

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS IMPRESSOS PARA PRÉ-
CONCENTRAÇÃO/EXTRAÇÃO DE Se, U e Cd**

***Ayla Campos do Lago**

Tese apresentada como parte dos requisitos
para obtenção do título de DOUTOR EM
CIÊNCIAS, área de concentração:
QUÍMICA ANALÍTICA

Orientador: Dr. Pedro Sérgio Fadini
Co-orientador: Dr. Pedro Orival Luccas

*** bolsista (CNPq-2011-2015)**

São Carlos - SP

2015

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

L177ap

Lago, Ayla Campos do.

Avaliação de polímeros impressos para pré-concentração/extração de Se, U e Cd / Ayla Campos do Lago -- São Carlos : UFSCar, 2015.
99 f.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2015.

1. Química analítica. 2. Pré-concentração. 3. Polímeros. 4. TS-FF-AAS. 5. HG-AAS. 6. UV-visível. I. Título.

CDD: 543 (20^a)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Química

Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado da candidata Ayla Campos do Lago, realizada em 18/06/2015:

Prof. Dr. Pedro Sergio Fadini
UFSCar

Prof. Dr. Boaventura Freire dos Reis
USP

Prof. Dr. Antonio Aparecido Mozeto
UFSCar

Prof. Dr. Marcos Roberto Lopes do Nascimento
CNEN

Prof. Dr. Célio Wisniewski
UNIFAL

Dedico este trabalho aos amigos
Aos que nasceram familiares,
Aos que se tornaram familiares,
E aos que conheci antes de ontem.

Dedico tanto aos que me deixam louco,
Quanto aos que enlouqueço.

Aos que me criticam em tudo,
E a um ou outro que atura
minha "chatura".

Aos amigos que correm,
Aos amigos que contemplam.

Aos que me consideram muito,
E aos que, com razão, fazem pouco.

Aos que conhecem o que penso,
E aos que só conhecem o que faço.

Aos que passam o dia todo comigo,
E aos que estão todo tempo em mim.

Aos meus amados: Pai e Mãe,
Grazielle, Camila e Jássia ...
A vocês principalmente dedico.

Este trabalho é a soma de todos vocês.
E se ele não é melhor,
É por falta de memória,
Mas não por falta de amigos.

(Adaptado by R. B. Primack & E. Rodrigues)

AGRADECIMENTOS

- ❖ Esta tese é resultado da colaboração de muitos e só foi possível graça às várias pessoas que estiveram presentes direta ou indiretamente na realização deste sonho. Já adianto que os agradecimentos são longos comprovando o quão privilegiada eu sou.
- ❖ Primeiramente agradeço a Deus pelo amor imenso e zelo que me conduziu até aqui, toda honra e glórias sejam dadas a ELE!
- ❖ Um agradecimento mais que especial aos meus pais “Marlene e Carlos” meu amores, meu suporte, minha essência, se cheguei até aqui é pelo incentivo de vocês.
- ❖ Ao meu orientador Pedro Sérgio Fadini pela confiança depositada e por contribuir para a minha vida acadêmica, obrigada Pedro. Ao meu co-orientador Pedro Orival Luccas a quem agradeço profundamente por me supervisionar durante estes 4 anos, pela confiança, amizade e paciência durante todo este período. Muito obrigada por tudo PEDROS da minha vida!!
- ❖ Agradeço imensamente a Grazielle, Camila e Tássia pela amizade, companheirismo e pela execução desta tese. Obrigada meninas amo vocês!!!
- ❖ Aos amigos do Laboratório de Limnologia, Romulo, Anndreisa, Paula, Juan, Fagner, Pedro Frugeri, Luma, Luis, Karime, Ariadne, Isabella, Ronaldo e Rafael meu muito obrigado por tornarem os meus dias mais agradáveis, não só no laboratório, mas em todos os momentos da minha vida. Vocês são para toda a vida tenham certeza disso.
- ❖ As técnicas de laboratório Nilva e Liliane pela companhia no laboratório durante o início do doutorado muito obrigado meninas vocês estão guardadas no meu coração.
- ❖ Ao amigo Marcos Roberto Nascimento pela amizade, confiança e análise das amostras. Muito obrigada Marcos devo muito a você.

- ❖ Ao Laboratório de Poços de Caldas (CNEN-Poços de Caldas-MG) pela realização das amostras; e às indústrias Nucleares do Brasil pelo fornecimento e coleta das amostras.
- ❖ Ao professor Célio Wisniewski pela contribuição nos artigos e confecção dos aparelhos.
- ❖ Ao Programa de Pós-graduação em Química (PPGQ) da UFSCar.
- ❖ A Universidade Federal de Alfenas pela oportunidade de realização do meu trabalho, a Universidade Federal de São Carlos pelo apoio técnico e por contribuir para a minha vida acadêmica. Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) pelo auxílio financeiro.

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS

A	Absorbância
AAS	Espectrometria de absorção atômica (do inglês, <i>Atomic Absorption Spectrometry</i>)
ABDV	azo-bis-dimetilvaleronitrila
ACC	Fibra de carbono ativado (do inglês, <i>Activated Carbon Cloth</i>)
AEDHB	N-(2-etilamino)-2,3-diidroxibenzaldiamina (do inglês, <i>N-(2-aminoethyl)-2,3 dihydroxybenzalimine</i>)
AFS XR	Espectrometria por fluorescência de raio X (do inglês, <i>Atomic Fluorescence Spectrometry XR</i>)
AIBN	2,2'-azo-bis-iso-butironitrila
AIP	Polímero impresso atômica (do inglês <i>Atomic Imprinted Polymer</i>)
AM	Ácido metacrílico
AMPS	2-acrilamida-2-metil, 1-ácido propanosulfônico
ANOVA	Análise de variância (do inglês, <i>Analysis of Variance</i>)
APTMS	3-Aminopropiltrimetoxissilano
ATSDR	Agência de substâncias tóxicas e registros de doença (do inglês, <i>Agency for Toxic Substances and Disease Registry</i>)
C	Confluência
C	Concentração recolhida no efluente
C₀	Concentração inicial
CCD	Planejamento composto central (do inglês, <i>Central Composite Design</i>)
CE	Concentração do eluente
CMCS	Carboximetil chitosan
CT	Concentração do tampão
CVG	Geração de vapor frio (do inglês, <i>Cool Vapor Geration</i>)
DCQ	5,7-dicloroquinolina 8-ol
DEM	2-(dietil-amino) etil-metacrilato
DMB	Dimetil acetal de benzíla
DMG	Dimetilglioxima

DORM-2	<i>Dogfish Muscle, National Research Council Canada</i>
DP	Desvio padrão
DPCSV	Voltametria catódica de pulso diferencial (do inglês, <i>Differential Pulse Cathodic Stripping Voltammetric</i>)
DPR	Desvio padrão relativo
EC	Eficiência de concentração
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético (do inglês, <i>Ethylenediamine Tetraacetic Acid</i>)
EGDMA	Etilenoglicol dimetacrilato
ELCAD	Descarga de catodo eletrolítico (do inglês, <i>Electrolyte Cathode Discharge</i>)
FAAS	Espectrômetro de absorção atômica em chama (do inglês, <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>)
FAO	Organização de alimentos agrícolas (do inglês, <i>Food and Agriculture Organization</i>)
FIA	Análise por injeção em fluxo (do inglês, <i>Flow Injection Analysis</i>)
FI-HG-GFAAS	Geração de hidretos em fluxo e espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (do inglês, <i>Flow Injection Hydride Generation Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>)
FL	Frequência de leitura
FP	Fator de pré-concentração
GFAAS	Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (do inglês, <i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>)
GPXS	Glutaciona peroxidase
HA	2-hidroxi-acetofenona
HG	Geração de hidretos (do inglês, <i>Hydrite Generation</i>)
HG-FAAS	Espectrometria de absorção atômica em chama com geração de hidretos (do inglês, <i>Hydrite Generation Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>)
HGAAS	Espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (do inglês, <i>Hydrite Generation Atomic Absorption Spectrometry</i>)
8-HQC	8-hidroxi-2-quinolina carboxialdeído
IAT	Tubo atômico integrado (do inglês, <i>Integrated Atom Trap</i>)

IC	Índice de consumo
ICP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (do inglês, <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>)
IIP	Polímero impresso ionicamente (do inglês, <i>Ion Imprinted Polymer</i>)
INB	Indústrias nucleares do Brasil
LC-UV-HG-AFS	Geração de hidreto por espectrometria atômica de fluorescência e cromatografia líquida com radiação UV (do inglês, <i>Liquid chromatography-UV Irradiation-Hydride Generation-Atomic Fluorescence Spectrometry</i>)
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
M	Massa do IIP em g
MBT	Mercaptobenzotiazol
MIP	Polímero impresso molecularmente (do inglês, <i>Molecularly Imprinted Polymer</i>)
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
3-MPTMS	3-mercaptopropil-trimetoxissilano
NaPdein	n,n-bis(naftilideneimino)dietilenotriamina (do inglês, <i>n,n-bis(naphthylideneimino)diethylenetriamine</i>)
NIP	Polímero não impresso (do inglês, <i>Non Imprinted Polymer</i>)
NTC	Nanotubos de carbono
NT-QTA-HG-AAS	Novo atomizador de tubo de quartzo para geração de hidretos e detecção por espectrometria de absorção atômica (do inglês, <i>New Atomizer-Quartz Tube Atomizer-Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry</i>)
OES	Espectrometria de emissão óptica (do inglês, <i>Optical Emission spectrometry</i>)
PAN	Piridil-azo-naftol
POB	Peróxido de benzoíla
PTMS	Propitrimetoxissilano
PUF	Espuma de poliuretano (do inglês, <i>Polyurethane Foam</i>)
Q	Massa de urânio adsorvida
RC	Reagente cromogênico

SALO	Salicilaldoxima
SDS	Dodecil sulfato de sódio (do inglês, <i>Sodium Dodecyl Sulfate</i>)
SG	Sílica gel
SPE	Extração em fase sólida (do inglês, <i>Solid Phase Extraction</i>)
SEM	Metodologia de superfície de resposta (do inglês, <i>Surface Response Methodology</i>)
TAR	Tiazol-azo-resorcinol
TEOT	Tetraetil-ortotitaneato
TEOS	Tetraetil-ortosilicato
TMAAm	2-Tiazol metacrilamida
TMSPA	3-Trimetoxisilano Propilmetacrilato
TPOZ	Tetrapropil-ortozirconeato
TrxRS	Tioredoxina redutase
TS-FF- AAS	Termospray com detecção espectrofotométrica em forno aquecido na chama (do inglês, <i>Termospray-Flame Furnace-Atomic Absorption Spectrometry</i>)
UNICEF	Fundo das Nações Unidas para a Infância (do inglês, <i>United Nations Children's Fund</i>)
UV	Ultravioleta
V	Volume
VI	1-Vinilimidazol
VP	Volume de pré-concentração
4-VP	4- Vinilpiridina
WHO	Organização Mundial da Saúde (do inglês, <i>World Health Organization</i>)

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1- Materiais usados como extratores em fase sólida para pré-concentração de metais.....	6
TABELA 2- Trabalhos reportados na literatura usando polímeros impressos ionicamente como extratores em fase sólida.....	9
TABELA 3- Monômeros mais utilizados para a síntese dos MIP, IIP (TARLEY et al., 2005).	12
TABELA 4- Alguns alcóoxidos usados na síntese de materiais via sol-gel.....	18
TABELA 1.1- Matriz de Doehlert e resultados para o sistema de pré-concentração <i>on-line</i> de selênio.	35
TABELA 1.2- Desempenho analítico de diferentes métodos que possibilitam a determinação de selênio.	38
TABELA 1.3- Determinação de selênio e percentagem de recuperação.	40
TABELA 2.1- Planejamento Doehlert para as concentrações do eluente (HCl) e do tampão acetato.....	53
TABELA 2.2- Características analíticas obtidas usando IIP híbrido com sorvente.	58
TABELA 2.3- Comparação do método desenvolvido com trabalhos relatados na literatura sobre extração de U(VI) em fase sólida.....	59
TABELA 2.4- Determinação de urânio em águas pelo método proposto e por espectrometria alfa.	60

TABELA 3.1- Parâmetros instrumentais para determinação de Cd(II) usando TS-FF-AAS (de OLIVEIRA et al., 2014).....	65
TABELA 3.2- Fatores, níveis e resultados do planejamento fatorial 2^3	69
TABELA 3.3- Planejamento Doehlert para otimização do sistema de pré-concentração <i>on-line</i> de Cd(II) usando IIP-AM/VI como sorvente sólido.....	71
TABELA 3.4- Determinação e recuperação de Cd(II) em diferentes amostras.	76
TABELA 3.5- Características analíticas de métodos reportados na literatura para pré-concentração de Cd(II).	77

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1- Esquema de síntese do IIP (BRANGER et al., 2013).	7
FIGURA 2- Número de publicações. No <i>Web of Science: preconcentration of metals using imprinted polymer</i>	10
FIGURA 3- Principais reagentes de ligação cruzada usados na síntese dos MIP, IIP. DVB: divinilbenzeno; EGDMA: etilenoglicol dimetacrilato.	13
FIGURA 4- Iniciadores radicalares utilizados na síntese dos materiais poliméricos (TARLEY et al., 2005). Me: metil.	14
FIGURA 5- Reações químicas na síntese do processo sol-gel. R: grupamento alquila; M: Ti, Zr, Al.(BOUNOR-LEGARÉ e CASSAGNAU, 2014).....	17
FIGURA 1.1- (1) redução do Se(IV) para Se(0), (2) esquema de síntese do polímero impresso atômicamente. VI: 1-vinilimidazol, VP: 4-vinilpiridina.....	28
FIGURA 1.2- Diagrama do sistema de injeção em fluxo para pré-concentração de Se(0) em AIP. A: HCl/NaClO; B: NaBH ₄ ; C: mini-coluna de AIP; F: Confluência; SF: Separador de fases.....	30
FIGURA 1.3- Espectro do infravermelho para os polímeros AIP e NIP.	32
FIGURA 1.4- MEV para AIP não-lavado (a e b) e AIP lavado (c e d). As imagens foram aumentadas em 1500x e 20000x.	33
FIGURA 1.5- Efeito do tempo de redução do selênio na obtenção do sinal analítico.	34
FIGURA 1.6- Superfície de resposta obtida a partir da matriz de Doehlert.....	36
FIGURA 1.7- Influência de íons concomitantes na determinação de selênio. ...	37

- FIGURA 1.8- Variação da absorvância em função do tempo empregado para a pré-concentração. Experimento realizado com uma solução contendo selênio na concentração de 500 ng L^{-1} 39
- FIGURA 2.1- Fluxograma resumido do procedimento de síntese do polímero impresso para urânio. 4-VP: 4-vinilpiridina; AM: ácido metacrílico 47
- FIGURA 2.2- (a) Sistema de análise em fluxo para pré-concentração de urânio. Amostra: $4,5 \text{ mL min}^{-1}$; HCl: $3,5 \text{ mL min}^{-1}$; RC: reagente cromogênico (arsenazo III, $1,2 \text{ mL min}^{-1}$); C: confluência. (b) complexo UO_2^{2+} /arsenazo III. 48
- FIGURA 2.3- Espectro de infravermelho dos polímeros impressos sem lavar (A) e lavado (B). 51
- FIGURA 2.4- Registros gerados por MEV para os polímeros não lavado (A) e lavado (B). As imagens foram ampliadas em 1000x 51
- FIGURA 2.5- Efeito do valor do pH na pré-concentração da urânio empregando diferentes soluções com valores distintos de pH e solução de U(VI) $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$: pH 1,0-2,0 (KCl/HNO₃); pH 3,0 - 5,0 (tampão acetato); pH 6,0-8,0 (tampão fosfato); pH 9,0-10,0 (tampão borato). Concentração do tampão: $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. 52
- FIGURA 2.6- Relação da absorvância observada, com os tempos de pré-concentração empregados. 53
- FIGURA 2.7- Superfície de resposta relacionando a concentração do tampão a concentração do eluente e a absorvância. 55
- FIGURA 2.8- Curva de *breakthrough* para o IIP. 56
- FIGURA 2.9- Influência da concentração de concomitantes na pré-concentração de urânio em IIP. Valores máximos permitidos em água potável segundo a WHO (2006) citado por UNICEF (2008). 58

FIGURA 3.1- Esquema de síntese para IIP-Cd.	67
FIGURA 3.2- Diagrama FIA para pré-concentração e determinação de Cd(II). Amostra: 10 mL min ⁻¹ ; HNO ₃ : 1 mL min ⁻¹	68
FIGURA 3.3- Diagrama de Pareto para os fatores estudados. Nível de confiança de 95%. CT: concentração do tampão; CE: concentração do eluente.	70
FIGURA 3.4- Superfície de resposta relacionando pH, concentração do eluente (CE), e absorvância. A concentração do tampão foi mantida em 0,01 mol L ⁻¹ ..	72
FIGURA 3.5- Efeito de íons interferentes na recuperação do sinal analítico para Cd(II).....	73
FIGURA 3.6- Correção da interferência de Ni(II) na determinação de Cd(II). Cd/Ni (1/10).	74
FIGURA 3.7- Absorvância <i>versus</i> volume de amostra. Concentração de Cd(II) 0,5 µg L ⁻¹	78

RESUMO

AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS IMPRESSOS PARA PRÉ-CONCENTRAÇÃO/EXTRAÇÃO DE Se, U e Cd

A presente tese descreve o desenvolvimento de polímeros impressos para pré-concentração de Se, U e Cd. Os fatores pertinentes ao sistema FIA e ao sistema de pré-concentração foram otimizados por matriz de Doehlert. O capítulo I descreve a síntese de um polímero atómicamente impresso para pré-concentração de Se(0) e detecção e determinação por HG-AAS. O método apresentou as seguintes características analíticas: faixa linear de 0,17 a 6,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, limite de detecção e quantificação de 53 e 170 ng L^{-1} , respectivamente, fator de pré-concentração de 232 e frequência de leitura de 12 análises h^{-1} , tendo sido aplicado em amostras alimentícias. A exatidão foi checada com material de referência certificado. O Capítulo II descreve a síntese de um polímero impresso híbrido para pré-concentração de urânio e detecção por espectrofotometria de UV-visível. O polímero apresentou capacidade adsorptiva de 1,55 mg g^{-1} , faixa analítica linear de 2,0 a 100,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, limite de detecção 0,40 $\mu\text{g L}^{-1}$, limite de quantificação de 1,25 $\mu\text{g L}^{-1}$, fator de pré-concentração igual a 97 e eficiência de pré-concentração de 19,40 min^{-1} . O método foi aplicado em amostras de água de rios e lagos, sendo a exatidão confirmada por espectrometria alfa. Finalmente no Capítulo III é proposto um método para a detecção de cádmio por TS-FF-AAS após pré-concentração em polímero impresso sintetizado via *bulk*. As figuras de mérito foram: faixa linear de 0,081 a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$, limite de detecção e quantificação de 24 e 81 ng L^{-1} , respectivamente. Fator de pré-concentração igual 165 e frequência de 25 análises h^{-1} . O método foi aplicado em amostras de chás, cabelo, cigarro e bijuteria. A exatidão foi checada com material de referência certificado.

Palavras-chave: Se, U, Cd, pré-concentração, polímeros impressos, HG-AAS, UV-visível, TS-FF-AAS.

ABSTRACT

IMPRINTED POLYMER EVALUATION FOR PRECONCENTRATION/EXTRACTION OF Se, U and Cd

This thesis describes the development of imprinted polymers for pre-concentration of Se, Cd and U. The relevant factors to the FIA system and pre-concentration were optimized by Doehlert matrix. Chapter I describes an atomically imprinted polymer synthesis for pre-concentration of Se (0) and determination by HG-AAS. The method presents the following analytical features: linear range from 0.17 to 6.0 $\mu\text{g L}^{-1}$, limit of detection and quantification of 53 and 170 ng L^{-1} , respectively, of pre-concentration factor of 232 and reading frequency analysis of 12 h^{-1} ; which were all applied in food samples. The accuracy was checked with certified reference material. Chapter II describes the synthesis of a hybrid imprinted polymer for uranium concentration and determination by UV-visible spectrophotometry. The polymer had adsorptive capacity of 1.55 mg g^{-1} , linear analytical range from 2.0 to 100.0 $\mu\text{g L}^{-1}$ detection limit of 0.40 $\mu\text{g L}^{-1}$ quantification limit of 1.25 $\mu\text{g L}^{-1}$, pre-concentration factor of 97, concentration efficiency of 19.40 min^{-1} . The method was applied to water samples from rivers and lakes, with accuracy confirmed by alpha spectrometry. Finally, in Chapter III, a method for cadmium determination by TS-FF-AAS after pre-concentration in imprinted polymer synthesized via bulk is proposed. The figures of merit were linear range 0.081 to 10 $\mu\text{g L}^{-1}$, detection and quantification limit of 24 and 81 ng L^{-1} , respectively. Pre-concentration factor of 165 and frequency measures analyzes 25 h^{-1} . The method was applied in tea, hair, cigarette and jewelry samples. The accuracy was checked with certified reference material.

Keywords: Se, U, Cd, pre-concentration, imprinted polymers, HG-AAS, UV-visible, TS-FF-AAS.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	1
1 - INTRODUÇÃO	2
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2 - EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPE).....	5
2.1 - Materiais quimicamente impressos.....	7
2.1.1 - Reagentes do sistema de síntese dos materiais poliméricos.....	10
2.1.1.1 Métodos de síntese.....	15
3 - ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO	19
4 - MÉTODOS DE OTIMIZAÇÃO	20
4.1 - Planejamento fatorial	21
4.1.1 - Metodologia de superfície de resposta	22
CAPÍTULO I	24
1 - INTRODUÇÃO	25
2 - PARTE EXPERIMENTAL	26
2.1 - Instrumentação	26
2.2 - Reagentes e soluções.....	27
2.3 - Síntese do polímero impresso para selênio	28
2.4 - Preparo das amostras.....	29
2.5 - Estudo do tempo de redução do Se total.....	29
2.6 - Pré-concentração de selênio em AIP e detecção por HG-AAS	30
2.7 - Otimização do sistema de pré-concentração.....	31
2.8 - Estudo dos interferentes	31
3 - RESULTADOS E DISCUSSÕES	31
3.1 - Caracterização do polímero	31
3.2 - Redução do Se total.....	33

3.3 - Planejamento Doehlert.....	34
3.4 - Estudo de interferentes.....	36
3.5 - Figuras de mérito.....	37
3.6 - Validação do método e aplicação	39
4 - CONCLUSÕES	40
CAPÍTULO II	41
1 - INTRODUÇÃO	42
2 - PARTE EXPERIMENTAL	43
2.1 - Instrumentação	43
2.2 - Reagentes e soluções.....	44
2.3 - Síntese do polímero impresso híbrido.....	45
2.4 - Sistema de análise em fluxo.....	47
2.5 - Preparo das amostras.....	48
2.6 - Otimização do sistema de pré-concentração.....	48
2.7 - Avaliação da capacidade adsortiva	48
2.8 - Estudo dos interferentes	49
3 - RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	49
3.1 - Caracterização do polímero de impressão	49
3.1.1 - Infravermelho e Microscopia Eletrônica de Varredura.....	49
3.2 - Efeito do pH	51
3.3 - Estudo do tempo de pré-concentração	52
3.4 - Otimização multivariada das concentrações do eluente (HCl) e do tampão acetato.....	52
3.5 - Experimento de breakthrough.....	55
3.6 - Estudo de interferentes.....	56
3.7 - Características analíticas, aplicação e validação do método desenvolvido	57
4 - CONCLUSÕES	60
CAPÍTULO III	62
1 - INTRODUÇÃO	63

2 -	PARTE EXPERIMENTAL	64
2.1 -	Instrumentação	64
2.2 -	Reagentes e soluções.....	65
2.3 -	Preparo das amostras.....	66
2.4 -	Síntese do IIP-Cd	66
2.5 -	Sistema FIA-TS-FF-AAS	67
2.6 -	Otimização do método	68
2.7 -	Avaliação da seletividade do método	68
3 -	RESULTADOS E DISCUSSÕES	69
3.1 -	Otimização do sistema FIA-TS-FF-AAS.....	69
3.2 -	Seletividade do método FIA-TS-FF-AAS	72
3.3 -	Validação e aplicação do método.....	74
4 -	CONCLUSÕES	78
5 -	CONCLUSÃO GERAL.....	79
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	80

INTRODUÇÃO GERAL

1 - INTRODUÇÃO

A determinação de elementos em baixas concentrações em diferentes matrizes é de grande importância a fim de se avaliar se as concentrações encontradas estão de acordo com as legislações vigentes (PEREIRA et al., 2013). Alguns destes elementos são considerados essenciais até uma determinada concentração, a partir da qual podem assumir um papel deletério. O selênio exerce uma função antioxidante no organismo humano, no entanto pode causar efeitos nocivos como quedas de cabelo e enfraquecimento das unhas e, em concentrações elevadas, neurotoxicidade (THIRY et al., 2012; de PAIVA et al., 2015). Outros, como cádmio e urânio, são nefrotóxicos e carcinogênicos (KALYANA et al., 2009; CHAMJANGALI et al., 2010). Por razões de saúde e segurança alimentar, o monitoramento destes elementos é de extrema importância. No entanto, a análise direta ainda é uma tarefa difícil quando se trata de baixas concentrações e/ou matrizes complexas (VEGUERÍA et al., 2013). Nestes casos, etapas de pré-concentração e/ou extração podem melhorar o limite de detecção, a sensibilidade e a precisão dos resultados, além de promover melhoria na seletividade (HE et al., 2007; PYRZYNSKA; TROJANOWICZ, 1999). Dentre os métodos de extração podem ser citados a extração por ponto nuvem (ZHAO et al., 2012), a micro-extração em fase sólida (ES'HAGHI et al., 2011), a coprecipitação (SARACOGLU e SOYLAK, 2010), a extração líquido-líquido (WANG et al., 2005) e a extração em fase sólida (GHAEDI et al., 2013).

