



FURG

Dissertação de Mestrado

Desenvolvimento de eletrodo quimicamente modificado à base de quitosana para a determinação voltamétrica de Pb

MÔNICA GRAZIELLE HEINEMANN

PPGQTA

Rio Grande, RS - Brasil

2017

Desenvolvimento de eletrodo quimicamente modificado à base de quitosana para a determinação voltamétrica de Pb

escrita por

MÔNICA GRAZIELLE HEINEMANN

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental da Universidade Federal do Rio Grande (RS), como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA.

PPGQTA

Rio Grande, RS - Brasil

2017

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

A Comissão Examinadora abaixo assinada aprova a Dissertação de Mestrado

**Desenvolvimento de eletrodo quimicamente modificado à
base de quitosana para a determinação voltamétrica de Pb**

elaborada por

MÔNICA GRAZIELLE HEINEMANN

Como requisito parcial para a obtenção do título de
Mestre em Química

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Daiane Dias (FURG - RS)

Prof. Dr. Bruno Meira (FURG - RS)

Prof. Dr. André Ricardo Fajardo (UFPeI - RS)

Rio Grande, 28 de julho de 2017.

“Já vivi tanta coisa, tenho tantas a viver
Tô no meio da estrada e nenhuma derrota vai me vencer...”
Engenheiros do Hawaii.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **Deus**, pelas oportunidades e força pra chegar até aqui e não desistir.

Aos meus pais **Marleni** e **Volnei**, pelo amor, incentivo, apoio durante todos esses anos de estudo e exemplo de perseverança, trabalho e honestidade. Amo vocês! Á minha irmã **Mari** pelo incentivo nos estudos.

Ao meu namorado **Thiago**, meu amigo e parceiro. Agradeço pela ajuda na dissertação, por ouvir minhas reclamações e angustias, por todo amor e carinho dedicados a mim.

Á minha orientadora, **Profa. Dra. Daiane Dias**, pela ajuda e dedicação na elaboração deste trabalho.

Ao meu co-orientador, **Prof. Dr. Juliano Vicenti**, pela ajuda e contribuições na dissertação.

Ao **Prof. Dr. Bruno Meira**, pelas contribuições e auxílio na utilização do Absorção Atômica e por fazer parte da minha banca de qualificação e defesa.

Ao **Prof. Dr. Felipe Kessler**, pelas contribuições na qualificação.

Aos colegas do LEEA, **Ju Maciel, Ju Rocha, Lainide, Milena e Michele** pelo convívio diário, risadas, brincadeiras, reclamações e conhecimentos compartilhados. Ao colega **João** pela grande ajuda na utilização do Absorção Atômica.

Às minhas amigas do coração, **Carol e Bruna**, pela amizade de sempre e pela ajuda e explicações nas análises de infravermelho e MEV.

Ao **CEME-Sul** da **FURG** pelas análises de Microscopia Eletrônica de Varredura e Espectroscopia de Energia Dispersiva.

Á **CAPES** pelo auxílio financeiro.

A todos que de alguma forma ou outra contribuíram com este trabalho e com a minha formação.

MUITO OBRIGADA!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	VIII
LISTA DE TABELAS	X
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLO	XI
RESUMO	XIII
ABSTRACT	XV
1 INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
2.1 OBJETIVO GERAL.....	4
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
3. REFERENCIAL TEÓRICO	5
3.1 IMPACTO AMBIENTAL CAUSADO PELO CHUMBO.....	5
3.2 QUITOSANA.....	6
3.2.1 <i>Reticulação da quitosana</i>	8
3.3 ELETRODOS QUIMICAMENTE MODIFICADOS (EQM).....	12
3.3.1 <i>Modificação da superfície do eletrodo</i>	13
3.3.2 <i>Eletrodos de pasta de carbono</i>	13
3.4 TÉCNICAS VOLTAMÉTRICAS.....	14
3.4.1 <i>Voltametria cíclica</i>	15
3.4.2 <i>Voltametria de Redissolução Anódica por Onda Quadrada</i>	16
3.5 MÉTODOS ELETROANALÍTICOS PARA A DETERMINAÇÃO DE Pb.....	17
4 MATERIAIS E MÉTODOS	19
4.1 INSTRUMENTAÇÃO.....	19
4.2 REAGENTES, SOLUÇÕES E AMOSTRAS.....	20
4.3 CONTROLE DE CONTAMINAÇÃO.....	21
4.4 PROCEDIMENTOS DE RETICULAÇÃO DA QUITOSANA.....	21
4.4.1 <i>Reticulação com glutaraldeído (QTS-GA)</i>	21
4.4.2 <i>Reticulação com epicloridrina (QTS-EPC)</i>	21
4.4.3 <i>Reticulação com tripolifosfato de sódio (QTS-TPP)</i>	21
4.5 CARACTERIZAÇÃO DA QTS E QUITOSANAS RETICULADAS.....	22
4.5.1 <i>Espectroscopia na região do Infravermelho</i>	22
4.5.2 <i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS)</i>	22
4.5.3 <i>Voltametria Cíclica (VC)</i>	23
4.6 CONSTRUÇÃO DO ELETRODO MODIFICADO COM QUITOSANA.....	23
4.7 PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS.....	24
4.7.1 <i>Parâmetros avaliados para a determinação voltamétrica</i>	24
4.7.2 <i>Determinação de Pb em água mineral com QTS-TPP-EPG por SWASV</i>	24
4.7.3 <i>Avaliação dos parâmetros por HR-CS GF AAS</i>	24

4.8 VALIDAÇÃO DO MÉTODOS POR SWASV E HR-CS GF AAS.....	25
5 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	27
5.1 CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA E MORFOLÓGICA DO BIOPOLÍMERO	27
5.1.1 <i>Caracterização por Espectroscopia de Infravermelho.....</i>	<i>27</i>
5.1.2 <i>Caracterização por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva.....</i>	<i>30</i>
5.2 CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO ELETROANALÍTICA DO BIOPOLÍMERO	33
5.2.1 <i>Estudo voltamétrico comparativo dos eletrodos à base de grafite para a determinação de Pb</i>	<i>33</i>
5.2.2 <i>Avaliação do efeito do condutor com QTS-TPP para a determinação de Pb.....</i>	<i>35</i>
5.2.3 <i>Otimização do método voltamétrico com EPG-QTS-TPP para a determinação de Pb.....</i>	<i>36</i>
5.2.4 <i>Avaliação cinética do comportamento de Pb em EPG-QTS-TPP</i>	<i>41</i>
5.2.5 <i>Estudo da influência dos interferentes na resposta do EPG-QTS-TPP.....</i>	<i>44</i>
5.3 OTIMIZAÇÃO DO HR-CS GF AAS	44
5.4 VALIDAÇÃO DOS MÉTODOS	45
5.5 DETERMINAÇÃO DE PB NAS AMOSTRAS DE ÁGUA MINERAL	49
6 CONCLUSÕES	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química (A) quitina e (B) quitosana.	7
Figura 2 – Ilustração representativa da reação de reticulação da QTS com GA (JANEGITZ, 2009).	9
Figura 3 - Ilustração representativa da reação de reticulação da QTS com epiclоридrina (JANEGITZ, 2009).	10
Figura 4 - Ilustração representativa da reação de reticulação da QTS com o TPP (YANG et al., 2007).	11
Figura 5 - Esquema de preparação dos eletrodos de pasta de grafite modificado.	23
Figura 6 - Espectro de infravermelho da QTS e QTS-GA.	27
Figura 7 - Espectro de infravermelho da QTS e QTS-EPC.	29
Figura 8 - Espectro de infravermelho com a QTS e QTS-TPP.	29
Figura 9 - Micrografias da QTS (A), QTS-GA (B), QTS-EPC (C) e QTS-TPP (D).	30
Figura 10 - Espectro de dispersão de energia (EDS) da (A) QTS, (B) QTS-GA, (C) QTS-EPC e (D) QTS-TPP.	32
Figura 11 - Voltamogramas obtidos por SWASV para EPG-QTS, EPG-QTS-EPC, EPG-QTS-GA, e EPG-QTS-TPP. Condições experimentais: 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb, eletrólito suporte HNO_3 0,15 mol L^{-1} , $u = 270 \text{ mV s}^{-1}$, $E_{\text{dep}} = -1,1 \text{ V}$, $t_{\text{dep}} = 30 \text{ s}$, $E_{\text{inicial}} = -0,9 \text{ V}$, e $E_{\text{final}} = -0,1 \text{ V}$, frequência = 60 Hz e amplitude = 0,06 V.	33
Figura 12 - Voltamogramas de Pb com eletrodos de grafite e negro de fumo (70% m/m) com QT-TPP (5% m/m) por SWASV. Condições experimentais: 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb, eletrólito suporte = HNO_3 0,10 mol L^{-1} , $u = 270 \text{ mV s}^{-1}$, $E_{\text{dep}} = -1,1 \text{ V}$, $t_{\text{dep}} = 30 \text{ s}$, $E_{\text{inicial}} = -0,9 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -0,1$, frequência = 60 Hz e amplitude = 0,06 V.	35
Figura 13 - Estudo da influência da composição da pasta de grafite com 5, 10 e 15% m/m de QTS-TPP. Condições experimentais: 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb, eletrólito suporte = HNO_3 0,15 mol L^{-1} , $u = 270 \text{ mV s}^{-1}$, $E_{\text{deposição}} = -1,1 \text{ V}$, $t_{\text{deposição}} = 30 \text{ s}$, $E_{\text{inicial}} = -0,9 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -0,1 \text{ V}$, frequência = 60 Hz e amplitude = 0,06 V.	37
Figura 14 - Avaliação do efeito da concentração do eletrólito suporte para a redissolução do Pb. Condições experimentais: 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb, $u = 270 \text{ mV s}^{-1}$,	

$E_{\text{deposição}} = -1,1 \text{ V}$, $t_{\text{deposição}} = 30 \text{ s}$, $E_{\text{inicial}} = -0,9 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -0,1 \text{ V}$, frequência = 60 Hz e amplitude = 0,06 V. -----39

Figura 15 - Avaliação do efeito do potencial de deposição (-1,3 a -0,6 V) para a redissolução anódica do Pb. Condições experimentais: $250 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb, eletrólito suporte = HNO_3 $0,15 \text{ mol L}^{-1}$, $u = 270 \text{ mV s}^{-1}$, $t_{\text{deposição}} = 30 \text{ s}$, $E_{\text{inicial}} = -0,9 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -0,1 \text{ V}$, frequência = 60 Hz e amplitude = 0,06 V. -----40

Figura 16 - Avaliação do efeito da frequência (10 a 90 Hz) para a redissolução anódica do Pb. Condições experimentais: $250 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb, eletrólito suporte = HNO_3 $0,15 \text{ mol L}^{-1}$, $u = 270 \text{ mV s}^{-1}$, $E_{\text{deposição}} = -1,1 \text{ V}$, $t_{\text{deposição}} = 30 \text{ s}$, $E_{\text{inicial}} = -0,9 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -0,1 \text{ V}$ e amplitude = 0,06 V. -----40

Figura 17 - Avaliação do efeito da amplitude (0,01 a 0,15 V) para a redissolução anódica do Pb. Condições experimentais: $250 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb, eletrólito suporte = HNO_3 $0,15 \text{ mol L}^{-1}$, $u = 320 \text{ mV s}^{-1}$, $E_{\text{deposição}} = -1,1 \text{ V}$, $t_{\text{deposição}} = 30 \text{ s}$, $E_{\text{inicial}} = -0,9 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -0,1 \text{ V}$ e frequência = 80 Hz. -----41

Figura 18 - Voltamogramas cíclicos para a redissolução anódica do Pb em velocidades de varredura de 10 a 100 mV s^{-1} . Condições experimentais: 100 mg L^{-1} de Pb $E_{\text{inicial}} = -0,8 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -0,8 \text{ V}$ e eletrólito suporte = HNO_3 $0,15 \text{ mol L}^{-1}$. -----42

Figura 19 - Gráficos obtidos através da relação entre (A) $i_{\text{px}} \text{ vs } u^{1/2}$ (B) $i_{\text{px}} \text{ vs } u$ e (C) $\log i_{\text{px}} \text{ vs } \log u$ com velocidades de varredura de 10 a 100 mV s^{-1} . -----43

Figura 20 - Gráfico das curvas de temperaturas de pirólise e atomização para Pb.-----45

Figura 21 - (A) Voltamogramas obtidos para a curva analítica de Pb e a respectiva curva analítica (B). Condições experimentais: eletrólito suporte = HNO_3 $0,15 \text{ mol L}^{-1}$, $u = 320 \text{ mV s}^{-1}$, $E_{\text{deposição}} = -1,1 \text{ V}$, $t_{\text{deposição}} = 1020 \text{ s}$, $E_{\text{inicial}} = -0,9 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -0,1 \text{ V}$, frequência = 80 Hz e amplitude = 0,09 V. (a-----h) adições de 10 a $80 \mu\text{g L}^{-1}$.-----46

Figura 22 - Curva de calibração obtida com o HR-CS GF AAS para a faixa de concentração de 10, 25, 50, 75 e $100 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. Condições experimentais: $5 \mu\text{L}$ de uma solução de $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ do modificador químico $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, temperatura de pirólise de $1000 \text{ }^\circ\text{C}$ e de atomização de $2000 \text{ }^\circ\text{C}$.-----46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Condições para a determinação de Pb nas amostras por HR-CS GF AAS. 25

Tabela 2 - Valores calculados para os parâmetros de mérito do método para Pb por SWV e HR-CS GF AAS. -----47

Tabela 3 - Valores de recuperação calculados nos ensaios de fortificação para ambas as técnicas. -----48

Tabela 4 - Determinação de Pb em amostras de água mineral fortificadas (n=3).-----50

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLO

LD_{inst} , Limite de detecção instrumental

LQ_{inst} , Limite de quantificação instrumental

LD_{met} , Limite de detecção do método

LQ_{met} , Limite de Quantificação do método

HR-CS GF AAS, Espectrometria de Absorção Atômica de Alta Resolução com Fonte Contínua com forno de grafite, do inglês *High Resolution Continuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*.

CSV, Voltametria de Redissolução Catódica, do inglês *Cathodic Stripping Voltammetry*

DPV, Voltametria por Pulso Diferencial, do inglês *Differential Pulse Voltammetry*

SWASV, Voltametria de Redissolução Anódica com Onda Quadrada, do inglês *Square Wave Anodic Stripping Voltammetry*

SWV, Voltametria de Onda Quadrada, do inglês *Square Wave Voltammetry*

GF AAS, Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite, do inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*

ICP-MS, Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado, do inglês *Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry*

FAAS, Espectrometria de absorção atômica com chama, do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*

E_{dep} , potencial de deposição

Amp, amplitude

E_p , potencial de pico

v , velocidade de varredura

RSD, do inglês *relative standard deviation*

f , frequência

E_i , potencial inicial

E_f , potencial final

t_{dep} , tempo de deposição

Pb, chumbo

EPC, epicloridrina

GA, glutaraldeído

TPP, tripolifosfato de sódio

EPG, eletrodo de pasta de grafite

QTS, quitosana

GD, grau de desacetilação

MEV, Microscopia eletrônica de varredura, do inglês *Scanning Electron Microscopy*

EDS, Espectroscopia de Energia Dispersiva, do inglês *Dispersive Energy Spectroscopy*

QTS-GA, Quitosana reticulada com glutaraldeído

QTS-EPC Quitosana reticulada com epicloridrina

QTS-TPP Quitosana reticulada com tripolifosfato de sódio.

RESUMO

Título: Desenvolvimento de eletrodo quimicamente modificado à base de quitosana para a determinação voltamétrica de Pb

Autor: Mônica Grazielle Heinemann

Orientador: Profa. Dra. Daiane Dias

Foi avaliado nesta dissertação a viabilidade da utilização de quitosana comercial assim como da quitosana comercial reticulada com glutaraldeído (QTS-GA), com epícloridrina (QTS-EPC) e com tripolifosfato de sódio (QTS-TPP) na confecção de eletrodos quimicamente modificados aplicados à determinação voltamétrica de Pb por Voltametria de Redissolução Anódica com Onda Quadrada. As caracterizações dos materiais foram realizadas por Microscopia Eletrônica de Varredura, Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X e de Espectroscopia na região do Infravermelho por Transformada de Fourier e Voltametria cíclica. Para as determinações voltamétricas foram avaliados condutores (grafite e negro de fumo), modificadores (QTS, QTS-GA, QTS-EPC e QTS-TPP), proporção de modificador (5 a 15% m/m) e de aglutinante (óleo mineral) (15, 20 e 25% m/m), efeitos da concentração do eletrólito (0,01 a 0,25 mol L⁻¹), potencial de deposição (-0,6 a -1,3 V), amplitude (0,01 a 0,15 V), frequência (10 a 90 Hz) assim como efeito dos interferentes. As melhores respostas voltamétricas foram obtidas com grafite (70% m/m), QTS-TPP (5% m/m) e 25% m/m de aglutinante em ácido nítrico 0,15 mol L⁻¹, em um potencial de deposição de -1,1 V, 80 Hz de frequência e 0,09 V de amplitude. Com a avaliação da cinética reacional do eletrodo de pasta de grafite modificado com quitosana reticulada com tripolifosfato de sódio (EPG-QTS-TPP) pode-se concluir que o processo é controlado por adsorção e que há a transferência de 2 elétrons. As caracterizações espectroscópicas confirmaram a reticulação da quitosana pelos reticulantes utilizados sendo que a caracterização morfológica da QTS-TPP se destacou por apresentar uma superfície uniforme. Sendo assim, o EPG-QTS-TPP foi aplicado na análise de Pb em amostras de água mineral e como método comparativo utilizou-se a Espectrometria de Absorção Atômica de Alta Resolução com Fonte Contínua com forno de grafite, onde pode-se concluir que ambos os métodos

são exatos (recuperações de 70 a 116%), precisos (RSD menores que 20%), lineares nas faixas de concentração avaliadas (coeficiente de correlação de 0,99) e com limites de quantificação de 2,44 e 2,65 $\mu\text{g L}^{-1}$ para os métodos voltamétrico e espectrométrico, respectivamente.

ABSTRACT

Title: Development of a chemically modified chitosan electrode for the voltammetric determination of Pb

Author: Mônica Grazielle Heinemann

Advisor: Profa. Dra. Daiane Dias

The use of commercial chitosan as well as commercial chitosan crosslinked with glutaraldehyde (CTS-GA), epichlorohydrin (CTS-ECH) and sodium tripolyphosphate (CTS-TPP) in the manufacture of chemically modified electrodes applied to the Pb voltammetric determination by Square Wave Anodic Stripping Voltammetry was evaluated in this dissertation. The materials characterizations were performed by Scanning Electron Microscopy, Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy, Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Cyclic Voltammetry. For the voltammetric determinations, the conductors (graphite and carbon black), modifiers (CTS, CTS-GA, CTS-ECH and CTS-TPP), modifier ratio (5 to 15% w/w), and binder (mineral oil) (15, 20 and 25% w/w), electrolyte concentration effects (0,01 to 0,25 mol L⁻¹), deposition potential (-0,6 to -1,3 V), amplitude (0,01 to 0,15 V), frequency (10 to 90 Hz) as well as interferences were evaluated. The best voltammetric responses were obtained with graphite (70% w/w), CTS-TPP (5% w/w) e 25% w/w the binder in nitric acid 0,15 mol L⁻¹, in a deposition potential of -1,1 V, 80 Hz of frequency and 0,09 V of amplitude. With the kinetics reaction evaluation of graphite paste electrode modified with chitosan crosslinked with sodium tripolyphosphate, it is possible to conclude that the process is controlled by adsorption and that there is the transfer of 2 electrons. The spectroscopic characterization showed that all the crosslinks procedures were effective and that the morphological characterization of CTS-TPP was outstanding because it presented a uniform surface. Thus, the electrode was applied in the Pb determination in mineral water samples and as comparative method the High Resolution Continuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry was used, from that we could assert that both methods are accurate (recoveries from 70 to 116%), precise (relative standard deviations less than 20%), linear in the evaluated concentration ranges (correlation

coefficient of 0.99), and with quantification limits of 2.44 and 2.65 $\mu\text{g L}^{-1}$ for the voltammetric and spectrometric methods, respectively.

