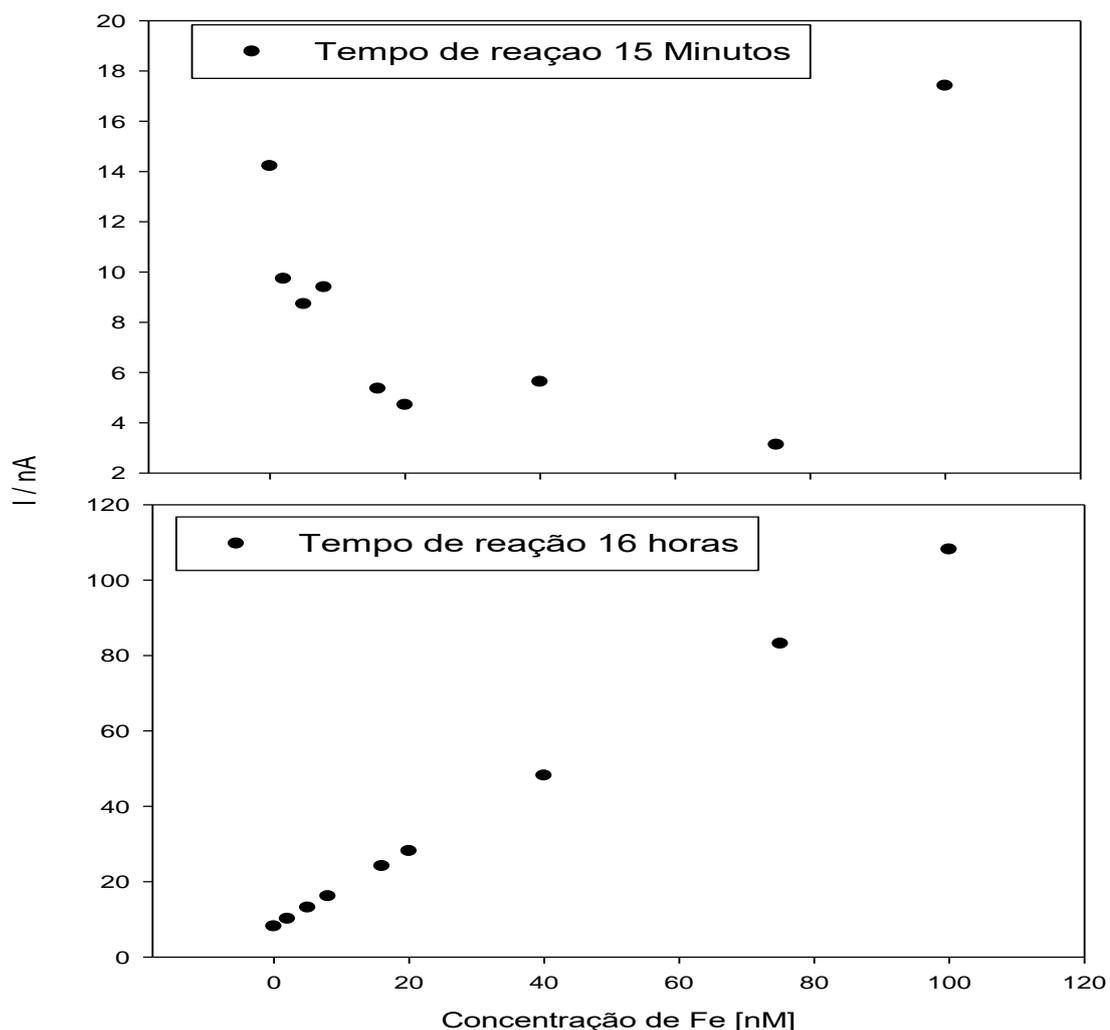


Figura 10. Teste do tempo de reação com amostra coletada em Cabo de Santa Marta (representando águas da plataforma) 28°S. Tempo de equilíbrio de 15 minutos (A) e de 16 horas (B), entre o equilíbrio entre os ligantes naturais e SA e a leitura. Resultados podem ser verificados em Anexo VIII.

4.7. Parâmetros de validação

A necessidade de apresentar a qualidade das determinações químicas, através de sua comparabilidade e confiabilidade, está sendo cada vez mais reconhecida e exigida e, segundo Ribani et al. (2004), já que dados analíticos não confiáveis podem conduzir a decisões desastrosas e a prejuízos financeiros irreparáveis. Para garantir que um novo método analítico gere informações confiáveis e interpretáveis é indispensável a validação do Método. Neste estudo foi realizada a validação do método voltamétrico, englobando Curva Analítica, Faixa Linear de Trabalho, Limite de

Detecção, Limite de Quantificação, Exatidão e Precisão. Os resultados destes testes encontram-se na tabela 3.

4.7.1. Limite de detecção e quantificação

Segundo a ANVISA, o limite de detecção (LD) está relacionado à menor concentração do analito que pode ser detectada, não assegurando sua quantificação nas amostras. Pensando nisso foi determinado também o limite de quantificação (LQ), ou valor que o método é capaz de quantificar. Estes podem ser calculados por diferentes métodos, pela relação sinal/ruído, por exemplo, ou mesmo pelos parâmetros da curva analítica e baseado no desvio padrão obtido ao analisar material de referência certificado (van den Berg, 1986).

A determinação de LQ e LD foram feitos usando Material de Referência Certificado (CRM), já que o emprego somente com água ultrapura e os reagentes (denominado branco), mesmo com altos tempos de deposição (900s), não demonstraram resposta analítica. Este problema também foi descrito por Buck *et al.* (2007), de maneira que, estes autores, também, usaram amostras de água do mar para fazer LQ e LD.

O limite de detecção e quantificação para as metodologias voltamétricas propostas foi calculado com base no desvio padrão encontrado na CRM, com 6 réplicas. Para o cálculo do LD, multiplicou-se réplicas o desvio padrão por 3, e para o LQ, multiplicou-se o desvio padrão por 9. Os desvios padrão foram obtidos nas análises do material de referência certificado NASS-6. (1,06 nM L.Q e 0.32nM de L.D), referente a determinação, com velocidade de varredura 0,03V/s e NASS-5 (1.43 L. Q e 0.43 nM de L.D) referente a velocidade de varredura 0,06 V/s.

4.7.2. Exatidão, recuperação e precisão

Exatidão representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro. Para isso, foi usado um material de referência certificado (CRM), o NASS-

6 para velocidade de varredura de 0,03 V/s (para determinação de ferro dissolvido) e NASS-5 para velocidade de varredura de 0,06 V/s (especiação orgânica do FeD).

Assim, obteve-se 92% de recuperação para Nass-6 e 107% de recuperação para NASS- 5, considerados mostrando aceitáveis para a análise em questão, já que se enquadram entre 70 e 120% (Ribani *et al.*, 2004).

Os cálculos empregados para a determinação da precisão foram baseados na razão entre o desvio padrão relativo e a média (ambos do CRM), também conhecido como coeficiente de variação (CV). O valor obtido foi de 1.96% (para o menor valor de velocidade) e 3.6% (para o maior valor de velocidade). Ou seja, $CV = SD/média * 100$, os valores de precisão e recuperação, obtidos neste trabalho, são considerados confiáveis para esse tipo de método voltamétrico, já que se encontram na faixa ideal descrita por Ribani *et al.* (2004) (Tabela 3).

Tabela 3. Resultados de Validação do método, (n=6). Resultados brutos encontram-se em Anexo IX.

	CRM [nM]	Este trabalho [nM]	LQ [nM]:	LD [nM]	Precisão	Recuperação
NASS-6	8.,7±0,82	8,14±0,11	1,06	0,32	1.96%	95%
NASS-5	3.71±0,62	3,98±0.14	1,43	0,43	3.96%	107%

4.7.3. Linearidade

Segunda a Anvisa, linearidade é a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado.

Tendo como base que as amostras de águas costeiras da Plataforma Continental Sul Brasileira possuem concentrações de Fe geralmente superiores a 2 nM em que a variação possivelmente não ultrapassaria 100 nM (Windom *et al.*, 2006), foi estipulado que a faixa trabalho não ultrapassaria o valor de 10 nM. Logo, a faixa escolhida para o teste de linearidade seria até esse valor, uma vez que as amostras poderiam ser diluídas em até 10 vezes (Laglera, comunicação pessoal). Nota-se que há linearidade nessas condições como demonstrado por $r^2=0.99$ da Figura 11, valor recomendado pela ANVISA e acima do valor recomendado pelo INMETRO ($r^2=0.90$).

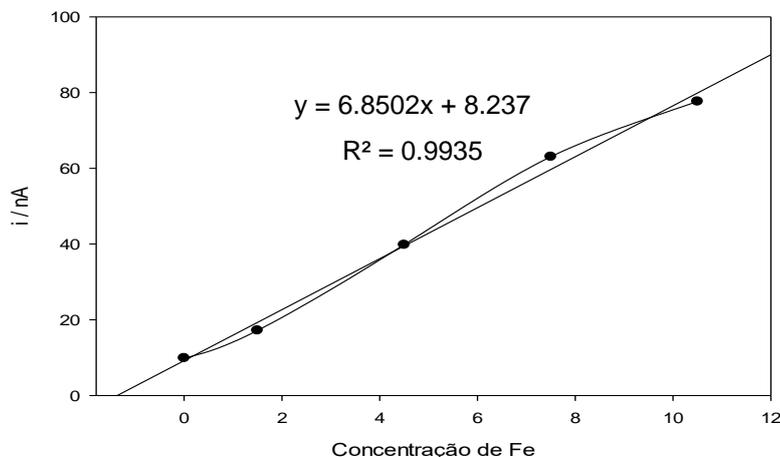


Figura 11. Teste da linearidade de uma amostra de água do mar, com adições de até 10 nM de Fe. Resultados podem ser encontrados em Anexo X.

5. Protocolo de Especificação:

A partir dos resultados encontrados nesse trabalho foi possível desenvolver um protocolo de análise. Neste protocolo encontram-se a descrição de procedimento de análise em laboratório para a determinação de ferro total dissolvido e a especificação orgânica de ferro em águas costeiras sob forte influência de ácidos húmicos sob forte recomendação de utilização de salicilaldoxima como ligante artificial.

Determinação de ferro dissolvido total:

- 1) Em campo:
 - a. A coleta da amostra deve ser feita de maneira limpa, garantindo o menor contato com o ar possível, recomenda-se o emprego de garrafas teflonadas Go-flo ou o modelo do tipo “fish” com o uso de capelas portáteis.
 - b. As amostras em campo devem ser, imediatamente, congeladas.
- 2) Em laboratório:
 - a. As amostras devem ser acidificadas a um pH 1,8 e colocadas durante 5 horas em fotoreator de UV, que contenha uma lâmpada de vapor de mercúrio de 60 W.

- b. Após o resfriamento da amostra, é adicionado solução de salicilaldoxima com uma concentração final de 25 μM . As amostras, então, devem permanecer durante 15 minutos em equilíbrio com o ligante artificial. Logo em seguida é neutralizada com NH_4OH (2 M), sendo em seguida tamponada com borato de amônia (1,5 M), pH 8.2, e, por fim, analisada por voltametria de pulso diferencial. Os parâmetros voltamétricos encontram-se na tabela abaixo (Tabela 4.).

Tabela 4. Tabela de parâmetros voltametricos para determinação e especiação de ferro. * Para a determinação a velocidade de varredura empregada é inferior 0,03V/s.

PARAMETROS VOLTAMÉTRICOS	CSV
MODO	Pulso diferencial
PURGA (AR COMPRIMIDO)	120s
VARREDURA	0 V – 0.85V
POTENCIAL DE DEPOSIÇÃO	0V
TEMPO DE AMPLITUDE	0,05
VELOCIDADE DE VARREDURA	0,06 V/s*
TEMPO DE EQUILÍBRIO	10 s
VELOCIDADE DE AGITAÇÃO	4
TAMANHO DA GOTA	3

Para cada uma das leituras é feita uma reta, empregada para o cálculo da concentração da amostra. Neste protocolo recomenda-se que antes que seja feita uma análise de qualquer amostra sejam verificados: temperatura da sala, entrada de gases (verificando a presença continua na formação de peróxido em -0,1V), verificação do pH entre todas as análises, verificação do condicionamento da célula com a estabilidade das leituras, garantindo, portanto, que todas as adições de solução padrão apresentem a mesma intensidade de sinal sem que haja perda de FeSA_2 para a célula voltamétrica.

Especação orgânica

- 1) Em laboratório (com as amostras devidamente coletadas e filtradas em $0,2\mu\text{m}$):
 - a. Descongela-se a amostra, não sendo necessário acidificá-la, separando em alíquotas de 10 ml, usa-se frascos Falcon® aclimatados, sendo recomendado 3 brancos, ou seja, sem que haja adição de solução de ferro e pelo menos 10 alíquotas ao todo.
 - b. As amostras separadas devem ser tamponadas com solução 1,5 M de borato de amônio solução final 0,7mM.
 - c. Em cada um dos frascos deve ser adicionado concentração de solução de ferro de 0 – 170nM, a faixa de concentração estipulada depende da concentração encontrada na determinação de ferro dissolvido. Por exemplo, a concentração 0, seria a concentração inicial da titulação da especiação, caso esta seja 2,5 nM sabendo que em regiões costeiras em que a concentração de ligantes seria maior, a faixa de trabalho deveria ser de 0- 80 nM. De modo que em concentrações superiores em que a determinação encontrada de 40 nM, por exemplo, a faixa recomendada é de até 170 nM. Após espera-se 15 minutos de reação entre a solução padrão de Fe e os ligantes naturais encontrados na amostra. Recomenda-se que não sejam usados altos volumes de solução padrão de Fe, uma vez que as amostras podem estar sendo acidificadas. A escolha dessa faixa de trabalho baseia-se no fato que amostras costeiras possuem uma maior concentração de ferro (Su *et al.*, 2015).
 - d. Em cada uma das alíquotas contendo tampão, a amostra e solução padrão de Fe devem ser adicionadas solução de salicilaldoxima, com concentração final de $25\mu\text{M}$.
 - e. Por fim as amostras devem ser analisadas segundo os parâmetros voltamétricos descritos na tabela 4.
 - f. Os resultados apresentados nessa curva de titulação devem ser calculados segundo modelos de linearização Ružic/van den Berg, ou Scatchard, ou isoterma de Langmuir. Recomenda-se o emprego do software ProMCC para os cálculos de especiação.

Aos frascos Falcon® aclimatados são condicionados durante dez dias em frascos condicionados com água ultrapura, $50\mu\text{L}$ de KCl (3M), tamponada com uma concentração final de 10mM de borato de amônio, sendo trocada a solução diariamente. Cada frasco possui uma concentração pré-estabelecida que variava entre 1 – 170 nM (Figura 12). Depois cada um dos frascos era lavado com água

ultrapura tamponada, para que não houvesse perda do condicionamento, utilizando a mesma água empregada para lavar a célula voltamétrica entre as análises.

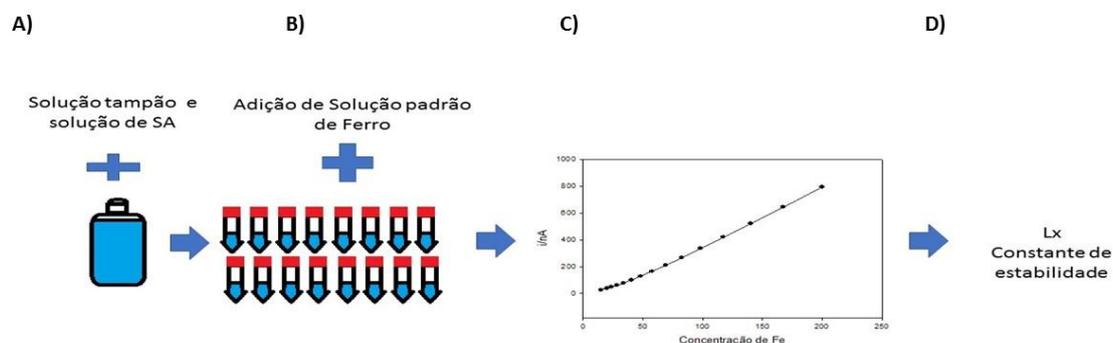


Figura 12.. Esquema da especiação orgânica. A) primeira etapa em que é adicionada solução tampão e SA. B) Adição de solução de padrão de ferro. C) Resultado obtido na voltametria (curva de titulação). D) Resultado da especiação orgânica (concentração de ligantes totais e constante de estabilidade)

6. Conclusão

Este trabalho adaptou métodos voltamétricos que empregavam salicilaldoxima com ligante artificial estabilizando o sinal analítico e mantendo uma intensidade de sinal suficiente para que seja possível a análise de ferro dissolvido em águas costeiras com concentrações elevadas de ferro dissolvido total, como é o caso de águas da Plataforma Continental Sul Brasileira.

