



**GRAZIELLE CABRAL DE LIMA**

**AVALIAÇÃO DAS FASES SÓLIDAS POLI(VINIL-PIRIDINA) E  
AEROGEL DE GRAFENO NA PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE  
CLOROFENÓIS E ÍONS CÁDMIO EM AMOSTRAS AMBIENTAIS**

**Alfenas/MG  
2019**

**GRAZIELLE CABRAL DE LIMA**

**AVALIAÇÃO DAS FASES SÓLIDAS POLI(VINIL-PIRIDINA) E  
AEROGEL DE GRAFENO NA PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE  
CLOROFENÓIS E ÍONS CÁDMIO EM AMOSTRAS AMBIENTAIS**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Área de concentração: Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Costa de Figueiredo

**Alfenas/MG  
2019**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas

L732a Lima, Grazielle Cabral de.  
Avaliação das fases sólidas poli(vinil-piridina) e aerogel de grafeno na pré-concentração de clorofenóis e íons cádmio em amostras ambientais / Grazielle Cabral de Lima – Alfenas/MG, 2019.  
96 f.: il. –

Orientador: Eduardo Costa de Figueiredo.  
Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Alfenas, 2019.  
Bibliografia.

1. Polímeros. 2. Clorofenóis. 3. Intoxicação por Metais Pesados. 4. Cromatografia Líquida. I. Figueiredo, Eduardo Costa. II. Título.

CDD-543

**GRAZIELLE CABRAL DE LIMA**

**“Avaliação das Fases Sólidas Poli(Vinil-Piridina) e aerogel de grafeno na Pré-concentração de clorofenóis e ions cádmio em amostras ambientais”**



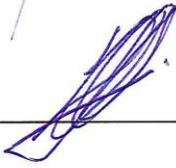
A Banca examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Química- Analítica.

Aprovado em: 31 / 05 / 2019

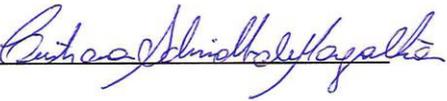
Prof. Dr. Eduardo Costa de Figueiredo  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas –  
UNIFAL-MG

Assinatura:  \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Henrique Dipe de Faria  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas -  
UNIFAL-MG

Assinatura:  \_\_\_\_\_

Profa. Dra. Cristiana Schmidt Magalhães –  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas -  
UNIFAL - MG

Assinatura:  \_\_\_\_\_

Dedico primeiramente a Deus, em especial  
ao meu irmão Douglas que lutou  
bravamente pela vida, a minha Filha Lívia  
e todos da minha Família! Amo vocês!

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer a Deus, por me dar forças para lutar e conseguir concretizar mais um sonho.

A todos meus familiares, de maneira muito especial aos meus pais (José Donizete e Maria de Fátima), pelos ensinamentos que tornaram-me uma pessoa melhor. Meus irmão Douglas, que nesse período passou por um momento muito difícil que me fez ver que a vida vale muito.

A minha irmã Giovana, um exemplo de mulher, professora e AMIGA que quero levar por toda minha vida, meus amados afilhados Pedro Lucas e Maria Clara pelo amor incondicional para comigo.

Ao meu marido (Afrânio) pelo amor, paciência, dedicação, apoio e por me presentear com a mais bela filha.

A minha filha (Lívia), motivo pelo qual levanto todas as manhãs e vou a luta.

Ao meu orientador Prof. Dr. Eduardo Costa de Figueiredo, que teve muita paciência neste tempo. Obrigado por todo ensinamento!

As amigas Sarah, Cristiene, Renata e Luana que mesmo de longe davam forças para ir até o fim. A Ayla pela sua grande e eterna amizade e ensinamento.

Aos professores, funcionários do Latf e Q-204, pessoas que de uma forma ou outra me ajudaram.

A FAPEMIG pelo apoio.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001."

Muito Obrigado!

## RESUMO

O uso inadequado dos recursos hídricos, a aplicação desregrada de produtos químicos, a inconsequente contaminação e poluição de ambientes aquáticos, alimentos, flora e fauna associado à carência de informações a respeito da real toxicidade desses contaminantes e seus produtos de transformação, tende a agravar os riscos à saúde pública e ambiente. Isso porque sob determinadas formas, esses contaminantes orgânicos ou inorgânicos podem representar elevada toxicidade mesmo em baixas concentrações. A exemplo disso, os compostos clorofenólicos devido a sua persistência no ambiente e importantes efeitos toxicológicos, são alvos da primeira parte desse estudo onde reporta-se os resultados da investigação do polímero poli(4-vinilpiridina) quanto a sua capacidade adsortiva de espécies fenólicas, seguido de análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com acoplamento *column switching*. Foram obtidos, para 2,4-Diclorofenol: LD de  $0.9953 \mu\text{g L}^{-1}$ , LQ de  $3.0161 \mu\text{g L}^{-1}$  e curva analítica linear de 0.3 a  $30 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $r = 0.9879$ ), fator de pré-concentração de 75, e índice de consumo de 0.040 mL. Para 2,4,6-Triclorofenol: LD de  $0.1849 \mu\text{g L}^{-1}$ , LQ de  $0.5605 \mu\text{g L}^{-1}$ , curva analítica linear de 0.3 a  $30 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $r = 0.9951$ ), fator de pré-concentração de 85, índice de consumo de 0.035 mL. As amostras coletadas no braço Sapucaí e região do Clube Náutico na represa de Furnas – MG, porém os analitos de estudos não foram detectados. A avaliação de espécie inorgânica focou no cádmio, que com seu poder bioacumulativo e efeito carcinogênico apresenta grande relevância, assim a segunda parte do trabalho descreve-se o desempenho de aerogéis de grafeno tridimensional (GA-3D) como fase extratora de íons cádmio com detecção por espectrometria de absorção atômica em chama. Os parâmetros experimentais foram estudados usando técnicas de otimização multivariada como, planejamento fatorial e matriz de Doehlert. Os resultados para os parâmetros analíticos ensaiados foram: resposta linear de 5.0 a  $300.0 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $r = 0.9968$ ), LD e LQ, 1.67 e  $5.58 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente, fator de pré-concentração de 20, índice de consumo 1.18 mL, e frequência analítica  $20 \text{ h}^{-1}$ . A interferência de íons concomitantes foi investigada e a exatidão verificada por meio de testes de adição e recuperação. As amostras foram analisadas água da represa ponto 1 ( $54 \pm 0.08 \mu\text{g.L}^{-1}$ ); ponto 2 ( $108 \pm 1.52 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) e água de mina ( $57 \pm 4.30 \mu\text{g.L}^{-1}$ ).

Palavras-chave: poli(4-vinilpiridina), clorofenóis, aerogel de grafeno, cádmio, extração em fase sólida.

## ABSTRACT

The inadequate use of water resources, the unregulated application of chemicals, the inconsequential contamination and pollution of aquatic environments, food, flora and fauna associated with the lack of information regarding the actual toxicity of these compounds and its processing products, tends to aggravate the risks to public health and the environment. This is because in certain forms, these organic or inorganic contaminants can represent high toxicity even at low concentrations. For example, chlorophenic compounds due to their persistence in the environment and important toxicological effects are targets of the first part of this study, where the results of the investigation of Poly polymer (4-vinylpyridine) and its adsorptive capacity of phenolic species, followed by High Performance Liquid Chromatography analysis with column switching coupling. For 2,4-dichlorophenol: LD of  $0.9953 \mu\text{g L}^{-1}$ , LQ of  $3.0161 \mu\text{g L}^{-1}$  and linear analytical curve from 0.3 to  $3.0 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $r = 0.9879$ ), Preconcentration factor of 75, and consumption index of 0.040 mL were achieved. For 2,4,6-trichlorophenol: LD of  $0.1849 \mu\text{g L}^{-1}$ , LQ of  $0.5605 \mu\text{g L}^{-1}$ , linear analytical curve from 0.3 to  $3.0 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $r = 0.9951$ ), Preconcentration factor of 85, consumption index of 0.035 mL. The samples collected in the Sapucaí arm and the Clube Náutico region in the Furnas Dam-MG, however, the study analytes were not detected. The evaluation of inorganic species focused on cadmium, which with its bioaccumulative power and carcinogenic effect has great relevance, so the second part of the work describes the performance of three-dimensional graphene aerogels (GA-3D) as an extractive phase of cadmium ions with detection by flame atomic absorption spectrometry. The experimental parameters were studied using multivariate optimization techniques such as factorial design and Doehlert matrix. The analytical characteristics found were: linear response from 5.0 to  $300.0 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $r = 0.9968$ ), limit of detection and quantification, 1.67 and  $5.58 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectively, pre-concentration factor of 20, consumption index 1.18 mL, and analytical Frequency  $20 \text{ h}^{-1}$ . The interference of concurrent ions was investigated and the accuracy was verified by means of addition and recovery tests. The samples were analyzed water from the reservoir point 1 ( $54 \pm 0.08 \mu\text{g L}^{-1}$ ); Point 2 ( $108 \pm 1.52 \mu\text{g L}^{-1}$ ) and mine water ( $57 \pm 4.30 \mu\text{g L}^{-1}$ ).

*Keyword:* Poly (4-vinylpyridine), chlorophenols, graphene aerogel, cadmium, solid phase extraction.

## LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS

ETE's	- Estações de Tratamento de Efluentes
CONAMA	- Conselho Nacional de Meio Ambiente
CP-	Clorofenol
2,4-DCP	- 2,4-Diclorofenol
2,4,6-TCP	- 2,4,6-Triclorofenol
2,4,6-TBP	2,4,6-Tribromofenol
PCP	- Pentaclorofenol
USEPA	- Agência de Proteção Ambiental dos EUA
PCNB	- Pentacloronitrobenzeno
HCB	- Hexaclorobenzeno
SPE	Extração em fase sólida
MIP	Polímeros de Impressão Molecular
IIP	Polímeros de Impressão Iônica
AIBN	2,2'-azo-bis-iso-butironitrila
EGDMA	etilenoglicol dimetacrilato
TRIM	trimetilpropano trimetacrilato
P4VP	poli(4-vinilpiridina)
P2VP	poli(2-vinilpiridina)
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
GA-3D	Aerogel de grafeno tridimensional
ACN	Acetonitrila
GO	Óxido de Grafeno
EDA	Etilenodiamina
F.C.	Fase de Carregamento
T.C.	Tempo de Carregamento
T.E.	Tempo de Eluição
T.F.	Temperatura do Forno
L	Alça de amostragem
FDA	Food and Drug Administration
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária

LD	Limites de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
DSC	Calorímetro Diferencial de Varredura
TG	Termogravimetria
CE	- Concentração do eluente
CONAMA	- Conselho Nacional do Meio Ambiente
CT	- Concentração de tampão
EC	- Eficiência de concentração
FAAS	- Espectrômetro de absorção atômica por chama (do inglês, <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i> )
FP	- Fator de pré-concentração
FT-IR	- Infravermelho com transformada de Fourier (do inglês, <i>Fourier Transform Infrared</i> )
IC	- Índice de consumo
LOD	- Limite de detecção (do inglês, <i>Limit of Detection</i> )
LOQ	- Limite de quantificação (do inglês, <i>Limit of Quantitation</i> )
MEV	- Microscopia eletrônica de varredura
SPE	- Extração em fase sólida (do inglês, <i>Solid Phase Extraction</i> )
SRM	- Metodologia de Superfície de Resposta (do inglês, <i>Surface Response Methodology</i> )
UV-Vis	- Ultravioleta visível

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura da vinilpiridina .....	29
Figura 2 - Estrutura do grafeno (a) e do óxido de grafeno (b). .....	31
Figura 3 - Esquema do sistema de Cromatografia Líquida com acoplamento Column Switching. modo normal, forward -flush, (a) sorção seletiva, (b) separação cromatográfica .....	33
Figura 4 - Esquema do sistema de Cromatografia Líquida no modo <i>Column Switching</i> (modo reverso (back flush). (a) sorção seletiva, (b) separação cromatográfica .....	34
Figura 5 - Válvula de comutação de seis portas em configuração backflush. As duas etapas do sistema são mostradas, a esquerda etapa de carregamento e a direita de eluição.....	43
Figura 6 - Microscopia eletrônica de varredura do polímero poli(4-vinilpiridina) .....	47
Figura 7 - Espectro de Infravermelho do polímero 4-vinilpiridina .....	48
Figura 8 - Estudo do efeito do pH da fase de carregamento para 2,4, diclorofenol (2,4-DCP) e 2,4,6 Triclorofenol (2,4,6 TCP).....	49
Figura 9 - Estudo do efeito do tempo de carregamento para 2,4, diclorofenol (2,4-DCP) e 2,4, 6 Triclorofenol (2,4,6 TCP).....	50
Figura 10 - Estudo do tempo de eluição para 2,4, diclorofenol (2,4-DCP) e 2,4,6trtriclorofenol (2,4,6 TCP).....	50
Figura 11 - Estudo do tempo de eluição para 2,4, diclorofenol (2,4-DCP) e 2,4,6 triclorofenol (2,4,6 TCP). na concentração de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ .....	51
Figura 12 - Estudo da temperatura do forno para 2,4, diclorofenol (2,4-DCP) e 2,4,6 Triclorofenol (2,4,6 TCP) em concentrações de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ .....	51
Figura 13 - Estudo da temperatura do forno para 2,4, diclorofenol (2,4-DCP) e 2,4,6 Triclorofenol (2,4,6 TCP) em concentrações de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ .....	52
Figura 14 - Estudo do volume da alça de amostragem para 2,4, diclorofenol (2,4-DCP) e 2,4,6 Triclorofenol (2,4,6 TCP) em concentrações de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ .....	52
Figura 15 - Curva de calibração obtida com a etapa de pré-concentração em poli(4-vinilpiridina) .....	54
Figura 16 - Cromatograma da curva de calibração obtida com a etapa de pré-concentração em poli(4-vinilpiridina) nas concentrações mínimas ( $0,3 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), média ( $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) e	

máximo ( $30 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), mantendo o padrão interno 2,4,6-Tribromofenol em $10\mu\text{g.L}^{-1}$ .....	54
Figura 17- Curva de calibração obtida sem a etapa de pré-concentração em poli(4- vinilpiridina).....	55
Figura 18 - Cromatograma obtido sem a etapa de pré-concentração com os pontos mínimo, mé- dio e máximo... ..	55
Figura 19 - Cromatogramas referente ao branco nas concentrações do menor ponto da curva, ponto médio e ponto máximo... ..	56
Figura 20 - Diagrama esquemático do sistema de pré-concentração em fluxo. Eluente = $\text{HNO}_3$ $1 \text{ mol L}^{-1}$ ; Volume de pré-concentração = 20 mL .....	64
Figura 21 - Solução da síntese de GO após adição de permanganato de potássio... ..	69
Figura 22 - Rotas sintéticas que apresentaram produto final inviável, (a) e (b) síntese 1 e 2 res- pectivamente .....	70
Figura 23 - Síntese do aerogel conduzida pelo procedimento descrito por Cong, H. e colabora- dores. Figuras: (a) Início da reação; (b) Início da formação do aerogel (30 minutos de reação); (c) Aerogel formado após o processo de liofilização... ..	71
Figura 24 - Síntese do aerogel em maior volume conduzida pelo procedimento descrito por Cong, H. e colabo- radores. Figuras: (a) Início da reação; (b) Início da formação do aerogel (30 minutos de reação); (c) Aerogel formado após o processo de liofilização .....	72
Figura 25 - Espectro de Infravermelho do óxido de grafeno... ..	73
Figura 26 - (A) GA-3D sintetizado; (B) imagens de MEV do material de aerogel de grafeno GA-3D com ampliação de 10000 (B) e 100000 (C); (D) Imagens MEV do material GO com ampliação de 10000. ....	74
Figura 27 - Espectro de Infravermelho do aerogel de grafeno... ..	75
Figura 28 - Potencial Zeta das partículas de aerogel de grafeno segundo Cong, H. colaboradores .....	75
Figura 29 - Distribuição de especiação $\text{Cd}^{2+}$ em função do pH a $25^\circ\text{C}$ : (a) água pura; (b) presen- ça de sais .....	76
Figura 30 - Efeito do pH da amostra na absorvância de $\text{Cd}^{2+}$ $300 \mu\text{g L}^{-1}$ usando a minicoluna de de : GA-3D .....	77
Figura 31 - Diagrama de Pareto.....	80
Figura 32 - Superfícies de Resposta obtidas pelos resultados da Matriz de Doehlert para 3 fa- tores.....	82

Figura 33 - Estudo do volume de solução pré-concentrada .....	84
Figura 34 - Efeito do pH da amostra na absorvância de $\text{Cd}^{2+}$ $300 \mu\text{g L}^{-1}$ usando a minicoluna de:GA-3D. ....	85
Figura 35 - Curva de calibração obtida com a etapa de pré-concentração de $\text{Cd}^{2+}$ em GA-3D ..	86
Figura 36 - Curva de calibração obtida sem a etapa de pré-concentração de $\text{Cd}^{2+}$ .....	86

## ÍNDICE DE QUADRO

Quadro 1 - Possíveis origens de vários clorofenóis.....	24
Quadro 2: Procedimento para preparo de amostra por Extração em fase sólida e <i>Column Switching</i> .....	34
Quadro 3 - Principais vantagens e desvantagens da técnica <i>Column Switching</i> para preparo de amostra.....	35

## INDICE DE TABELA

Tabela 1 - Resultados dos parâmetros de validação .....	56
Tabela 2 - Níveis dos fatores no planejamento $2^4$ .....	66
Tabela 3 - Níveis codificados e reais e Matriz de Doehlert empregada na otimização do sistema de pré-concentração <i>on-line</i> de $Cd^{2+}$ .....	67
Tabela 4 - Níveis dos fatores no planejamento $2^4$ .....	79
Tabela 5 - Matriz de Doehlert usada na otimização do sistema de pré-concentração <i>on line</i> de $Cd^{2+}$ .....	81
Tabela 6 - Condições de experimentais do sistema de pré-concentração <i>on-line</i> de $Cd^{2+}$ .....	83
Tabela 7 - Resultados da aplicação do método proposto na determinação de $Cd^{2+}$ em amostras de água da Represa de Furnas .....	87
Tabela 8 - Comparação de diferentes métodos de pré-concentração em fase sólida para determinação de $Cd^{2+}$ .....	88

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>19</b>
<b>2.1</b>	<b>Contaminação ambiental e saúde pública.</b> .....	<b>19</b>
<b>2.2</b>	<b>Tratamento de esgoto e poluição dos corpos d'água</b> .....	<b>20</b>
<b>2.3</b>	<b>Contaminantes Orgânicos.</b> .....	<b>22</b>
<b>2.4</b>	<b>Contaminação por metais pesados</b> .....	<b>25</b>
<b>2.5</b>	<b>Materiais extratores em fase sólida</b> .....	<b>26</b>
<b>2.5.1</b>	<i>Poli(4-vinilpiridina) na extração em fase sólida</i> .....	<b>28</b>
<b>2.5.2</b>	<i>Grafeno como material extrator</i> .....	<b>29</b>
<b>2.6</b>	<b>Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)</b> .....	<b>31</b>
<b>2.6.1</b>	<i>Cromatografia líquida de alta eficiência em modo Column switching.</i> .....	<b>32</b>
<b>2.7</b>	<b>Sistema de pré-concentração <i>on-line</i> FIA-FAAS</b> .....	<b>35</b>
<b>2.8</b>	<b>Estratégia de otimização dos experimentos</b> .....	<b>36</b>
<b>2.8.1</b>	<i>Planejamentos fatoriais de dois níveis</i> .....	<b>36</b>
<b>2.8.2</b>	<i>Planejamento ou Matriz Doehlert</i> .....	<b>37</b>
<b>2.9</b>	<b>Região de estudo e instigação da pesquisa</b> .....	<b>37</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVO</b> .....	<b>39</b>
<b>3.1</b>	<b>Objetivo Geral</b> .....	<b>39</b>
<b>3.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	<b>39</b>
	 <b>Capítulo 1: ESTUDO DA FASE SÓLIDA POLI(VINIL-PIRIDINA) NA PRÉ-CONCENTRAÇÃO DE CLOROFENÓIS EM AMOSTRAS DE ÁGUA SEGUIDO DE ANÁLISE POR CLAE-UV COM ACOPLAMENTO COLUMN SWITCHING</b> .....	 <b>40</b>
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>41</b>
<b>4.1</b>	<b>Instrumentação</b> ... ..	<b>41</b>
<b>4.2</b>	<b>Soluções e Reagentes</b> ... ..	<b>41</b>
<b>4.3</b>	<b>Síntese do 4-PVP - polímero poli(4-vinilpiridina)</b> .....	<b>41</b>
<b>4.4</b>	<b>Caracterização do Polímero Poli(4-vinilpiridina)</b> .....	<b>41</b>
<b>4.5</b>	<b>Configuração do sistema cromatográfico</b> ... ..	<b>42</b>
<b>4.6</b>	<b>Estudo dos parâmetros cromatográficos</b> ... ..	<b>43</b>

<b>4.7</b>	<b>Validação do método...</b>	<b>47</b>
4.7.1	<i>Linearidade</i> .....	47
4.7.2	<i>Precisão e exatidão</i> .....	45
4.7.3	<i>Limites de detecção e quantificação</i> .....	45
4.7.4	<i>Fator de pré-concentração (FP) e Índice de consumo (IC)</i> .....	46
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>47</b>
<b>5.1</b>	<b>Caracterização do Polímero poli(4-vinilpiridina)</b> .....	<b>47</b>
<b>5.2</b>	<b>Estudo das condições cromatográficas</b> .....	<b>48</b>
<b>5.3</b>	<b>Validação</b> .....	<b>53</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>67</b>

<b>Capítulo 2: ESTUDO DO AEROGEL DE GRAFENO 3D NA PRÉ-CONCENTRAÇÃO ON-LINE DE ÍONS CÁDMIO COM DETECÇÃO POR FAAS</b> .....		
<b>7</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	<b>59</b>
<b>7.1</b>	<b>Reagentes e Soluções</b> .....	<b>59</b>
<b>7.2</b>	<b>Instrumentação</b> .....	<b>59</b>
<b>7.3</b>	<b>Condições experimentais</b> .....	<b>60</b>
<b>7.4</b>	<b>Estudos de Síntese do Aerogel de Grafeno 3D</b> .....	<b>61</b>
7.4.1	<i>Síntese do Óxido de Grafeno (GO)</i> .....	61
7.4.2	<i>Rotas de síntese avaliadas para o aerogel de grafeno</i> .....	61
<b>7.5</b>	<b>Preparo da minicoluna e sistema de extração on-line de íons Cd<sup>2+</sup></b> .....	<b>63</b>
<b>7.6</b>	<b>Avaliação da capacidade adsortiva frente ao pH</b> .....	<b>64</b>
<b>7.7</b>	<b>Amostras</b> .....	<b>64</b>
<b>7.8</b>	<b>Procedimento de otimização</b> .....	<b>65</b>
7.8.1	<i>Planejamento fatorial de dois níveis</i> .....	65
7.8.2	<i>Planejamento Doehlert</i> .....	66
<b>7.9</b>	<b>Estudo do volume de solução pré-concentrada</b> .....	<b>67</b>
<b>7.10</b>	<b>Avaliação de possíveis interferentes</b> .....	<b>68</b>
<b>8</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>69</b>
<b>8.1</b>	<b>Síntese do Óxido de Grafeno (GO)</b> .....	<b>69</b>
<b>8.2</b>	<b>Rotas de síntese avaliadas para o aerogel de grafeno</b> .....	<b>69</b>
<b>8.3</b>	<b>Caracterização do Óxido de Grafeno e Aerogel de grafeno</b> .....	<b>73</b>
<b>8.4</b>	<b>Avaliação da capacidade adsortiva frente ao pH</b> .....	<b>76</b>

<b>8.5 Procedimento de otimização.....</b>	<b>77</b>
8.5.1 <i>Planejamento fatorial de dois níveis.....</i>	77
8.5.2 <i>Otimização utilizando planejamento Doehlert para três fatores.....</i>	80
<b>8.6 Estudo do volume de solução pré-concentrada.....</b>	<b>83</b>
<b>8.7 Estudo de possíveis interferentes.....</b>	<b>84</b>
<b>8.8 Parâmetros analíticos, validação e aplicação do método de pré-concentração em linha.....</b>	<b>85</b>
<b>9 CONCLUSÃO.....</b>	<b>89</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>90</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A necessidade de se controlar e monitorar a concentração de contaminantes químicos orgânicos e inorgânicos em amostras alimentícias e ambientais é inquestionável, tendo em vista os diversos malefícios que tais substâncias podem trazer à saúde humana e ambiental. Atualmente, observa-se grande exposição humana a estes produtos, estando o homem direta ou indiretamente sob o efeito advindo muitas vezes do uso abusivo de produtos químicos, mau uso dos recursos hídricos, inconsequente devastação e impacto ambiental.

Segundo a resolução nº001/1986 do Conselho Nacional do Meio Ambiente, o Impacto Ambiental está relacionado às alterações do meio ambiente, provenientes das atividades humanas, as quais afetam, por exemplo, a saúde e segurança da população, a biota e qualidades dos recursos hídrico (CONAMA, 1986). A contaminação química dos ambientes aquáticos é uma das importantes causas de impactos ambiental. Devido à natureza cancerígena e alta toxicidade de alguns poluentes orgânicos e inorgânicos, o problema se torna ainda maior considerando que estes compostos podem se distribuir nos diversos compartimentos ambientais em diferentes formas, as quais podem diferir em seu potencial tóxico dependendo da forma e concentração em que estes são encontrados (LI et al., 2016).

Os principais poluentes incluem os praguicidas e subprodutos; produtos farmacêuticos; medicamentos veterinários, subprodutos de desinfecção de água potável; aditivos de gasolina e industriais; toxinas; organoestânicos; agentes de guerra química; hidrocarbonetos aromáticos e seus derivados, e metais pesados ( (BURROWS et al., 2002); (OBANDO; ESTELA; CERDÀ, 2008; PEDROUZO et al., 2007); RODRIGUEZ-MOZAZ; LOPEZ DE ALDA; BARCELÓ, 2007). Tais poluentes podem apresentar elevada toxicidade mesmo em baixas concentrações, o que dificulta muitas vezes o correto monitoramento e avaliação dos ambientes contaminados.

Neste sentido, pesquisas nesta área buscam melhorias e procedimentos que permitam a quantificação dos diversos poluentes mesmo em concentrações traço. A extração em fase sólida é uma estratégia frequentemente aplicada no tratamento de amostras com objetivo de eliminar interferentes que possam comprometer seu desempenho e/ou conferir ganho de detectibilidade (JAL P.K., PATEL S., 2004). Dentre as estratégias de obtenção de materiais extratores tem-se os polímeros sintéticos que contêm monômeros funcionais como: 1-vinilimidazol, ácido acrílico, ácido metacrílico e 1-vinil-1,2,4 triazol (RIVAS; QUILODRÁN; QUIROZ, 2004). O monômero funcional 4-vinilpiridina se destaca principalmente devido a sua estrutura rígida, elevada estabilidade química em ampla faixa de pH, alta capacidade de adsorção e regeneração

(VAN DEN BERGH; VAN DE VOORDE; DE VOS, 2017). Essas características tornam o polímero poli(4-vinilpiridina) um adsorvente de grande potencialidade na pré-concentração de espécies orgânicas como os compostos fenólicos. Assim, neste trabalho o polímero poli(4-vinilpiridina) foi investigado quanto à sua capacidade de adsorção para espécies fenólicas.

Além dos extratores supracitados, o grafeno figura-se como um material promissor, uma vez que suas diferentes estruturas tem atraído considerável atenção, principalmente devido à sua elevada condutividade elétrica e térmica, elevada área superficial específica e grande resistência mecânica (PUMERA et al., 2010). Suas propriedades podem ser ainda melhores com a obtenção de aerogéis de grafeno em redes interligadas em três dimensões (GA-3D), os quais possuem elevada porosidade e um sistema de elétrons  $\pi$  deslocalizados que pode formar fortes interações hidrofóbicas com diferentes moléculas, o que os torna bons candidatos para uso como adsorvente no preparo de amostras (SITKO; ZAWISZA; MALICKA, 2013). Assim, neste trabalho além da extração de clorofenóis usando polímero poli(4-vinilpiridina), também investigou-se o potencial adsortivo de íons cádmio em aerogel de grafeno (GA-3D).

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os tópicos a seguir descrevem os pontos mais relevantes relacionados a este trabalho.

### 2.1 Contaminação ambiental e saúde pública

O aumento da população mundial e conseqüente reflexo na degradação das riquezas naturais tornaram alvo de grande preocupação, uma vez que essas atividades podem afetar, por exemplo, a saúde dos seres vivos, produção de alimentos, setor industrial, qualidade do ambiente e a economia do país. A descuidada exploração dos recursos hídricos tem contribuído com a escassez e contaminação das águas de lagos, rios, mares e represas em várias regiões, representando riscos à saúde humana, flora e fauna (ZHUYIN SUI, et al., 2012).