1 INTRODUÇÃO

A liberação das espécies poluentes como metais potencialmente tóxicos e outros elementos, para o ambiente pode ocorrer tanto por fatores naturais, como erosão e atividade vulcânica, como também através de atividades antropogênicas, como por exemplo, a mineração, fundição, atividades agrícolas e industriais (WHO, 2007). Os metais são contaminantes estáveis e persistentes uma vez que não podem ser degradados ou destruídos e, o lançamento de poluentes nos ambientes naturais nas últimas décadas tem ocasionado uma série de problemas ambientais e de saúde devido à possível toxicidade de alguns compostos (WHO, 2007). A poluição que os íons metálicos causam é muito preocupante devido ao fato desta possível contaminação ser um problema de âmbito mundial, uma vez que todos os seres vivos podem ser afetados com a alteração da qualidade da água potável tornando-a imprópria para consumo (JANEGITZ, 2009).

O chumbo (Pb) é um elemento de ocorrência natural, sendo encontrado com abundância na crosta terrestre, quase sempre na forma de sulfeto de chumbo (galena) (de AZEVEDO; CHASIN, 2003). Os efeitos tóxicos deste metal estão relacionados a alterações graves nos sistemas nervoso, cardiovascular, renal e reprodutivo (VICENTINI et al., 2014). Em crianças é ainda mais preocupante porque a barreira hematoencefálica é menos desenvolvida, tornando mais fácil a penetração desse metal no cérebro (VICENTINI et al., 2014).

A resolução do CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) nº 357, de 17 de março de 2005, estabelece que o máximo de Pb tolerado para águas de classe 1 (destinadas ao abastecimento para consumo humano após tratamento convencional ou avançado) é de $0,01 \text{ mg L}^{-1}$. A ANVISA (2011) e a Organização Mundial da Saúde (WHO, do inglês, *World Health Organization*) (WHO, 2004) também permitem o máximo de $0,01 \text{ mg L}^{-1}$.

O baixo limite de concentração tolerados desse composto pelos órgãos regulamentadores tem relação com sua possível toxicidade e persistência no ambiente e devido a isso, cada vez mais tem se ampliado o controle de qualidade da água

utilizada para consumo. Para a determinação de Pb, diferentes técnicas analíticas vêm sendo utilizadas tais como, Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS) (MARKIEWICZ et al., 2014) e Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (GF AAS) (WU et al., 2012; GARCÍA; MARTÍNEZ; CÓRDOBA, 2015). Entretanto, dentre as técnicas analíticas, a Voltametria vem sendo empregada na determinação de diferentes espécies químicas, inclusive o Pb (ALMEIDA et al., 2017) por apresentar vantagens como rapidez na análise e custo relativamente baixo quando comparado às técnicas espectrométricas (BOUSSEMART; BERG; GHADDAF, 1992). Dentre os eletrodos utilizados, o de maior aplicação é o de Hg (LOCATELLI; TORSI, 2003; FARGHALY, 2003; DOMÍNGUEZ; ARCOS, 2002; LAGLERA; BATTAGLIA; BERG, 2007) que vem entrando em desuso devido a sua alta toxicidade (CHAIYO; CHAILAPAKUL; SIANGPROH, 2014). Em substituição ao Hg, outros eletrodos como sólidos (CHAIYO; CHAILAPAKUL; SIANGPROH, 2014), de pasta de carbono (VICENTINI et al., 2014) e eletrodos quimicamente modificados (EQM) (NA et al., 2013) têm sido utilizados. Os eletrodos sólidos normalmente apresentam elevado custo e difícil reprodutibilidade (PARANHOS, 2014) o que muitas vezes pode inviabilizar a análise voltamétrica. Já os eletrodos de pasta apresentam vantagens como baixo custo, larga faixa de potencial e inércia química (WANG, 2000), mas a desvantagem da reação que ocorre no carbono (condutor base da maioria dos EQM) ser mais lenta do que em eletrodos metálicos (BRETT; BRETT, 1997). Entretanto, EQM tem tido alta aplicabilidade por ser de fácil fabricação, além de possibilitar a utilização de materiais e/ou biomateriais cujo analito tenha afinidade, o que torna a análise mais sensível (PEREIRA; SANTOS; KUBOTA, 2002).

Dentre esses materiais, a quitosana (QTS) tem sido muito utilizada devido ao fato de possuir uma grande capacidade em formar complexos com íons metálicos sem causar danos ao meio ambiente, por ser um biopolímero biodegradável e com baixa toxicidade (GUIBAL et al., 1999). A QTS é obtida a partir da desacetilação da quitina (ELADLANI et al., 2014) que é composta por unidades de N-acetil-D-glicosamina e D-glicosamina e comumente encontrada em exoesqueletos de crustáceos como camarões e caranguejos (MOURA et al., 2011). Atualmente diversos métodos têm sido utilizados para aumentar a estabilidade e a quantidade de grupos reativos da QTS, sendo a reticulação o mais utilizado (KURITA; KOYAMA; TANIGUCHI, 1986). Como

agentes de reticulação pode-se utilizar o glutaraldeído (GA), epicloridrina (EPC), tripolifosfato de sódio (TPP), dentre outros (FANG; HU, 1999; SHWETA; SONIA, 2013). Sendo assim, uma vez que o desenvolvimento de métodos analíticos sensíveis para determinação de Pb é de extrema importância e levando-se em consideração a utilização da quitosana para este fim, o presente trabalho propõe o desenvolvimento de EQM a base de QTS para a determinação voltamétrica de Pb em amostras de água mineral.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver eletrodos quimicamente modificados à base de quitosana e quitosana reticulada para a determinação voltamétrica de Pb em amostras de água mineral.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Avaliar a influência da QTS e da QTS reticulada com GA, EPC e TPP na resposta voltamétrica do Pb;
- ✓ Avaliar o efeito dos condutores grafite e negro de fumo;
- ✓ Avaliar as influências eletroquímicas de diferentes proporções de aglutinante e modificador no eletrodo a base de quitosana;
- ✓ Avaliar o comportamento eletroquímico do Pb no EQM a base de quitosana reticulada ;
- ✓ Avaliar a influência de parâmetros instrumentais voltamétricos (faixa de varredura, potencial de deposição, tempo de deposição, amplitude, frequência, dentre outros) na resposta voltamétrica do Pb;
- ✓ Definir as melhores condições voltamétricas para a determinação de Pb em EQM-QTS-TPP;
- ✓ Aplicação do método otimizado e validado em amostras de água mineral.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Impacto ambiental causado pelo chumbo

A água é o principal constituinte do planeta, sendo que aproximadamente 97% estão na forma de água do mar (que é indisponível para o consumo humano, animal e para atividades agrícolas), 2,9% da água doce está na forma de geleiras e calotas polares e somente 0,1% é oriunda de lagos e rios que são as principais fontes de água potável (BAIRD, 2002).

Um dos principais problemas que afetam o ambiente é a poluição de natureza orgânica ou inorgânica, que é proveniente de dejetos residenciais e industriais e que contribuem para a poluição aquática, causando mudanças nas características físicas, químicas e biológicas das águas, as quais prejudicam a sua qualidade e que podem impossibilitar o seu uso para o consumo humano (PERGHER et al., 2005).

Os metais potencialmente tóxicos são uma forma preocupante de poluição nos sistemas aquáticos, podendo ocorrer através de processos naturais (decomposição de rochas e a lixiviação a partir do solo) e de fontes antropogênicas (atividades industriais, mineração, uso indevido na agricultura e na geração de efluentes municipais) os quais representam um problema ambiental com riscos algumas vezes desconhecidos (TOKAHOGLU; KARTALI, 2006; ANGIONI et al., 2006).

O monitoramento e o controle do meio ambiente e, principalmente, dos recursos hídricos são de extrema importância devido à contaminação dos mesmos, uma vez que, em ambientes aquáticos, os íons metálicos estão entre os contaminantes mais tóxicos e comumente encontrados (CAMPOS; BENDO; VIEL, 2002; DEMIRBAS, 2008).

Em relação à toxicidade, os metais podem ser separados em três grupos distintos (VENEZUELA, 2001):

I. **Primeiro grupo:** são os pouco tóxicos que na maioria são tidos como micronutrientes, mas em concentrações elevadas são considerados tóxicos (exemplos: alumínio, cobalto, cobre, manganês, molibdênio, selênio, vanádio, zinco, estanho e ferro);

II. **Segundo grupo:** metais que apresentam riscos de câncer (arsênio, berílio e níquel);

III. **Terceiro grupo:** metais que apresentam um caráter extremamente tóxico e não se enquadram nos grupos anteriores (o chumbo, cádmio, mercúrio e cromo).

Devido à alta toxicidade dos metais do grupo 3, existe um grande interesse na determinação quantitativa destes íons metálicos em virtude dos diversos problemas que eles podem causar aos seres humanos.

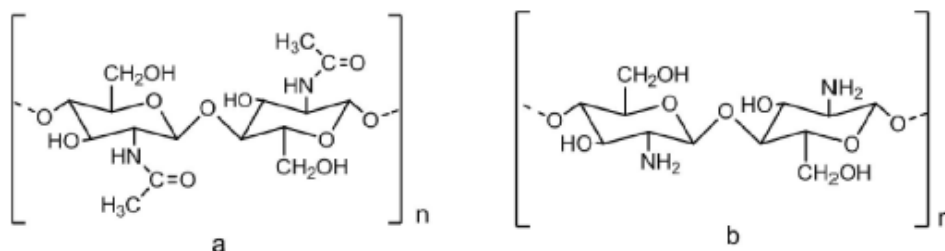
O chumbo (Pb) tem sido muito utilizado na manufatura de produtos metálicos há milhares de anos (MANAHAN, 2004). Na natureza é encontrado como sulfeto, mas também pode ser na forma de carbonato, sulfato e clorofosfato de chumbo (HONEYCHURCH; HART; COWELL, 2001).

O Pb é encontrado em baixas concentrações na água, sendo a sua mais significativa fonte de contaminação as chuvas com partículas de Pb, principalmente em áreas urbanas (DAS; DE LA GUARDIA; CERVERA, 2001). Alimentos, ar e fumo (através do cigarro) também são considerados fontes importantes de Pb (GREENWOOD; EARNSHAW, 1997). Este metal é extremamente danoso a saúde humana quando absorvido pela ingestão de alimentos, ar ou água contaminados, podendo causar convulsões, paralisia, anemia, intoxicação crônica, redução da capacidade intelectual em crianças e devido a sua tendência em acumular-se nos tecidos dos seres humanos pode levar até a morte ((GREENWOOD; EARNSHAW, 1997; COCO et al., 2000).

3.2 Quitosana

Depois da celulose, a quitina (Figura 1A) é o biopolímero mais abundante encontrado na natureza (MOURA et al., 2011). A sua estrutura é formada por unidades 2-acetamido-2-desoxi-D-glicopiranosose unidas por ligações β -(1→4) (KURITA, 2006). A quitina é um produto de biossíntese encontrado em uma variedade de animais marinhos (caranguejo, camarão e lagosta), insetos, fungos e leveduras, podendo ser encontrada nas formas α , β e γ , sendo a forma α a mais comum e estável (JAVANBAKHT et al., 2007).

Figura 1 – Estrutura química da (a) quitina e da (b) quitosana.



Quando submetidos ao tratamento com bases fortes e/ou hidrólise enzimática, os grupos acetamida (NHCOCH₃) da quitina são convertidos em graus variados de grupos amina (-NH₂), originando desta forma unidades 2-amino-2-desoxi-D-glicopirranose as quais são unidas por ligações glicosídicas do tipo β -(1 \rightarrow 4), como observado na Figura 1B, sendo considerada quitosana aquela que apresenta uma desacetilação acima de 60% (SHI et al., 2006; BASÍLIO et al., 2005; KURITA, 1998). Quanto maior a desacetilação, maior será a quantidade de grupos amino formados, o que pode aumentar a possibilidade de interação com íons metálicos (CRAVIERO, 1999).

O principal produto obtido a partir da quitina é a quitosana, e esta possui maior valor comercial e propriedades de interesse para âmbito industrial e de pesquisa. A quitosana é um polissacarídeo composto de três grupos funcionais reativos, um grupo amino e dois grupos hidroxilas primário e secundário nas posições dos carbonos C-2, C-3 e C-6, respectivamente (DAMIAN et al., 2005; SORLIER et al., 2003). Além disso, a quitosana apresenta características como alta biodegradabilidade e grande afinidade por metais, que justificam seu uso para fins biomédicos, farmacológicos, biotecnológicos, na indústria de cosméticos, como adsorventes na remoção de corantes e espécies metálicas, na agricultura, na indústria alimentícia e no tratamento de água e esgoto (JANEGITZ et al., 2007; KURITA, 2006; SHI et al., 2006; NGAH; ENDUD; MAYANAR, 2002; VARMA; DESHPANDE; KENNEDY, 2004).

A quitosana é insolúvel em água, sendo completamente solúvel em soluções de ácidos orgânicos diluídos como o ácido acético, ácido fórmico e ácido láctico, resultando em soluções viscosas (KURITA, 2004). Alguns ácidos inorgânicos diluídos como o

ácido nítrico, perclórico, clorídrico ou fosfórico, podem ser utilizados para a preparação de soluções de quitosana somente após prolongada agitação e aquecimento (CRAVIERO, 1999; CÁRDENAS; ORLANDO; EDELIO, 2001).

Há na literatura alguns trabalhos que utilizam quitosana como modificador para eletrodos. Vitali, Vieira e Spinelli (2011) desenvolveram um eletrodo de pasta de carbono modificado com quitosana reticulada com 8-hidroxiquinolina-5-ácido sulfônico e GA para a determinação de Cu (II), utilizando a técnica de voltametria de redissolução anódica, o qual apresentou uma faixa linear de 0,5 a 14 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e um limite de detecção de 0,055 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (VITALI; VIEIRA; SPINELLI, 2011).

Lu et al., (2001) desenvolveram um eletrodo de carbono vítreo modificado com quitosana para a determinação de Fe total, utilizando a técnica de voltametria linear de redissolução catódica o qual apresentou faixa linear de 0,39 a 5,37 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e um limite de detecção de 0,18 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (LU et al., 2001).

Yang et al., (2004) construíram um biossensor com um filme de quitosana reticulada com GA para a imobilização da enzima glucose. A faixa linear usada foi de 50 a 150 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e o limite de detecção de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Para a determinação da glucose foi utilizada como técnica a amperometria e a voltametria cíclica (YANG et al., 2004).

De Oliveira, Fernandes e Vieira (2006) construíram um biossensor de pasta de carbono com quitosana e enzima peroxidase para a determinação de rutina em formulações farmacêuticas. O biossensor apresentou resposta linear entre 0,34 a 7,2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e um limite de detecção de 0,02 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (de OLIVEIRA; FERNANDES; VIEIRA, 2006).

3.2.1 Reticulação da quitosana

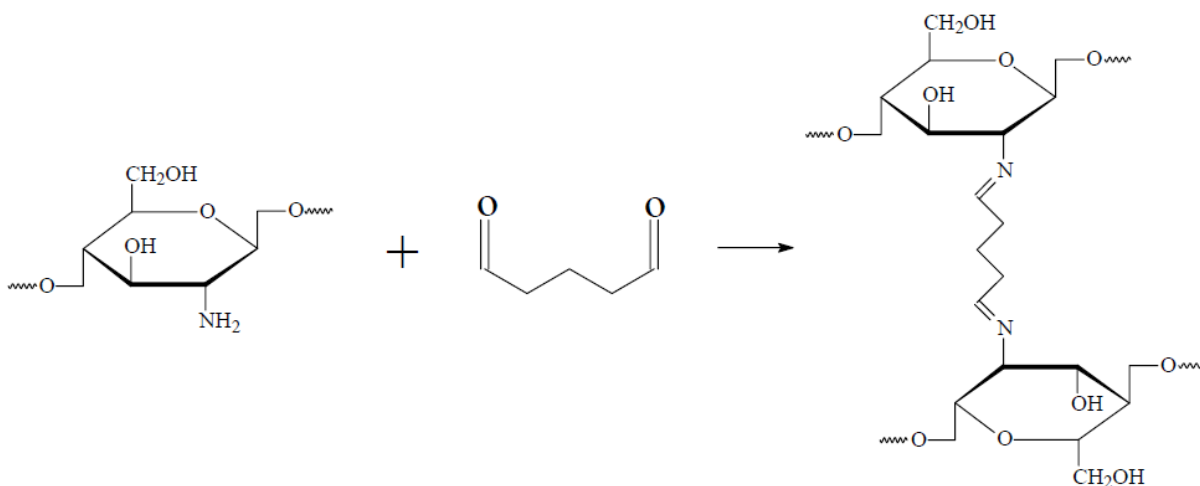
A reticulação é um dos métodos mais utilizados para aumentar a estabilidade da quitosana (KURITA; KOYAMA; TANIGUCHI, 1986; MERRIFIELD et al., 2004; MONTEIRO JR; AIROLDI, 1999). A reticulação ocorre quando um reagente (chamado de agente reticulante) faz ligações cruzadas entre as moléculas de polissacarídeos, ocorre também em polímeros não naturais e pode ser feita em polímeros modificados

com grupos funcionais reticuláveis. A etapa de reticulação é uma reação bem conhecida e descrita na literatura para certos reticulantes e um método relativamente fácil para preparar materiais à base de polissacarídeos (SHWETA; SONIA, 2013).

Na literatura são apresentados alguns agentes reticulantes como glutaraldeído (GA), epícloridrina (EPC) e tripolifosfato de sódio (TPP) (ANITHA et al., 2012). Eles podem ser classificados como reticulantes químicos ou físicos e essa classificação é feita com base na interação da reticulação com a quitosana.

i) Reticulação química: A reticulação química acontece quando o agente reticulante faz ligações covalentes intermoleculares entre as cadeias do biopolímero, sendo esta reação irreversível. Os reticulantes químicos incluem o GA e a EPC (ANITHA et al., 2012). O tempo de reticulação e a concentração do agente reticulante são fatores que afetam a reticulação química (SHWETA; SONIA, 2013). Nas Figuras 2 e 3 são apresentadas as reações de reticulação da QTS com GA (QTS-GA) e QTS com EPC (QTS-EPC).

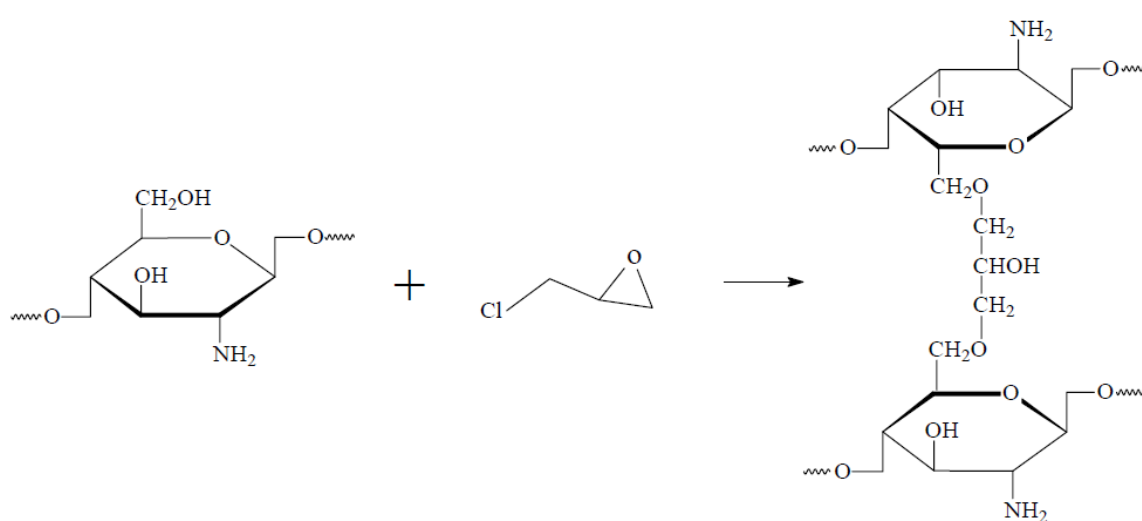
Figura 2 – Ilustração representativa da reação de reticulação da quitosana com glutaraldeído (JANEGITZ, 2009).