Em relação às modalidades de pré-concentração citadas a extração em fase sólida (SPE, do inglês, *Solid Phase Extraction*) é a mais promissora devido às vantagens como: maior fator de enriquecimento, disponibilidade de vários sorventes, regeneração da fase sólida, flexibilidade e, conseqüentemente, fácil adaptação em sistemas por análise em fluxo (FIA do inglês, *Flow Injection Analysis*), empregando diferentes técnicas de detecção analítica (CAMEL, 2003; BEHBAHANI et al., 2013). De acordo com BARBOSA et al. (2007) os

principais adsorventes sólidos utilizados como fases extratoras em sistemas FIA são: sílica modificada (C₁₈), polímeros Amberlite-XAD-2, carvão ativado e espuma de poliuretano. A eficiência da SPE, que diz respeito aos critérios de seletividade e extração, depende fundamentalmente do material sorvente utilizado. Assim, o desenvolvimento de novos materiais com alta afinidade e reconhecimento específico que satisfaçam as exigências dos sistemas de pré-concentração, se tornam importantes (DAKOVA et al., 2009).

Os polímeros impressos molecularmente (MIP do inglês, *Molecularly Imprinted Polymer*) consistem do uso de uma molécula molde (*template*) o qual é colocado em um reator juntamente com monômeros, reagente de ligação cruzada, iniciador radicalar e um solvente adequado. Após a reação de polimerização o *template* é extraído e no local desse material formam-se sítios de reconhecimento do mesmo (XU et al., 2011). Tal mecanismo pode ser comparado com a especificidade das ligações antígeno-anticorpo (PAULING, 1940).

Os polímeros impressos com íons (IIP do inglês, *Ion Imprinted Polymer*), são semelhantes aos MIPs, no entanto diferem quanto ao *template* que são íons metálicos (AHMADI et al., 2010). Dentre as características destes materiais que os tornam atrativos para o uso em SPE podem ser citadas a facilidade na síntese, seletividade, alta capacidade adsortiva, podendo ser aplicados para extração/pré-concentração em diferentes matrizes, como ambientais, alimentícias ou biológicas (XU et al., 2011).

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2 - EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPE)

O monitoramento de metais em uma ampla gama de diferentes matrizes, apesar de ser importante, é difícil pelo fato de que muitas vezes os valores de concentração do analito são baixos e as matrizes complexas. Dessa forma, um *cleanup* da amostra pode facilitar a eliminação de interferentes (SEIDI et al., 2015). O método de extração em fase sólida vem ganhando destaque, frente às inúmeras vantagens que este apresenta em relação à extração líquido-líquido, como a grande gama de materiais sorventes, regeneração da fase extratora, menor uso de solventes, além da capacidade de ser facilmente automatizada aumentando assim a frequência das extrações (VIDAL et al., 2012).

Na SPE, a fase extratora é preenchida em micro-colunas, cartuchos ou discos, dependendo da quantidade do sorvente e o método a que se aplica. As etapas da SPE envolvem a extração do analito para a fase sólida e eluição do mesmo com solvente apropriado. As vazões da solução do analito bem como do eluente são de suma importância na extração e devem ser otimizadas a fim de garantir a total separação do analito (RAHMAN et al., 2013).

De acordo com PRASADA RAO et al. (2006) e CAMEL (2003) a retenção do analito pela fase extratora pode se dar por diferentes processos dentre eles, troca iônica, quelação, partição e ainda por iônico. No mecanismo de adsorção por troca iônica, a interação ocorre pela troca do contra-íon do sorvente (aniônico ou catiônico) pelo analito (EL-SHEIKH et al., 2007); a quelação envolve a impregnação de grupamentos funcionais no sorvente que podem se ligar ao analito de interesse garantindo desta forma maior especificidade na extração (SAEED e AHMAD, 2005). A partição implica na retenção do analito pelo sorvente e ocorre por interações hidrofóbicas (CHAVES e QUEIROZ, 2008). No processo envolvendo par-iônico o sorvente geralmente apolar pode ser modificado pela impregnação de um reagente, com

cadeias polares e apolares, desta forma a parte apolar se liga ao material estando a polar disponível para ligações com o analito (CARSON, 2000). A Tabela 1 apresenta a extração de metais por SPE usando diferentes materiais.

TABELA 1- Materiais usados como extratores em fase sólida para pré-concentração de metais.

Analito	Material	FP	Técnica	Referência
Zn(II)	Resina TMAAm-co-DVB-co-AMPS)	40	FAAS	YILMAZ et al., 2013
Co(II) e Mn(II)	HA-PUF	36 e 27	FAAS	LEMOS et al., 2010
Cd(II), Cu(II), Ni(II) e Pb(II)	SG-AEDHB	100	ICP OES	DURDURAN et al., 2015
Ag(II), Al(III), As(III) e Cr(III)	Dowex 50W-x8 and Dowex 1-x8	100, 130, 130 e 150	ICP OES	NOMNGONGO e NGILA, 2015
Pb(II), Cd(II) e Ni(II)	ACC impregnado com PAN	100	FAAS	ALOTHMAN et al., 2015
Hg(II)	Mesoporos de sílica funcionalizada com L-Cisteina	42	ELCAD-OES	LI et al., 2014
Cd(II) e Pb(II)	γ alumina modificada com SDS-PAN	250	FAAS	EZODDIN et al., 2010

FP: fator de pré-concentração.

Na literatura é reportado uma série de materiais para pré-concentração de metais usando SPE, no entanto a busca por novos materiais que satisfaçam os critérios de eficiência de extração e seletividade, alta afinidade e reconhecimento específico são importantes para detecção de metais traços em diferentes matrizes (DAKOVA et al., 2009).

2.1 - Materiais quimicamente impressos

O mecanismo de reconhecimento molecular mimetizando as interações bioquímicas como as de enzima-substrato e antígeno-anticorpo têm despertado grande interesse em diversas áreas da ciência (VERLI e BARREIRO, 2005).

Na década de 40, Pauling propôs seu postulado sobre anticorpos que segundo ele, estes se moldavam ao antígeno formando conformações específicas. Baseado neste postulado Dickey em 1949 desenvolveu um método sintético de reconhecimento complementar ao proposto por Pauling, em que adsorventes apresentavam especificidade por determinadas substâncias (PAULING, 1940; DICKEY, 1949).

De posse destas informações, foram sintetizados os MIP que são materiais sintéticos em cuja síntese se emprega uma molécula molde e outros reagentes, resultando em sítios de reconhecimento e adsorção da molécula de interesse (PICHON, 2007).

Similarmente aos MIP os IIP também podem ser sintetizados para o reconhecimento de um íon específico. Segundo BRANGER et al. (2013) este processo de síntese ocorre pela formação de um complexo entre o íon metálico e o monômero funcional o qual servirá como íon molde (Figura 1).

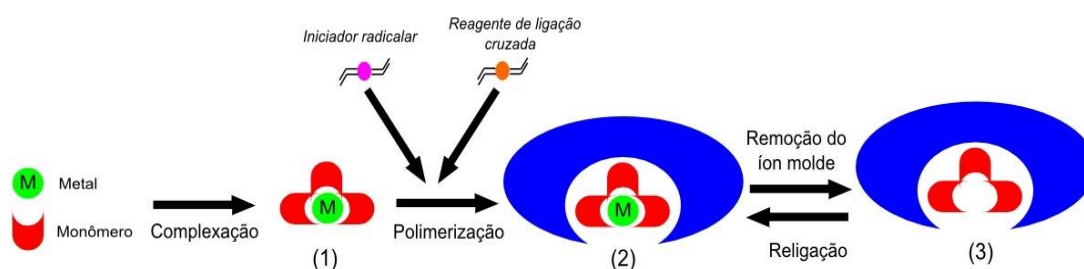


FIGURA 1- Esquema de síntese do IIP (BRANGER et al., 2013).

Os pioneiros na síntese dos IIP foram NISHIDE et al. (1976) que sintetizaram uma resina polimérica na presença de íons metálicos a partir deste trabalho os IIP despontaram como materiais promissores para a pré-

concentração seletiva de metais (PRASADA RAO et al., 2004). A Tabela 2 apresenta alguns trabalhos reportados na literatura usando IIP como extrator em fase sólida para diferentes metais. Na Figura 2 é mostrado o número de trabalhos publicados sobre IIP nos últimos 10 anos.

TABELA 2- Trabalhos reportados na literatura usando polímeros impressos ionicamente como extratores em fase sólida.

Analito	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	FP	Amostras	Referência
Zn(II)	0,15	53,5	alimentícias	BEHBAHANI et al., 2014
Cd(II)	0,5	-	água	WANG e LIU, 2014
Zn(II)	0,48	118	água e cereais	SHAKERIAN et al., 2012
Pb(II)	0,75	150	água	EBRAHIMZADEH e BEHBAHANI, 2013
Ru(III)	0,16	3	biológicas e água	ZAMBRZYCKA et al., 2011
Sb(III)	0,004	232	água e alimentos	SHAKERIAN et al., 2014
Hg(II)	0,003	160	água e biológicas	RAJABI et al., 2015
Cu(II)	0,9	100	água e suplementos alimentares	YILMAZ et al., 2013
Ni(II)	1,6	18,8	água	SARAJI e YOUSEFI, 2009
U(VI)	5	5	água	SINGH e MISHRA, 2009

LD: Limite de detecção; FP: Fator de pré-concentração.

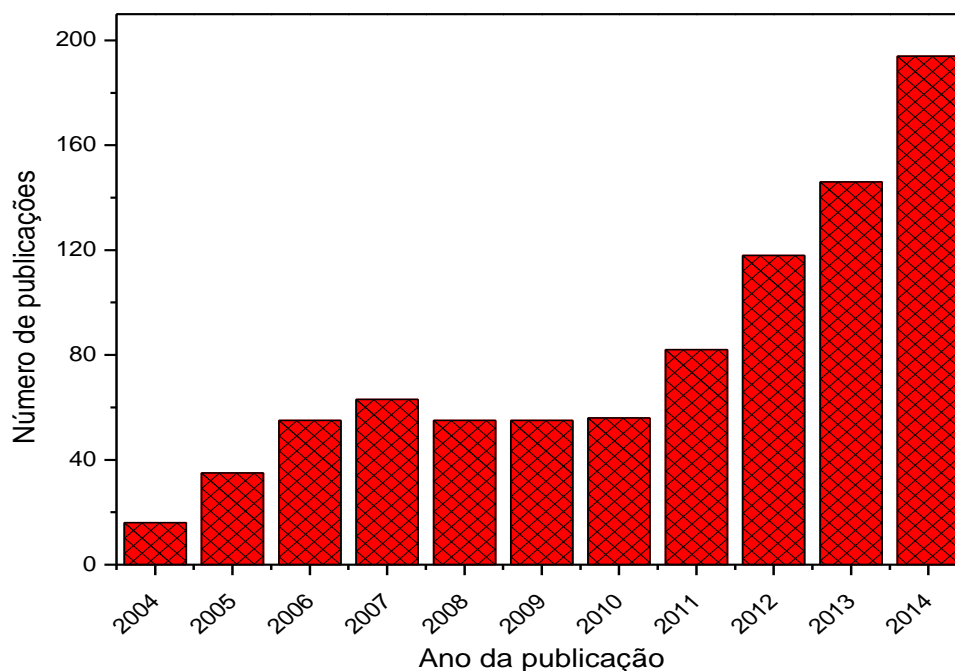


FIGURA 2- Número de publicações. No *Web of Science* com as seguintes palavras chave: “*preconcentration of metals using imprinted polymer*”.

As vantagens destes materiais sintéticos (IIP e MIP) quando comparados aos materiais biológicos (enzimas e anticorpos) incluem a facilidade da síntese, baixo custo, e principalmente a aplicabilidade destes materiais uma vez que suportam condições extremas de acidez, alcalinidade e altas temperaturas, onde nenhuma molécula biológica (receptor ou enzima) estaria adequadamente disponível (HAUPT; MOSBACH, 1999; KRYSCIO e PEPPAS, 2012).

2.1.1 - Reagentes do sistema de síntese dos materiais poliméricos

Na síntese dos IIP, MIP, vários fatores podem interferir na seletividade, tamanho das partículas e capacidade adsorptiva. Desta forma, os reagentes de síntese, representados por monômero de ligação (razão monômero/*template*), reagente de ligação cruzada, solvente porogênico e iniciador radicalar devem ser estudados com cautela a fim de propiciar a

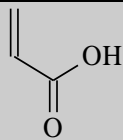
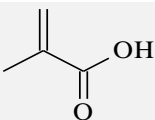
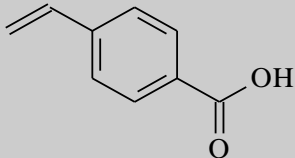
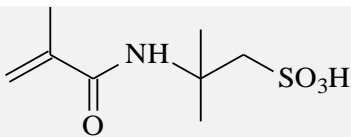
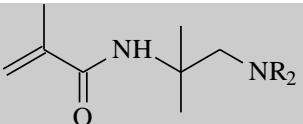
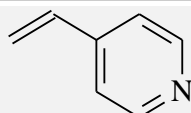
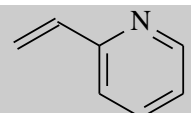
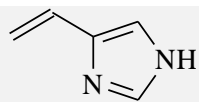
obtenção do resultado esperado (MARTÍN-ESTEBAN, 2001; BRANGER et al., 2013).

Sabe-se que o íon ou molécula interagem com os monômeros formando ligações específicas, no entanto para que estas ocorram é necessário que haja grupamentos químicos adequados em ambos. Desta forma moléculas/íons moldes que atuam como receptores de elétrons (ácido de Lewis) reagem com monômeros, que por sua vez, agem como doadores de elétrons, ou seja, como base de Lewis ou vice-versa. Os monômeros mais utilizados como ácido e base de Lewis são o ácido metacrílico e a 4-vinil-piridina, respectivamente (TARLEY et al., 2005; PICHON, 2007; FIGUEIREDO et al., 2008). Na Tabela 3 é apresentado os monômeros mais usados para o preparo dos MIP, IIP bem como o tipo de ligação que formam com o *template*.

As interações monômero/molde (molécula ou íon) podem se dar por meio de ligações covalentes totalmente estáveis, no entanto para a remoção da molécula/íon molde é necessária uma clivagem química. Por outro lado ligações não-covalentes como, ligações de hidrogênio, forças de Van der Waals e interações iônicas apesar de serem ligações fracas são as mais requeridas por não comprometerem a remoção da molécula/íon molde (YE e MOSBACH, 2001, 2008; TARLEY et al., 2005; PICHON, 2007).

Como a interação monômero-molécula/íon molde é regida por equilíbrio químico, concentrações adequadas de monômero devem ser adicionadas ao meio reacional a fim de garantir a formação do complexo monômero-molécula/íon. Segundo MARTÍN-ESTEBAN (2001), a razão molécula/íon molde e monômeros deve ser de 1/4, sendo que quantidades de monômeros acima desta razão podem comprometer a seletividade do polímero pela formação de sítios não específicos.

TABELA 3- Monômeros mais utilizados para a síntese dos MIP, IIP (TARLEY et al., 2005).

Estrutura molecular	Monômero	Interação com a molécula/íon molde
	ácido acrílico	iônica e ligação de hidrogênio
	ácido meta-acrílico	iônica e ligação de hidrogênio
	ácido p-vinilbenzóico	iônica e ligação de hidrogênio
	ácido acrilamidosulfônico	iônica
	amino metacrilaminada	iônica
	4-vinilpiridina	iônica, ligação de hidrogênio e transferência de carga
	2-vinilpiridina	iônica, ligação de hidrogênio e transferência de carga
	4-vinilimidazol	iônica, ligação de hidrogênio e coordenação com metais

Um outro reagente importante na síntese dos materiais poliméricos é o solvente sendo responsável não só pela solubilização dos componentes reacionais, mas também por facilitar a difusão da molécula/íon molde aos sítios de ligação garantindo, desta forma, a morfologia do material como a área superficial e diâmetro dos poros adequados. Quando a molécula/íon-molde se liga ao monômero, por ligações de hidrogênio ou transferência de carga,

solventes apróticos (tetrahidrofurano, acetonitrila), apolares (tolueno e clorofórmio) ou pouco polares são preferidos, pois os mesmos não interferirão nas interações molécula/íon molde–monômero garantindo que as mesmas ocorram fortemente no meio reacional (PICHON, 2007; CHEN et al., 2011; BRANGER et al., 2013).

Quanto ao reagente de ligação cruzada, CORMACK e ELORZA (2004) relatam sua importância na morfologia da matriz polimérica, no tocante à estabilização dos sítios de ligação impressos bem como no que diz respeito à rigidez mecânica que o mesmo confere ao polímero. TARLEY e colaboradores (2005) citam o etileno glicol dimetacrilato (EGDMA) como o reagente de ligação cruzada mais eficaz para a síntese polimérica apesar do divinilbenzeno (DVB) também ser muito usado. A Figura 3 apresenta a fórmula estrutural de ambos os reagentes.

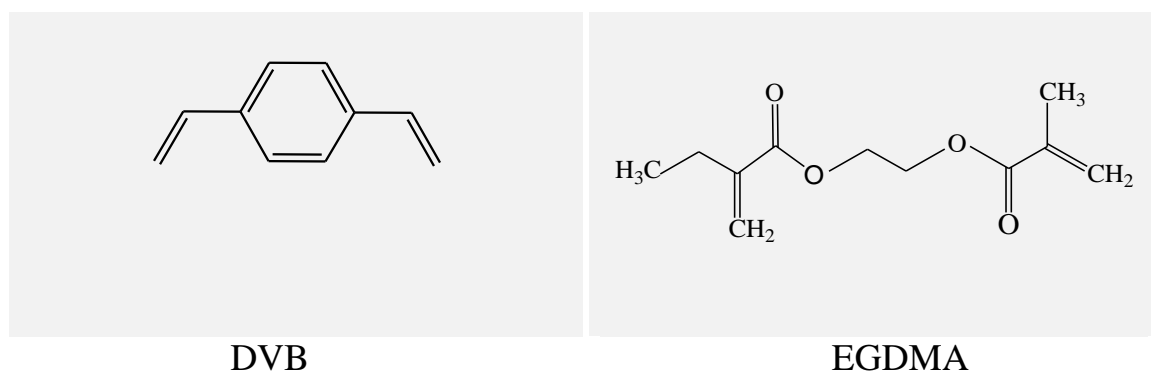


FIGURA 3- Principais reagentes de ligação cruzada usados na síntese dos MIP, IIP. DVB: divinilbenzeno; EGDMA: etilenoglicol dimetacrilato.

Para que a polimerização aconteça durante todo o processo de síntese é necessário o uso do iniciador radicalar. Este composto garante a polimerização do material pela formação de radicais livres que são induzidos pelo uso de fontes de ignição como calor, clivagem química, radiação γ e ultravioleta (CORMACK e ELORZA, 2004, BRANGER et al., 2013). A Figura 4 relaciona alguns iniciadores radicalares usados na síntese dos materiais poliméricos, merecendo destaque o 2,2'-azo-bis-iso-butironitrila (AIBN) (Figura

4(a)), que é mais usado devido à sua temperatura de clivagem ser compatível com a maioria dos solventes usados durante a síntese (BRANGER et al., 2013).

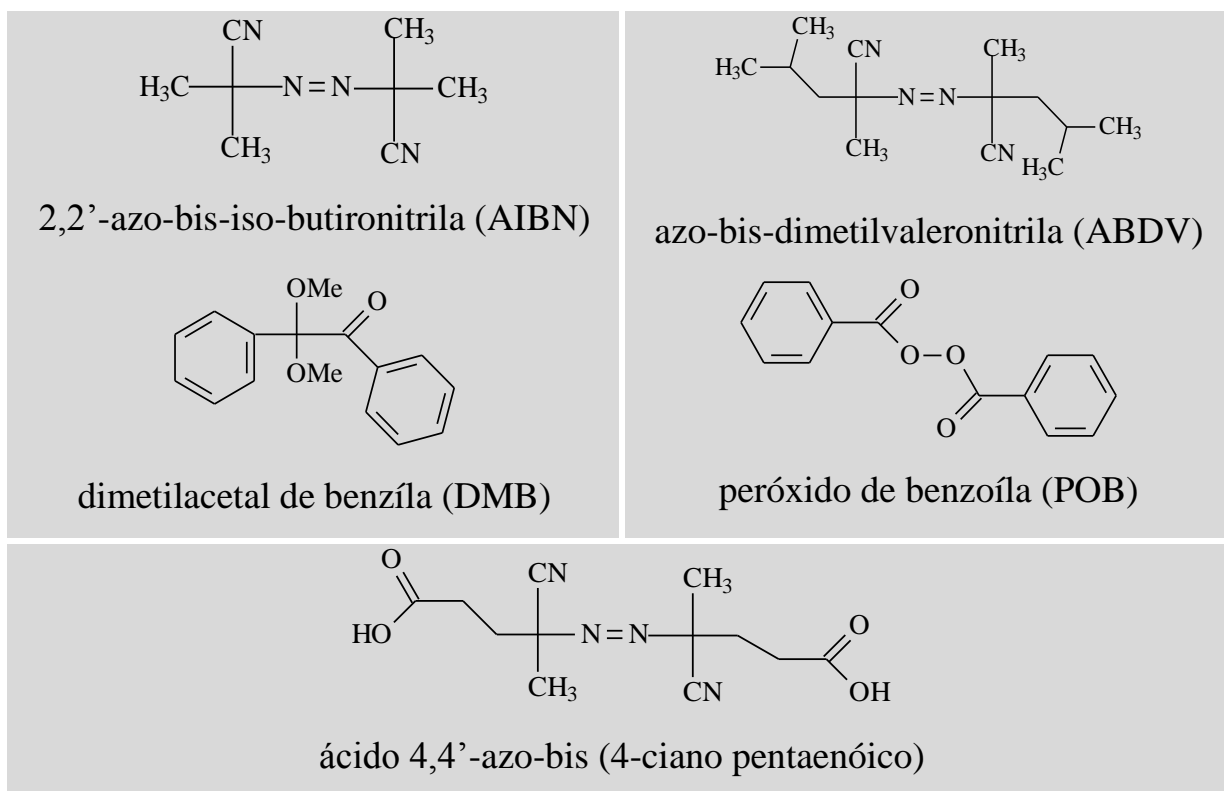


FIGURA 4- Iniciadores radiculares utilizados na síntese dos materiais poliméricos (TARLEY et al., 2005). Me: metil.

Quanto aos métodos de síntese dos polímeros estes podem ser escolhidos de acordo com a morfologia requerida para o material, assim o método de síntese em *bulk* pode produzir partículas uniformes de acordo com a estratégia de síntese adotada. Para polímeros impressos de forma inorgânica, a polimerização via processo sol-gel garante partículas homogêneas (BRANGER et al., 2013; CHEN et al., 2011).

2.1.1.1 Métodos de síntese

O método de síntese comumente usado para preparo dos polímeros impressos é a polimerização em *bulk*, no qual a molécula/íon molde e o monômero funcional são solubilizados em um solvente adequado, ao que se segue da adição de um agente de ligação cruzada e iniciador radicalar. A reação de síntese ocorre em atmosfera inerte e é induzida por aquecimento e/ou radiação ultravioleta, sendo que após a polimerização o material (monólito) deve ser triturado e peneirado. Uma etapa de lavagem com um solvente extrator é empregada para a remoção do analito (TARLEY et al., 2005; FIGUEIREDO et al., 2008). Este tipo de síntese não necessita de equipamentos sofisticados podendo ser realizada em tubo de ensaio, onde as condições da reação podem ser facilmente controladas (HE et al., 2007). Por outro lado, o material sintetizado produz partículas de tamanho irregulares o que pode inviabilizar o uso do polímero para algumas técnicas, como, a cromatografia. CHEN e colaboradores (2011) relataram que durante a trituração do monólito, alguns sítios específicos podem ser destruídos, sendo que somente 30-40% do material é aproveitado para extração (HE et al., 2007).