Na busca por novas estratégias que permitam melhorias na produção e atendimento as demandas do mercado, o crescimento da indústria alimentícia, agricultura e piscicultura muitas vezes se dão sem grandes cuidados, baseando-se, por exemplo, no uso de diferentes fertilizantes, praguicidas, formulações farmacêuticas, preservativos e outros produtos químicos que garantam a produção, mesmo que ainda pouco se conheça sobre os efeitos destes ao meio ambiente, a saúde de produtores e consumidores (MALIK; BLASCO; PICÓ, 2010).

Comumente usadas no tratamento de infecções bacterianas, com propósitos profiláticos ou como suplementos ilegais em rações, tais substâncias podem chegar à população por via oral, seja pela ingestão de alimentos ou águas contaminadas (KANTIANI et al., 2010). Dentre os problemas mais evidentes associados ao uso abusivo destes compostos destacam-se as contaminações de corpos aquáticos, efeitos fisiológicos e hormonais nos ciclo reprodutivos de diferentes espécies, mortandade da fauna, além de oferecer riscos ao ser humano como: desenvolvimento de câncer, malformação, danos ao sistema nervoso, alteração do sistema endócrino e até levar a morte (WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION), 2004).

Espécies potencialmente tóxicas, bem como seus produtos de degradação ao alcançarem os sistemas aquáticos estão sujeitas a processos como vaporização, diluição e degradação podendo estar distribuídos principalmente no sedimento, detritos em suspensão, planktons, invertebrados aquáticos e peixes (BLAIR et al., 2017). Quando acumulados, tais formas podem acumular-se e sofrer a biomagnificação, onde sua concentração tenderá a um aumento progressivo ao longo da cadeia alimentar (COLIN BAIRD, 2006). Além de possíveis contaminantes orgânicos, observa-se também um considerável aumento da exposição humana aos metais potencialmente

tóxicos. O excesso destes, mesmo em quantidades traço, pode causar efeitos danosos sobre os processos metabólicos normais, alterando a produção e atividade dos neurotransmissores, funções cerebrais, causando ainda a disfunção dos sistemas gastrintestinal, neurológico, cardiovascular e urológico (PADULA et al., 2006).

Por outro lado, há também uma preocupação com relação aos metais essenciais, isso porque a maior parte dos metais encontrados no organismo humano (essenciais ou não essenciais) apresenta alta reatividade química e atividade biológica, quando na forma de íons, radicais ou complexos metálicos. Assim, podem tornar-se nocivos dependendo da quantidade ingerida e de outras condições associadas à exposição como tempo, frequência e susceptibilidade do organismo exposto (MIDIO; MARTINS, 2000).

Considerando os setores de produção de alimentos de origem animal, observa-se no Brasil o considerável crescimento das atividades de piscicultura, que por estarem relacionadas ao uso da água estão diretamente sujeitas aos efeitos de seus contaminantes. Tal fato põe em discussão o papel da segurança alimentar associado à aquicultura intensiva. Porém, limitações como tipo e quantidades de resíduos de contaminantes nos alimentos, dificultam a melhor avaliação das consequências destes sobre a segurança alimentar e saúde humana (SAPKOTA et al., 2008).

## **2.2 Tratamento de esgoto e poluição dos corpos d'água**

Visando diminuir os impactos ambientais referentes ao lançamento direto de esgotos nos corpos aquáticos, surgem as Estações de Tratamento de Efluentes (ETE's). Em pleno funcionamento, as ETE's possuem como principal função colaborar no processo de tratamento do esgoto gerado no uso doméstico e industrial, tendo como objetivo a remoção da matéria orgânica, com eficiência do tratamento secundário de aproximadamente 80% de eficiência (CETESB, 2007). Após esse tratamento, os efluentes são então descarregados em corpos d'água com os padrões estabelecidos por lei (CARMO, 2000). O Conselho Nacional de Meio Ambiente por meio da Resolução nº430/2011 (CONAMA), dispõe sobre os padrões de lançamento para despejo em um corpo receptor e estabelece o tratamento adequado do efluente (CONAMA, 1986).

Entretanto, alguns estudos mostram que apesar da ação das estações de tratamento de esgoto na remoção da matéria orgânica, a situação dos corpos d'água continua ruim (CARMO, 2000). Um dos pontos a ser considerado é que a eficiência desse tratamento no que tange à

eficaz remoção dos contaminantes químicos é questionável e sugere uma possível contribuição dos despejos oriundos das ETE's nos níveis de contaminação e eutrofização dos corpos receptores. Os efluentes das ETE's podem conter matéria orgânica proveniente dos esgotos, compostos químicos orgânicos e inorgânicos entre outros possíveis contaminantes, que sob concentrações elevadas são prejudiciais à biota (PEREIRA NAVARRO LINS et al., 2017)

A presença de compostos orgânicos e inorgânicos em excesso no ambiente aquático pode interferir na eficiência das estações de tratamento, bem como na biota dos corpos receptores, principalmente devido às alterações referentes às quedas nas concentrações de oxigênio dissolvido na coluna d'água, carga excessiva de nutrientes, interferências na alimentação e ciclo reprodutivo dos organismos, além de efeitos tóxicos a eles associados (HAMADA et al., 2011). Podendo ser observados ainda alteração na coloração e turbidez da água, redução da aquicultura e balneabilidade e em casos extremos, ocasionar à mortandade de peixes ou outros prejuízos à fauna (SILVA et al., 2018).

A cidade de Alfenas, localizada no sul do estado de Minas Gérias, com população aproximada de 78 mil habitantes, é um exemplo de cidade em que o tratamento de esgoto tem sido aplicado desde 2010 (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Antes do início da captação pela ETE, a carga de esgoto era distribuída entre os córregos Boa Esperança, Pedra branca (Aflitos), Vale do Sol, Vila Teixeira, Chafariz, Vista Alegre e principalmente nos córregos Pântano (Clube Náutico) e Ferradura que deságuam no reservatório de Furnas. O córrego da Ferradura e Pedra Branca, por terem suas nascentes no Parque Municipal e percorrerem a cidade de Alfenas até o reservatório de Furnas estão sujeitos à intensa ação antrópica. O córrego do Pântano possui largura média de 2m e extensão de 3 Km e caracteriza-se por receber esgoto de alguns bairros residenciais da cidade de Alfenas e também efluentes industriais de setores como siderurgia, químico, alimentício e têxtil (RODRIGUES et al., 2013).

A ETE de Alfenas foi inaugurada em junho de 2010, com capacidade para tratar mais de 34 milhões de litros de esgoto por dia. Segundo dados da Companhia de Saneamento de Minas Gerais, após sua inauguração 20 % do esgoto da cidade eram captados, tratados e posteriormente lançados no reservatório da Usina Hidroelétrica de Furnas- MG (UHE). Em outubro de 2012 o volume de esgoto captado da cidade de Alfenas e tratado pela ETE atingiu 88%, com a captação do esgoto lançado no córrego da Ferradura. Após sua implantação, o esgoto captado dos pontos citados acima passou a ser tratado e posteriormente lançado na região do Clube Náutico, onde deságua o córrego do Pântano. Além disso, essa região caracteriza-se pela atividade agropecuária, destacando-se principalmente o cultivo de café e cana e pela

intensa atividade de piscicultura, não muito distante do ponto de lançamento de efluentes da ETE, tendo em vista a grande quantidade de tanques redes como criadouros de tilápia.

Considerando que anteriormente a carga de esgoto era distribuída entre vários pontos do reservatório de Furnas, acredita-se que, mesmo com o eficiente tratamento do esgoto na remoção de matéria orgânica, o maior volume de esgoto lançado em uma localização pontual, como o Clube Náutico, pode contribuir com a maior degradação dessa região e seus arredores. Segundo o Instituto Internacional de Ecologia (2000), o despejo de esgotos e a presença de compostos químicos em reservatórios brasileiros têm contribuído com a eutrofização dos ambientes nas últimas décadas.

### **2.3 Contaminantes Orgânicos**

Ao longo de várias décadas, muitos foram os produtos químicos utilizados no cultivo agrícola, com intuito de atender a demanda alimentícia. Dentre esses, a classe dos organoclorados destaca-se pelo intenso uso e efeitos residuais observados mesmo muitos anos após sua proibição (COSTA DE MIRANDA, 2006). Diante de sua capacidade de acumulação na cadeia trófica e persistência no ambiente, estes foram substituídos pela classe dos organofosforados, sendo o glifosato (Roundup®) o mais utilizado, correspondendo a cerca de 10% dos defensivos agrícolas consumidos (OBANDO; ESTELA; CERDÀ, 2008).

Sabe-se que a ação do homem pode afetar significativamente as condições ambientais uma vez que em ambientes eutróficos, por exemplo, a elevada carga de matéria orgânica dissolvida na água pode favorecer a solubilidade de compostos tóxicos como organoclorados e bifenilos policlorados, além de promover processos de adsorção associados aos materiais em suspensão (biótica ou abiótica), o que beneficia a presença desses na água. Assim, fatores como a estratificação da coluna d'água, quantidade de material em suspensão, variações climatológicas, nível da represa, distribuição vertical de oxigênio e o funcionamento do ecossistema são fundamentais na biodisponibilidade de contaminantes químicos em ambientes aquáticos (CARMO, 2016).

Em ambientes com grande variabilidade de volume e fluxo de água os materiais fluviais contendo compostos tóxicos ou não podem assentar-se em períodos de baixo fluxo ou sob condições de morbidez, tendo seu destino no sedimento. Assim, o sedimento comporta-se como receptor de poluentes persistentes via sedimentação. Essa característica torna esse

compartimento um bom indicador do grau de contaminação do ambiente (MAHPISHANIAN; SERESHTI, 2016).

Os praguicidas organofosforados são alguns dos poluentes mais comuns e mais tóxicos amplamente utilizados na agricultura, podendo facilmente ser lixiviados e migrar por vários compartimentos ambientais. Tais contaminantes, bem como seus produtos de degradação podem causar efeitos tóxicos ou deletivos à saúde humana mesmo em baixos níveis (MOTTA VEIGA et al., 2006). Alguns estudos reportam a presença dessa classe de praguicidas em águas públicas, rios e em águas do reservatório de Furnas-MG (DOS SANTOS NETO; DE SIQUEIRA, 2005).

Os clorofenóis também usados como praguicidas, principalmente na forma de Pentaclorofenol (PCP) e seus sais, apresentam alta toxicidade estando seu uso relacionado as atividades potencialmente poluidoras previstas na resolução nº 005, de 20 de novembro de 1985, do Conselho Nacional do Meio Ambiente . Devido ao largo espectro de eficiência e custo baixo o PCP possui uma variedade de aplicações no campo industrial, agrário e doméstico, sendo frequentemente inseridos no ambiente como subprodutos de processos industriais, águas residuárias cloradas, produtos de degradação de praguicidas. Por apresentarem elevada toxidez aos animais terrestres e vida aquática as formas 2-amino-4-clorofenol, 4-cloro-3-metilfenol, 2-clorofenol, 3-clorofenol, 4-clorofenol, pentaclorofenol, 2-nitrofenol, triclorofenóis, 2-4-dinitrofenol, 2-4-dimetilfenol, 2,4,6-triclorofenol são classificadas pela Agência de Proteção Ambiental dos EUA (USEPA) como importantes poluentes ambientais (ANNA OUBINA, 1997).

A extensão da periculosidade associada à contaminação por esses compostos, embora dificilmente percebida, pode alterar processos fisiológicos, bioquímicos e morfológicos de peixes do homem e de outros animais (SANCHO, 1992). Os danos se estendem de tal maneira que as alterações nos ciclos naturais podem diminuir a resiliência dos ambientes por promoverem o desequilíbrio ecológicos. O Quadro 1 apresenta as possíveis origens de clorofenóis no ambiente.

Quadro 1 - Possíveis origens de vários clorofenóis.

Compostos	Origens	Tipos de praguicidas
2-Clorofenol	2,4-D	Herbicida
3-Clorofenol	PCP (pentaclorofenol)	Fungicida
4-Clorofenol	Cloroxuron	Herbicida
2,6-Diclorofenol	Lindano	Inseticida
	VC-13	Inseticida
2,4-Diclorofenol	m-Diclorobenzeno	Fumigante
	2,4-D	Inseticida
2,3-Diclorofenol	Lindano	Inseticida
	$\sigma$ -Diclorobenzeno	Fumigante
	Lindano	Inseticida
2,5-Diclorofenol	$\rho$ - Diclorobenzeno	
	2,4,5-T	Herbicida
	PCP	Fungicida
3,4- Diclorofenol	$\sigma$ -Diclorobenzeno	Fumigante
	Diuron	Herbicida
3,5- Diclorofenol	Lindano	Inseticida
	PCP	Fungicida
2,3,4-Triclorofenol	Lindano	Inseticida
2,3,5-Triclorofenol	Lindano	Inseticida
	PCP	Fungicida
2,3,6-Triclorofenol	Lindano	Inseticida
	Ronnel	Inseticida
	Tetraclorovinila	Inseticida
	Erbon	Herbicida
2,4,5-Triclorofenol	2,4,5-T	Herbicida
	HCB (Hexaclorobenzeno)	Fungicida
2,4,5-Triclorofenol	Lindano	Inseticida
3,4,5-Triclorofenol	Lindano	Inseticida
	HCB	Fungicida
2,3,5,6-Tetraclorofenol	PCP	Tipo de pesticida
2,3,4,6-Tetraclorofenol	PCP (impuro)	Fungicida
	Lindano	Inseticida
	PCP	Fungicida
2,3,4,5-Tetraclorofenol	Lindano	Inseticida
	HCB	Fungicida
	PCP	Fungicida
	Lindano	Inseticida
Pentaclorofenol	HCB	Fungicida
	PCNB(pentacloronitrobenzeno)	Fungicida

Fonte: (FLORES et al., 2006).

## 2.4 Contaminação por metais pesados

As atividades antropogênicas abusivas e seus impactos no solo, água e ar, fazem da cadeia alimentar principal porta de entrada para substâncias tóxicas. Os elementos metálicos em especial, são agentes importantes nessa questão pois dependendo da forma o excesso destes, mesmo em quantidades traço, pode causar sérios danos ao ser humano. A atividade química e biológica dos metais e conseqüentemente o efeito sobre o organismo estão associados ao tempo, frequência e susceptibilidade do organismo exposto e podem ser agravados de acordo com a forma em que eles se encontram, radicais, íons ou complexos (PADULA et al., 2006).

O cádmio é um metal pesado e não possui funções biológicas vitais para os seres humanos. Portador de elevada toxicidade, mesmo em baixa concentração esse elemento representa perigo ao ambiente, necessitando assim de monitoramento. As principais fontes de contaminação ambiental são as atividades de mineração, indústrias de fundição, efluentes industriais, descarte de produtos contendo cádmio, como baterias e esgoto doméstico (BORGES, 2003). Além disso, o uso de lodos como fertilizantes agrícolas pode contaminar solos e conseqüentemente elevar a concentração de cádmio em cultivares (R. CAMERON, 1992).

Estudos referentes a toxicidade desse elemento confirmam efeitos danosos já em concentrações muito baixas de exposição. A situação é ainda mais preocupante diante dos dados apresentados pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer e a Comissão Européia (Carcinogênico Categoria 2; Anexo 1 da Diretriz 67/548/EECI) que o classificam como carcinógeno humano (grupo I). Diante de sua toxicidade as diretrizes norte-americanas estabelecem níveis 5.0 a 10  $\mu\text{g L}^{-1}$  para cádmio. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece para águas naturais de potável um limite 3  $\mu\text{g L}^{-1}$  (VAINIO et al., 1993). Enquanto para amostras alimentícias, a ingestão diária varia de 1,0 a 1,2  $\mu\text{g L}^{-1}$  de peso corporal (FAO/WHO, 1972).

Segundo o CONAMA, os níveis permitidos de cádmio em águas doces são 1  $\text{g L}^{-1}$  (Classe 1) e 10,0  $\text{g L}^{-1}$  (Classe 3), em águas salinas e salobras 5,0  $\text{g L}^{-1}$  (Classe 1), 40  $\text{g L}^{-1}$  (Classe 2) e 200  $\mu\text{g L}^{-1}$  para o cádmio presente em descarga de efluentes (CONAMA, 2005).

Frente ao panorama apresentado e tendo em vista a contaminação por cádmio, prever a concentração desse elemento mesmo em concentrações traço não é apenas um aspecto importante da qualidade do alimento mas sim um problema de saúde pública. O presente trabalho visa contribuir com essa questão permitindo o monitoramento desse

contaminante em amostras ambientais. Ciente dos níveis de concentração para cádmio podem ser muito baixos e que a matriz da amostra pode ainda estar sujeita a possíveis interferentes, a separação/pré-concentração em fase sólida, com sua melhoria na detectabilidade das espécies é uma potencial aliada nessa tarefa.

## 2.5 Materiais extratores em fase sólida

No sentido de permitir a quantificação de espécies de interesse nas mais variadas amostras, as ciências analíticas têm evoluído significativamente. Contudo, apesar dos avanços instrumentais ocorridos nas últimas décadas, mesmo técnicas com reconhecida sensibilidade muitas vezes necessitam de uma etapa de extração com objetivo de eliminar interferentes que possam comprometer seu desempenho, bem como pré-concentrar os analitos de interesse. Esses passos de extração/pré-concentração inserem-se dentro do conceito de “Preparo de amostra” e visam à conversão da amostra “*in natura*” em uma forma apropriada para análise.

Adicionalmente, dependendo do procedimento adotado, tal etapa pode conferir ganho de sensibilidade. Procedimentos deste tipo são de grande valia, principalmente para as técnicas que apresentam limitações no que diz respeito aos limites de detecção e tolerância a íons/compostos concomitantes interferentes, uma vez que a pré-concentração do analito tende a melhorar a detectabilidade e permitir sua aplicação para o monitoramento de espécies em quantidades traço em amostras ambientais, alimentícias e biológicas.

Alguns dos métodos descritos na literatura para este fim são: a extração por ponto nuvem, extração em fase sólida (SPE), extração líquido-líquido, microextração em fase sólida. Dentre esses, a extração líquido-líquido é o método tradicional para o preparo de amostra, porém esse procedimento pode envolver várias etapas, o que conduz a menor precisão e difícil automação (MOLINA; NECHAR; BOSQUE-SENDRA, 2005). Em contrapartida, a SPE é particularmente atrativa pela sua eficiência, simplicidade, elevado fator de pré-concentração, rápida separação de fase, ausência de emulsão, disponibilidade de vários adsorventes, custo relativamente baixo, flexibilidade, facilidade de automação e fácil adaptação em sistemas por análise em fluxo.

Estratégias como SPE tem impulsionado a busca crescente por novos materiais eficazes e econômicos para serem utilizados como fases extratoras em sistemas de pré-concentração/especificação. É desejável que tais materiais possuam matriz porosa insolúvel com

alta estabilidade química, elevada área superficial e grupos ativos que permitam a interação com íons metálicos (BARBOSA, 2007)

Neste contexto, há um vasto número de materiais adsorventes disponíveis comercialmente. Dentre eles, a alumina, carvão ativado, sílica gel, silicato de magnésio (Florisil), fases quimicamente ligadas e resinas poliméricas. Contudo, são reportados alguns inconvenientes como o comportamento da sílica para uma estreita faixa de pH e a baixa seletividade de algumas resinas poliméricas. Visando contornar limitações como essas, recentes desenvolvimentos em SPE apontam para a síntese de adsorventes alternativos, de baixo custo e mais seletivos, dentre os quais merecem destaque os materiais celulósicos incluindo farelo de arroz, casca de pinheiro, semente de palma, celulose modificada, bagaço de cana e os materiais sintéticos, tais como espuma de poliuretano e os nanomateriais, como dióxido de titânio e alumina. Os nanotubos de carbono também têm sido frequentemente aplicados como material adsorvente, demonstrando bom desempenho na adsorção de metais (GUO-ZHEN; JIN; XIU-PING, 2005)

Outra abordagem que utiliza bioadsorventes (anticorpos) e adsorventes polímeros com impressão molecular (MIP) ou iônica (IIP), baseados no princípio da interação antígeno-anticorpo, tem demonstrado sucesso em sistemas de extração em fase sólida [66]. Materiais extratores baseados na modificação de superfície da sílica também são reportados e mostram a grande potencialidade desses para a extração de elementos traços. Alguns exemplos são: a sílica modificada com fosfato de zircônio, óxido de nióbio(V), óxido de titânio(IV), óxido de zircônio (IV), óxido de alumina e nióbio, sílica(tiofeno-2carbaldeído, sílica(2-mercaptopirimidina), e sílica (3-mercaptopropil-trimetoxisilano) (TABAKCI; ERDEMIR; YILMAZ, 2007).

Recentemente os materiais magnéticos vêm ganhando espaço e um número crescente de estudos tem se concentrado no uso destes na adsorção e separação, a chamada extração em fase sólida dispersiva. Tal extração baseia-se na combinação de um material inorgânico magnético e um material adsorvente não magnético, originando fases sólidas com características interessantes de ambos os materiais. Essa estratégia apresenta excelente eficiência de adsorção e rápida separação por meio de campo magnético externo, tendo apresentado significativas vantagens à ciência de separação.

Trabalhos descritos na literatura reportam ainda a eficiência do grafeno nas ciências de separação, principalmente devido as suas atraentes propriedades físico-químicas como elevada área superficial, estabilidade química e térmica excelentes. Qiang Hana, Qionglin Lianga descrevem a aplicação de poluentes em água. Na Li *et al.* descrevem o uso de partículas

magnéticas de grafeno na determinação de praguicidas. Fu *et al.* sintetizaram material magnético baseado em óxidos de grafeno para especiação de Se ( IV ) e Se ( VI ) em água (SEGATELLI *et al.*, 2010)

### 2.5.1 *Poli(4-vinilpiridina) na extração em fase sólida*

As várias unidades de repetição compõe uma macromolécula com cadeias poliméricas de elevada massa molecular da poli(vinilpiridina). Essas cadeias poliméricas podem ser sintetizadas utilizando o 2,2'-azo-bis-iso-butironitrila (AIBN) como iniciador radicalar, embora com menor frequência também possam ser empregados o azo-bis-dimetilvaleronitrila, dimetilacetal de benzila e peróxido de benzoíla (DA COSTA MACHADO *et al.*, 2013).

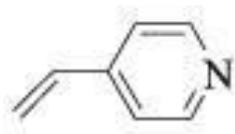
Visando obter polímeros com rápida transferência de massa, térmica e mecanicamente estáveis o reagente de ligação cruzada mais utilizado é o etilenoglicol dimetacrilato (EGDMA). Porém também podem ser empregados N,N'-metileno-bis-acrilamina, N,O-bisacrilóila-L-fenilalaninol, N,N'-fenil-endiacrilamida e trimetilpropano trimetacrilato (TRIM) (G CORMACK; ELORZA, 2004).

Dentre os monômeros destacam-se os ácidos acrílico, meta-acrílico, p-vinilbenzóico, a amino metacrilamida, 4-Vinilpiridina, 2-Vinilpiridina, 4-Vinilimidazole, 1-Vinilimidazole e acrilamida. Contudo, a escolha do monômero depende intimamente do tipo de analito alvo (TARLEY; SOTOMAYOR; KUBOTA, 2005). Assim, a escolha do monômero está intimamente relacionada ao analito, monômeros como a vinilpiridina que possuem em sua estrutura grupos básicos tendem a interagir melhor com espécies contendo grupos ácidos. Igualmente, monômeros que apresentam caráter ácido interagem mais facilmente com analitos básicos (ANDERSSON, 1984)

A interação analito-monômero pode ocorrer através de ligações covalentes ou não covalente, ligações de hidrogênio, interações iônicas, interações hidrofóbicas e dipolo-dipolo. Assim, unidos por forças de atração intramoleculares (predominantemente ligações covalentes) e intermoleculares como pontes de hidrogênio e forças de Van der Waals esses polímeros apresentam importantes propriedades físico-químicas (CANEVAROLO, 2010)

A poli(vinilpiridina) particularmente é composta de uma cadeia alifática ligada por anéis piridínicos de seis membros (Figura 1), podendo ser poli(4-vinilpiridina) (P4VP) e poli(2-vinilpiridina) (P2VP).

Figura 1- Estrutura da vinilpiridina.



Fonte: (CHEN; ZHAO; ZHANG, 2017)

Sob o ponto de vista da estrutura monomérica, a vinilpiridina possui uma ligação  $N=$  com par de elétrons livres não envolvidos no sistema conjugado no anel e pode, portanto, ligar-se aos prótons (YANOVSKA et al., 2017). Ademais, o caráter polar da molécula de poli(vinilpiridina) confere a esse material possibilidade de interação com outras moléculas polares. Assim, essas propriedades tornam a piridina uma molécula alcalina com capacidade de coordenar com íons metálicos e interagir satisfatoriamente com moléculas orgânicas, o que a torna atraente em procedimentos de extração pré-concentração dessas espécies.

Aproveitando-se das diversas propriedades relacionadas a esse material, os trabalhos reportados na literatura descrevem a aplicação da poli(vinilpiridina) como fase extratora de íons metálicos como  $Mn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$  e  $Ni^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Cr^{3+}$ ,  $Zn^{2+}$  [85-87]. Além disso, esses polímeros também apresentam resultados satisfatórios no que tange a adsorção de espécies orgânicas. Bergh et al. descrevem a aplicação de poli(4-vinilpiridina) na adsorção de ácido cítrico, outros trabalhos baseados nesse material extrator descrevem estudos na para determinação de corantes e proteínas (BEHBAHANI et al., 2016).

### 2.5.2 Grafeno como material extrator

O carbono é um importante elemento químico capaz de formar alótropos com diferentes dimensionalidades, as quais podem ser classificadas como fulerenos (0D), nanotubos (1D), grafenos (2D), grafite (3D) e ainda estruturas amorfas. Essa versatilidade está diretamente relacionada à sua capacidade de interagir com outros átomos através dos mais diferentes orbitais híbridos ( $sp$ ,  $sp^2$  e  $sp^3$ , nas ligações sigma ( $\sigma$ )), além da formação de ligações múltiplas (uma ou duas ligações pi ( $\pi$ )), nos orbitais “p” puros restantes (não híbridos) (ZARBIN; OLIVEIRA, 2013)

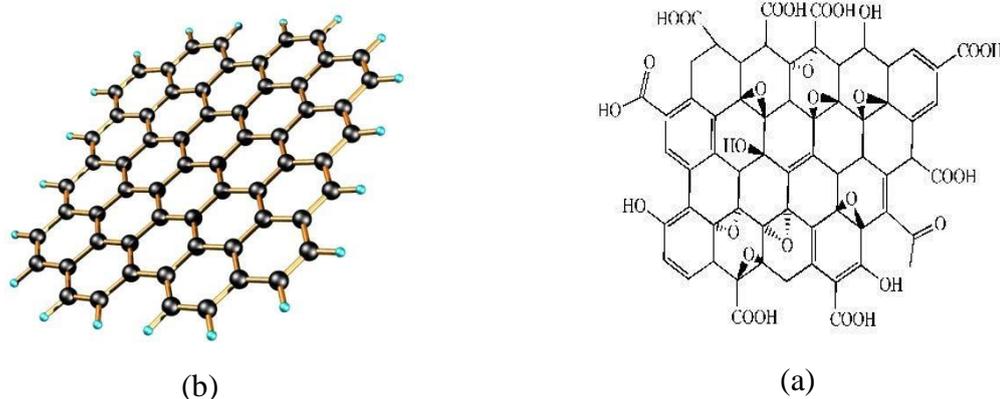
Sintetizado no ano de 2004, o grafeno é uma nova classe de nanomateriais de carbono que tem despertado grande interesse devido a sua estrutura bidimensional com propriedades excelentes em termos de condutividade elétrica, grande resistência mecânica, elevada área

superficial, possibilidade de funcionalização química. Por essas características o grafeno tem sido alvo de pesquisas e aplicações nas áreas de eletrônica, compósitos, geração e armazenamento de energia, sensores, bioaplicação e meio ambiente. Tais materiais têm demonstrado excelente desempenho como extratores na remoção de poluentes ambientais, incluindo metais pesados, corantes, compostos orgânicos. As potencialidades do grafeno e grande eficiência de adsorção, que o tornam particularmente atrativo para uso em sistemas de extração em fase sólida, podem ser principalmente atribuídas a sua elevada área superficial, aos grupos funcionais presentes na sua superfície, rápida transferência de elétrons (SHEN; FANG; CHEN, 2015).

Devido a sua estrutura hexagonal e larga deslocalização de elétrons- $\pi$  (Figura 2), o grafeno pode formar fortes interações hidrofóbicas com moléculas orgânicas, o que o torna um bom adsorvente para compostos desse tipo. Contudo, as estruturas bidimensionais de grafeno podem aglomerar-se ou empilhar-se em grafite, o que pode reduzir sua área superficial específica, prejudicando a eluição do analito. Visando contornar essa limitação estudos mostram as potencialidades da síntese de estruturas de Grafeno 3D. Essa rede de grafenos, interligados tais como aerogéis, fornece elevada área superficial específica, resistência mecânica alta, grande volume de poros, rápida cinética no transporte de massa e elétrons, menor densidade (XING-LILIU et al., 2014). No entanto, a aplicação de aerogéis de grafeno 3D como adsorvente para extração em fase sólida de poluentes químicos, é um campo a ser explorado.