O GA pode facilmente se reticular com a QTS devido aos seus grupos aldeídos livres. O mecanismo envolve a formação de uma base de Schiff através do ataque nucleofílico pelo nitrogênio do grupo amino da QTS no carbono do GA, que desloca o oxigênio do aldeído resultando na ligação C=N (imina) (BERGER et al., 2004). A

estrutura resultante das ligações cruzadas entre QTS e GA (Base de Schiff) é capaz de adsorver com grande capacidade íons metálicos (MONTEIRO JR; AIROLDI, 1999). No entanto, há preocupações com o uso do GA, uma vez que se suspeita da sua toxicidade, o que pode resultar no declínio da biocompatibilidade de sistemas (ROBERTS; TAYLOR, 1989).

Figura 3 - Ilustração representativa da reação de reticulação da quitosana com epícloridrina (JANEGITZ, 2009).

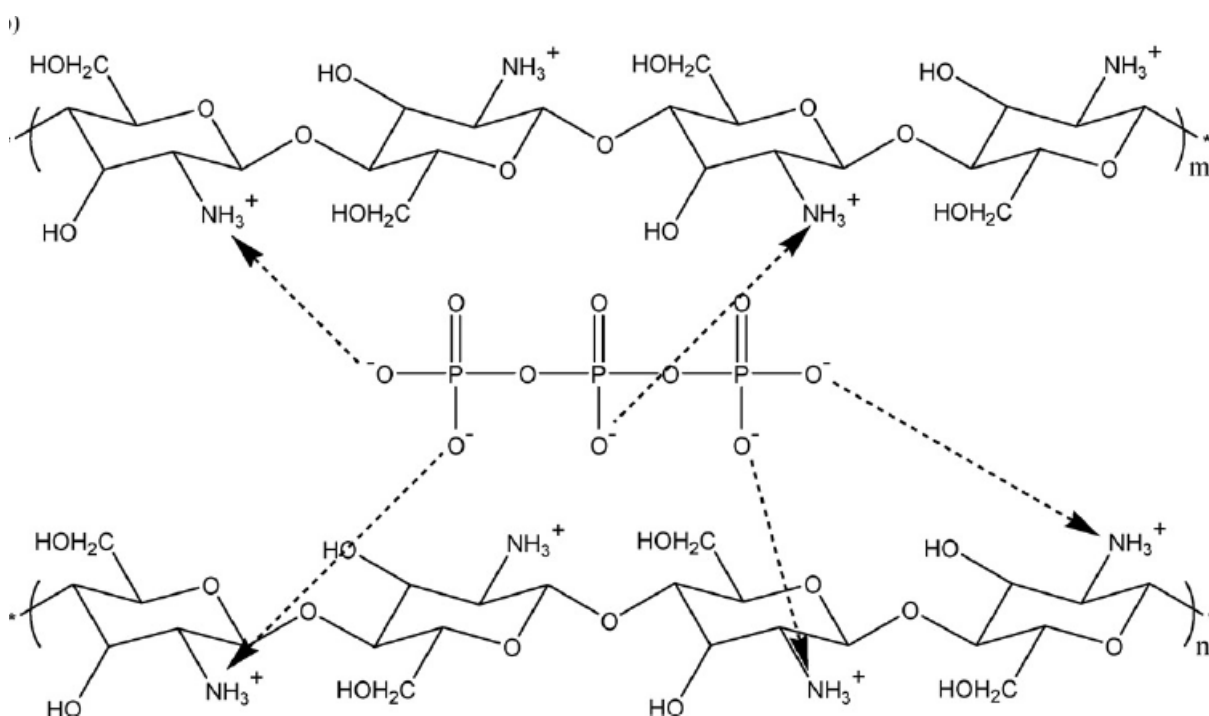


A epícloridrina se liga através dos seus átomos de carbono na QTS, resultando na ruptura do anel epóxido e na remoção de um átomo de cloro (NGAH; ENDUD; MAYANAR, 2002). A vantagem de se estudar o uso da epícloridrina na reticulação é devido ao fato de que esta reage, preferencialmente, com as hidroxilas da QTS, deixando os grupos amino livres para a complexação dos íons metálicos (MERRIFIELD et al., 2004).

ii) Reticulação física: em contraste com a ligação covalente da reticulação química, a reticulação física é obtida usando agentes reticulantes que estabelecem interações iônicas entre as cadeias dos polímeros, sendo esta reação reversível. O tripolifosfato de sódio (TPP) é um exemplo bem conhecido de agente reticulante físico

(ANITHA et al., 2012). Na Figura 4 é apresentada a reação de reticulação do tripolifosfato de sódio com a quitosana.

Figura 4 - Ilustração representativa da reação de reticulação da quitosana com o tripolifosfato de sódio (YANG et al., 2007).



O tripolifosfato de sódio é um agente reticulante bem conhecido para a preparação de micro e nanopartículas de quitosana (ANITHA et al., 2012). Ele aumenta a força iônica da solução e promove a interação iônica entre os grupos amino protonados da quitosana e os grupos aniônicos do tripolifosfato de sódio (MI et al., 1999). Essa reticulação é baseada no princípio simples de que em condições ácidas os grupos NH_2 da quitosana são protonados a NH_3^+ e interagem com os ânions fosfato do tripolifosfato de sódio. Além disso, o tripolifosfato de sódio possui baixa toxicidade e ao contrário de outros agentes reticulantes, ele não apresenta graves restrições de manuseio e armazenamento (FAN et al., 2012).

3.3 Eletrodos quimicamente modificados (EQM)

O desenvolvimento de eletrodos se tornou uma ferramenta importante para os químicos eletroanalíticos principalmente devido a algumas vantagens como elevada sensibilidade nas determinações, custo moderado e portabilidade (LOWINSOHN; BERTOTTI, 2006). É importante salientar que as reações eletrolíticas que ocorrem na superfície do eletrodo são heterogêneas e tem lugar na região interfacial entre o eletrodo e a solução, região na qual a distribuição de carga difere da fase no interior da solução, podendo o eletrodo atuar como um doador (redução) ou receptor (oxidação) de elétrons transferidos para as espécies em solução (BRETT; BRETT, 1997).

O termo eletrodo quimicamente modificado (EQM) foi introduzido por Murray et al em 1975 para designar eletrodos com espécies quimicamente ativas, devidamente imobilizadas em suas superfícies, com o objetivo de pré-estabelecer e controlar a natureza físico-química da interface eletrodo/solução (SOUZA et al., 2004). A modificação que é feita na superfície do eletrodo apresenta vantagens como melhorar a reatividade, seletividade e a sensibilidade do dispositivo, o que possibilita o desenvolvimento de eletrodos com resposta satisfatória para vários propósitos e aplicações (PEREIRA; SANTOS; KUBOTA, 2002; SOTOMAYOR et al., 2006).

No processo eletroquímico que ocorre, o analito de interesse interage com a superfície do eletrodo e ocorre a transferência de elétrons. No entanto, caso essa transferência seja muito lenta, não ocorra ou ocorra em um potencial fora do intervalo de potencial do eletrodo utilizado, é possível modificar a superfície do eletrodo para que ocorra uma melhora na resposta voltamétrica final, no qual o analito de interesse irá reagir diretamente com o modificador (GALLI et al., 2006).

O EQM pode beneficiar as aplicações analíticas através da aceleração de reação de transferência de elétrons ou acumulação preferencial, promovendo dessa forma maior seletividade, sensibilidade ou estabilidade para os eletrodos (WANG, 2000).

3.3.1 Modificação da superfície do eletrodo

A modificação da superfície do eletrodo baseia-se na escolha adequada do material do eletrodo e também do método de imobilização mais conveniente para manter a atividade redox do modificador. Como modificadores podem ser usados catalizadores (complexos metálicos), enzimas, biopolímeros, dentre outros (WONG; LANZA; SOTOMAYOR, 2010). Dentre os métodos de imobilização dos modificadores podemos citar (VALLE, 2011; WONG, 2014; PEREIRA, 2002):

i) Adsorção: é baseado na interação física do modificador na superfície do eletrodo;

ii) Ligação covalente: o modificador é fixado na superfície do eletrodo por ligação covalente. Nesse tipo de imobilização é possível manipular a reatividade dos grupos funcionais na superfície do eletrodo oferecendo um método mais estável;

iii) Imobilização por oclusão: é comumente usada na obtenção de pastas de carbono modificadas, nas quais há a mistura de grafite, modificador e um aglutinante.

3.3.2 Eletrodos de pasta de carbono

Nos últimos anos a literatura tem apresentado diversos trabalhos empregando eletrodos à base de pasta de carbono, os quais são preparados a partir de uma simples mistura de grafite, modificador químico e aglutinante (WONG; LANZA; SOTOMAYOR, 2010; BONI et al., 2010). Isso tem acontecido devido ao fato do carbono possuir diferentes formas alotrópicas, que se diferem apenas pelo arranjo geométrico, possibilitando dessa forma que o carbono se ligue de várias formas diferentes (USLU; OZKAN, 2007).

O uso de eletrodos à base de carbono têm se destacado muito por apresentarem vantagens como: baixa corrente de fundo, baixo custo, larga faixa de potencial, facilidade de modificação, aplicação como sensor ou detector e inércia química (MCCREERY, 2008). Como exemplo de eletrodos de carbono tem-se o carbono vítreo, pasta, fibra, filmes e compósitos de carbono (WANG, 2000). Os eletrodos de pasta de carbono apresentam algumas diferenças quando comparados a outros tipos de eletrodos (principalmente os metálicos como o ouro e a platina), pois a

cinética de transferência de elétrons no carbono depende da estrutura e preparação da superfície, tornando as reações eletroquímicas mais lentas no carbono do que em eletrodos metálicos (BRETT; BRETT, 1997; USLU; OZKAN, 2007).

Para o preparo do eletrodo de pasta de carbono usa-se pó de grafite ou pó de carbono misturado a vários aglutinantes, que devem ser imiscíveis em soluções aquosas, quimicamente inertes e eletroinativos (WANG, 2000). Algumas características devem ser levadas em consideração para a escolha do aglutinante, tais como: baixa volatilidade, pureza e baixo custo, fatores estes que reduzem o número de escolhas de aglutinantes, sendo um dos mais usados o Nujol® (óleo mineral) (WANG, 2000). Além disso, o aglutinante tem como função preencher as cavidades entre as partículas de grafite ou de carbono, fixar a pasta ao eletrodo e transformar a mistura em uma pasta compacta e consistente (CRESPILHO; REZENDE, 2004).

O carbono ou grafite deve ter partículas com o mesmo tamanho, possuir uma baixa capacidade de adsorção de oxigênio e de impurezas eletroativas e deve apresentar uma pureza química elevada (VIEIRA; LUPETTI; FATIBELLO-FILHO, 2003). Esses materiais apresentam uma matriz adequada para a incorporação de modificadores apropriados, pois o modificador é misturado junto com o pó de grafite ou carbono e o aglutinante, porém tem como desvantagem problemas de reprodutibilidade de sinal, pois a renovação da superfície, frequentemente, não reproduz a superfície anterior, como ocorre com o eletrodo gotejante de mercúrio (CERVINI, 2006).

3.4 Técnicas voltamétricas

A voltametria é uma técnica que estuda a relação entre corrente e potencial durante a eletrólise de espécies químicas de interesse. Em condições definidas, as substâncias eletroativas apresentam um potencial característico, no qual ocorre a transferência de carga analito/superfície do eletrodo. As informações sobre o analito são obtidas a partir da variação do potencial elétrico do eletrodo de trabalho, que promove o surgimento de uma resposta de corrente em função do potencial aplicado (BARD; FAULKNER, 2001).

Na voltametria é aplicada uma diferença de potencial entre o eletrodo de trabalho e o eletrodo de referência e essa diferença aumenta a resistência do eletrodo

de referência e diminuiu a do eletrodo auxiliar (WANG, 2000). A reação redox ocorre no eletrodo de trabalho e as informações qualitativas e quantitativas do analito de interesse são registradas através de um voltamograma (WANG, 2000).

Esta técnica apresenta as vantagens de não necessitar de etapa de separação ou pré-tratamento, possibilitando também a análise em matrizes complexas ou com partículas sólidas dispersas. Estas vantagens, aliadas ao curto tempo na realização das análises, ao baixo custo da instrumentação e dos materiais utilizados, se comparados às técnicas espectrométricas, e a sensibilidade que as técnicas eletroanalíticas apresentam em relação à presença de interferentes, fizeram com que elas fossem cada vez mais utilizadas (BRETT; BRETT, 1997).

3.4.1 Voltametria cíclica

Esta técnica é comumente usada para se obter informações qualitativas sobre os processos eletroquímicos sendo que os potenciais variam em sentido anódico e catódico no qual ocorre a oxidação e redução do analito respectivamente, se a espécie for eletroquimicamente ativa gerando assim picos de corrente proporcional à concentração do analito (WANG, 2000). Cabe salientar que a direção da varredura inicial pode ocorrer tanto no sentido negativo como positivo de potenciais, isso irá depender da composição da amostra (BARD; FAULKNER, 2001).

O voltamograma gerado a partir desta técnica depende do tipo de mecanismo redox (reversível, quase reversível ou irreversível) que o analito de interesse apresenta frente ao eletrodo utilizado, fazendo da voltametria cíclica uma importante ferramenta para estudos mecanísticos (PACHECO et al., 2013). Parâmetros como potencial de pico catódico (E_{pc}) e anódico (E_{pa}), assim como corrente de pico catódico (i_{pc}) e anódico (i_{pa}) são importantes em um voltamograma cíclico (WANG, 2000).

Esta técnica também pode ser utilizada para determinação quantitativa, no entanto por apresentar baixa sensibilidade, não é muito utilizada para esse fim (PACHECO et al., 2013).

3.4.2 Voltametria de Redissolução Anódica por Onda Quadrada

A Voltametria de Redissolução (SV, do inglês *Stripping Voltammetry*) é uma técnica extremamente sensível e muito utilizada para a determinação de compostos a níveis traço. Sua excelente sensibilidade é atribuída à combinação de uma etapa de deposição com um processo de medida que minimiza a razão sinal-ruído (BARD; FAULKNER, 2001). A voltametria de redissolução pode ser catódica (CSV, do inglês *Cathodic Stripping Voltammetry*) ou anódica (ASV, do inglês *Anodic Stripping Voltammetry*) sendo esta a mais utilizada para análise de íons metálicos através da deposição catódica (WANG, 2000). A reação de redução que ocorre entre o analito (A) e o eletrodo é representada pela equação 1.



Após a etapa de deposição, a agitação da solução cessa para que termine o processo de transferência de massa por convecção e o potencial é varrido anodicamente (sentido positivo de potenciais) através de alguma técnica voltamétrica para se obter o sinal analítico do analito (WANG, 2000). Dentre essas técnicas estão a voltametria linear (DENG et al., 2008), de onda quadrada (EAST; MARINHO, 2005) e de pulso diferencial (TAKEUCHI et al., 2007). Durante a varredura anódica o metal é oxidado, sendo redissolvido do eletrodo num potencial característico para cada espécie e essa reação é representada pela equação 2.



Dentre as técnicas voltamétricas citadas anteriormente, a Onda Quadrada (SWV, do inglês *Square Wave Voltammetry*) se destaca por apresentar vantagens como rapidez nas análises e maior sensibilidade, pois a corrente é amostrada duas vezes a cada ciclo da onda quadrada, sendo uma vez no final do pulso no sentido da varredura direta e outra ao final do pulso reverso (WANG, 2000).

3.5 Métodos eletroanalíticos para a determinação de Pb

Diversos trabalhos são reportados na literatura para a determinação de Pb em várias amostras, usando diferentes técnicas voltamétricas assim como diferentes eletrodos.

Locatelli e Torsi, 2003 fizeram a determinação de Pb(II) em amostras de alimentos através da Voltametria de Redissolução Anódica por Pulso Diferencial, utilizando um eletrodo de mercúrio. Os limites de detecção obtidos ficaram entre 0,096 $\mu\text{g g}^{-1}$ (LOCATELLI; TORSI, 2003). Entretanto, como essa técnica é de Redissolução, esses valores de limite podem ser ainda mais baixos quando tempos de deposição maiores forem utilizados (PACHECO et al., 2013).

Cao, Jia e Wang (2008) desenvolveram um eletrodo de pasta de carbono dopado com zeolita e modificado com bismuto “*in situ*” para a determinação de Cd^{2+} e Pb^{2+} em amostras de água natural. Para isto, utilizaram a Voltametria de Redissolução Anódica por Pulso Diferencial onde obteve-se limites de detecção de 9 e 21 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o Cd^{2+} e Pb^{2+} , respectivamente (CAO; JIA; WANG, 2008).

Já Zhou, Han e Liu (2016) utilizando eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de QTS- Fe_3O_4 obtiveram limite de detecção de 0,0422 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para a determinação de Pb^{2+} , Hg^{2+} , Cu^{2+} e Cd^{2+} por Voltametria de Redissolução Anódica por Onda Quadrada (ZHOU; HAN; LIU, 2016).

No trabalho de Vicentini et al., (2014) foi preparado um eletrodo de pasta de nanotubos de carbono modificado com QTS reticulada com GA e EPC para a determinação de Pb^{2+} em água natural utilizando a Voltametria de Redissolução Adsorbtiva por Onda Quadrada e limite de detecção de 0,057 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (VICENTINI et al., 2014).

Com eletrodo de diamante dopado com boro modificado com nanopartículas de bismuto, Toghilli et al., (2008) determinaram simultaneamente Cd^{2+} e Pb^{2+} em águas residuárias, utilizando a Voltametria de Redissolução Anódica por Onda Quadrada e o limite de detecção para Pb^{2+} foi de 0,043 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (TOGHILLI et al., 2008).

Com isso, pode-se observar que diferentes materiais podem ser utilizados, mas em comum sempre se deseja o desenvolvimento de um eletrodo de baixo custo (quando comparado aos eletrodos sólidos, por exemplo) e de simples fabricação, que

possa originar métodos sensíveis, de baixo custo, alta sensibilidade, boa reprodutibilidade e alta frequência analítica.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Instrumentação

Para a determinação de Pb foram utilizados os seguintes equipamentos:

- Balança Analítica de precisão, (Marte Científica, Brasil);
- Micropipetadores automáticos com volume variando entre 100-1000 μL (MDI, Brasil);
- Liofilizador (LIOTOP, L108, Brasil);
- pHmetro (Metrohm, Suíça) titrando 888 equipado com um eletrodo de vidro combinado com um eletrodo de referência de Ag/AgCl ($\text{KCl } 3 \text{ mol L}^{-1}$);
- Sistema de purificação de água Milli-Q (Millipore com resistividade de $18,2 \text{ M } \Omega \text{ cm}^{-1}$) (Direct-Q, EUA);
- Espectrômetro de Absorção Atômica de Alta Resolução com Fonte Contínua, modelo ContrAA 700 (Analytik Jena, Alemanha). O espectrômetro foi operado com tubos de grafite revestidos com grafite pirolítico, com sistema de plataforma integrada e como fonte de radiação, foi utilizada uma lâmpada de arco curto de xenônio (Analytik Jena, Alemanha).
- Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV), JEOL JSM 6610 LV (Japão), operando a 20 kV, acoplado a Espectroscópio de Energia Dispersiva (EDS).
- Espectroscópio de Infravermelho com Transformada de Fourier (Shimadzu, Japão), modelo IR PRESTIGE-21;

Para os ensaios voltamétricos foi utilizado um Potenciostato/Galvanostato Autolab PGSTAT 302N e Interface Autolab IME 663 e Va Stand 663 (Metrohm) (Suíça), controlado pelo Software Nova 2.0. Além disso, foi utilizada uma célula eletroquímica de três eletrodos: eletrodo de trabalho de pasta de grafite modificado com quitosona reticulada com TPP (QTS-TPP-EPG), referência de Ag/AgCl ($\text{KCl } 3 \text{ mol L}^{-1}$) e eletrodo indicador um fio de platina.