Além disso, foi criado um protocolo de análise confiável com base nos resultados obtidos, com baixos limites de quantificação, tanto para determinação quanto para especiação, além de recuperação e precisão considerados aceitáveis.

Assim, este capítulo mostra que com essas adaptações e principalmente com as mudanças feitas em relação ao sistema do eletrodo de trabalho e purga, em que não se oxida com tanta facilidade o mercúrio, é possível analisar ferro em altas concentrações em regiões costeiras. Ou mesmo em regiões mais oceânicas, concentrações inferiores, seus ligantes e suas respectivas constantes de estabilidade. Este capítulo proporcionou a elaboração deste protocolo mostrar de modo simples que o emprego de salicilaldoxima para águas ricas em ácidos húmicos pode ser uma

opção para qualquer laboratório que queira analisar especiação orgânica do ferro. Uma vez que não há muitas modificações no equipamento, com o objetivo de comprovar isso, o segundo capítulo baseia-se em análise de águas costeiras com aplicação destes métodos.

CAPITULO 2 – ESPECIAÇÃO ORGÂNICA DO FERRO NA PLATAFORMA CONTINENTAL DO SUL DO BRASIL

Resumo

A especiação orgânica de ferro dissolvido foi investigada ao longo da Plataforma Continental Sul Brasileira, em transectos perpendiculares na altura do Farol do Albardão durante o inverno e o verão de 2015 e Cabo de Santa Marta no inverno, com o NOc Atlântico Sul. Amostras de água de superfície e de fundo, foram coletadas usando garrafas Go-Flo e com o sistema do tipo “fish”, para análise de nutrientes inorgânicos dissolvidos. A análise do Diagrama TS de massas de água mostrou a presença de três massas d’água na área investigada, Água Tropical (AT), Água Subtropical de Plataforma (ASTP) e Pluma do Rio da Prata (PRP), no verão em 50 km da costa (superfície e fundo) e no inverno em até 10 m de profundidade. As maiores concentrações de silicato, fosfato, e ferro dissolvido (FeD) foram registradas na pluma do Rio da Prata em ambos os transectos. As concentrações de FeD e todos os nutrientes analisados foram menores nas massas de água mais oligotróficas, ASTP e AT, com exceção do nitrato em Santa Marta presente na AT. Tal anomalia foi verificada concomitantemente com a presença de ligantes orgânicos na mesma região, associada à produção biológica. Baixas concentrações de ferro livre (Fe^{+3}) foram observadas, não chegando a 1% do FeD da amostra. Além disso, foram verificadas altas capacidades de complexação (L) e excesso de ligantes (eL) em todos os transectos, superando os teores de ferro dissolvido, mostrando que existe mais ligantes na região, o que garante a solubilidade deste elemento. Os valores da constante de estabilidade registrados nos dois períodos amostrados variaram entre 12,32 e 8,97, o que indica a presença de até três classes de ligantes. Os resultados apresentados nesse trabalho foram semelhantes aos de outras regiões ricas em ácidos húmicos, regiões de descargas pluviais, e com elevadas taxas de produção biológica. As altas concentrações de ferro dissolvido sobre a plataforma podem ter influenciado a formação de ligantes, o que, por sua vez, gerou elevada capacidade de complexação ao longo de todos os transectos, mantendo o ferro solúvel na coluna d’água, e conseqüentemente, o mantendo biodisponível. A maior solubilidade permite inferir que essa região atua como zona exportadora de ligantes para o oceano adjacente.

1. Introdução

O ferro é um elemento essencial para inúmeras formas de vida marinha, sendo fator limitante principalmente para a produção primária, estando inclusive associado a processos de glaciação e deglaciação (Martin, Gordon e Fitzwater, 1990). Embora esse elemento seja o quarto elemento mais abundante na crosta terrestre, em meio oceânico suas concentrações são muito pequenas, variando entre 0,09 a 0,77 nM (Rue e Bruland, 1995).

Esse elemento permanece estável em meio oceânico na forma de Fe(III), espécie química menos solúvel, essa característica afeta a sua presença em bacias oceânicas, por isso este elemento apresenta baixas concentrações (Liu e Millero, 2002). As maiores concentrações de ferro nos oceanos são encontradas próximas a regiões em que há aportes atmosféricos, diagêneses de rochas e sedimentos, *inputs* fluviais e fontes hidrotermais.

A solubilidade do ferro pode ser alterada quando este passa a se complexar a moléculas orgânicas, também chamadas de ligantes orgânicos (Gledhill, e Buck, 2012), que retardam sua precipitação, mantendo-o solúvel e, por consequência biodisponível. Esta característica tem feito a comunidade acadêmica se voltar para estudos relacionados a especiação orgânica desse elemento nos últimos anos (Caprara *et al.*, 2016). Assim, a grande maioria das bacias oceânicas já foi avaliada quanto a presença de ligantes, sendo reconhecido que cerca de 94-99% do ferro dissolvido encontra-se na forma complexada (van den Berg, 1995; Rue e Bruland, 1995), reforçando a necessidade de estudos relacionados a este aspecto.

Embora haja um aumento do interesse da comunidade científica neste tema, existe uma carência de dados no Atlântico Sul. Dos estudos encontrados, Rijkenberg *et al.*, (2014) abordam a distribuição de ferro total em um transecto meridional a oeste do Atlântico, localizado a 1000km da costa brasileira. Posteriormente, Gerringa *et al.* (2015) estudaram a especiação orgânica do ferro neste mesmo transecto, sendo o único trabalho relacionado a este tema no Atlântico Sul referente a bacias oceânicas até então.

Em relação a ambientes costeiros, foi encontrado somente um estudo que relaciona a distribuição e as fontes de ferro na região de estudo deste trabalho, a Plataforma Continental Sul Brasileira (PCSB). Windom *et al.* (2006) relacionaram as altas concentrações deste elemento com a descarga de água subterrânea (DAS) na região, diferente do que se esperava, uma vez que a mesma sofre influência de altas descargas fluviais. Posteriormente, Niencheski *et al.* (2014) associaram os processos de transporte, distribuição e fontes de nutrientes, elementos-traços (entre eles, o ferro) e alguns traçadores de DAS (^{223}Ra ; ^{224}Ra ; ^{226}Ra e ^{228}Ra) para a mesma região.

A PCSB já foi estudada por inúmeros autores por possuir características peculiares, como a influência de dois grandes corpos hídricos, a Lagoa dos Patos e o Rio da Prata, com vazões distintas, além da influência sazonal na constituição das massas de água costeiras (Möller *et al.*, 2008). Essa região, em especial, também

apresenta a influência de descargas de água subterrânea que auxiliam na intrusão de nutrientes e elementos traço para a região costeira (Niencheski *et al.*, 2007; Niencheski, Windom e Moore, 2014). Estas fontes de elementos dissolvidos para a costa contribuem para que nesta região exista o maior potencial pesqueiro de todo o litoral brasileiro (Haimovici *et al.*, 2006).

Deste modo, o estudo da especiação orgânica do ferro é essencial para a compreensão dos ciclos biogeoquímicos no ecossistema marinho dessa região. Assim nesse capítulo pretende-se aplicar o método descrito no capítulo 1, em amostras oriundas de cruzeiros oceanográficos na costa do sul do Brasil. Uma vez que esta região é muito complexa, possui inúmeras influências fluviais, descargas de água subterrânea, além de ser influenciada por cinco massas de água. Dessa forma, através da avaliação da capacidade de complexação e a constante de estabilidade condicional do ferro dissolvido, ou seja, deste estudo pioneiro de especiação orgânica na Plataforma Continental do Sul do Brasil, pretende-se obter parâmetros primários para o aprofundamento do conhecimento das relações deste elemento e seus efeitos na cadeia trófica.

2. Área de estudo

A Plataforma Continental Sul Brasileira (PCSB) apresenta uma importante dominância sazonal de diferentes massas de água (Möller *et al.*, 2008). Localizada entre as latitudes de 28,5°S e 34°S, a PCSB é mais estreita na parte norte (110 km) e mais larga no Sul (acima de 170 km), e a sua quebra de plataforma está localizada na isóbata de 180 m.

O assoalho da PCSB é bem homogêneo em sua totalidade, porém abriga várias depressões relacionadas à transgressão do Último Máximo Glacial, como o paleocanal do Albardão, dentre outros (Abreu, De e Calliari, 2005).

A PCSB possui uma grande contribuição de aporte fluvial principalmente oriundo da Lagoa dos Patos (RS) e do Rio da Prata (Uruguai) (Möller *et al.*, 2008; Piola, *et al.*, 2000). A influência da pluma do Rio da Prata em direção norte na PCSB depende dos ventos costeiros (Guerrero *et al.*, 1997), os quais favorecem o seu transporte em direção nordeste durante o outono e inverno. Elevados aportes fluviais condicionam a

formação da pluma, criando um gradiente salino na plataforma que tem um forte impacto na dinâmica da PCSB (Möller *et al.*, 2008).

Ao sul da PCSB encontra-se uma região próxima ao Farol do Albardão, caracterizada como um dos grandes potenciais pesqueiros do litoral brasileiro (Haimovici *et al.*, 2006) e por apresentar características diferenciadas em relação à topografia e dinâmica das massas de água (Attisano, 2007).

Além disso, uma formação de barreiras do quaternário proporciona para o extremo sul do Brasil um afloramento propício e já bem estudado de descarga de água subterrânea (DAS) que enriquece a PCSB. Na região do Paleocanal do Albardão, Attisano (2012) sugere que esta estrutura funciona como uma facilitadora do processo de Descarga de Água Subterrânea (DAS) na plataforma, funcionando como fonte de nutrientes e tendo impacto direto na produtividade primária do meio.

Ao Norte no estado de Santa Catarina encontra-se o Cabo Santa Marta, cuja plataforma, em contrate com o Albardão, é caracterizada por ser estreita e de declive acentuado. Plataformas continentais com essas características tendem a favorecer a ressurgência costeira, a qual pode ocorrer na primavera ou no verão nessa região. Nessa situação, o predomínio de ventos de nordeste facilita a penetração da Água Central do Atlântico Sul (ACAS) na plataforma continental, enriquecendo as águas costeiras com nutrientes (Acha *et al.*, 2004).

Do Chuí (33°44'S) até o Cabo de Santa Marta (28°36'S), na PCSB, cinco massas de água interagem. As águas, de menor salinidade, da Pluma do Rio da Prata (PRP) interagem com as da Água Subantártica de Plataforma (ASAP) transportada pela Corrente da Patagônia, e com as massas de água oceânicas transportadas pela Corrente do Brasil (CB).

Dessas cinco massas de água, a Água Subantártica de Plataforma (ASAP) e a Pluma do Rio da Prata (PRP) são ambas separadas em termos latitudinais, variando sazonalmente e em algumas ocasiões podendo coexistir na mesma latitude quando a PRP permanece sobre a ASAP (Figura 13).

Durante o verão e a primavera, a forte influência de ventos de nordeste restringe a PRP à região sul próxima ao Albardão, cerca de 32°S, alcançando, entretanto, até 200 km de extensão em direção (Figura 13B) (Möller *et al.*, 2008). Durante o outono e inverno, as maiores descargas continentais e ventos de sudoeste forçam tanto o deslocamento da PRP em direção norte, como a sua manutenção em uma faixa paralela à costa (50-70km) (Piola *et al.*, 2005) (Figura 13A). Como consequência, a Água Tropical, a Água Central do Atlântico Sul (ACAS) e a Água Subtropical de

Plataforma (ASTP) são mantidas afastadas da plataforma interna e intermediária (Piola, Alberto R *et al.*, 2000).

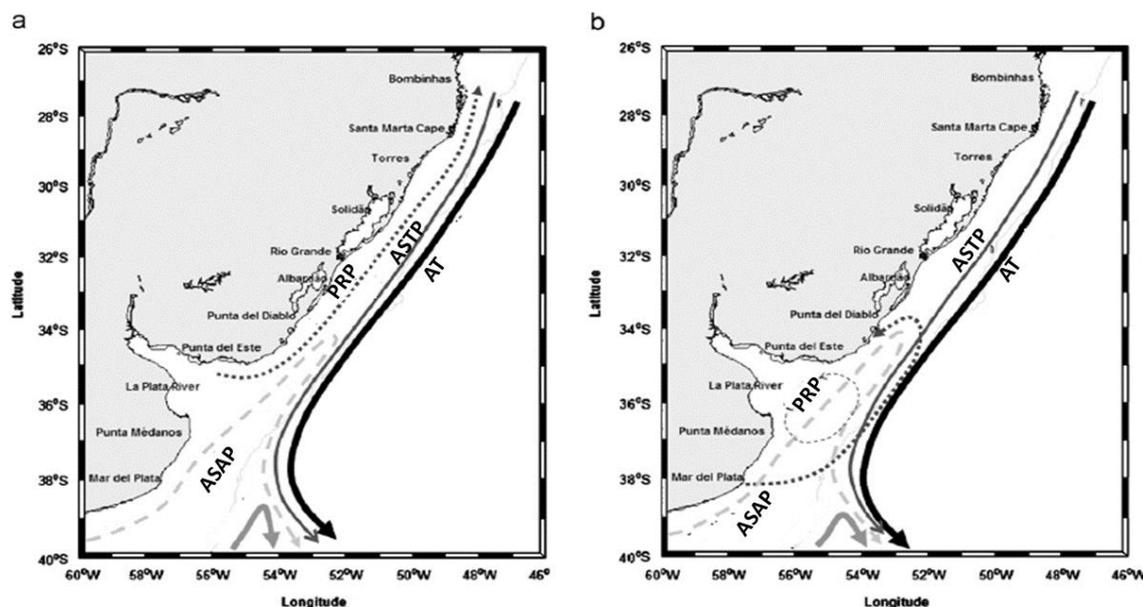


Figura 13 Esquema de massas de água modificado de Möller *et al.* (2008), A) representa inverno e B) verão.

A PRP é o somatório de descargas fluviais gerados do complexo Patos-Mirim além da própria descarga de água provida do Rio da Prata, cujo padrão de distribuição varia primariamente devido à forçante do vento e, em menor escala, ao volume de descarga continental (Piola *et al.*, 2005). A AT é uma água mais quente e salina, transportada na direção sul pela corrente do Brasil, sendo formada pela intensa radiação e excesso de evaporação (Silveira *et al.*, 2000). Já a ACAS possui temperaturas mais amenas e menor salinidade, sendo formada no afundamento na Convergência Subtropical. Essa sendo encontrada em profundidades maiores e, em raras exceções ressurgente sobre a PCSB, como em Santa Marta, por exemplo. Segundo Piola (2000), a ASAP é oriunda da Argentina, trazida pela Corrente da Patagônia, formada devido ao excesso de precipitação e do degelo que entra na plataforma continental próximo a 55°S e, ao atingir a PCSB, é diluída por descargas continentais, reduzindo sua salinidade e mudando suas características. Já a Água Subtropical de Plataforma (ASTP) é formada pela mistura entre AT e PRP ou pela mistura entre AT e ASAP (Möller *et al.*, 2008; Piola *et al.*, 2008).

Os índices termo-halinos utilizados neste trabalho para classificação destas massas de água foram baseados na revisão de Ciotti *et al.* (2014) e encontram-se descritos na Tabela 5.