Os aerogéis de grafeno, considerados os sólidos mais leves do mundo e altamente porosos, apresentam vantagens incluindo melhorias na capacidade de absorção, eficácia e facilidade de separação. Trabalhos reportam ainda que a dopagem desses materiais com outros elementos, como N, ZnO, TiO, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, SnO<sub>2</sub>, MnO<sub>2</sub> e Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> é possível e pode trazer vantagens adicionais ao material (LI; CHEN; SHI, 2015).

Figura 2 - Estrutura do grafeno (a) e do óxido de grafeno (b)



Fonte: (GERANI; MORTAHEB; MOKHTARANI, 2016).

Além da extração em fase sólida, a combinação dos métodos analíticos com sistemas eficientes de detecção de diferentes classes de contaminantes orgânicos ou inorgânicos são importantes aliados na resolução, minimização ou monitoramento da poluição ambiental. Dentre os equipamentos frequentemente voltados para esse fim, destaca-se a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE; em inglês: *High performance liquid chromatography*, HPLC) pela sua versatilidade e ampla aplicação na separação, identificação e quantificação de espécies orgânicas. Por outro lado, a Espectrometria de Absorção Atômica (AAS; do inglês: *Atomic Absorption Spectrometry*) figura-se como uma técnica de grande eficácia nas análises elementares.

## 2.6 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Segundo Lanças (2009), em função da diferença de interação do analito com a fase estacionária e fase móvel, os componentes de uma mistura podem migrar de maneira diferencial pela coluna cromatográfica, podendo assim ser separados (SOUSA; BARBOSA, 2009). Em função de sua versatilidade, eficiência, sensibilidade e poder de resolução, as técnicas cromatográficas figuram-se entre as mais importantes técnicas de separação (QUEIROZ; JUNIOR, 2017).

A Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE, no inglês *High Performance Liquid Chromatography*), aliada ao uso de detectores como Índice de Refração, Ultravioleta, Espalhamento de luz, Fluorescência e outros, apresenta ampla aplicação na quantificação de diversas espécies iônicas, ionizáveis, não iônicas, polares e apolares sendo considerada uma

ferramenta útil nas áreas química, forense, farmacêutica, toxicológica, alimentos e clínica. (QUEIROZ; JUNIOR, 2017).

Em função da crescente demanda, a CLAE evolui de maneira significativa na busca por determinações cromatográficas de alta seletividade e detectabilidade para quantificações rápidas em níveis traço mesmo em amostras complexas. Assim, os sistemas mais modernos operam sob altas pressões ( $> 1500$  psi), fazendo uso de diferentes fases seletivas com porosidade total ou superficialmente porosas com  $d_i < 2 \mu\text{m}$ ; colunas monolíticas, que nas separações rápidas em baixa pressão e com sistemas de acoplamento sequencial de colunas para extração e/ou separação multidimensional (CAMPÍNS-FALCÓ; HERRÁEZ-HERNÁNDEZ; SEVILLANO-CABEZA, 1993).

### *2.6.1 Cromatografia líquida de alta eficiência em modo Column switching*

Embora possua inquestionáveis vantagens em termos de parâmetros analíticos de quantificação das espécies de interesse, as análises cromatográficas podem apresentar inconvenientes dependendo do tipo de amostra. Os efeitos de espécies concomitantes presentes nas amostras sob o sinal analítico será refletido no resultado final e, portanto considerável atenção deve estar voltada nessa etapa. A magnitude dessa interferência cresce significativamente com o aumento da complexidade da amostra.

Aliado a isso geralmente os compostos de interesse estão presentes em baixas concentrações nessas amostras, o que pode dificultar ainda mais a obtenção de bons resultados e quantificação do analito. Assim, considerando a necessidade de procedimentos de sensibilidade adequada e sabendo do grande número de substâncias que podem estar presentes nas amostras ambientais, especialmente em ambientes eutrofizados, os procedimentos de pré-tratamento de amostras e enriquecimento do analito são de grande valia.

Neste contexto, as técnicas de separação sequencial usando comutação visam minimizar esses inconvenientes. Por meio de válvulas de comutação pode-se combinar variáveis relacionadas às colunas, reagentes, detectores e acoplar de forma sequencial colunas contendo diferentes fases estacionárias, diferentes dimensões e mecanismos de adsorção/separação).

A comutação de coluna refere-se assim na alteração da direção do fluxo da amostra e reagentes por meio de válvulas de maneira que um determinado volume de amostra passe pela primeira coluna (1D) cromatográfica por um tempo definido, para seletiva sorção do analito e/ou remoção dos componentes da matriz. Em seguida, a válvula é comutada e o eluato da

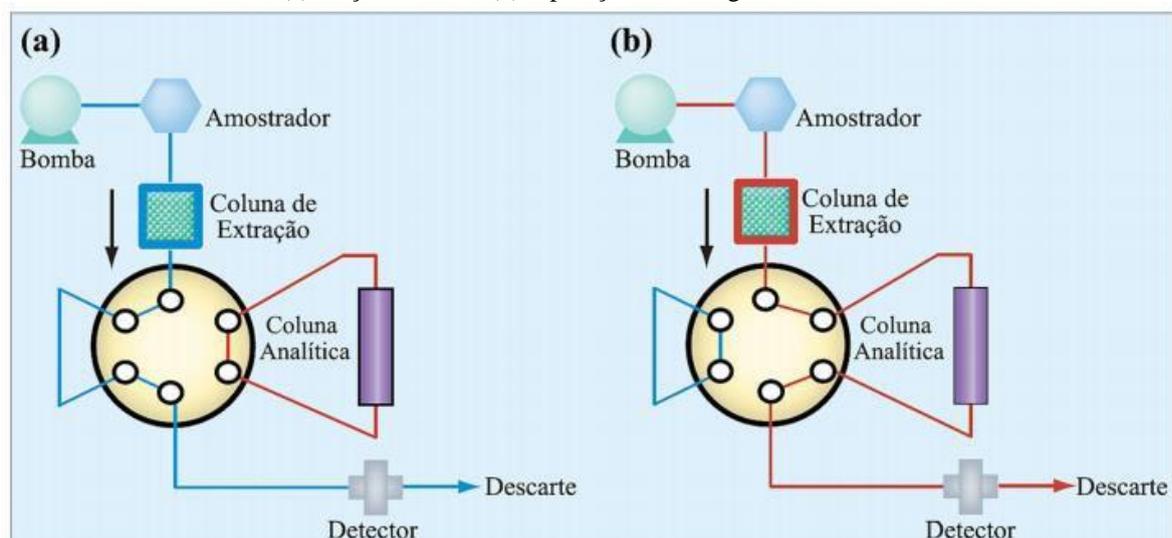
coluna primária é direcionado a segunda coluna (2D) para separação cromatográfica e detecção. A qual pode ser realizada por detectores como UV, arranjo de diodos, fluorescência e de espectrometria de massas (QUEIROZ; JUNIOR, 2017).

Com relação ao modo de eluição do analito na primeira dimensão os sistemas podem ser classificados em: direto (*forward-flush*), onde o fluxo de fase móvel e sorção possuem o mesmo sentido ou fluxo reverso (*back flush*), onde os sentidos são contrários (Figura

3 e 4). O sentido reverso apresenta maior eficiência na pré-concentração (maior fator de enriquecimento) dos analitos, pois a sorção ocorre na parte inicial da coluna o que provoca menor dispersão na etapa de eluição (QUEIROZ; JUNIOR, 2017).

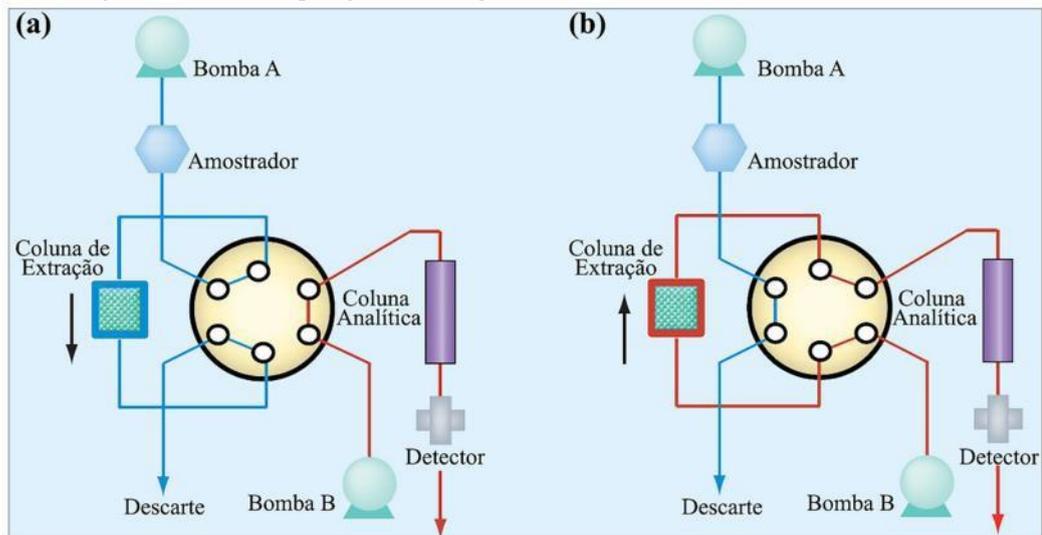
Os sistemas de comutação podem funcionar de maneira automática ou manual, sendo que os procedimentos automáticos ainda apresentam a vantagem adicional de permitir a completa automação da análise cromatográfica, conferindo maior eficiência ao método. Com o uso de dispositivos de comutação é possível transformar métodos *off-line* multietapas em procedimentos *on-line* de uma única etapa (CAMPÍNS-FALCÓ; HERRÁEZ-HERNÁNDEZ; SEVILLANO-CABEZA, 1993).

Figura 3 - Esquema do sistema de Cromatografia Líquida com acoplamento Column Switching, modo normal, forward -flush, (a) sorção seletiva, (b) separação cromatográfica.



Fonte: (QUEIROZ; JUNIOR, 2017)

Figura 4 - Esquema do sistema de Cromatografia Líquida no modo *Column Switching* (modo reverso (back flush)). (a) sorção seletiva, (b) separação cromatográfica.



Fonte:(QUEIROZ; JUNIOR, 2017)

O Quadro 2 apresenta, de maneira geral, as etapas usuais de preparo de amostra exigidos na extração em fase sólida e *Column Switching*. Como pode ser visto o número de etapas nos procedimentos realizados com *Column Switching* é drasticamente reduzido ou eliminado. Além disso, a hifenação da etapa de preparo da amostra com a separação cromatográfica conduz à melhor precisão e exatidão, menor tempo de preparo, maior seletividade e, portanto melhores resultados. O Quadro 3 resume as principais vantagens e desvantagens de técnicas *Column Switching* para preparo de amostra.

Quadro 2 - Procedimento para preparo de amostra por Extração em fase sólida e *Column Switching*.

<b>Extração em fase sólida</b>	<b>Column-switching</b>
Pipetar a amostra	Possivelmente centrifugação, filtração e / ou diluição da amostra
Adição de um padrão interno	Injeção
Condicionamento de cartucho	Rotação da válvula de comutação
Eluição da amostra	
Eliminação da matriz por Lavagem do cartucho	
Eluição do analito	
Evaporação de solvente	
Redissolução	
Filtração	
Injeção	

Fonte: (QUEIROZ; JUNIOR, 2017)

Quadro 3 - Principais vantagens e desvantagens da técnica *Column Switching* para preparo de amostra.

<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
Mínima manipulação de amostras	Requer válvulas de comutação e sistema de bombeamento
Processamento de amostra <i>on-line</i>	Troca de válvulas e colunas adicionais e / ou sistemas de bombeamento
Considerável redução de tempo	Requer fases móveis compatíveis
Possibilidade de automação total	
Maior precisão e precisão	
Melhoria na seletividade, combinando diferentes modos cromatográficos	
Pode-se evitar um padrão interno	
Menor consumo de solventes orgânicos	

Fonte: (QUEIROZ; JUNIOR, 2017)

## 2.7 Sistema de pré-concentração *on-line* FIA-FAAS

Baseando-se no princípio de que, os átomos gasosos livres ao absorverem radiação eletromagnética em comprimento de onda específico produzem um sinal mensurável, proporcional à concentração da espécie presente no caminho óptico, a Espectrometria de Absorção Atômica aferiu progressos essenciais na quantificação elementar. Ao longo dos anos, avanços instrumentais permitiram melhorias que elegeram a técnica importante ferramenta nas mais diversas áreas (J.ŘUŽIČKA; E.H.HANSEN, 1975). Contudo, benefícios adicionais podem ser alcançados combinando-se sistemas que ofereçam ganho de sensibilidade à técnica, a exemplo tem-se a pré-concentração em fase sólida.

Os métodos de quantificação de metais por extração em fase sólida podem ocorrer em batelada, onde a mistura analito/adsorvente é agitada e posteriormente o analito separado e levado à análise ou em fluxo, quando o adsorvente está em uma minicoluna por onde percola-se a amostra, posteriormente o analito é extraído com a solução eluente e introduzido no equipamento. Os sistemas de pré-concentração *on-line* apresentam maior rapidez, menor perda e minimizam a intercontaminação da amostra e consumo de reagentes, quando comparado ao batelada (ZAGATTO; OLIVEIRA; COLLINS, 1999). Neste cenário, a análise por injeção em fluxo (do inglês, *Flow Injection Analysis - FIA*), proposta por Ruzicka e Hansen em 1975, com sua versatilidade de adaptação são estratégias empregadas em sistemas de pré-concentração/extração *on-line* (RUZICKA; HANSEN, 1998).

Combinando tempo exato, dispersão controlada de amostra e reagentes, tais sistemas geram um gradiente de concentração no caminho até o detector correspondente ao sinal analítico. Fazendo uso de componentes como: bomba peristáltica, válvulas solenóides, comutadores, amostradores, colunas de sorção, alça de amostragem, filtros, bobina reacional, pontos de adição de reagentes, possibilitando diferentes configurações. A menor manipulação

da amostra, versatilidade, rapidez, reprodutibilidade, simplicidade e baixa geração de resíduos estão entre as principais vantagens desses sistemas (CASTRO, 1984).

Assim, a combinação da extração em fase sólida à Espectrometria de Absorção Atômica aliada às características vantajosas dos sistemas em fluxo, os chamados FIA-FAAS, culminam em procedimentos de fácil operação e custo relativamente baixo. Entretanto, melhor performance dos métodos de pré-concentração *on-line*, dependem das condições experimentais, dos diversos fatores que afetam o sistema, e, portanto especial cuidado deve ser dado na etapa de otimização.

## **2.8 Estratégia de otimização dos experimentos**

O bom desempenho de uma análise está diretamente relacionado às condições experimentais. Isso porque vários fatores podem interferir sobremaneira no resultado final. A busca pela melhor condição de trabalho é uma etapa muitas vezes morosa, porém essencial. Essa busca pode ocorrer por meio de procedimentos univariados, onde avalia-se os fatores separadamente ou por técnicas multivariadas de delineamento experimental. Quando realizada de forma multivariada, o estudo dos fatores pertinentes ocorre simultaneamente o que permite obter informações a respeito das interações entre os fatores, levando por vezes a menor número de experimentos, tempo de execução e consumo de reagentes (IMANDI et al., 2007).

Uma estratégia para a execução de procedimentos multivariados geralmente guia-se pela aplicação de um planejamento fatorial de dois níveis, seguida de planejamentos mais complexos, como a metodologia de superfície de resposta, para obter a função matemática entre os fatores significantes e a resposta analítica, a partir da qual é possível calcular a condição ótima. Deste modo, é possível explorar (modelar e deslocar) o sistema até que as melhores condições experimentais sejam atingidas (PERALTA-ZAMORA; MORAIS; NAGATA, 2005). Nesse trabalho aplicou-se a técnica univariada na busca pelas melhores condições de análise para determinação dos clorofenois por CLAE e a otimização multivariada para a quantificação de cádmio por FIA-FAAS.

### *2.8.1 Planejamentos fatoriais de dois níveis*

Frequentemente aplicados nos estudos iniciais, os planejamentos de dois níveis não oferecem investigação rigorosa do sistema, mas são válidos na previsão à cerca dos fatores que

interferem na resposta analítica. A matriz desses planejamentos são esquematizadas, em níveis codificados, (+) para o nível superior e, (-) para o nível inferior, em que a combinação de  $k$  fatores em dois níveis geram um planejamento fatorial completo composto de  $2^k$  experimentos. A partir dessa matriz de planejamento extrai-se a informação referente à mudança na resposta quando um fator passa do nível inferior (-) para o nível superior (+). Denominam efeitos principais quando motivado por um fator e de interação, quando proveniente da combinação entre dois ou mais fatores (segunda, terceira ou de ordem superior) (TEÓFILO; FERREIRA, 2006).

Tendo em vista que número de experimentos ( $N$ ) aumenta com o valor de  $k$  ( $k = 3$ ;  $N = 2^3 = 8$  ensaios;  $k = 5$ ;  $N = 2^5 = 32$  ensaios), uma alternativa é a aplicação de planejamentos fatoriais fracionários, onde o número de ensaios ( $N$ ) é dado por  $2^{k-b}$ , em que  $b$  é o tamanho da fração. Embora alguns efeitos de interação possam ser perdidos, esses planejamentos trazem valorosas informações na etapa de triagem em sistemas envolvendo elevado número de fatores. No entanto, a partir das informações recolhidas nos estudos preliminares, o ponto de ótimo é obtido por meio de planejamentos baseados em funções polinomiais contendo termos quadráticos (TEÓFILO; FERREIRA, 2006).

### 2.8.2 Planejamento ou Matriz Doehlert

A Matriz de Doehlert é um tipo de planejamento experimental de segunda ordem baseado na metodologia de superfície de resposta, frequentemente usado na otimização. Sua principal vantagem é permitir estudar diferentes fatores em diferentes níveis com um menor número de experimentos. Assim, é possível avaliar os fatores considerados mais relevantes, ou seja, que apresentam efeitos mais pronunciados em um número maior de níveis do intervalo experimental estudado (TEÓFILO; FERREIRA, 2006).

## 2.9 Região de estudo e instigação da pesquisa

Com base no exposto e considerando que a região de estudo situada no Clube Náutico na represa de Furnas-MG, apresenta-se eutrofizada e sob a influência das descargas de esgoto da ETE de Alfenas, acredita-se que possa ocorrer uma concentração de substâncias químicas nos compartimentos aquáticos, aumentando assim os riscos de contaminação. Porém sabe-se que tais contaminantes podem estar presentes em concentrações baixas e que técnicas sensíveis

ou estratégias que possibilitem ganho de sensibilidade são necessárias para uma eficiente quantificação destes contaminantes em água e sedimento. Assim, dados referentes à presença de contaminantes nessas regiões podem contribuir com a avaliação do potencial de risco à saúde do consumidor, produtor bem como com a preservação dos recursos naturais.

O presente projeto insere-se como parte desse contexto no sentido de colaborar com a saúde pública, no desenvolvimento de métodos analíticos de sensibilidade melhorada para determinação de clorofenóis e cádmio em matrizes aquosas. Pautado em trabalhos descritos na literatura acredita-se que os materiais extratores preparados com base nos aerogéis de grafeno e poli(4-vinilpiridina) associados à Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com acoplamento *column switching* e Espectrometria por podem resultar em procedimentos vantajosos na quantificação de contaminantes da classe dos clorofenóis.

### 3. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho é a utilização de materiais extratores acoplados a detectores para a determinação de compostos orgânicos e metais pesados em amostras de água.

#### 3.1 Objetivo Geral

O presente trabalho objetiva a aplicação da fase extratora da poli(4-vinilpiridina) e aerogel de grafeno tridimensional (GA-3D) para fins de investigação de compostos orgânicos clorofenólicos e o metal pesado Cádmio em amostras obtidas na Usina Hidrelétrica de Furnas-MG, utilizando técnicas cromatográficas e absorção atômica na pré-concentração/separação e quantificação. O ponto de localização da coleta de amostras será na região do braço do Sapucaí e Clube Náutico próximo à descarga de esgoto tratado da Estação de Tratamento de Esgotos da Copasa.

#### 3.2 Objetivos específicos

- a) Explorar as potencialidades do polímero poli(4-vinilpiridina) na extração de compostos clorofenólicos (2,4-Diclorofenol e 2,4,6-Triclorofenol) em sistemas cromatográficos com acoplamento *column switching*.
- b) Desenvolver e explorar o desempenho dos aerogéis de grafeno como material extrator para metais pesados juntamente com o sistema de pré-concentração em fluxo.
- c) Desenvolver uma metodologia de sensibilidade melhorada que permita a quantificação e avaliação da presença de contaminantes mesmo em baixas concentrações.
- d) Determinar as figuras de mérito (limite de detecção e quantificação, exatidão, precisão e faixa linear) para os métodos propostos;
- e) Validação do método de análise para extração em fase sólida;
- f) Avaliar o desempenho dos métodos propostos em amostras de água e água de mina.

## ***Capítulo I***

**Estudo da fase sólida poli(vinil-piridina) na pré-concentração de  
clorofenóis em amostras de água seguido de análise por CLAE-  
UV com acoplamento *column switching***

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Instrumentação

O banho de água utilizado para a síntese do polímero foi B. Braun Biotech International (Melsungen, Alemanha). A análise dos clorofenóis ocorreu utilizando um sistema de CLAE, composto por duas bombas Shimadzu® LC-20AD (Kyoto, Japão), um injetor manual 7725 i (Rheodyne®, Walham, Estados Unidos da América), uma válvula eletrônica comutável de seis portas modelo FCV-12AH (Shimadzu®, Kyoto, Japão), uma coluna analítica ACE 5 C18 (150 mm × 4.6 mm, 5 µm) V16-9213, e um detector UV modelo SPD-10AVP (Shimadzu®, Kyoto Japão). O software LCSolutions® foi usado para aquisição e o tratamento de dados. O equipamento Autoclave vertical Primatec®, foi utilizada na síntese do aerogel de grafeno.

### 4.2 Soluções e Reagentes

A água ultrapura foi obtida através de um sistema Milli-Q de purificação de água (Millipore®, Bedford, EUA). Os solventes orgânicos acetonitrila (ACN) e Isopropanol foram obtidos da Sigma-Aldrich® (Steinheim, Alemanha).

Para a síntese do óxido de grafeno foram utilizados grafite (Sigma-Aldrich®), Permanganato de potássio (KMnO<sub>4</sub>) (SYNTH), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil), NaNO<sub>3</sub> (SYNTH), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Dinamica).

Os reagentes de síntese do polímero poli(4-vinilpiridina) foram: 4-vinilpiridina, EGDMA, 2,2'-azobisisobutironitrilo (todos de Sigma-Aldrich®, Steinheim, Alemanha), acetonitrila de grau HPLC (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) como monômero funcional, reagente de reticulação, iniciador reticulador e solvente respectivamente.

Os padrões de 2,4-diclorofenol (2,4-DCP), 2,4,6-triclorofenol (2,4,6-TCP) e 2,4,6-tribromofenol (2,4,6-TBP) como padrão interno (Sigma-Aldrich®) foram utilizados para preparo da solução estoque de 1000 mg.L<sup>-1</sup> em ACN grau HPLC e estocados em frascos âmbar e a partir desta realizou-se diluições. Acetonitrila e ácido fosfórico 7x10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> na proporção 65:35 (v:v) foram utilizados como fase móvel, água ultra pura foi usada como fase de carregamento. A fase de limpeza foi composta por ACN: água: Isopropanol na proporção 70:15:15 (v:v:v). O ácido clorídrico e hidróxido de sódio utilizados na otimização para o ajuste do pH da fase carregadora foram obtidos pela Vetec (Rio de Janeiro, Brasil).

### 4.3 Síntese do 4-PVP - polímero poli(4-vinilpiridina)

O material extrator poli(4-vinilpiridina) foi sintetizado de acordo com o procedimento descrito por (VIEIRA et al., 2012), com pequenas adaptações. Foram adicionados 8,0 mmol do monômero funcional 4-vinilpiridina, 40,0 mmol de reagente de ligação cruzada etileno glicol dimetacrilato (EGDMA), 1,5 mmol de iniciador radicalar 2,2'-azo-bis-iso-butironitrila (AIBN) e 11 mL de acetonitrila foram adicionados em um frasco de 100 mL, a mistura foi mantida sob atmosfera de nitrogênio por 20 min para eliminação de oxigênio. O frasco foi então fechado e mantido em banho Maria por 24h a 60°C. Após esse tempo o polímero foi retirado, macerado e peneirado para seleção de partículas entre 75 e 106 µm..

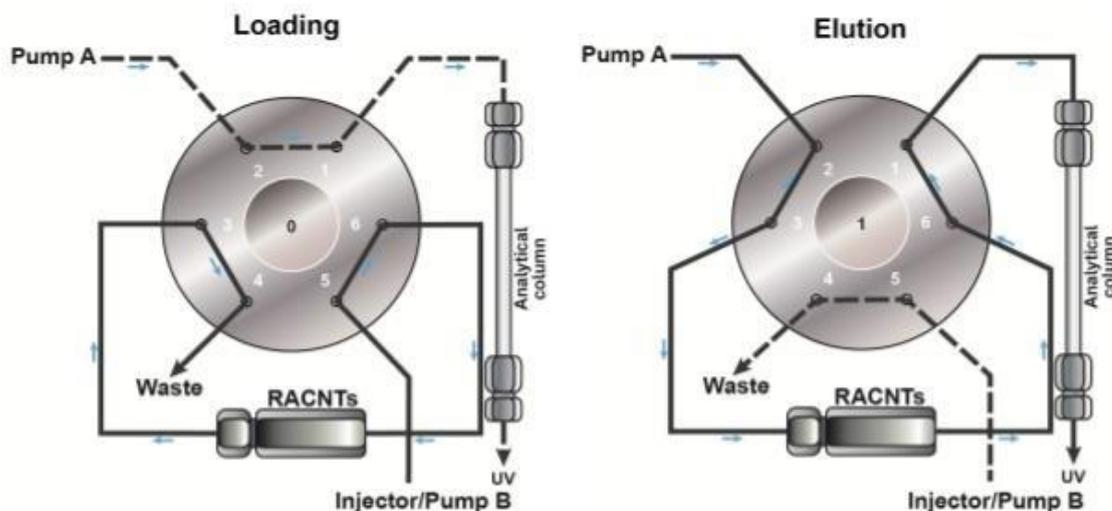
### 4.4 Caracterização do Polímero Poli(4-vinilpiridina)

A caracterização morfológica do polímero foi realizada por meio de um microscópio eletrônico de varredura ZEISS com voltagem de 20 kV de aceleração. Antes da análise e visando melhorar a condutividade e gerar imagens com melhor resolução, recobriu-se o material com uma fina camada de liga de ouro. Um espectrômetro Infravermelho com Transformada de Fourier (Nicolet iS50 FT-IR (Thermo Scientific) juntamente com GladiATR (Pike Technologies)) foi empregado a fim de elucidar os grupos funcionais presentes no adsorvente. Visando verificar o nível de repulsão entre as partículas de mesma carga na dispersão e assim analisar a estabilidade da suspensão do aerogel de grafeno aplicou-se a técnica de potencial Zeta utilizando um equipamento Malvern.

### 4.5 Configuração do sistema cromatográfico

O método proposto para os experimentos de extração utiliza a técnica de *column switching* com uma válvula de seis portas operando no modo *backflush*. A Figura 5 apresenta a configuração do sistema cromatográfico utilizada. As etapas de cada ciclo são mostradas na Tabela 1.

Figura 5 - Válvula de comutação de seis portas em configuração backflush. As duas etapas do sistema são mostradas, a esquerda etapa de carregamento e a direita de eluição.



Fonte: (DE FARIA et al., 2017)

O sistema quando posicionado na posição 1 da válvula, a coluna analítica era condicionada com fase móvel (ACN: H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0,007 mol L<sup>-1</sup>) através da bomba A, nesta mesma posição de válvula ocorre a pré-concentração dos analitos na coluna extratora. Quando ocorre a comutação de válvula para posição 2, a bomba A realiza a transferência de analitos da coluna extratora para a analítica, onde ocorre a separação. Nessa mesma posição a bomba B realiza a limpeza da coluna extratora com uma fase de limpeza ACN:água: Isopropanol (70:15:15, v:v:v). Por fim, quando a válvula retorna na posição 1 ocorre novamente e recondicionamento do sistema.