4.2 Reagentes, soluções e amostras

Todos os reagentes citados abaixo e utilizados nos experimentos foram de grau analito e as soluções preparadas com água ultrapura. A solução intermediária de Pb foi preparada a partir de uma solução padrão de 1000 mg L^{-1} e a solução padrão trabalho (3 mg L^{-1}) foi preparada diariamente em um balão volumétrico de 10 mL para as análises voltamétricas. Para as análises espectrométricas a solução intermediária de Pb foi preparada a partir de uma solução padrão de 1000 mg L^{-1} e as soluções padrão trabalho (10, 25, 50, 75 e $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) foram preparadas diariamente em balões volumétricos de 2 mL.

- Solução padrão de Chumbo – 1000 mg L^{-1} (SpecSol, Brasil);
- HNO_3 (Vetec, Brasil);
- Quitosana, 75% desacetilada, com peso molecular médio (Sigma-Aldrich, EUA);
- Grafite em pó (Sigma-Aldrich, EUA);
- Epicloridrina (EPC) (Sigma-Aldrich, EUA);
- Glutaraldeído (GA) – solução 50% (Sigma-Aldrich, EUA);
- Tripolifosfato de sódio (TPP) (Sigma-Aldrich, EUA);
- Óleo mineral, Nujol.
- NaOH (Dinâmica, Brasil);
- Ácido acético (Neon, Brasil);
- Soluções padrão de As, Ba, Be, Cd, Co, Cu, Cr, Fe, Hg, Ni, U, V e Zn – 1000 mg L^{-1} (SpecSol, Brasil);
- $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ – 1000 mg L^{-1} (SpecSol, Brasil).

As amostras analisadas neste trabalho assim como as utilizadas para a etapa da de validação dos métodos foram adquiridas no comércio local da cidade de Rio Grande, Rio Grande do Sul (total de 4 amostras de água mineral com gás e 4 sem gás de diferentes marcas)

4.3 Controle de contaminação

Todas as vidrarias utilizadas foram previamente descontaminadas por imersão em uma solução aquosa de HNO_3 10%, durante 24 horas. Antes da utilização, foram lavadas com água ultrapura com resistividade de $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$. Para as células voltamétricas, foi feita a imersão das mesmas em uma solução aquosa de HNO_3 20%.

4.4 Procedimentos de reticulação da quitosana

4.4.1 Reticulação com glutaraldeído (QTS-GA)

A reticulação com GA foi realizada de acordo com Vicentini et al., (2014). Primeiramente, a quitosana em pó foi pesada (2 g) e imersa em uma solução aquosa (50 mL) de glutaraldeído 2,5 % (v/v) em temperatura ambiente (25 °C) com agitação constante durante 12 h. Após esse período lavou-se a quitosana reticulada com água ultrapura para a remoção do excesso de agente reticulante. Por fim, colocou-se a quitosana reticulada em um dessecador para secagem (VICENTINI et al., 2014).

4.4.2 Reticulação com epícloridrina (QTS-EPC)

A reticulação com EPC foi realizada de acordo com Vicentini et al., (2014). A quitosana em pó previamente pesada (2 g) foi imersa em uma solução $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de EPC e $0,07 \text{ mol L}^{-1}$ de NaOH à 40 °C e mantida sob agitação magnética durante 2 h. Após, a mistura foi filtrada, lavada com água ultrapura até o pH do meio estar em torno de 6,5 a 7 e seca à temperatura ambiente em dessecador (VICENTINI et al., 2014).

4.4.3 Reticulação com tripolifosfato de sódio (QTS-TPP)

A reticulação com TPP foi realizada de acordo com Fernandes et al., (2008). Inicialmente, 1% (m/v) de quitosana foi dissolvida em uma solução aquosa de ácido

acético 1% (v/v) à temperatura ambiente e após 10 mL de uma solução 2% (m/v) de TPP foi adicionada e mantida sob agitação magnética (FERNANDES et al., 2008). Logo após, essa mistura foi centrifugada durante 30 min com rotação de 5000 rpm, retirado o sobrenadante e, por fim, liofilizada (ELADLANI et al., 2014).

4.5 Caracterização da QTS e quitosanas reticuladas

A quitosana e as quitosanas reticuladas foram caracterizadas por Espectroscopia na região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR, do inglês *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV, do inglês *Scanning Electron Microscopy*) Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (EDS, do inglês *Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy*) e Voltametria Cíclica (VC, do inglês *Cyclic Voltammetry*).

4.5.1 Espectroscopia na região do Infravermelho

As amostras foram maceradas e misturadas com brometo de potássio (KBr) e as análises foram realizadas na região de 4000 a 400 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} utilizando o método de refletância difusa. Este equipamento encontra-se na Escola de Química e Alimentos – EQA – FURG.

4.5.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS)

As amostras foram fixadas em um *stub* utilizando uma fita adesiva dupla face e em seguida essas foram recobertas com carbono. Para isto foi utilizado um equipamento da Dentun Vacuum, no qual as amostras ficaram expostas durante 120 s a uma corrente de 50 mA. Acoplado ao MEV foram realizadas as análises no EDS. Essas análises foram realizadas no Centro de Microscopia da Zona-Sul (CEME-Sul), da FURG.

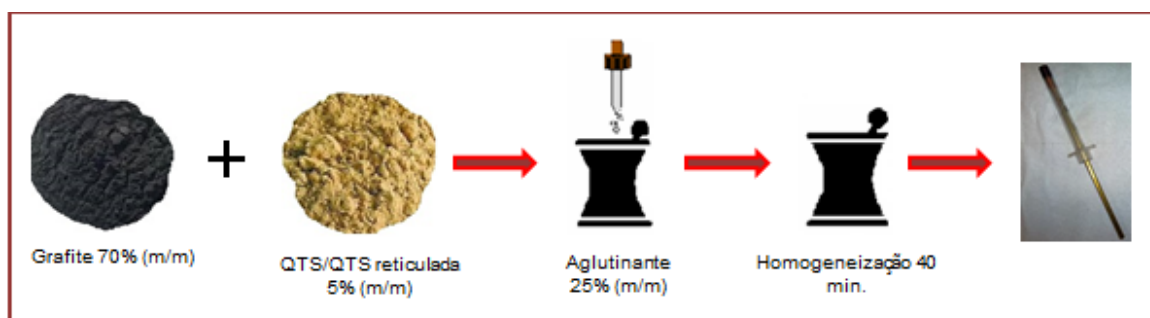
4.5.3 Voltametria Cíclica (VC)

Os experimentos realizados por VC foram realizados utilizando-se uma célula voltamétrica com 27 mL do eletrólito (HNO_3 0,15 mol L^{-1}) e 100 mg L^{-1} de Pb^{2+} . As análises foram feitas variando as velocidades de varredura de 10 a 100 mV s^{-1} , com E_{inicial} de -0,8 V, E_{retorno} de -0,2 V e E_{final} de -0,8 V.

4.6 Construção do eletrodo modificado com quitosana

Preliminarmente, uma massa de 0,210 g (70% m/m) de grafite foi homogeneizada por 40 minutos com uma massa de 0,015 g (5% m/m) de QTS ou QTS reticulada na presença de 0,075 g (25% m/m) de aglutinante (óleo mineral) em um gral com pistilo. A pasta obtida foi inserida em uma seringa (90 mm de altura e diâmetro interno da ponta de aproximadamente 2,6 mm), utilizando como contato elétrico um fio de cobre. Na Figura 5 é apresentado o esquema de preparação do eletrodo à base de grafite utilizado.

Figura 5 - Esquema de preparação dos eletrodos de pasta de grafite modificado.



Após a escolha do melhor modificador, foi feita a variação da proporção do mesmo com concentrações de 5, 10 e 15% (m/m) e óleo mineral de 15, 20 e 25% (m/m), mantendo a concentração de grafite de 70% (m/m). Por fim, utilizando o resultado da melhor proporção, foi feita a avaliação com os condutores negro de fumo e grafite.

4.7 Procedimentos analíticos

4.7.1 Parâmetros avaliados para a determinação voltamétrica

Foram avaliados parâmetros voltamétricos tais como, concentração do eletrólito (HNO_3 0,01; 0,05; 0,1; 0,15; 0,20 e 0,25 mol L^{-1}), potencial de deposição (de -0,60 a -1,3 V), frequência (de 10 a 90 Hz) e a amplitude (de 0,01 a 0,15 V) através da técnica de Voltametria de Redissolução Anódica por Onda Quadrada (SWASV, do inglês *Square Wave Anodic Stripping Voltammetry*).

4.7.2 Determinação de Pb em água mineral com QTS-TPP-EPG por SWASV

Para a determinação de Pb foi utilizada uma célula voltamétrica com 23 mL de amostra e 4 mL de HNO_3 1 mol L^{-1} . Para a etapa de deposição dos íons Pb, foi aplicado um potencial de deposição de -1,1 V, sob agitação, durante 1020 s e a varredura de potenciais utilizada foi de -0,9 (potencial inicial - E_{inicial}) a -0,1 V (potencial final - E_{final}). Foram utilizados valores de amplitude e frequência de 0,09 V e 80 Hz, respectivamente.

O método de calibração utilizado foi o de adição padrão, por meio de 8 adições sucessivas de 90 μL de uma solução de 3 mg L^{-1} de Pb na célula voltamétrica (cada adição corresponde a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$). Todos os ensaios descritos nesse item foram realizados em triplicata.

4.7.3 Avaliação dos parâmetros por HR-CS GF AAS

Como método comparativo foi utilizado a Espectrometria de Absorção Atômica de Alta Resolução com Fonte Contínua com forno de grafite (HR-CS GF AAS). Os parâmetros avaliados neste trabalho foram temperatura de pirólise (600 a 1500 $^{\circ}\text{C}$) e de atomização (1600 a 2400 $^{\circ}\text{C}$). Essas análises foram feitas em uma solução

padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$ com a adição de $5 \mu\text{L}$ de uma solução de 1000 mg L^{-1} do modificador químico $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$.

Para a determinação do Pb por HR-CS GF AAS foram utilizados tubos de grafite revestidos com grafite pirolítico, com sistema de plataforma integrada, utilizando argônio como gás de purga (White Martins, Brasil) com fluxo de $2,0 \text{ L min}^{-1}$ em um comprimento de onda de $283,30 \text{ nm}$.

Para a obtenção da curva de calibração, foram preparadas diariamente e analisadas as soluções padrão de Pb com gradiente de concentração por padronização externa (concentrações de 10 ; 25 ; 50 ; 75 e $100 \mu\text{g L}^{-1}$). Para as análises foram pipetados $20 \mu\text{L}$ de amostra e/ou padrão e $5 \mu\text{L}$ do modificador $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ (1000 mg L^{-1}). Os programas de temperatura utilizados para as análises são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Programa de temperatura utilizado para a determinação de Pb nas amostras por HR-CS GF AAS.

Etapa	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa ($^{\circ}\text{C s}^{-1}$)	Tempo (s)	Ar (L min^{-1})
Secagem 1	90	3	20	2,0
Secagem 2	110	5	20	2,0
Pirólise	1000	300	15	2,0
Auto-zero	800-1600	0	5	0
Atomização	2000	1500	4	0
Limpeza	2450	500	4	2,0

4.8 Validação dos métodos por SWASV e HR-CS GF AAS

Os parâmetros de mérito avaliados neste trabalho foram limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ) instrumentais e do método, exatidão, precisão e faixa linear.

Para os cálculos dos limites de detecção e quantificação instrumentais para a SWASV, analisou-se 10 vezes o eletrólito (HNO_3 $0,15 \text{ mol L}^{-1}$) e o valor de corrente obtido para o sinal do potencial de pico (E_p) do Pb ($-0,53 \text{ V}$) foi utilizado para os

cálculos. Para os cálculos do LD e LQ do HR-CS GF AAS analisou-se 10 vezes o branco (água ultrapura) e o desvio padrão das absorvâncias foi utilizado para os cálculos através das equações 1 e 2.

$$LD = 3,3 \times \frac{s}{S} \quad (\text{equação 3})$$

$$LQ = 10 \times \frac{s}{S} \quad (\text{equação 4})$$

Onde:

s = estimativa do desvio padrão referente a dez leituras do branco ou amostra ($n=10$);

S = coeficiente angular da curva analítica no branco ou amostra.

Os cálculos dos limites de detecção e quantificação do método foram feitos para ambas as técnicas, através da curva de calibração obtida a partir da análise das amostras, usando as equações 1 e 2.

Exatidão e precisão foram avaliadas através de testes de fortificação para ambos métodos e todos os ensaios descritos nesse item foram realizados em triplicata.

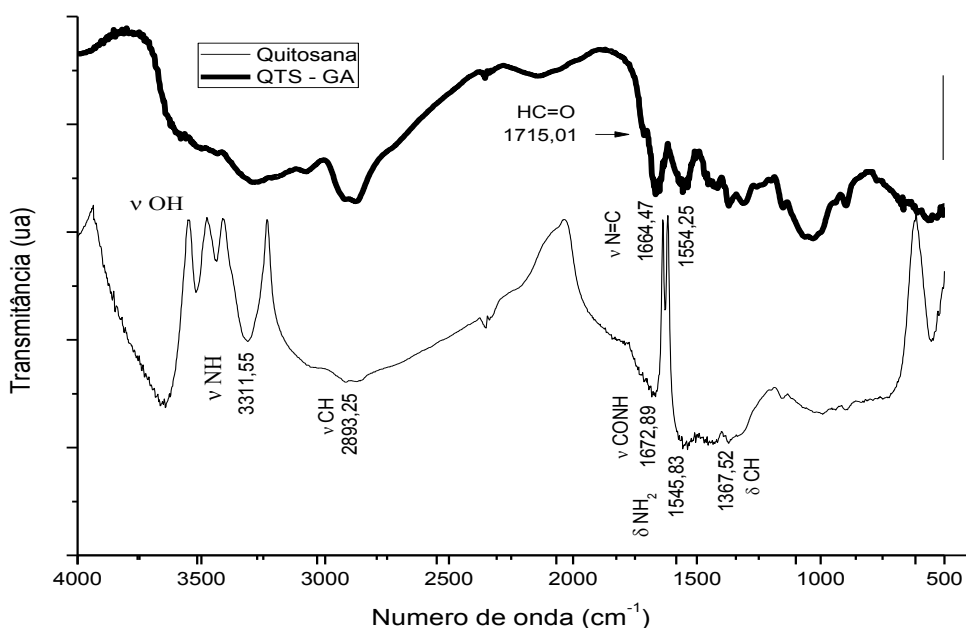
5 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

5.1 Caracterização Espectroscópica e Morfológica do biopolímero

5.1.1 Caracterização por Espectroscopia de Infravermelho

No espectro eletromagnético a região que corresponde ao infravermelho situa-se na faixa de número de onda de 14290 a 200 cm^{-1} , mas a região mais importante para a caracterização de compostos está situada no espectro na região de 4000 a 400 cm^{-1} (BARBOSA, 2013). Sendo assim, esta faixa de comprimento de onda foi utilizada para as caracterizações e o espectro de FTIR demonstrado na Figura 6 é referente à QTS e QTS-GA.

Figura 6 - Espectro de infravermelho da QTS e QTS-GA.



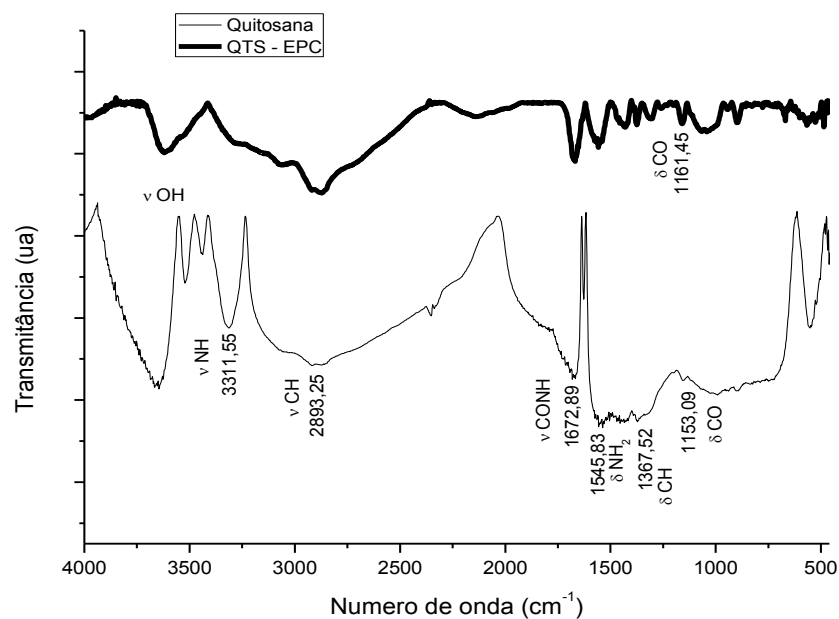
O espectro de FTIR obtido para a QTS (espectro com linha estreita – Figuras 6, 7 e 8), apresentou bandas em torno de 3500 cm^{-1} são referentes ao estiramento OH das hidroxilas (RAUT; KHAIRKAR, 2014). Em $3311,55\text{ cm}^{-1}$ as bandas são atribuídas ao estiramento N-H (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007), em $2893,25\text{ cm}^{-1}$ a

banda é atribuída ao estiramento simétrico C-H do grupo CH₃ e em 1367,52 cm⁻¹ a deformação do grupo CH₃ (RAUT; KHAIRKAR, 2014).

Já no espectro da QTS-GA (espectro com linha grossa – Figura 6), há o deslocamento das bandas nos comprimentos de onda em 1664,47 cm⁻¹ (atribuído à ligação imina C=N) (MONTEIRO JR; AIROLDI, 1999). De acordo com Monteiro JR; Airol di, 1999, a banda em 1554,25 cm⁻¹ refere-se à ligação etilênica (C=C) oriunda da reticulação (MONTEIRO JR; AIROLDI, 1999), mas apesar desta poder ser observada na Figura 6, não há ligação etilênica na estrutura, e como uma parte deste biopolímero pode não estar totalmente reticulado, acredita-se que a banda em 1554,25 cm⁻¹ (observada no espectro da Figura 6) seja decorrente da deformação N-H (HU et al., 2008). O deslocamento do número de onda dessas bandas quando comparadas aos da QTS, comprovam a reticulação. Pôde-se observar também, o aparecimento de uma banda característica em 1715,01 cm⁻¹ relacionada aos grupos aldeídicos livres, os quais não reagiram com a QTS (TORRES et al., 2005). As moléculas bifuncionais do GA não têm necessariamente ambos os grupos aldeídicos ligados à QTS e as funções aldeídicas podem estar disponíveis na matriz final reticulada (TORRES et al., 2005). Sendo assim, a estrutura molecular da mesma está representada na Figura 2 (item 3.2.1).

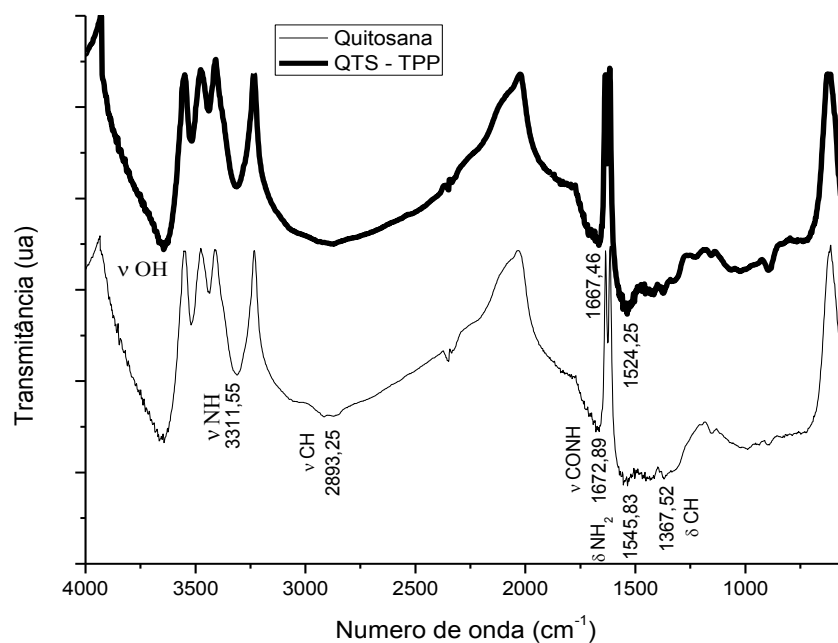
No caso da reticulação com a EPC (espectro com linha grossa – Figura 7), foi possível observar o deslocamento da banda em 1161,45 cm⁻¹ em relação à banda do espectro da QTS em 1153,09 cm⁻¹, indicando a formação da ligação C-O que é característica do processo de reticulação da QTS com a EPC (NGAH; ENDUD; MAYANAR, 2002). Sendo assim, pode-se inferir que neste caso o procedimento de reticulação da QTS com o EPC também ocorreu e a estrutura molecular da QTS reticulada com EPC está representada na Figura 3 (item 3.2.1).