Tabela 5. Resumo dos dados de temperatura e salinidade para a Classificações de massas de água. Fonte: Ciotti et al. (2014)

Massa de água	Temperatura	Salinidade
Água Tropical (AT)	T > 18°C	S > 36
Água Central do Atlântico Sul (ACAS)	T < 14 oeste T ≤ 21 Sul	35.6 < S < 34.2
Água Subantártica de Plataforma (ASAP)	T ≤ 14 (Oeste) T ≤ 21 (Sul)	33.5 < S < 34.2
Pluma do Rio da Prata (PRP)		S < 33.5
Água Subtropical de Plataforma (ASTP)	T > 14 & T ≥ 18.5 (O) T > 21 e T ≥ 20 (S)	33.5 < S < 35.3 (O) 35.3 < S < 36 (S)

3. Materiais e métodos

As amostras foram coletadas a bordo do Navio Oceanográfico Atlântico Sul – FURG, durante dois períodos, janeiro e julho de 2015, os quais se caracterizavam respectivamente, como períodos de inverno e verão (Figura 14), usando dois procedimentos distintos. No verão, as amostras foram coletadas usando garrafas teflonadas, tipo Go-Flo, com guincho próprio para a coleta de metais (cabo Kevlar). Foram coletadas amostras de superfície e fundo em 7 estações localizadas até 178 km da costa no transecto do Albardão (Fig. 14A). As amostras foram imediatamente filtradas com auxílio de filtro com 0,2 µm de diâmetro de poro (acetato de celulose), em seguida, foram congeladas e mantidas nestas condições até o momento da análise.

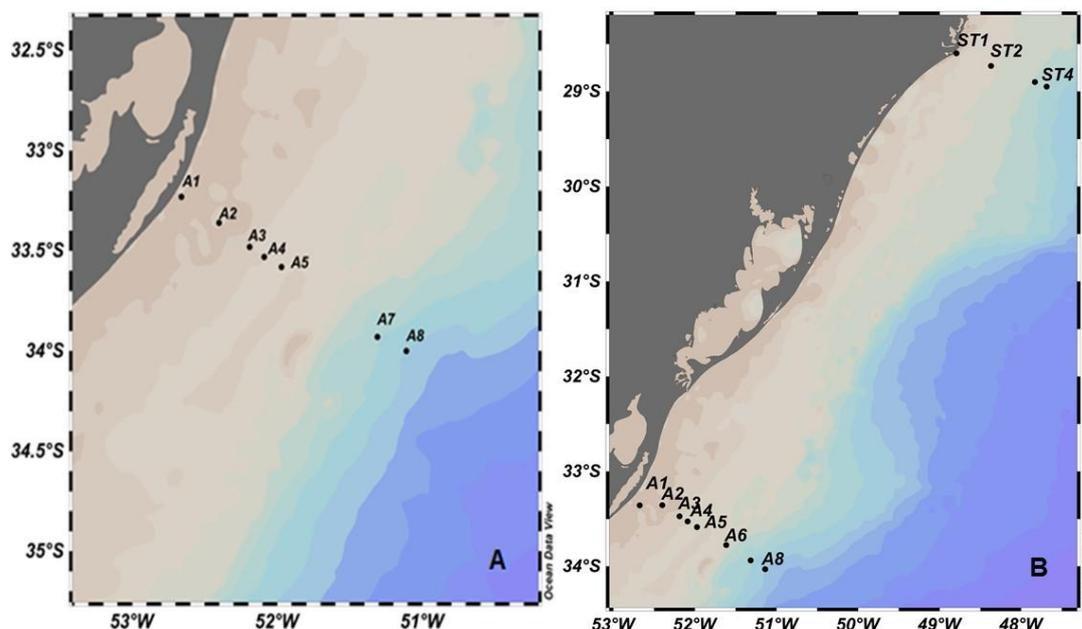


Figura 14. (A) Transecto Albardão (Ax) verão 2015 até 178 km da costa (A07 E A08) refere-se a Contreira-Pereira(em preparo), também coletados neste mesmo transecto, e (B) Transecto de inverno (ao Sul Albardão(Ax) ao norte Santa Marta (STx).

Nas coletas de inverno (Fig. 14B) a amostragem de água de superfície (10m) foi efetuada com um sistema tipo “fish”, usando uma mangueira acoplada a uma bomba peristáltica e uma capela portátil. Somente amostras superficiais foram coletadas.

Os parâmetros físico-químicos foram mensurados *in situ* usando CTD (SeaBird SBE9plus e SeaBird SBE19plus) medindo temperatura e salinidade. Os demais parâmetros foram analisados *in loco* com um termosalinômetro (YSI Modelo 30/10 FT); - pHmetro (Mettler Toledo Modelo MP 120); Oxímetro (PRO 20 Dissolved Oxygen Instrument, YSI®).

As amostras destinadas a determinação de nutrientes dissolvidos inorgânicos foram filtradas imediatamente após cada coleta, em filtro de acetato de celulose com porosidade de 0,45 μm , utilizando-se bomba a vácuo. Após a filtração, as amostras destinadas às análises de nitrato, fosfato e silicato foram acondicionadas em frascos de polietileno e, então, congeladas, para posterior análise (em laboratório fixo, Laboratório de Hidroquímica - FURG). As análises seguiram a metodologia descrita por Baumgarten, Wallner-Kersanach e Niencheski(2010).

Todo o material usado para a coleta e para a análise de elementos traços foi limpo seguindo o protocolo de Cutter *et al.*, (2010). Para a determinação e a

especiação do ferro foi empregado o método descrito no capítulo anterior. As amostras de inverno foram coletadas superficialmente, a 10 metros de profundidade.

Para os resultados de FeD foi feita uma análise de diluição. Para isso, foi calculado uma estimativa de FeD por quilometro, $\frac{FeD_{final}-FeD_{inicial}}{quilometro}$, desse modo é possível verificar nM/km, os valores de inicial e final, são de maior concentração e menor concentração, respectivamente. O valor superior, geralmente, refere-se aquele mais próximo a região costeira e o inferior em locais mais afastados.

Já os resultados de especiação foram baseados nos três modelos de especiação descritos em Pizeta et al. (2015), usando o software gratuito, denominado PROMCC (Omanović, Garnier e Pižeta, 2014), no qual é possível usar os modelos de linearização de Ruzic/van den Berg, e Scatchard, e não-linear para a isoterma de Langmuir.

4. Resultados e Discussão

Massas de água

A análise da composição das massas de água presentes durante as coletas nos dois períodos amostrados, foi realizada através de Diagramas TS (Figura 15). Ambos os períodos foram marcados pela presença da Pluma do Rio do Prata (PRP), essa massa de água é caracterizada pela baixa salinidade e durante o período de dezembro a março permanece limitada até a latitude de 32°S (Möller *et al.*, 2008), podendo atingir até 200 km da costa (Ciotti, Mahiques, de e Möller, 2014). Isso justifica a presença da pluma mesmo em estações a 170 km, sendo presente no verão em todo o transecto do Albardão.

Durante o verão no transecto do Albardão (Figura 15A), foi verificada a presença da PRP, ASTP, ASAP, AT e ACAS nas duas últimas estações. Estas encontram-se na quebra de plataforma, em profundidades de até 1500 metros e, por isso, foi possível encontrar massas de água com características tão distintas ao longo da coluna d'água. Como as coletas para análise de ferro neste cruzeiro foram exclusivamente superficiais, somente as massas de água PRP e ASTP foram amostradas.

No inverno (Figura 15B), antagonicamente, a ASTP e a AT nas duas últimas estações fazem parte da camada de superfície, onde foram coletadas amostras para este trabalho, embora novamente tenha sido evidente a influência da PRP em até 120 km da costa, nesse período. A ACAS e ASAP foram encontradas em maiores profundidades.

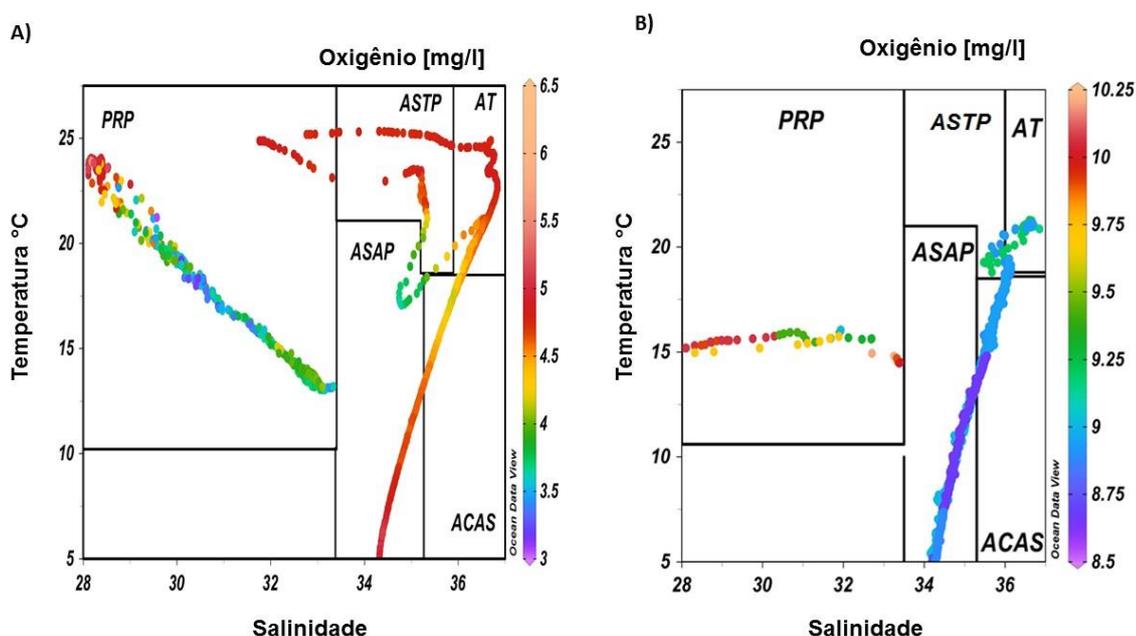


Figura 15. Diagrama TS e concentração de Oxigênio Dissolvido, no transecto do Albardão - A) de verão e B) de inverno. ACAS- Água Central do Atlântico Sul ; AT- Água Tropical; ASTP – Água Subtropical de Plataforma; ASAP- Água Subantártica de Plataforma e PRP – Pluma do Rio da Prata. Resultados em Anexo XI.

O Transecto de Santa Marta no inverno, mesmo localizado mais ao norte, também apresentou influência da pluma do Rio da Prata na região costeira até 20 km de distância da costa, como pode ser observado à esquerda da figura (Figura 16). Durante o inverno ventos de sudeste permitem o deslocamento da pluma ao longo da costa, podendo alcançar distâncias maiores na direção norte, entretanto permanece restrita longitudinalmente (Möller *et al.*, 2008; Piola. *et al.*, 2000).

Nesse transecto, a ASAP foi encontrada na segunda estação e mais superficialmente, na zona fótica, assim como em camadas mais profundas a 100 km da costa. Nas demais estações, a AT, ASTP e ACAS foram encontradas mais afastadas da costa. As amostras para a análise de ferro foram coletas somente em

superfície e, como pode ser visualizado no diagrama TS, correspondem as massas d'água AT e ASTP.

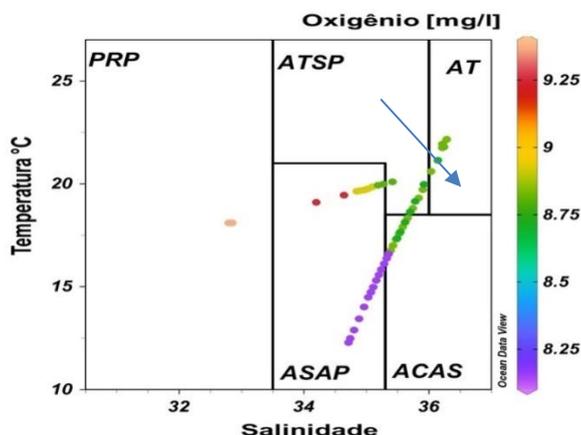


Figura 16. Diagrama TS e Oxigênio Dissolvido no inverno, no transecto de Santa Marta. ACAS- Água Central do Atlântico Sul ; AT- Água Tropical; ASTP – Água Subtropical de Plataforma; ASAP- Água Subantártica de Plataforma e PRP – Pluma do Rio da Prata. Resultados em Anexo XI.

Nutrientes dissolvidos

As massas de água são caracterizadas não só pelos parâmetros físico-químicos, mas também por sua composição de nutrientes inorgânicos. No transecto do Albardão durante o verão foram avaliados apenas os dados de nutrientes inorgânicos dissolvidos relativos a pluma do Rio da Prata, uma vez que as amostras para análise do ferro foram coletadas somente nessa massa d'água. Já no inverno somente a influência da AT, ASTP, PRP foi avaliada, referente à camada superficial, já que não se efetuou coletas em profundidades superiores a 10 metros de profundidade, tanto no Albardão quanto no transecto de Santa Marta.

As maiores concentrações de silicato foram encontradas em zonas costeiras, sob influência da PRP, alcançando até 55 μM . É sabido que essa massa de água caracteriza-se por introduzir silicato (Möller *et al.*, 2008), tendo sido evidenciado nos dois períodos de coleta no Albardão (Figura 17). Nessa região o silicato apresenta um comportamento inversamente proporcional à salinidade, ou seja, quanto a maior descarga de água doce maior a sua concentração, evidenciado principalmente no período de inverno (Figura 17B). Isso justifica suas maiores concentrações nesta estação do ano, período de maior descarga fluvial. O silicato pode ser considerado

um elemento conservativo nessa região, uma vez que a remoção biológica desse elemento é pequena diante do seu aporte continental (Braga *et al.*, 2008).

A Figura 17A refere-se ao período de verão e para esta amostragem foram coletadas amostras somente na zona costeira, onde se encontra a PRP. Para este período e local também se evidenciou maiores concentrações de silicato para esta massa de água.

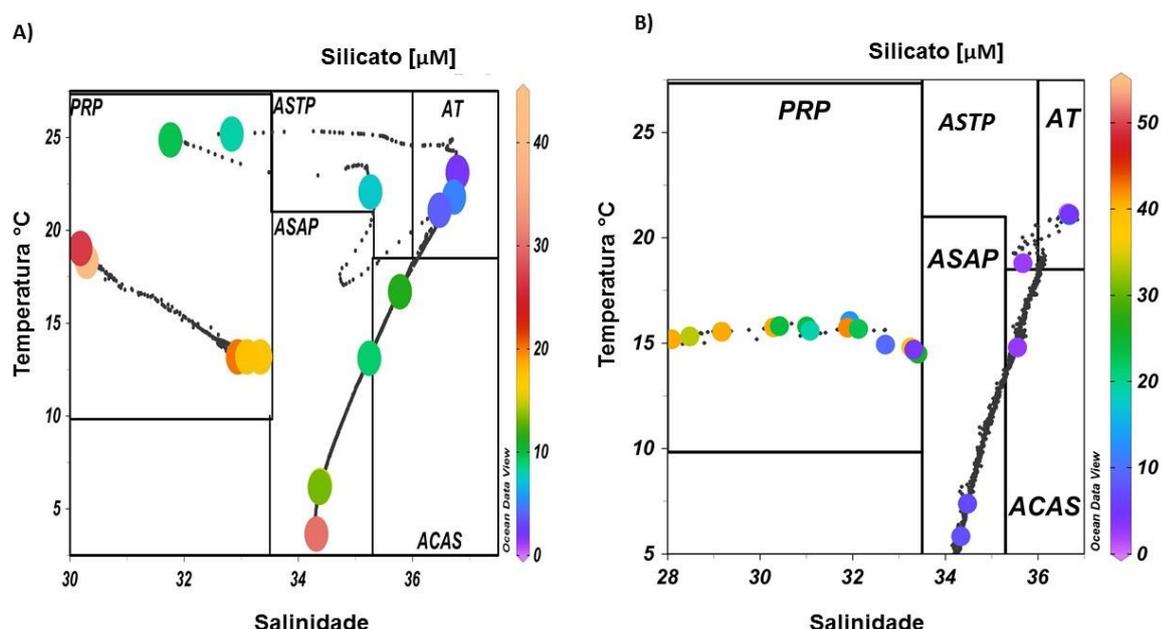


Figura 17. Distribuição da concentração de silicato inorgânico dissolvido (μM) no período de verão ao longo do diagrama TS. A) Referente a transecto do Albardão (Verão). B) Referente ao transecto do Albardão (Inverno). AT- Água Tropical; ASTP – Água Subtropical de Plataforma; ASAP- Água Subantártica de Plataforma e PRP – Pluma do Rio da Prata. Resultados em Anexo XI.

Em relação ao nitrato, durante o inverno (Figura 18B) foi verificada uma diminuição em suas concentrações no sentido costa para o oceano, ou seja, o nitrato apresenta uma tendência a diluição da PRP para as demais massas d'água coletadas no Albardão. As menores concentrações foram verificadas no inverno nas massas de água AT e ASTP (15B a direita da figura). Todavia, no verão (Figura 18A), a PRP apresentou maiores concentrações na água de fundo.