#### 4.6 Estudo dos parâmetros cromatográficos

Os principais parâmetros que podem influenciar no sistema foram avaliados, sendo eles: pH da fase de carregamento (F.C.), tempo de carregamento (T.C.), tempo de eluição (T.E), temperatura do forno (T.F.), volume de amostra (L) e vazão da fase de carregamento (V). Assim, na busca das condições experimentais que oferecem melhor resposta analítica, efetuou-se inicialmente uma investigação de maneira univariada segundo as etapas abaixo:

- ✓ pH da fase de carregamento: a água ultrapura ajustada com ácido clorídrico ou hidróxido de sódio para pH: 2,22; 4,05; 6,06; 7,0 (H<sub>2</sub>O pura sem ajuste de pH); 7,82, mantendo as outras condições (T.C.= 2,30 min; T.E.= 1,0 min; T.F.= 22°C; V= 0,5 mL.min<sup>-1</sup>; L= 1,0

mL; [CPs]= 50  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; FM: ACN:  $\text{H}_3\text{PO}_4$   $7,0 \times 10^{-3}\text{M}$  (65:35) e F.L: ACN:  $\text{H}_2\text{O}$ : Isopropanol (70:15:15));

- ✓ Tempo de carregamento: o tempo para o carregamento da alça de amostragem foi estudado em 2,1 ; 2,3; 2,5 e 2,7 minutos. (F.C.= água sem ajuste de pH; T.E.= 1,0 min; T.F.=  $22^\circ\text{C}$ ;  $V= 0,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ;  $L= 1,0 \text{ mL}$ ; [CPs]= 50  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; FM: ACN:  $\text{H}_3\text{PO}_4$   $7,0 \times 10^{-3}\text{M}$  (65:35) e F.L: ACN:  $\text{H}_2\text{O}$ : Isopropanol (70:15:15), Fase de carregamento: água pura sem ajuste de pH).
- ✓ Tempo de eluição: os tempos estudados foram 0,7; 1,0; 1,3 min (T.C.= 2.30 min; T.F.=  $22^\circ\text{C}$ ;  $V= 0,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ;  $L= 1,0 \text{ mL}$ ; [CPs]= 50  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; FM: ACN:  $\text{H}_3\text{PO}_4$   $7,0 \times 10^{-3}\text{M}$  (65:35) e F.L: ACN:  $\text{H}_2\text{O}$ : Isopropanol (70:15:15) Fase de carregamento: água pura sem ajuste de pH).
- ✓ Temperatura do forno: foram  $22^\circ, 30^\circ$  e  $35^\circ\text{C}$  (T.C.= 2.30 min; T.E.= 1,0 min;  $V= 0,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ;  $L= 1,0 \text{ mL}$ ; [CPs]= 50  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; FM: ACN:  $\text{H}_3\text{PO}_4$   $7,0 \times 10^{-3}\text{M}$  (65:35) e F.L: ACN:  $\text{H}_2\text{O}$ : Isopropanol (70:15:15) Fase de carregamento: água pura sem ajuste de pH).
- ✓ Alça de amostragem: 1,0; 2,0; 3,0 ml de alça mantendo as outras condições (T.C.= 2.30 min; T.F.= ambiente;  $V= 0,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ; [CPs]= 50  $\mu\text{g L}^{-1}$ ; FM: ACN:  $\text{H}_3\text{PO}_4$   $7,0 \times 10^{-3}\text{M}$  (65:35) e F.L: ACN:  $\text{H}_2\text{O}$ : Isopropanol (70:15:15) Fase de carregamento: água pura sem ajuste de pH.)

#### 4.7 Validação do método

O método foi validado segundo guia FDA (“ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA, Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration”, 2001)), e da Resolução – RE n° 899, de 29 de maio de 2003 (BRASIL., 2003). A seletividade, linearidade, limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), precisão, efeito de transferência, recuperação e estabilidade estão sendo avaliados.

##### 4.7.1 Linearidade

A curva de calibração para os dois analitos 2,4-Diclorofenol e 2,4,6-Triclorofenol foi construída considerando a média das quintuplicatas. As concentrações da curva de calibração foram  $0,3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $1,0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $20 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  e  $30 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , acrescidos de  $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  2,4,6-Tribromofenol como padrão interno . O coeficiente de determinação ( $r^2$ ) da curva de

calibração foi utilizado para calcular a linearidade. De acordo com a (BRASIL., 2003) o  $r^2 = 0,99$  para métodos analíticos é o mínimo aceitável de linearidade.

#### 4.7.2 Precisão e Exatidão

A precisão é um critério para a avaliação da proximidade das medidas dos analitos na aplicação do método. As análises foram feitas em água ultrapura fortificada com os analitos em diferentes concentrações. A precisão intra-dias foi calculada através da análise em quintuplicata dos níveis de calibração (0,3; 1; 5; 10; 25 e 50  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) e os resultados obtidos em termos de coeficiente de variação (CV%).

A avaliação da proximidade na qual as concentrações obtidas pelo método estava da concentração real, foi realizada através da exatidão. Para exatidão intra-dias, os níveis de calibração foram analisados em quintuplicatas e o resultado adquirido em termos de erro relativo (E%). A exatidão inter-dias (dia 2 e 3) será analisada através da fortificação da água ultrapura em concentrações dos níveis mínimo, médio e máximo da curva de calibração e o erro relativo calculado através da Equação 1:

$$\text{Exatidão} = \frac{(CA - C) \times 100}{C} \quad (1)$$

onde CA é a concentração obtida através dos dados da interpolação dos da curva analítica e C a concentração teórica.

#### 4.7.3 Limites de detecção e quantificação

Os limites de quantificação e detecção foram obtidos segundo a (BRASIL., 2003), onde os resultados são obtidos através dos parâmetros da curva analítica. Apartir das Equação 2 (a) e (b) efetua-se os cálculos de L.D. e L.Q, respectivamente.

$$\begin{aligned} \text{L. D.} &= \frac{3,3 * \sigma}{\text{IC}} & \text{L. Q.} &= \frac{10 * \sigma}{\text{IC}} \\ (a) & & (b) & \end{aligned} \quad (2)$$

onde  $\sigma$  é o desvio padrão intercepto do eixo Y de 3 curvas de calibração construídas com concentração dos analitos próximo ao limite de quantificação, e IC a inclinação da curva de calibração.

#### 4.7.4 Fator de pré-concentração (FP) e Índice de consumo (IC)

O fator de pré-concentração (FP) foi calculado por meio da Equação 3, sendo baseado nas curvas de calibração com e sem pré-concentração.

$$FP = \frac{b_p}{b_s} \quad (3)$$

Onde,  $b_p$ =coeficiente angular da curva analítica com pré-concentração e  $b_s$ =coeficiente angular da curva sem pré-concentrar.

Calculou-se o ainda o índice de consumo, que é baseado na Equação 4, onde o volume de amostra em mL necessário para alcançar uma unidade do fator de pré-concentração.

$$IC = \frac{Va}{FP} \quad (4)$$

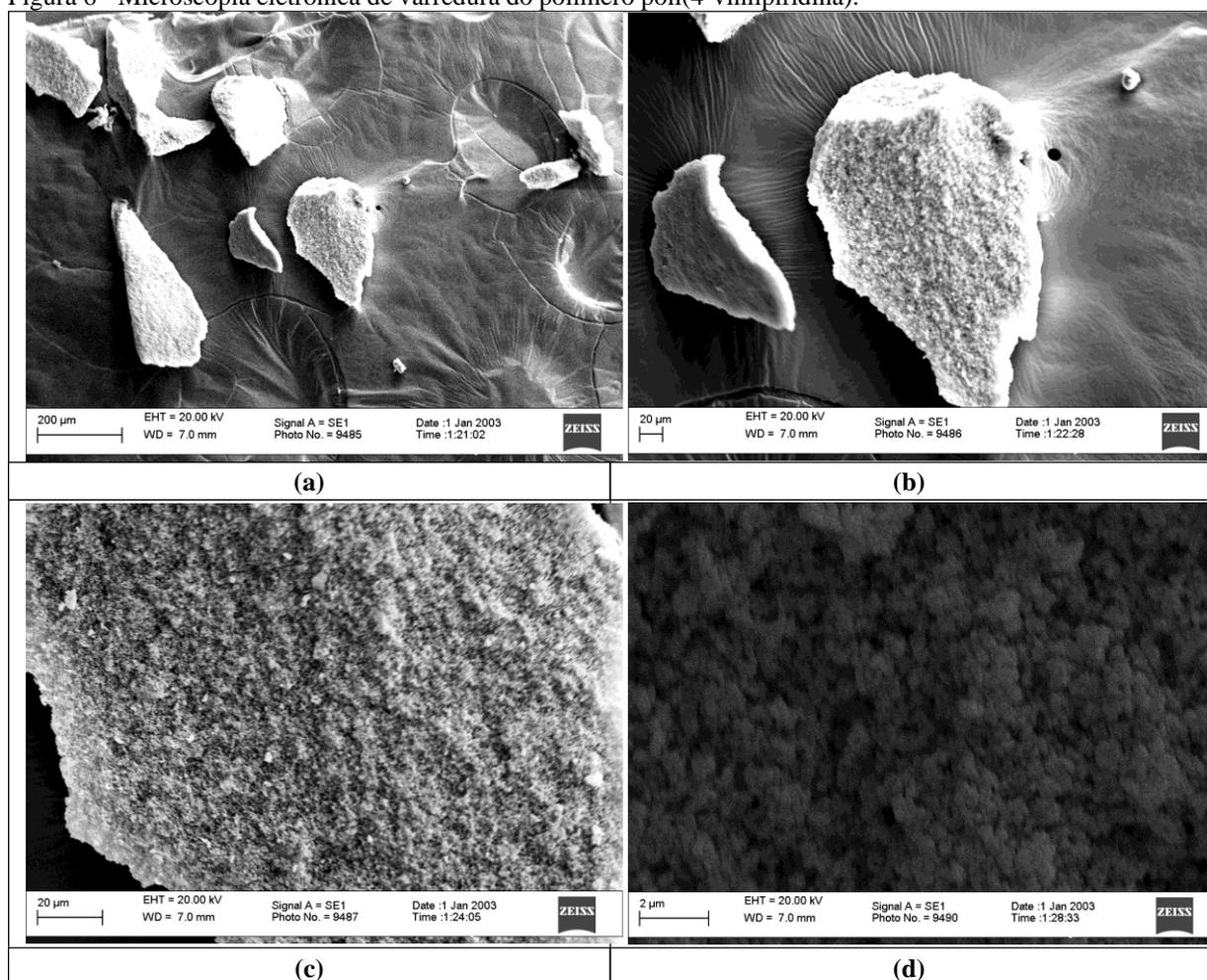
onde,  $Va$ =volume de amostra consumida para encontrar o valor de FP.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Caracterização do *Polímero poli(4-vinilpiridina)*

A caracterização morfológica da fase extratora 4PVP por meio de microscopia eletrônica de varredura (Figura 6) apresentam tamanhos de partículas irregulares provavelmente devido ao processo de maceração. Observa-se ainda uma superfície rugosa que confirmam a boa porosidade adquirida na etapa de síntese, a rugosidade é um fator importante uma vez que pode facilitar o transporte de massa devido o aumento da área superficial.

Figura 6 - Microscopia eletrônica de varredura do polímero poli(4-vinilpiridina).

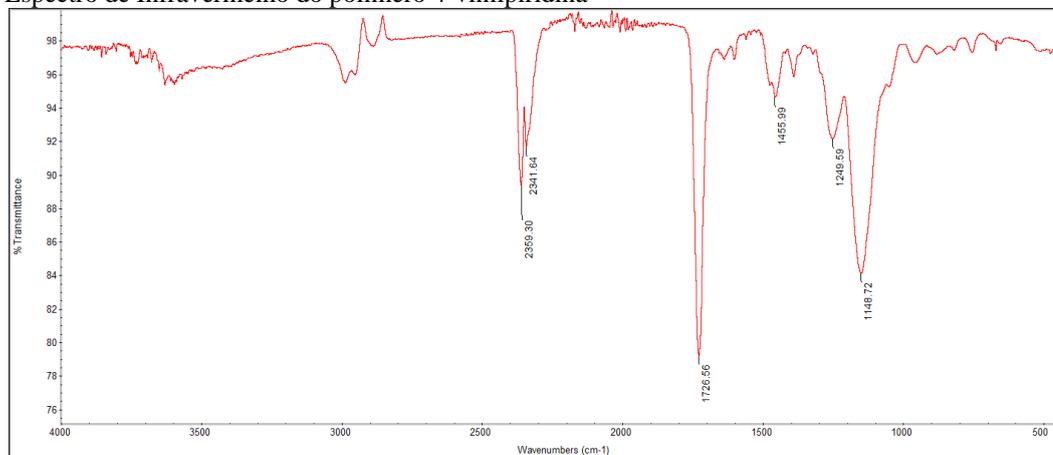


Fonte: do autor.

Como mostra a Figura 7, o espectro de infravermelho do polímero 4-vinilpiridina exhibe banda larga, de baixa intensidade próxima a  $3000\text{ cm}^{-1}$ , podendo ser atribuídas a estiramento assimétrico C-H,  $-\text{CH}_2$  e  $-\text{CH}_3$  referentes ao etileno glicol dimetacrilato. A bandas em 1249 e

1148  $\text{cm}^{-1}$  sugerem o estiramento do grupo C-O também do EGDMA, já banda em 1726 pode ser atribuída à vibração C=O do grupo éster do EGDMA (VIEIRA et al., 2012).

Figura 7 - Espectro de Infravermelho do polímero 4-vinilpiridina



Fonte: do autor.

## 5.2 Estudo das condições cromatográficas

A primeira variável estudada foi a fase de carregamento, onde a variação de pH de 2,22 a 7,82 mostrou-se pouco significativa pois pouco influenciou o sinal analítico, como pode ser observado na Figura 8. Assim optou-se por trabalhar com a fase de carregamento sem o ajuste de pH.

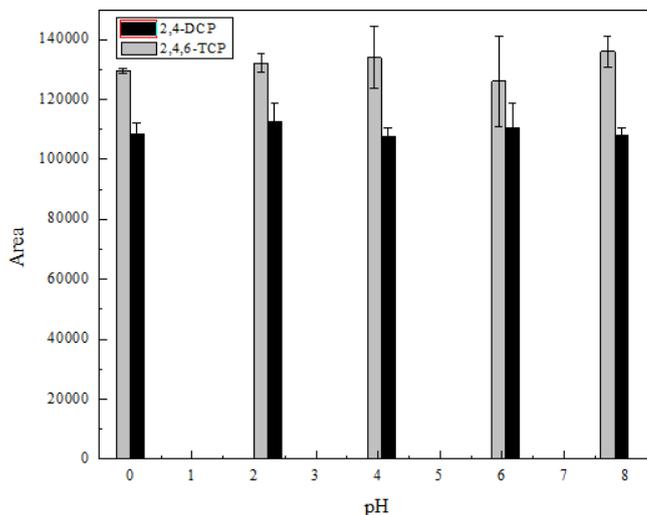
Com base nos resultados apresentados na Figura 8, observa-se que a variação nos valores de pH da fase de carregamento foram pouco significativos na faixa de pH estudada (pH 2,22 a 7,82), tendo em vista que a quantidade adsorvida de ambos os analitos não alterou consideravelmente com o aumento do pH.

O material extrator é composto por um monômero de caráter básico, a 4-vinilpiridina, que possui em sua estrutura um átomo de nitrogênio com pares de elétrons disponíveis a receber próton. O par de elétrons não participa do sistema aromático (6 elétrons  $\pi$  das 3 ligações C=C), e portanto estará propício ocorrer a protonação do nitrogênio. De acordo com dados reportados na literatura, o pKa do monômero 4-vinilpiridina é 5,46 [103], portanto, em meio ácido o adsorvente ficará positivamente carregado devido a protonação do nitrogênio do anel piridínico.

Em contrapartida, sabe-se que quando o pH ultrapassa a constante de dissociação ácida, pKa dos analitos (6,35 para 2,4,6 triclorofenol e 7,85 para 2,4 diclorofenol), a molécula sofrerá a dissociação. Deste modo, a protonação/desprotonação tanto do adsorvente quanto dos analitos tende a afetar a eficiência de extração. Tendo em vista os valores de pKa dos analitos e

adsorvente, a baixa influência do pH pode ser explicada considerando que alterações relevantes na estrutura dos analitos só acontecem em pH mais alcalino, enquanto alterações na carga do adsorvente acontecem em pH ácidos.

Figura 8 - Estudo do efeito do pH da fase de carregamento para 2,4, diclorofenol (2,4-DCP) e 2,4,6 Triclorofenol (2,4,6 TCP).

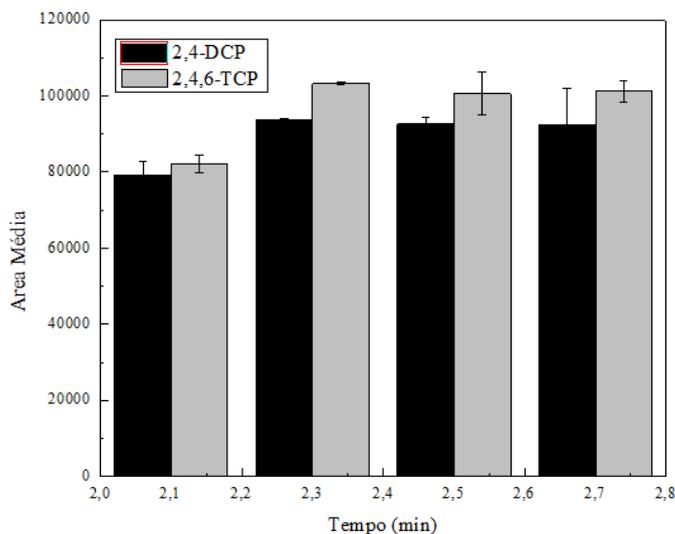


Fonte: do autor.

Uma fase de limpeza foi inserida no sistema, visando a total limpeza do material após o procedimento de extração. Esta fase é composta de ACN: H<sub>2</sub>O: isopropanol (70:15:15; v:v:v) evitando efeito residual (*carry-over*). A acetonitrila foi o solvente em maior proporção devido a sua capacidade de solubilizar o 2,4-DCP e 2,4,6-TCP residuais da coluna extratora e eluí-los para o descarte.

Considerando o tamanho da alça de amostragem e a vazão da bomba (0,8 mL min<sup>-1</sup>), selecionou-se para estudo tempos de carregamento maiores que 2 min. A escolha dos tempos de 2,1 a 2,7 min. fez-se necessária a fim de garantir a completa passagem de amostra, além de um volume extra de fase de carregamento visando retirar a amostra da coluna antes da comutação do sistema, mantendo-se assim somente os analitos sorvidos. Com base nos resultados apresentados na Figura 9, verifica-se um melhor sinal analítico a partir de 2,3 minutos. O menor resultado em 2,1 min pode ser devido ao tempo insuficiente para a preparação do polímero, retenção do analito e eluição de possíveis interferentes.

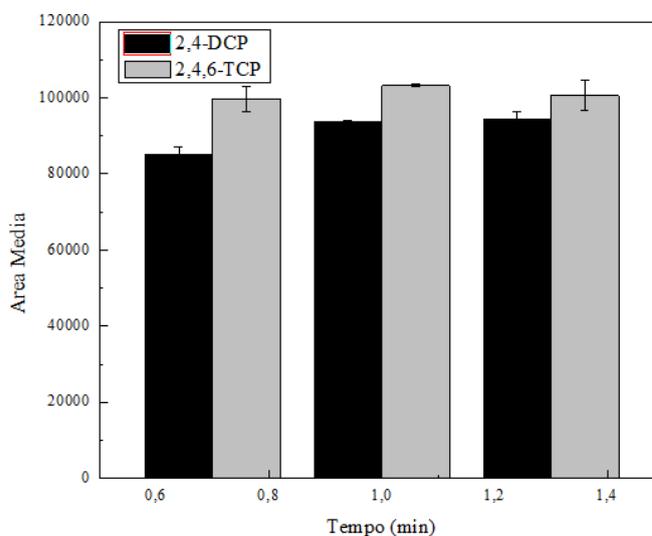
Figura 9 - Estudo do efeito do tempo de carregamento para 2,4, diclorofenol (2,4-DCP) e 2,4,6 Triclorofenol (2,4,6 TCP).



Fonte: do autor.

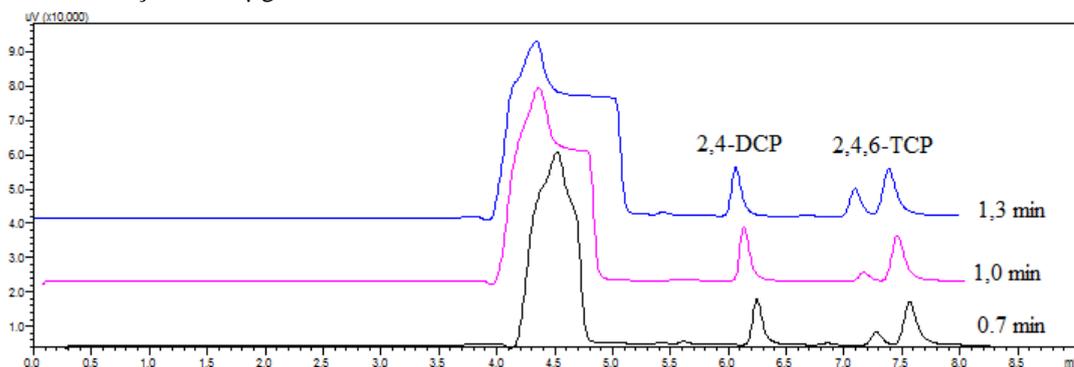
O tempo de eluição dos analitos da coluna extratora e encaminhamento para a coluna analítica é outro fator crucial. Tempos muito baixos podem resultar na retirada insuficiente dos analitos e conseqüente erros na análise, por outro lado, tempos muito elevado podem afetar o perfil do sinal cromatográfico. Assim, de acordo com os resultados apresentados na Figura 10 e considerando o perfil do sinal analítico obtido no cromatograma da Figura 11 optou-se por trabalhar na condição de 1,0 minuto de eluição, já que tempos 0,7, 1,0 e 1,3 min não apresentaram diferença significativa considerável em termos se aumento de sinal e de perfil de pico.

Figura 10 - Estudo do tempo de eluição para 2,4, diclorofenol (2,4-DCP) e 2,4,6trtriclorofenol (2,4,6 TCP).



Fonte: do autor.

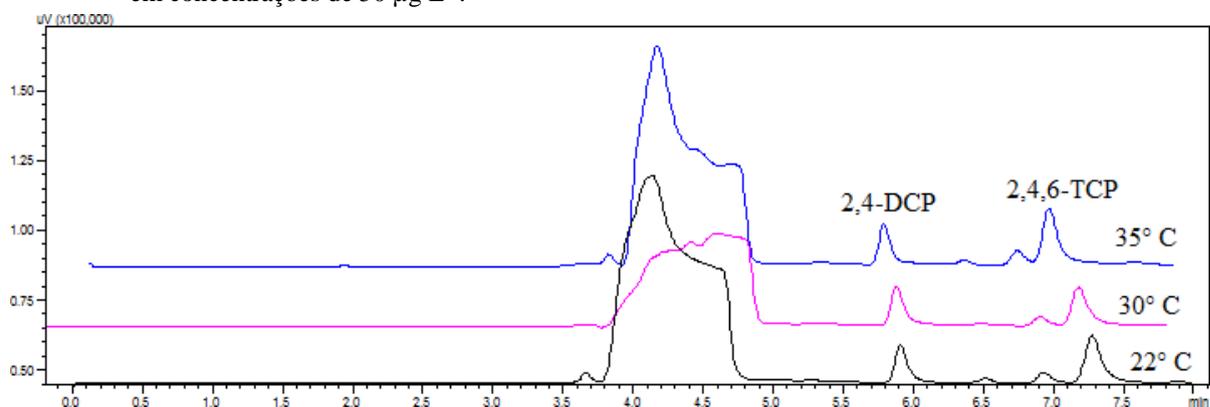
Figura 11 - Estudo do tempo de eluição para 2,4, diclorofenol (2,4-DCP) e 2,4,6 triclorofenol (2,4,6 TCP) na concentração de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ .



Fonte: do autor.

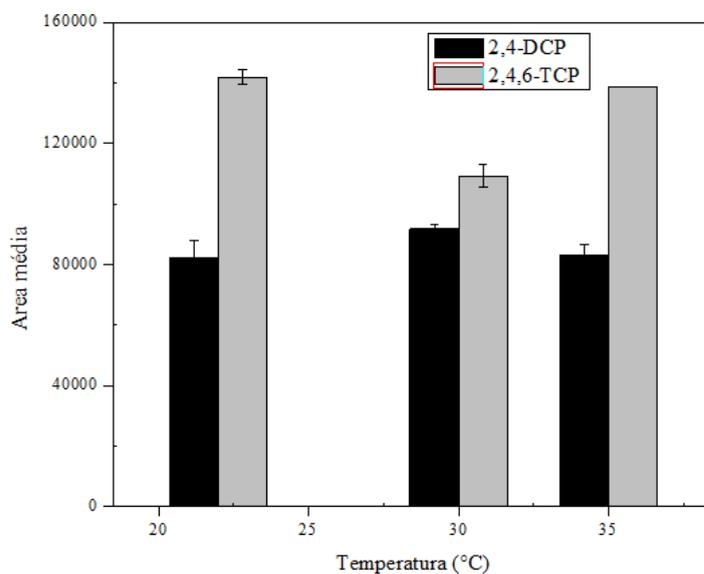
A temperatura do forno foi avaliada em  $22^\circ$ ,  $30^\circ$  e  $35^\circ\text{C}$ , porém como pode ser verificado no cromatograma apresentado na Figura 12 e e na Figura 13, não há diferença significativa entre as temperaturas  $22^\circ$  e  $35^\circ\text{C}$ , portanto bom senso optou-se por trabalhar com o sistema em temperatura ambiente.

Figura 12 - Estudo da temperatura do forno para 2,4, diclorofenol (2,4-DCP) e 2,4,6 Triclorofenol (2,4,6 TCP) em concentrações de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ .



Fonte: do autor.

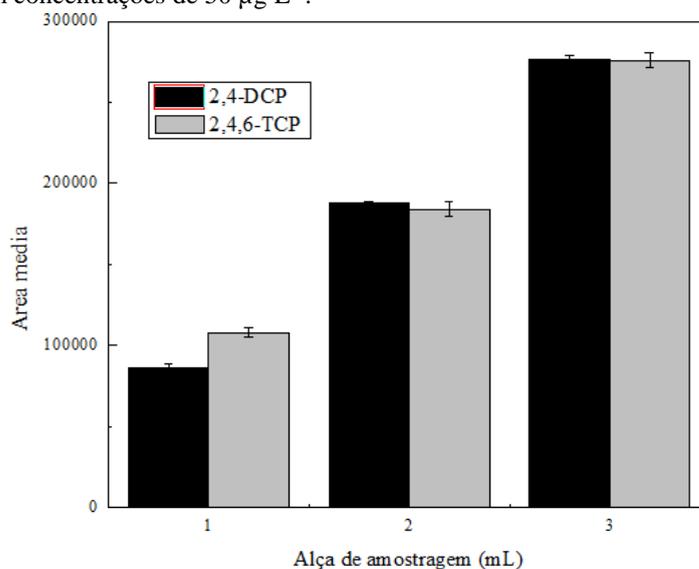
Figura 13 - Estudo da temperatura do forno para 2,4, diclorofenol (2,4-DCP) e 2,4,6 Triclorofenol (2,4,6 TCP) em concentrações de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ .



Fonte: do autor.

Tendo em vista o compromisso entre o ganho de sinal e a frequência analítica investigou-se a alça de amostragem de 1,0 a 3,0 mL, já que alças maiores que 3,0 mL levariam a um tempo maior de análise e conseqüentemente a uma diminuição de frequência analítica. Analisando a Figura 14 verifica-se que, como esperado alças maiores conduzem a maior sinal analítico, devido a maior quantidade de analitos disponíveis para adsorção e, portanto maior fator de enriquecimento. Assim, a alça de 3 mL foi selecionada para trabalho.

Figura 14 - Estudo do volume da alça de amostragem para 2,4, diclorofenol (2,4-DCP) e 2,4,6 Triclorofenol (2,4,6 TCP) em concentrações de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ .



Fonte: do autor.

Resumidamente então tem-se que as melhores condições, com base nas condições avaliadas são: Fase de carregamento: sem ajuste de pH (água); Tempo de carregamento: 2,3 min.; Tempo de eluição: 1 min; Temperatura do forno: sem ajuste; Alça de amostragem: 3 mL. Deste modo, essas condições serão mantidas durante todo desenvolvimento do trabalho.