Figura 7 - Espectro de infravermelho da QTS e QTS-EPC.



Por fim, na Figura 8 é apresentado o espectro da QTS-TPP.

Figura 8 - Espectro de infravermelho com a QTS e QTS-TPP.



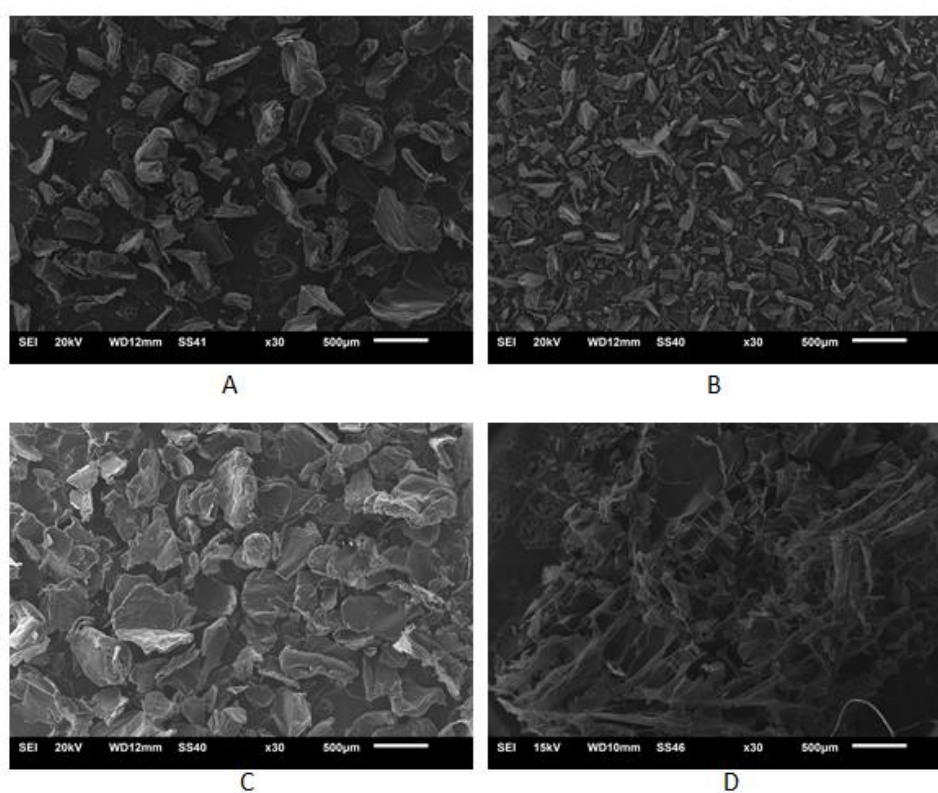
Através do espectro da Figura 8 é possível confirmar a reticulação da QTS pelo TPP pelo deslocamento das bandas de estiramento CONH em $1672,89 \text{ cm}^{-1}$ (QTS)

para $1667,46\text{ cm}^{-1}$ (QTS-TPP) e de deformação NH_2 de $1545,83\text{ cm}^{-1}$ (QTS) para $1524,25\text{ cm}^{-1}$ (QTS-TPP) (HU et al., 2008). Dessa forma, sugere-se que ocorreram interações entre estes grupos com o fosfato da molécula do TPP (XU; DU, 2003). A reticulação da QTS pelo TPP e a estrutura molecular da QTS-TPP está demonstrada na Figura 4 (item 3.2.1).

5.1.2 Caracterização por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva

A Microscopia Eletrônica de Varredura é uma técnica utilizada para avaliar a morfologia dos materiais fornecendo informações sobre as superfícies (MANNHEIMER, 2002). Devido a isso, os materiais QTS, QTS-GA, QTS-EPC e QTS-TPP foram analisados por MEV e as micrografias estão representadas na Figura 9.

Figura 9 - Micrografias da QTS (A), QTS-GA (B), QTS-EPC (C) e QTS-TPP (D).

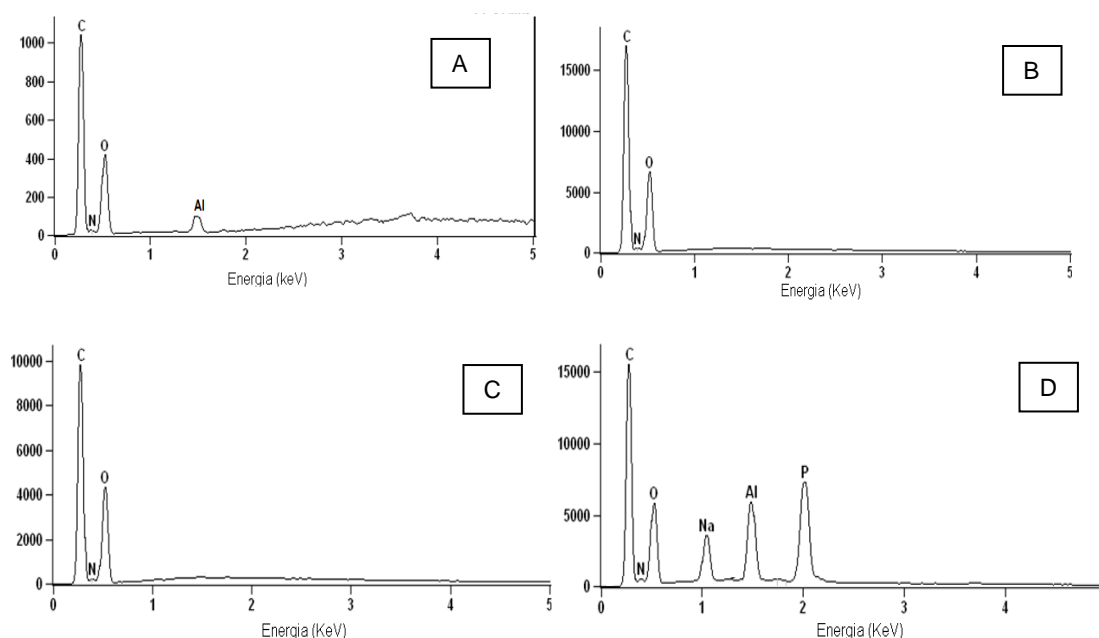


A imagem obtida por MEV para a QTS (A) apresenta uma superfície desorganizada (ELADLANI et al., 2014), assim como a QTS-GA (B) e QTS-EPC (C). A reticulação realizada neste trabalho seguiu o estabelecido por Janegitz (2009), tanto para a reticulação com GA quanto com EPC. Janegitz (2009) relata que quando reticulada, a QTS apresenta estrutura mais compacta. No caso das imagens apresentadas na Figura 9B e 9C, pode-se observar uma compactação, mas não muito acentuada quando comparada a Figura 9D. É conhecido que uma maior desacetilação indica maior presença de grupos amino, o que pode aumentar a possibilidade de interação da QTS (CRAVIERO, 1999). Sendo assim, acredita-se que a compactação das reticulações apresentadas nas Figuras 9B e 9C se deve ao menor grau de desacetilação (75%) da QTS utilizada neste trabalho quando comparada ao grau de desacetilação (82%) utilizada por Janegitz (2009).

Além disso, observa-se na Figura 9 que a QTS reticulada com TPP (D) apresenta uma estrutura com uma superfície mais uniforme e homogênea quando comparada a QTS (A) e as QTS reticuladas com GA (B) e EPC (C). Resultados comparáveis foram relatados para partículas a base de QTS preparadas utilizando um procedimento semelhante de reticulação com TPP, no qual se concluiu que a superfície de contato da QTS-TPP é maior que da QTS (ELADLANI et al., 2014). Essa maior superfície pode ser interessante do ponto de vista eletroquímico e voltamétrico uma vez que pode aumentar a sensibilidade do eletrodo frente ao processo redox e isso foi observado neste trabalho, quando foram realizadas as análises voltamétricas com QTS-TPP, as quais apresentaram intensidades de correntes maiores quando comparadas a QTS e a QTS-GA e QTS-EPC.

Também foram feitas análises utilizando a Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (EDS) que está acoplado ao MEV. Os espectros de dispersão de energia obtidos podem ser utilizados para análise qualitativa dos materiais, uma vez que identifica os elementos presentes na amostra, fazendo o mapeamento químico das superfícies (MANNHEIMER, 2002). Através dos espectros do EDS da QTS (Figura 10A), da QTS-GA (Figura 10B) e QTS-EPC (Figura 10C) foi possível confirmar a presença dos elementos químicos C, O e N que estão presentes nestas estruturas.

Figura 10 - Espectro de dispersão de energia de Raios-X (EDS) da (A) QTS, (B) QTS-GA, (C) QTS-EPC e (D) QTS-TPP.



No espectro da QTS-TPP (Figura 10D) foi possível observar, além de C, O e N que compõem a QTS, o elemento P característico do TPP.

No espectro da QTS-EPC (Figura 10C) não foi observado o pico referente ao cloro presente na estrutura da EPC, pois na reação de reticulação o EPC se liga através dos átomos de carbono, resultando na ruptura do anel epóxido e na remoção de um átomo de cloro (SHWETA; SONIA, 2013).

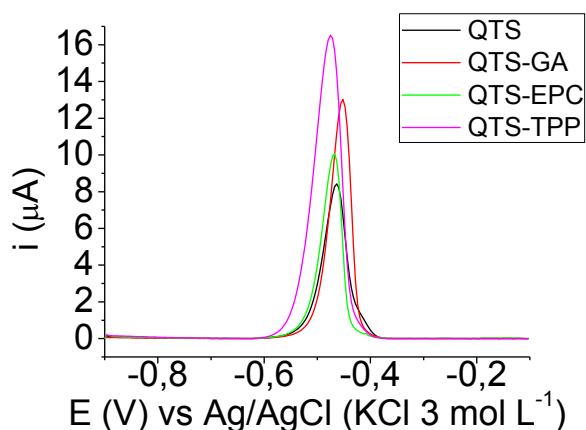
Nos espectros da QTS (Figura 10A) e QTS-TPP (Figura 10D) há a presença de Al que é proveniente do *stub* do equipamento (acessório no qual a amostra é adicionada) e no espectro da QTS-TPP (Figura 10D) observa-se o aparecimento do elemento químico Na, que pode ser proveniente do sódio do TPP.

5.2 Caracterização e avaliação eletroanalítica do biopolímero

5.2.1 Estudo voltamétrico comparativo dos eletrodos à base de grafite para a determinação de Pb

Primeiramente foi avaliado se a reticulação da QTS com GA, EPC e TPP melhora a resposta voltamétrica do Pb, pois esse procedimento é conhecido por aumentar o número de grupos amino ou hidroxila livres na QTS e assim, aumentar a adsorção de cátions metálicos na superfície do eletrodo (VICENTINI et al., 2014). Na Figura 11 estão demonstrados os voltamogramas de Pb obtidos com cada eletrodo avaliado.

Figura 11 - Voltamogramas obtidos por SWASV para EPG-QTS, EPG-QTS-EPC, EPG-QTS-GA, e EPG-QTS-TPP. Condições experimentais: $250 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb, eletrólito suporte HNO_3 $0,15 \text{ mol L}^{-1}$, $\nu = 270 \text{ mV s}^{-1}$, $E_{\text{dep}} = -1,1 \text{ V}$, $t_{\text{dep}} = 30 \text{ s}$, $E_{\text{inicial}} = -0,9 \text{ V}$, e $E_{\text{final}} = -0,1 \text{ V}$, frequência = 60 Hz e amplitude = $0,06 \text{ V}$.



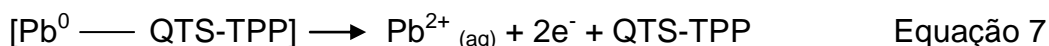
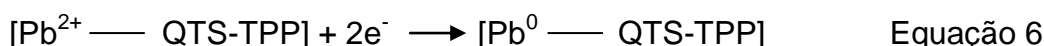
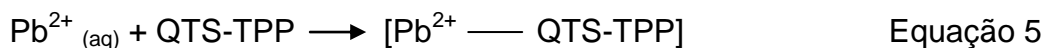
Analisando-se os resultados da Figura 11, pode-se inferir que a afinidade do Pb pela QTS-TPP é maior quando comparada a QTS-GA, QTS-EPC e QTS, respectivamente. Quando é utilizado como agente reticulante o TPP ou GA, a reticulação ocorre nos grupos amino disponíveis na QTS, deixando as hidroxilas livres para a adsorção dos metais (JANEGITZ et al., 2011; ELADLANI et al., 2014). Sendo assim, acredita-se que as maiores intensidades de corrente obtidas a partir das reticulações com TPP e GA estão relacionadas com a maior adsorção de Pb pelas

hidroxilas livres, gerando assim maior sinal analítico (VICENTINI et al., 2014). Sabendo-se que o Pb interage em ambos os casos com os grupamentos OH, sugere-se que os valores de corrente de pico de oxidação obtidos para o composto em QTS-TPP sejam maiores devido a maior quantidade de grupos hidroxila disponíveis em comparação a QTS-GA, uma vez que o TPP é capaz de reticular uma quantidade maior de QTS quando comparado ao GA e conseqüentemente interagir melhor com o Pb. Isso pode ser visualizado através da Figura 4, a qual apresenta a reação de reticulação entre a QTS e o TPP, mostrando uma quantidade maior de QTS ligada ao TPP o que corrobora com o resultado obtido através da imagem de MEV (Figura 9) que mostra uma superfície mais uniforme e compacta para a QTS-TPP frente às demais reticulações, o que pode fazer com que a adsorção do Pb seja mais eficiente nessa superfície.

Na reticulação com EPC, observa-se que o sinal de corrente foi menos intenso quando comparado às outras reticulações e isso pode ser devido ao fato de que esta reticulação ocorre nos grupos hidroxilas, deixando os grupos amino livres para a adsorção de cátions metálicos (JANEGITZ, 2009) como o Pb. O Pb é considerado um ácido de dureza intermediária, podendo se coordenar em bases duras que são espécies que doam elétrons, possuem alta eletronegatividade e baixa polarizabilidade (SHRIVER; ATKINS, 2008; LEE, 1999) tais como NH_2 (reticulação com EPC) e OH (reticulação com GA e com TPP). Devido a esta dureza intermediária do metal em questão e de acordo com os resultados demonstrados na Figura 11, acredita-se que ele tenha maior afinidade com grupamentos OH do que com NH_2 .

Sendo assim, por mais que o Pb interaja com todos os biopolímeros reticulados, o TPP foi escolhido como agente reticulante e utilizado no preparo do eletrodo de pasta de grafite (EPG) para os estudos posteriores por apresentar maiores respostas de corrente de oxidação do metal em questão.

São apresentados na literatura alguns trabalhos que propõem o mecanismo de interação da QTS ou QTS reticulada com cátions metálicos (JANEGITZ; MARCOLINO JUNIOR; FATIBELLO-FILHO, 2007; OLIVEIRA; VIEIRA, 2006; BEM-SHALOM; KUDABAEVA; BORISOVER, 2005; JANEGITZ et al., 2011; ELADLANI et al., 2014) de mesma valência que o Pb. Sendo assim, sugere-se que o mecanismo da interação da QTS-TPP com Pb é o descrito nas equações 3, 4 e 5.

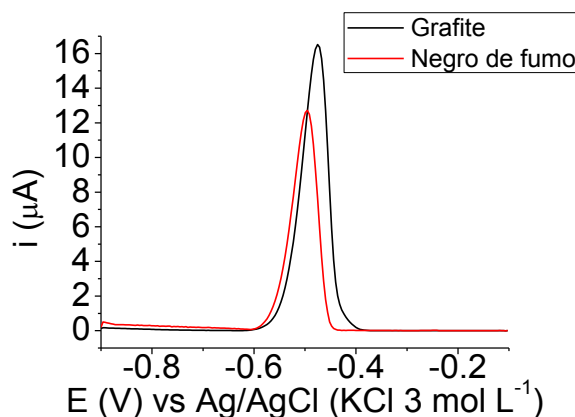


O mecanismo proposto baseia-se na complexação dos íons Pb^{2+} com a QTS-TPP imobilizadas na superfície do eletrodo (1). Na reação 2, os íons Pb^{2+} que estão complexados na superfície do eletrodo são reduzidos a Pb^0 e após, na etapa de redissolução anódica (reação 3), ocorre então a oxidação do Pb^0 que está adsorvido na superfície do eletrodo a Pb^{2+} . Isso resulta em um sinal analítico que é proporcional à concentração de Pb^0 oxidado a Pb^{2+} ou então, proporcional à concentração de Pb^{2+} que está presente na solução. Sendo assim, o pico anódico obtido no potencial de -0,53 V (Figura 11) representa o processo de oxidação oriundos da redissolução do analito na superfície do eletrodo.

5.2.2 Avaliação do efeito do condutor com QTS-TPP para a determinação de Pb

Após a avaliação do melhor agente reticulante (TPP), foram avaliados como condutores o grafite e o negro de fumo. Os resultados são apresentados na Figura 12.

Figura 12 - Voltamogramas de Pb com eletrodos de grafite e negro de fumo (70% m/m) com QT-TPP (5% m/m) por SWASV. Condições experimentais: $250 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb, eletrólito suporte = HNO_3 $0,15 \text{ mol L}^{-1}$, $\nu = 270 \text{ mV s}^{-1}$, $E_{\text{dep}} = -1,1 \text{ V}$, $t_{\text{dep}} = 30 \text{ s}$, $E_{\text{inicial}} = -0,9 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -0,1$, frequência = 60 Hz e amplitude = 0,06 V.



Como pode ser observado na Figura 12, a maior intensidade de corrente para Pb foi obtida quando o eletrodo foi fabricado com grafite ($12 \mu\text{A} \pm 1,76$) quando comparado com o negro de fumo ($8,85 \mu\text{A} \pm 0,82$). Apesar de ser conhecido que o negro de fumo tem sido utilizado como condutor (TALARICO et al., 2016; KAROUSOS et al., 2017; XU et al., 2016) e apresentar propriedades desejáveis para tal, como ser um bom condutor, quimicamente inerte em soluções eletrolíticas e possuir uma janela de potencial operacional alta (WILDGOOSE et al., 2005; WILDGOOSE; BANKS; COMPTON, 2006), o grafite se destaca por ser um condutor de eletricidade ainda melhor (ROLIM, 2002), menos sensível a agentes químicos (SVANCARA et al., 2012) e apresentar maior pureza quando comparado ao negro de fumo (ROLIM, 2002). Dessa forma, para os estudos posteriores, foi utilizado o grafite como condutor.

5.2.3 Otimização do método voltamétrico com EPG-QTS-TPP para a determinação de Pb

Após a definição do melhor eletrodo para a determinação voltamétrica de Pb (eletrodo de grafite modificado com quitosana reticulada com tripolifosfato de sódio - EPG-QTS-TPP), realizou-se a otimização do método voltamétrico através de experimentos variando-se a concentração do eletrólito suporte, tempo de deposição, potencial de deposição, frequência e amplitude.