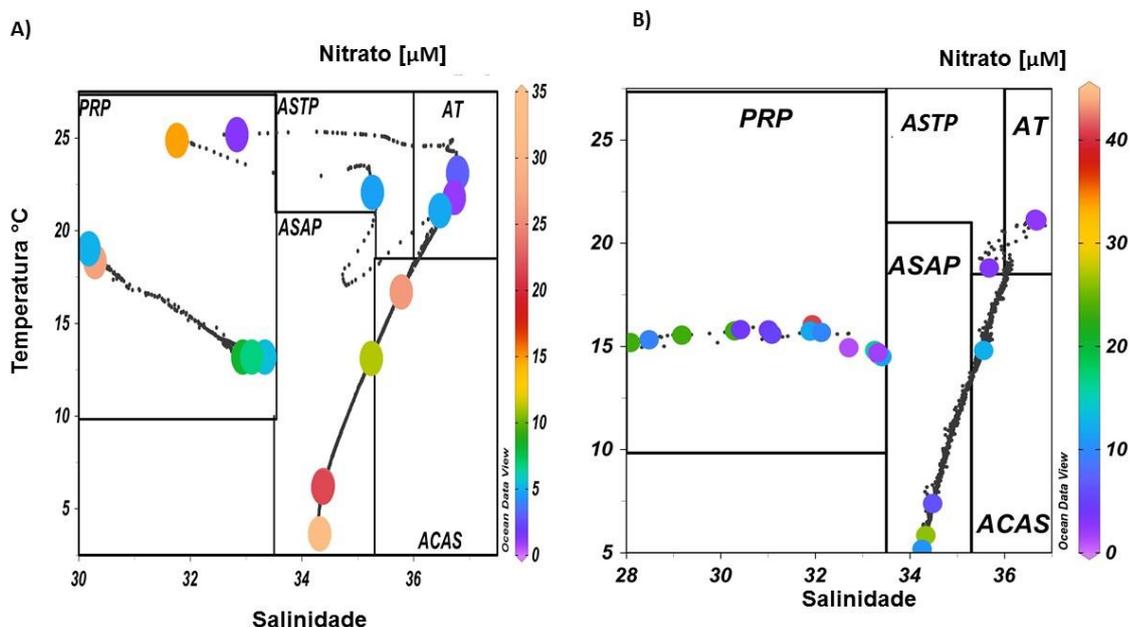


Figura 18. Distribuição da concentração de nitrato inorgânico dissolvido (μM) para o período de verão ao longo do diagrama TS A) Referente ao transecto do Albardão (Verão). B) Referente ao transecto Do Albardão. AT- Água Tropical; ASTP – Água Subtropical de Plataforma; ASAP- Água Subantártica de Plataforma e PRP – Pluma do Rio da Prata. Resultados em Anexo XI.

Assim como o silicato, o fosfato também apresenta características de um elemento provindo de fontes continentais, sendo uma das características da presença da pluma na plataforma continental (Piola *et al.*, 2000), durante os dois períodos no transecto do Albardão (Figura 19). Isso pode ser observado tanto no verão quanto no inverno em que PRP apresentou altas concentrações de fosfato (Figura 19). Esta distribuição do fosfato também foi descrita por Braga *et al.*, (2008) para a mesma região.

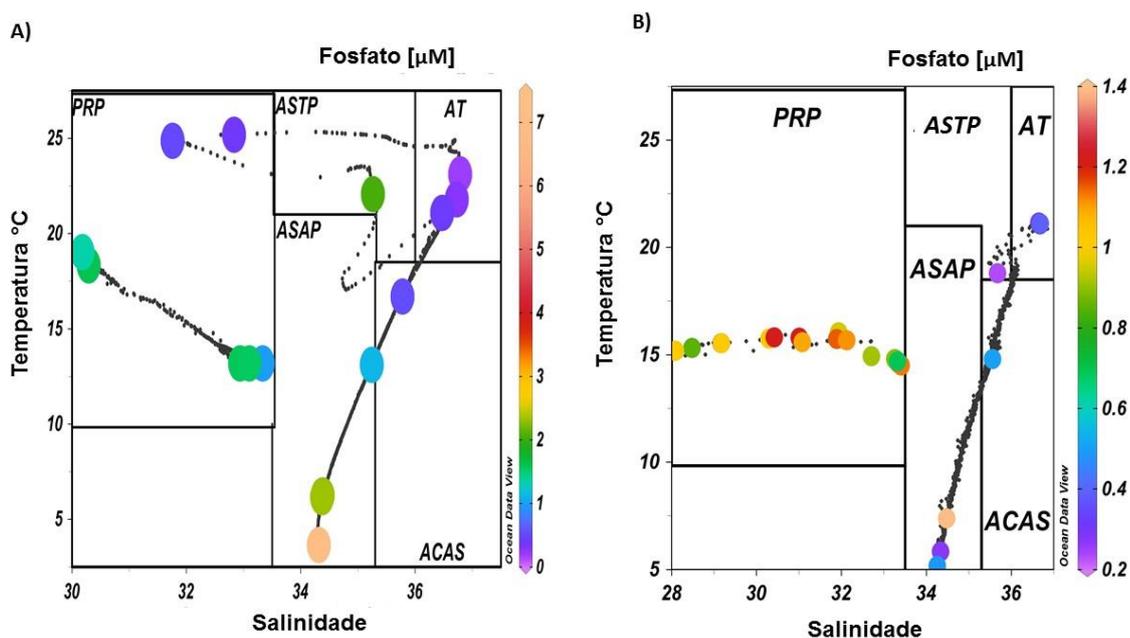


Figura 19. Distribuição da concentração de fosfato inorgânico dissolvido (μM) para o período de verão ao longo do diagrama TS. A) Referente ao transecto do Albardão (Verão). B) Referente ao transecto do Albardão (inverno). AT- Água Tropical; ASTP – Água Subtropical de Plataforma; ASAP- Água Subantártica de Plataforma e PRP – Pluma do Rio da Prata. Resultados em Anexo XI.

Em Santa Marta, no período de inverno, a presença da pluma do Rio da Prata enriqueceu a água em fosfato e silicato (Figura 20A e 20B). Por sua vez na AT e ASTP foram encontradas baixas concentrações de silicato e fosfato, porém altas concentrações de nitrato. A presença unicamente desse nutriente em alta concentração pode estar associada à presença de cianobactérias do gênero *Trichodesmium*, um organismo fixador de nitrogênio. Segundo Gonçalves-Araújo *et al.* (em preparo) há evidências da presença deste gênero na AT, na Plataforma Continental Sul Brasileira.

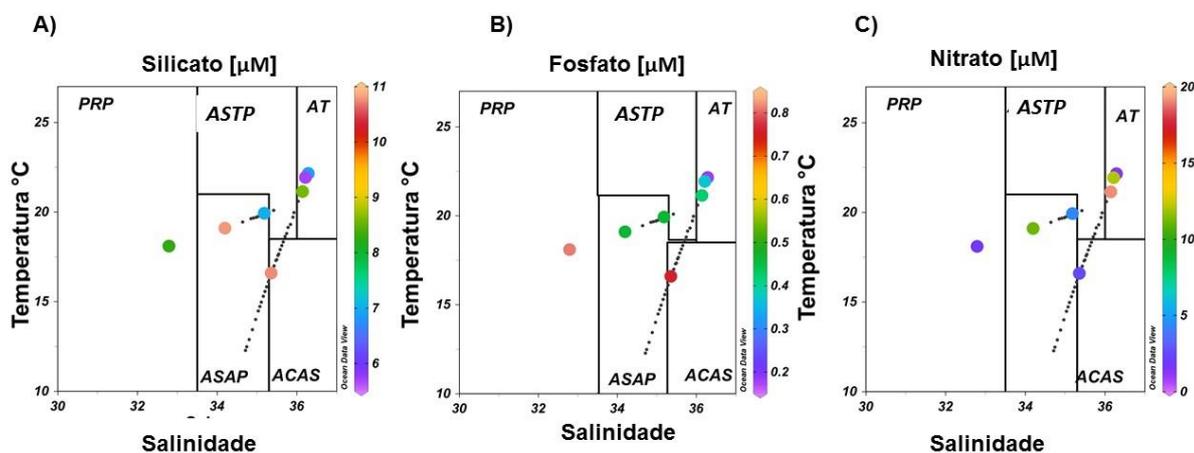


Figura 20. Distribuição da concentração de Silicato [μM] (A), Fosfato [μM] (B) e Nitrato [μM] (C) inorgânico dissolvido para o período de inverno ao longo do diagrama TS no Transecto de Santa Marta. AT- Água Tropical; ASTP – Água Subtropical de Plataforma; ASAP- Água Subantártica de Plataforma e PRP – Pluma do Rio da Prata. Resultados em Anexo XI.

Os resultados mostram que as águas superficiais compostas por AT e ASTP apresentaram as menores concentrações de todos os nutrientes analisados, em ambos os períodos, inverno e verão (Figura 17, 18, 19 e 20), com exceção do nitrato na região de Santa Marta. O motivo pelo qual essa massa d'água (AT) se comporta dessa forma pode ser explicado pelo fato de que quando esta atinge a PCSB, chega exaurida em nutrientes, devido a total assimilação pelo fitoplâncton ao longo do seu deslocamento na direção sul. A mistura da PRP com a AT gera a ASTP, pobre em nutrientes.

A presença da PRP é importante para a cadeia trófica, uma vez que promove o enriquecimento da coluna d'água com nutrientes, especialmente durante o inverno, onde as concentrações de clorofila geralmente são aproximadamente o dobro quando comparadas ao verão (Garcia, 2007; Golçalves-Araujo *et al.*, em preparo). Nossos resultados revelam um enriquecimento de fosfato, silicato e mesmo nitrato na zona fótica nos dois períodos, associado à pluma, cuja presença foi observada até a profundidade de 50 metros, favorecendo o crescimento do fitoplâncton.

Distribuição de Ferro dissolvido

A Figura 21 apresenta as concentrações de Ferro Dissolvido (FeD) referentes às coletas realizadas no período de verão para a região do Albardão. Nesta estão representados os dados referentes as análises propostas por este trabalho, assim como os dados provenientes das determinações de FeD realizadas por Contreira-Pereira (*em preparo*) em amostras provenientes na região de quebra de plataforma coletadas no mesmo período.

No período de verão, as concentrações de ferro dissolvido (FeD) foram mais elevadas nas amostras das estações situadas mais próximas à costa, no Albardão, (Figura 21) diminuindo à medida que se distanciava da costa, de 34,81 para 1,74 nM, concentração máxima e mínima respectivamente (Figura 21).

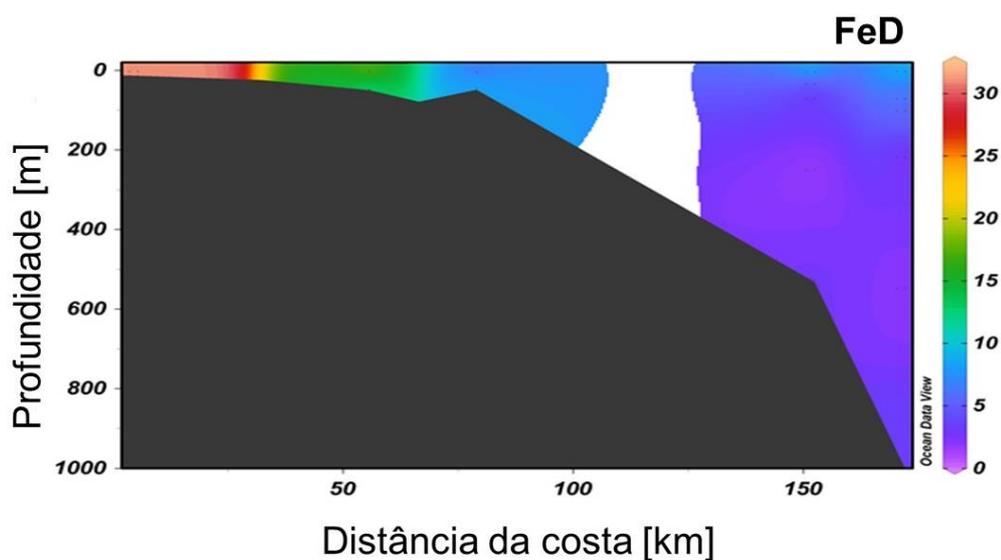


Figura 21. Distribuição da concentração de FeD (nM) no transecto do Albardão no Verão 2015. Dados deste trabalho até 100 km da costa e dados Contreira-Pereira (*em preparo*). (n=12). Resultados em Anexo XI.

As variações de concentração desse período tiveram um comportamento de diluição a partir da costa seguindo uma curva com declividade de 0.30 nM.km^{-1} , possuindo um $r^2 = 0.68$. Esse valor foi calculado considerando apenas os resultados da pluma, ou seja, subtraindo a presença das demais 4 massas de águas que ali se encontravam, nas estações mais profundas, descritas em Contreira-Pereira (*em preparo*) mostradas na Figura 21. Quando consideradas as 5 massas de água,

verifica-se que a declividade da curva de diluição cai para $0,19 \text{ nM.km}^{-1}$, com um $r^2=0.56$. Na Figura 22, com os dados somente referentes a pluma, pode ser observada, com maior clareza, a redução na concentração de ferro ao longo da costa em decorrência do processo de diluição, o que pode ter conduzido a maior declividade.

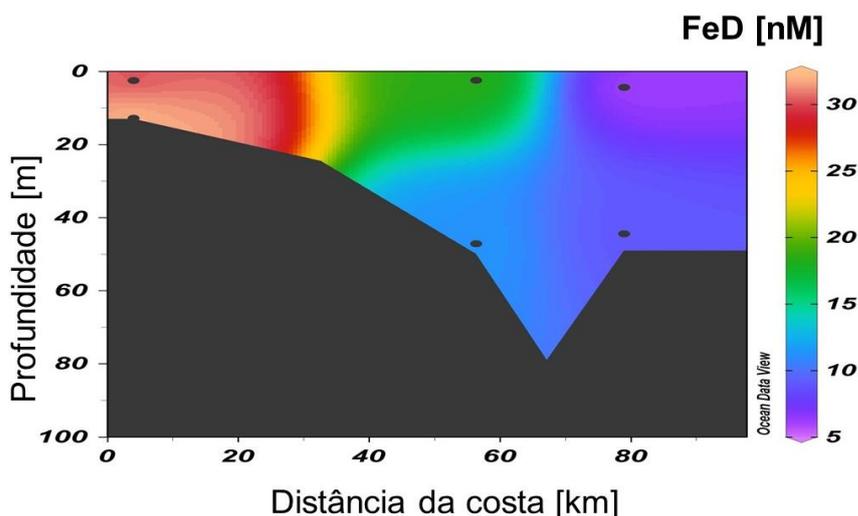


Figura 22. Distribuição da concentração de FeD (nM) no transecto do Albardão no Verão de 2015. Nas estações próximas à costa está presente somente a Pluma do Rio da Prata (PRP).

Já no inverno, no transecto do Albardão o comportamento de FeD foi distinto. Apesar da mesma tendência de maiores concentrações de ferro na região costeira e menores em regiões afastadas observada no verão, houve uma intrusão de Ferro sobre o Paleocanal do Albardão (Figura 23). Segundo Niencheski, Windom e Moore (2014), durante o inverno variações climatológicas, podem modificar a magnitude da descarga subterrânea auxiliando a intrusão de água subterrânea rica em ferro nessa região. A menor concentração de FeD foi observada nas últimas estações já na presença de Água Tropical.