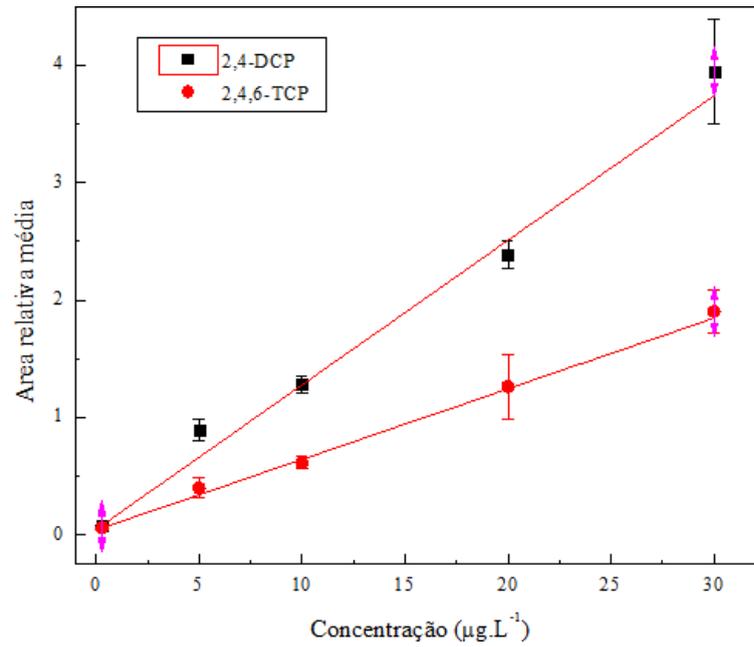
### 5.3 Validação

Visando avaliar o acréscimo de sensibilidade utilizando o polímero poli(4-vinilpiridina) na pré-concentração de 2,4 DCP e 2,4,6 TCP foram construídas curvas de calibração com e sem a etapa de pré-concentração. A curva de calibração (análise de regressão linear) apresentada na Figura 15 foi construída plotando-se a área de pico do 2,4 DCP e 2,4,6 TCP pela concentração, usando como padrão interno o 2,4,6 tribromofenol. A curva apresentada na Figura 15 foi realizada com a pré-concentração de padrões de 2,4 diclorofenol e 2,4,6 triclorofenol na faixa de de  $0,3 \mu\text{g.L}^{-1}$  a  $30 \mu\text{g.L}^{-1}$  para ambos analitos. As equações e coeficientes de regressão para a curva realizada com a etapa de pré-concentração foram:  $y = 0,0453x + 0,1232$  e  $0,9879$  para 2,4 DCP e  $y = 0,0403x + 0,0601$  e  $0,9951$  para 2,4,6 TCP. A curva sem pré-concentração do analito está apresentada na Figura 17 e 18, onde as equações e coeficientes de regressão foram:  $y = 6,05 \cdot 10^{-4}x + 0,0041$  e  $0,9978$  para 2,4 DCP e  $y = 4,74 \cdot 10^{-4}x - 0,0026$  e  $0,9992$  para 2,4,6 TCP.

Outros parâmetros analíticos como: limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), fator de pré-concentração, índice de consumo, foram calculados e apresentados na Tabela 1. O fator de pré-concentração (FP) foi calculado por meio da equação 3, sendo baseado nas curvas de calibração com e sem pré-concentração. Calculou-se o ainda o índice de consumo, que é baseado na equação 4, onde o volume de amostra em mL necessário para alcançar uma unidade do fator de pré-concentração.

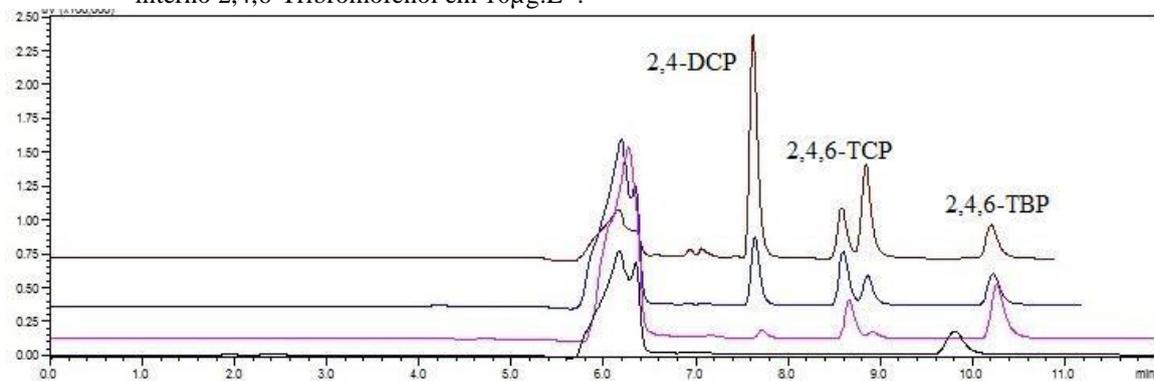
A precisão intra-dias (Tabela 1) foi calculada através da análise em quintuplicata dos níveis de calibração ( $0,3$ ;  $1$ ;  $5$ ;  $10$ ;  $25$  e  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e os resultados obtidos em termos de coeficiente de variação (CV%). A avaliação da proximidade das concentrações obtidas pelo método proposto com a concentração real foi avaliada através da análise de exatidão intra-dias, onde os níveis de calibração foram analisados em quintuplicatas e o resultado representados em termos de erro relativo (E%). A Figura 19 apresenta o cromatograma referente ao branco nas concentrações do menor ponto da curva, ponto médio e ponto máximo.

Figura 15 - Curva de calibração obtida com a etapa de pré-concentração em poli(4-vinilpiridina).



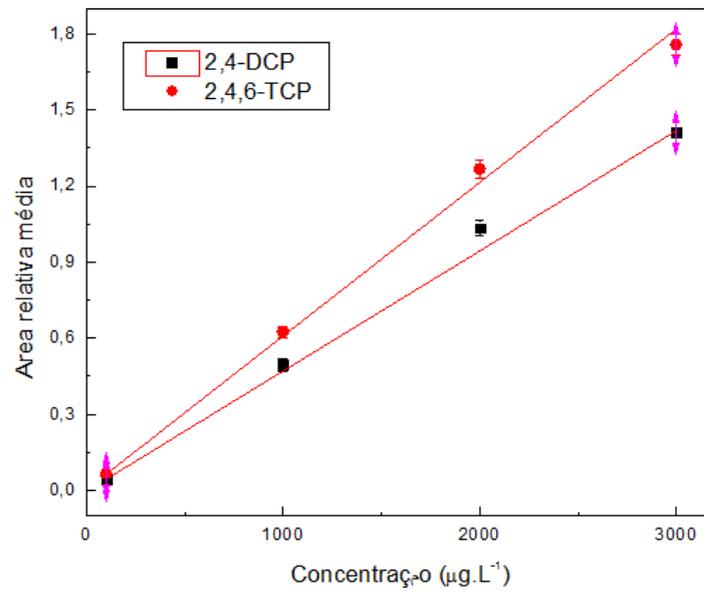
Fonte: do autor.

Figura 16 - Cromatograma da curva de calibração obtida com a etapa de pré-concentração em poli(4-vinilpiridina) nas concentrações mínimas (0,3 µg.L<sup>-1</sup>), média (10 µg.L<sup>-1</sup>) e máximo (30 µg.L<sup>-1</sup>), mantendo o padrão interno 2,4,6-Tribromofenol em 10µg.L<sup>-1</sup>.



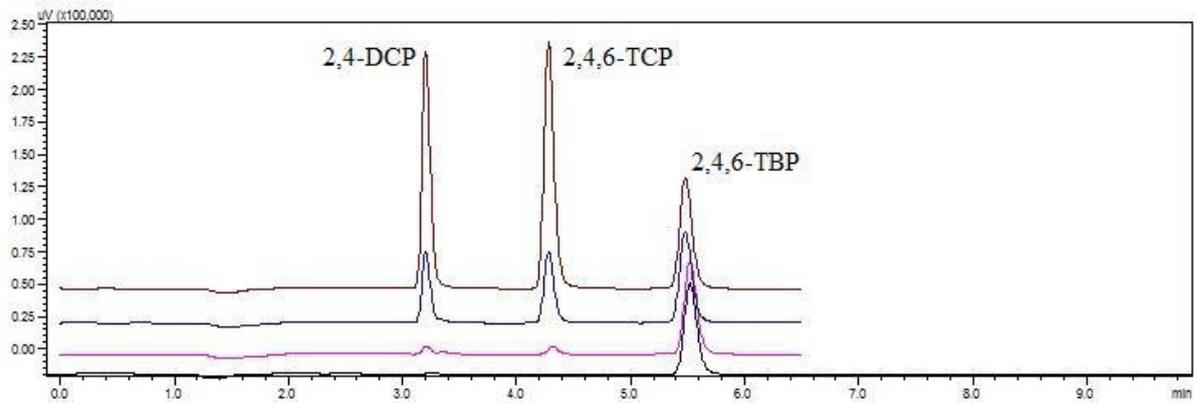
Fonte: do autor.

Figura 17 - Curva de calibração obtida sem a etapa de pré-concentração em poli(4-vinilpiridina).



Fonte: do autor

Figura 18 - Cromatograma obtido sem a etapa de pré-concentração com os pontos mínimo, médio e máximo.



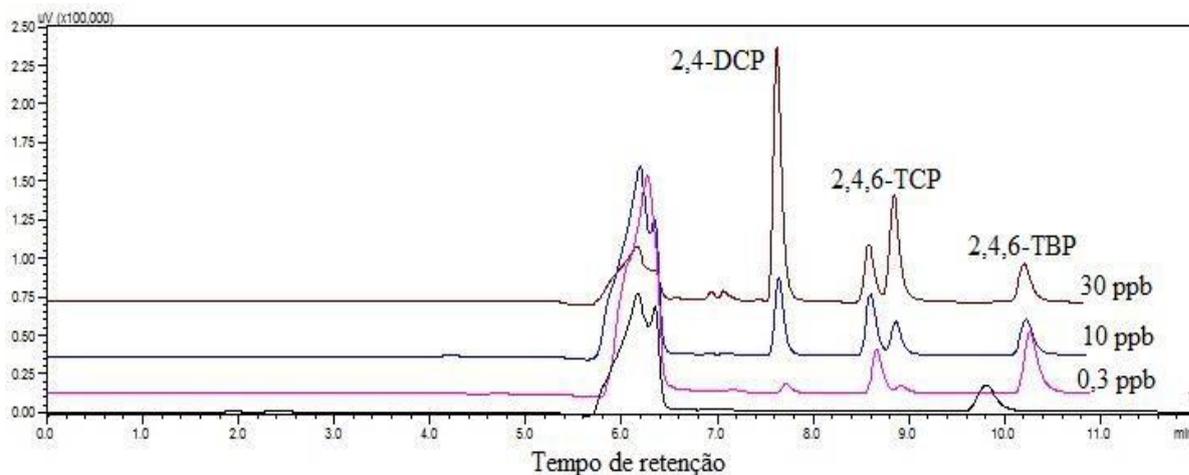
Fonte: do autor.

Tabela 1 - Resultados dos parâmetros de validação.

Parâmetros de Validação	2,4-DCP	2,4,6-TCP
Faixa Linear ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	0,3 – 3,0	0,3 – 3,0
Linearidade ( $R^2$ )	0,98794	0,99513
Coefficiente a	0,12316	0,06015
Coefficiente b	0,04528	0,04039
Limite de Detecção ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	0,18497	0,995323
Limite de Quantificação ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	0,56053	3,01613
Precisão intra-dia (CV%)	4,381 <sup>a</sup> 5,406 <sup>b</sup>	14,302 <sup>a</sup> 8,956 <sup>b</sup>
( $\bar{x}$ , n=5)	11,223 <sup>c</sup>	9,495 <sup>c</sup>
Fator de Pré-concentração	75	85
Índice de consumo	0,040	0,035
Exatidão intra-dia (E%)	-0,747 <sup>a</sup>	3,131 <sup>a</sup>
( $\bar{x}$ , n=5)	0,448 <sup>b</sup> 5,573 <sup>c</sup>	-4,669 <sup>b</sup> 3,054 <sup>c</sup>

0,3  $\mu\text{g L}^{-1}$ (a), 1,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ (b) e 3,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ (c); a: coeficiente angular b: coeficiente linear.

Figura 19 - Cromatogramas referente ao branco nas concentrações do menor ponto da curva, ponto médio e ponto máximo.



Fonte: do autor.

## 6 CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram a potencialidade da poli(4-vinilpiridina) como fase extratora de 2,3 diclorofenol e 2,4,6 triclorofenol. A eficiência do adsorvente pode ser confirmada considerando os vantajosos parâmetros analíticos como: os elevados fatores de pré-concentração obtido 75 (2,4-DCP) e 85 para (2,4,6-TCP) e os reduzidos limites de detecção  $0,18497 \mu\text{g.L}^{-1}$  e  $0,995323 \mu\text{g.L}^{-1}$ , para ambos analitos.

Os resultados sugerem a viabilidade do adsorvente como preenchimento de colunas para acoplamento column switching, visando melhorias na detecibilidade de técnicas analíticas ou eliminação de interferências em matrizes complexas.

Todos os procedimentos de pré-concentração/eluição na faixa de pH (2,0 a 8,0), foram realizados usando a mesma coluna sem perda da capacidade de adsorção, o que sugere a boa estabilidade do material.

## *Capítulo 2*

# **ESTUDO DO AEROGEL DE GRAFENO 3D NA PRÉ-CONCENTRAÇÃO *ON-LINE* DE ÍONS CÁDMIO COM DETECÇÃO POR FAAS**

## 7 PARTE EXPERIMENTAL

### 7.1 Reagentes e Soluções

Todas as vidrarias empregadas neste trabalho foram previamente mantidas em uma solução de  $\text{HNO}_3$  10% (v/v) por 24 h e posteriormente enxaguadas com água destilada. As soluções aquosas foram preparadas usando água desionizada ( $> 18,2 \text{ MW cm}$ ) obtida de um sistema de purificação Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, EUA). Para a síntese do óxido de grafeno foram utilizados grafite (SigmaAldrich®), Permanganato de potássio ( $\text{KMnO}_4$ ) (SYNTH),  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil),  $\text{NaNO}_3$  (SYNTH),  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Dinamica),  $\text{FeSO}_4$  foi adquirido da Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha) e usados sem purificação prévia. Todas as soluções de  $\text{Cd(II)}$ , usadas no estudo de pré-concentração, foram preparadas a partir de padrões de  $1000 \text{ mg L}^{-1} \text{ Cd(II)}$  (Merck, Darmstadt, Alemanha). Soluções de íons concomitantes [ $\text{Cu(II)}$ ,  $\text{Zn(II)}$ ,  $\text{Mn(II)}$ ,  $\text{Pb(II)}$ ,  $\text{Ca(II)}$  e  $\text{Mg(II)}$ ] empregadas nos estudos de interferência foram preparadas a partir de soluções padrão de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  (Merck), também avaliados quanto a inerteferência, foram adquiridos da Merck. Diferentes soluções tampão, ácido acético/acetato (pH 5,5), fosfato (pH 6,5), Tris-HCl (pH 7,5 e 8,5), e amoniacal (pH 9,5), foram preparadas a partir de seus respectivos sais, sem purificação. O pH das soluções tampão foi ajustado com hidróxido de sódio e/ou ácido nítrico.

### 7.2 Instrumentação

O sistema de extração e determinação FIA-FAAS foi composto por uma bomba peristáltica (Ismatec IPC-8, Glattzbrugg), equipada com tubos de Tygon® para impulsionar as amostras e reagentes. Os procedimentos de pré-concentração e eluição foram realizados usando um injetor comutador de acrílico. Tubos de polietileno de 0,8 mm de diâmetro foram utilizados para o transporte de amostra e eluente. O pH da amostra foi ajustado com um pH Metrohm 826 digital (Herisau, Suíça). Foi usado um espectrômetro de absorção atômica com chama (Tóquio, Japão), equipado com lâmpada de cátodo oco (8,0 mA) de  $\text{Cd(II)}$  e uma lâmpada de deutério para a correção de fundo.

As análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizadas em um microscópio eletrônico de varredura modelo ZEISS com voltagem de 20 kV de aceleração.. As amostras foram dispersas em uma fita dupla face, fixadas em um suporte de latão e revestidas

com ouro (30 nm de espessura) usando o equipamento Bal-Tec SCD Sputter Coater (New York, EUA). Um espectrômetro Infravermelho com Transformada de Fourier (Nicolet iS50 FT-IR (Thermo Scientific, Alfenas-MG, Brasil) juntamente com GladiATR (Pike Technologies)) foi empregado a fim de elucidar os grupos funcionais presentes no adsorvente.

Visando verificar o nível de repulsão entre as partículas de mesma carga na dispersão e assim analisar a estabilidade da suspensão do aerogel de grafeno aplicouse a técnica de potencial Zeta utilizando um equipamento Malvern (Alfenas-MG, Brasil). O equipamento Autoclave vertical Primatec® (Alfenas-MG, Brasil), e o liofilizador foram utilizados na síntese do aerogel de grafeno O programa STATISTICA versão 6.0 foi utilizado para análise estatística.

### **7.3 Condições experimentais**

O espectrômetro de Absorção Atômica em Chama chama foi operado a uma vazão de 1,8 L min<sup>-1</sup> de acetileno e 10,0 L min<sup>-1</sup> de ar. A corrente da lâmpada de cátodo ôco foi de 8,0 mA e o comprimento de onda utilizado foi de 228,8 nm. Os espectros de infravermelho (faixa de 4000 - 400 cm<sup>-1</sup>) foram realizados operando em modo de transmissão com resolução de 4 cm<sup>-1</sup> em pastilha de KBr (1% por peso).

As micrografias eletrônicas de varredura foram realizadas a uma voltagem de aceleração 30,0 kV. Para as análises de MEV é necessário a montagem da amostra no suporte porta-amostras do microscópio, buscando a melhor orientação em relação ao feixe de varrefura e o coletor de elétrons secundários, neste caso o adesivo utilizado na fixação foi uma fita dupla face de carbono. Porém, a amostra e fita adesivas usadas na montagem são isolantes elétricos e ficam carregadas negativamente durante a varredura do feixe eletrônico e por isso podem gerar um potencial elétrico localizado que deflete a sonda e produz brilho e astigmatismo.

O revestimento da amostra para as análises de MEV visa torná-las bons condutores térmicos e elétricos. Nesta análise, aplicou-se uma camada condutora de ouro depositada em alto vácuo, para garantir que a camada de ouro fosse espessa o bastante para uma produção de elétrons secundários, os quais serão usados na formação da imagem, e suficientemente fina para não interferir na resolução da imagem, revestiu-se a amostra com uma camada de ouro de 30 nm de espessura.

## 7.4 Estudos de Síntese do Aerogel de Grafeno 3D

Tendo em vista que o óxido de grafeno é a base para a síntese do aerogel de grafeno, primeiramente buscou-se na literatura a melhor rota de síntese para esse fim, o qual é descrito a seguir.

### 7.4.1 Síntese do Óxido de Grafeno (GO)

A síntese do óxido de grafeno foi baseada no procedimento descrito por Hummers modificado. Em um balão de fundo redondo adicionou-se 5 g de grafite em pó, 2,5 g de  $\text{NaNO}_3$  e 100 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado, sob agitação vigorosa e em banho de gelo por duas horas. Em seguida, foram adicionados a mistura 15 g de  $\text{KMnO}_4$  cuidadosamente, deixando reagir por 2 h.

A mistura foi então levada ao banho-maria a  $35^\circ\text{C}$  por 1 h, posteriormente 230 mL de água deionizada foram adicionados, deixando reagir por 30 min a  $98^\circ\text{C}$ . Após os 30 minutos de reação foram acrescentados à mistura 400 mL de água deionizada e 10 mL de peróxido de hidrogênio 30% (v:v). A reação ocorreu por 2 h em temperatura ambiente. Por fim a mistura foi filtrada e lavada com água deionizada com posterior secagem em estufa a  $60^\circ\text{C}$  por 48 h (HAN et al., 2016).

### 7.4.2 Rotas de síntese avaliadas para o aerogel de grafeno

Visando obter o aerogel de grafeno com melhor resistência mecânica e baseando-se na revisão bibliográfica sobre o assunto, foram estudadas várias rotas de síntese do aerogel de grafeno as quais são descritas abaixo:

#### a) 1ª Síntese do Aerogel de Grafeno

Inicialmente 100 mL de uma suspensão de GO  $4\text{ mg mL}^{-1}$  foram levados ao ultrassom por 1 h. Em seguida acrescentou-se uma mistura de água:EGDMA (20:150, v:v), e o sistema foi purgado com oxigênio por 1 h. A mistura foi então levada a para autoclave onde, após atingir  $120^\circ\text{C}$  permaneceu por 24 h. Após o tempo de autoclave, o aerogel formado foi lavado com

etanol e água em abundância. Por fim, foi congelado por 24 h e encaminhado ao liofilizador por 72 h (ZANG et al., 2016).

b) 2ª Síntese do Aerogel de Grafeno

Essa síntese foi realizada deixando uma suspensão de  $4 \text{ mg L}^{-1}$  de GO ao ultrassom por 1 h. Posteriormente  $200 \mu\text{L}$  de etilenodiamina (EDA) foram adicionados. A mistura foi então aquecida em banho-maria a  $95^\circ\text{C}$  por 6 h. Na sequencial o material obtido foi lavado com água, congelado por 24 h e liofilizado por 72 h (XIA et al., 2017).

c) 3ª Síntese do Aerogel de Grafeno

Um volume de 10 mL de suspensão de GO  $2 \text{ mg L}^{-1}$  foi levado ao ultrassom por 1 h, em seguida  $5 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{FeSO}_4$  foram adicionados e misturados por agitação manual. A mistura foi encaminhada para um banho de óleo a  $90^\circ\text{C}$  por 6 h, congelada por 24 h e em seguida o material obtido foi liofilizado (CONG et al., 2012).

d) 4ª Síntese do Aerogel de Grafeno

Um volume de 10 mL de suspensão de GO  $5 \text{ mg L}^{-1}$  foi levada ao ultrassom por 1 hora e em seguida adicionou-se  $5 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{FeSO}_4$ , promovendo agitação manual, então a mistura foi colocada em banho de óleo a  $90^\circ\text{C}$  por 6 h, congelada por 24 h e em seguida o material foi liofilizado. Repetiu-se a mesma rota de síntese ajustando o pH para 3,0 e 8,0 (CONG et al., 2012).

e) 5ª Síntese do Aerogel de Grafeno

Visando uma dimensão maior do aerogel de grafeno principalmente em termos de diâmetro, a síntese foi realizada em um frasco de 500 mL. Adicionou-se 400 mL de uma suspensão de GO  $5 \text{ mg L}^{-1}$ , deixando em ultrassom por 1 h, em seguida, acrescentou-se  $5 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{FeSO}_4$ , agitou-se manualmente. A mistura foi então colocada em banho de óleo por 6 h, congelada e liofilizada por 72 h. Repetiu-se o teste ajustando o pH para 3,0 e 8,0 (CONG et al., 2012).

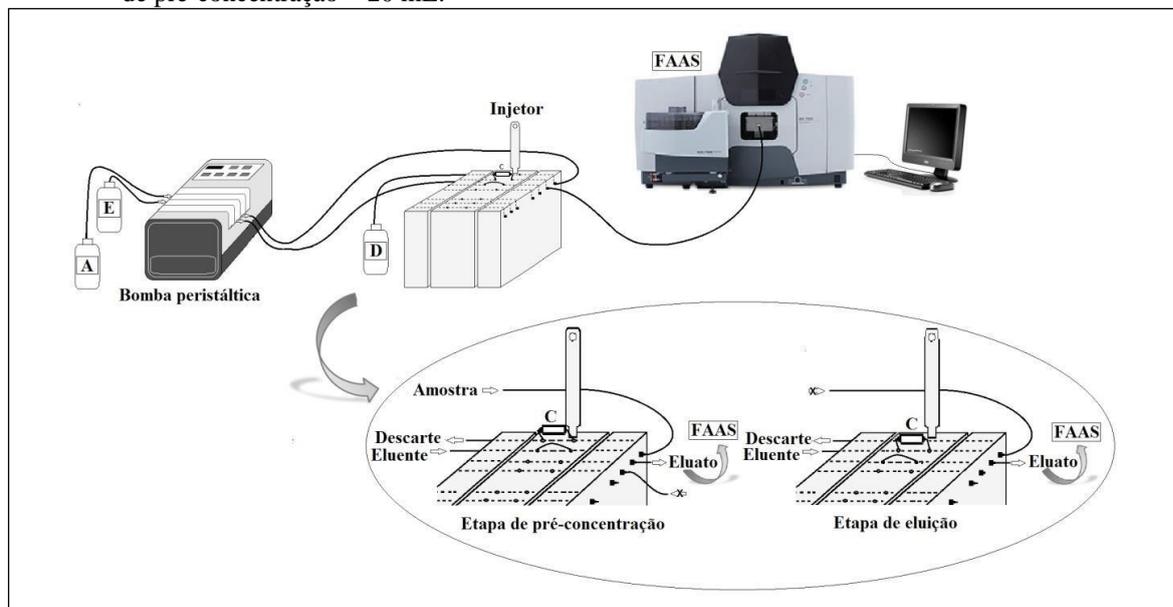
f) 6ª Síntese do Aerogel de Grafeno

Um volume de 100 mL de uma suspensão  $6 \text{ mg L}^{-1}$  de GO foi levado ao ultrassom por 1 h, em seguida acrescentou-se  $5 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{FeSO}_4$  agitando manualmente, a mistura então foi mantida em banho de óleo por 6 h. Posteriormente o material foi congelado por 24h e por fim liofilizado por 72h (CONG et al., 2012).

### **7.5 Preparo da minicoluna e sistema de extração *on-line* de íons $\text{Cd}^{2+}$**

Uma minicoluna feita de polietileno (2,0 cm de comprimento e 1,0 cm de diâmetro interno) foi empacotada com 150 mg de GA-3D. Um pequeno pedaço de tecido de algodão foi colocado em cada extremidade da minicoluna, inserindo conexões de tubo de tygon na borda da minicoluna cilíndrica afim de impedir perdas do adsorvente durante as etapas de pré-concentração. A Figura 20 apresenta o diagrama esquemático do sistema em linha de pré-concentração de cádmio. Na etapa de pré-concentração, sob condições otimizadas 20 mL da solução da amostra (pH 5,13;  $0,049 \text{ mol L}^{-1}$  tampão acetato) são percolados através da minicoluna a uma vazão de  $7,8 \text{ mL min}^{-1}$ . Posteriormente, o injetor comutador é colocado na posição de eluição, e uma solução de  $\text{HNO}_3$   $1,2 \text{ mol L}^{-1}$  percola a coluna em fluxo contínuo a uma vazão de  $3,9 \text{ mL min}^{-1}$ , os íons cádmio são então dessorvidos e direcionados a chama de um espectrômetro de absorção atômica. Experimentos com soluções em branco foram executados nas mesmas condições. A resposta analítica foi avaliada como altura de pico (correspondente a absorbância máxima).

Figura 20 – Diagrama esquemático do sistema de pré-concentração em fluxo. Eluente =  $\text{HNO}_3$  1 mol  $\text{L}^{-1}$ ; Volume de pré-concentração = 20 mL.



Fonte: do autor.

## 7.6 Avaliação da capacidade adsortiva frente ao pH

A capacidade de troca iônica dos adsoventes é fortemente influenciada pelos valores de pH do meio, assim no presente estudo avaliou-se a retenção dos íons  $\text{Cd}^{2+}$  em função da alteração de pH da solução. Para tanto, utilizando o sistema de pré-concentração apresentado na Figura 20 percolou-se 20 mL de uma solução de  $\text{Cd}^{2+}$  300  $\mu\text{g L}^{-1}$  (0,05 mol  $\text{L}^{-1}$  de tampão), a uma vazão de 3,9  $\text{mL min}^{-1}$ , em seguida elui-se a mesma vazão com uma solução de  $\text{HNO}_3$  1 mol  $\text{L}^{-1}$ , sendo o eluato conduzido para a detecção. Realizou-se ainda as leituras de todas as soluções diretamente no FAAS, sem pré-concentrar.

## 7.7 Amostras

Nos estudos de exatidão utilizou-se amostras da Represa de Furnas coletadas na região do braço Sapucaí e Clube Náutico, as Águas de Mina próximo a Unifal-MG na cidade de Alfenas/MG. Todas as amostras tiveram o pH ajustado para 5,13 com solução tampão acetato 0,049 mol  $\text{L}^{-1}$  e foram analisadas imediatamente.

## 7.8 Procedimento de otimização

As melhores condições de trabalho para adsorção de íons cádmio em GA-3D foram determinadas utilizando planejamento fatorial na etapa de triagem e delineamento experimental baseado em Matriz de Doehlert em associação com metodologia de superfície de resposta na otimização [17]. Os principais fatores pertinentes ao sistema proposto são: vazão de pré-concentração (VP), Vazão de eluição (VE), concentração de tampão (CT), concentração do eluente (CE) e pH da solução (pH). A vazão de eluição controla a velocidade do  $\text{HNO}_3$  que atravessa a coluna e portanto deve ser compatível com a extração dos íons  $\text{Cd}^{2+}$  retidos na fase sólida e com o fluxo de aspiração do FAAS. Assim, respeitando a vazão do equipamento fixou-se a VE em  $3.9 \text{ mL min}^{-1}$ , e o restante dos fatores foram estudados por meio de um planejamento factorial  $2^4$ .