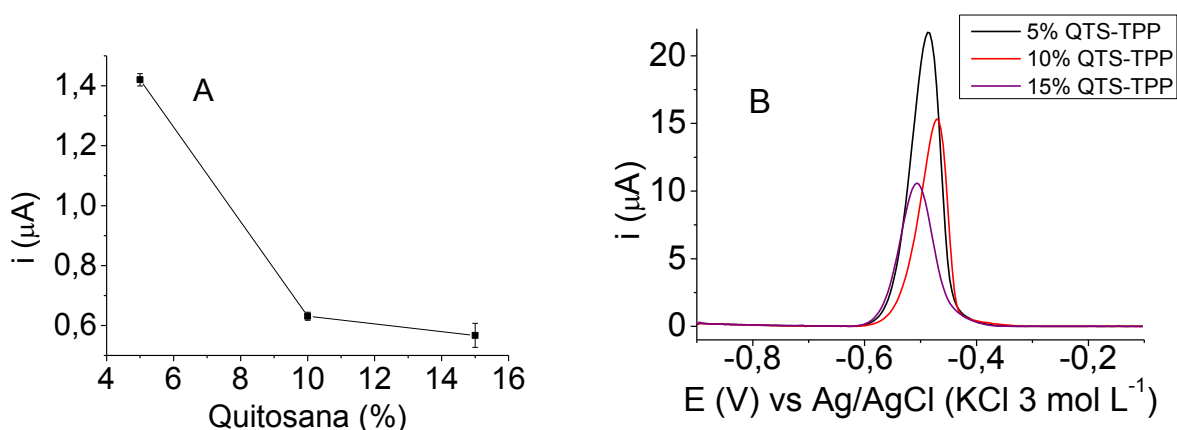
Para a obtenção dessas informações, foi usada a SWASV e a avaliação dos resultados foi realizada com base na análise dos perfis dos voltamogramas e dos valores de correntes de pico obtidas ($n=3$).

5.2.3.1 Avaliação da influência da composição da pasta de grafite

Nesta etapa, avaliou-se a composição da pasta de grafite, na qual a porcentagem de grafite foi mantida em 70% m/m durante todo o experimento, uma vez que a diminuição da porcentagem do condutor compromete a transferência eletrônica devido à baixa concentração do material condutor na pasta, diminuindo assim a magnitude de corrente do analito de interesse (JANEGITZ; MARCOLINO JUNIOR; FATIBELLO-FILHO, 2007). Sendo assim, variou-se a concentração da quitosana (5, 10 e 15% m/m) e do aglutinante (25, 20 e 15% m/m) na pasta. Na Figura 13A estão

apresentados os valores de corrente obtidos para cada proporção e na Figura 13B os voltamogramas de Pb obtidos utilizando-se 70% m/m de grafite e as proporções QTS-TPP:aglutinante descritos anteriormente.

Figura 13 - Estudo da influência da composição da pasta de grafite com 5, 10 e 15% m/m de QTS-TPP (A) e voltamogramas (B). Condições experimentais: $250 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb, eletrólito suporte = HNO_3 $0,15 \text{ mol L}^{-1}$, $u = 270 \text{ mV s}^{-1}$, $E_{\text{deposição}} = -1,1 \text{ V}$, $t_{\text{deposição}} = 30 \text{ s}$, $E_{\text{inicial}} = -0,9 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -0,1 \text{ V}$, frequência = 60 Hz e amplitude = $0,06 \text{ V}$.



Como pode ser observado, o maior sinal analítico (maior magnitude de corrente) foi obtido com uma concentração de 5% m/m de QTS-TPP e 25% m/m de óleo mineral. Para uma concentração de QTS-TPP maior que 5% m/m, acredita-se que o sinal analítico tenha diminuído devido à menor quantidade de óleo mineral presente, uma vez que isso prejudicou a compactação da pasta e fez com que durante as análises o eletrodo esfarelasse. Sendo assim, foi escolhida a composição da pasta com 70% m/m de grafite, 5% m/m de QTS-TPP e 25% m/m de aglutinante (óleo mineral). Cabe salientar que a resolução de pico não foi alterada (Figura 13B) com a variação da concentração da pasta.

Para o trabalho realizado por Janegitz, Marcolino Junior e Fatibello-Filho (2007), a melhor resposta voltamétrica foi obtida quando utilizaram uma proporção de pasta de 60% m/m de pó de grafite, 25% m/m de quitosana e 15% m/m de óleo mineral. Para uma concentração de QTS menor que 25% m/m o sinal analítico diminuiu devido a menor quantidade de QTS e para uma concentração maior (30% m/m) a quantidade de

grafite (50% m/m) não era suficiente para uma boa transferência eletrônica (JANEGITZ; MARCOLINO JUNIOR; FATIBELLO-JUNIOR, 2007).

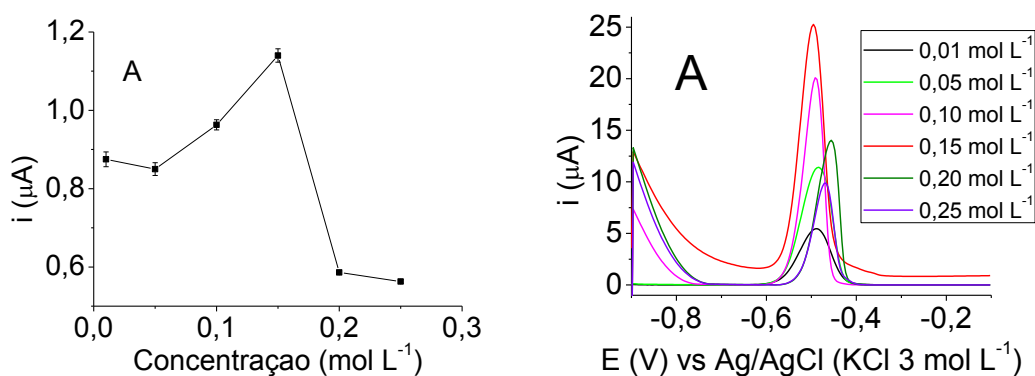
Para Lu et al. (2001) o melhor resultado obtido foi com uma concentração de 0,5 % de QTS. Para uma concentração de 0,1% não foi possível observar a formação de pico de ferro total devido à baixa concentração da QTS (sem reticulação) e quando foi utilizado uma concentração de 1%, esta afetou a forma do pico (LU et al., 2001).

No trabalho de Oliveira e Vieira (2006) a melhor condição determinada para análise de hidroquinona foi utilizando uma concentração de 75% m/m de grafite, 10% m/m de QTS reticulada com EPC/GA (OLIVEIRA; VIEIRA, 2006) Já para as avaliações de Vitali, Vieira e Spinelli (2011) os melhores resultados foram obtidos utilizando-se 65% m/m de pó de grafite, 15% m/m de microesferas de QTS e 20% m/m de nujol (VITALI; VIEIRA; SPINELLI, 2011)

5.2.3.2 Avaliação do efeito da concentração do eletrólito suporte

O eletrólito avaliado na determinação de Pb foi o HNO_3 devido ao fato de que quando é utilizado na literatura para a determinação de Pb apresenta ótima resposta voltamétrica (VICENTINI et al., 2014). A avaliação do efeito da concentração da solução de HNO_3 foi realizada em concentrações variando de 0,01 a 0,25 mol L^{-1} . Os voltamogramas obtidos estão demonstrados na Figura 14A assim como os valores de correntes na Figura 14B.

Figura 14 - Avaliação do efeito da concentração do eletrólito suporte para a redissolução do Pb (A) e voltamogramas obtidos (B). Condições experimentais: $250 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb, $u = 270 \text{ mV s}^{-1}$, $E_{\text{deposição}} = -1,1 \text{ V}$, $t_{\text{deposição}} = 30 \text{ s}$, $E_{\text{inicial}} = -0,9 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -0,1 \text{ V}$, frequência = 60 Hz e amplitude = 0,06 V.

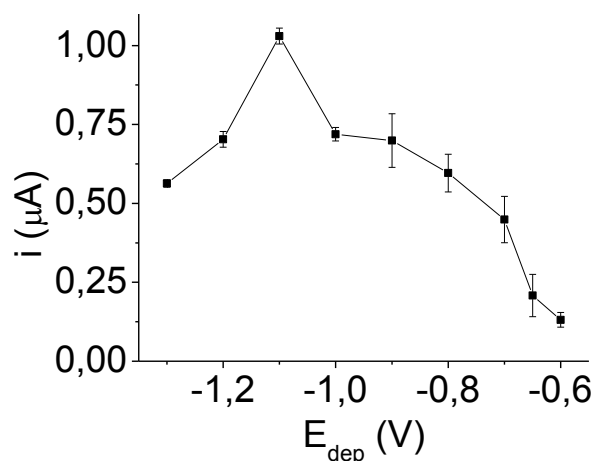


Como pode ser observado, dentre as concentrações do eletrólito avaliadas, a concentração de $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ foi selecionada e utilizada para estudos posteriores, uma vez que se obteve a maior corrente que foi de $10,8 \mu\text{A}$ (Figura 14B). Além disso, a resolução de pico não foi alterada (Figura 14A) com a variação da concentração do eletrólito. Cabe salientar, que com concentrações acima de $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ de HNO_3 , as intensidades de correntes diminuíram devido a maior protonação dos grupos amina da quitosana, provocando uma repulsão entre o Pb^{2+} e o NH_3^+ .

5.2.3.3 Avaliação do efeito do potencial de deposição, amplitude e frequência

Avaliou-se também a influência do potencial na deposição de Pb no EPG-QTS-TPP em um intervalo de -1,3 a -0,60 V. Na Figura 15 são apresentados os valores das correntes de pico obtidas.

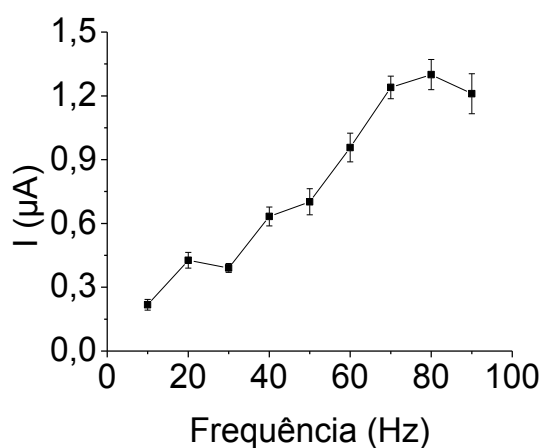
Figura 15 - Avaliação do efeito do potencial de deposição (-1,3 a -0,6 V) para a redissolução anódica do Pb. Condições experimentais: 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb, eletrólito suporte = HNO_3 0,15 mol L^{-1} , $u = 270 \text{ mV s}^{-1}$, $t_{\text{deposição}} = 30 \text{ s}$, $E_{\text{inicial}} = -0,9 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -0,1 \text{ V}$, frequência = 60 Hz e amplitude = 0,06 V.



Como pode ser visto, a maior resposta analítica (corrente) foi obtida quando utilizou-se -1,1 V ($14,1 \mu\text{A} \pm 0,85$). Sendo assim, foi escolhido -1,1 V como o potencial de deposição para os estudos seguintes.

Para a avaliação da influência da frequência valores entre 10 e 90 Hz foram utilizados e os resultados estão mostrados na Figura 16.

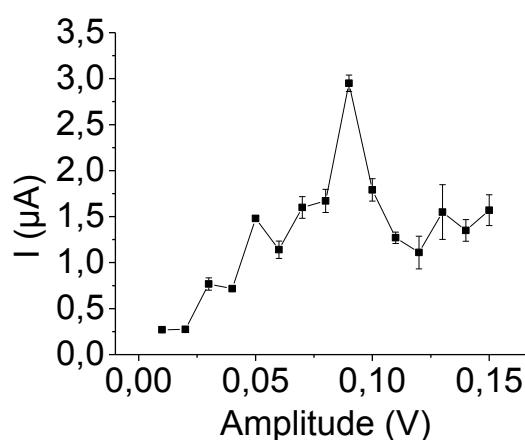
Figura 16 - Avaliação do efeito da frequência (10 a 90 Hz) para a redissolução anódica do Pb. Condições experimentais: 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb, eletrólito suporte = HNO_3 0,15 mol L^{-1} , $u = 270 \text{ mV s}^{-1}$, $E_{\text{deposição}} = -1,1 \text{ V}$, $t_{\text{deposição}} = 30 \text{ s}$, $E_{\text{inicial}} = -0,9 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -0,1 \text{ V}$ e amplitude = 0,06 V.



O sinal analítico mais intenso (maior magnitude de corrente) foi obtido com uma frequência de 80 Hz ($1,30 \mu\text{A} \pm 0,071$), sendo esta escolhida para os próximos estudos.

A avaliação da influência da amplitude foi realizada em um intervalo de 0,01 a 0,15 V e na Figura 17 são apresentados os valores das correntes de pico obtidas.

Figura 17 - Avaliação do efeito da amplitude (0,01 a 0,15 V) para a redissolução anódica do Pb. Condições experimentais: $250 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb, eletrólito suporte = HNO_3 $0,15 \text{ mol L}^{-1}$, $\nu = 320 \text{ mV s}^{-1}$, $E_{\text{deposição}} = -1,1 \text{ V}$, $t_{\text{deposição}} = 30 \text{ s}$, $E_{\text{inicial}} = -0,9 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -0,1 \text{ V}$ e frequência = 80 Hz.

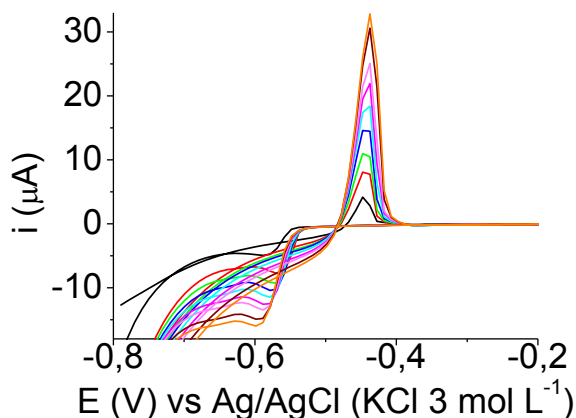


Como pode ser observado, a intensidade da corrente aumenta com o aumento da amplitude até 0,08 V e atinge um máximo em 0,09 V ($2,55 \mu\text{A} \pm 0,58$). Sendo assim, foi escolhida uma amplitude de 0,09 V por apresentar a melhor resposta analítica com a maior intensidade de corrente quando comparada as demais amplitudes.

5.2.4 Avaliação cinética do comportamento de Pb em EPG-QTS-TPP

Para o estudo do comportamento do sistema redox, foram realizadas análises através da CV em velocidades de varredura de 10 a 100 mV s^{-1} e os voltamogramas cíclicos estão demonstrados na Figura 18.

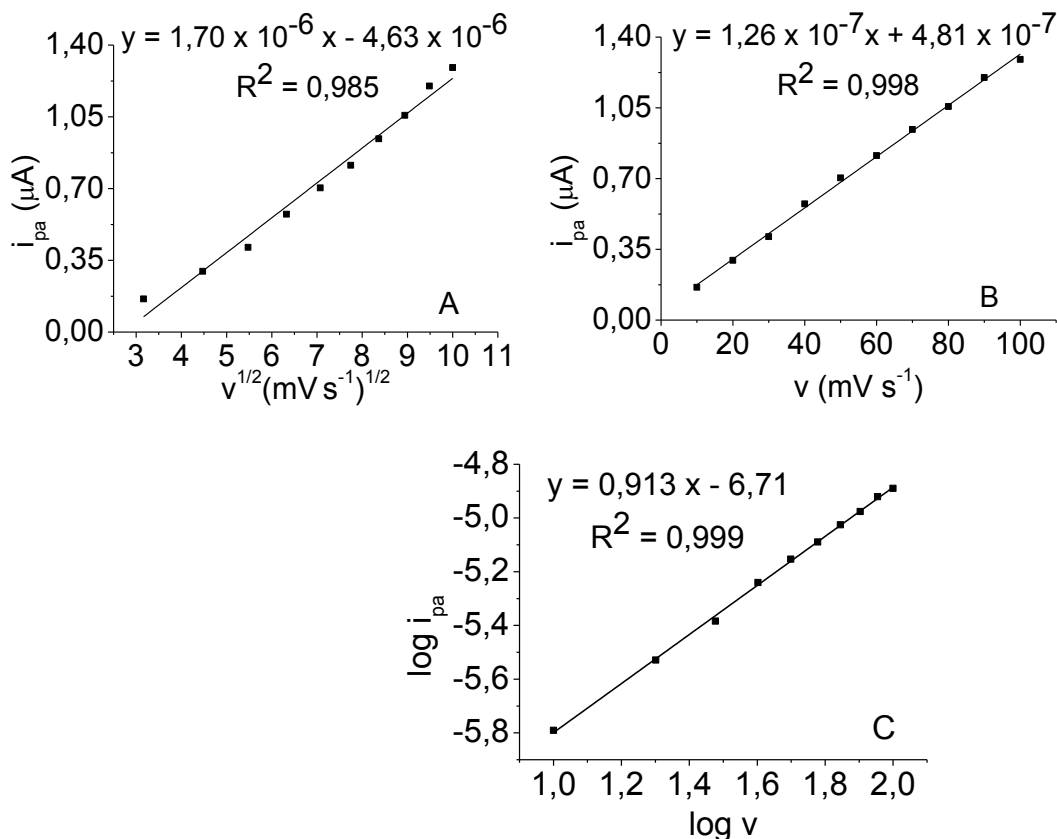
Figura 18 - Voltamogramas cíclicos para a redissolução anódica do Pb em velocidades de varredura de 10 a 100 mV s^{-1} . Condições experimentais: 100 mg L^{-1} de Pb, $E_{\text{inicial}} = -0,8 \text{ V}$, $E_{\text{retorno}} = -0,2 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -0,8 \text{ V}$ e eletrólito suporte = HNO_3 0,15 mol L^{-1} .



Através da Figura 18 é possível observar que no intervalo de velocidade estudado, o Pb se reduz quase-reversivelmente na superfície do EPG-QTS-TPP. Isso é indicado pela presença de sinal voltamétrico em ambos os sentidos (anódico e catódico) nos potenciais de -0,45 V e -0,58 V, respectivamente, resultando em um ΔE de 130 mV. Levando-se em consideração as reações 2 e 3 onde está demonstrado que há a transferência de dois elétrons na redissolução do Pb, pode-se inferir que o valor de ΔE é de 65 mV, confirmando que o sistema é quase-reversível (SCHOLZ, 2010). Além disso, é possível verificar que com o aumento da velocidade de varredura há uma variação do potencial de pico catódico do Pb para valores mais negativos e que os valores de corrente de pico anódico (i_{pa}) e catódico (i_{pc}) são diferentes de 1, informações estas características de processos quase-reversíveis (BARD; FAULKNER, 2001). Sendo assim, é possível concluir que os processos associados à reação que ocorre no eletrodo são quase-reversíveis, ou seja, a corrente é controlada pela etapa de transferência de massa e também pela etapa de transferência de carga (CARVALHO, 2009).

Outra avaliação importante é se essa transferência é controlada por difusão e/ou adsorção. Para esse estudo analisou-se as curvas entre (Figura 19A) i_{pa} e $u^{1/2}$ (raiz quadrada da velocidade de varredura), entre (Figura 19B) i_{pa} e u (velocidade de varredura) e entre (Figura 19C) $\log i_{pa}$ vs $\log u$.

Figura 19 - Gráficos obtidos através da relação entre (A) i_{pa} vs $u^{1/2}$ (B) i_{pa} vs u e (C) $\log i_{pa}$ vs $\log u$ com velocidades de varredura de 10 a 100 mV s^{-1} .



Com base na literatura é possível afirmar que se a i_{pa} for linear a $u^{1/2}$ e se o coeficiente angular entre o $\log i_{pa}$ vs $\log u$ for 0,5, então o processo é controlado por difusão e se a i_{pa} for linear a u e o coeficiente angular da relação $\log i_p$ vs $\log u$ for 1, então o processo é controlado por adsorção (LIN et al., 2005). Através da Figura 19 (A e B) é possível observar que para o intervalo de velocidade de varredura utilizado, a i_{pa} aumenta linearmente tanto com a $u^{1/2}$ quanto com a u indicando que o processo pode ser controlado tanto por difusão como por adsorção uma vez que os valores de R^2 obtidos foram de 0,985 e 0,999, respectivamente. No entanto, com os resultados da Figura 19 (C), observa-se que o coeficiente angular obtido através da equação da reta foi 0,913, ou seja, próximo a 1 indicando que o processo é controlado preferencialmente por adsorção (BRETT; BRETT, 1997).