Com a finalidade de sanar as limitações da polimerização em *bulk*, outras estratégias de síntese, como a polimerização por suspensão, têm sido propostas. Neste tipo de polimerização a fase orgânica contendo os reagentes típicos do método em *bulk* convencional é dispersa em uma fase aquosa. O sistema é agitado até que ocorra a separação das fases e a polimerização se inicie. A polimerização por suspensão permite obter partículas da ordem de μm (5-100). No entanto a água pode interferir na ligação molécula/íon molde-monômero diminuindo a especificidade do polímero (PICHON e CHAPUIS-HUGON, 2008; BELTRAN et al., 2010).

A polimerização por precipitação é um método de síntese homogêneo, onde todos os componentes (molécula/íon molde, monômero, reagente de ligação cruzada e iniciador radicalar) são dispersos em um excesso

do solvente porogênico. Quando a polimerização tem início, a massa de polímero aumenta, havendo uma consequente precipitação (BELTRAN et al., 2010). As partículas produzidas por este método de síntese são de aproximadamente 5 μm (HE et al., 2007). CHEN et al. (2011) relatam que neste tipo de polimerização alguns fatores podem afetar a morfologia e o tamanho das partículas sintetizadas; desta forma, a escolha correta do *template*, monômero funcional e o reagente de ligação cruzada, são fundamentais.

Em sua maior parte os polímeros impressos são sintetizados usando monômeros orgânicos ácidos ou básicos, entretanto, uma nova gama de reagentes para a síntese de polímeros usando como precursores alcóoxidos têm sido explorada. A síntese destes polímeros é realizada via sol-gel, um processo que consiste na hidrólise de grupamentos alcóoxidos resultando na formação de silanois reativos, estado sol (suspensão coloidal com partículas medindo entre 1 e 100 nm) em seguida, estes se condensam formando o gel (estrutura rígida) (COLLINSON, 2002; OLWILL et al., 2004). Na Figura 5 são mostradas as reações que ocorrem no processo sol-gel, e na Tabela 4 são listados alguns dos precursores utilizados.

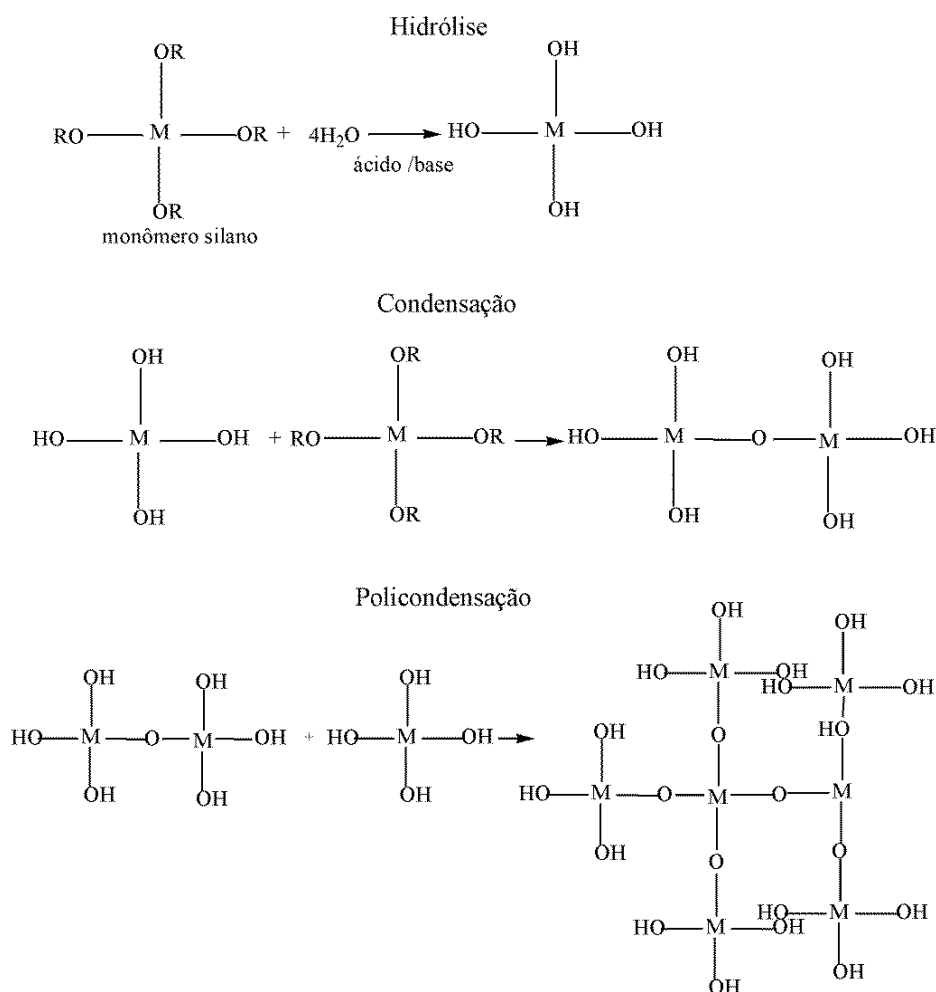


FIGURA 5- Reações químicas na síntese do processo sol-gel. R: grupamento alquila; M: Ti, Zr ou Al.(BOUNOR-LEGARÉ e CASSAGNAU, 2014).

Após a formação do gel, o mesmo é seco e lavado com a finalidade de remover a molécula/íon–molde, propiciando a formação de sítios específicos e garantindo a seletividade do polímero (DÍAZ-GARCIA e LAÍNÑO 2005).

A principal vantagem do processo sol-gel é a união de características favoráveis, tanto de polímeros orgânicos quanto inorgânicos, materiais híbridos, no contexto de estabilidade química e térmica desses materiais (COLLISON, 2002; DÍAZ-GARCIA e LAÍNÑO 2005). No entanto, deve-se atentar para alguns fatores que podem afetar a morfologia e a especificidade do polímero, a saber, pH, tipo de catalisador, razão solvente/água e os precursores alcóoxidos utilizados (COLLISON, 1998; BOUNOR-LEGARÉ e CASSAGNAU, 2014).

TABELA 4- Alguns alcóóxidos usados na síntese de materiais via sol-gel.

Precusores	Nomenclatura
$\begin{array}{c} \text{OC}_2\text{H}_5 \\ \\ \text{C}_2\text{H}_5\text{O} - \text{Ti} - \text{OC}_2\text{H}_5 \\ \\ \text{OC}_2\text{H}_5 \end{array}$	Tetraetil-ortotitaneato (TEOT)
$\begin{array}{c} \text{OC}_2\text{H}_5 \\ \\ \text{C}_2\text{H}_5\text{O} - \text{Si} - \text{OC}_2\text{H}_5 \\ \\ \text{OC}_2\text{H}_5 \end{array}$	Tetraetil-ortosilicato (TEOS)
$\begin{array}{c} \text{C}_3\text{H}_7 \\ \\ \text{H}_3\text{CO} - \text{Si} - \text{OCH}_3 \\ \\ \text{OCH}_3 \end{array}$	Propitrimetoxisilano (PTMS)
$\begin{array}{c} \text{OCH}_3 \\ \\ \text{H}_3\text{CO} - \text{Si} - \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2 \\ \\ \text{OCH}_3 \end{array}$	3-Aminopropiltrimetoxisilano (APTMS)
$\begin{array}{c} \text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O} - \text{Zr} - \text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3 \\ \\ \text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3 \end{array}$	Tetrapropil-ortozirconeato (TPOZ)
$\begin{array}{c} \text{OC}_4\text{H}_9 \\ \\ \text{C}_4\text{H}_9\text{O} - \text{Al} - \text{OC}_4\text{H}_9 \end{array}$	Alumínio tert-butóxido

(DÍAZ-GARCÍA e LAÍNÑO, 2005; GUPTA e KUMAR, 2008).

Como mencionado na seção 1.1- Materiais quimicamente impressos (Figura 2) nota-se que o emprego de IIPs para pré-concentração de metais tem propiciado a adoção de métodos de síntese de materiais mais seletivos. O acoplamento de IIPs em sistemas FIA tem sido satisfatório no

contexto de melhora do desempenho analítico, principalmente para análise de um número elevado de amostras.

3 - ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO

A análise por injeção em fluxo, descrita na década de 70 por Růžička e Hansen, se baseia na inserção de um pequeno volume de amostra em um fluido carregador que o transporta ao detector. Durante o percurso analítico ocorre dispersão formando gradiente de concentração (TYSON, 1985, MELCHERT et al., 2012).

Na configuração mais simples de FIA, linha única, o reagente é o próprio carregador da amostra e a mistura ocorre exclusivamente por dispersão o que pode prejudicar o desempenho analítico. A fim de suprir esta limitação, sistemas em confluência são empregados no qual cada fração da amostra recebe a mesma quantidade de reagente melhorando a eficiência de mistura (REIS, 1996; MELCHERT et al., 2012).

Quando o intuito for minimizar o consumo de reagentes, os sistemas de zonas coalescentes e fluxo intermitente são apropriados; no primeiro caso alíquotas predefinidas de reagente e amostras são inseridas concomitantemente evitando o excesso de ambos, e no segundo, a introdução do reagente ocorre somente na etapa de amostragem propiciando a economia do mesmo (REIS, 1996; ARMENTA et al., 2008).

Como características favoráveis da análise por injeção em fluxo é possível citar alta frequência de leituras, o menor custo da análise, uma vez que o consumo de reagentes é reduzido, e a versatilidade (LIMA et al., 2014).

No tocante à versatilidade do sistema FIA, é possível o acoplamento de diversos acessórios, como colunas de sorção, filtros, válvulas e detectores que podem melhorar o desempenho do sistema analítico (FANG, 1993; MELCHERT et al., 2012). Neste contexto colunas para extração em fase sólida podem ser inseridas nos sistemas melhorando o desempenho analítico da

extração, com menores perda de amostras e contaminação (HOSTEN e WELZ, 1999).

DINIZ et al. (2013) determinaram Cd^{2+} por meio de um sistema de pré-concentração em linha, usando um copolímero híbrido e detecção por FAAS. O limite de detecção e fator de pré-concentração obtidos foram de $0,27 \mu\text{g L}^{-1}$ e 38,4.

De LIMA e colaboradores (2013) descreveram um método para determinação de Se^0 , baseado na pré-concentração em linha do analito em polímero impresso. A detecção foi realizada por HG-FAAS e os autores obtiveram um limite de detecção da ordem de ng L^{-1} (53 ng L^{-1}) e um fator de pré-concentração de 232. ESCUDERO e colaboradores (2013) também fizeram uso da extração em fase sólida em linha para pré-concentrar zinco em amostras de água; o limite de detecção obtido foi de $0,06 \mu\text{g L}^{-1}$ e o fator de enriquecimento de 230. A detecção foi realizada por CVG-ICP-OES.

No acoplamento FIA-SPE, vários parâmetros podem afetar a eficiência do sistema de pré-concentração como, volume, pH, e vazão da amostra, do fluxo carregador, e dos reagentes, tipo e concentração do eluente dentre outros. Neste contexto, a aplicação de ferramentas estatísticas é de fundamental importância principalmente para explorar e tratar os dados extraídos do sistema, com a finalidade de se obter um procedimento analítico eficiente e reprodutível (MATOS et al., 2003).

4 - MÉTODOS DE OTIMIZAÇÃO

A estratégia de otimização do método analítico tradicionalmente utilizada é a otimização univariada, onde cada fator é avaliado isoladamente, fixando-se os demais. Como desvantagens desta técnica de otimização tem-se o elevado número de ensaios e a falta de informações a respeito das interações

entre fatores que podem afetar a resposta analítica (SANTOS do et al., 2003; FERREIRA et al., 2004).

Com a necessidade de aumentar a eficiência dos procedimentos analíticos, minimizar a geração de resíduos e obter informações de melhor qualidade a respeito dos fatores envolvidos, a técnica multivariada vem ganhando espaço na otimização dos métodos analíticos (HIBBERT, 2012). Na otimização multivariada todos os fatores são avaliados simultaneamente sem negligenciar a interação entre os mesmos. Na sequência de otimização inicialmente é necessário realizar uma triagem usando planejamento fatorial completo ou fracionário com o intuito de avaliar quais fatores afetam significativamente a resposta analítica. Na sequência, os fatores significativos são otimizados através de modelos matemáticos. Os métodos de otimização podem ser matriz de Doehlert, planejamento composto central (CCD) ou planejamento Box–Behnken (TARLEY et al., 2009).

4.1 - Planejamento fatorial

Os planejamentos fatoriais completos ou fracionários são usados como o primeiro passo para se otimizar um sistema analítico. Com o uso destes planejamentos faz-se uma triagem a fim de verificar quais são os fatores (variáveis) que apresentam efeitos significativos no sistema. Para isso pode ser empregado um planejamento fatorial em dois níveis os quais geralmente são codificados com sinais (-) para o nível inferior e (+) para o superior. Um número de experimentos igual a 2^k são efetuados onde k é o número de fatores. Quando o sistema contém muitos fatores, é possível empregar o planejamento fatorial fracionário, que permite diminuir o número de experimentos, havendo neste caso a desvantagem de que algumas informações podem ser perdidas (TEÓFILO e FERREIRA, 2006; BARROS NETO et al., 2007; TARLEY et al., 2009).

Os planejamentos fatoriais de 2 níveis não permitem otimizar o sistema, uma vez, que os modelos matemáticos gerados são de primeira ordem cujas equações não apresentam inflexões (TARLEY et al., 2009).

CALLAO (2014) relata o uso da metodologia de superfície de resposta como ferramenta para coletar informações a respeito de todo sistema analítico e assim obter o ótimo experimental.

4.1.1 - Metodologia de superfície de resposta

Para a construção destes modelos tem sido comum o uso de planejamentos como CCD (Planejamento composto central, do inglês, *Central Composite Design*) e matriz de Doehlert. O CCD consiste de um aumento sistemático do número de experimentos contidos no planejamento fatorial visando possibilitar o cálculo dos parâmetros da equação linear ou quadrática almejada (FERREIRA et al., 2007).

Como exemplo, é possível citar a situação onde se trabalha com dois fatores, o que faz com que o número de experimentos passe a ser igual a $2^k + 2k + C_o$ onde k =número fatores e C_o = número experimentos no ponto central. Desta forma, cada fator passa a ser estudado em cinco níveis e este planejamento permite calcular até nove parâmetros para o modelo. A equação (1) representa a função de um modelo linear, a qual demanda quatro parâmetros a serem calculados. De maneira semelhante é possível deduzir que em um modelo quadrático há no mínimo cinco parâmetros a serem calculados (FERREIRA, 2004).

$$Y = b_o + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_1X_2$$

Equação (1)

Os modelos lineares possibilitam a construção de um gráfico de uma superfície plana os quais não permitem a visualização e/ou cálculo dos valores máximos ou mínimos. Por outro lado os modelos quadráticos apresentam superfícies curvas com inflexões em seus valores mínimos ou máximos, sendo, portanto adequados para a otimização dos sistemas.

Dentre as alternativas de planejamentos, a matriz de Doehlert apresenta possibilidade de construção de modelos quadráticos com um número menor de experimentos e permite explorar diferentes números de ensaios para cada fator estudado. Assim, os fatores que na triagem apresentaram maior significância são avaliados com maior número de níveis (FERREIRA, 2004). Como exemplo para um sistema de 4 fatores tem-se os seguintes níveis, 5, 7, 7 e 3 (TEÓFILO e FERREIRA, 2006; TARLEY et al., 2009).

Para a validação do modelo tem-se efetuado análise de variância (ANOVA, do inglês, *Analysis of Variance*) e para o cálculo dos valores otimizados (máximos e ou mínimos) pode ser calculada a primeira derivada da equação obtida.

Capítulo I

DETERMINAÇÃO DE SELÊNIO USANDO POLÍMERO IMPRESSO ATOMICAMENTE (AIP) E ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM GERAÇÃO DE HIDRETOS

1 - INTRODUÇÃO

Isolado pela primeira vez em 1817 pelo químico Jöns Jacob Berzelius, o selênio foi considerado inicialmente um elemento traço tóxico. Mais tarde descobriu-se que este se incorporava às proteínas como glutathione peroxidase (GPXS) e tioredoxina redutase (TrxRs) sendo responsável pela ação antioxidante no organismo (MEHDI et al., 2013; ROMAN et al., 2014).

Quanto aos estados de oxidação este elemento pode apresentar estados de oxidação, -2, 0, +4 e +6, sendo que estes dois últimos são os mais abundantes. O selênio orgânico é frequentemente encontrado em águas oceânicas como produto da bioconversão do Se(IV), protagonizada pelos organismos marinhos (WAKE et al., 2004). O selênio também pode ser encontrado em frutas, vegetais, cereais, carnes e frutos do mar (VIÑAS et al., 2000; TYBURSKA e JANKOWSKI, 2013).

O selênio tem diversas aplicações no campo da indústria eletrônica voltada à produção de semicondutores, na indústria química, como catalisador de reações, na área farmacêutica onde é inserido em suplementos e medicamentos, também na agricultura onde é empregado na formulação de agentes bactericidas e fungicidas (SHRIVAS e PATEL, 2011).

Quanto à toxicidade, o selênio pode ser considerado um elemento essencial, mas também tóxico, sendo muito restrita a faixa que separa estes limites. A *Agency for Toxic Substances and Disease Registry* (ATSDR, 2003, Agência de Substâncias Tóxicas e Registros de Doença) reporta que a dose diária recomendada de selênio é de 55 µg sendo o limite máximo para consumo diário igual a 400 µg. Em águas para consumo, a Organização Mundial da Saúde estabelece (WHO, 2011) um limite de 40 µg L⁻¹ e o Ministério da Saúde no Brasil (Portaria 2914, Ministerio da Saúde, 2011) estabelece uma concentração de 10 µg L⁻¹. Os benefícios do selênio à saúde humana referem-se ao tratamento do câncer, diabetes, cardiomiopatia de Keshan e diversas infecções (VINCETI et

al., 2014; de PAIVA et al., 2015). Em contrapartida, a intoxicação por este elemento pode causar desde queda de cabelo à neurotoxicidade (THIRY et al., 2012).

Considerando-se os benefícios e malefícios que este elemento pode causar à saúde, mesmo em baixas concentrações e considerando a estreita faixa que separa este elemento de ser essencial e tóxico, é de suma importância sua quantificação a qual pode ser efetuada usando técnicas analíticas, associadas à de extração como uso de polímeros impressos para pré-concentração de selênio em fase sólida e detecção usando FIA-HG-AAS.

2 - PARTE EXPERIMENTAL

2.1 - Instrumentação

Os valores de absorbância foram obtidos usando espectrometria de absorção atômica em chama (FAAS, do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*) (Shimadzu AA-6800, Tokyo, Japão) equipado com lâmpada de cátodo oco para selênio (196 nm; corrente: 23 mA; largura da fenda 0,5 nm; vazão da chama: 1,0 mL min⁻¹ (acetileno/ar sintético); dimensão do atomizador: 3,5 cm de largura x 12,5 cm de comprimento) e lâmpada de deutério para correção de sinal de fundo. Para a geração do hidreto de selênio foi usado um tubo de quartzo em forma de T, com 10 cm de comprimento, 8 cm de largura, 0,8 cm de diâmetro interno e um mini-reator de acrílico para coleta do hidreto (COELHO e BACCAN, 2004).

O sistema FIA proposto na modalidade de fluxo intermitente foi constituído por uma bomba peristáltica de 8 canais (Ismatec IPC-08, Glattzbrugg, Suíça), um injetor de Teflon[®] 2:3:2 e tubos de Tygon[®] e polietileno para impulsionar e conduzir as amostras e reagentes. A mini-coluna cilíndrica de AIP (polímero impresso atômica, do inglês *Atomic Imprinted*

Polymer) com dimensões de 5,4 cm de comprimento e 2,1 cm de diâmetro, foi construída com tubos de Tygon[®] e polietileno.

Para caracterização do polímero foi usado um espectrômetro de infravermelho (Bomen, B100) com transmissão entre 4000 e 400 cm^{-1} e 4 cm de resolução sendo as amostras preparadas em pastilhas de KBr. A caracterização morfológica do polímero foi feita usando um microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-6360 LV (Tokyo, Japão) e a preparação das amostras envolveu a cobertura das amostras por partículas de ouro.

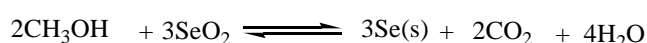
Para a digestão das amostras bem como do material de referência certificado (DORM-2, *Dogfish Muscle*, *National Research Council Canada*) foi usado um forno de microondas fechado (Milestone, Sorisole, Itália) ETHOS PLUS, com 1000 W de potência máxima. Os resultados foram submetidos à avaliação estatística usando o programa STATISTICA (StatSoft, Tulsa, EUA).

2.2 - Reagentes e soluções

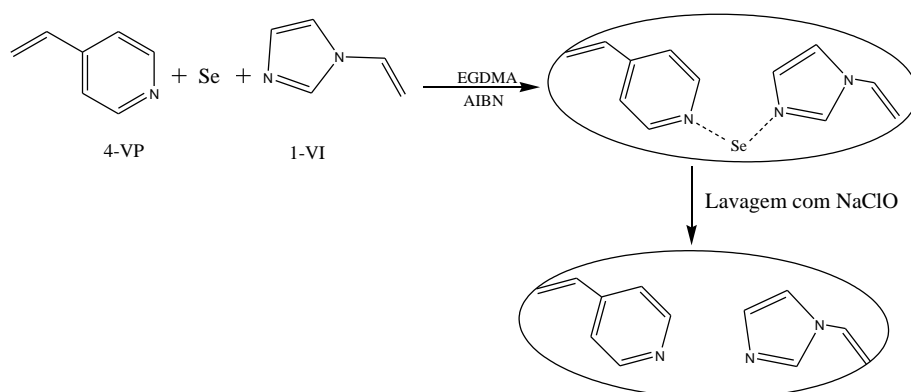
Para o preparo das soluções foi empregada água desionizada, proveniente de um sistema de purificação de água Milli-Q[®] (Millipore[®], Bedford, MA, EUA), com resistividade de 18,2 $\text{M}\Omega\text{cm}$. A vidraria utilizada foi descontaminada em banho de ácido nítrico 10% (v/v) por 24 horas. As soluções de selênio foram preparadas a partir do padrão de 1000 mg L^{-1} (Merck, Darmstadt, Alemanha). As soluções dos íons concomitantes (Cd^{2+} , Cu^{2+} , Cr^{3+} , Fe^{2+} , K^+ , Mn^{2+} , Na^+ , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} e Cu^{2+}) foram diluídas a partir dos seus respectivos padrões (1000 mg L^{-1} , Merck, Darmstadt, Alemanha). Para digestão das amostras e material de referência foi utilizado HNO_3 concentrado (Merck, Alemanha) e H_2O_2 30% (v/v) (Merck, Alemanha). Para a redução do selênio foi usado ácido ascórbico (Vetec, Brasil) 0,5% m/v.

2.3 - Síntese do polímero impresso para selênio

A síntese do polímero impresso via *bulk* foi realizada de acordo com KHAJEH et al., 2007. No procedimento empregado, 2,25 mmol de SeO_2 foram dispersos em 10 mL de metanol, com 4,5 mmol de 4-vinilpiridina (Sigma, Alemanha) e 4,5 mmol de 1-vinilimidazol (Sigma, Alemanha). 42 mmol de EGDMA (Sigma, Alemanha) e 50 mg de AIBN (Sigma, Alemanha) foram adicionados ao meio reacional sob fluxo de N_2 durante 5 min, em balão de 3 vias sob refluxo. A reação de polimerização foi conduzida a $60\text{ }^\circ\text{C}$ durante 24 h. O material foi lavado por sucessivas vezes com hipoclorito de sódio em $\text{HCl } 1\text{ mol L}^{-1}$. O material foi seco e peneirado ($75\text{-}106\text{ }\mu\text{m}$). A Figura 1.1 mostra o esquema de síntese do polímero impresso atômicamente, bem como a redução do selênio.



(1)



(2)

FIGURA 1.1- (1) redução do Se(IV) para Se(0) , (2) esquema de síntese do polímero impresso atômicamente. VI: 1-vinilimidazol, VP: 4-vinilpiridina.

Na etapa 1 acontece a redução do Se(IV) ($E_{\text{Se}^{\circ}}=0,74 \text{ V}$) pelo metanol ($E_{\text{CH}_3\text{OH}}^{\circ} = -0,02 \text{ V}$) (SKOOG et al., 1999; IWASITA, 2002). A reação é caracterizada pela coloração vermelha que indica a presença de Se(0). Na etapa 2, Se(0) reage com os monômeros VI e VP para formar os sítios poliméricos. O polímero não impresso (NIP, do inglês *Non Imprinted Polymer*) foi sintetizado pelo mesmo procedimento, porém sem adição de SeO_2 .