Os níveis iniciais do estudo no planejamento fatorial basearam-se na revisão de literatura e no conhecimento prévio do sistema. Assim, em todo processo de otimização utilizou-se o sistema de pré-concentração *on-line* FIA-FAAS descrito na Figura 20, mantendo-se as seguintes condições: solução de  $300 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Cd}^{2+}$ , volume de pré-concentração de 20 mL, massa da coluna 200 mg, tipo de eluente  $\text{HNO}_3$ . O parâmetro utilizado como resposta analítica foi altura de pico (Absorbância). Os dados experimentais foram processados usando-se o programa *STATISTICA 7.0* (StatSoft, Tulsa, USA), estabelecendo significância estatística com nível de confiança 95%. A otimização do sistema proposto utilizou um planejamento factorial fracionário  $2^4$  seguido pela Matriz de Doehlert.

### 7.8.1 Planejamento fatorial de dois níveis

O efeito dos 4 fatores selecionados, vazão de pré-concentração (VP), concentração de tampão (CT), concentração do eluente (CE) e pH da solução (pH) foram investigados utilizando-se o planejamento factorial  $2^4$  envolvendo 16 experimentos em duplicata, cuja combinação dos níveis e matriz do planejamento encontram-se na Tabela 2. Estes experimentos foram realizados em duplicata e em ordem aleatória.

Tabela 2 - Níveis dos fatores no planejamento 2<sup>4</sup>

Sigla	Fator	Níveis		
		Mínimo (-)	Máximo (+)	
pH	pH da solução	5,0	7,0	
CT	Concentração Tampão (mol L <sup>-1</sup> )	0,08	0,20	
VP	Vazão de Pré-concentração (mL min <sup>-1</sup> )	3,9	7,8	
CE	Concentração Eluente (mol L <sup>-1</sup> )	0,1	0,8	
Ensaio	pH	CT	VP	CE
1	- (5,0)	- (0,08)	- (3,9)	- (0,1)
2	+ (7,0)	- (0,08)	- (3,9)	- (0,1)
3	- (5,0)	+ (0,20)	- (3,9)	- (0,1)
4	+ (7,0)	+ (0,20)	- (3,9)	- (0,1)
5	- (5,0)	- (0,08)	+ (7,8)	- (0,1)
6	+ (7,0)	- (0,08)	+ (7,8)	- (0,1)
7	- (5,0)	+ (0,20)	+ (7,8)	- (0,1)
8	+ (7,0)	+ (0,20)	+ (7,8)	- (0,1)
9	- (5,0)	- (0,08)	- (3,9)	+ (0,8)
10	+ (7,0)	- (0,08)	- (3,9)	+ (0,8)
11	- (5,0)	+ (0,20)	- (3,9)	+ (0,8)
12	+ (7,0)	+ (0,20)	- (3,9)	+ (0,8)
13	- (5,0)	- (0,08)	+ (7,8)	+ (0,8)
14	+ (7,0)	- (0,08)	+ (7,8)	+ (0,8)
15	- (5,0)	+ (0,20)	+ (7,8)	+ (0,8)
16	+ (7,0)	+ (0,20)	+ (7,8)	+ (0,8)

Os valores entre parênteses expressam os níveis reais dos fatores estudados.

### 7.8.2 Planejamento Doehlert

De posse da significância estatística dos fatores investigados no planejamento 2<sup>4</sup>, um planejamento Doehlert para três fatores (pH, CT e CE) foi realizado empregando Metodologia dqa Superfície de Resposta para otimização final do método. Os níveis para a montagem do planejamento de Doehlert foram escolhidos a partir do resultado obtido no planejamento factorial, conhecimento químico do sistema e viabilidade. A Tabela 3 apresenta os níveis reais e codificados da matriz de Doehlert para três fatores e descreve o planejamento de Doehlert

utilizado na otimização do sistema de pré-concentração FIA-FAAS para determinação *on line* de  $\text{Cd}^{2+}$ . Visando estimar o erro experimental foram realizadas triplicatas no ponto central. Todos experimentos foram realizados em ordem aleatória e percolando-se 20 mL de solução de cádmio  $300,0 \text{ g L}^{-1}$ .

Tabela 3 - Níveis codificados e reais e Matriz de Doehlert empregada na otimização do sistema de pré-concentração *on-line* de  $\text{Cd}^{2+}$ .

Fatores		Níveis Codificados e Reais					
pH		-1 (4,0)	-0,5 (4,5)	0 (5,0)	0,5 (5,5)	1 (6,0)	
CT ( $\text{mol L}^{-1}$ )	-0,866 (0,01)	-0,577 (0,025)	-0,289 (0,04)	0 (0,055)	0,289 (0,070)	0,577 (0,085)	0,866 (0,10)
CE ( $\text{mol L}^{-1}$ )			-0,817 (0,4)	0 (0,8)	0,817 (1,2)		

Ensaio	pH	Concentração do tampão ( $\text{mol L}^{-1}$ )	Concentração do eluente ( $\text{mol L}^{-1}$ )
1	5,0 (0)	0,055 (0)	0,8 (0)
2	5,0 (0)	0,055 (0)	0,8 (0)
3	5,0 (0)	0,055 (0)	0,8 (0)
4	6,0 (1)	0,055 (0)	0,8 (0)
5	5,5 (0,5)	0,10 (0,866)	0,8 (0)
6	5,5 (0,5)	0,070 (0,289)	1,2 (0,817)
7	4,0 (-1)	0,055 (0)	0,8 (0)
8	4,5 (-0,5)	0,01 (-0,866)	0,8 (0)
9	4,5 (-0,5)	0,04 (-0,289)	0,4 (-0,817)
10	5,5 (0,5)	0,01 (-0,866)	0,8 (0)
11	5,5 (0,5)	0,04 (-0,289)	0,4 (-0,817)
12	4,5 (-0,5)	0,10 (0,866)	0,8 (0)
13	5,0 (0)	0,085 (0,577)	0,4 (-0,817)
14	6,5 (-0,5)	0,070 (0,289)	1,2 (0,817)
15	5,0 (0)	0,025 (-0,577)	1,2 (0,817)

O primeiro número representa os valores reais, enquanto os números entre parênteses representam os valores codificados da matriz Doehlert.

## 7.9 Estudo do volume de solução pré-concentrada

Visando explorar melhor o sistema com relação ao volume de pré-concentração, efetuou-se um estudo aumentando gradativamente o volume de solução inserida na minicoluna. Mantendo-se as condições otimizadas, foram pré-concentrados volumes de 5, 10, 20, 40, 60, 80 e 100 mL de solução  $200 \mu\text{g L}^{-1}$  de  $\text{Cd}^{2+}$  (pH 5,13; CT =  $0,049 \text{ mol L}^{-1}$ ), o procedimento foi efetuado em triplicata usando o sistema *on-line* FIA-FAAS.

### 7.10 Avaliação de possíveis interferentes

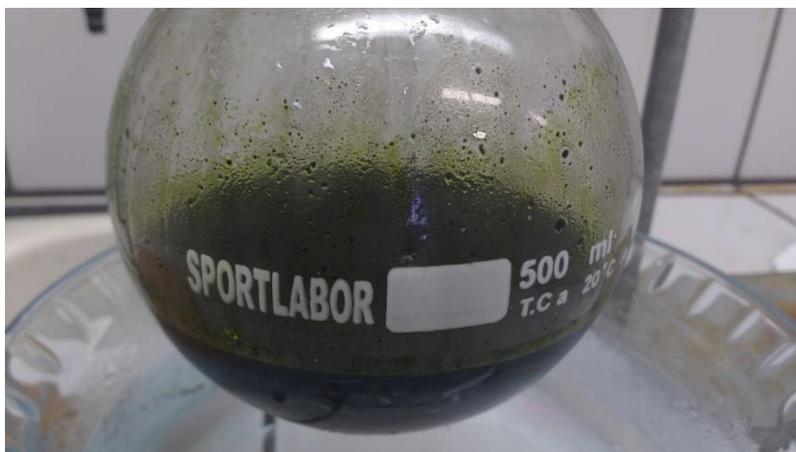
O efeito dos íons concomitantes sobre a seletividade, do sistema de pré-concentração em linha proposto para cádmio foi avaliado, sob condições otimizadas, através do estudo de pré-concentração competitiva de  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Se}^{4+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , e  $\text{Mn}^{2+}$ , em uma mistura binária com íons cádmio na concentração de  $200 \text{ g L}^{-1}$ . O sinal analítico obtido para a mistura binária foi comparado com ao sinal da solução contendo somente cádmio. Alterações de  $\pm 15 \%$  no sinal analítico da solução de cádmio na presença dos concomitantes, em comparação com aquela contendo apenas o íon cádmio foram consideradas significativas. As proporções de analito/interferente investigadas foram 1:1, 1:10 e 1:100 (m/v).

## 8 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 8.1 Síntese do Óxido de Grafeno (GO)

Os resultados encontrados para o desenvolvimento da síntese e obtenção do óxido de grafeno corroboram com os resultados reportados na literatura, onde, por exemplo, observa-se a alteração da coloração da solução de preta para uma tonalidade marrom após adição de permanganato de potássio. O material apresenta estabilidade a temperatura ambiente, resistência física mesmo após elevado tempo de armazenamento.

Figura 21 - Solução da síntese de GO após adição de permanganato de potássio.



Fonte: do autor.

### 8.2 Rotas de síntese avaliadas para o aerogel de grafeno

Na busca pelo aerogel de grafeno com elevada porosidade, resistência mecânica e viável para aplicação como fase extratora, realizou-se uma revisão bibliográfica visando à escolha da melhor rota de síntese (Figura 22). Diante do levantamento realizado foram estudadas seis rotas. Embora cada uma das sínteses apresente particularidades especiais, às duas primeiras resultaram em um produto final muito frágil que facilmente se desfazia após o processo de liofilização, tornando o material inviável para nossa aplicação. Uma possível explicação para tal fato é a formação ineficiente da rede do aerogel de grafeno, a qual rapidamente se dispersava com a retirada da água que, de certo modo, favorecia a proximidade das cadeias de carbono.

Figura 22 - Rotas sintéticas que apresentaram produto final inviável. (a) Imagem do produto obtido pela síntese 1; (b) Imagem do produto obtido pela síntese 2.



Fonte: do autor (2019).

Com base nestes resultados fez-se necessária a investigação de novas rotas sintéticas que forneçam aerogel mecanicamente mais resistente. A síntese descrita por Cong, H. e colaboradores destaca a adição de  $\text{FeSO}_4$  na melhoria principalmente da robustez do produto final bem como maior rapidez e praticidade no processo de síntese (DE SOUZA et al., 2014). Wei Chen, et al também relatam a importância de elementos metálicos na rede do aerogel, para fins de contornar a problemática na obtenção de aerogéis como aperfeiçoadores das propriedades mecânicas (CHEN et al., 2015).

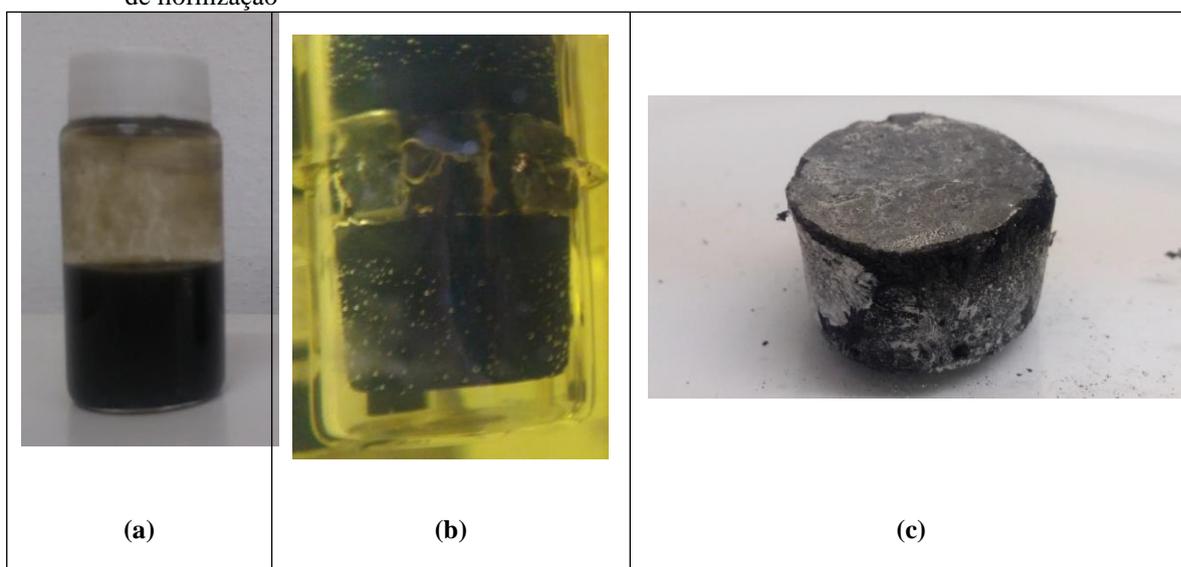
De fato, os resultados observados na prática são condizentes com essas informações relatadas na literatura, uma vez que os materiais sintetizados por meio do procedimento descrito por Cong et al. foram menos frágeis. Em ambos os procedimentos da 3<sup>a</sup> a 6<sup>a</sup> síntese pode-se verificar resultados mais satisfatórios, sendo possível observar a formação do aerogel que logo na primeira hora de reação, tomava forma do frasco reacional flutuando em direção à superfície, como pode ser observado na Figura 23.

Observou-se que o material obtido na 3<sup>a</sup> síntese, embora formado logo nos primeiros 30 min de reação, não sustentou a estrutura de aerogel até o final do processo, uma vez que após 6 horas de síntese o mesmo se desfez ficando dividido em 2 blocos. Uma provável explicação é a concentração de óxido de grafeno ( $2 \text{ mg L}^{-1}$ ) e  $\text{FeSO}_4$  ( $5 \text{ mmol L}^{-1}$ ) na suspensão, pois acredita-se que o GO sintetizado pode não estar com pureza elevada para garantir a concentração do mesmo em solução. Além disso, trabalhos na literatura reportam que o êxito na obtenção do aerogel depende em grande parte da quantidade do agente redutor  $\text{Fe(II)}$ , onde concentrações maiores oferecem melhor desempenho [20]. Deste modo, pode-se dizer que a

fraca reticulação e colapso do produto obtido poderiam estar relacionados às concentrações dos reagentes ao baixo grau de redução do óxido de grafeno.

Diante disso, a 4ª síntese foi realizada aumentando-se a concentração do GO para 5 mg L<sup>-1</sup> e mantendo-se a concentração de FeSO<sub>4</sub> em 5 mmol L<sup>-1</sup> e pH=3. Como pode ser observado na Figura 23 (c) o aumento da concentração do óxido de grafeno conduziu a formação de um produto final mais condizente com a estrutura do aerogel de grafeno. As propriedades mecânicas apresentadas são mais favoráveis à aplicação do mesmo como fase extratora. O mesmo procedimento realizado ajustando-se o pH para 8 não apresentou diferenças significativas, tendo em vista que somente uma fragilidade um pouco maior foi verificada no produto obtido em pH=8.

**Figura 23** - Síntese do aerogel conduzida pelo procedimento descrito por Cong, H. e colaboradores. (a) Início da reação; (b) Início da formação do aerogel (30 minutos de reação); (c) Aerogel formado após o processo de liofilização

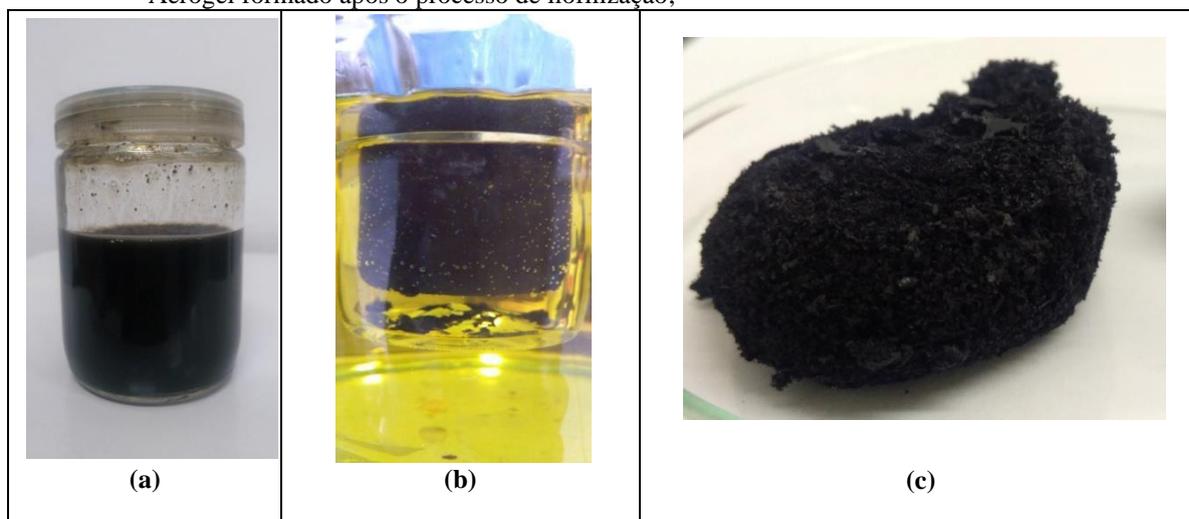


Fonte: do autor (2019)

Considerando as vantagens de um maior volume de amostra extraída, a conveniência da extração em disco para essa finalidade e a possibilidade de aplicação de fases sólidas baseadas em aerogel de grafeno, realizou-se a 5ª síntese em um frasco de 500 mL, mantendo-se as mesmas concentrações da síntese anterior. Sob essas condições, a estrutura 3D formada não permaneceu íntegra até o final da síntese, demonstrando grande fragilidade o que tornou inviável prosseguir o restante das etapas. Como já mencionado uma explicação pode estar relacionada à formação ineficiente da rede de aerogel devido ao aumento de volume, que pode conferir menor estabilidade ao material.

A 6ª síntese optou-se pelo uso de um volume de 100 mL de suspensão  $6 \text{ mg L}^{-1}$  de GO e  $5 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{FeSO}$ . A síntese resultou em um material cilindro de maior diâmetro, que embora tenha se mantido após a liofilização, apresentou-se uma maior fragilidade quando comparado ao material proveniente da 4ª síntese. A Figura 24 (c) apresenta o material obtido, o qual possui visivelmente maior porosidade, o que sugere fracas interações da rede do aerogel devido ao menor grau de redução do óxido de grafeno.

Figura 24 – Síntese do aerogel em maior volume conduzida pelo procedimento descrito por Cong, H. e colaboradores. (a) Início da reação; (b) Início da formação do aerogel (30 minutos de reação); (c) Aerogel formado após o processo de liofilização;



Fonte: do autor (2019)

Experimentalmente verificou-se que a formação do aerogel requer tempo e procedimento sem agitação, uma vez que qualquer perturbação no processo desconstrói a estrutura de maneira irreversível. Assim os procedimentos foram mantidos durante a etapa de síntese livres de qualquer agitação. Uma vantagem dessa rota é a possibilidade de aumentar o diâmetro do produto final por meio do aumento do frasco reacional, uma vez que o aerogel modela-se de acordo com o recipiente que o contém.

Contudo, embora o produto obtido em concentrações menores (Figura 23 (c)) apresente propriedades mecânicas satisfatórias, a obtenção do aerogel de tamanhos maiores (Figura 24 (c)) com as mesmas características exigem estudos adicionais. Acredita-se ainda que uma nova rota de síntese baseada na incorporação de outro metal como, por exemplo, cobalto pode levar a obtenção de materiais mais promissores.

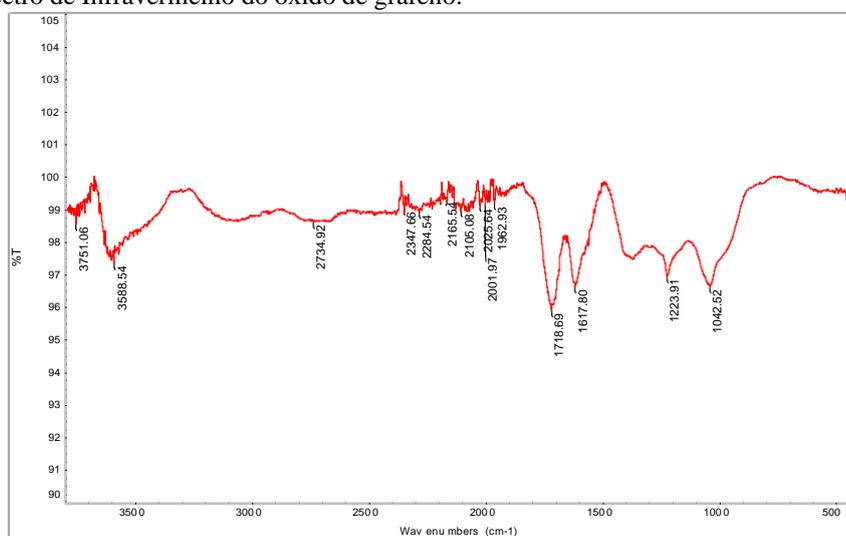
Os dados descritos na literatura reportam características ainda melhores quando se incorpora  $\text{Co}^{2+}$  ao meio reacional, pois esse catalisa, regula o pH do meio e atua aumentando a taxa de

polimerização quando associado ao resorcinol e formaldeído (MEHDINIA; KHODAEI; JABBARI, 2015)

### 8.3 Caracterização do Óxido de Grafeno e Aerogel de Grafeno.

A presença dos principais grupos funcionais do GO obtido através do método de Hummers modificado, foi avaliada pela espectroscopia da região do infravermelho e está apresentada na Figura 25. Analisando os resultados verifica-se a presença de bandas características de grupos funcionais oxigenados em  $1718\text{ cm}^{-1}$  atribuído a C=O, banda menos intensa em  $1400\text{ cm}^{-1}$  de -OH, em  $1223\text{ cm}^{-1}$  atribuída a C-O de grupos epóxido. A banda levemente alargada em  $3588\text{ cm}^{-1}$  pode ser referente a vibrações de estiramento de O-H em moléculas de água absorvidas, em  $1617$  correspondente a vibrações de estiramento de C=C. As bandas em  $1223$  e  $1042\text{ cm}^{-1}$  são atribuídas a vibrações de estiramento C-O-C de grupos epóxi e vibrações de estiramento de C-O respectivamente (SOARES, 2006).

Figura 25 - Espectro de Infravermelho do óxido de grafeno.



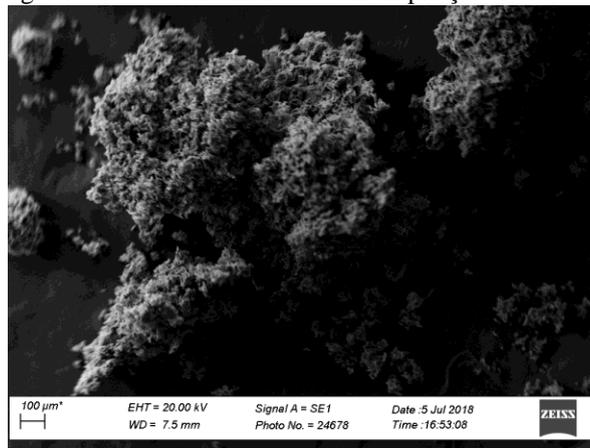
Fonte: do autor,(2019).

A morfologia do material foi estudada através da Microscopia eletrônica de Varredura (MEV) representada na Figura 26, (A) GA-3D após liofilização, Figura (B, C) GA-3D 10000x e 100000x respectivamente e (D) GO sintetizada. Foi observada uma diferença significativa na porosidade superficial do aerogel de grafeno (Figura 26C) em comparação com o óxido de grafeno sintetizado (Figura 1D). A maior porosidade do GA-3D lhe confere características vantajosas sendo um fator importante, proporcionando uma diminuição na resistência de transferência de massa de íons cádmio para os sítios ativos do adsorvente.

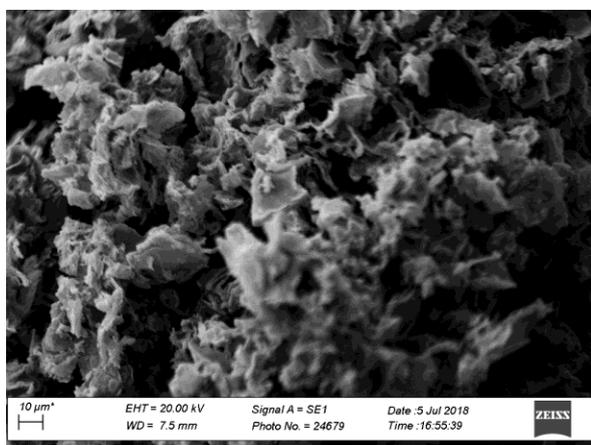
Figura 26 - (A) GA-3D sintetizado; (B) imagens de MEV do material de aerogel de grafeno GA-3D com ampliação de 10000 (B) e 100000 (C); (D) Imagens MEV do material GO com ampliação de 10000.



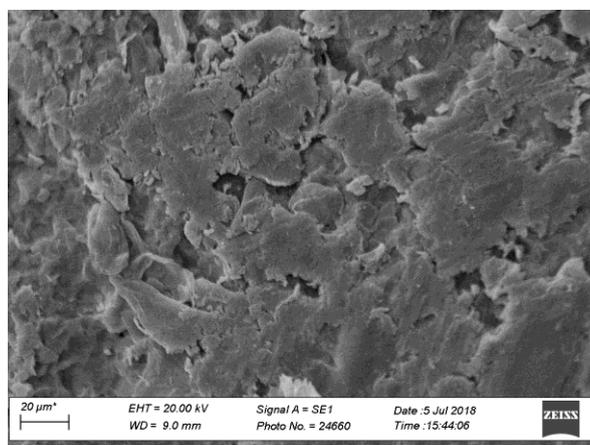
(A)



(B)



(C)

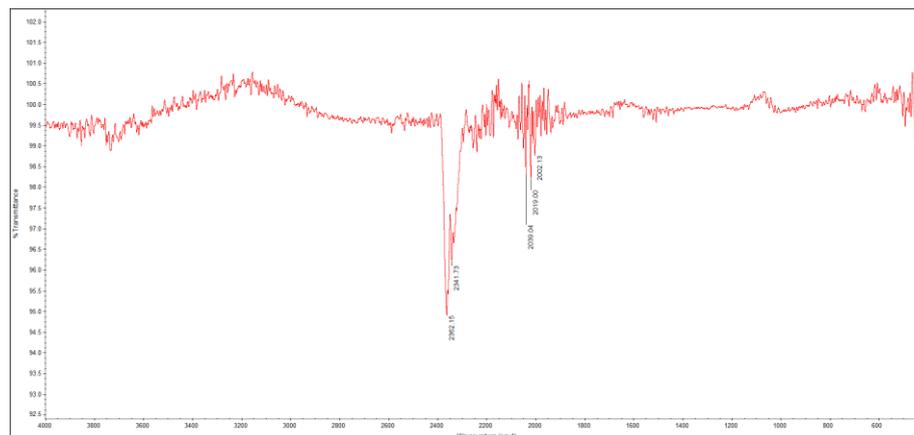


(D)

Fonte: do autor, (2019).

A Figura 27 apresenta o resultado do espectro de infravermelho do aerogel de grafeno obtido através do procedimento descrito por Cong, H. e colaboradores. Comparado ao espectro de infravermelho do óxido de grafeno (Figura 25) observa-se a um desaparecimento quase completo de bandas de grande intensidade no óxido de grafeno principalmente na região entre  $500$  a  $1700\text{ cm}^{-1}$ . Deste modo, conclui-se que possivelmente durante o processo a maioria dos grupos funcionais contendo oxigênio, tais como epóxido, hidroxila e carboxila foram removidos. estes dados corroboram com informações descritas na literatura. A banda intensa em  $2362\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída a  $\text{C}\equiv\text{C}$  (SOARES, 2006).

Figura 27 - Espectro de Infravermelho do aerogel de grafeno.

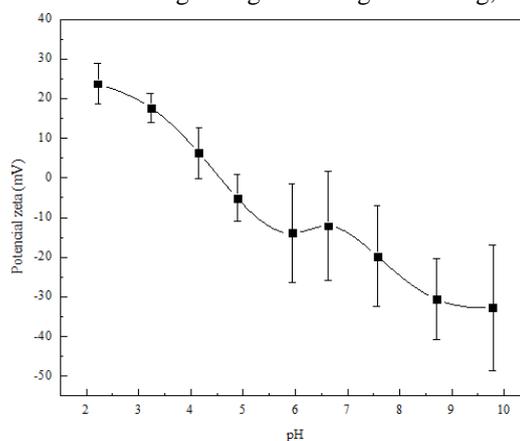


Fonte: do autor,(2019).