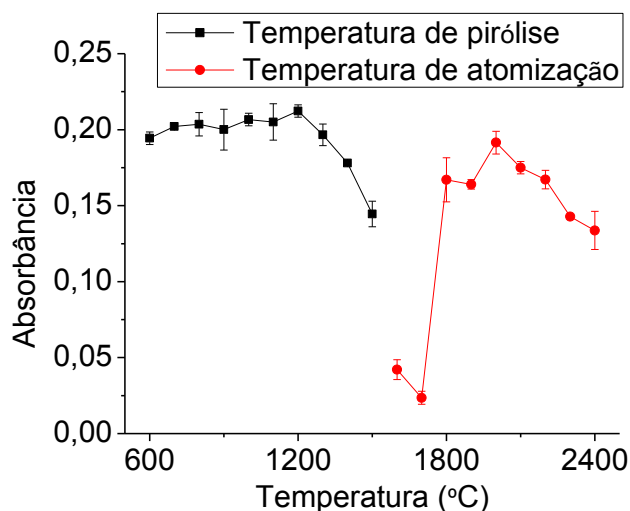
5.2.5 Estudo da influência dos interferentes na resposta do EPG-QTS-TPP

Os metais utilizados para a realização deste estudo foram escolhidos de acordo com os apresentados na legislação do CONAMA (2005) para água doce classes 1 e 3. Os metais avaliados foram, Arsênio (As), Bário (Ba), Berílio (Be), Cádmiio (Cd), cobalto (Co), cobre (Cu), Cromo (Cr), Ferro (Fe), Mercúrio (Hg), Níquel (Ni), Urânio (U), vanádio (V) e zinco (Zn). Neste estudo foram realizadas análises voltamétricas nas condições do método proposto, adicionando-se $50 \mu\text{g L}^{-1}$ do Pb e dos outros metais na célula e analisando-os separadamente e após com adição de Pb na célula. De todos os metais avaliados nenhum apresentou resposta voltamétrica na faixa de trabalho utilizada. Somente quando foi adicionado Hg na célula com Pb o sinal voltamétrico do Pb foi reduzido, no entanto quando aplicado o teste das médias com um nível de significância de 95% ($p = 0,05$) a redução não foi significativa. Sendo assim, levando-se em consideração a concentração avaliada, os metais estudados não apresentaram interferência na análise voltamétrica.

5.3 Otimização do HR-CS GF AAS

A otimização realizada no HR-CS GF AAS é importante porque avalia o comportamento térmico do analito, tanto nas amostras como nas soluções de referência, a fim de se obter uma condição onde se tenha maior intensidade de sinal e menor RSD (desvio padrão relativo) (RIBEIRO; ARRUDA; CADORE, 2002). Além disso, a utilização do modificador químico é importante porque ele volatiliza o interferente ou torna o analito menos volátil, possibilitando uma separação térmica mais eficiente dos concomitantes da matriz da amostra, antes da atomização (TSALEV et al., 2000). O estudo das temperaturas foi feito fixando-se a temperatura de atomização em $1500 \text{ }^{\circ}\text{C}$ para o estudo da temperatura de pirólise, enquanto que para o estudo da temperatura de atomização foi fixada a temperatura de pirólise que se obteve maior sinal de absorvância. Após a análise das temperaturas de pirólise e atomização em uma solução de Pb foi possível traçar um gráfico absorvância x temperatura para a escolha das melhores temperaturas, como é mostrado na Figura 20.

Figura 20 - Gráfico das curvas de temperaturas de pirólise e atomização em solução de Pb. Condições experimentais: $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb com a adição de $5 \mu\text{L}$ de uma solução de $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ do modificador químico $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, temperatura de pirólise de $1000 \text{ }^\circ\text{C}$ e temperatura de atomização de $1500 \text{ }^\circ\text{C}$.



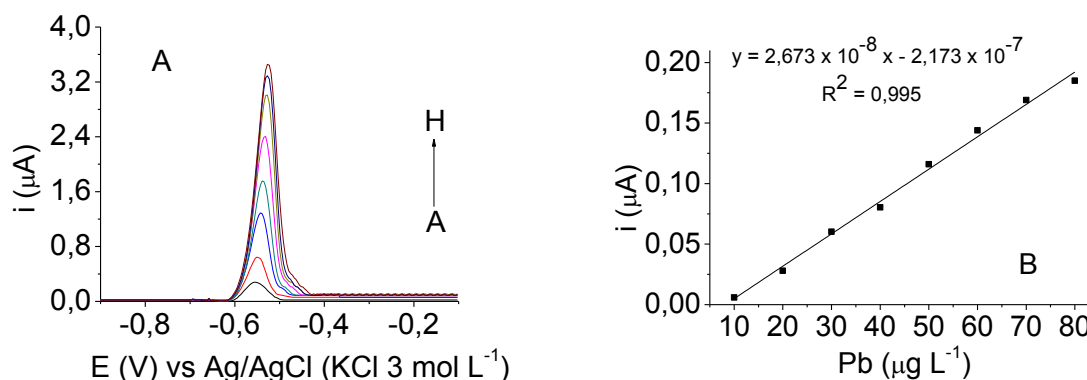
Como pode ser observado no gráfico da Figura 20, a partir das curvas de pirólise, foi possível observar que a intensidade de sinal em absorbância se mantém constante até $1200 \text{ }^\circ\text{C}$ e após isso começa a diminuir. Dessa forma, foi escolhida a temperatura de pirólise de $1000 \text{ }^\circ\text{C}$ porque apresentou a máxima intensidade de sinal de absorbância sem perda significativa de analito, além do menor desvio padrão relativo ($\text{RSD} = 1,97\%$) em relação às demais temperaturas. Para a atomização foi escolhida a temperatura de $2000 \text{ }^\circ\text{C}$ por apresentar a maior intensidade de sinal de absorbância em comparação com as outras temperaturas.

5.4 Validação dos métodos

Após a etapa de otimização para a determinação de Pb por SWASV e HR-CS GF AAS, foram feitas as avaliações dos parâmetros de mérito para ambos métodos.

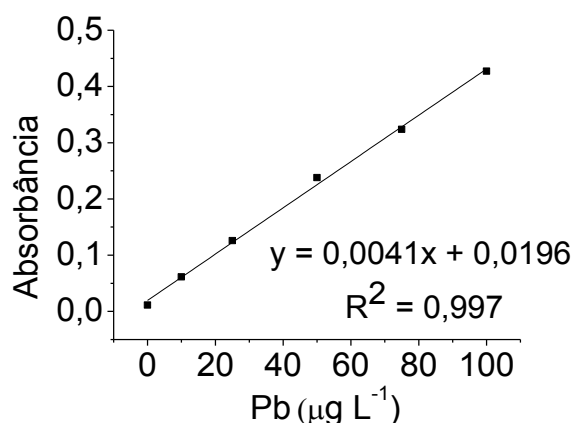
Para o método voltamétrico, a faixa de concentração avaliada de 10 a $80 \mu\text{g L}^{-1}$ foi linear apresentando coeficiente de correlação de $0,995$. A Figura 21A mostra os voltamogramas obtidos para a referida curva analítica e na Figura 21B a respectiva curva analítica.

Figura 21 - Voltamogramas obtidos para a curva analítica de Pb (A) e a respectiva curva analítica (B). Condições experimentais: eletrólito suporte = HNO_3 $0,15 \text{ mol L}^{-1}$, $u = 320 \text{ mV s}^{-1}$, $E_{\text{deposição}} = -1,1 \text{ V}$, $t_{\text{deposição}} = 1020 \text{ s}$, $E_{\text{inicial}} = -0,9 \text{ V}$, $E_{\text{final}} = -0,1 \text{ V}$, frequência = 80 Hz e amplitude = $0,09 \text{ V}$. (a-----h) adições de 10 a $80 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.



A avaliação da faixa linear de trabalho para HR-CS GF AAS foi feita a partir da curva de calibração que foi obtida pelo método de calibração externa a partir de soluções com concentração de 10 , 25 , 50 , 75 e $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb e a Figura 22 apresenta a curva de calibração obtida.

Figura 22 - Curva de calibração obtida com o HR-CS GF AAS para a faixa de concentração de 10 , 25 , 50 , 75 e $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. Condições experimentais: $5 \text{ } \mu\text{L}$ de uma solução de $1000 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ do modificador químico $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, temperatura de pirólise de $1000 \text{ } ^\circ\text{C}$ e de atomização de $2000 \text{ } ^\circ\text{C}$.



De acordo com o INMETRO (2011) e a ANVISA, os valores de R^2 que estão acima de $0,90$ e $0,99$, respectivamente são considerados como evidência de um ajuste ideal dos dados na linha de regressão. Sendo assim, pode-se afirmar que as curvas de

calibração obtidas por ambos os métodos forneceram uma resposta linear estando dentro dos valores recomendados. Os resultados obtidos na validação estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Valores calculados para os parâmetros de mérito do método para Pb por SWV e HR-CS GF AAS.

Parâmetros	SWASV	HR-CS GF AAS
Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	10 – 80	10 – 100
LQ_{inst} ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,37	2,65
LD_{inst} ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,45	0,88
LQ_{met} ($\mu\text{g L}^{-1}$)	2,44	2,65
LD_{met} ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,73	0,88
R^2	0,995	0,997

Como pode ser observado na Tabela 2, foi utilizada uma faixa linear de trabalho para a SWASV de 10 a 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ com um coeficiente de determinação de 0,995 e para o HR-CS GF AAS de 10 a 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ com um coeficiente de determinação de 0,997. No entanto, para a SWV foi obtido um menor LD e LQ (do método e do instrumento) quando comparado ao HR-CS GF AAS.

A avaliação da exatidão e da precisão foi realizada através de ensaios de recuperação do analito (em triplicata) obtidos através dos resultados por SWASV e HR-CS GF AAS. Esses ensaios foram feitos adicionando-se quantidades conhecidas de Pb em três amostras de água, sendo duas sem gás (1 e 2) e uma com gás (3) em três níveis de concentração, como é recomendado pela ANVISA (2003). Os níveis de fortificação utilizados foram de 20, 30 e 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ (valores próximos aos menores e intermediários das curvas analíticas utilizadas) e os resultados obtidos estão demonstrados na Tabela 3.

Tabela 3 - Valores de recuperação calculados nos ensaios de fortificação para ambas as técnicas.

Amostra	SWASV		HR-CS GF AAS	
	Concentração adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)	Concentração adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)
1	20	70	20	112
	30	82	30	116
	40	108	40	104
2	20	88	20	111
	30	88	30	116
	40	102	40	96
3	20	75	20	107
	30	75	30	109
	40	80	40	105

Para os três níveis de fortificação na SWASV os valores de recuperação do analito ficaram entre 70 e 108% e para o HR-CS GF AAS os valores de recuperação ficaram entre 96 e 116%. No caso da SWASV, o baixo valor de recuperação obtido (em torno de 70%) pode ser devido às baixas concentrações analisadas e também ao fato de que a superfície do eletrodo é renovada a cada medida, o que pode não reproduzir a superfície anterior e prejudicar a análise. Em ambos os casos, os valores estão dentro do intervalo aceitável para análise de elementos traço, que compreende valores de 70 a 120% de recuperação (BRITO, 2001; THIER; ZEUMER, 1987).

5.5 Determinação de Pb nas amostras de água mineral

O procedimento proposto (item 4.7.2) foi aplicado na determinação de Pb em oito amostras de água mineral, 4 com gás e 4 sem gás, utilizando os métodos otimizados e validados por SWASV e por HR-CS GF AAS. Para as análises dessas amostras por ambos os métodos não foi quantificado Pb podendo assim as mesmas serem utilizadas para o consumo e estando dentro dos limites exigidos ($10 \mu\text{g L}^{-1}$) pela CONAMA, ANVISA e WHO (CONAMA, 2005; ANVISA, 2011; WHO, 2004) . Dessa forma, três amostras foram fortificadas em três níveis de concentração e analisadas pelos dois métodos e os resultados estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Determinação de Pb em amostras de água mineral fortificadas (n=3).

Amostra	SWASV		HR-CS GF AAS		Concordância (%)
	Concentração adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração quantificada \pm DP ($\mu\text{g L}^{-1}$) (RSD %)	Concentração adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentração quantificada \pm DP ($\mu\text{g L}^{-1}$) (RSD %)	
1	20	14,5 \pm 2,86 (19,71)	20	22,3 \pm 0,94 (4,22)	65
	30	24,5 \pm 1,22 (5,00)	30	34,7 \pm 0,48 (1,40)	71
	40	43,0 \pm 0,82 (1,90)	40	41,45 \pm 1,92 (4,64)	104
2	20	17,7 \pm 1,25 (7,06)	20	22,10 \pm 1,22 (5,55)	80
	30	26,7 \pm 2,05 (7,71)	30	34,66 \pm 0,80 (2,33)	77
	40	41,3 \pm 6,02 (14,56)	40	38,49 \pm 6,02 (15,65)	107
3	20	15 \pm 0,82 (5,44)	20	21,38 \pm 2,64 (12,38)	70
	30	22,5 \pm 1,22 (5,44)	30	32,8 \pm 2,40 (7,34)	69
	40	32 \pm 0,82 (2,55)	40	42,0 \pm 1,02 (2,44)	76

Como pode ser observado, os resultados empregando ambos os métodos foram precisos uma vez que para os três níveis de fortificação os valores de RSD ficaram na faixa de 1,90 a 19,71% para a SWASV e de 1,40 a 15,65% para o HR-CS GF AAS, estando dentro do intervalo aceitável para análise de elementos traço, que compreende valores de RSD de até 20% (BRITO, 2001; THIER; ZEUMER, 1987). Além disso, na comparação entre as concentrações dos métodos analisados, os valores de concordância estiveram entre 65 e 107% para o Pb. Esses valores baixos de concordância obtidos podem ser devido ao fato de que na SWASV são obtidas concentrações mais baixas para 20 e 30 $\mu\text{g L}^{-1}$ quando comparado ao HR-CS GF AAS.

O Pb^{2+} foi quantificado em seis das sete amostras de água mineral por Marreto (2010) utilizando um microeletrodo de fibras de carbono revestido com filme de Hg por Voltametria de Redissolução Anódica com Pulso Diferencial sendo a concentração média quantificada em torno de 10,24 $\mu\text{g L}^{-1}$ (MARRETO, 2010). Cabe salientar que o LD para Pb^{2+} neste método foi de 3,45 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Quando Guo et al., (2017) utilizaram eletrodo de carbono vítreo modificado com nanocompósito óxido de grafeno – quitosana/poli-L-lisina para a determinação simultânea de Cd^{2+} , Pb^{2+} e Cu^{2+} em amostras de água potável, utilizando a Voltametria de Redissolução Anódica com Pulso Diferencial. Para essas amostras não foi quantificado Pb^{2+} e dessa forma foi feita a fortificação das mesmas em três níveis de concentração (0,30; 1,50 e 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$) e as recuperações obtidas para Pb^{2+} ficaram entre 93,33 – 97,6% com um limite de detecção de 0,02 $\mu\text{g L}^{-1}$ (GUO et al., 2017).

Doner e Ege (2005) fizeram a determinação de cobre, cádmio e chumbo em água mineral utilizando o método de coprecipitação por hidróxido de alumínio por Espectrometria de Absorção Atômica com chama. Como não foi quantificado Pb^{2+} foi feita a fortificação das amostras em três níveis de concentração (6; 8 e 10 $\mu\text{g}/0,2 \text{ L}$) e as recuperações obtidas ficaram entre 95 – 97% com um limite de detecção de 16 ng L^{-1} (DONER; EGE, 2005).

Bakirdere et al., (2012) determinaram Pb em 17 amostras de água mineral por GF AAS, utilizando Pd-Mg e Ni como modificadores e a concentração variou entre abaixo do limite detectável a 12,66 ng mL^{-1} (BAKIRDERE, et al., 2012).

Como pode ser observado nos relatos supracitados, o Pb foi quantificado em algumas amostras de água mineral em níveis baixos de concentração ou em valores

menores do que os limites de detecção dos métodos. Isso ressalta a importância do monitoramento da contaminação por Pb nestas amostras e no desenvolvimento e utilização de métodos sensíveis, precisos, exatos e de baixo custo como o aqui proposto.

6 CONCLUSÕES

Com os resultados obtidos neste trabalho é possível concluir que a reticulação da QTS com TPP aumenta a quantidade de grupos hidroxila disponíveis para a complexação dos íons Pb, aumentando o sinal analítico do mesmo, quando comparado com a QTS e os demais agentes reticulantes estudados. Além disso, as caracterizações por infravermelho, MEV e EDS possibilitaram a verificação de diferenças entre a QTS e as QTS reticuladas, indicando que a reticulação ocorreu de maneira satisfatória.

Dentre os condutores avaliados, o grafite apresentou maior sinal analítico quando comparado ao negro de fumo devido a sua maior capacidade de conduzir corrente e com isso EPG-QTS-TPP apresentou maior resposta voltamétrica para o Pb. O método desenvolvido foi exato e preciso, além de sensível, de baixo custo, não necessita de etapa prévia de preparo de amostra e não apresenta interferência dos íons metálicos avaliados.

Adicionalmente, foi observado que o processo redox é controlado por adsorção com a transferência de 2 elétrons.

Sendo assim, acredita-se que o eletrodo desenvolvido e o método proposto pode ser utilizado para o monitoramento de Pb em água mineral auxiliando assim no controle de qualidade da mesma.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, L. S. et al. Systematic evaluation of sample preparation method for simultaneous voltammetric determination of Zn, Cd, Pb, and Cu in macroalgae. *Journal of Applied Phycology*, v. 29, p. 595 – 605, 2017.

AN, J. et al. Electrochemical study and application on rutin at chitosan/graphene films modified glassy carbon electrode. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, v. 3, p. 102 – 108, 2013.

ANITHA, A. et al. Approaches for Functional Modification or Cross-linking of Chitosan. In: Chitosan-Based Systems for Biopharmaceuticals: *Delivery, targeting and polymer therapeutics*. 1. ed. [S.l.]: John Wiley & Sons, Ltd, 2012. cap. 7.

ANVISA. *Agência Nacional de Vigilância Sanitária*. [S.l.], 2011. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html>.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. *Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos*. [S.l.], 2003. Disponível em: <http://redsaug.ial.sp.gov.br/site/docs_leis/vm/vm1.pdf>. BAIRD, C. *Química Ambiental*. Porto Alegre: Bookman, 2002.

BAKIRDERE, S. et al. Determination of As, Cd, and Pb in Tap Water and Bottled Water Samples by Using Optimized GFAAS System with PdMg and Ni as Matrix Modifiers. *Journal of Spectroscopy*, v. 2013, p. 1 – 7, 2012.

BARBOSA, L. C. de A. *Espectroscopia no Infravermelho: na caracterização de compostos orgânicos*. 1o. ed. [S.l.]: UFV, 2013.

BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. *Electrochemical methods: Fundamentals and Applications*. 2. ed. Nova York: John Wiley & SONS, INC, 2001.

BEN-SHALOM, N.; KUDABAEVA, N.; BORISOVER, M. Copper-binding efficacy of water-soluble chitosans: characterization by aqueous binding isotherms. *Chemosphere*, v. 59, p. 1309 – 1315, 2005.

BERGER, J. et al. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 57, p. 19 – 34, 2004. BIOINSPIRED sensor systems. *Sensors*, v. 11, p. 10180 – 10186, 2011.

BONI, A. C. et al. Application of a biomimetic sensor based on iron phthalocyanine chloride:4-methylbenzylidene-camphor detection. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 21, p.1377 – 1383, 2010.

BRASIL. *Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA)*. [S.l.], 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>>.

BRETT, A. M.; BRETT, C. M. A. *Eletroquímica: princípio, métodos e aplicações*. [S.l.]: Coimbra: Almedina, 1997.

BRITO, N. M. *Resíduos de pesticidas organoclorados (OC) e organofosforados (OF) em matriz de coco: metodologia e aplicação*. 2001. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Universidade Estadual Paulista., São Paulo.

BOUSSEMART, M.; BERG, C. M. G. van den; GHADDAF, M. The determination of the chromium speciation in sea water using catalytic cathodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, v. 262, p. 103 – 115, 1992.