2.4 - Preparo das amostras

As amostras de castanha do Pará, damasco, leite em pó, farinha de arroz e feijão branco e o material de referência certificado DORM-2 foram pesadas e uma massa de aproximadamente 500 mg, com massas pesadas foram transferidas para tubos de Teflon[®] usados no micro-ondas fechado. Em seguida 6 mL de HNO_3 e 2 mL de H_2O_2 30% (v/v) foram adicionados e a mistura foi deixada em repouso por uma noite. O programa de aquecimento do forno de microondas fechado foi ajustado de acordo com CINDRIC et al., 2011. Após a digestão o selênio total presente nas amostras foi reduzido com ácido ascórbico 0,5% (m/v). As amostras foram transferidas para balão volumétrico de 25 mL e avolumadas com água.

2.5 - Estudo do tempo de redução do Se total

Para redução do selênio foi usado o ácido ascórbico 0,5% (m/v). O experimento foi realizado com $5 \mu\text{g L}^{-1}$ de selênio. Como foi observado que o tempo de redução do selênio influenciava na resposta analítica, este foi estudado, por meio do monitoramento da absorbância da solução ao longo do tempo.

2.6 - Pré-concentração de selênio em AIP e detecção por HG-AAS

A Figura 1.2 mostra o sistema de pré-concentração em fluxo proposto para determinação de selênio. Durante a etapa de pré-concentração alíquotas de 14 mL de Se (0), previamente reduzidas com ácido ascórbico 0,5% (m/v), são pré-concentradas em mini-coluna (50 mg) de AIP durante 4 min (vazão de fluxo 3,5 mL min⁻¹). Durante a etapa de pré-concentração o eluente composto pela mistura de hipoclorito de sódio 0,042 % (m/v) em meio HCl 1 mol L⁻¹ segue para o detector, enquanto que a solução de NaBH₄ (0,6045 % m/v) retorna para o frasco. Na etapa de eluição o hipoclorito de sódio retira o selênio metálico da mini-coluna de AIP por meio de reação de oxido-redução, onde o Se(0) é oxidado a Se(IV). O eluato contendo Se(IV) conflui no ponto F com a solução de NaBH₄ (3,0 mL min⁻¹) e o fluxo segue para o separador de fases (SF), onde o SeH₂ formado é transportado para o tubo de quartzo em fluxo de N₂ (700 mL min⁻¹) e detectado em FAAS no comprimento de onda de 196 nm.

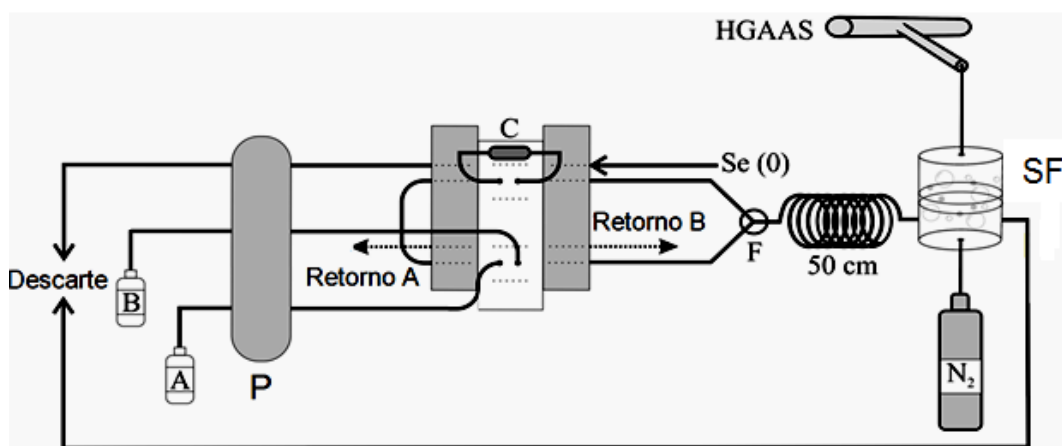


FIGURA 1.2- Diagrama do sistema de injeção em fluxo para pré-concentração de Se(0) em AIP. A: HCl/NaClO (3,5 mL min⁻¹); B: NaBH₄ (3,0 mL min⁻¹); C: mini-coluna de AIP; F: Confluência; SF: Separador de fases.

2.7 - Otimização do sistema de pré-concentração

A otimização do método proposto foi realizada usando planejamento Doehlert (FERREIRA et al., 2004) para dois fatores, representados pelos valores de concentração de NaClO e de NaBH₄. A triagem utilizando planejamento fatorial não foi realizada neste caso uma vez que se tinha conhecimento dos fatores de estudo. A concentração de HCl foi fixada em 1 mol L⁻¹, a vazão de N₂ em 700 mL min⁻¹ e a bobina reacional em 50 cm (COELHO e BACCAN, 2004). Todos os resultados foram processados usando o programa STATISTICA (StatSoft, Tulsa, EUA). A resposta analítica foi avaliada como altura de pico.

2.8 - Estudo dos interferentes

No estudo dos interferentes considerou-se aqueles que formam hidretos, e que estão presentes em quase todos os tipos de amostras podendo ser adsorvidos pelo polímero. A influência dos concomitantes na pré-concentração foi avaliada por meio de soluções binárias contendo o analito (20 µg L⁻¹)/concomitante, nas proporções de 1/1 e 1/10. Os concomitantes estudados foram Cd²⁺, Cu²⁺, Cr³⁺, Fe²⁺, K⁺, Mn²⁺, Na⁺, Ni²⁺, Pb²⁺, Zn²⁺ e Cu²⁺. A resposta do experimento foi a diferença percentual entre o sinal da solução contendo somente o analito e aquela contendo o analito mais o concomitante.

3 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 - Caracterização do polímero

A caracterização dos polímeros de impressão AIP e não impresso NIP, foram feitas por espectrometria de infravermelho e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Na Figura 1.3 é mostrado o espectro do infravermelho para os polímeros AIP e NIP. Pela análise do espectro do infravermelho nota-se uma

banda em 3464 cm^{-1} , indicando a presença de grupamentos OH (SEGATELLI et al., 2010). Bandas entre 2993 e 2957 cm^{-1} indicam estiramentos C–H (SHAMSIPUR et al., 2010). Grupamentos carbonílicos advindos do EGDMA geram uma banda em 1724 cm^{-1} ; C=N e N=N atribuídos aos monômeros 4-vinilpiridina, 1-vinilimidazol e o iniciador AIBN são representados pelas bandas em 1639 - 1570 cm^{-1} (KRAJEH et al., 2007; KRAJEH et al., 2011; SINGH e MISHRA, 2010). Estiramentos em 1388 cm^{-1} correspondem a $-\text{CH}_3$ e 1157 cm^{-1} -C-O (SHAMSIPUR et al., 2010; SHAMSIPUR e BESHARATI-SEIDANI, 2011). Como pode se notar pela Figura 1.3 não existe diferenças entre as bandas para os polímeros AIP e NIP.

As microscopias eletrônicas de varredura para os polímeros impressos AIP lavado e não-lavado são apresentadas na Figura 1.4. Nota-se que ambos os polímeros, apresentam morfologia irregulares o que é característico da síntese em *bulk*. A adsorção dos íons na síntese em *bulk* geralmente acontece na superfície rugosa do material, como pode se ver na Figura 1.4 (b) que mostra a adsorção de selênio (SEGATELLI et al., 2010).

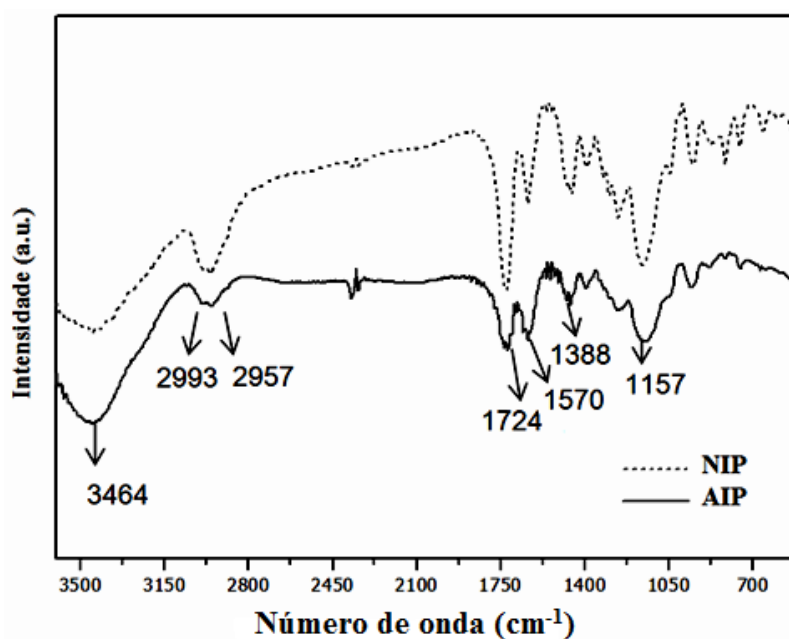
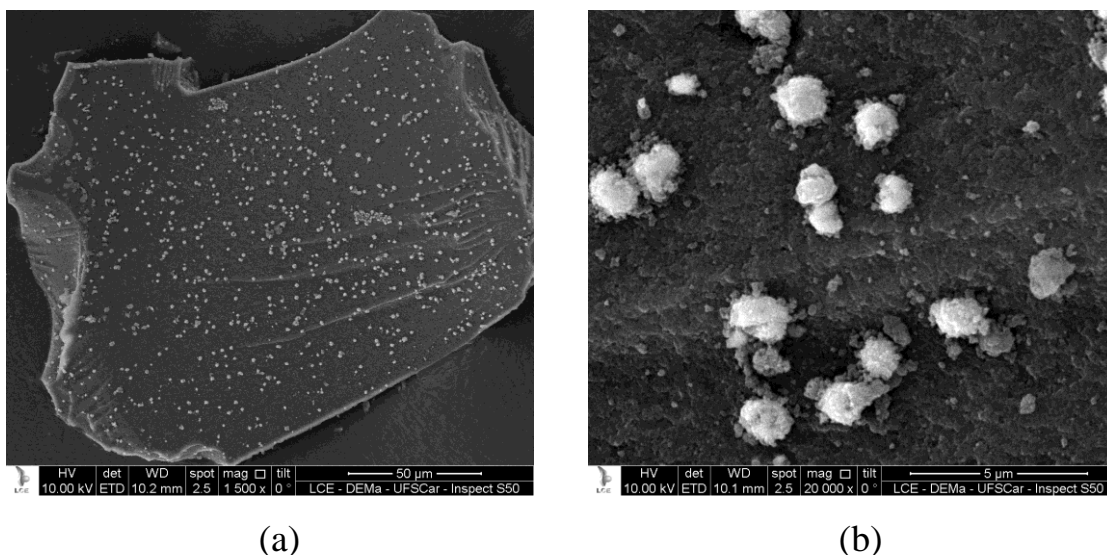
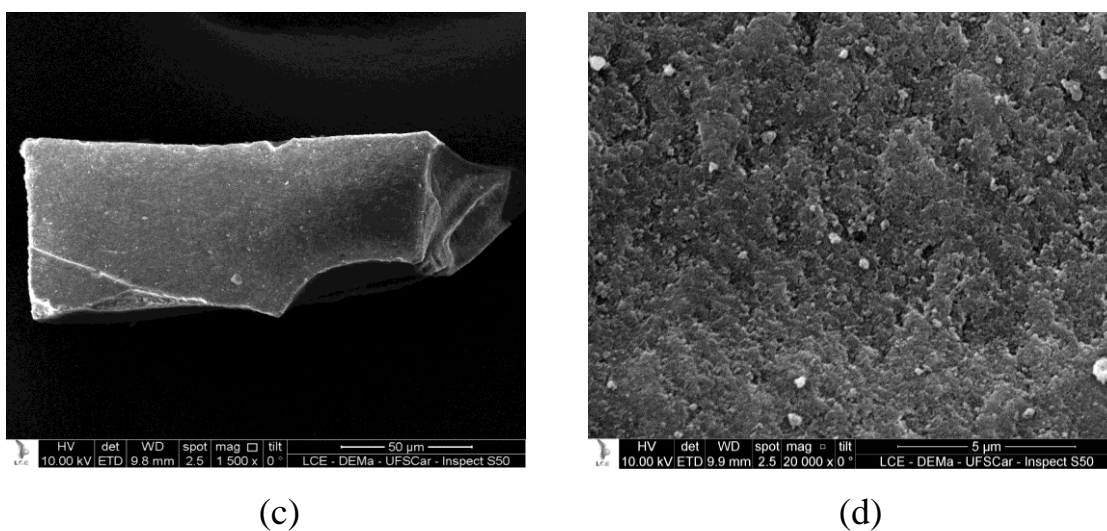


FIGURA 1.3- Espectro do infravermelho para os polímeros AIP e NIP.



AIP não-lavado



AIP lavado

FIGURA 1.4- MEV para AIP não-lavado (a e b) e AIP lavado (c e d). As imagens foram aumentadas em 1500x e 20000x, respectivamente.

3.2 - Redução do Se total

Na Figura 1.5 é mostrada a variação da absorvância em relação ao tempo empregado para a redução do selênio total. Nota-se pela Figura 1.5 que anteriormente a 90 minutos já ocorre a estabilização do sinal analítico. Desta forma, este tempo foi selecionado para os demais experimentos.

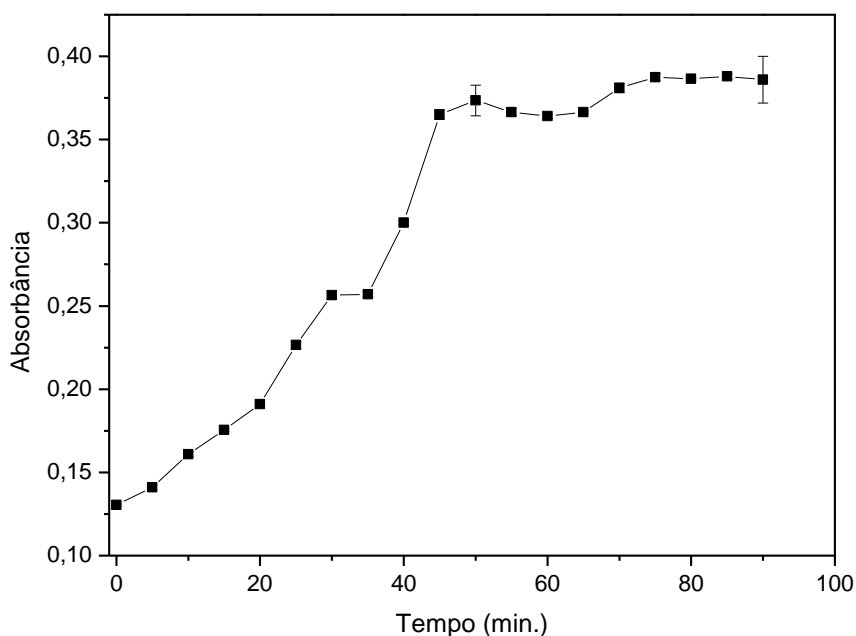


FIGURA 1.5- Efeito do tempo de redução do selênio na obtenção do sinal analítico.

3.3 - Planejamento Doehlert

A Tabela 1.1 mostra os resultados experimentais obtidos a partir da matriz de Doehlert para três fatores, foi realizada uma triplicata no ponto central, a fim de estimar o erro experimental. Os ensaios foram realizados preconcentrando 14 mL de Se(0), previamente reduzidos, a partir de uma solução com concentração de $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$. A equação 1.1 mostra o modelo quadrático ($r = 0,9986$) que relaciona os fatores concentração de NaClO e NaBH_4 com a absorbância:

$$\begin{aligned} \text{Absorbância} = & -38,00 + 7,83(\text{NaClO}) - 50,00(\text{NaClO})^2 + 1,80(\text{NaBH}_4) \\ & + 1,28(\text{NaBH}_4)^2 - 6,00(\text{NaClO})(\text{NaBH}_4) \end{aligned}$$

Equação (1.1)

TABELA 1.1- Matriz de Doehlert e resultados para o sistema de pré-concentração *on-line* de selênio.

Ensaio	Fatores		Absorbância
	NaClO % (m/v)	NaBH ₄ % (m/v)	
1	0 (0,03) ^a	0 (0,5)	0,300
2	0 (0,03)	0 (0,5)	0,300
3	0 (0,03)	0 (0,5)	0,300
4	1 (0,05)	0 (0,5)	0,320
5	0,5 (0,04)	0,866 (0,75)	0,300
6	-1 (0,01)	0 (0,5)	0,240
7	-0,5 (0,02)	-0,866 (0,25)	0,100
8	0,5 (0,04)	-0,866 (0,25)	0,160
9	-0,5 (0,02)	0,866 (0,75)	0,300

^aOs valores mostrados entre parênteses são os valores reais.

Na Figura 1.6 é apresentada a superfície de resposta para o modelo quadrático representando pela equação 1.1. Os pontos de máximo para as concentrações de NaClO e NaBH₄ foram respectivamente 0,042 % (m/v) e 0,6045 % (m/v). Lembrando que para este experimento a concentração de HCl foi mantida em 1 mol L⁻¹, a vazão do N₂ em 700 mL min⁻¹ e a bobina reacional em 50 cm (COELHO e BACCAN, 2004).

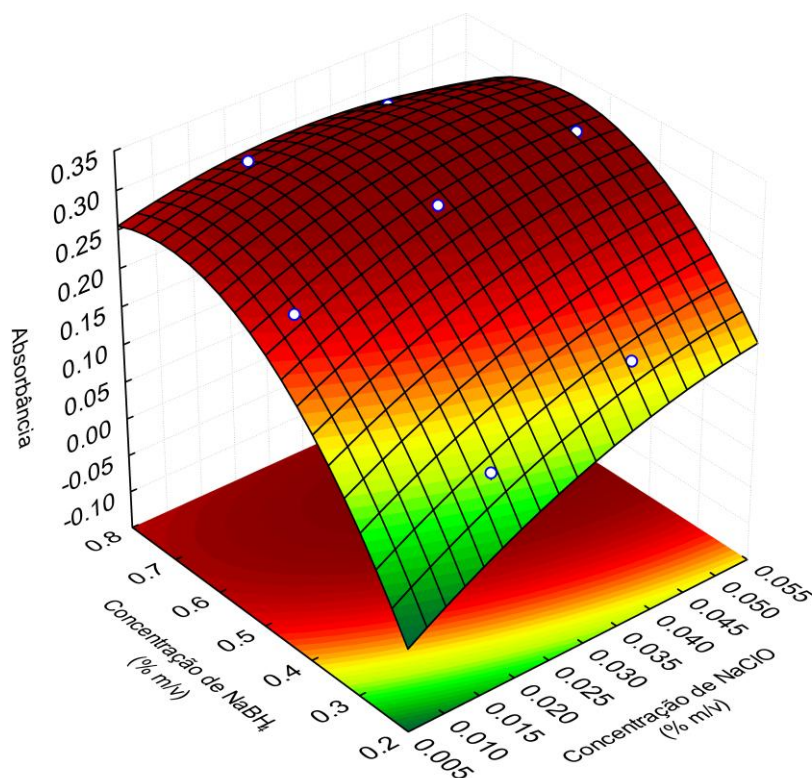


FIGURA 1.6- Superfície de resposta obtida a partir da matriz de Doehlert.

3.4 - Estudo de interferentes

Na Figura 1.7 é mostrada a recuperação do sinal analítico em presença dos concomitantes estudados. Foi adotado como indicativo de interferência significativa a obtenção de valores de recuperações abaixo de 90 % ou acima de 110 % . Foi observada interferência negativa para Cu^{2+} (1/1 m/m) e Cr^{3+} (1/10 m/m). Segundo a literatura estes cátions competem com o analito na reação com o agente redutor e promovem a decomposição do NaBH_4 e, em outros casos, formam hidretos metálicos (KUMAR e RIYAZUDDIN, 2010). Contudo, estas interferências não prejudicaram a aplicação do método para as amostras estudadas, como se verá mais adiante.

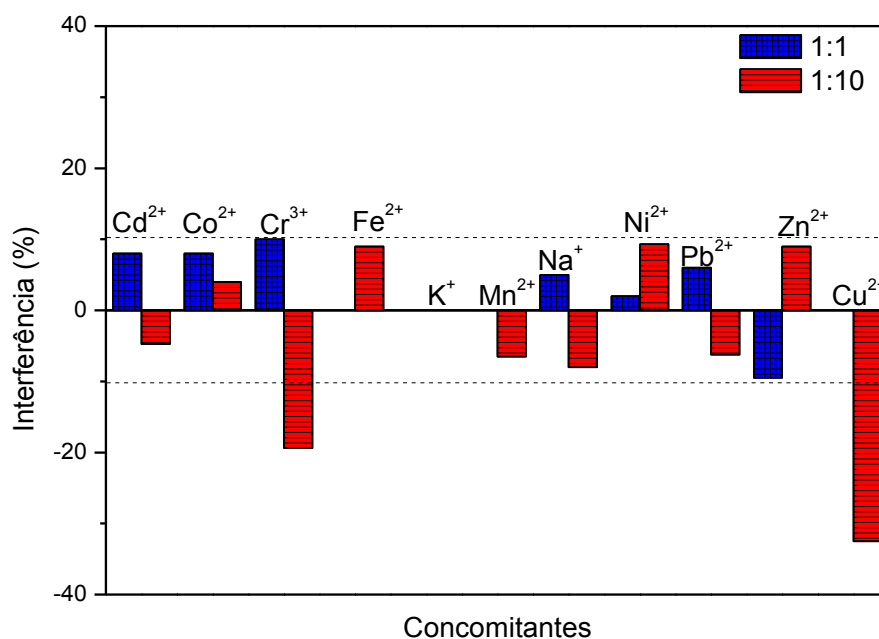


FIGURA 1.7- Influência de íons concomitantes na determinação de selênio.

3.5 - Figuras de mérito

O método desenvolvido apresentou faixa de resposta de 0,17 a 6,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ podendo ser descrita pela equação $A = 0,0462 + 0,0929 [\text{Se } \mu\text{g L}^{-1}]$ ($r = 0,9936$). Foram alcançados limites de detecção e quantificação de 53 e 170 ng L^{-1} , respectivamente. Outros parâmetros analíticos como fator de pré-concentração de 232, eficiência de concentração (EC) de 58 min^{-1} , índice de consumo (IC) de 0,06 mL e frequência de leitura de 12 análises h^{-1} foram obtidos.

Na Tabela 1.2 é reportado o desempenho do método desenvolvido em relação a outros publicados na literatura usando diferentes técnicas analíticas para determinação de selênio envolvendo ou não pré-concentração.

TABELA 1.2- Desempenho analítico de diferentes métodos que possibilitam a determinação de selênio.

Técnica	Pré-concentração	Sistema	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Referências
GF-AAS	Sim	<i>off-line</i>	0,2-5	0,08	SHRIVAS e PATEL, 2011
UV-Visível	Sim	<i>on-line</i>	-	1,7	SERRA et al., 2010
GF-AAS	Sim	<i>off-line</i>	0,5-1,7 (cebola) 1,3-3,3 (alho)	0,5 1,3	IZGI et al., 2006
HGAAS	Não	<i>on-line</i>	-	0,2	ZHANG e ADELOJU, 2008
HG-IAT-FAAS	Não	<i>on-line</i>	-	3,0	MATUSIEWICZ e KRAWCZYK, 2006
GF-AAS	Não	<i>off-line</i>	0-25	1,0	IEGGLI et al., 2009
HG-ICP-OES	Sim	<i>off-line</i>	4,0-25,0x10 ³	0,8	TYBURKA et al., 2011
NT-QTA-HG-AAS	Não	<i>on-line</i>	5-100	1,0	LI, SHUN-XING et al., 2011
DPCSV	Não	<i>off-line</i>	0,15-0,8	0,07	PANIGATI et al., 2007
UV-Visível	Não	<i>off-line</i>	50-1000	10	AGRAWAL et al., 2009
TS-FF-AAS	Não	<i>on-line</i>	6-500	1,8	KLASSEN et al., 2008
FI-HG-GFAAS	Sim	<i>on-line</i>	1-40	0,06	AJTONY et al., 2005
LC-UV-HG-AFS	Não	<i>on-line</i>	-	0,5	MUÑIZ-NAVEIRO et al., 2007
HGAAS	Sim	<i>on-line</i>	0,17-6	0,05	Este trabalho

LD: limite de detecção.

Uma análise da Tabela 1.2, revela que o método desenvolvido apresenta vantagens em relação aos demais com respeito ao LD, sendo que este pode ser ainda melhorado, pelo aumento do tempo de pré-concentração (Figura 1.8).