Sabendo que o potencial Zeta é um parâmetro físico-químico que sugere o nível de repulsão de partículas de mesma carga, em uma dada dispersão e que tais resultados relacionam-se a estabilidade, avaliou-se a mobilidade das partículas de aerogel de grafeno a temperatura ambiente usando dispersões de  $1 \text{ mg mL}^{-1}$  em diferentes valores de pH ajustados com NaOH ou HCl ( $0,25$  ou  $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ ).

Em geral, partículas com potenciais zeta mais positivos do que  $+30 \text{ mV}$  ou mais negativos do que  $-30 \text{ mV}$  tendem a formar dispersões estáveis devido à repulsão eletrostática interpartícula. A Figura 28 mostra que o potencial zeta da dispersão do aerogel de grafeno é sensível ao pH, assim a carga superficial diminui claramente com o aumento do pH na faixa de 2 a 10, sendo o ponto isoelétrico (ponto de carga zero) encontrado para o material sintetizado em torno de 4,9 (KARA et al., 2004).

Figura 28 - Potencial Zeta das partículas de aerogel de grafeno segundo Cong, H. colaboradores.

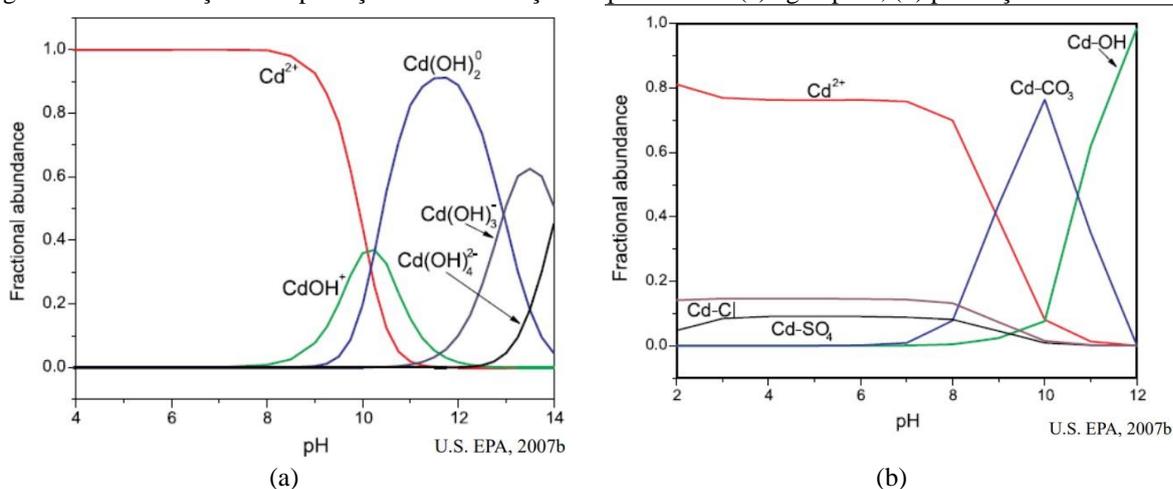


Fonte: do autor, (2019).

## 8.4 Avaliação da capacidade adsortiva frente ao pH

Como apresentado no diagrama de distribuição das espécies em água pura (Figura 29), embora o cádmio seja razoavelmente estável na forma de íons  $\text{Cd}^{2+}$ , ele pode também formar complexos aquosos, sendo as espécies  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cd}(\text{OH})^+$  e  $\text{Cd}(\text{OH})_2$  predominantes em valores de  $\text{pH} < 12$ . A forma iônica do cádmio predomina em valores de  $\text{pH}$  menores que 9,0. Porém, em se tratando de amostras ambientais o cádmio pode ainda estar sob a forma de  $\text{CdCl}$ ,  $\text{CdSO}_4$ ,  $\text{CdCO}_3$  e  $\text{Cd}(\text{OH})$ .

Figura 29 - Distribuição de especiação  $\text{Cd}^{2+}$  em função do  $\text{pH}$  a  $25^\circ\text{C}$  : (a) água pura; (b) presença de sais.



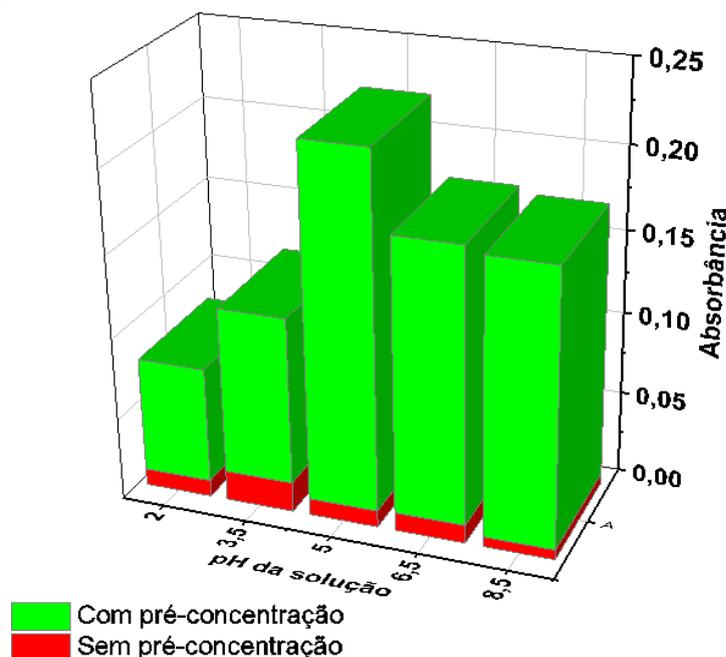
Fonte: [117]

Os dados apresentados da Figura 29 confirmam a forte relação entre a capacidade adsortiva e o  $\text{pH}$  da solução. Observa-se que em valores menores de  $\text{pH}$ , há grande concentração de íons  $\text{H}^+$ , o que aumenta a competição pelos sítios de troca no adsorvente, dificultando a retenção dos cátions metálicos. Em contrapartida, em valores maiores de  $\text{pH}$  ocorre um aumento na adsorção de cátions metálicos.

Nas condições experimentais desse estudo, apenas a forma iônica do cádmio está disponível para interação com o adsorvente, e portanto a desprotonação das superfícies de troca e consequente aumento de cargas negativas no sólido extrator, explicam o aumento da capacidade adsortiva em valores maiores de  $\text{pH}$ . Tais informações corroboram com dados reportados na literatura, segundo os quais em valores maiores de  $\text{pH}$  há um aumento da capacidade adsortiva (ANDRÉ LUIZ TESSARO, 2005).

Como pode ser observado na Figura 30, elevados valores de absorvância foram obtidos para  $\text{Cd}^{2+}$  após a adsorção em GA-3D no intervalo de pH de 2,0-8,5, enquanto reduzido sinal analítico é obtido sem a etapa de pré-concentração. Deste modo, nota-se que em pH 5,0 há uma melhor adsorção. A diminuição do sinal analítico em pH 8,5 se deve provavelmente à formação de espécies  $[\text{Cd}(\text{OH})]^+$  e  $[\text{Cd}(\text{OH})_2]$  que não são adsorvidas.

Figura 30 - Efeito do pH da amostra na absorvância de  $\text{Cd}^{2+}$   $300 \mu\text{g L}^{-1}$  usando a minicoluna de:GA-3D.



Fonte: do autor, (2019).

## 8.5 Procedimento de otimização

### 8.5.1 Planejamento fatorial de dois níveis

Os resultados da investigação preliminar da influência dos fatores no sistema por meio do planejamento fatorial estão apresentados na Tabela 4. A significância dos efeitos das variáveis em estudo foi estudada através da Análise de Variância (ANOVA) e os efeitos averificados utilizando-se os valores de P, podendo esses ser graficamente visualizados no Diagrama de Pareto (Figura 31).

Pode-se observar que os fatores concentração do tampão, pH da amostra e concentração do eluente mostraram-se significativos ao nível estudado. A vazão de pré-concentração assim como as interações  $\text{pH} \times \text{CT}$ ,  $\text{CT} \times \text{VP}$ ,  $\text{pH} \times \text{CE}$ ,  $\text{CT} \times \text{CE}$ ,  $\text{pH} \times \text{VP}$ ,  $\text{VP} \times \text{CE}$  não foram significativas.

O efeito principal do fator concentração do tampão CT mostrou-se mais significativo. De fato, essa variável a função do tampão é garantir o pH ótimo constante e sua concentração mostrou-se eficiente nos dois níveis estudados. Contudo, tendo em vista que neste sistema não há recondicionamento da minicoluna inter análises, e que a eluição é realizada em meio ácido. Fica clara a importância da concentração do tampão no sentido promover rapidamente o recondicionamento da minicoluna ao pH apropriado para a pré-concentração.

O valor negativo associado ao efeito CT visualizado no diagrama de Pareto confirmam a eficiência do tampão e ainda sugerem que o nível inferior dessa variável ( $0,08 \text{ mol L}^{-1}$ ) apresenta melhor resultado em termos de sinal analítico, quando comparado ao nível superior estudado ( $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ ). Tal informação pode ser explicada devido ao aumento desnecessário de força iônica do meio, onde podemos considerar que mesmo em pequenas proporções a alta quantidade de íons em solução sobre o extrator pode refletir em desfavorecimento dos sítios de ligação.

O segundo efeito mais significativo é o pH da solução, esse efeito pode ser explicado sabendo-se da importância do pH na especiação de cádmio em solução e efetiva carga na superfície do sólido extrator. Dentre os níveis estudados o diagrama de Pareto sugere que trabalhar com a solução em pH 5 oferece maior contribuição a resposta analítica.

A concentração do eluente foi terceiro e último fator tido como significativo, apresentando efeito positivo sobre o sistema. Essa informação pode-se ser traduzida ao melhor desempenho de eluição quando o ácido está na maior concentração, ou seja, a eluição com uma solução de  $\text{HNO}_3$   $0,8 \text{ mol L}^{-1}$  é mais efetiva que  $\text{HNO}_3$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .

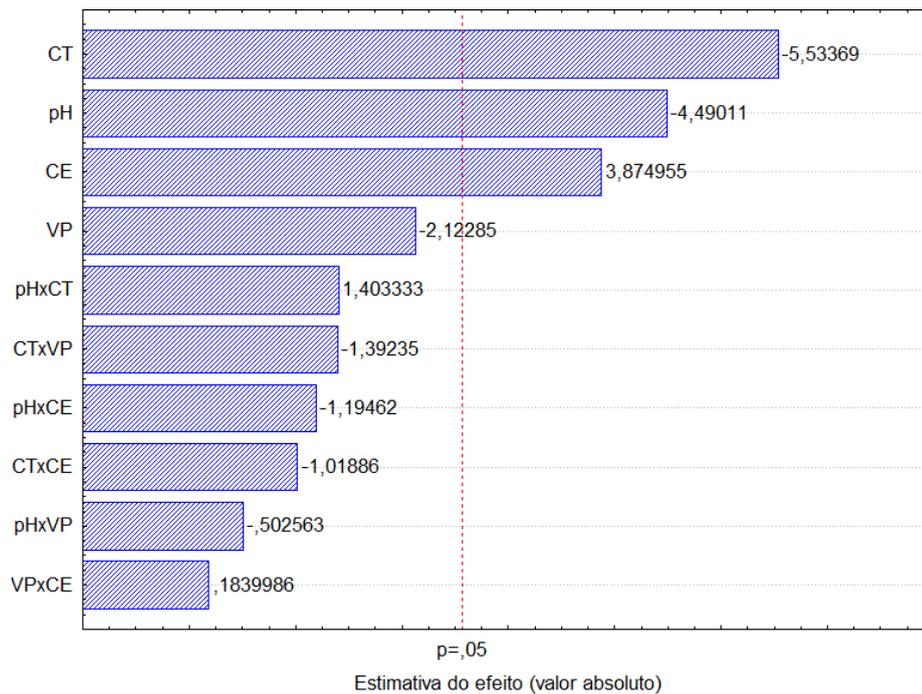
A não significância do fator VP pode ser justificada considerando que a amostragem foi realizada em termos de volume, ou seja, o volume pré-concentrado foi constante em todos os experimentos, o independente da vazão estudada. Diante desses resultados, acredita-se que os níveis estudados no planejamento fatorial apresentaram diferença significativa na capacidade de retenção do analito na superfície do sólido adsorvente. Porém é importante considerar o bom senso na escolha destes, uma vez que uma diminuição da vazão prejudica a frequência analítica e grande elevação da VP pode gerar pressão na minicoluna.

Deste modo, mantendo um compromisso entre frequência analítica satisfatória e bom desempenho da minicoluna de extração optou-se por fixar a vazão de pré-concentração em  $7,8 \text{ mL min}^{-1}$  e estudar por meio da matriz de Doehlert os fatores que apresentaram efeitos significativos na resposta analítica.

Tabela 4 - Níveis dos fatores no planejamento 2<sup>4</sup>

Sigla	Fator	Níveis		
		Mínimo (-)	Máximo (+)	
pH	pH da amostra	5,0	7,0	
CT	Concentração Tampão (mol L <sup>-1</sup> )	0,08	0,20	
VP	Vazão de Pré-concentração (mL min <sup>-1</sup> )	3,9	7,8	
CE	Concentração Eluente (mol L <sup>-1</sup> )	0,1	0,8	
Ensaio	pH	CT	VP	CE
<b>1</b>	- (5,0)	- (0,08)	- (3,9)	- (0,1)
<b>2</b>	+ (7,0)	- (0,08)	- (3,9)	- (0,1)
<b>3</b>	- (5,0)	+ (0,20)	- (3,9)	- (0,1)
<b>4</b>	+ (7,0)	+ (0,20)	- (3,9)	- (0,1)
<b>5</b>	- (5,0)	- (0,08)	+ (7,8)	- (0,1)
<b>6</b>	+ (7,0)	- (0,08)	+ (7,8)	- (0,1)
<b>7</b>	- (5,0)	+ (0,20)	+ (7,8)	- (0,1)
<b>8</b>	+ (7,0)	+ (0,20)	+ (7,8)	- (0,1)
<b>9</b>	- (5,0)	- (0,08)	- (3,9)	+ (0,8)
<b>10</b>	+ (7,0)	- (0,08)	- (3,9)	+ (0,8)
<b>11</b>	- (5,0)	+ (0,20)	- (3,9)	+ (0,8)
<b>12</b>	+ (7,0)	+ (0,20)	- (3,9)	+ (0,8)
<b>13</b>	- (5,0)	- (0,08)	+ (7,8)	+ (0,8)
<b>14</b>	+ (7,0)	- (0,08)	+ (7,8)	+ (0,8)
<b>15</b>	- (5,0)	+ (0,20)	+ (7,8)	+ (0,8)
<b>16</b>	+ (7,0)	+ (0,20)	+ (7,8)	+ (0,8)

Os valores entre parênteses expressam os níveis reais dos fatores estudados.

**Figura 31:** (a) Diagrama de Pareto.

Fonte: do autor.

### 8.5.2 Otimização utilizando planejamento Doehlert para três fatores

Após a triagem dos fatores, os valores ótimos para pH, CT e CE foram obtidos utilizando Matriz de Doehlert para três fatores. Os resultados são então apresentados na TABELA 5 e geraram a superfície de resposta e o gráfico de curvas de níveis apresentado na Figura 31. Esta superfície de resposta pode ser descrita pela equação 5.

O modelo de regressão quadrático (Equação 32) construído a partir dos dados obtidos no planejamento Doehlert, estabelece a relação entre os três fatores e absorvância. A análise de variância (ANOVA) mostrou que 95,5% da fonte de variação deste modelo é explicada pela regressão a um nível de confiança de 95% .

Tabela 5 - Matriz de Dohelert usada na otimização do sistema de pré-concentração *on line* de Cd<sup>2+</sup>.

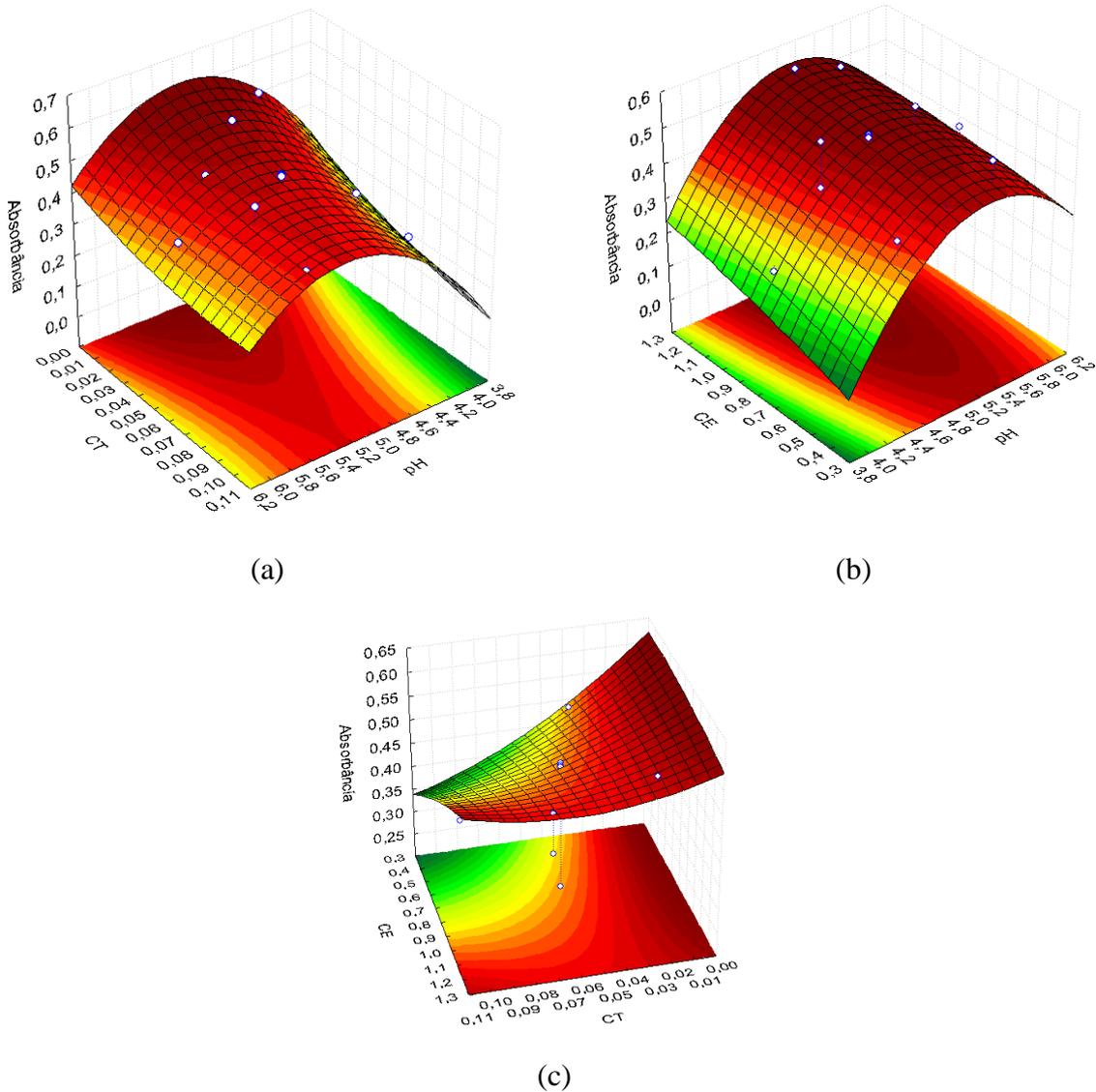
Experimentos	Fatores			Absorbância
	pH	CT (mol L <sup>-1</sup> )	CE (mol L <sup>-1</sup> )	
1	5,0 (0)	0,055 (0)	0,8 (0)	0,507
2	5,0 (0)	0,055 (0)	0,8 (0)	0,502
3	5,0 (0)	0,055 (0)	0,8 (0)	0,499
4	6,0 (1)	0,055 (0)	0,8 (0)	0,422
5	5,5 (0,5)	0,10 (0,866)	0,8 (0)	0,441
6	5,5 (0,5)	0,070 (0,289)	1,2 (0,817)	0,522
7	4,0 (-1)	0,055 (0)	0,8 (0)	0,240
8	4,5 (-0,5)	0,01 (-0,866)	0,8 (0)	0,546
9	4,5 (-0,5)	0,04 (-0,289)	0,4 (-0,817)	0,405
10	5,5 (0,5)	0,01 (-0,866)	0,8 (0)	0,533
11	5,5 (0,5)	0,04 (-0,289)	0,4 (-0,817)	0,510
12	4,5 (-0,5)	0,10 (0,866)	0,8 (0)	0,415
13	5,0 (0)	0,085 (0,577)	0,4 (-0,817)	0,386
4	4,5 (-0,5)	0,070 (0,289)	1,2 (0,817)	0,440
15	5,0 (0)	0,025 (-0,577)	1,2 (0,817)	0,550

\*O primeiro número representa os valores reais números entre parenteses representam os valores codificados.

O modelo estatístico mencionado permite observar um valor muito pequeno para o termo quadrático da vazão de pré-concentração (VP), sugerindo assim sua insignificância e refletindo a ausência de um ponto crítico para este fator, como demonstrado na superfície de resposta da Figura 32(a).

Como pode ser observado na Figura 32 (a) (Superfície de resposta que relaciona CTxpH), o melhor pH está na região estudada no ponto central do experimento, essa informação pode ser confirmada por meio do valor de ótimo obtido pelo programa, em que o valor ótimo para o pH é 5,13. Para a concentração do eluente, o valor ótimo obtido foi CE = 1,2 mol L<sup>-1</sup>, essa informação pode ser visualizada na Figura 31 (b) (Superfície de resposta que relaciona CExpH). O valor ótimo encontrado para a concentração de tampão foi CT = 0,049 mol L<sup>-1</sup>, pela Figura 31 (c) (Superfície de resposta que relaciona CExCT) pode-se verificar melhor essa informação.

Figura 32 - Superfícies de Resposta obtidas pelos resultados da Matriz de Doehlert para 3 fatores. (a) CTxpH; (b)CExpH; (c) CExCT.



**Fonte:** do autor.

Deste modo, de posse das informações obtidas durante todo o processo de otimização multivariada do sistema chegou-se as seguintes condições otimizadas: CE = 1,2 mol L<sup>-1</sup>, CT = 0,049 mol L<sup>-1</sup> e pH 5,13. Tais informações foram acrescidas das condições experimentais definidas em etapas anteriores chegando-se as condições experimentais apresentadas na Tabela 6.

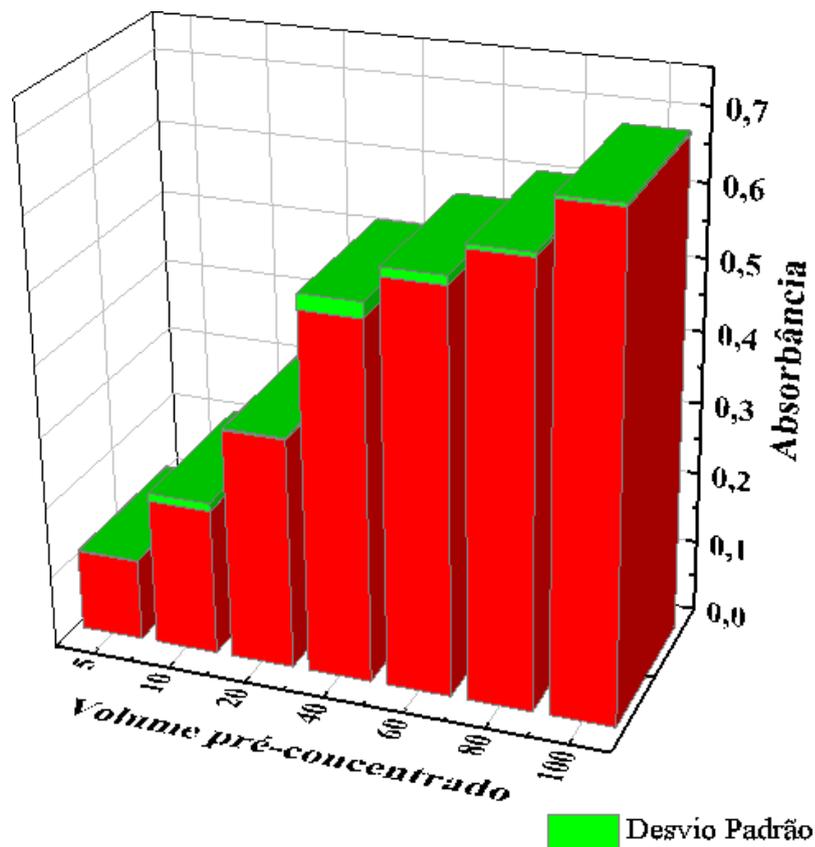
Tabela 6 - Condições de experimentais do Sistema de pré-concentração on-line de Cd<sup>2+</sup>.

Fator	Condição Otimizada
Concentração de eluente	1,2 mol L <sup>-1</sup>
Volume de amostra	20 mL
Vazão de pré-concentração	7,8 mL min <sup>-1</sup>
Vazão de eluição	3,9 mL min <sup>-1</sup>
pH da solução	5,13
Concentração do tampão	0,049 mol L <sup>-1</sup>
Massa de adsorvente	150 mg de GA-3D
Tipo de Eluente	HNO <sub>3</sub>

### 8.6 Estudo do volume de solução pré-concentrada

A Figura 33 apresenta os resultados obtidos aumentando o volume de solução pré-concentrada. Como pode-se observar aumentando o volume de pré-concentração aumenta-se o sinal analítico de maneira considerável, essa informação é bastante útil pois indica que visando melhorar a detectabilidade do sistema um volume maior de amostra poderá ser pré-concentrado sem prejuízo adicional na capacidade de adsorção. Cabe dizer ainda que a minicoluna suportou bem a passagem de volumes elevados de amostra e durante todo o estudo não observou-se efeito de memória mesmo ao passar 100 mL de amostra pela minicoluna de GA-3D.

Figura 33 - Estudo do volume de solução pré-concentrada.

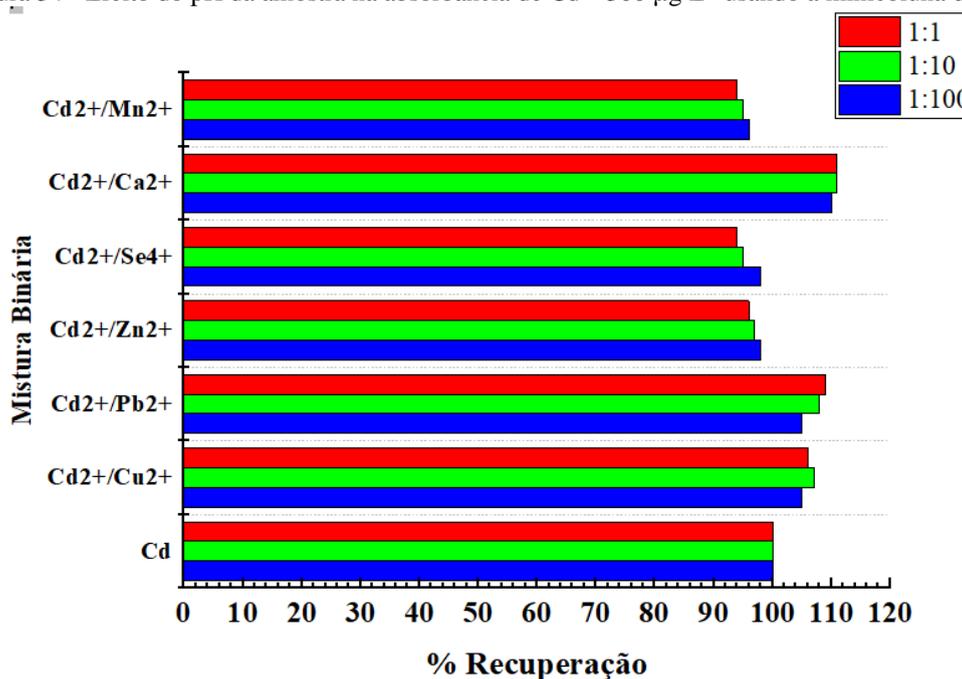


Fonte: do autor.

### 8.7 Estudo de possíveis interferentes

A Figura 34 apresenta a porcentagem de recuperação do sinal analítico quando foram pré-concentradas as soluções binárias  $\text{Cd}^{2+}$ /Concomitante ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Se}^{4+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , e  $\text{Mn}^{2+}$ ) nas proporções 1:1, 1:10 e 1:100. Os dados apresentados na Figura 33 demonstram a tolerância do sistema proposto frente a íons possíveis de serem encontrados em amostras ambientais, mesmo em concentrações elevadas. Esse comportamento pode ser justificado considerando que o material tem como importante vantagem a elevada área superficial e portanto os sítios disponíveis para adsorção não são comprometidos mesmo havendo uma competição com outros íons metálicos. Além disso, deve-se considerar a seletividade da técnica de absorção atômica em chama que contribui significativamente com a baixa interferência observada.

Figura 34 - Efeito do pH da amostra na absorvância de  $\text{Cd}^{2+}$   $300 \mu\text{g L}^{-1}$  usando a minicoluna de:GA-3D.