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

CAO, L.; JIA, J.; WANG, Z. Sensitive determination of Cd and Pb by differential pulse stripping voltammetry with in situ bismuth-modified zeolite doped carbon paste electrodes. *Electrochimica Acta*, v. 53, p. 2177 – 2182, 2008.

CÁRDENAS, G.; ORLANDO, P.; EDELIO, T. Synthesis and applications of chitosan mercaptanes as heavy metal retention agent. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 28, p. 167 – 174, 2001.

CARVALHO, J. M. de. *Desenvolvimento de metodologias eletroanalíticas para a determinação de sibutramina em fármacos e em alimentos protéicos*. 2009. 80 p. Dissertação (Mestrado em Química) — Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

CERVINI, P. *Aplicação de eletrodos compósitos a base de poliuretana-grafite*. 2006. 191 p. Tese (Doutorado em Ciências) — Universidade de São Paulo, São Carlos.

CHAIYO, S.; CHAILAPAKUL, O.; SIANGPROH, W. Highly sensitive determination of mercury using copper enhancer by diamond electrode coupled with sequential injection–anodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, v. 852, p. 55 – 62, 2014.

COCO, F. L. et al. Determination of lead (II) and cadmium (II) in hard and soft wheat by derivative potentiometric stripping analysis. *Analytica Chimica Acta*, v. 409, p. 93 – 98, 2000.

CRAVIERO, A. A. *Quitosana a Fibra do Futuro*. Fortaleza: Padetec, 1999.

CRESPILHO, F. N.; REZENDE, M. O. O. Eletrodos de pasta de carbono modificados com ácidos húmicos: estudo e determinação de metais em meio aquoso. *Química Nova*, v. 27, p. 964 – 969, 2004.

- DAMIAN, C. et al. Quitosana: um amino polissacarídeo com características funcionais. *Alimentos e Nutrição*, v. 16, p. 195 – 205, 2005.
- DAS, A. K.; GUARDIA, M. D. L.; CERVERA, M. L. Literature survey of on-line elemental speciation in aqueous solutions. *Talanta*, v. 55, p. 1 – 28, 2001.
- DEMIRBAS, A. Heavy metal adsorption onto agro-based waste materials: a review. *Journal of Hazardous Materials*, v. 157, p. 220 – 229, 2008.
- DENG, P. et al. Determination of trace copper by adsorptive voltammetry using a multiwalled carbon nanotube modified carbon paste electrode. *Electroanalysis*, v. 20, p. 1215 – 1219, 2008.
- DOMÍNGUEZ, O.; ARCOS, M. J. Simultaneous determination of chromium(VI) and chromium(III) at trace levels by adsorptive stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, v. 470, p. 241 – 252, 2002.
- DONER, G.; EGE, A. Determination of copper, cadmium and lead in seawater and mineral water by flame atomic absorption spectrometry after coprecipitation with aluminum hydroxide. *Analytica Chimica Acta*, v. 547, p. 14 – 17, 2005.
- EAST, G.; MARINHO, E. Determination of mercury in hair by square-wave anodic stripping voltammetry at a rotating gold disk electrode after microwave digestion. *Biological Trace Element*, v. 103, p. 261 – 276, 2005.
- ELADLANI, N. et al. Complexation of chromium (III) ions with chitosan and its derivatives, nanoparticles and whiskers. *Fresenius Environmental Bulletin*, v. 23, p. 3278 – 3285, 2014.
- FANG, Y.; HU, D. Cross-linking of chitosan with glutaraldehyde in the presence of citric acid - a new gelling system. *Chinese Journal of Polymer Science*, v. 17, p. 551 – 556, 1999.
- FARGHALY, O. A. Direct and simultaneous voltammetric analysis of heavy metals in tap water samples at Assiut city: an approach to improve the analysis time for nickel and cobalt determination at mercury film electrode. *Microchemical Journal*, v. 75, p. 119 – 131, 2003.
- FAN, W. et al. Formation mechanism of monodisperse, low molecular weight chitosan nanoparticles by ionic gelation technique. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 90, p. 21 – 27, 2012.
- FERNANDES, S. C. et al. Biosensor based on laccase immobilized on microspheres of chitosan crosslinked with tripolyphosphate. *Sensors and Actuators B*, v. 133, p. 202 – 207, 2008.
- GALLI, A. et al. Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos. *Química Nova*, v. 29, p. 105 – 112, 2006.

GARCÍA, I. L.; MARTÍNEZ, Y. V.; CÓRDOBA, M. H. Non-chromatographic speciation of chromium at sub-ppb levels using cloud point extraction in the presence of unmodified silver nanoparticles. *Talanta*, v. 132, p. 23 – 28, 2015.

GREENWOOD, N. N.; EARNSHAW, A. *Chemistry of the Elements*. 2. ed. Oxford: Butterworth - Heinemann, 1997.

GUIBAL, E. et al. Study of molybdate ion sorption on chitosan gel beads by different spectrometric analyses. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 24, p. 49 – 59, 1999.

GUO, Z. et al. Simultaneous determination of trace Cd(II), Pb(II) and Cu(II) by differential pulse anodic stripping voltammetry using a reduced graphene oxide-chitosan/poly-L-lysine nanocomposite modified glassy carbon electrode. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 490, p. 11 – 22, 11 2016.

GUO, Z. et al. Simultaneous determination of trace Cd(II), Pb(II) and Cu(II) by differential pulse anodic stripping voltammetry using a reduced graphene oxide-chitosan/poly-L-lysine nanocomposite modified glassy carbon electrode. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 490, p. 11 – 22, 2017.

HARRIS, D. *Análise Química Quantitativa*. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC Editora LTDA, 2001.

HONEYCHURCH, K. C.; HART, J. P.; COWELL, D. C. Voltammetric studies of lead at a 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol modified screen-printed carbon electrode and its trace determination in water by stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, v. 431, p. 89 – 99, 2001.

HU, B. et al. Optimization of Fabrication Parameters To Produce Chitosan-Tripolyphosphate Nanoparticles for Delivery of Tea Catechins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 56, p. 7451 – 7458, 2008.

INFLUENCE of olive cultivars and period of harvest on the contents of Cu, Cd, Pb and Zn in virgin olive oils. *Food Chemistry*, v. 99, p. 525 – 529, 2006.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. DOQ-CGCRE-008: *Orientação sobre validação de métodos analíticos*. [S.l.], 2011.

JANEGITZ, B. C. *Desenvolvimento de sensores à base de nanotubos de carbono modificados com quitosana reticulada para a determinação de íons metálicos em amostras ambientais*. 2009. 114 p. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) — Universidade Federal de São Carlos.

JANEGITZ, B. C. et al. Development of a carbon nanotubes paste electrode modified with crosslinked chitosan for cadmium(II) and mercury(II) determination. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, v. 660, p. 209 – 216, 2011.

JANEGITZ, B. C. et al. Desenvolvimento de um método empregando quitosana para remoção de íons metálicos de águas residuárias. *Química Nova*, v. 30, p. 879 – 884, 2007.

JANEGITZ, B. C. et al. Anodic stripping voltammetric determination of copper(II) using a functionalized carbon nanotubes paste electrode modified with crosslinked chitosan. *Sensors and Actuators B*, v. 142, p. 260 – 266, 2009.

JANEGITZ, B. C.; MARCOLINO JUNIOR, L. H.; FATIBELLO-FILHO, O. Determinação voltamétrica por redissolução anódica de Cu(II) em águas residuárias empregando um eletrodo de pasta de carbono modificado com quitosana. *Química Nova*, v. 30, n. 7, p. 1673 – 1676, 2007.

JAVANBAKHT, M. et al. Use of organofunctionalized nanoporous silica gel to improve the lifetime of carbon paste electrode for determination of copper(II) ions. *Analytica Chimica Acta*, v. 601, p. 172 – 182, 2007.

KAROUSOS, D. S. et al. Sonochemical one-pot synthesis of Pt – Carbon black nanocomposite PEMFC electrocatalyst. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 35, p. 591 – 597, 2017.

KURITA, K. Chitin and Chitosan: Functional Biopolymers from Marine Crustaceans. *Marine Biotechnology*, v. 8, p. 203 – 226, 2006.

KURITA, K.; KOYAMA, Y.; TANIGUCHI, A. Studies on Chitin. IX. Crosslinking of Water-Soluble Chitin and Evaluation of the Products as Adsorbents for Cupric Ion. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 31, p. 1169 – 1176, 1986.

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

LEE, J. D. *Química Inorgânica não tão concisa*. 5. ed. São Paulo: Edgard Blucher, 1999.

LIN, L. et al. Adsorptive stripping voltammetric measurements of trace uranium at the bismuth film electrode. *Analytica Chimica Acta*, v. 535, p. 9 – 13, 2005.

LOCATELLI, C.; TORSI, G. Analytical procedures for the simultaneous voltammetric determination of heavy metals in meals. *Microchemical Journal*, v. 75, p. 233 – 240, 2003.

LOPES, W. A.; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. *Química Nova*, v. 27, p. 670 – 673, 2004.

LOWINSOHN, D.; BERTOTTI, M. Sensores eletroquímicos: considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos. *Química Nova*, v. 29, p. 1318 – 1325, 2006.

LU, G. et al. Determination of the total iron by chitosan-modified glassy carbon electrode. *Microchemical Journal*, v. 69, p. 81 – 87, 2001.

MANAHAN, S. E. *Environmental Chemistry*. 8. ed. Flórida: CRC Press, 2004.

MANNHEIMER, W. *Microscopia dos materiais: uma introdução*. E-papers, 2002.

MARKIEWICZ, B. et al. Chromium and its speciation in water samples by HPLC/ICP-MS - technique establishing metrological traceability: A review since 2000. *Talanta*, 2014.

MARRETO, P. D. *Determinação simultânea de íons metálicos utilizando voltametria de redissolução anódica e métodos de calibração multivariada*. 2010. 147 p. Tese (Química Analítica) — Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP.

MARTOS, L. M. D. *Determinação voltamétrica sequencial de urânio, cádmio e chumbo em fertilizantes fosfatados utilizando o eletrodo de filme de bismuto*. 2014. 132 p. Dissertação (Mestrado em Química) — Universidade Federal de Santa Catarina.

MCCREERY, R. L. Advanced Carbon Electrode Materials for Molecular Electrochemistry. *Chemical Reviews*, v. 108, p. 2646 – 2687, 2008.

MERRIFIELD, J. et al. Uptake of mercury by thiol-grafted chitosan gel beads. *Water Research*, v. 38, p. 3132 – 3138, 2004.

MI, F. et al. Chitosan-polyelectrolyte complexation for the preparation of gel beads and controlled release of anticancer drug. I. Effect of phosphorus polyelectrolyte complex and enzymatic hydrolysis of polymer. *Journal of Polymer Science*, v. 74, p. 1868 – 1879, 1999.

MONTEIRO JR, O. A. C.; AIROLDI, C. Some studies of crosslinking chitosan–glutaraldehyde interaction in a homogeneous system. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 26, p. 119 – 128, 1999.

MOURA, C. M. de et al. Evaluation of molar weight and deacetylation degree of chitosan during chitin deacetylation reaction: Used to produce biofilm. *Chemical Engineering and Processing*, v. 50, p. 351 – 355, 2011.

NGAH, W. S. W.; ENDUD, C. S.; MAYANAR, R. Removal of copper(II) ions from aqueous solution onto chitosan and cross-linked chitosan beads. *Reactive & Functional Polymers*, v. 50, p. 181 – 190, 2002.

OLIVEIRA, I. R. W. Z. de; VIEIRA, I. C. Construção e aplicação de biossensores usando diferentes procedimentos de imobilização da peroxidase de vegetal em matriz de quitosana. *Química Nova*, v. 29, p. 932 – 939, 2006.

PACHECO, W. F. et al. Voltametrias: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos. *Revista Virtual de Química*, v. 5, p. 516 – 537, 2013.

PARANHOS, M. de M. *Desenvolvimento de métodos eletroquímicos para determinação de neurotransmissores utilizando eletrodos de zircônia nanoestruturada e diamante dopado com boro*. 2014. 87 p. Dissertação (Mestrado em Química) — Universidade Federal de Goiás, Catalão - GO.

PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. S.; KUBOTA, L. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. *Química Nova*, v. 25, p. 787 – 976, 2002.

PERGHER, S. et al. Removal of copper (II) from aqueous solution on nax zeolite. Effect of particle size. *Química Nova*, v. 28, p. 397 – 401, 2005.

RAUT, A. R.; KHAIRKAR, S. R. Study of chitosan crosslinked with glutaraldehyde as biocomposite material. *World Journal of Pharmaceutical Research*, v. 3, p. 523 – 532, 2014.

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

RIBEIRO, A. S.; ARRUDA, M. A. Z.; CADORE, S. Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em filamento de tungstênio. Uma revisão crítica. *Química Nova*, v. 25, p. 396 – 405, 2002.

ROBERTS, G.; TAYLOR, K. Chitosan gels, the formation of gels by reaction of chitosan with glutaraldehyde. *Macromolecular Chemistry and Physics*, v. 190, p. 951 – 960, 1989.

ROLIM, J. G. *Materiais condutores*. In: 1. ed. Santa Catarina: Universidade Federal de Santa Catarina - Centro Tecnológico, 2002. cap. III. Disponível em: <http://www.labspot.ufsc.br/~jackie/cap3_new.pdf>.

RUSSELL, J. B. *Química Geral*. São Paulo: Pearson Makron Books, 1994.

SCHOLZ, F. *Eletroanalytical Methods*. 2. ed. Nova York: Springer Heidelberg Dordrecht, 2010.

SHI, C. et al. Therapeutic Potential of Chitosan and Its Derivatives in Regenerative Medicine. *Journal of Surgical Research*, v. 133, p. 185 – 192, 2006.

SHRIVER; ATKINS. *Química inorgânica*. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2008.

SHWETA, A.; SONIA, P. Pharmaceutical relevance of crosslinked chitosan in microparticulate drug delivery. *International research journal of pharmacy*, v. 4, p. 45 – 51, 2013.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. 7o. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007.

SKOOG et al. *Fundamentos de Química Analítica*. São Paulo: Thomson, 2006.

SOTOMAYOR, M. D. P. T. et al. Amperometric sensors based on biomimetic catalysts. *Encyclopedia of sensors*, v. 1, p. 195 – 209, 2006.

SOUZA, D. et al. Voltametria de ondaquadrada. Segunda parte: aplicações. *Química Nova*, v. 27, p. 790 – 797, 2004.

SVANCARA, I. et al. *Electroanalysis with Carbon Paste Electrodes*. [S.I.]: CRC Press Taylor & Francis Group, 2012.

TAKEUCHI, R. et al. Copper determination in ethanol fuel by differential pulse anodic stripping voltammetry at a solid paraffin-based carbon paste electrode modified with 2-aminothiazole organofunctionalized silica. *Talanta*, v. 71, p. 771 – 777, 2007.

TALARICO, D. et al. Screen-printed electrode modified with carbon black and chitosan: a novel platform for acetylcholinesterase biosensor development. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 408, p. 7299 – 7309, 2016.

THEIR, H. P.; ZEUMER, H. Manual of pesticide analysis. *New York: Verlag Chemie*, p. 37-41, 1987.

TOGHILL, K. et al. The fabrication and characterization of a bismuth nanoparticle modified boron doped diamond electrode and its application to the simultaneous determination of cadmium(II) and lead(II). *Electroanalysis*, v. 20, p. 1731 – 1737, 2008.

TOKAHOGLU, S.; KARTALI, S. Multivariate analysis of the data and speciation of heavy metals in street dust samples from the Organized Industrial District in Kayseri (Turkey). *Atmospheric Environmental*, v. 40, p. 2797 – 2805, 2006.

TSALEV, D. L. et al. Permanent modification in electrothermal atomic absorption spectrometry – advances, anticipations and reality. *Spectrochimica Acta Parte B*, v. 55, p. 473 – 490, 2000.

USLU, B.; OZKAN, S. Solid electrodes in electroanalytical chemistry: present applications and prospects for high throughput screening of drug compounds. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, v. 10, p. 495 – 513, 2007.

USLU, B.; OZKAN, S. A. Electroanalytical application of carbon based electrodes to the pharmaceuticals. *Analytical Letters*, v. 40, p. 817 – 853, 2007.

VARMA, A.; DESHPANDE, S.; KENNEDY, J. Metal complexation by chitosan and its derivatives: a review. *Carbohydrate Polymers*, v. 55, p. 77 – 93, 2004.

VENEZUELA, T. C. *Determinação de Contaminantes Metálicos (Metal Tóxico) num solo adubado com composto de lixo em área olerícola no município de Nova Friburgo-RJ*. 2001. Dissertação (Mestrado em Química) — Fundação Oswaldo Cruz.

VICENTINI, F. C. et al. Pb(II) determination in natural water using a carbon nanotubes paste electrode modified with crosslinked chitosan. *Microchemical Journal*, v. 116, p. 191 – 196, 2014.

VIEIRA, I. C.; LUPETTI, K. O.; FATIBELLO-FILHO, O. Determinação de paracetamol em produtos farmacêuticos usando um biossensor de pasta de carbono modificado com extrato bruto de abobrinha. *Química Nova*, v. 26, p. 39 – 43, 2003.

VITALI, L.; VIEIRA, I. C.; SPINELLI, A. Sensor-containing microspheres of chitosan crosslinked with 8-hydroxyquinoline-5-sulphonic acid for determination of Cu(II) in instant coffee. *Food Chemistry*, v. 126, p. 807 – 814, 2011.

WANG, J. *Analytical Electrochemistry*. 2. ed. Canadá: Wiley-VCH, 2000.

WILDGOOSE, G. G.; BANKS, H. C. L. C. E.; COMPTON, R. G. Chemically Modified Carbon Nanotubes for Use in *Electroanalysis*. *Microchimica Acta*, v. 152, p. 187 – 214, 2006.

WILDGOOSE, G. G. et al. Graphite Powder and Multiwalled Carbon Nanotubes Chemically Modified with 4-Nitrobenzylamine. *ChemPhysChem*, v. 6, p. 352 – 362, 2005.

WHO. *Guidelines for Drinking-water Quality*. Background document for development of World Health Organization. [S.I.], 2004. Disponível em: <http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/GDWQ2004web.pdf>.

WHO. Handbook on the toxicology of metals. *Environmental Health*. 3o. ed. [S.I.], 2007.

WONG, A.; LANZA, M. R. V.; SOTOMAYOR, M. D. P. T. Development and application of a highly selective biomimetic sensor for detection of captopril, an important ally in hypertension control. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, v. 13, p. 666 – 674, 2010.

WU, Y. W. et al. Fe₃O₄@ZrO₂ nanoparticles magnetic solid phase extraction coupled with flame atomic absorption spectrometry for chromium(III) speciation in environmental and biological samples. *Applied Surface Science*, v. 258, p. 6772 – 6776, 2012.

XU, L. et al. Simple Electrochemical Sensor Based on Carbon-black Paste Electrode Coupled with Derivative Square Wave Voltammetry for the Determination of Sulfites in Rice Wine. *International Journal of Electrochemical Science*, v. 11, p. 4586 – 4597, 2016.

XU, Y.; DU, Y. Effect of molecular structure of chitosan on protein delivery properties of chitosan nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 250, p. 215 – 226, 2003.

YANG, C. et al. Using a cross-flow microfluidic chip and external crosslinking reaction for monodisperse TPP-chitosan microparticles. *Sensors and Actuators B*, v. 124, p. 510– 516, 2007.

YANG, M. et al. Amperometric glucose biosensor based on chitosan with improved selectivity and stability. *Sensors and Actuators B*, v. 101, p. 269 – 276, 2004.

YE, X. et al. Electrochemical behaviour of gold, silver, platinum and palladium on the glassy carbon electrode modified by chitosan and its application. *Talanta*, v. 47, p. 1099–1106, 1998.

ZENG, D.; WU, J.; KENNEDY, J. F. Application of a chitosan flocculant to water treatment. *Carbohydrate Polymers*, v. 71, p. 135 – 139, 2008.

ZHOU, S.; HAN, X.; LIU, Y. SWASV performance toward heavy metal ions based on a high-activity and simple magnetic chitosan sensing nanomaterials. *Journal of Alloys and Compounds*, v. 684, p. 1 – 7, 2016.