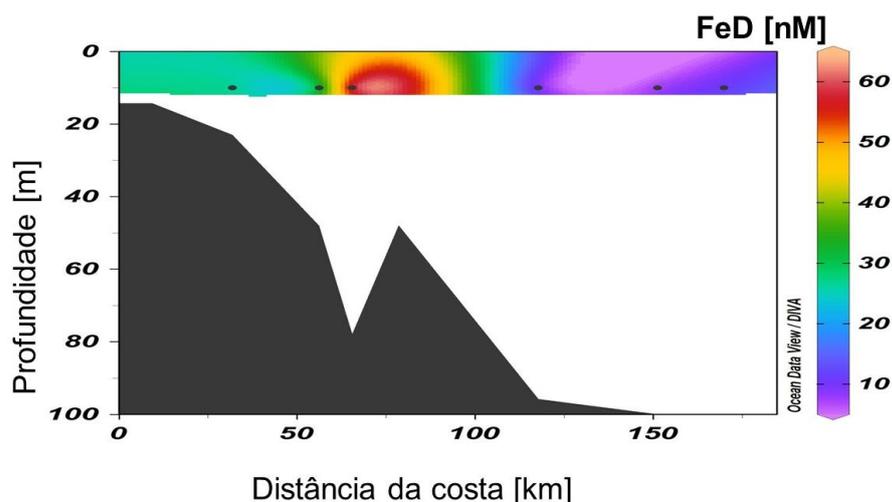


Figura 23. Distribuição de FeD [nM] no inverno do Transecto do Albardão.

Na região de Santa Marta, a batimetria parece influenciar diretamente no comportamento da diluição, pois há presença da PRP apenas sobre a plataforma, que é mais estreita nessa localidade. A partir do talude, a mudança para águas mais oligotróficas, como a ASTP, pode ter influenciado na acentuada diminuição da concentração de ferro (Figura 24). No ponto de coleta mais próximo à costa, o Fe apresenta-se em alta concentração (32.81 nM), já na segunda estação a redução da concentração foi 8 vezes menor em relação ao valor anterior, indo a 4.72 nM, chegando a 2,82 nM na última estação, onde houve evidência da presença da AT.

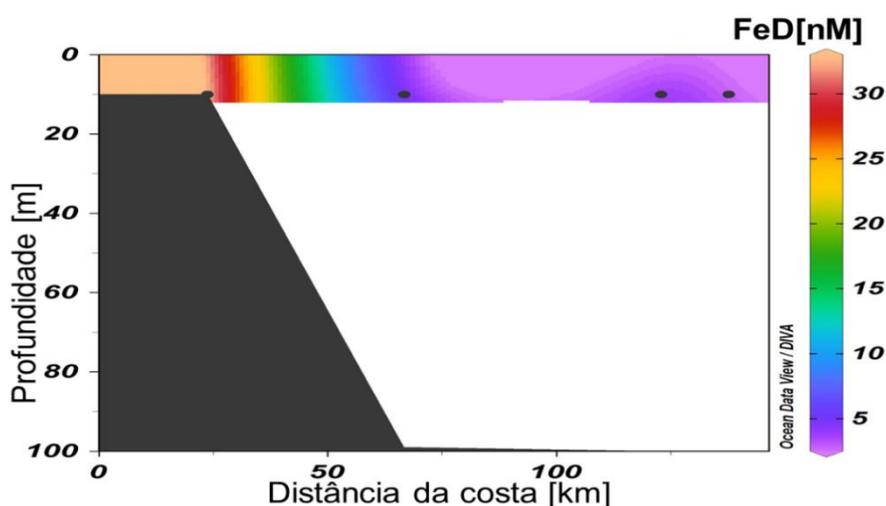


Figura 24. Distribuição de Fe ao longo do Transecto de Santa Marta no Inverno. . Resultados em Anexo XI.

Os resultados deste trabalho mostraram concentrações de ferro dissolvido muito superiores às encontradas em regiões de bacias oceânicas. O último levantamento global, em bacias oceânicas, ou seja, onde foram ignorados dados obtidos próximo à costa, mostram que as concentrações foram de $0,25 \pm 0,22$ nM, média e desvio padrão, respectivamente (Caprara *et al.*, 2016), valores muito menores aos valores encontrados comparados nesse trabalho. Como o esperado, foram encontrados valores semelhantes somente em locais próximos a desembocaduras de rios como ~17,5 nM, Rio Columbia, EUA (Buck *et al.*, 2007) e ~39,4 nM, Rio Yangtzé, China (Su *et al.*, 2015), já que áreas assim geralmente são ricas em ferro.

A característica de altas concentrações de FeD na região em estudo, pode ser consequência de um somatório de influências como: aportes fluviais, descarga de água subterrânea (DAS) e deposição de poeira atmosférica. Além da influência do Rio do Prata, a Lagoa dos Patos que também desemboca na PCSB possui em média $371,5 \pm 294,03$ nM de Fe (Windom, Niencheski e Smith, 1999) e contribui para altas concentrações encontradas na plataforma.

Devido a processos de DAS, esse elemento pode ser encontrado na zona de Surfe em concentrações de até $1\mu\text{M}$ de Fe (Windom *et al.*, 2006). Outra fonte para a região foi descrita por Bif e Yunes(2017) que constataram a presença de poeira atmosférica na região de talude, em AT e ASTP, em presença *blooms Trichodesmium*.

Pensando na possível intrusão atmosférica, uma amostragem mais superficial foi feita no transecto de inverno no Albardão com o intuito de verificar se haveria influência atmosférica sobre a área. A amostra foi coletada durante um período de chuva a 5 metros de profundidade. O resultado indica uma diferença de concentração de Fe de 0,8 nM entre amostras coletadas a 5 metros e 10 metros (12,10 nM e 11,14 nM, respectivamente), reforçando a hipótese da intrusão atmosférica de ferro ainda não estudada diretamente.

Especiação orgânica de Ferro

As elevadas concentrações de ferro dissolvido encontradas nos dois transectos estudados favorecem a já conhecida alta produtividade primária da região. Este

favorecimento só é possível pela manutenção do ferro solúvel na coluna d'água através da formação de complexos com ligantes naturais orgânicos. Assim, foi avaliada nestas águas a capacidade de complexação e a estabilidade do complexo formado de Fe com os ligantes naturais.

A maior parte do elemento ferro encontra-se na forma complexada no ambiente oceânico (Gledhill e Van den Berg, 1994; Rue e Bruland, 1995). A concentração média, verificada neste estudo, de ferro lábil (Fe^{+3}), ou seja, o ferro livre, de $8,96 \pm 4,96$ pM, equivale a valores muito inferiores a 1% do Fe total. Os valores de K'_{FeL} , em todas as localidades e períodos amostrados, oscilaram entre 12,32 – 8,97. Pela classificação estabelecida por Gledhill e Buck(2012) estes valores abrangem três classes de ligantes diferentes, de ligantes considerados fortes ($K'_{\text{FeL}} > 12$), intermediários (K'_{FeL} 11-12) e até mesmo fracos ($K'_{\text{FeL}} < 11$) caracterizando a região como uma área rica em ligantes oriundos de distintas fontes.

Transecto do Albardão

No transecto do Albardão durante o verão, as amostras apresentaram valores de capacidade de complexação, ou seja, quantidade de ligante orgânicos capazes de complexar o ferro, na média de $35,42 \pm 11,42$ nM (Figura 25A). Este valor é suficiente para complexar a concentração máxima de Fe encontrada no transecto. A concentração de ligantes orgânicos segue a tendência da distribuição do ferro dissolvido, com maiores concentrações nas proximidades da zona costeira (Bruland e Rue, 2001; Buck et al., 2007). Na Figura 25C, a qual apresenta os resultados de excesso de ligante (eL) perante o ferro dissolvido, é possível observar que há eL em todo transecto. Todavia, na estação intermediária existe uma maior presença de excesso de ligantes em relação ao ferro. Isso sugere uma diluição ou um consumo do ferro através do aumento da produtividade primária na zona costeira (apesar deste comportamento não ter sido observado no perfil de nutrientes), induzindo assim a geração de ligantes por parte dos microrganismos, em maior densidade, na coluna de água ao longo da plataforma.

Na Figura 25A nota-se uma diminuição na concentração de ligantes na superfície, assim como um aumento da sua constante de estabilidade (Figura 25B) na estação mais costeira. Nessa mesma estação a amostra de fundo apresentou a maior

concentração de ligantes, mas com uma das menores constantes de estabilidade. A constante de estabilidade encontrada na superfície pode estar relacionada à produtividade biológica (Gledhill, e Buck, 2012), uma vez que as bactérias e o fitoplâncton produzem sideróforos, caracterizados como ligantes fortes (Rue e Bruland, 1995). Já no fundo, os menores valores de K'_{FeL} podem estar associados à ressuspensão dos sedimentos, como por exemplo, bioturbação do substrato.

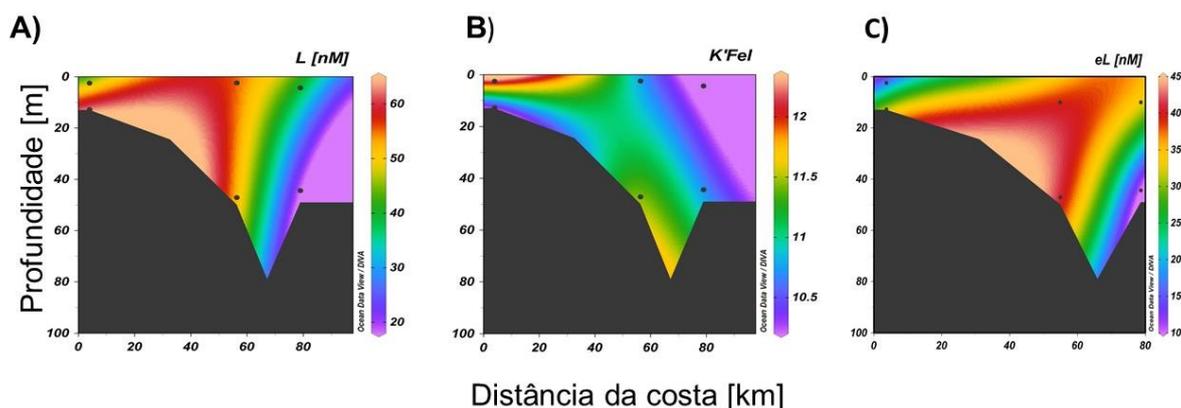


Figura 25. Distribuição de Ligantes orgânicos (L [nM]) (A), constante de estabilidade condicional (K'_{FeL}) (B) e excesso de ligante (eL [nM]) (C) no Transecto do Albardão no período de verão. Resultados em Anexo XI.

O comportamento da capacidade de complexação (L) se assemelha ao observado para o Fe, o silicato e o fosfato, seguindo a possível influência da pluma. Em que existe maiores concentrações de L nas regiões próximas a costa e menores nas mais afastadas. Embora fossem observadas mudanças ao longo do perfil vertical, ou seja, entre a superfície e fundo (Figura 25A).

Nas estações das extremidades do transecto, os valores de K'_{FeL} no fundo (25B) oscilaram de maneira que estiveram próximos a 10. Na estação a 60 km da costa ocorreu o contrário, havendo uma constante maior no fundo em relação a superfície, esta estação estaria relacionada possivelmente com alterações na hidrodinâmica sobre o paleocanal do Albardão.

No período de inverno, foram analisadas somente as amostras superficiais (Figura 26), com maiores concentrações de ligantes próximas da costa e declínio à medida que se aproxima do talude, como também observado para o ferro dissolvido, reafirmando que o Fe pode influenciar a presença de L (Bundy *et al.*, 2014).

Como observado anteriormente, os pontos mais afastados da costa apresentaram as menores concentrações de ferro. Porém, na última estação (170 km da costa) houve um aumento na concentração, de 7,86 para 11,14 nM. O mesmo comportamento foi observado para as concentrações de ligantes, os quais aumentaram de 22,73 para 40,14nM (Figura 26A), evidenciado também no aumento de excesso de ligantes (Figura 26C). Destaca-se que durante essa coleta houve precipitação atmosférica, o que pode ter introduzido ferro para a camada de água superficial induzindo também a formação de ligantes.

Assim como foi feita a determinação de Fe total para uma amostra coletada na superfície (5 m) durante chuva, foi também realizada a análise de especiação orgânica para esta mesma amostra. Esta apresentou um comportamento totalmente diferente quanto a especiação orgânica em comparação com a amostra mais profunda (10 m). A capacidade de complexação reduziu cerca de 9,73 nM em relação a amostra mais profunda deste transecto (178 Km da costa) ou seja, passou de 40,18 para 30,45 nM. Outro aspecto que se modificou foi a constante de estabilidade, que também reduziu de $K'_{FeI}=11,24$ para 10,83.

Segundo Kieber *et al.*(2001), em um experimento feito com água da chuva, tanto natural quanto artificial, a presença desta água é capaz de introduzir em águas oceânicas Fe^{+2} e peróxido na camada superficial de coluna de água. A entrada de Fe^{+2} , ocasionaria o aumento da concentração total de Fe na amostra, já evidenciado na etapa de determinação, e o peróxido poderia justificar os valores distintos nas constantes de estabilidade e ligantes, uma vez que, segundo Abualhaija e van den Berg (2014), a inserção deste pode alterar o resultado da especiação. Sabendo que a presença de peróxido poderia ser encontrada superficialmente na coluna de água, seriam necessários mais estudos sobre essa informação.

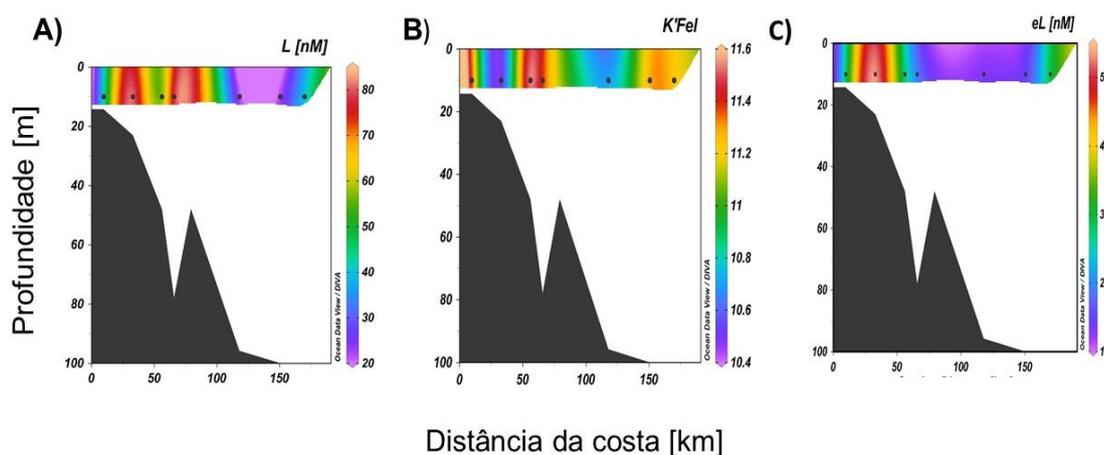


Figura 26. Distribuição de Ligantes orgânicos na superfície (L [nM]) (A), constante de estabilidade condicional (K'_{FeI}) (B) e excesso de ligante (eL [nM]) (C) no Transecto do Albardão no período de inverno.

Sobre o Paleocanal (70 km da costa) evidenciou-se um grande aumento na concentração de ligantes (Figura 26 A), com o valor de constante de estabilidade mais elevados em relação as demais localidades próximas. Essa característica coincide com as maiores concentrações de ferro nessa estação. Possivelmente a morfologia do paleocanal contribui para esse resultado, devido a alteração no regime de correntes ou até mesmo sendo afetada pelos fluxos de descarga de água subterrânea (Attisano *et al.*, 2013). Porém são necessárias amostras de dados para avaliar essas hipóteses.

Especiação orgânica do ferro no transecto de Santa Marta

Em Santa Marta a influência das três massas de água PRP, ASTP e AT, na superfície, não se mostraram análogas a classe de ligantes encontrados (Figura 27B). Diferentemente do que ocorreu no Albardão, no inverno não houve presença de maiores concentrações de ligantes próximo à costa. Embora haja influência da pluma na primeira estação (15 Km da costa), o que gerou maiores concentrações de Fe e fosfato nessa localidade, não houve um aumento na concentração de ligantes (Figura 27).

A maior concentração de ligantes foi observada na AT, presente nas duas últimas estações (108 e 120 Km da costa, respectivamente). Na penúltima estação foi observada uma concentração de 85,80 nM, com constante de estabilidade baixa ($K'_{FeL} = 8,97$), porém na estação seguinte observou-se uma redução de quase 50% na quantidade de L e aumento de K'_{FeL} . Como citado anteriormente, nessa localidade observaram-se baixas concentrações de FeD, e altas concentrações de nitrato, relacionadas a possível presença de organismos fixadores de nitrogênio. Devido a isso, sugere-se que essa anomalia seja produto de alterações no ecossistema associadas a presença desse tipo de organismo.