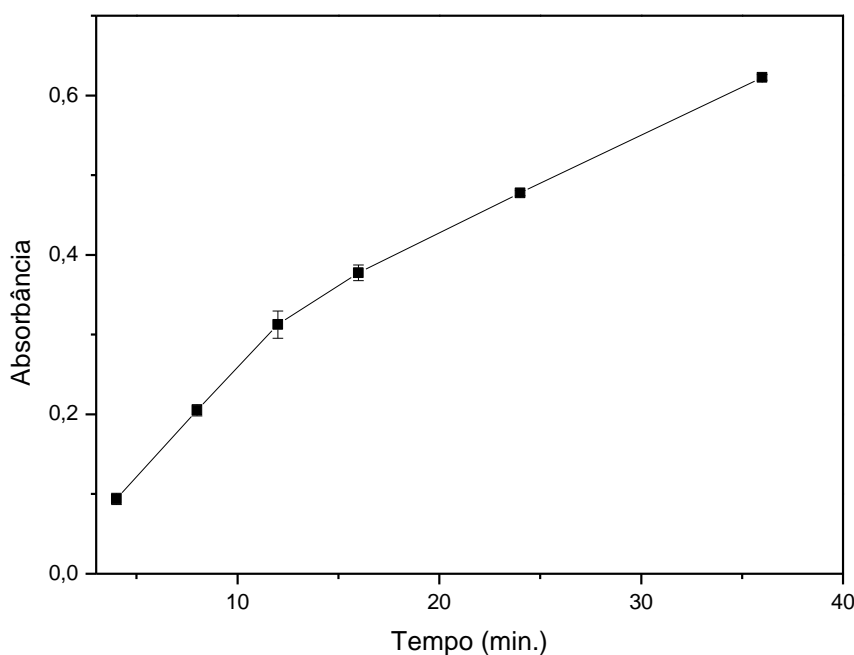


FIGURA 1.8- Variação da absorbância em função do tempo empregado para a pré-concentração. Experimento realizado com uma solução contendo selênio na concentração de 500 ng L^{-1} .

3.6 - Validação do método e aplicação

Na Tabela 1.3 é mostrada a porcentagem de recuperação bem como os teores de selênio encontrados nas amostras. Os valores de recuperação dos teores adicionados variaram entre 98 e 109 %, a exatidão também foi avaliada, por meio do uso de material de referência certificado DORM-2 ($1,40 \pm 0,09 \text{ mg kg}^{-1}$), sendo que a concentração determinada no material foi de ($1,32 \pm 0,05 \text{ mg kg}^{-1}$) ($n=2$) concordante com o certificado (*t-test comparação de médias, 95% de confiança*). O desvio padrão relativo foi sempre menor que 10 %.

TABELA 1.3- Determinação de selênio e percentagem de recuperação.

Amostras	Quantidade adicionada (mg kg ⁻¹)	^a Quantidade encontrada (mg kg ⁻¹)	Recuperação (%)
castanha do Pará	-	0,33±0,03	-
	1	1,35±0,01	102
feijão branco	-	0,47±0,03	-
	1	1,54±0,04	107
farinha de arroz	-	0,47±0,02	-
	1	1,56±0,03	109
damasco	-	0,46±0,02	-
	1	1,46±0,11	100
leite em pó	-	0,22±0,01	-
	1	1,22±0,01	100
DORM-2	-	1,32±0,05	-
	1	2,30±0,08	98

^aResultados expresso como média±DP (Desvio Padrão) (n=2).

4 - CONCLUSÕES

Neste estudo, foi sintetizado um polímero de impressão atômica para fins de pré-concentração e determinação de selênio com detecção por FIA-HG-FAAS, que possibilitou a determinação de selênio em amostras de castanha do Pará, damasco, leite em pó, farinha de arroz e feijão branco e no material de referência certificado DORM-2. Quanto à caracterização do material polimérico foi possível observar, pelas micrografias de varredura, a adsorção de Se(0) na superfície irregular do polímero sintetizado via *bulk*. O polímero sintetizado exibiu elevada detectabilidade expressa pelo FP de 232, e LD de 53 ng L⁻¹ sendo que este pode ser melhorado, se necessário, aumentando-se o tempo de pré-concentração. Estas características viabilizam o uso do método para determinação de selênio em amostras alimentícias, sendo mais vantajoso que os demais métodos citados na literatura.

Capítulo II

DETERMINAÇÃO DE URÂNIO EM AMOSTRAS DE ÁGUA USANDO PRÉ-CONCENTRAÇÃO COM POLÍMERO IMPRESSO HÍBRIDO

1 - INTRODUÇÃO

Urânio é um elemento radioativo natural encontrado na crosta terrestre em teores médios de $2,8 \text{ mg kg}^{-1}$, estando presente no solo, rochas, ar e água, e sendo mais abundante que alguns metais como ouro, prata, estanho e tungstênio (DADFARNIA et al., 2013; de SOUZA et al., 2013; BHALARA et al., 2014). A descoberta da radioatividade do urânio data de 1896, por Henry Becquerel. Algumas décadas mais tarde a radioatividade deste elemento passou a ser usada como fonte de geração de energia elétrica em reatores nucleares. Estimativas recentes mostram que 14 % da energia elétrica produzida no mundo advêm da energia nuclear produzida pelo urânio (MILJA et al., 2011; BHALARA et al., 2014). Na natureza o urânio ocorre sob a forma de três radioisótopos, a saber, ^{238}U , a forma mais abundante (99,27%), seguida por ^{235}U (0,72%) e por último ^{234}U com 0,005% (SANTOS et al., 2010).

Quanto aos estados de oxidação este elemento apresenta os valores +2, +3, +4, +5 e +6 sendo as espécies +4 e +6 as mais estáveis, sendo que o urânio (VI) é encontrado em meio aquoso na forma de uranila (UO_2^{2+}) (DOMINGO, 2001; CRAFT et al., 2004). De acordo com ZHANG e colaboradores (2014) esta espécie é a que apresenta maior risco para saúde humana e é considerada altamente tóxica e radioativa. GILMAN et al. (1998) relatam que a dose diária tolerada de urânio é igual a $0,06 \text{ mg kg}^{-1}$ do peso corpóreo.

A contaminação por urânio pode ser proveniente de mineração, uso em reatores nucleares, extração de combustível fóssil e fertilizantes fosfatados que contém urânio (SHRIVASTAVA et al., 2013).

A *Agency for Toxic Substances and Disease Registry* (ATSDR, 1999, Agência de Substâncias Tóxicas e Registros de Doença) registrou que concentrações de urânio da ordem de microgramas podem ser encontradas em alimentos (1-2 μg), água (1,5 μg) e ar. No tocante à toxicidade o urânio, UO_2^{2+} ,

pode causar danos aos rins, câncer no fígado e, em altas doses, levar à morte (KALYANA et al., 2009; ZONG e COU, 2014). A organização Mundial da Saúde (WHO, do inglês, *World Health Organization*) (WHO, 2006 apud UNICEF, 2008) preconiza que o limite máximo de urânio em água potável deve ser inferior a $15 \mu\text{g L}^{-1}$ e a Portaria 2914 do Ministério da Saúde no Brasil estipula um limite máximo de $30 \mu\text{g L}^{-1}$ (Portaria 2914, Ministério da Saúde, 2011).

Tendo em vista a toxicidade do urânio em águas, e levando-se em consideração que os métodos para a determinação de baixos teores deste elemento é realizada por técnicas não rotineiras, como a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado. Este capítulo propõe a pré-concentração e determinação de urânio em polímero impresso híbrido usando sistema FIA com detecção espectrofotométrica pó UV-vis.

2 - PARTE EXPERIMENTAL

2.1 - Instrumentação

As absorvâncias foram obtidas por um espectrofotômetro UV-visível (BIOSPECTRO SP-220) de feixe simples com 1 cm de caminho óptico, onde foi usado o comprimento de onda de 650 nm, e a aquisição dos dados foi feita com um *software* com linguagem *Visual Basic*. Uma bomba peristáltica de oito canais (Ismatec IPC-08, Suíça), tubos de Tygon[®] e polietileno (0,8 mm diâmetro interno) foram usados para a propulsão dos fluidos. Para a análise por injeção em fluxo foram usados um amostrador automático e um comutador construídos no laboratório (FIGUEIREDO et al., 2006).

O material polimérico foi empacotado em uma mini-coluna com 5,4 cm de comprimento e 2,1 mm de diâmetro. Um pH-metro (Handylab 1 Schott, Reino Unido), com eletrodo de vidro e prata/cloreto de prata combinados

foi usado para medidas do pH das soluções. Para a caracterização do material foi usado um espectrômetro de Infravermelho (Bomen B100) com faixa de transmissão de 4000 to 400 cm^{-1} e 4 cm^{-1} de resolução; as amostras foram preparadas em pastilhas de KBr.

As micrografias foram feitas usando um microscópio eletrônico de varredura (Philips XL-30 FEG, EUA), sendo que as amostras foram preparadas com vaporização por partículas de ouro.

Para checar a exatidão do método foram feitas análises comparativas das amostras no Laboratório de Poços de Caldas (CNEN-Poços de Caldas-MG) usando um espectrômetro alfa (CANBERRA Model 7401, EUA). Todos os dados foram processados usando o software STATISTICA (StatSoft, Tulsa, EUA).

2.2 - Reagentes e soluções

Todas as soluções foram preparadas com água deionizada produzida em um sistema Milli-Q system (Millipore, EUA). As vidrarias foram descontaminadas em banho de ácido nítrico (Merck, Alemanha) 10 % (v/v) por 24 horas. A solução estoque de urânio (1000 mg L^{-1}) foi preparada a partir do sal $\text{UO}_2(\text{OAC})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Merck, Alemanha). As soluções de fosfato, borato e acetato foram preparadas a partir dos respectivos sais de sódio (Merck, Alemanha).

O reagente cromogênico arsenazo III (3,6-bis [(2-arsenofenil)-azo]-4,5-diidroxí-2,7-ácido naftalenodisulfônico) (Sigma-Aldrich, Alemanha) foi preparado pela mistura de 0,10 g do sal com 0,10 g de carbonato de sódio e avolumado com água em balão volumétrico de 100 mL.

Para a síntese do polímero impresso híbrido foram usados: sal de uranildiacetato (Merck, Alemanha); 4-vinilpiridina (Sigma-Aldrich, Alemanha); ácido metacrílico (Sigma-Aldrich, Alemanha); metanol (Merck, Alemanha); 3-trimetoxissilano propilmetacrilato (TMSPMA) (Sigma-Aldrich, Alemanha);

tetraetil-ortoxisicato (TEOS) (Sigma-Aldrich, Alemanha) e 2,2-azo-bis-isobutironitrila (AIBN) (Sigma-Aldrich, Alemanha).

2.3 - Síntese do polímero impresso híbrido

O polímero impresso híbrido foi sintetizado via processo sol-gel, de acordo com SINGH e MISHRA, 2009; TARLEY et al., 2011. Para a síntese, foi empregado um procedimento onde 1,5 mmol de urânio foram misturados a 6 mmol de 4-vinilpiridina e a 6 mmol de ácido metacrílico e a mistura dispersa em 5 mL de metanol. Em seguida, 1,0 g de TMSPMA e 50 mg de AIBN foram adicionados ao meio reacional com mais 30 mL de metanol. A reação foi mantida a 65°C por 4 horas. Por último, 13,5 mmol de TEOs e 1 mL de HCl 1% (v/v) foram adicionados à mistura e a reação foi mantida por mais 2 horas até a completa polimerização. A reação foi mantida sob refluxo em balão de 3 vias, até o término da reação.

O polímero sintetizado foi lavado com HCl 2 mol L⁻¹ para remoção do urânio, em seguida o material foi seco, macerado e peneirado entre 180 e 200 µm. A Figura 1.2 apresenta um fluxograma resumido do procedimento de síntese do polímero.

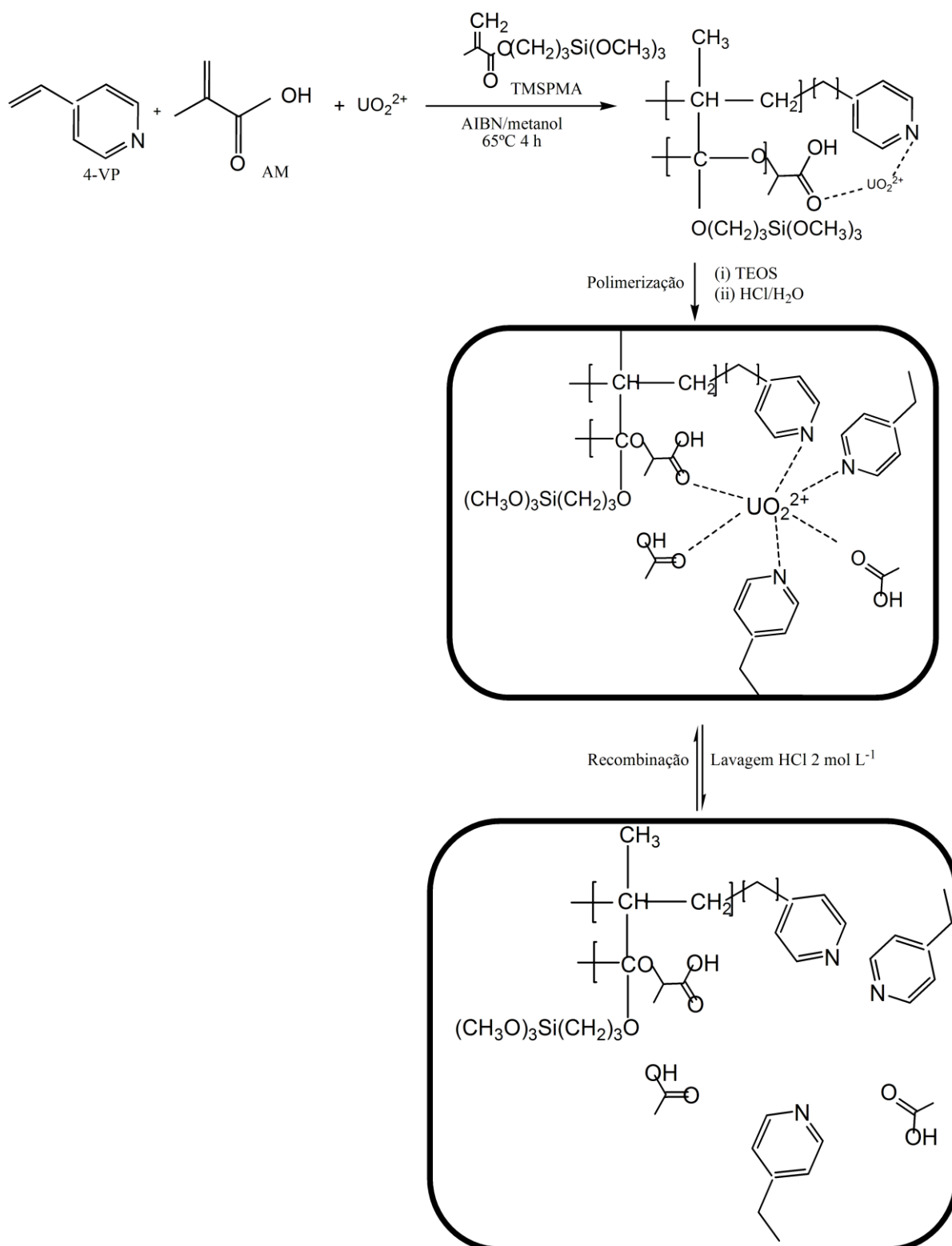
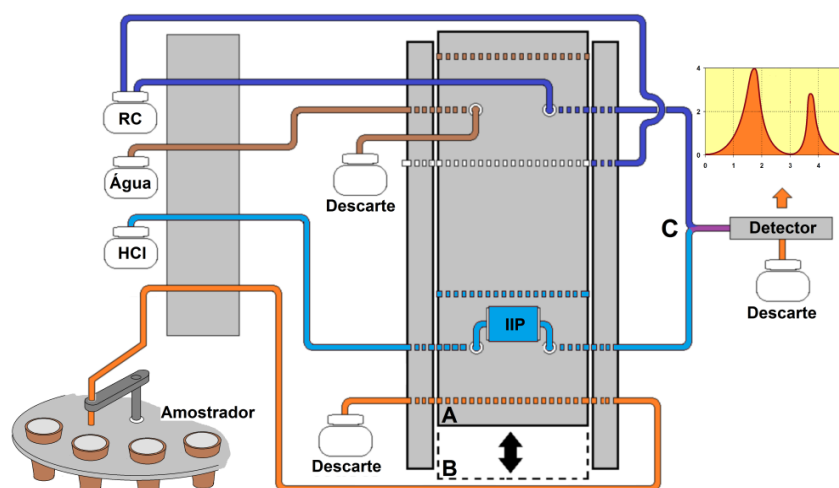


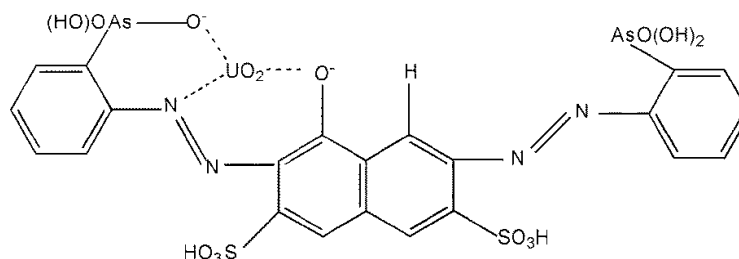
FIGURA 2.1- Fluxograma resumido do procedimento de síntese do polímero impresso para urânio. 4-VP: 4-vinilpiridina; AM: ácido metacrílico.

2.4 - Sistema de análise em fluxo

Na Figura 2.2 (a) é mostrado o sistema de fluxo intermitente para pré-concentração de urânio. Durante a etapa de pré-concentração uma alíquota de 22 mL da amostra tamponada (pH=5,0 tampão acetato 0,01 mol L⁻¹), é retida na mini-coluna de IIP sob fluxo com vazão de 4,5 mL min⁻¹, sendo que simultaneamente o reagente cromogênico retorna para o frasco enquanto água é introduzida no sistema FIA. O urânio retido pelo IIP é eluído com HCl 0,3 mol L⁻¹ (3,5 mL min⁻¹) reagindo no ponto C com arsenazo III (0,08 % m/v) (1,2 mL min⁻¹), formando o complexo da Figura 2 (b) sendo a absorbância monitorada em 650 nm (do LAGO et al., 2012).



(a)



(b)

FIGURA 2.2- (a) Sistema de análise em fluxo para pré-concentração de urânio. Amostra: 4,5 mL min⁻¹; HCl: 3,5 mL min⁻¹; RC: reagente cromogênico (arsenazo III, 1,2 mL min⁻¹); C: confluência. (b) complexo UO₂²⁺/arsenazo III.

2.5 - Preparo das amostras

As amostras de água foram coletadas nos arredores das Indústrias Nucleares do Brasil (INB) (Caldas, Brasil), em pontos de saída para o meio ambiente. As amostras foram acondicionadas em frascos de polietileno e em seguida acidificadas com 1 mL de HNO_3 (14 mol L^{-1}) para cada litro. No momento das análises as amostras foram filtradas em membrana de acetato de celulose $0,45 \text{ }\mu\text{m}$, tamponadas com tampão acetato $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ pH 5,0 e analisadas em seguida.

2.6 - Otimização do sistema de pré-concentração

A otimização do pH e da vazão de pré-concentração foi realizada de forma univariada, sendo a concentração de arsenazo III mantida em 0,08 % (m/v) (do LAGO et al., 2012). As concentrações de ácido clorídrico e tampão acetato foram otimizadas por meio de planejamento Doehlert (FERREIRA et al., 2004). Todos os ensaios foram conduzidos com $100 \text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ de urânio.

2.7 - Avaliação da capacidade adsortiva

A capacidade adsortiva dinâmica da mini-coluna de IIP foi determinada a partir do experimento de *breakthrough* (SEGATELLI et al., 2010). Assim 10 mL de urânio na concentração de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ (pH 5,0 tampão acetato/ácido acético $0,01 \text{ mol L}^{-1}$) foram percolados pela mini-coluna de IIP (50 mg) a uma vazão de 10 mL min^{-1} . As alíquotas foram recolhidas e a concentração de urânio determinada por espectrofotometria.

2.8 - Estudo dos interferentes

Para avaliar os interferentes foram preparadas soluções binárias contendo o analito na concentração de $15 \mu\text{g L}^{-1}$ e o interferente em três valores distintos de concentração, sendo o primeiro igual à metade do valor da referida concentração máxima (padrão de potabilidade) estabelecida pela Organização Mundial da Saúde (WHO (2006) apud UNICEF, 2008) o segundo igual ao valor máximo da concentração estabelecida, e o terceiro igual ao dobro da concentração máxima. Foi adotado como critério de interferência a observância de valores de recuperação superiores a 110% ou inferiores a 90%. Os interferentes estudados foram Cr^{3+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Al^{3+} , Fe^{3+} , Th^{4+} , Zn^{2+} , Ag^+ , Se^{4+} e Cd^{2+} .

3 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 - Caracterização do polímero de impressão

3.1.1 - Infravermelho e Microscopia Eletrônica de Varredura

Os espectros de infravermelho dos polímeros lavado e sem lavar são apresentados na Figura 2.3. Em 3442 cm^{-1} observa-se a banda de O-H que pode ser atribuída aos grupamentos silanois (TARLEY et al., 2010). Bandas em 2995 cm^{-1} indicam estiramentos C-H e em 1714 cm^{-1} dizem respeito à carbonilas presentes nos monômeros TMSPMA e ácido metacrílico (SEGATELLI et al., 2010; de LIMA et al., 2013). Os estiramentos correspondentes às ligações C=C e C=N presentes respectivamente no monômero 4-vinilpiridina e iniciador radicalar AIBN e no ácido metacrílico encontram-se na faixa de $1636\text{-}1300 \text{ cm}^{-1}$ (MILJA et al., 2011). Picos entre $1107\text{-}924 \text{ cm}^{-1}$ podem ser atribuídos a grupamentos Si-O-Si e Si-O-H (DINIZ et al., 2013). No IIP sem lavar, observa-se um estiramento em 912 cm^{-1} que corresponde a adsorção de uranila, sendo

que este estiramento não aparece no IIP após a lavagem com $\text{HCl } 2 \text{ mol L}^{-1}$ confirmando que o ácido retira o analito (SINGH e MISHRA, 2009).

As avaliações por microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos polímeros não lavado (A) e lavado (B) são apresentadas na Figura 2.4. Nota-se em (A) a rugosidade da superfície do material, o que favorece a interação entre o polímero e os íons uranila.

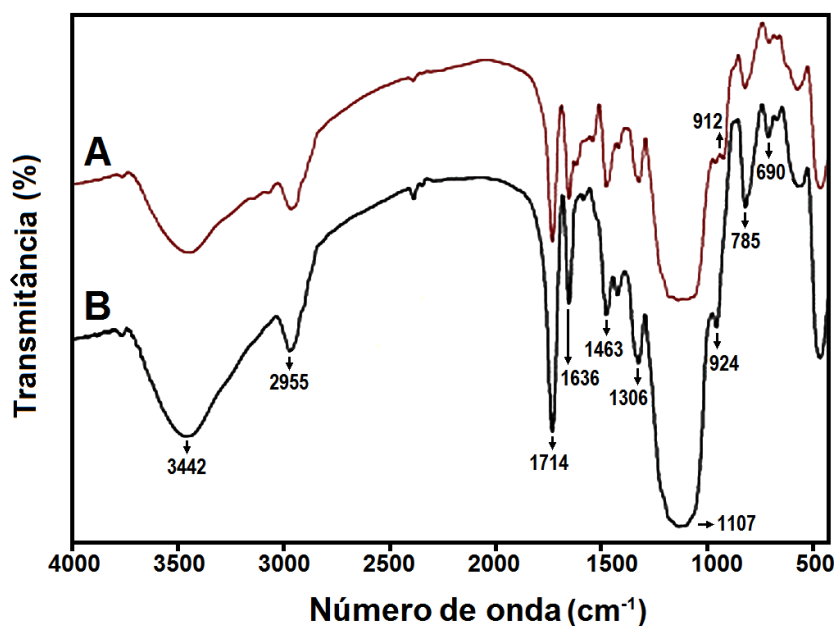
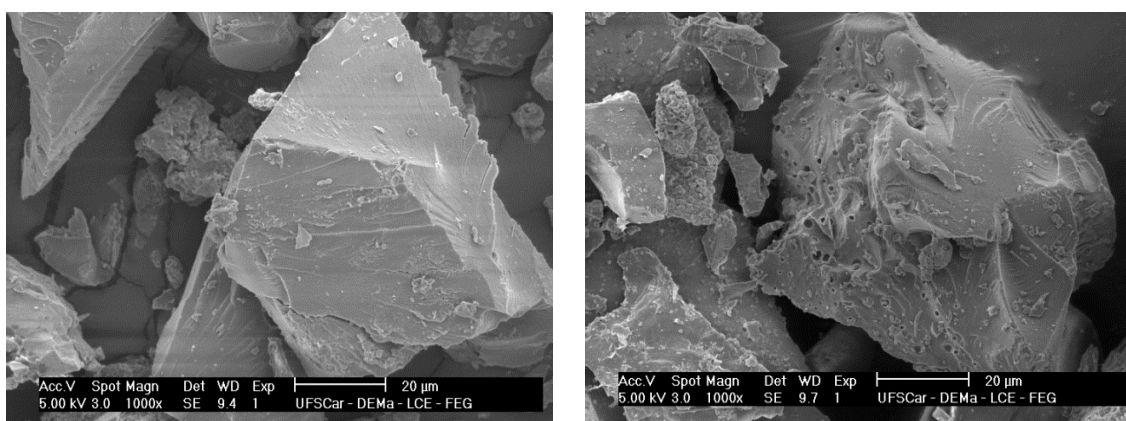


FIGURA 2.3- Espectro de infravermelho dos polímeros impressos sem lavar (A) e lavado (B).