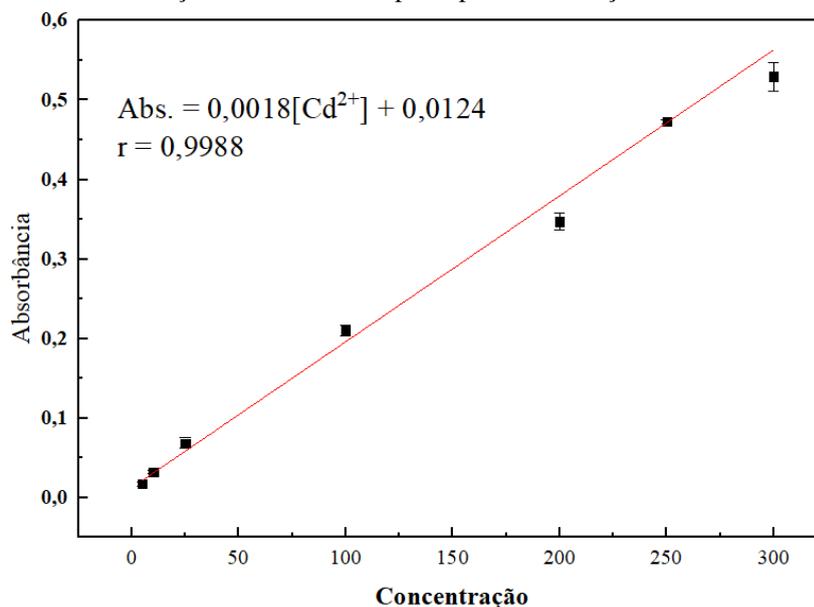
Fonte: do autor.

## 8.8 Parâmetros analíticos, validação e aplicação do método de pré-concentração em linha

Buscando avaliar as melhorias na sensibilidade de quantificação de cádmio pelo sistema pré-concentração *on-line* em GA-3D, construiu-se curvas de calibração com e sem a etapa de pré-concentração. Como ilustra a Figura 35, a faixa linear da curva de calibração para a pré-concentração em GA-3D foi de  $5,0$  a  $300,0 \mu\text{g L}^{-1}$  ( $R = 0,9988$ ) com uma equação de regressão  $\text{ABS} = 0,0124 + 0,0018 [\text{Cd}^{2+}, \mu\text{g L}^{-1}]$ . O fator de pré-concentração do método proposto, calculado pela razão entre as inclinações das curvas analíticas com a etapa de pré-concentração em GA-3D e sem a etapa de pré-concentração (Figura 36), foi de 20 vezes. Os parâmetros eficiência de concentração, índice de consumo e frequência de amostragem foram calculados segundo as equações apresentadas no item 5.

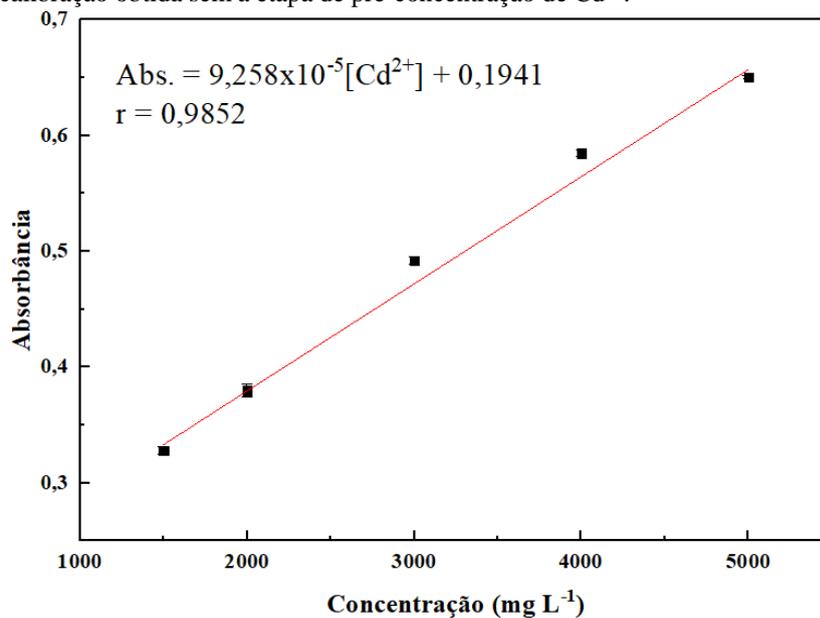
Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) de  $1,67$  e  $5,58 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente, foram calculados em acordo com a recomendação da IUPAC [21]. O LD foi baseado em  $3.sd/m$ , onde  $sd$  é o desvio padrão do branco ( $n = 10$ ) e  $m$  é a inclinação da curva de calibração. O LQ foi determinado como  $10.sd/m$ . Outros parâmetros analíticos do método proposto, incluindo índice de consumo  $1,18 \text{ mL}$  e frequência de amostragem de  $20 \text{ h}^{-1}$  também foram calculados [22]. A precisão de foi  $5,5\%$  ( $\text{Cd}^{2+} 50 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e  $2,24\%$  ( $\text{Cd}^{2+} 200 \mu\text{g L}^{-1}$ ).

Figura 35 - Curva de calibração obtida com a etapa de pré-concentração de  $\text{Cd}^{2+}$  em GA-3D.



Fonte: do autor.

Figura 36 - Curva de calibração obtida sem a etapa de pré-concentração de  $\text{Cd}^{2+}$ .



Fonte: do autor.

Como apresentado na Tabela 7 as características analíticas obtidas neste estudo são comparáveis a trabalhos reportados na literatura. Considerando índice de consumo, ausência de quelantes e facilidade de execução, o sistema proposto apresenta vantagens e figuras de mérito satisfatórias frente a alguns métodos referenciados. Embora não tenham sido realizados estudos aprofundados de estabilidade do adsorvente GA-3D, pode-se afirmar excelente resistência química do mesmo tendo em vista que apenas uma minicoluna foi utilizada durante o desenvolvimento e aplicação do método sem perda de capacidade de adsorção.

A aplicabilidade do método proposto foi avaliada por meio da análise de amostras reais. Os resultados dos testes de adição e recuperação são mostrados na Tabela 10, e confirmam que o adsorvente pode ser aplicado com sucesso na pré-concentração e análise de íons cádmio em amostras ambientais. Em parte das amostras analisadas não foram encontradas concentrações quantificáveis de cádmio, no ponto 2 a concentração encontrada foi de  $58 \mu\text{g L}^{-1}$ . Considerando que a água da represa se enquadra na classe 1, no sentido de garantir à proteção das comunidades aquáticas e destinar-se à irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que sejam ingeridas cruas sem remoção de película, a concentração máxima permitida seria  $1 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Para as águas da Classe 2 que se aplicam os mesmos padrões da Classe 1, onde as águas podem ser destinadas à proteção das comunidades aquáticas, irrigação de hortaliças, plantas frutíferas, aquicultura e pesca, atividades extensamente desenvolvidas na região de estudo, a concentração encontrada também estaria acima do limite permitido.

Porém de posse somente dessas amostras não se pode inferir muito sobre a área de estudo, tendo em vista que o volume de amostra e espaço amostral não são representativos do todo, necessitando para tanto investigação mais profunda. Além disso, o sedimento também é um compartimento ambiental de considerável relevância e necessita ser avaliado para informações mais conclusivas a respeito da área estudada.

Tabela 7 - Resultados da aplicação do método proposto na determinação de  $\text{Cd}^{2+}$  em amostras de água da Represa de Furnas.

Amostras	Concentração de cádmio adicionada ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Concentração de cádmio encontrada ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Recuperação (%)
Água Represa Ponto 1	0	< LQ	-
	50	$54 \pm 0,08$	108
Água Represa Ponto 2	0	$58 \pm 3,60$	-
	50	$108 \pm 1,52$	100
Água de Mina	0	< LQ	-
	50	$57 \pm 4,30$	114

\* Os resultados são expressos como média  $\pm$  desvio padrão. (n = 5)

A Tabela 8 faz uma comparação de características analíticas de métodos reportados na literatura para a pré-concentração de Cádmio com o trabalho realizado, mostrando a boa eficiência do método.

Tabela 8 - Comparação de diferentes métodos de pré-concentração em fase sólida para determinação de Cádmio.

<b>Detecção</b>	<b>Pré-concentração</b>	<b>L.D. (<math>\mu\text{g.L}^{-1}</math>)</b>	<b>F.P.</b>	<b>Aplicação</b>	<b>Ref.</b>
FAAS	IIP-CMCS/SiO <sub>2</sub>	1,8	257	Água	(LÜ; AN; XIE, 2013)
TS-FF-AAS	Filtro	1,36	60	sedimento	(OLIVEIRA et al., 2014)
ICP-OES	Si+SiO <sub>2</sub>	0,158		CRM-TMDW	(ARAS; YALÇIN, 2016)
ICP-OES	Ditizona/Naftaleno	30	13	Salmora	(BATISTA; AUGUSTO; PEREIRA-FILHO, 2016)
FAAS	SiAT	$0,8 \times 10^{-3}$	29	Água	(SPÍNOLA COSTA et al., 2002)
FAAS	Vermicomposto	5	100	Água Mineral	(DE MORAES et al., 2003)
FIA-FAAS	GA-3D	1,67	20	Água	Este trabalho

L.D.: Limite de Detecção; F.P.: Fator de pré-concentração.

## 9 CONCLUSÃO

Nesta proposta o GA-3D mostrou-se uma boa alternativa para a extração de íons cádmio, com baixo consumo de reagentes e sem necessidade de uso de agentes complexantes auxiliares, permitindo ainda melhorias significativa na detectabilidade da técnica, com fator de pré-concentração de 20 vezes para a pré-concentração de um volume de 20 mL de amostra, podendo esse ser ainda melhor aumentando-se o volume da amostra.

Além disso, o método proposto destaca-se por sua simplicidade e baixo custo, pois elimina a necessidade de solvente orgânico, atingindo boa frequência analítica e seletividade. Assim, o método proposto pode ser aplicado no monitoramento de íons  $\text{Cd}^{2+}$  em amostras ambientais.

## REFERÊNCIAS

- ANDERSSO, L. Imprinting of amino acid derivatives in macroporous polymers. **Tetrahedron Letters**, v. 25, n. 45, p. 5211–5214, 1984.
- ARAS, N.; YALÇIN, Ş. Development and validation of a laser-induced breakdown spectroscopic method for ultra-trace determination of Cu, Mn, Cd and Pb metals in aqueous droplets after drying. **Talanta**, v. 149, p. 53–61, 2016.
- BATISTA, É. F.; AUGUSTO, A. D. S.; PEREIRA-FILHO, E. R. Chemometric evaluation of Cd, Co, Cr, Cu, Ni (inductively coupled plasma optical emission spectrometry) and Pb (graphite furnace atomic absorption spectrometry) concentrations in lipstick samples intended to be used by adults and children. **Talanta**, v. 150, p. 206–212, 2016.
- BARBOSA, A. F.; et. al. Solid-phase extraction system for Pb (II) ions enrichment based on multiwall carbon nanotubes coupled on-line to flame atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 71, n. 4, p. 1512–1519, 2007.
- Baird, Colin. **Environmental chemistry / Colin Baird, Michael Cann**. 4 ed. Porto Alegre : Bookman, 2011.
- BEHBAHANI, M. et al. A pH responsive nanogel composed of magnetite, silica and poly(4-vinylpyridine) for extraction of Cd(II), Cu(II), Ni(II) and Pb(II). **Microchimica Acta**, v. 183, n. 1, p. 111–121, 2016.
- BLAIR, S. N. et al. Physical Activity Assessment Methodology in the Five-City Project1. **American Journal of Epidemiology**, v. 121, n. 1, p. 91–106, 2017.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC N° 899/2003, de maio de 2003. Dispõe sobre o regulamento de procedimentos para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem. [**Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, 2003.
- BORGES, D. L. G., Dias, L. F., Veiga, M. A. M. S. da, & Curtius, A. J.. Determination of cadmium in sediments and in sewage sludge by slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry using iridium as permanent modifier. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, p. 291–296, 2003.
- BURROWS, H. D. et al. Reaction pathways and mechanisms of photodegradation of pesticides. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 67, n. 2, p. 71–108, 2002.
- CAMPÍNS-FALCÓ, P.; HERRÁEZ-HERNÁNDEZ, R.; SEVILLANO-CABEZA, A. Column-switching techniques for high-performance liquid chromatography of drugs in biological samples. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 619, n. 2, p. 177–190, 1993.
- CANEVAROLO, S. V. **Ciência dos Polímeros. Um Texto Básico Para Tecnólogos e Engenheiros**. 5 ed. São Paulo: Artlibe, 2010.

CARMO, D. F. **Avaliação da presença de clorofenóis no Reservatório de Salto Grande, situado na região de Americana.** 2000. 298f. Dissertação de Mestrado- Escola de Engenharia de São Carlos, USP, São Carlos., 2000.

CASTRO, M. V. I M. D. L. DE. Analisis por Inyeccion en Flujo. **Imprenta San Pablo**, 1984.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO, Publicado no Diário Oficial Estado de São Paulo - Caderno Executivo I (Poder Executivo, Seção I), edição nº 127(28) do dia 10/02/2017 Páginas : 47 a 52. Dispõe sobre o procedimento para gerenciamento de áreas contaminadas., São Paulo, 2017.

CHEN, W. et al. Preparation of graphene aerogel and its electrochemical properties as the electrode materials for supercapacitors. **16th International Conference on Electronic Packaging Technology, ICEPT 2015**, p. 35–38, 2015.

CHEN, Y.; ZHAO, W.; ZHANG, J. Preparation of 4-vinylpyridine (4VP) resin and its adsorption performance for heavy metal ions. **RSC Advances**, v. 7, n. 8, p. 4226–4236, 2017.

Baird, Colin. **Environmental chemistry / Colin Baird, Michael Cann.** 4 ed. Porto Alegre : Bookman, 2011.

CONAMA., Secretária especial do Meio Ambiente, Resolução N. 1/1986, de 23 de Janeiro de 1986. Dispõe sobre critérios básicos e diretrizes gerais para a avaliação de impacto ambiental. **Diário Oficial[da Republica Federativa do Brasil]**, Brasilia, 1986.

CONAMA., Secretária especial do Meio Ambiente, Resolução N. 357/2005, de 17 de Março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial[da Republica Federativa do Brasil]**, Brasilia, 2005.

CONG, H. P. et al. Macroscopic multifunctional graphene-based hydrogels and aerogels by a metal ion induced self-assembly process. **ACS Nano**, v. 6, n. 3, p. 2693–2703, 2012.

COSTA, A. L. M. **Bioacumulação de poluentes organopersistentes (POPs) em traíra (Hoplias malabaricus) e seus efeitos in vitro em células do sistema imune de carpa (Cyprinus carpio).** 2006. 56f. Dissertação de Mestrado - Departamento de Biologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

COSTA, I. F. M. et al. Contribuição química para o plano de gerenciamento de Águas residuais de serviços de saúde. **Química Nova**, v. 36, n. 10, p. 1533–1539, 2013.

DÜPONT, A. and Lobo, EA. Evaluation of the efficiency of the sewage treatment plant from the University of Santa Cruz do Sul (UNISC), RS, Brazil. **Acta Limnologica Brasiliensia**, vol. 24, no. 2, p. 119-126, 2012.

MORAES, F. V. et al. Determinação de Cd por FAAS em meio aquoso após pré-concentração em linha sobre SiAT. **Ecletica Química**, v. 28, n. 1, p. 9–17, 2003.

FLORES, A. V. et al. Organoclorados: um problema de saúde pública. **Ambiente & Sociedade**, v. 7, n. 2, p. 111–124, 2006.

FARIA, H. D. et al. Direct extraction of tetracyclines from bovine milk using restricted access carbon nanotubes in a column switching liquid chromatography system. **Food Chemistry**, v. 225, p. 98–106, 2017.

CORMACK, G. P. A.; ELORZA, A. Z. Molecularly imprinted polymers: synthesis and characterisation. **Journal of Chromatography B**, v. 804, n. 1, p. 173–182, 2004.

GERANI, K.; MORTAHEB, H. R.; MOKHTARANI, B. Enhancement in Performance of Sulfonated PES Cation Exchange Membrane by Introducing Pristine and Sulfonated Graphene Oxide Nanosheets Synthesized through Hummers and Staudenmaier Methods. **Babak Mokhtarani**, v. 56, n. 5, p. 393, 2016.

GUO-ZHEN, F.; JIN, T.; XIU-PING, Y. An Ion-Imprinted Functionalized Silica Gel Sorbent Prepared by a Surface Imprinting Technique Combined with a Sol–Gel Process for Selective Solid-Phase Extraction of Cadmium(II). **Analytical Chemistry**, v. 77, n. 6, p. 1734–1739, 2005.

HAMADA, N. et al. Avaliação Ecotoxicológica da Estação de Tratamento de Esgotos Suzano (São Paulo) Utilizando *Daphnia similis* e *Vibrio fischeri*. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 6, n. 1, p. 31–35, 2011.

HAN, Q. et al. Graphene aerogel based monolith for effective solid-phase extraction of trace environmental pollutants from water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1447, p. 39–46, 2016.

IMANDI, S. B. et al. Optimization of medium constituents for the production of citric acid from byproduct glycerol using Doehlert experimental design. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 40, n. 5, p. 1367–1372, 2007.

J.ŘUŽIČKA; E.H.HANSEN. Flow injection analyses: Part I. A new concept of fast continuous flow analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 78, n. 1, p. 145–157, 1975.

JAL P.K., PATEL S., M. B. K. chemical modification of silica surface by immobilization of functional groups for extractive concentration of metal ions. **Talanta**, v. 62, p. 1005–1028, 2004.

KANTIANI, L. et al. Development and validation of a pressurised liquid extraction liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry method for  $\beta$ -lactams and sulfonamides in animal feed. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 26, p. 4247–4254, 2010.

KARA, A. et al. Poly(ethylene glycol dimethacrylate-*n*-vinyl imidazole) beads for heavy metal removal. **Journal of Hazardous Materials**, v. 106, n. 2–3, p. 93–99, 2004.

LI, N.; CHEN, J.; SHI, Y. P. Magnetic graphene solid-phase extraction for the determination of carbamate pesticides in tomatoes coupled with high performance liquid chromatography. **Talanta**, v. 141, p. 212–219, 2015.

LI, Y. et al. Facile synthesis of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles decorated on 3D graphene aerogels as broad-spectrum sorbents for water treatment. **Applied Surface Science**, v. 369, p. 11–18, 2016.

LÜ, H.; AN, H.; XIE, Z. Ion-imprinted carboxymethyl chitosan-silica hybrid sorbent for extraction of cadmium from water samples. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 56, p. 89–93, 2013.

MAHPISHANIAN, S.; SERESHTI, H. Three-dimensional graphene aerogel-supported iron oxide nanoparticles as an efficient adsorbent for magnetic solid phase extraction of organophosphorus pesticide residues in fruit juices followed by gas chromatographic determination. **Journal of Chromatography A**, v. 1443, p. 43–53, 2016.

MALIK, A. K.; BLASCO, C.; PICÓ, Y. Liquid chromatography-mass spectrometry in food safety. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 25, p. 4018–4040, 2010.

MEHDINIA, A.; KHODAEI, N.; JABBARI, A. Fabrication of graphene/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@polythiophene nanocomposite and its application in the magnetic solid-phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from environmental water samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 868, p. 1–9, 2015.

MIDIO, A. F.; MARTINS, D. I. *Toxicologia de Alimentos*. v. 1, p. 295, 2000.

MOLINA, M. F.; NECHAR, M.; BOSQUE-SENDRA, J. M. Determination of Zinc in Environmental Samples by Solid Phase Spectrophotometry: Optimization and Validation Study. **Analytical Sciences**, v. 14, n. 4, p. 791–797, 2005.

MOTTA VEIGA, M. et al. Análise da contaminação dos sistemas hídricos por agrotóxicos numa pequena comunidade rural do Sudeste do Brasil Pesticide pollution in water systems in a small rural community in Southeast Brazil. **Cadernos de Saúde Pública, Rio de Janeiro**, v. 22, n. 11, p. 2391–2399, 2006.

OBANDO, M. A.; ESTELA, J. M.; CERDÀ, V. Multi-syringe chromatography (MSC) system for the on-line solid-phase extraction and determination of hydrochlorothiazide and losartan potassium in superficial water, groundwater and wastewater outlet samples. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 48, n. 1, p. 212–217, 2008.

OUBINA, A., PUIG, D., GASCÓN, J., & BARCELÓ, D. Determination of pentachlorophenol in certified waste waters, soil samples and industrial effluents using ELISA and liquid solid extraction followed by liquid chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 346, n. 1, p. 49–59, 1997.

OLIVEIRA, F. M. DE et al. Assessment of cadmium and iron adsorption in sediment, employing a flow injection analysis system with on line filtration and detection by flame atomic absorption spectrometry and thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 809, p. 82–87, 2014.

PADULA, N. A. DE M. R. et al. Intoxicação por chumbo e saúde infantil: ações intersectoriais para o enfrentamento da questão. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, n. 1, p. 163–171, 2006.

PEDROUZO, M. et al. Pharmaceutical determination in surface and wastewaters using high-performance liquid chromatography-(electrospray)-mass spectrometry. **Journal of Separation Science**, v. 30, n. 3, p. 297–303, 2007.

PERALTA-ZAMORA, P.; MORAIS, J. L. DE; NAGATA, N. Why multivariate optimization? **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 10, n. 2, p. 106–110, 2005.

PEREIRA NAVARRO LINS, J. A. et al. Uso de peixes como biomarcadores para monitoramento ambiental aquático. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 8, n. 4, p. 469, 2017.

PUMERA, M. et al. Graphene for electrochemical sensing and biosensing. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 29, n. 9, p. 954–965, 2010.

QUEIROZ, M. E. C.; JUNIOR, V. R. A. Column Switching Liquid Chromatography for Bioanalysis. **Scientia Chromatographica**, v. 2, n. 9, p. 73–82, 2017.

R. CAMERON. A Guide for Site and Soil Description in Hazardous Waste Site Characterization. **Metals, Environmental Protection Agency (EPA), Washington DC**, v. 1, p. 3–17, 1992.

RIVAS, B. L.; QUILODRÁN, B.; QUIROZ, E. Trace metal ion retention properties of crosslinked poly(4-vinylpyridine) and poly(acrylic acid). **Journal of Applied Polymer Science**, v. 92, n. 5, p. 2908–2916, 2004.

RODRIGUES, L. C. A. et al. Phytotoxicity and cytogenotoxicity of water and sediment of urban stream in bioassay with *Lactuca sativa* | Fitotoxicidade e citogenotoxicidade da água e sedimento de córrego urbano em bioensaio com *Lactuca sativa*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 10, p. 1099–1108, 2013.

RODRIGUEZ-MOZAZ, S.; LOPEZ DE ALDA, M. J.; BARCELÓ, D. Advantages and limitations of on-line solid phase extraction coupled to liquid chromatography-mass spectrometry technologies versus biosensors for monitoring of emerging contaminants in water. **Journal of Chromatography A**, v. 1152, n. 1–2, p. 97–115, 2007.

RUZICKA, J.; HANSEN, E. H. **Flow Injection Analysis**. 2 ed.. Wiley, 1998.

SANCHO\*, M. D. FERRANDO\*, M. GAMON, E. A.-M. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology**, v. 103, n. 2, p. 351–356, 1992.

SOUZA, K. C. et al. Magnetic solid-phase extraction based on mesoporous silica-coated magnetic nanoparticles for analysis of oral antidiabetic drugs in human plasma. **Materials Science and Engineering C**, v. 40, p. 275–280, 2014.

SANTOS, A. J. N.; SIQUEIRA, M. E. P. B. Análise de praguicidas organofosforados em água por extração em fase sólida (SPE) utilizando discos C18 e cromatografia em fase gasosa: Avaliação da contaminação do reservatório de furnas (MG-Brasil). **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 747–750, 2005.

SAPKOTA, A. et al. Aquaculture practices and potential human health risks: Current knowledge and future priorities. **Environment International**, v. 34, n. 8, p. 1215–1226, 2008.

SEGATELLI, M. G. et al. Silica-Alumina-Niobia (SiO<sub>2</sub>/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) Matrix Obtained by the Sol-gel Processing Method: New Material for Online Extraction of Zinc Ions. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 21, n. 6, p. 1106–1116, 2010.

SHEN, Y.; FANG, Q.; CHEN, B. Environmental applications of three-dimensional graphene-based macrostructures: Adsorption, transformation, and detection. **Environmental Science and Technology**, v. 49, n. 1, p. 67–84, 2015.

SILVA, D. C. V. R. DA et al. Avaliação da eficiência de um índice de estado trófico na determinação da qualidade da água de reservatórios para abastecimento público. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 23, n. 4, p. 627–635, 2018.

SITKO, R.; ZAWISZA, B.; MALICKA, E. Graphene as a new sorbent in analytical chemistry. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 51, p. 33–43, 2013.

SOARES L. A. et al., Análises preliminares de substâncias viscosas em espectrômetro de infravermelho utilizando suporte alternativo **Revista Eletrônica de Farmácia** Vol 3, p. 63-67, 2006.

SOUSA, M. D.; BARBOSA, C. M. Polímeros com capacidade de reconhecimento molecular no controlo da libertação de fármacos. Parte 1: Síntese e caracterização. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1609–1619, 2009.

SPÍNOLA COSTA, A. C. et al. Separation and pre-concentration of cadmium, copper, lead, nickel and zinc by solid-liquid extraction of their cocrystallized naphthalene dithizone chelate in saline matrices. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 13, n. 5, p. 674–678, 2002.

TABAKCI, M.; ERDEMIR, S.; YILMAZ, M. Preparation, characterization of cellulose-grafted with calix[4]arene polymers for the adsorption of heavy metals and dichromate anions. **Journal of Hazardous Materials**, v. 148, n. 1–2, p. 428–435, 2007.

TARLEY, C. R. T.; SOTOMAYOR, M. D. P. T.; KUBOTA, L. T. Polímeros biomiéticos em química analítica. Parte 1: Preparo e aplicações de MIP em técnicas de extração e separação. **Quim. Nova**, v. 28, n. 6, p. 1076–1086, 2005.

TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. QUIMIOMETRIA II: PLANILHAS ELETRÔNICAS PARA CÁLCULOS DE PLANEJAMENTOS EXPERIMENTAIS, UM TUTORIAL Reinaldo F. Teófilo e Márcia M. C. Ferreira\*. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 338–350, 2006.

TESSARO A. L.. **O efeito do pH na estabilidade de derivados Benzoporfirínicos de anelB em meio água/etanol**. 2005. 68f. Dissertação de Mestrado - Departamento de química, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2005.

VAINIO, H. et al. Meeting of the IARC working group on beryllium, cadmium, mercury and exposures in the glass manufacturing industry. **Scandinavian Journal of Work, Environment and Health**, v. 19, n. 5, p. 360–363, 1993.

VAN DEN BERGH, M.; VAN DE VOORDE, B.; DE VOS, D. Adsorption and Selective Recovery of Citric Acid with Poly(4-vinylpyridine). **ChemSusChem**, v. 10, n. 24, p. 4864–4871, 2017.

VIEIRA, A. C. et al. Molecularly imprinted solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection for the determination of urinary trans,trans-muconic acid: A comparison with ionic exchange extraction. **Analyst**, v. 137, n. 10, p. 2462–2469, 2012.

XIA, Y. et al. Synthesis of three-dimensional graphene aerogel encapsulated n-octadecane for enhancing phase-change behavior and thermal conductivity. **Journal of Materials Chemistry A**, n. 29, 2017.

XING-LILIU et al. Preconcentration of chlorophenols in water samples using three-dimensional graphene-based magnetic nanocomposite as absorbent. **Chinese Chemical Letters**, v. 25, n. 8, p. 1185–1189, 2014.

YANOVSKA, E. S. et al. Synthesis and Adsorption Properties of 4-Vinylpyridine and Styrene Copolymer In Situ Immobilized on Silica Surface. **Nanoscale Research Letters**, v. 12, n. 1, p. 2–7, 2017.

ZAGATTO, E. A. G.; OLIVEIRA, C. C.; COLLINS, C. H. Classificação e definição dos métodos de análises em fluxo (Recomendações - IUPAC 1994). **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 143–146, 1999.

ZANG, P. et al. Green synthesis of holey graphene sheets and their assembly into aerogel with improved ion transport property. **Electrochimica Acta**, v. 212, p. 171–178, 2016.

ZARBIN, A. J. G.; OLIVEIRA, M. M. NANOESTRUTURAS DE CARBONO (NANOTUBOS, GRAFENO): QUO VADIS? **Quim. Nova**, v. 36, n. 10, p. 1533–1539, 2013.

ZHUYIN SUI, QINGHAN MENG, XUETONG ZHANG, RUI MAB, B. C. Versatile Agents for Water Purification. **Journal of Materials Chemistry**, v. 22, n. Vc, p. 8767–8771, 2012.