Outra hipótese que pode ser apresentada, é que este resultado pode ser atribuído ao processo de fotodegradação ou mesmo degradação biológica de ligantes mais fortes (Barbeau *et al.*, 2001), uma vez que a constante de estabilidade encontrada é bem menor que a verificada para os demais locais de coleta, ou seja, pode ter ocorrido uma quebra de ligantes mais estáveis, mais fortes, gerando assim uma maior concentrações de ligantes mais fracos.

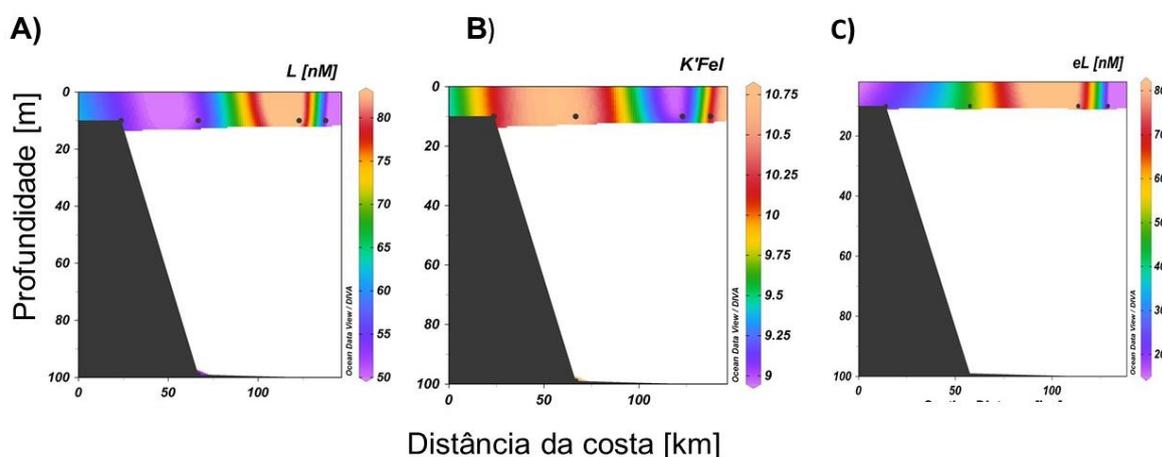


Figura 27. Distribuição de capacidade de complexação(A), constante de estabilidade (B) e excesso de ligantes (C) no Transecto de Santa Marta.

Comparação dos resultados com outros estudos

Na Tabela 6, os resultados foram comparados com outras localidades em regiões costeiras. Os valores da constante de estabilidade encontrados nesse trabalho estão próximos aos descritos para regiões que recebem descargas fluviais,

e mesmo dentro de estuários. Todavia, essa não é uma característica comum de regiões costeiras, onde os valores de ligantes são, geralmente, inferiores a 10 nM (Gledhill, e Buck, 2012).

Tabela 6. Parâmetros chave da especiação orgânica do ferro, FeD, L, K'Fel e eL, estimados neste estudo e de outros locais no mundo. Os resultados mostram os valores mínimos e máximos de cada trabalho.

Região	FeD [nM]	L [nM]	K'Fel	Excesso de L [nM]	Referência
Plataforma Continental Sul Brasileira	2,82 – 60,15	17,14- 81	8,97- 12,32	8,89 - 81,87	Este trabalho (2017)
Pluma do Rio Mississipi (EUA)	1,4–29,9	4,3 - 64,1	10,4–12,3	-0,2 - 60,3	Powell e Wilson-Finelli (2003)
Estuário do Rio Scheldt, (Holanda)	12–536	40–526	9,6	0 – 27	Gerringa et al. (2007)
Pluma Rio Columbia e Baía de San Francisco	0,6 - 22,4	0,9 - 56,4	10,7 - 13,9	0,4 - 39,6	Buck (2007)
Mar da Irlanda	5,4 –6.8	10,7-12,7	10,8-11,6	3.9 – 9	Laglera e van den Berg(2009)
Costa Leste da China	4,8 – 128	7,5 – 132	9,0 – 14,4	0,3 – 37,4	Su et al. (2015)
Chatonella sp Valö (Noruega)	12	5,1 - 17,6	10,7 - 11,1	-6,9 – 5,6	Croot e Johnson, (2000)

Dentre as regiões costeiras reportadas na literatura, mostradas na tabela a cima, as concentrações de ferro dissolvido e capacidade de complexação verificadas na Plataforma Continental Sul Brasileira foram semelhantes às da costa Leste da China e à Pluma do Rio Mississipi. Estas regiões recebem também altas descargas de águas continentais, o que justifica a grande variação das concentrações de FeD e L como característica comum a essas localidades.

Assim como nesse trabalho, devido a variação no valor de K'_{FeL} , pode se dizer que até três classes de ligantes foram detectadas na Costa Leste da China, Rio Mississippi e a Pluma do Rio Columbia. Todavia, no estuário Sheldt onde verifica-se as mais altas capacidades de complexação, há apenas uma classe de ligante. Este fato corrobora a complexidade da região costeira, onde os ligantes são provenientes de várias fontes e processos.

Apesar dessa complexidade, a maioria das amostras coletadas na pluma do Rio da Prata têm valores de K'_{FeL} semelhantes aos descritos por Laglera e van den Berg(2009), onde foi relatado $K'_{FeL} = 11,2 \pm 0,4$ em zonas costeiras ricas em ácidos húmicos.

Na região de Santa Marta foi encontrado excesso de ligante em até 8 vezes a concentração de ferro dissolvido. Algo semelhante acontece na costa leste da China, onde há o terceiro maior rio do mundo, o Rio Yangtzé. Su Han et al. (2015) encontraram altas capacidades de complexação, atingindo um excesso de ligantes superiores em até 5 vezes as concentrações de ferro dissolvido.

Além de ligantes provenientes de fontes continentais como as descargas de rios, a produção biológica também pode produzir ligantes e constantes de estabilidade similares. Croot e Johansson (2000) encontraram valores semelhantes a esse trabalho em *blooms* de dinoflagelados (*Chatonella sp.*), L de $16,7 \pm 0,2$ e K'_{FeL} de $10,9 \pm 0,25$.

Na região de Santa Marta, encontrou-se altos valores de capacidade de complexação com as mesmas classes de ligantes. Como há baixa influência da pluma nesta região, sugere-se que essa formação de ligantes mais fracos ocorre devido à influência da biota. A formação de ligantes mais fracos por produção primária pode ocorrer devido à morte, ruptura de células de plâncton e degradação de proteínas celulares (Hogle, Barbeau e Gledhill, 2014).

Para averiguar a influência da biota local na especiação orgânica do ferro foi analisada uma amostra coletada na zona de surf da praia do Cassino durante um *bloom* da diatomácea *Asterionellopsis glacialis*, espécie considerada dominante em certos períodos do ano nessa zona costeira (Odebrecht, Segatto e Freitas, 1995). Os resultados mostraram alta capacidade de complexação, de 127 nM, K'_{FeL} de $10,71 \pm 0,9$, e excesso de ligantes de 25 nM. Os valores obtidos mostraram também semelhança com os verificados ao longo dos transectos, sugerindo que esse tipo de biota contribui para o incremento da solubilidade do ferro nessa região.

Transectos costeiros em direção a zonas oceânicas geralmente não apresentam nenhuma tendência em relação ao aumento ou diminuição da constante de estabilidade ou presença de ligante, ou mesmo padrão específico (Boye *et al.*, 2003; Buck e Bruland, 2007). Fato que também foi observado nesse dois transectos apresentados nesse trabalho. Em bacias oceânicas geralmente os valores de K'_{FeL} são superiores apresentando um tendência em relação a superfície e fundo, em que águas profundas apresentam valores de $\log K'_{FeL}$ entre 11 e 12 (van den Berg, 1995; Boye *et al.*, 2001; Croot e Johansson, 2000; Thuróczy *et al.*, 2012). Já na superfície geralmente encontram-se valores de $K'_{FeL} > 12$ (Rue e Bruland, 1995, 1997). Excesso de ligantes, em geral, não ultrapassam 3,5 nM em águas oceânicas (Caprara *et al.*, 2016), valores muito inferiores aos encontrados nos períodos amostrados na Plataforma Continental Sul Brasileira.

5. Conclusões

A análise de especiação nos três transectos, Albardão e Santa Marta, , tanto no período de verão quanto no de inverno, mostraram uma alta capacidade de complexação do Fe devido ao excesso de ligantes, em ambos os locais, possibilitando ao Fe permanecer solúvel na coluna d'água.

A variabilidade nos valores de constante de estabilidade, mostram a ocorrência de mais de uma classe de ligantes. Essa mudança sugere a atuação de mais de uma fonte de ligantes ao longo da costa, tanto em Santa Marta quanto no Albardão.

Nesta região, ao Sul da plataforma, já foi verificada a exportação de ferro dissolvido da costa para o oceano através da descarga de água subterrânea (Windom *et al.*, 2006), todavia a influência de ligantes provindos dessas mesmas fontes não foi avaliada ainda. Além disso, a alta concentração de ferro pode influenciar a formação de novos ligantes através da produção primária ao longo de toda a plataforma, já que há alta produtividade durante todo o ano (Lopes *et al.*, 2006), de modo que a alta concentração provinda por água subterrânea tem influência indireta, possivelmente, na presença desses ligantes.

Durante os dois períodos amostrados, foi possível verificar a forte influência da Pluma do Rio da Prata no Transecto do Albardão, claramente evidenciada pela

presença de fosfato, silicato e salinidade baixas, assim como altas concentrações de ferro e ligantes na costa.

Em comparação com outros trabalhos, os parâmetros chave da especiação do ferro, constante de estabilidade, ligantes naturais e excesso de ligantes, mostraram similaridade com locais com aportes de descargas fluviais, e alta produtividade primária, além da igualmente alta capacidade de complexação e constantes de estabilidade semelhantes.

4. CONCLUSÃO FINAL

O ferro é um elemento considerado essencial e que possui baixas concentrações em inúmeras regiões oceânicas, porém com concentrações elevadas na Plataforma Continental Sul Brasileira. Este trabalho foi o pioneiro na análise de especiação orgânica de Fe em águas costeiras, uma vez que até o momento esta não havia sido estudada.

Para que fosse feita a análise de especiação orgânica, primeiramente, este trabalho adaptou dois métodos analíticos usando salicilaldoxima, implementando uma nova entrada e saída de gases nunca antes usada por nenhum outro laboratório. Alguns parâmetros voltamétricos foram modificados, assim como as metodologias foram validadas usando material de referência certificado, que provaram a eficiência dos métodos, de maneira que seus limites de detecção foram inferiores a 1,5 nM. A partir disso foi criado um protocolo analítico para realizar a análise da especiação do ferro, definindo desde a coleta e preparo das amostras. Assim como, os meios analíticos necessários para que fosse possível a análise de amostras costeiras.

Depois, este estudo aplicou o protocolo proposto em amostras naturais coletadas em três transectos na Plataforma Continental do Sul do Brasil, verificando os fatores ambientais que influenciam a distribuição e caracterização dos ligantes encontrados. Este trabalho mostrou que há forte influência da pluma e da produção biológica na formação de excesso de ligantes naturais nesta região da costa. Essa informação sugere que o ferro pode se manter solúvel e, conseqüentemente, biodisponível para além dos limites da plataforma, como já detectado por Rijkenberg *et al.*, (2014), na confluência Brasil-Malvinas.

Assim sendo, este estudo abre caminho para inúmeras outras pesquisas relacionadas ao ferro e a seus ligantes naturais. Principalmente, porque a hipótese, de que as altas concentrações de ferro podem influenciar a presença de ligantes naturais, já proposta por Bundy *et al.* (2014), ainda não foi investigada nessa região. Fato este que reforça a necessidade da continuidade de estudos de especiação ao longo da costa. Além disso, estudos de especiação orgânica também dão início a inúmeros questionamentos, os resultados deste mostraram a possível relação entre ácidos húmicos e produção biológica, de maneira que ensaios e avaliações de espécies mais abundantes se fazem necessários, para que, dessa forma, haja continuidade em relação identificação de ligantes naturais de ferro.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, J. G. N. DE; CALLIARI, L. J. Paleocanais na plataforma continental interna do rio grande do sul: Evidências de uma drenagem fluvial pretérita. **Revista Brasileira de Geofísica**, v. 23, n. 2, p. 123–132, 2005.

ABUALHAIJA, M. M.; BERG, C. M. G. VAN DEN. Chemical speciation of iron in seawater using catalytic cathodic stripping voltammetry with ligand competition against salicylaldehyde. **Marine Chemistry**, v. 164, p. 60–74, 2014.

ABUALHAIJA, M. M.; WHITBY, H.; BERG, C. M. G. VAN DEN. Competition between copper and iron for humic ligands in estuarine waters. **Marine Chemistry**, v. 172, n. 0, p. 46–56, 2015.

ACHA, E. M.; MIANZAN, H. W.; GUERRERO, R. A.; FAVERO, M.; BAVA, J. Marine fronts at the continental shelves of austral South America. **Journal of Marine Systems**, v. 44, n. 1–2, p. 83–105, jan. 2004.

ACHTERBERG, E. P.; GLEDHILL, M.; HAWKES, J. A.; AVENDANO, L. C. **Voltammetry | Cathodic Stripping**. [s.l.] Elsevier Inc., 2013.

ACHTERBERG, E. P.; HOLLAND, T. W.; BOWIE, A. R.; MANTOURA, R. F.; WORSFOLD, P. J. Determination of Iron In Seawater | Andrew Bowie - Academia.edu. **Analytica Chimica Acta**, v. 442, n. 1, p. 1–14, 2001.

ALDRICH, A. P.; BERG, C. M. G. VAN DEN. Determination of Iron and Its Redox Speciation in Seawater Using Catalytic Cathodic Stripping Voltammetry. **Electroanalysis**, v. 10, n. 6, p. 369–373, 1998.

ALEIXO, L. M. Voltametria: Conceitos e Técnicas. **Chemkeys**, n. li, p. 1–40, 2003.

ATTISANO, K. K. **A oceanografia química e os processos oceanográficos presentes na plataforma continental das regiões de Santa Marta (SC) e Albardão (RS)**. [s.l.] Universidade Federal do Rio Grande, 2007.

ATTISANO, K. K.; SANTOS, I. R.; FRANCISCO, C.; ANDRADE, F. DE; PAIVA, M. L. DE; CRISTINA, I.; MILANI, B.; FELIPE, L.; NIENCHESKI, H. Submarine Groundwater Discharge Revealed by Radium Isotopes (Ra-223 and Ra-224) Near a Paleochannel on the Southern Brazilian Continental Shelf. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 61, n. 3, p. 195–200, 2013.

BARBEAU, K.; RUE, E. L.; BRULAND, K. W.; BUTLER, A. Photochemical cycling of iron in the surface ocean mediated by microbial iron(III)-binding ligands. **Nature**, v. 413, n. 6854, p. 409–413, 2001.

BATCHELLI, S.; MULLER, F. L. L.; CHANG, K. C.; LEE, C. L. Evidence for strong but dynamic iron-humic colloidal associations in humic-rich coastal waters. **Environmental Science and Technology**, v. 44, n. 22, p. 8485–8490, 2010.

BAUMGARTEN, M. G. Z.; WALLNER-KERSANACH, M.; NIENCHESKI, L. F. **Manual de Análises em Oceanografia Química**. RIO GRANDE: Editora da FURG., 2010.

BEHRENFELD, M. J.; KOLBER, Z. S. Widespread Iron Limitation of Phytoplankton in the South Pacific Ocean. **Science**, v. 283, n. 5403, p. 840–843, 1999.

BERG, C. M. G. VAN DEN. Determination of copper complexation with natural organic ligands in seawater by equilibration with MnO₂ I. Theory. **Marine Chemistry**, v. 11, n. 4, p. 307–322, ago. 1982.

BERG, C. M. G. VAN DEN. **Determination of the complexing capacity and conditional stability constants of complexes of copper(II) with natural organic ligands in seawater by cathodic stripping voltammetry of copper-catechol complex ions** **Marine Chemistry**, 1984.

BERG, C. M. G. VAN DEN. Determination of copper, cadmium and lead in seawater by cathodic stripping voltammetry of complexes with 8-hydroxyquinoline. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 215, n. 1–2, p. 111–121, 1986.