(A)

(B)

FIGURA 2.4- Registros gerados por MEV para os polímeros não lavado (A) e lavado (B). As imagens foram ampliadas em 1000x.

3.2 - Efeito do pH

A influência do pH na pré-concentração dos íons uranila é observada na Figura 2.5. O sinal analítico tem um aumento na faixa de 3,0 a 5,0, decrescendo em pH acima de 5,0. Este fato pode ser explicado pela hidrólise dos íons uranila, que afeta a pré-concentração e diminui o sinal analítico (SINGH e MISHRA, 2009). Levando em consideração esta constatação, o valor de pH igual a 5,0 foi fixado para os demais experimentos.

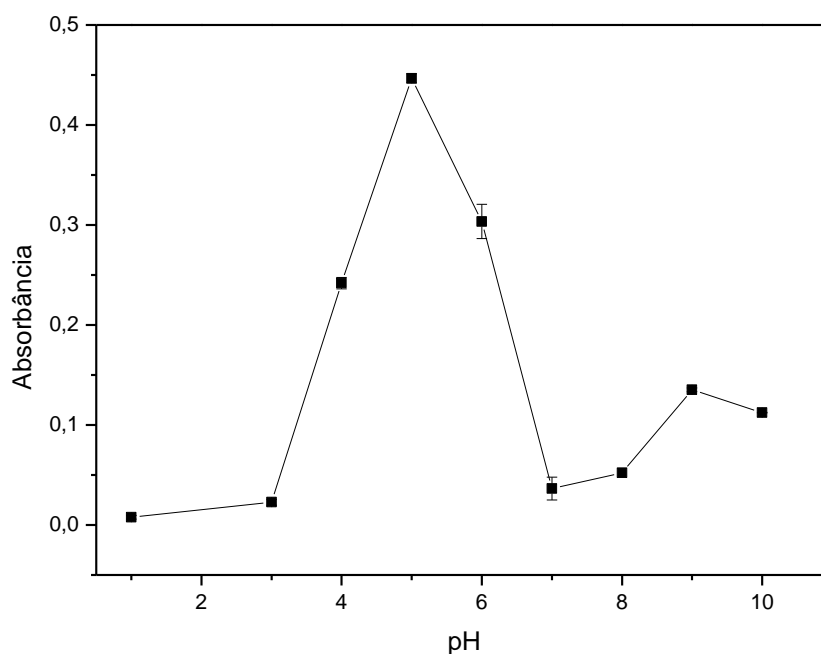


FIGURA 2.5- Efeito do valor do pH na pré-concentração da urânila empregando diferentes soluções com valores distintos de pH e solução de U(VI) $100 \mu\text{g L}^{-1}$: pH 1,0-2,0 (KCl/HNO₃); pH 3,0 - 5,0 (tampão acetato); pH 6,0-8,0 (tampão fosfato); pH 9,0-10,0 (tampão borato). Concentração do tampão: $0,01 \text{ mol L}^{-1}$.

3.3 - Estudo do tempo de pré-concentração

O efeito do tempo de pré-concentração foi avaliado na faixa de tempo de 1-10 minutos com incrementos de 1 minuto. Embora tempos de pré-concentração em torno de 8 minutos favoreçam o sinal analítico, prejudicam a frequência de leitura. Desta forma o tempo de pré-concentração de 5 minutos foi adotado. Na Figura 2.6 é relacionado o sinal analítico com o tempo de pré-concentração do U(IV).

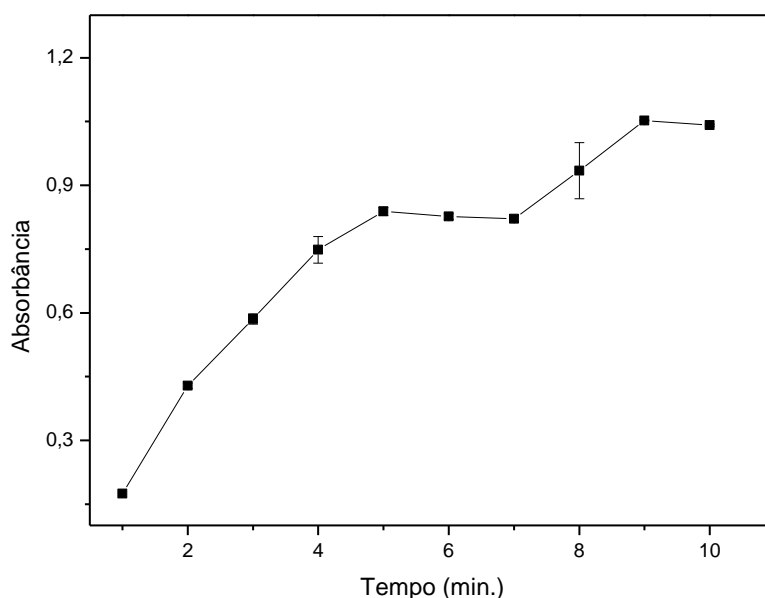


FIGURA 2.6- Relação da absorbância observada, com os tempos de pré-concentração empregados.

3.4 - Otimização multivariada das concentrações do eluente (HCl) e do tampão acetato

As concentrações do eluente (HCl) e do tampão acetato de sódio foram otimizadas usando planejamento Doehlert (FERREIRA et al., 2004), os resultados do experimento estão apresentados na Tabela 2.1.

A superfície de resposta para os resultados da Tabela 2.1 é apresentada na Figura 2.7, bem como a equação (2.1) do modelo quadrático que a representa.

TABELA 2.1- Planejamento Doehlert para as concentrações do eluente (HCl) e do tampão acetato.

Ensaio	Fatores		Absorbância
	CT (mol L ⁻¹)	CE (mol L ⁻¹)	
1	0,01	0,5	0,849
2	0,01	0,5	0,820
3	0,01	0,5	0,946
4	0,0075	0,6	0,548
5	0,01	0,3	0,890
6	0,0125	0,6	0,578
7	0,0075	0,4	0,737
8	0,01	0,7	0,478
9	0,0125	0,4	0,787

CT: concentração do tampão, CE: concentração do eluente. Os experimentos foram realizados com 100 µg L⁻¹ de U(IV), pH 5,0, concentração de arsenazo III de 0,08% (m/v) (do LAGO et al., 2012) e tempo de pré-concentração de 5 minutos.

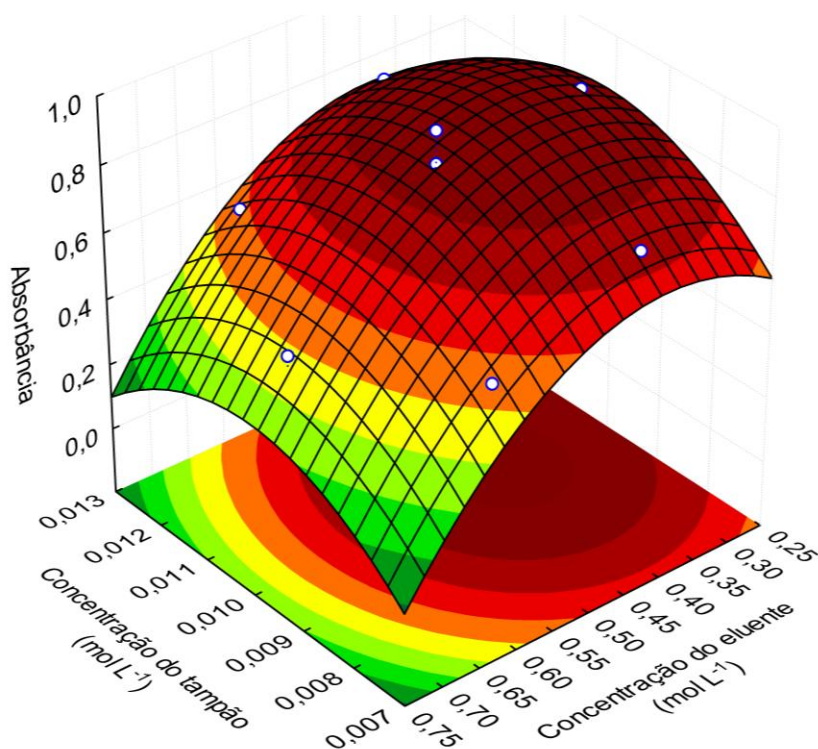


FIGURA 2.7- Superfície de resposta relacionando a concentração do tampão a concentração do eluente e a absorbância.

$$\text{Absorbância} = -2,568 + 537,480(CT) - 25987,99(CT)^2 + 3,870(CE) - 4,697(CE)^2 - 19,599(CT)(CE)$$

Equação (2.1)

De acordo com o modelo quadrático (equação 2.1) os pontos de máximo para as concentrações do tampão e do eluente foram respectivamente, $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e $0,30 \text{ mol L}^{-1}$. Estas concentrações foram fixadas para os demais experimentos.

3.5 - Experimento de breakthrough

A capacidade exaustiva da coluna foi calculada pela equação 2.2:

$$Q = \frac{(C_0 - C) \cdot V}{m}$$

Equação (2.2)

em que Q é a massa de urânio adsorvida; C_0 a concentração inicial de urânio; C a concentração recolhida no efluente após a solução percolar o IIP; V volume (mL) m é o valor da massa do IIP em g (SEGATELLI et al., 2010).

Para a realização deste experimento, alíquotas de 10 mL de uma solução de urânio ($C_0 = 0,5 \text{ mg L}^{-1}$) foram percoladas sobre a mini-coluna de IIP preenchida com 50 mg do material. Cada alíquota foi recolhida, sendo a concentração de U(IV) determinada espectrofotometricamente com arsenazo III. Na Figura 2.8 é mostrado a saturação da mini-coluna de IIP em função do volume percolado. Pela análise da Figura, nota-se que em 30 mL não foi detectado U(IV) no efluente e que a partir de 50 mL, a presença do analito na alíquota coletada da coluna é constatada. Em 155 mL a mini-coluna satura pois ($C/C_0 \approx 1$). Por meio da equação (2.2) pode-se calcular a capacidade máxima de *breakthrough* como sendo $1,55 \text{ mg g}^{-1}$.

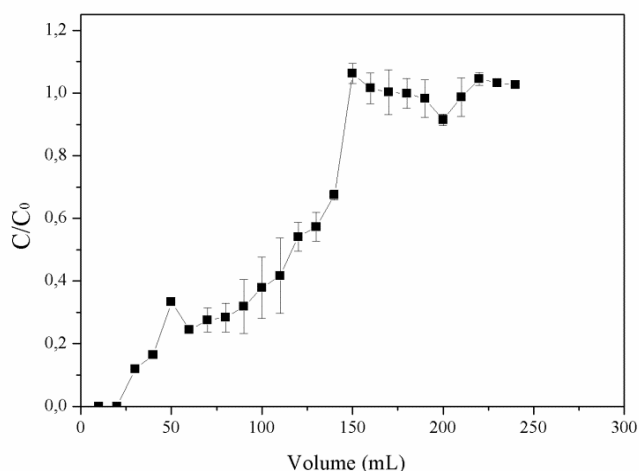


FIGURA 2.8- Curva de *breakthrough* para o IIP.

3.6 - Estudo de interferentes

Pela análise da Figura 2.9 nota-se que os íons Cr^{3+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} e Ni^{2+} interferiram quando em valores de concentração iguais ao dobro da concentração do limite máximo permitido pela WHO (2006) citado por UNICEF (2008) para padrões de potabilidade. Contudo não são valores de concentração tipicamente encontrados em águas. Por outro lado Fe^{3+} e Al^{3+} interferiram na detecção de urânio, mesmo quando em valores de concentração iguais aos valores máximos estabelecidos pela WHO para padrões de potabilidade. Este tipo de interferência está relacionada com a formação de complexos destes íons com arsenazo III, que exibem absorvância em comprimento de onda próximo ou em 650 nm (STRELOW e VAN DER WALT, 1979; KHAN et al., 2006; MADRAKIAN et al., 2007). Em contrapartida a interferência destes íons não comprometeu a validação do método proposto (Tabela 2.4), cabendo acrescentar que em amostras de água de rios e lagos as concentrações relatadas para Fe (lago: $51 \pm 2 \mu\text{g L}^{-1}$; rio: $80 \pm 1 \mu\text{g L}^{-1}$ TEIXEIRA e ROCHA, 2007) (rio: $64,7 \pm 0,6 \mu\text{g L}^{-1}$ SHAKERIAN et al., 2008); (rio: $63,2 \mu\text{g L}^{-1}$ KASSEN e AMIN, 2013); (lago: $5,1 \pm 0,2 \mu\text{g L}^{-1}$; mina: $13,0 \pm 0,8 \mu\text{g L}^{-1}$ KRAWCZYK et al., 2014) e Al (rio: $38,50 \pm 0,50 \mu\text{g L}^{-1}$ KARA et al., 2008); (lago: $11,1 \pm 0,6 \mu\text{g L}^{-1}$ SANG et al., 2008); (rio: $19,5 \pm 0,9 \mu\text{g L}^{-1}$ BULUT et al., 2011) estão tipicamente abaixo dos valores que causariam interferência.

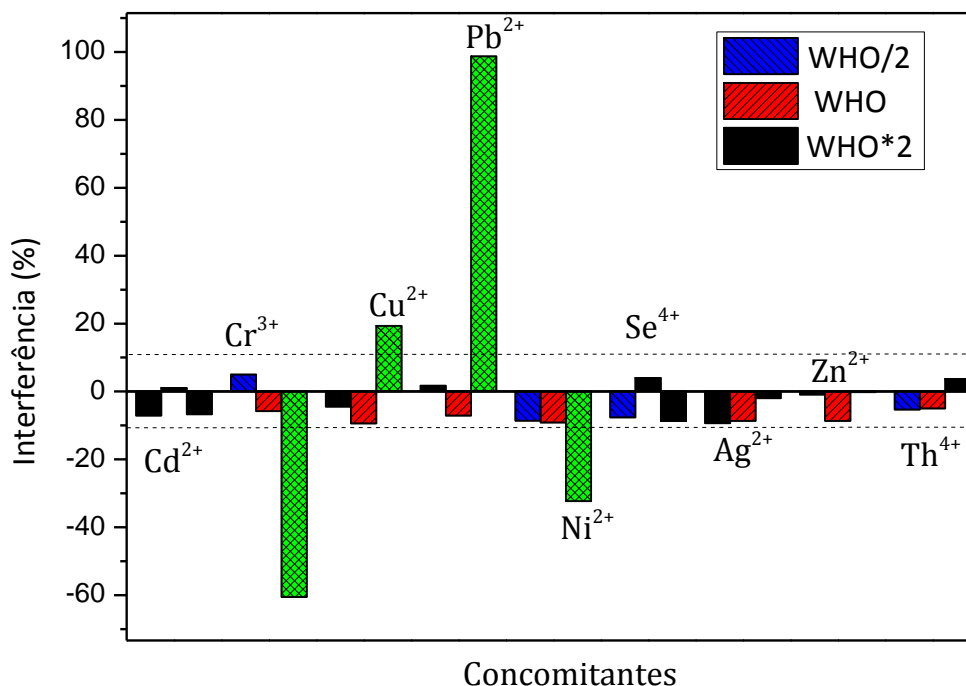


FIGURA 2.9- Influência da concentração de concomitantes na pré-concentração de urânio em IIP. Valores máximos permitidos em água potável segundo a WHO (2006) citado por UNICEF (2008).

3.7 - Características analíticas, aplicação e validação do método desenvolvido

O método desenvolvido apresentou limite de detecção de $0,40 \mu\text{g L}^{-1}$, fator de pré-concentração igual a 97 e frequência de leitura de 10 leituras h^{-1} (Tabela 2.2). O método proposto foi comparado (Tabela 2.3) com outros trabalhos reportados na literatura envolvendo pré-concentração de urânio em outros materiais. Conforme verificado, o método desenvolvido apresentou características comparáveis ou melhores com relação aos métodos citados. Como exemplo, tem-se o trabalho de SHAMPISUR e colaboradores (2007), onde os autores também sintetizaram um polímero impresso sendo a detecção do

urânio realizada por ICP OES, onde o limite de detecção obtido foi de $1,6 \mu\text{g L}^{-1}$ e fator de pré-concentração igual a 52.

TABELA 2.2- Características analíticas obtidas usando IIP híbrido com sorvente.

faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,25 a 100,0
limite de detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,40
limite de quantificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,25
fator de pré-concentração	97
eficiência de concentração (min^{-1})	19,40
índice de consumo (mL)	0,23
frequência de leitura (leituras h^{-1})	10

TABELA 2.3- Comparação do método desenvolvido com trabalhos relatados na literatura sobre extração de U(VI) em fase sólida.

Sorvente	FP	Volume de amostra (mL)	IC (mL)	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Técnica	Referência
sílica (MCM-41) modificada com fural	100	100	1,0	0,30	ICP OES	YOUSEFI et al., 2009
IIP piroxicam	150	200	0,75	0,80	UV-Vis	SADEGHI e MOFRAD, 2007
IIP DCQ e 4-VP	100	25	0,25	5,0	UV-Vis	METILDA et al., 2004
IIP SALO e 4-VP	63	25	0,40	5,0	UV-Vis	SINGH e MISHRA, 2009
silica gel modificada com murexida	400	1000	2,5	1,0	UV-Vis	SADEGHI e SHEIKHZADEH, 2009
amberlite XAD-2000	100	50	0,5	0,5	UV-Vis	GHASEMI e ZOLFONOUN, 2011
espuma de poliuretano	500	-	-	5,5	AFS XR	CARVALHO et al., 1998
resina chitosan	25	50	2,0	0,1	ICP OES	OSHITA et al., 2008
Alumina modificada com meloxicam	500	1000	2,0	0,5	UV-Vis	FARHADI et al., 2008
IIP na superfície de silica gel	52	100	1,9	1,6	ICP OES	SHAMPISUR et al. 2007
IIP 4-VP and AM	97	22	0,23	0,4	UV-Vis	Este trabalho

FP: fator de pré-concentração; IC: índice de consumo; LD: limite de detecção.

Na Tabela 2.4 é apresentada a validação do método para amostras de água coletadas em rios e efluentes, pontos de saída para o meio ambiente na região de Poços de Caldas-MG. A exatidão do método foi checada pela comparação dos resultados obtidos pelo método proposto com o método oficial (MANICKAM et al., 2008). Nota-se que não existe diferença significativa entre os dois métodos para um nível de confiança de 95% (teste *t de dados pareados*).

TABELA 2.4- Determinação de urânio em águas pelo método proposto e por espectrometria alfa.

*Amostras	Método proposto ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Espectrometria alfa ($\mu\text{g L}^{-1}$)
P-25	^b 2,2±0,1	2,3±0,1
P-41	43,8±0,1	43,7±0,1
P-76	65,9±0,1	64,3±0,2
P-709	7,8±0,1	7,9±0,1

*Pontos de coleta das Indústrias Nucleares do Brasil (Poços de Caldas/Caldas-MG). ^bResultados expressos com média±D.P (desvio padrão) (n=3), teste *t de dados pareados* com 95% de confiança.

4 - CONCLUSÕES

O polímero impresso híbrido sintetizado mostrou estabilidade química uma vez que vários ensaios foram realizados usando a mesma coluna de adsorção. O ácido clorídrico foi eficiente na remoção do urânio do IIP o que foi denotado pelas bandas de absorção dos polímeros lavado e sem lavar no espectro de infravermelho. Quanto às características analíticas, foi possível determinar 10 leituras h^{-1} com fator de pré-concentração igual a 97 e limite de detecção de $0,4 \mu\text{g L}^{-1}$. O sistema FIA proposto bem como as vantagens conferidas pelo material, possibilitaram a aplicação do método em amostras de

água de rios e lagos, em um procedimento com baixo consumo de reagentes, estando de acordo com princípios de uma atuação ambientalmente responsável.

Capítulo III

POLÍMERO IMPRESSO IONICAMENTE PARA PRÉ- CONCENTRAÇÃO DE ULTRA-TRAÇOS DE CÁDMIO E DETECÇÃO EMPREGANDO FIA-TS-FF-AAS

1 - INTRODUÇÃO

O elemento cádmio ocorre naturalmente na crosta terrestre (0,16 mg kg⁻¹) estando presente no solo, associado principalmente ao enxofre sob a forma de CdS, e também a metais como zinco, chumbo e cobre (FERREIRA et al., 2007; LEMOS et al., 2008; GALUNIN et al., 2014). No entanto, ações antropogênicas também podem ser responsáveis pelo aumento do teor de Cd em alimentos, ar e água, uma vez que este elemento frequentemente mobilizado pela extração de rochas destinadas à produção de fertilizantes fosfatados, minérios destinados às indústrias metalúrgicas e pigmentos empregados em indústrias têxteis dentre outras (ARPA e DURUKAN, 2011; IVARI et al., 2012). Reconhecido como elemento químico tóxico, o efeito deletério do cádmio sobre o organismo humano somente foi atestado em 1969 (DADFARNIA et al., 2009; CHAMJANGALI et al., 2010). Os danos causados pela intoxicação por este elemento podem ter efeitos danosos sobre os sistemas respiratório, hepático, esquelético e principalmente ao sistema renal. Uma vez acumulado no fígado e nos rins, o cádmio pode levar períodos de 20-30 anos para ser excretado (WEXLER, 2005; PATNAIK, 2007 apud GAWIN et al., 2010).

A contaminação humana pelo cádmio pode se dar pela ingestão de alimentos e água contaminados, bem como pelo ar (CHAMJANGALI et al., 2010).

A Organização Mundial da Saúde e a Organização de Alimentos Agrícolas (FAO/WHO, 1972, do inglês *World Health Organization/ Food and Agriculture Organization*) recomenda que a dose tolerável de cádmio no organismo não ultrapasse 1 µg kg⁻¹ do peso corpóreo por dia. A Portaria 2914 do Ministério da Saúde no Brasil estipula o limite máximo de 5 µg L⁻¹ (Portaria 2914, Ministerio da Saúde, 2011) para Cd em água potável.

Segundo a NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (1996), citada por HAJIAGHABABAEI et al. (2011), seres humanos absorvem uma média diária de cerca de 0,15 µg de cádmio por inalação e 1 µg por ingestão de água e, tomando-se por base um consumo de 20 cigarros/dia o teor inalado pode subir para 2-4 µg. Contudo, estes valores são apenas uma referência e podem variar bastante.

Assim considerando-se a contaminação pelo cádmio, mesmo em concentrações da ordem de traços, e tendo em vista os efeitos que o mesmo pode causar à saúde humana, faz-se necessário a quantificação deste elemento em diferentes matrizes.

Desta forma a etapa de pré-concentração usando polímero impresso para Cd(II), é importante, pois pode melhorar a detectabilidade por TS-FF-AAS permitindo assim o monitoramento do Cd mesmo que em baixas concentrações.

2 - PARTE EXPERIMENTAL

2.1 - Instrumentação

O sistema de injeção em fluxo foi composto por uma bomba peristáltica Ismatec (IPC-08, Glattzburgg, Suíça) de 8 canais, tubos de Tygon[®] e tubos de polietileno com diâmetro interno de 0,8 mm. Para as etapas de pré-concentração/eluição foi usado um injetor 2:3:2 de acrílico. A mini-coluna de IIP de 3,5 cm de comprimento e 0,4 cm de diâmetro interno foi preenchida com 100 mg de material.

Para as medidas da absorbância (altura de pico) foi usado um espectrofotômetro de absorção atômica (Thermo Scientific iCE 3000, EUA); um tubo de níquel (J&J Ethen, Aachen, Alemanha) de 6,7 cm de comprimento e 1,0 cm de diâmetro interno e um capilar de cerâmica (Friatec, Mannheim, Alemanha) de 10 cm de largura e 0,5 mm de diâmetro de modo a formar o

thermospray. Na Tabela 3.1 é mostrada as condições da absorção atômica para determinação de cádmio usando TS-FF-AAS.

TABELA 3.1- Parâmetros instrumentais para determinação de Cd(II) usando TS-FF-AAS (de OLIVEIRA et al., 2014).

vazão de fluxo (mL min ⁻¹)	1,0
tipo de chama	ar/acetileno
vazão de acetileno/ar sintético (mL min ⁻¹)	1,2
tempo de leitura (s)	80
resolução espectral (nm)	0,5
corrente da lâmpada (mA)	10
comprimento de onda (nm)	228,8

A digestão das amostras foi realizada usando um forno de microondas fechado (Milestone, Soristole, Itália). O pH das amostras foi medido com um pH-metro Metrohm 826 digital (Herisau, Suíça).