BERG, C. M. G. VAN DEN. Evidence for organic complexation of iron in seawater. **Marine Chemistry**, v. 50, n. 1–4, p. 139–157, 1995.

____. Chemical speciation of iron in seawater by cathodic stripping voltammetry with dihydroxynaphthalene. **Analytical Chemistry**, v. 78, n. 1, p. 156–163, 2006.

BIF, M.; YUNES, J. Distribution of the marine cyanobacteria *Trichodesmium* and their association with iron-rich particles in the South Atlantic Ocean. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 78, n. 2, p. 107–119, 27 jan. 2017.

BONNAIN, C.; BREITBART, M.; BUCK, K. N. The Ferrojan Horse Hypothesis: Iron-Virus Interactions in the Ocean. **Frontiers in Marine Science**, v. 3, n. July, 2016.

BOYE, M.; ALDRICH, A. P.; BERG, C. M. . VAN DEN; JONG, J. T. . DE; VELDHUIS, M.; BAAR, H. J. . DE. Horizontal gradient of the chemical speciation of iron in surface waters of the northeast Atlantic Ocean. **Marine Chemistry**, v. 80, p.

129–143, 2003.

BOYE, M.; BERG, C. M. G. VAN DEN; JONG, J. T. M. DE; LEACH, H.; CROOT, P.; BAAR, H. J. W. DE. Organic complexation of iron in the Southern Ocean. **Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers**, v. 48, n. 6, p. 1477–1497, 2001.

BRAGA, E. S.; CHIOZZINI, V. C.; BERBEL, G. B. B.; MALUF, J. C. C.; AGUIAR, V. M. C.; CHARO, M.; MOLINA, D.; ROMERO, S. I.; EICHLER, B. B. Nutrient distributions over the Southwestern South Atlantic continental shelf from Mar del Plata (Argentina) to Itajaí (Brazil): Winter-summer aspects. **Continental Shelf Research**, v. 28, n. 13, p. 1649–1661, 2008.

BRULAND, K. W.; ORIAN, K. J.; COWEN, J. P. Reactive trace metals in the stratified central North Pacific. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 58, n. 15, p. 3171–3182, 1994.

BUCK, K. N.; BRULAND, K. W. The physicochemical speciation of dissolved iron in the Bering Sea, Alaska. **Limnology and Oceanography**, v. 52, n. 5, p. 1800–1808, 2007.

BUCK, K. N.; LOHAN, M. C.; BERGER, C. J. M.; BRULAND, K. W. Dissolved iron speciation in two distinct river plumes and an estuary: Implications for riverine iron supply. **Limnology and Oceanography**, v. 52, n. 2, p. 843–855, 2007.

BUCK, K. N.; MOFFETT, J.; BARBEAU, K. A.; BUNDY, R. M.; KONDO, Y.; WU, J. The organic complexation of iron and copper: an intercomparison of competitive ligand exchange – adsorptive cathodic stripping voltammetry (CLE-ACSV) techniques. **Limnology and Oceanography: Methods**, v. 10, n. April, p. 496–515, 2012.

BUNDY, R. M.; ABDULLA, H. A. N.; HATCHER, P. G.; BILLER, D. V.; BUCK, K. N.; BARBEAU, K. A.; BAY, N. Iron-binding ligands and humic substances in the San Francisco Bay estuary and estuarine-influenced shelf regions of coastal California. v. 173, p. 183–194, 2014.

CAMPOS, M. L. A. M.; MELLO, L. C.; ZANETTE, D. R.; SIERRA, M. M. DE S.; BENDO, A. Construção e Otimização de um Reator de Baixo Custo para a Fotodegradação da Matéria Orgânica em Águas Naturais e sua Aplicação no Estudo da Especificação do Cobre por Voltametria. **Química Nova**, v. 24, n. 2, p. 12–16, 2001.

CAMPOS, M. L.; BERG, C. M. G. VAN DEN. Determination of copper

complexation in sea water by cathodic stripping voltammetry and ligand competition with salicylaldehyde. **Analytica Chimica Acta**, v. 284, n. 3, p. 481–496, 1994.

CAPRARA, S.; BUCK, K. N.; GERRINGA, L.; RIJKENBERG, M.; MONTICELLI, D. A compilation of iron speciation data for open oceanic waters. **Frontiers in Marine Science**, v. 3, n. November, p. 221, 2016.

CIOTTI, Á. M.; MAHIQUES, M. DE; MÖLLER, O. O. The meridional gradients of the S-SE Brazilian continental shelf: Introduction to the special volume. **Continental Shelf Research**, v. 89, p. 1–4, 2014.

CLARK, C. D.; BRUYN, W. J. DE; AIONA, P. D. Temporal variation in optical properties of chromophoric dissolved organic matter (CDOM) in Southern California coastal waters with nearshore kelp and seagrass. **Limnology and Oceanography**, v. 61, n. 1, p. 32–46, 2016.

CROOT, P. L.; JOHANSSON, M. Determination of iron speciation by cathodic stripping voltammetry in seawater using the competing ligand 2-(2-thiazolylazo)-p-cresol (TAC). **Electroanalysis**, v. 12, n. 8, p. 565–576, 2000.

CUTTER, G.; ANDERSSON, P.; CODISPOTI, L.; CROOT, P.; FRANÇOIS, R.; LOHAN, M. C.; OBATA, H.; RUTGERS V. D. LOEFF, M. Sampling and Sample-handling Protocols for GEOTRACES Cruises. n. December, 2010.

GARCIA. **Avaliação comparativa da influência dos padrões oceanográficos sobre a produção biológica da plataforma continental e talude em duas áreas do sul do Brasil. Relatório técnico PRONEX - Núcleo de Estudos Integrados de Processos Oceanográficos – NEIPOC (Proc. [s.l: s.n.]**

GERRINGA, L. J. . *et al.* Iron from melting glaciers fuels phytoplankton blooms in the Amundsen Sea (Southern Ocean): Phytoplankton characteristics and productivity. **Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography**, v. 71–76, p. 32–48, 2012.

GERRINGA, L. J. A.; RIJKENBERG, M. J. A.; SCHOEMANN, V.; LAAN, P.; BAAR, H. J. W. DE. Organic complexation of iron in the West Atlantic Ocean. **Marine Chemistry**, 2015.

GERRINGA, L. J. A.; RIJKENBERG, M. J. A.; THURÓCZY, C. E.; MAAS, L. R. M. A critical look at the calculation of the binding characteristics and concentration of iron complexing ligands in seawater with suggested improvements. **Environmental Chemistry**, v. 11, n. 2, p. 114–136, 2014.

GLEDHILL, M.; BUCK, K. N. The organic complexation of iron in the marine

environment: A review. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, n. FEB, 2012.

GLEDHILL, M.; BERG, C. M. G. VAN DEN. Determination of complexation of iron(III) with natural organic complexing ligands in seawater using cathodic stripping voltammetry. **Marine Chemistry**, v. 47, n. 1, p. 41–54, 1994.

GLEDHILL, M.; BERG, C. M. G. VAN DEN. Measurement of the redox speciation of iron in seawater by catalytic cathodic stripping voltammetry. **Marine Chemistry**, v. 50, n. 1–4, p. 51–61, 1995.

GLEDHILL, M.; MCCORMACK, P.; USSHER, S.; ACHTERBERG, E. P.; MANTOURA, R. F. C.; WORSFOLD, P. J. Production of siderophore type chelates by mixed bacterioplankton populations in nutrient enriched seawater incubations. **Marine Chemistry**, v. 88, n. 1–2, p. 75–83, 2004.

GOBLER, C. J.; DONAT, J. R.; CONSOLVO, J. A.; SAÑUDO-WILHELMY, S. A. Physicochemical speciation of iron during coastal algal blooms. **Marine Chemistry**, v. 77, n. 1, p. 71–89, 2002.

GOLÇALVES-ARAUJO, R.; SOUZA, M. S. DE; MENDES, C. R.; SOUZA, R. B.; TAVANO, V. M.; SCHULTZ, C.; POLLERY, R. C. Phyto- and Protozooplankton Assemblages and Hydrographic variability during an early winter survey in the Southern Brazilian Continental Shelf. **Em preparo**, 2017.

HAIMOVICI, M.; VASCONCELOS, M.; KALISKOSKI, D. C.; ABDALAH, P.; CASTELLO, J. P.; HELLEBRANDT, D. Diagnóstico da pesca no litoral do estado do Rio Grande do Sul. *In: A pesca marinha e estuarina do Brasil no início do século XXI: recursos, tecnologias, aspectos socioeconômicos e institucionais*. Belém: [s.n.]. p. 157–180.

HASSLER, C. S.; NORMAN, L.; MANCUSO NICHOLS, C. A.; CLEMENTSON, L. A.; ROBINSON, C.; SCHOEMANN, V.; WATSON, R. J.; DOBLIN, M. A. Iron associated with exopolymeric substances is highly bioavailable to oceanic phytoplankton. **Marine Chemistry**, 2014.

HIROSE, K. Chemical speciation of trace metals in seawater: a review. **Analytical sciences : the international journal of the Japan Society for Analytical Chemistry**, v. 22, n. 8, p. 1055–1063, 2006.

HOGLE, S. L. S.; BARBEAU, K. A.; GLEDHILL, M. Heme in the marine environment: from cells to the iron cycle. **Metallomics**, v. 6, n. 6, p. 1107–20, 2014.

HUNTER, K. A.; BOYD, P. W. Iron-binding ligands and their role in the ocean biogeochemistry of iron. **Environmental Chemistry**, v. 4, n. 4, p. 221–232, 2007.

JICKELLS, T. D. Global Iron Connections Between Desert Dust, Ocean Biogeochemistry, and Climate. **Science**, v. 67, n. 2005, 2007.

KIEBER, R. J.; WILLIAMS, K.; WILLEY, J. D.; SKRABAL, S.; AVERY, G. B. Iron speciation in coastal rainwater: concentration and deposition to seawater. **Marine Chemistry**, v. 73, n. 2, p. 83–95, fev. 2001.

KLEINT, C.; HAWKES, J. A.; SANDER, S. G.; KOSCHINSKY, A. Voltammetric Investigation of Hydrothermal Iron Speciation. **Frontiers in Marine Science**, v. 3, n. 75, 2016.

KOLTHOFF, I. M.; PARRY, E. P. Catalytic polarographic waves of hydrogen peroxide. I. The kinetic wave for the ferric iron-hydrogen peroxide system. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 73, n. 7, p. 3718–3723, 1951.

LAGLERA, L. M.; BATTAGLIA, G.; BERG, C. M. G. VAN DEN. Determination of humic substances in natural waters by cathodic stripping voltammetry of their complexes with iron. **Analytica Chimica Acta**, v. 599, n. 1, p. 58–66, 2007.

_____. Effect of humic substances on the iron speciation in natural waters by CLE/CSV. **Marine Chemistry**, v. 127, n. 1–4, p. 134–143, 2011.

LAGLERA, L. M.; BERG, C. M. G. VAN DEN. Evidence for geochemical control of iron by humic substances in seawater. **Limnology and Oceanography**, v. 54, n. 2, p. 610–619, 2009.

LAGLERA, L. M.; CAPRARA, S.; MONTICELLI, D. Towards a zero-blank, preconcentration-free voltammetric method for iron analysis at picomolar concentrations in unbuffered seawater. **Talanta**, v. 150, p. 449–454, 2016.

LANDING, W. M.; BRULAND, K. W. The contrasting biogeochemistry of manganese and iron in the Pacific ocean. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 51, p. 29–43, 1987.

LIU, X.; MILLERO, F. J. The solubility of iron in seawater. **Marine Chemistry**, v. 77, n. 1, p. 43–54, 2002.

LOPES, R. M.; KATSURAGAWA, M.; DIAS, J. F.; MONTÚ, M. A.; MUELBERT, J. H.; GORRI, C.; BRANDINI, F. P. Zooplankton and ichthyoplankton distribution on the southern Brazilian shelf: an overview. **Scientia Marina**, v. 70, n. 2, p. 189–202, 2006.

MAHMOOD, A.; ABUALHAIJA, M. M.; BERG, C. M. G. VAN DEN; SANDER, S. G. Organic speciation of dissolved iron in estuarine and coastal waters at multiple analytical windows. **Marine Chemistry**, p. 1–14, 2015.

MARTIN, J. H. Iron as a Limiting Factor in Oceanic Productivity. *In: Primary Productivity and Biogeochemical Cycles in the Sea*. [s.l: s.n.]. v. 43p. 123–137.

MARTIN, J. H.; GORDON, R. M.; FITZWATER, S. E. Iron in Antarctic waters. *Nature*, v. 345, n. 6271, p. 156–158, 1990.

MAWJI, E.; GLEDHILL, M.; MILTON, J. A.; TARRAN, G. A.; USSHER, S.; THOMPSON, A.; WOLFF, G. A.; WORSFOLD, P. J.; ACHTERBERG, E. P. Hydroxamate Siderophores: Occurance and Importance in the Atlantic Ocean. *Environmental science & technology*, v. 42, n. xx, p. 8675–8680, 2008.

MEASURES, C. I.; VINK, S. Seasonal variations in the distribution of Fe and Al in the surface waters of the. *Deep Sea Research Part II*, v. 46, p. 1597–1622, 1999.

MILANI, I. C. B. **Determinação polarográfica de metais em ambientes do Sistema Patos- Mirim**. [s.l.] Fundação Universidade Federal do Rio Grande, 2004.

MÖLLER, O. O. J. .; PIOLA, A. R.; CRISTINA, A.; CAMPOS, E. J. D. The effects of river discharge and seasonal winds on the shelf off southeastern South America. v. 28, p. 1607–1624, 2008.

NEILANDS, J. B. Iron absorption and transport in microorganisms. *Annual review of nutrition*, v. 1, n. February, p. 27–46, 1981.

NIENCHESKI, L. F. H.; WINDOM, H. L.; MOORE, W. S.; JAHNKE, R. A. Submarine groundwater discharge of nutrients to the ocean along a coastal lagoon barrier, Southern Brazil. *Marine Chemistry*, v. 106, n. 3–4, p. 546–561, 2007.

NIENCHESKI, L. F.; WINDOM, H. L.; MOORE, W. S. Controls on water column chemistry of the southern Brazilian continental shelf. *Continental Shelf Research*, v. 88, p. 126–139, 2014.

NORMAN, L.; WORMS, I. A. M.; ANGLES, E.; BOWIE, A. R.; NICHOLS, C. M.; NINH PHAM, A.; SLAVEYKOVA, V. I.; TOWNSEND, A. T.; DAVID WAITE, T.; HASSLER, C. S. The role of bacterial and algal exopolymeric substances in iron chemistry. *Marine Chemistry*, v. 173, p. 148–161, 2015.

OBATA, H.; BERG, C. M. G. VAN DEN. Determination of picomolar levels of iron in seawater using catalytic cathodic stripping voltammetry. *Analytical Chemistry*, v. 73, n. 11, p. 2522–2528, 2001.

ODEBRECHT, C.; SEGATTO, A. Z.; FREITAS, C. A. Surf-zone Chlorophyll a Variability at Cassino Beach , Southern Brazil. p. 81–90, 1995.

OMANOVIĆ, D.; GARNIER, C.; PIŽETA, I. ProMCC: An all-in-one tool for trace metal complexation studies. *Marine Chemistry*, v. 173, p. 25–39, 2014.

OZKAN, S. A.; USLU, B. From mercury to nanosensors: Past, present and the future perspective of electrochemistry in pharmaceutical and biomedical analysis.

Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2016.

PIOLA, A. R.; CAMPOS, E. J. D.; MÖLLER, O. O.; CHARO, M.; MARTINEZ, C. Subtropical Shelf Front off eastern South America. **Journal of Geophysical Research: Oceans**, v. 105, n. C3, p. 6565–6578, 15 mar. 2000.

PIOLA, A. R.; CAMPOS, E. J. D.; MOLLER JR., O. O.; CHARO, M.; MARTINEZ, C.; CAMPOS, E. J. D.; MÖLLER JR, O. O.; CHARO, M.; MARTINEZ, C. Subtropical Shelf Front off eastern South America. **Journal of Geophysical Research**, v. 105, n. C3, p. 6565–6578, 2000.

PIOLA, A. R.; MATANO, R. P.; PALMA, E. D.; MÖLLER, O. O.; CAMPOS, E. J. D. The influence of the Plata River discharge on the western South Atlantic shelf. **Geophysical Research Letters**, v. 32, n. 1, p. 1–4, 2005.