2.2 - Reagentes e soluções

Todas as soluções foram preparadas com água desionizada obtida de um sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, EUA). As vidrarias foram mantidas em banho de HNO₃ 10% (v/v) por 24 horas. As soluções de cádmio foram preparadas a partir de um padrão de 1000 mg L⁻¹ (Merck, Darmstadt, Alemanha). Os concomitantes utilizados para o estudo de interferentes foram preparados pela diluição de seus respectivos padrões (Merck, Darmstadt, Alemanha). EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético do inglês, *ethylenediamine tetraacetic acid* (Vetec, Brasil) e DMG (dimetilglioxima) (Vetec, Brasil) foram usados para correção da interferência de Ni(II). Para a

digestão das amostras foi usado HNO_3 (Merck, Darmstadt, Alemanha) e H_2O_2 (Merck, Darmstadt, Alemanha).

2.3 - Preparo das amostras

As amostras (cigarro, chá preto, chá verde e cabelo) e material de referência DORM-2 foram pesadas (0,500 g) e solubilizadas em 10 mL de HNO_3 concentrado e 4 mL de H_2O_2 30% (v/v). A mistura foi mantida em repouso por 1 hora e digerida a seguir, o programa de aquecimento usado foi descrito por TARLEY et al., 2006. Após a digestão as amostras foram transferidas para béqueres e aquecidas em chapa de aquecimento até quase seca, após o pH das mesmas foi ajustado com tampão fosfato $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, pH=5,8 (dihidrogenofosfato de sódio e ajustado com NaOH). A amostra de bijuteria foi dissolvida em chapa de aquecimento com HNO_3 14 mol L^{-1} até a seca solubilizada com água, sendo o pH ajustado com solução tampão fosfato $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, pH=5,8. Todas as amostras foram avolumadas para balão de 50 mL.

2.4 - Síntese do IIP-Cd

O polímero impresso para Cd(II) foi sintetizado via *bulk* (SEGATELLI et al., 2010; ALIZADEH & AMJADI, 2011). Na primeira etapa 3 mmol de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ foram dissolvidos em 2,5 mL de acetonitrila, em seguida foram adicionados 12 mmol de ácido metacrílico e 10 mmol de vinilimidazol. A reação foi mantida em agitação por cerca de 30 minutos. Na segunda etapa 42 mmol de EGDMA (etileno glicol de metacrilato) e 40 mg de AIBN (2,2 azobisisobutironitrila) e mais 2,5 mL de acetonitrila foram adicionados. Durante toda a síntese a temperatura ficou em torno de 70°C a síntese foi purgada com N_2 , e a reação se deu em um sistema fechado, um balão de 3 vias sob refluxo. Após a

polimerização o IIP-Cd foi macerado e peneirado (180 μm) sendo a seguir lavado com HNO_3 2 mol L^{-1} para remoção do template. Na Figura 3.1 é mostrado o esquema de síntese do polímero impresso para Cd(II).

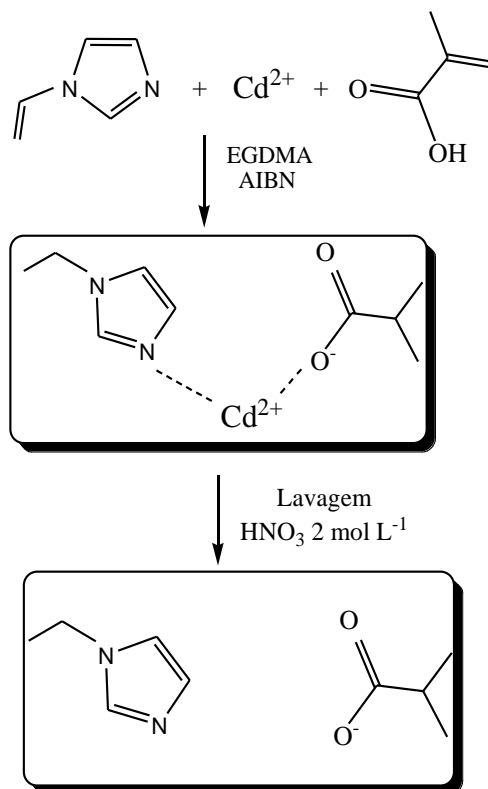


FIGURA 3.1- Esquema de síntese para IIP-Cd.

2.5 - Sistema FIA-TS-FF-AAS

Na Figura 3.2 é mostrado o diagrama de fluxo FIA-TS-FF-AAS proposto para o método (TARLEY et al., 2006). Na etapa de pré-concentração 10 mL da amostra em tampão fosfato 0,01 mol L^{-1} pH = 5,8 (dihidrogenofosfato de sódio e ajustado com NaOH) foi aspirada e percolada pela mini-coluna. Em seguida o eluente (HNO_3 4,8 mol L^{-1}) foi passado pela mini-coluna para a retirada do analito para a leitura no TS-FF-AAS. O tempo estimado para pré-concentração é de 60 segundos e para leitura 80 segundos.

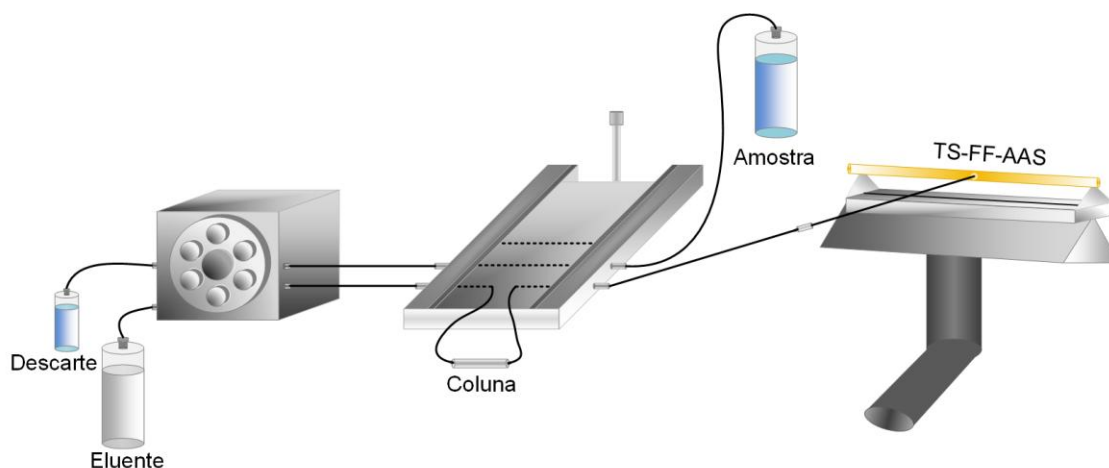


FIGURA 3.2- Diagrama FIA para pré-concentração e determinação de Cd(II).
Amostra: 10 mL min⁻¹; HNO₃: 1 mL min⁻¹.

2.6 - Otimização do método

A concentração do eluente (HNO₃) do tampão fosfato e o pH foram avaliados usando planejamento fatorial completo 2³ (Tabela 3.2) (ROUX et al., 2008). De acordo com WANG e LIU, 2014 a massa de IIP para preenchimento da mini-coluna foi de 100 mg.

Após a realização da triagem (planejamento fatorial), os parâmetros (pH, concentrações do tampão e eluente) foram otimizados usando matriz de Doehlert (Tabela 3.3). Todos os experimentos foram realizados preconcentrando 10 mL de amostra sendo a concentração da solução de cádmio igual a 50 µg L⁻¹.

2.7 - Avaliação da seletividade do método

Para avaliar a interferência de possíveis concomitantes na determinação de Cd(II), foi comparado o sinal analítico da solução de Cd(II) com o que apresentava o íon concomitante. Assim foram preparadas misturas binárias contendo o analito (10 µg L⁻¹)/interferente. Os interferentes estudados

foram: Pb^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Al^{3+} e Zn^{2+} nas proporções 1/1, 1/5 e 1/10 (analito/interferente).

3 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 - Otimização do sistema FIA-TS-FF-AAS

Na primeira etapa do procedimento de otimização do sistema FIA-TS-FF-AAS foi realizada uma triagem dos fatores usando planejamento fatorial completo 2^3 . A Tabela 3.2 apresenta os níveis dos fatores estudados bem como os ensaios e resultados. Os ensaios foram realizados em duplicata e aleatoriamente. A Figura 3.3 mostra o diagrama de pareto ($t=95\%$) para os fatores estudados.

TABELA 3.2- Fatores, níveis e resultados do planejamento fatorial 2^3 .

Fatores	Níveis				
	mínimo (-)	máximo (+)			
pH	5,0 ^a	8,0 ^b			
CT (mol L ⁻¹)	0,01	0,5			
CE* (mol L ⁻¹)	0,5	1,0			
Ensaio	pH	CT	CE	Absorbância	
1	-	-	-	0,860/0,881	
2	+	-	-	0,590/0,503	
3	-	+	-	0,542/0,530	
4	+	+	-	0,610/0,620	
5	-	-	+	0,870/0,891	
6	+	-	+	0,400/0,410	
7	-	+	+	1,322/1,321	
8	+	+	+	0,551/0,580	

^atampão ácido acético/acetato de sódio; ^btampão borato; *HNO₃; CT: concentração do tampão; CE: concentração do eluente.

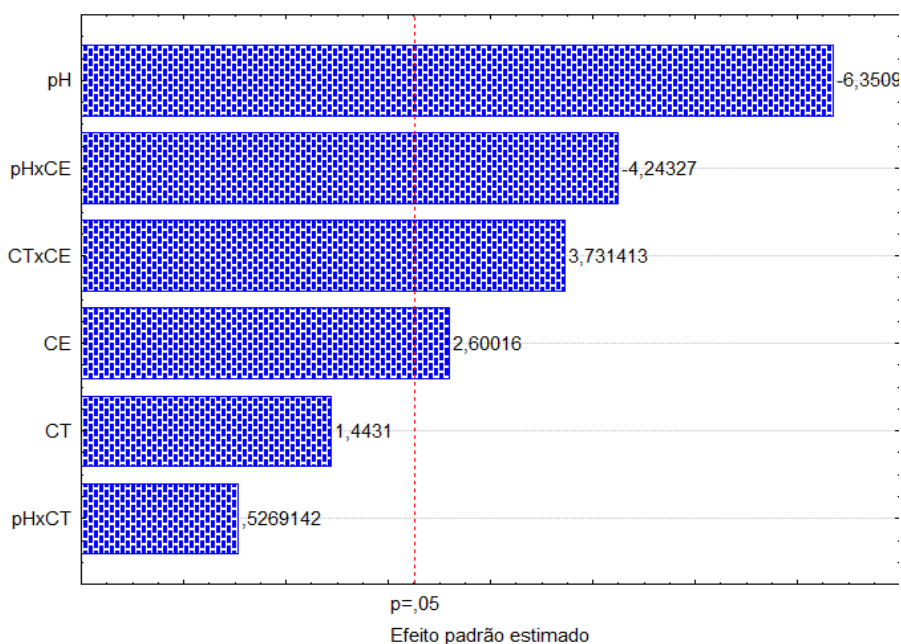


FIGURA 3.3- Diagrama de Pareto para os fatores estudados. Nível de confiança de 95%. CT: concentração do tampão; CE: concentração do eluente.

Pela análise do Pareto apresentada na Figura 3.3 nota-se que o pH foi o fator mais significativo apresentando efeito negativo (-6,4134), indicando que níveis de pH inferiores favorecem a adsorção. De fato em meio alcalino pode ocorrer a formação de hidróxido de cádmio ($K_{ps} = 4,5 \times 10^{-15}$) diminuindo a disponibilidade de Cd(II) para a adsorção pelo IIP (SKOOG et al., 1999). Em contrapartida, em meio muito ácido os sítios de adsorção do IIP podem estar protonados, o que dificulta o processo de pré-concentração.

A concentração do eluente (CE), HNO_3 , apresentou efeito positivo (2,1378), ou seja, o aumento do sinal analítico é proporcional à concentração do ácido. Como a adsorção ocorre por troca iônica, concentrações hidrogeniônicas maiores favorecem a eluição do analito (BARBOSA et al., 2007). A concentração do tampão (CT) não foi significativa, e em consequência a mesma foi mantida em $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, uma vez que concentrações maiores aumentam a força iônica e dificultam o processo de adsorção (do LAGO et al., 2012).

A otimização final dos fatores pH e CE foi realizada através de planejamento Doehlert (Tabela 3.3) e os pontos de ótimo obtidos pela metodologia de superfície de resposta (Figura 3.4).

TABELA 3.3- Planejamento Doehlert para otimização do sistema de pré-concentração *on-line* de Cd(II) usando IIP-AM/VI como sorvente sólido.

Ensaio	Fatores		Absorbância (altura de pico)
	pH	*CE (mol L ⁻¹)	
1	5,0	0,5	1,240/1,260/1,260
2	7,0	0,5	1,160
3	6,0	0,75	1,120
4	3,0	0,5	0,172
5	4,0	0,25	0,600
6	6,0	0,25	1,150
7	4,0	0,75	0,660

*CE: concentração do eluente. pH 3,0; 4,0 e 5,0 tampão acetato de sódio/ácido acético 0,01 mol L⁻¹; pH 6,0 e 7,0 tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹.

No planejamento Doehlert o modelo quadrático foi construído com a equação (3.1):

$$\text{Absorbância} = 4,683 + 1,733pH - 0,146pH^2 + 3,740CE - 3,554CE^2 - 0,020pH.CE$$

Equação (3.1)

A Figura 3.4 mostra a superfície de resposta que relaciona a concentração do eluente (CE), pH com a resposta analítica (absorbância). O ótimo experimental obtido foi 5,8 para o pH de adsorção e 0,48 mol L⁻¹ para a concentração do eluente.

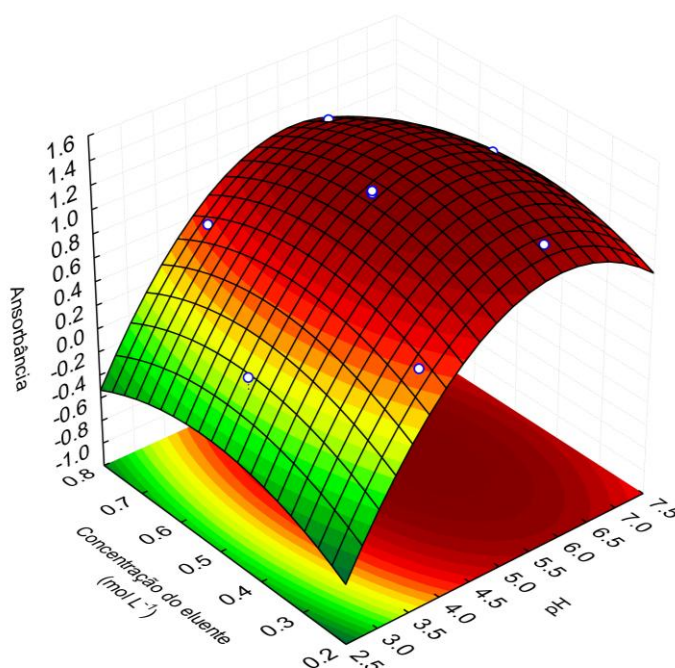


FIGURA 3.4- Superfície de resposta relacionando pH, concentração do eluente (CE), e absorbância. A concentração do tampão foi mantida em $0,01 \text{ mol L}^{-1}$.

3.2 - Seletividade do método FIA-TS-FF-AAS

Pela análise da Figura 3.5 observa-se que o Ni(II) interferiu negativamente na adsorção de Cd(II), quando na proporção de 1/5. Este fato pode ser explicado pela semelhança dos dois íons, em termos de relação entre o raio iônico e a carga, motivando uma possível adsorção do níquel pelo IIP e diminuindo a quantidade de sítios de adsorção disponíveis. Foi adotado como padrão de interferência, a observância de modificações no sinal analítico em $\pm 10\%$. A fim de sanar a interferência de Ni(II) na determinação do cádmio foi realizado uma pré-lavagem da mini-coluna de IIP com EDTA ($0,001 \text{ mol L}^{-1}$, pH 3,5) (SKOOG et al., 1999) e também com DMG ($0,050 \text{ mol L}^{-1}$, pH 6,5) (ALI et al., 1999). Em seguida a eluição foi feita com HNO_3 ($0,48 \text{ mol L}^{-1}$) e o cádmio foi determinado. Na Figura 3.6 é apresentado os resultados dos experimentos para ambos os complexantes atestando o sucesso na correção da interferência do Ni(II) no processo de pré-concentração de Cd(II). Esta

alternativa pode ser utilizada se o níquel estiver presente em concentrações elevadas nas amostras.

Para as amostras analisadas neste trabalho não foi necessário empregar esta correção uma vez que os teores de níquel estavam abaixo da proporção crítica estabelecida (1/5) (NOOKABKAEW et al., 2006; ÖZCAN et al., 2008; AFRIDI et al., 2006, 2013).

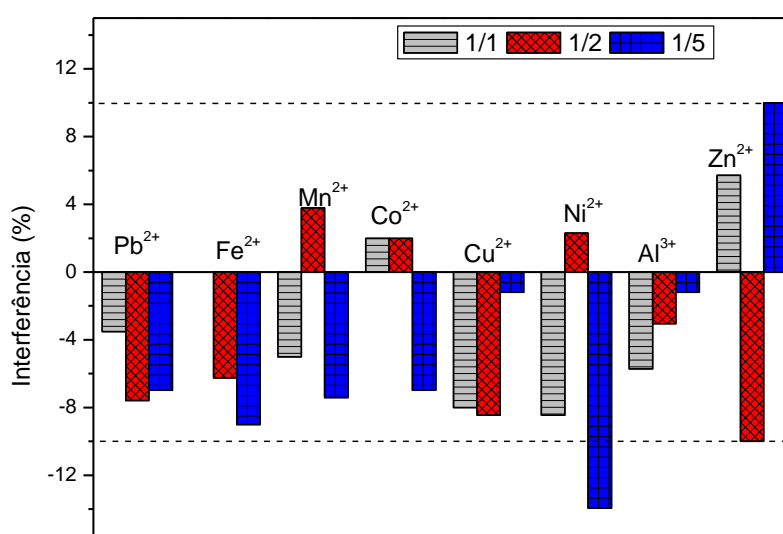


FIGURA 3.5- Efeito de íons interferentes na recuperação do sinal analítico para Cd(II).

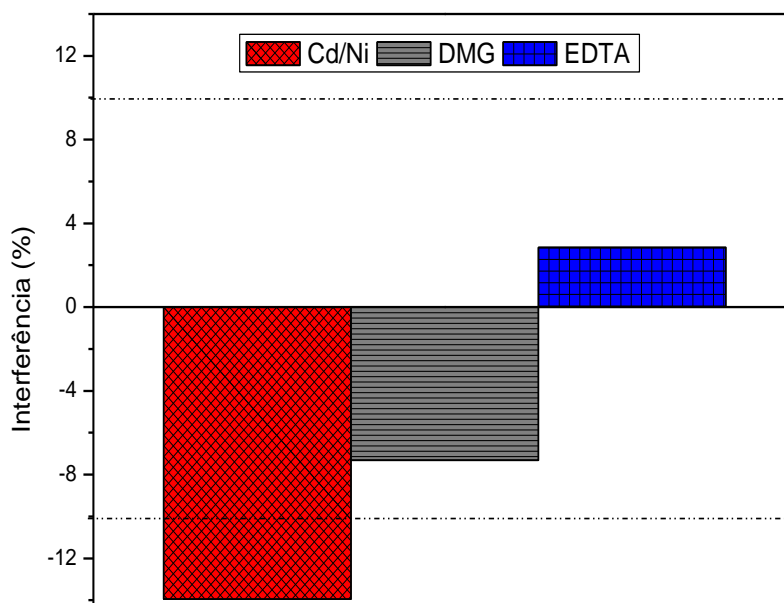


FIGURA 3.6- Correção da interferência de Ni(II) na determinação de Cd(II). Cd/Ni (1/10).

3.3 - Validação e aplicação do método

O método desenvolvido apresentou faixa de detecção analítica de 0,081 a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$, $[\text{Abs} = 0,033[\text{Cd}^{2+} \mu\text{g L}^{-1}] + 0,0081]$, limite de detecção e quantificação de 24 e 81 ng L^{-1} . Fator de pré-concentração igual a 165, índice de consumo (IC) de 0,06 mL, eficiência de concentração (EC) de 165 e frequência de medidas de 25 análises h^{-1} .

Na Tabela 3.4 é mostrada a aplicação do método em amostras, bem como os testes de adição e recuperação com valores na faixa de 94-106%, demonstrando a viabilidade da aplicação do método em diferentes matrizes quanto a esta figura de mérito. A exatidão do método foi verificada pela análise do material de referência certificado DORM-2 cuja concentração para Cd(II) é $0,040 \pm 0,010 \text{ mg kg}^{-1}$ e o valor encontrado em triplicata foi $0,043 \pm 0,008 \text{ mg kg}^{-1}$.

¹ estando em concordância com o valor de referência com nível de confiança de 95% (*teste t para comparação de médias*).

Na Tabela 3.5 é mostrada a comparação do método proposto com alguns trabalhos relatados na literatura para determinação de Cd(II). Cabe salientar que o método desenvolvido apresenta vantagens em relação aos demais, como baixo consumo de amostra, alto fator de pré-concentração e principalmente limite de detecção menor. Para amostras com baixa concentração de cádmio é ainda possível melhorar o limite de detecção, aumentando o volume de pré-concentração, como mostrado na Figura 3.7, que relaciona o sinal analítico com o volume de amostragem. Para um volume de 70 mL de amostra pré-concentrada tem-se um aumento de sinal de aproximadamente 10 vezes quando em comparação a um volume de amostra de 10 mL.

TABELA 3.4- Determinação e recuperação de Cd(II) em diferentes amostras.

Amostras	Concentração de Cd(II) adicionada ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Concentração de ^a Cd(II) encontrada ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Recuperação (%)
Bijuteria	0	$2,38 \pm 0,28$	-
	50	$55,48 \pm 0,24$	106,0
Chá preto	0	$1,09 \pm 0,15$	-
	50	$51,19 \pm 0,12$	100,2
Chá verde	0	$3,85 \pm 0,13$	-
	50	$54,24 \pm 0,19$	100,8
Cigarro	0	$38,37 \pm 0,22$	-
	50	$86,02 \pm 0,20$	95,3
Cabelo	0	$0,35 \pm 0,02$	-
	50	$49,86 \pm 0,11$	99,0

^aResultados expressos como média \pm DP (desvio padrão) ($n=3$).

TABELA 3.5- Características analíticas de métodos reportados na literatura para pré-concentração de Cd(II).

Sorvente	Técnica	Aplicação	VP (mL)	FP	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Referência
$\text{SiO}_2/\text{MnO}_x$	FAAS	água e material biológico	20	39,4	0,20	1-50	LIMA et al., 2013
IIP funcionalizado com CMCS	FAAS	Água	10	257	1,8	-	LÜ et al., 2013
poliestireno clorometilado funcionalizado com NAPdein	FAAS	Água	10	50	0,25	1,0-30,0	CHAMJANGALI et al., 2010
IIP -4VP	FAAS	Água	16	117	0,11	1-10	GAWIN et al., 2010
Fibra de sisal revestida com TAR	FAAS	água potável	50	30	0,08	0,1-800	DIAZ et al., 2013
Ligante combinado Com nanopartículas de Fe_3O_4	FAAS	água e solo	10	-	0,15	100-1000	JALBANI e SOYLAKA, 2014
Sílica modificada magneticamente	FAAS	água e solo	1000	250	0,11	0,5-400	SULEIMAN et al., 2008
nano composite material ($\text{B}_2\text{O}_3/\text{TiO}_2$)	FAAS	água e chá	50	50	1,44	4,32-216	KALFA et al., 2009
IIP (AM/VI) Cd	TS-FF-AAS	bijuteria, chá preto e verde, cabelo, cigarro	10	165	0,024	0,1-10	Este trabalho

VP =volume de pré-concentração; FP = fator de pré-concentração; LD = limite de detecção.

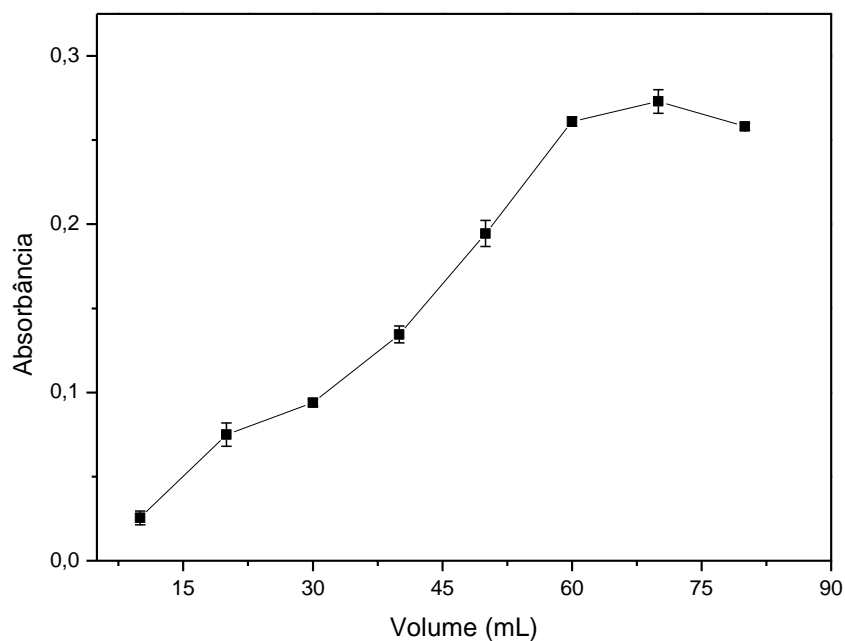


FIGURA 3.7- Absorbância *versus* volume de amostra. Concentração de Cd(II) $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$.