PIŽETA, I. *et al.* Interpretation of complexometric titration data: An intercomparison of methods for estimating models of trace metal complexation by natural organic ligands. **Marine Chemistry**, v. 173, p. 3–24, 2015.

POORVIN, L.; RINTA-KANTO, J. M.; HUTCHINS, D. A.; WILHELM, S. W. Viral release of iron and its bioavailability to marine plankton. **Limnol. Oceanogr**, v. 49, n. 5, p. 1734–1741, 2004.

RIBANI, M.; GRESPLAN BOTTOLI, C. B.; COLLINS, C. H.; FONTES JARDIM, I. C. S.; COSTA MELO, L. F. **Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos** *Química Nova*, 2004.

RIJKENBERG, M. J. A.; MIDDAG, R.; LAAN, P.; GERRINGA, L. J. A.; AKEN, H. M. VAN; SCHOEMANN, V.; JONG, J. T. M. DE; BAAR, H. J. W. DE. The distribution of dissolved iron in the West Atlantic Ocean. **PLoS ONE**, v. 9, n. 6, p. 1–14, 2014.

RIJKENBERG, M. J. A.; POWELL, C. F.; DALL'OSTO, M.; NIELSDOTTIR, M. C.; PATEY, M. D.; HILL, P. G.; BAKER, A. R.; JICKELLS, T. D.; HARRISON, R. M.; ACHTERBERG, E. P. Changes in iron speciation following a Saharan dust event in the tropical North Atlantic Ocean. **Marine Chemistry**, v. 110, n. 1–2, p. 56–67, 2008.

RUE, E. L.; BRULAND, K. W. Complexation of iron(III) by natural organic ligands in the Central North Pacific as determined by a new competitive ligand equilibration/adsorptive cathodic stripping voltammetric method. **Marine Chemistry**, v. 50, n. 1–4, p. 117–138, 1995.

____. The role of organic complexation on ambient iron chemistry in the equatorial

Pacific Ocean and the response of a mesoscale iron addition experiment. **Limnology and Oceanography**, v. 42, n. 5, p. 901–910, 1997.

RUŽIĆ, I. Theoretical aspects of the direct titration of natural waters and its information yield for trace metal speciation. **Analytica Chimica Acta**, v. 140, n. 1, p. 99–113, ago. 1982.

SANDER, S. G.; KOSCHINSKY, A. Metal flux from hydrothermal vents increased by organic complexation. **Nature Publishing Group**, v. 4, n. 3, p. 145–150, 2011.

SCATCHARD, G. THE ATTRACTIONS OF PROTEINS FOR SMALL MOLECULES AND IONS. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 51, n. 4, p. 660–672, maio 1949.

SILVEIRA, I. C. A. DA; SCHMIDT, A. C. K.; CAMPOS, E. J. D.; GODOI, S. S. DE; IKEDA, Y. A corrente do Brasil ao largo da costa leste brasileira. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 48, n. 2, p. 171–183, 2000.

SPOSITO, G. On the use of the Langmuir equation in the interpretation of “Adsorption” phenomena. **Soil Science Society of America Journal**, v. 46, p. 1147–1152, 1982.

SU, H.; YANG, R.; ZHANG, A.; LI, Y. Dissolved iron distribution and organic complexation in the coastal waters of the ECS. **Marine Chemistry**, v. 173, p. 208–221, 2015.

THOMPSON, T. G.; BREMNER, R. W. The Occurrence of Iron in the Waters of the North-East Pacific Ocean. **ICES Journal of Marine Science**, v. 10, n. 1, p. 39–47, 1935.

THURÓCZY, C. E.; ALDERKAMP, A. C.; LAAN, P.; GERRINGA, L. J. A.; MILLS, M. M.; DIJKEN, G. L. VAN; BAAR, H. J. W. DE; ARRIGO, K. R. Key role of organic complexation of iron in sustaining phytoplankton blooms in the Pine Island and Amundsen Polynyas (Southern Ocean). **Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography**, v. 71–76, p. 49–60, 2012.

TURNER, D. R.; HUNTER, K. A. **The Biogeochemistry of Iron in Seawater**. [s.l: s.n.]. v. 7

VEGA, C. M.; SICILIANO, S.; BARROCAS, P. R. G.; HACON, S. S.; CAMPOS, R. C.; COUTO JACOB, S. DO; OTT, P. H. Levels of cadmium, mercury, and lead in Magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*) stranded on the Brazilian coast. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 58, n. 2, p. 460–8, fev. 2010.

VELASQUEZ, I.; NUNN, B. L.; IBISANMI, E.; GOODLETT, D. R.; HUNTER, K. A.; SANDER, S. G. Detection of hydroxamate siderophores in coastal and Sub-Antarctic waters off the South Eastern Coast of New Zealand. **Marine Chemistry**, v. 126, n. 1–4, p. 97–107, set. 2011.

WINDOM, H. L.; MOORE, W. S.; NIENCHESKI, L. F. H.; JAHNKE, R. A. Submarine groundwater discharge: A large, previously unrecognized source of dissolved iron to the South Atlantic Ocean. **Marine Chemistry**, v. 102, n. 3–4, p. 252–266, 2006.

WINDOM, H. L.; NIENCHESKI, L. F.; SMITH, R. G. Biogeochemistry of nutrients and trace metals in the estuarine region of the Patos Lagoon (Brazil). **Estuarine Coastal and Shelf Science**, v. 48, p. 113–123, 1999.

6. ANEXOS

Anexo I. Teste de repetibilidade. Teste feito com NASS-6 e suas respectivas adições de solução padrão de ferro, foram feitas ao todo 3 repetições.

Tempo	Intensidade Na										
	NASS-6	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5	5,5	6
4,17	40,4	7,54	48,55	29,438	100	69,7	108	75,043	63,59	87,179	122,14
6,34	18,43	8,1719	26,887	13,12	65,81	48,565	61,37	47,618	45,76	61,793	70,496
8,51	6,59		11,4555	4,93	42,11	25,279	35,048	29,09	19,24	42,636	40,53

Anexo II. Teste t do teste de concentração de SA (5, 10, 15, 20, 25 μ M) com $p < 0,05$, os valores em vermelho reference aquele cujos valores de p são inferiores a 0,05, ou seja, significa que existe diferença entre as médias.

Grupo 1 vs. Grupo 2	Teste t $p < 0,05$										
	Média Grupo 1	Média Grupo 2	t-valor	df	p	Valid N Group 1	Valid N Group 2	Std.Dev. Group 1	Std.Dev. Group 2	F-ratio Variances	p Variances
5uM vs. 25uM	54,1200	115,8000	-26,8418	8	0,000000	5	5	5,069714	0,836660	36,71714	0,004143
10uM vs. 25uM	84,5000	115,8000	-34,1511	8	0,000000	5	5	1,870829	0,836660	5,00000	0,148148
15uM vs. 25uM	104,4000	115,8000	-14,7173	8	0,000000	5	5	1,516575	0,836660	3,28571	0,275852
20uM vs. 25uM	100,8200	115,8000	-9,4320	8	0,000013	5	5	3,451377	0,836660	17,01714	0,017799

Anexo III. Resultados referentes ao teste de concentração de salicilaldoxima (5, 10, 15, 20, 25 μM), com os valores de média e desvio padrão das 5 repetições feitas.

Concentração SA [μM]	Intensidade Na					Média nA	Desvio Padrão nA
5,00	57,80	58,90	56,10	50,90	46,90	54,12	5,07
10,00	87,50	83,00	84,00	85,00	83,00	84,50	1,87
15,00	104,00	105,00	106,00	102,00	105,00	104,40	1,52
20,00	95,10	101,00	101,00	103,00	104,00	100,82	3,45
25,00	116,00	117,00	116,00	115,00	115,00	115,80	0,84

Anexo IV. Teste T de student, com $p < 0,05$, refere-se ao teste de potencial de deposição feito com 5nM de Fe em água do mar. Os valores em vermelho representam se existe diferença entre as médias, e em preto caso não exista.

		Teste t . $p < 0,05$										
Grupo 1 vs. Grupo 2		Média G1	Média G2	t-valor	df	p	Valid N Group 1	Valid N Group 2	Std.Dev. Group 1	Std.Dev. Group 2	F-ratio Variances	p Variances
-0.9 vs.	0	0,31169	53,02200	-28,6370	2	0,001217	2	2	0,292205	2,586597	78,358	0,143229
-0.8 vs.	0	0,23458	53,02200	-28,8393	2	0,001200	2	2	0,101081	2,586597	654,816	0,049731
-0.7 vs.	0	0,44781	53,02200	-28,7372	2	0,001209	2	2	0,059418	2,586597	1895,041	0,029243
-0.6 vs.	0	0,44703	53,02200	-28,5319	2	0,001226	2	2	0,316862	2,586597	66,637	0,155200
-0.5 vs.	0	0,44010	53,02200	-28,7067	2	0,001211	2	2	0,140446	2,586597	339,189	0,069066
-0.4 vs.	0	38,92450	53,02200	-7,4764	2	0,017424	2	2	0,648417	2,586597	15,913	0,312735
-0.3 vs.	0	37,23100	53,02200	-7,9882	2	0,015312	2	2	1,060660	2,586597	5,947	0,495480
-0.2 vs.	0	40,04500	53,02200	-6,9017	2	0,020355	2	2	0,616597	2,586597	17,598	0,297956
-0.1 vs.	0	48,48200	53,02200	-2,3642	2	0,141814	2	2	0,827315	2,586597	9,775	0,394149

Anexo V. Resultados de teste de potencial de deposição, feitos com 5 nM de Fe em água do mar.

Potencial de deposição V	-0,90	-0,80	-0,70	-0,60	-0,50	-0,40	-0,30	-0,20	-0,10	0,00
Intensidade nA	0,52	0,16	0,41	0,67	0,34	39,38	36,48	40,48	49,07	54,85
	0,11	0,31	0,49	0,22	0,54	38,47	37,98	39,61	47,90	51,19
Média	0,31	0,23	0,45	0,45	0,44	38,92	37,23	40,05	48,48	53,02
Desvio padrão	0,29	0,10	0,06	0,32	0,14	0,65	1,06	0,62	0,83	2,59

Anexo VI. Resultados de todas as determinação de ferro total (nM) , amostra coletadas nesse trabalho, assim como os resultados dos dois materiais de referencia usados, NASS-5 e NASS-6, feitas e suas respectivas sensibilidades (S) de cada reta encontrada.

Amostra	Concentração nM	Sensibilidade (S)
Nass-6	8,08	8,55
Nass-6	8,12	7,45
Nass-6	8,44	8,7
Nass-6	8,00	7
Nass-6	8,16	8,9
Nass-6	8,04	7,66
Nass-5	4,16	9
Nass-5	3,88	8,7
Nass-5	3,78	9,5
Nass-5	3,92	8,6
Nass-5	4,06	9,5
Nass-5	4,08	7,4
A01 Verão	30,40	8,07
A01F Verão	31,8	8,75

Amostra	Concentração nM	Sensibilidade (S)
A03 Verão	15,58	9,32
A03F Verão	11,35	10,3
A05 Verão	6,06	9,88
A05F Verão	9,05	15,6
A02S Inverno	27,24	8,34
A03S Inverno	28,88	10,31
A04S Inverno	60,20	7,23
A06S Inverno	7,77	11,56
A07S Inverno	7,86	9,2
A08S Inverno	11,14	12,44
ST1 Inverno	32,81	9,44
ST3 Inverno	4,715	14,55
ST4 Inverno	3,88	8,13
ST5 Inverno	2,82	9,54
Média de todas as amostras		9,459310345
Desvio padrão de todas as amostras		1,994574661

Anexo VII. Teste de especificação para melhora da sensibilidade, foi testado o aumento na velocidade de varredura.

Concentração de Ferro	0,03 V/s		0,06 V/s	
	Corrente nA	Desvio Padrão	Corrente Na	Desvio Padrão
10,06	15,34	0,685	4,73	0,08
12,06	15,24	0,53	5,87	0,06
14,06	16,21	0,26	6,63	0,575
16,06	23,53	3	8,53	0,125
20,06	23,08	3	13,28	0,435
26,06	26,67	0,905	18,91	0,5
30,06	63,24	2	34,28	0,645
35,06	60,14	0,475	27,92	0,16
40,06	89,17	0,59	49,33	2
45,06	84,52	0,23	40,89	0,415
55,06	124,25	0,305	66,29	1
70,06	186,91	1	96,00	0,625
80,06	238,20	3	132,86	0,525
90,06	267,18	3	145,52	0,5

Anexo VIII. Resultado do teste de tempo de equilíbrio entre a SA e os ligantes naturais,

Concentração de Fe [nM]	Espera de 15 minutos de reação (Corrente nA)	Espera de 16 horas de reação (Corrente nA)
0,0000*	14,2175	8,1315
2,0000	9,7300	10,1315
5,0000	8,7250	13,1315
8,0000	9,3950	16,1315
16,0000	5,3550	24,1315
20,0000	4,7100	28,1315
40,0000	5,6300	48,1315
75,0000	3,1250	83,1315
100,0000	17,4100	108,1315

*Representa a concentração inicial de ferro dessa amostra, A amostra escolhida apresentou concentração inicial 32,81 nM,

Anexo IX. Resultados brutos dos materiais de referencia, usados para calculos de limite de detecção, limite de quantificação, precisão e recuperação

Número de repetições (n)	NASS-5 Replicas [nM]	Nass-6 Replicas [nM]
1	4,16	8,08
2	3,88	8,12
3	3,78	8,44
4	3,92	8,00
5	4,06	8,16
6	4,08	8,04
Média	3,98	8,14
Desvio Padrão	0,14	0,16
Valor do material certificado	3,70±1,25	8,87±0,82

Anexo X, Resultados de corrente ip (nA) e concentração de FeD

Concentração de Fe [nM]	ip (nA)
0	9,89
0,5	9,61
1,5	17,2
4,5	39,83
7,5	63,07
10,5	77,66

Anexo XI: Tabela final com os dados ambientais dos três transectos , Albardão e Santa Marta, no inverno e verão,

	Estação	Temperatura da água (°C)	Salinidade	pH	DO (mg/L)	Nitrato (µM)	Fosfato (µM)	Silicato (µM)	DFe (nM)	L1 (nM)	K1	Excesso de ligantes (nM)
Inverno de 2015	A01S	14,2	24,6	8,04	9,95	6,29	1,02	54,77	14,7	42,18	11,39	27,48
	A02S	15	28,2	8,28	9,91	9,35	0,85	33,46	27,24	81,33	10,491	54,09
	A03S	15	27,8	8,11	10,06	23,19	1,01	40,67	28,88	55,85	11,56	26,97
	A04S	15	27,1	8,36	9,7	11,77	1,15	42,12	60,20	79,30	11,36	19,1
	A06S	15	31,3	8,34	10,2	1,97	0,91	9,61	7,77	21,15	10,7	13,38
	A07S	19,6	35,6	8,37	9,2	1,06	0,23	2,45	7,86	22,73	11,2916	14,87
	A08S	19,8	35,9	8,37	9,13	3,00	0,35	12,73	11,14	40,18	11,24	29,04
	ST1	18	32,4	8,24	9,37	1,70	0,81	8,26	32,81	54,93	10,1616	22,12
	ST3	18,8	33,7	8,26	9,25	11,10	0,46	10,78	4,715	52,36	10,78	47,645
	ST4	20,9	35,8	8,28	8,82	12,05	0,37	5,69	3,88	85,75	8,97	81,87
ST5	21,3	35,6	8,26	8,83	1,29	0,18	6,9	2,82	17,43	10,1987	14,61	
Verão de 2015	A 01 S	24,7	28,1	7,69	7,45	12,24	1,5	42,4	30,40	46,70	12,32	16,30
	A 01 F	24,7	28,1	7,76	7,57	1,56	1,49	35,04	31,8	63,41	10,2	31,61
	A 03 S	23,9	27,9	7,74	7,86	1,95	0,7	16,07	15,58	55,3	10,7715	39,72
	A 03 F	19,3	31,9	7,6	6,99	8,14	1,55	20,04	11,35	52,58	11,4715	41,23
	A 05 S	23,6	27,7	7,79	8,04	1,65	0,37	29,31	6,06	39,64	9,9503	33,58
	A 05 F	16,4	32,1	7,69	7,21	6,71	1,53	17,54	9,05	17,94	10,7204	8,89