4 - CONCLUSÕES

O método desenvolvido apresentou as seguintes figuras de mérito: fator de pré-concentração igual a 165, faixa de resposta analítica de $0,081$ a $10 \mu\text{g L}^{-1}$, frequência de medidas de 26 medidas h^{-1} , e limite de detecção igual a 24ng L^{-1} . Em vista destas características o método foi utilizado para determinação de cádmio em diferentes matrizes com resultados satisfatórios. Quando comparado aos trabalhos reportados na literatura para determinação de Cd(II) o método proposto apresenta LD da ordem de ng L^{-1} , o que viabiliza a utilidade do método para determinação de baixas concentrações de cádmio.

5 - CONCLUSÃO GERAL

Esta tese descreveu a síntese de polímeros impressos via *bulk* e sol gel para pré-concentração de Se, U e Cd, usando detecção por HG-FAAS, UV-Vis e TS-FF-AAS. Para todos os métodos foi usado sistema FIA, que possibilitou economia de reagentes, e rapidez nas análises. A otimização multivariada facilitou a análise experimental bem, como o encontro dos pontos de ótimo.

A detecção de Se(0) usando AIP e HG-AAS possibilitou limite de detecção de 53 ng L^{-1} , o que viabilizou o uso do método para determinação de selênio em amostras alimentícias.

O urânio foi determinado por uma técnica simples e rotineira, o que permite que o método seja aplicado em indústrias onde umas das formas de detecção deste elemento é a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado. O método para urânio apresentou um limite de detecção de $0,40 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, sendo que este limite está abaixo dos teores para água potável recomendado pela Organização Mundial da Saúde.

A determinação de cádmio por TS-FF-AAS, possibilitou a determinação deste elemento em diversas matrizes, com limite de detecção de 24 ng L^{-1} .

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFRIDI, H. I.; KAZI, T. G.; JAMALI, M. K.; KAZI, G. H.; ARAIN, M. B.; JALBANI, N.; SHAR, G. Q. & SARFARAZ, R. A. "Evaluation of toxic metals in biological samples (scalp hair, blood and urine) of steel mill workers by electrothermal atomic absorption spectrometry". *Toxicol. Ind. Health*, **22**: 381, 2006.

AFRIDI, H. I.; KAZI, T. G.; TALPUR, F. N.; BRABAZON, D. & NAHER, S. "Estimation of toxic elements in the samples of different cigarettes and their impact on human health of Irish hypertensive consumers". *Clin. Chim. Acta*, **426**: 51, 2013.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). Toxicological Profile for Uranium. Department of health and human services, Public health service, Atlanta, 1999. p. 7.

AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). Toxicological Profile for Selenium. Department of health and human services, Public health service, Atlanta, 2003. p. 14.

AGRAWAL, K.; PATEL, K. S. & SHIVAS, K. "Development of surfactant assisted spectrophotometric method for determination of selenium in waste water samples". *J. Hazard. Mater.*, **161** :1245, 2009.

AHMADI, S. J.; NOORI-KALKHORANB, O. & SHIRVANI-ARANIA, S. "Synthesis and characterization of new ion-imprinted polymer for separation and preconcentration of uranyl (UO_2^{2+}) ions". *J. Hazard. Mater.*, **175**: 193, 2010.

AJTONY, Z.; SZOBOSZLAI, N.; BELLA, Z.; BOLLA, S.; SZAKÁL, P. & BENCS, L. "Determination of total selenium content in cereals and bakery products by flow injection hydride generation graphite furnace atomic absorption spectrometry applying in-situ trapping on iridium-treated graphite platforms". *Microchim. Acta*, **150**: 1, 2005.

ALI, A.; YE, Y.; XU, G.; YIN, X. & ZHANG, T. "Determination of nickel after online sorbent preconcentration by fi-faas using dimethylglyoxime as a complexing agent". *Microchem J.*, **63**: 365, 1999.

ALIZADEH, T. & AMJADI, S. J. "Preparation of nano-sized Pb^{2+} imprinted polymer and its application as the chemical interface of an electrochemical

sensor for toxic lead determination in different real samples”. *J Hazard. Mater.*, **190**: 451, 2011.

ALOTHMAN, Z. A.; YILMAZ, E.; HABILA, M. & SOYLAK, M. “Solid phase extraction of metal ions in environmental samples on 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol impregnated activated carbon cloth”. *Ecotox. Environ. Safe.*, **112**: 74, 2015. *Arab.J.Chem.doi:10.1016/j.arabjc.2013.09.017* .

ARMENTA, S.; GARRIDES, S. & de la GUARDIA, M. “Green Analytical Chemistry”. *Trends Anal. Chem.*, **27**: 497, 2008.

ARPA, S. C. & DURUKAN, I. “Ligandless-solidified floating organic drop microextraction method for the preconcentration of trace amount of cadmium in water samples”. *Talanta*, **85**: 657, 2011.

BARBOSA, A. F.; SEGATELLI, M. G.; PEREIRA, A. C.; SANTOS, de SANTANA, A. C. A.; KUBOTA, L. T.; LUCCAS, P. O. & TARLEY, C. R. T. “Solid-phase extraction system for Pb (II) ions enrichment based on multiwall carbon nanotubes coupled on-line to flame atomic absorption spectrometry. *Talanta*, **71**: 1512, 2007.

BARCIELA-ALONSO, M. C. ; PLATA-GARCIA, V. ; ROUCO-LÓPEZ, A. ; MOREDA- PIÑEIRO, A. & BERMEJO-BARRERA, P. “Ionic imprinted polymer based solid phase extraction for cadmium and lead pre-concentration/determination in seafood”. *Microchem. J.* **114**: 106, 2014.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I, S. & BRUNS, R. E. Como Fazer Experimentos. 3a. ed. Unicamp, Campinas, 2007.

BEHBAHANI, M.; BAGHERI, A.; TAGHIZADEH, M.; SALARIAN, M.; SADEGHI, O.; ADLNASAB, L. & JAJALI, K. “Synthesis and characterisation of nano structure lead (II) ion-imprinted polymer as a new sorbent for selective extraction and preconcentration of ultra trace amounts of lead ions from vegetables, rice, and fish samples”. *Food. Chem.*, **138**: 2050, 2013.

BEHBAHANI, M.; SALARIAN, M.; BAGHERI, A.; TABANI, H.; OMIDI, F. & FAKHARI, A. “Synthesis, characterization and analytical application of Zn(II)-imprinted polymer as an efficient solid-phase extraction technique for trace determination of zinc ions in food samples”. *J. Food Comp. Anal.* **34**: 81, 2014.

BEIST, B. & MIKULA, B. “Preconcentration of heavy metals on activated carbon and their determination in fruits by inductively coupled plasma optical emission spectrometry”. *Food Chem.*, **147**: 302, 2014.

BEIST, B. & MIKULA, B. "Preconcentration of some metal ions with lanthanum-8-hydroxyquinoline co-precipitation system, *Food Chem.* **147**: 225, 2014.

BELTRAN, A.; BORRULL, F.; CORMACK, P. A. G. & MARCÉ, R. M. "Molecularly-imprinted polymers: useful sorbents for selective extractions". *Trends Anal. Chem.*, **29**: 1363, 2010.

BHALARA, P. D.; PUNETHA, D. & BALASUBRAMANIAN, K. "A review of potential remediation techniques for uranium(VI) ion retrieval from contaminated aqueous environment". *J. Environ. Chem. Eng.*, **2**: 1621, 2014.

BOUNOR-LEGARÉ, V. & CASSAGNAU, P. "In situ synthesis of organic–inorganic hybrids ornanocomposites from sol–gel chemistry in molten polymers". *Prog. Polym. Sci.*, **39**: 1473, 2014.

BRANGER, C.; MEOUCHE, W. & MARGAILLAN, A. "Recent advances on ion-imprinted polymers". *React. Func. Polym.*, **73**: 859, 2013.

BULUT, V. N.; ARSLAN, D.; OZDES, D.; SOYLAK, M. & TUFEKCI, M. "Preconcentration, separation and spectrophotometric determination of aluminium(III) in water samples and dialysis concentrates at trace levels with 8-hydroxyquinoline–cobalt(II) coprecipitation system". *J. Hazard. Mater.*, **182**: 331, .2011.

CALLAO, M. P. "Multivariate experimental design in environmental analysis". *Trends Anal. Chem.*, **62**: 86, 2014.

CAMEL, V. "Solid phase extraction of trace elements: review". *Spectrochim. Acta Part B*, **58**: 1177, 2003.

CARSON, M. C. "Ion-pair solid-phase extraction". *J. Chromatogr. A*, **885**: 343, 2000.

CARVALHO, M. S.; DOMINGUES, M. de LOUDES, F.; MANTOVANO, J. L. & S. FILHO, E. Q. "Uranium determination at ppb levels by X-ray fluorescence after its preconcentration on polyurethane foam". *Spectrochim. Acta Part B*, **53**: 1945, 1998.

CHAMJANGALI, M. A. ; FAROOJI, S. T. & BAHRAMIAN, B. "Application of chloromethylated polystyrene functionalized with N,N bis(naphthylideneimino)diethylenetriamine in an on-line preconcentration

system for the determination of cadmium by FAAS". *J. Hazard. Mater.* : **174** 843, 2010.

CHAVES, R. C. & QUEIROZ, M. E. C. "Stir-bar sorptive extraction for drugs analysis in biological fluids". *Quim. Nova*, **31**: 1814, 2008.

CHEN, L.; XUAB, S. & LI, J. "Recent advances in molecular imprinting technology: current status, challenges and highlighted applications". *Chem. Soc. Rev.*, **40**: 2922, 2011.

CINDRIC, I. J.; ZEINER, M.; KRÖPPL, M. & STINGEDER, G. "Comparison of sample preparation methods for the ICP-AES determination of minor and major elements in clarified apple juices". *Microchem. J.* ,99: 364, 2011.

COELHO N. M. M. & BACCAN, N. "Determinação de ultratraços de selênio em urina por geração de hidretos e espectrometria de absorção atômica em fluxo". *Eclet. Quim.*, **29**: 7, 2004.

COLLINSON, M. M. "Analytical applications of organically modified silicates". *Microchim. Acta*, **129**: 149, 1998.

COLLINSON, M. M. "Recent trends in analytical applications of organically modified silicate materials". *Trends Anal. Chem.*, **21**: 30, 2002.

CORAZZA, M. Z. ; SOMERA, B. F. ; SEGATELLI, M. G. & TARLEY, C. R. T. "Grafting 3-mercaptopropyl trimethoxysilane on multi-walled carbon nanotubes surface for improving on-line cadmium(II) preconcentration from water samples." *J. Hazard. Mater.* 243 : **326**, 2012.

CORMACK, P. A. G. & ELORZA, A. Z. "Molecularly imprinted polymers: synthesis and characterization". *J. Chromatogr.B*, **804**: 173, 2004.

CRAFT, E. S.; ABU-QARE, A. W.; FLAHERTY, M. M.; GAROFOLO, M. C.; RINCAVAGE, H. L. & ABOU-DONIA, M. B. "Depleted and natural uranium: chemistry and toxicological effects". *J. Toxicol. Environ. Health. Part B*, **7**: 297, 2004.

DADFARNIA, S.; HAJI, A. M. & KAMRANZADEH, E. "Separation/preconcentration and determination of cadmium ions by solidification of floating organic drop microextraction and FI-AAS". *Talanta*, **79**: 1061, 2009.

DADFARNIA, S.; SHABANI, A. M. H.; SHAKERIAN, F. & ESFAHANI, G. S. "Combination of solid phase extraction and dispersive liquid-liquid

microextraction for separation/preconcentration of ultra trace amounts of uranium prior to its fiber optic-linear array spectrophotometry determination". J. Hazard. Mater., **263** :670, 2013.

DAKOVA, I.; KARADJOVA, I.; GEORGIEVA, V. & GEORGIEV, G. "Ion-imprinted polymethacrylic microbeads as new sorbent for preconcentration and speciation of mercury". Talanta, **78**: 523, 2009.

de LIMA, G. C.; do LAGO, A. C.; CHAVES, A. A. FADINI, P. S. & LUCCAS, P. O. "Determination of selenium using atomically imprinted polymer (AIP) and hydride generation atomic absorption spectrometry". Anal. Chim. Acta, **768**: 35, 2013.

de OLIVEIRA, F. M.; MARCHIONI, C.; BARROS, J. A. V. de Almeida, do LAGO, A. C.; WISNIEWSKI, C. & LUCCAS, P. O. "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". Anal. Chim. Acta, **809**: 82, 2014.

de PAIVA, A. L.S. F.; do LAGO, A. C.; de LIMA, G. C.; WISNIEWZKI, C.; de MAGALHÃES, C. S. & LUCCAS, P. O. "Some aspects of selenium determination employing solid-phase extraction and atomic absorption spectrometry". Selenium: Chemistry, Analysis, Function and Effects. THE ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY (Ed.), 2015 *no prelo*.

de SOUZA, A. L.; COTRIM, M. E. B. & PIRES, M. A. F. "An overview of spectrometric techniques and sample preparation for the determination of impurities in uranium nuclear fuel grade". Microchem. J., **106**: 194, 2013.

DIAS, de SOUZA, F.; BONSUCESSO, J. S.; ALVES, L. S.; da SILVA FILHO, D. C.; COSTA, A. C. S. & dos SANTOS, W. N. L. "Development and optimization of analytical method for the determination of cadmium from mineral water samples by off-line solid phase extraction system using sisal fiber loaded TAR by FAAS". Microchem. J., **106**: 363, 2013.

DÍAZ-GARCÍA, M. E. & LAÍNÑO R. B. "Molecular imprinting in sol-gel materials: recent developments and applications". Microchim. Acta, **149**: 19, 2005.

DICKEY, F. H. "The preparation of specific adsorbents". Proc. Natl. Acad. Sci., **35** (5): 227, 1949.

DINIZ, K. M., SEGATELLI, M. G. & TARLEY, C. R. T.. “Synthesis and adsorption studies of novel hybrid mesoporous copolymer functionalized with protoporphyrin for batch and on-line solid-phase extraction of Cd²⁺ ions”. *React. Funct. Polym.*, **73**: 838, 2013.

do LAGO, A. C.; LIMA, G. F., SEGATELLI, M. G. & TARLEY, C. R. T. “Highly Sensitive UO₂²⁺. Ion preconcentration method based on flow sorbent extraction using multiwall carbon nanotubes. *Inter. J. of Environ. Anal. Chem.*, **92**: 767, 2012.

do SANTOS, W. N. L.; SANTOS, C. M. C. & FERREIRA, S. L. C. “Aplication of three-variables Doehlert matrix for optimization of an on-line pre-concentration system for zinc determination in natural water samples by flame atomic absorption spectrometry”. *Microchem. J.*, **75**: 211, 2003.

DOMINGO, J. L. “Reproductive and developmental toxicity of natural and depleted uranium: a review”. *Reprod. Toxicol.*, **15**: 603, 2001.

DURDURAN, E.; ALTUNDAG, H.; IMAMOGLU, M.; YILDIZ, S. Z. & TUZEN, M. “Simultaneous ICP-OES determination of trace metals in water and food samples after their preconcentration on silica gel functionalized with N-(2-aminoethyl)-2,3-dihydroxybenzaldimine”. *J. Ind. Eng. Chem.* doi:10.1016/j.jiec.2014.12.041, 2015.

EBRAHIMZADEH, H. & BEHBAHANI, M. “A novel lead imprinted polymer as the selective solid phase for extraction and trace detection of lead ions by flame atomic absorption spectrophotometry: synthesis, characterization and analytical application”. *Electrochim. Acta*, **47**: 3663, 2002.

EL-SHEIKH, A. H.; SWEILEH, J. A. & AL-DEGS, Y. S. “Effect of dimensions of multi-walled carbon nanotubes on its enrichment efficiency of metal ions from environmental waters”. *Anal. Chim. Acta.*, **604**: 119, 2007.

ES'HAGHI, Z.; KHALILI, M.; KHAZAEIFAR, A. & ROUNAGHI, G. H. “Simultaneous extraction and determination of lead, cadmium and copper in rice samples by a new pre-concentration technique: Hollow fiber solid phase microextraction combined with differential pulse anodic stripping voltammetry”. *Electrochim. Acta*, **56**: 3139, 2011.

ESCUADERO, L. A.; CERUTTI, S.; MARTINEZ, L. D.; SALONIA, J. A. & GASQUEZ, J. A. “On-line preconcentration of zinc on ethyl vinyl acetate prior to its determination by CVG-ICP-OES”. *Microchem. J.*, **106**: 34, 2013.

EZODDIN, M.; SHEMIRANI, F.; ABDI, Kh, SAGHEZCHI, M. K. & JAMALI, M. R. "Application of modified nano-alumina as a solid phase extraction sorbent for the preconcentration of Cd and Pb in water and herbal samples prior to flame atomic absorption spectrometry determination". *J. Hazard. Mater.* **178**: 900, 2010.

FANG, Z. *Flow Injection Separation and Preconcentration*. Wiley (Ed), Nova York, 1993.

FARHADI, K., ABDOLLAHNEZHAD, N. & MALEKI, R. "Separation and preconcentration of uranium(VI) from aqueous samples using a surfactant-coated alumina modified with meloxicam". *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **88**: 725, 2008.

FERREIRA, S. L. C.; dos SANTOS, W. N. L.; QUINTELLA, C. M.; BARROS NETO, B. & BOSQUE-SENDRA, J. M. "Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry-review. *Talanta*, **63**: 1061, 2004.

FERREIRA, S. L. C.; de ANDRADE, J. B.; KORN, M. das GRAÇAS; PEREIRA, M. de G.; LEMOS, V. A.; dos SANTOS, W. N. L.; RODRIGUES, F. de MEDEIROS; SOUZA, A. S.; FERREIRA, H. S. & da SILVA, E. G. P. "Review of procedures involving separation and preconcentration for the determination of cadmium using spectrometric techniques". *J. Hazard. Mater.*, **145**: 358, 2007.

FIGUEIREDO, E. C.; de SOUZA, L. R.; de MAGALHÃES, C. S.; WISNIEWSKI, C. & LUCCAS, P. O. "A homemade autosampler/injector commutator for flow injection analysis". *J. Autom. Method. Manag. in Chem.*, **2006**: 1, 2006.

FIGUEIREDO, E. C.; DIAS, A. C. B. & ARRUDA, M. A. Z. "Impressão molecular: uma estratégia promissora na elaboração de matrizes para a liberação controlada de fármacos". *Rev. Bras. Cienc. Farm.*, **44** : 361, 2008.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION/WORLD HEALTH ORGANIZATION, FAO/WHO. *Evaluation of Certain Food Additives and the Contaminants Mercury, Lead, and Cadmium*. 16a report Joint expert committee on food additives, FAO Nutrition Meetings Series, No. 51, WHO Tech. Rep. Senal No. 505. 1972. p. 23.

GALUNIN, E.; FERRETI, J.; ZAPELINI, I.; VIEIRA, I.; TARLEY, C. R. T.; ABRÃO, T. & SANTOS, M. J. "Cadmium mobility in sediments and soils from a coal mining area on Tibagi River watershed: Environmental risk assessment". *J. Hazard. Mater.*, **265**: 280, 2014.

GAWIN, M.; KONEFAL, J.; TRZEWIK, B.; WALAS, S.; TOBIASZ, A.; MROWIEC, H. & WITEK, E. "Preparation of a new Cd(II)-imprinted polymer and its application to determination of cadmium(II) via flow-injection-flame atomic absorption spectrometry". *Talanta*, **80**: 1305, 2010.

GHAEDI, M.; NIKNAM, K.; ZAMANI, S.; LARKI, H. A.; ROOSTA, M. & SOYLAK, M. "Silica chemically bonded N-propyl kriptofix 21 and 22 with immobilized palladium nanoparticles for solid phase extraction and preconcentration of some metal ions". *Mater. Sci. Eng. C*, **33**: 3180, 2013.

GHASEMI, J. B. & ZOLFONOUN, E. "Simultaneous spectrophotometric determination of trace amounts of uranium, thorium, and zirconium using the partial least squares method after their preconcentration by alpha-benzoin oxime modified Amberlite XAD-2000 resin". *Talanta*, **80**: 1191, 2011.

GILMAN, A. P.; VILLENEUVE, D.C.; SECOURS, V.E.; YAGMINAS, A. P.; TRACY, B.L.; QUINN, J.M.; VALLI, V.E.; WILIEST, R.J. & MOSS, A. "Uranyl nitrate: 28-day and 91-day toxicity studies in the sprague-sawley rat¹". *Toxicol. Sci.*, **41**: 117, 1998.

GUPTA, R. & KUMAR, A. "Bioactive materials for biomedical applications using sol-gel technology". *Biomed. Mater.*, **3**: 1, 2008.

HAIAGHABABAEI, L.; BADIEI, A.; GANJALI, M. R.; HEYDARI, S.; KHANIANI, Y. & ZIARANI, G. M. "Highly efficient removal and preconcentration of lead and cadmium cations from water and wastewater samples using ethylenediamine functionalized SBA-15". *Desalination*, **266**: 182, 2011.

HAUPT, K. & MOSBACH, K. "Molecularly imprinted polymers in chemical and biological sensing". *Biochem. Soc. Trans.*, **27**: 433, 1999.

HE, C.; LONG, Y.; PAN, J.; LI, K. & LIU, F. "Application of molecularly imprinted polymers to solid-phase extraction of analytes from real samples". *J. Biochem. Biophys. Methods*, **70**: 133, 2007.

HIBBERT, D. B. "Experimental design in chromatography: a tutorial review". *J. Chromatogr. B*, **910**: 2, 2012.

HOSTEN, E. & WELZ, B. "Evaluation of an immobilised macrocyclic material for on-line column preconcentration and separation of cadmium, copper and lead for electrothermal atomic absorption spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, **392**: 55, 1999.

IEGGLI, C. V. S.; BOHRER, D.; NOREMBERG, S.; do NASCIMENTO, P.C.; de CARVALHO, L. M.; VIEIRA, S. L. & REIS, R. N. "Surfactant/oil/water system for the determination of selenium in eggs by graphite furnace atomic absorption spectrometry". *Spectrochim. Acta Part B*, **64**: 605, 2009.

IVARI, S. A. R.; DARROUDI, A.; ZAVAR, M. H. A.; ZOHURI, G. & ASHRAF, N. "Ion imprinted polymer based potentiometric sensor for the trace determination of cadmium (II) ions". *Arabian J. Chem.*, doi:10.1016/j.arabjc.2012.12.021, 2012.

IWASITA, T. "Electrocatalysis of methanol oxidation". *Eletrochim. Acta*, **47**: 3663, 2002.

IZGI, B.; GUCER, S. & JA'CI MOVI' C. "Determination of selenium in garlic (*Allium sativum*) and onion (*Allium cepa*) by electro thermal atomic absorption spectrometry". *Food Chem.*, **99**: 630, 2006.

JALBANI, N. & SOYLAKA, M. "Ligandless surfactant mediated solid phase extraction combined with Fe₃O₄ nano-particle for the preconcentration and determination of cadmium and lead in water and soil samples followed by flame atomic absorption spectrometry: multivariate strategy". *Ecotox. Environ. Safe.*, **102**: 174, 2014.

KALFA, O. M.; YALCMKAYA, Ö. & TÜRKER, A. R. J. "Synthesis of nano B₂O₃/TiO₂ composite material as a new solid phase extractor and its application to preconcentration and separation of cadmium". *J. Hazard. Mater.* **166**: 455, 2009.

KALYANA, Y.; PANDEY, A. K.; NAIDU, G. R. K. & REDDY, A. V. R. "Membrane optode for uranium(VI) ions preconcentration and quantification based on a synergistic combination of 4-(2-thiazolylazo)-resorcinol with 8-hydroxyquinaldine". *Spectrochim. Acta Part A*, **74**: 1235, 2009.

KARA, D., FISHER, A. & HILL, S. J. "Flow injection determination of aluminium by spectrofluorimetric detection after complexation with *N*-*o*-vanillidine-2-amino-*p*-cresol: the application to natural waters". *Anal. Chim. Acta*, **611**: 62, 2008.

KARADAS, C. & KARA, D.J. "On-line preconcentration and determination of trace elements in waters and reference cereal materials by flow injection-FAAS using newly synthesized 8-hydroxy-2-quinoline carboxaldehyde functionalized amberlite XAD-4". *Food Comp. Anal.* **32**: 90, 2013.

KASSEM, M. A. & AMIN, A. S. "Spectrophotometric determination of iron in environmental and food samples using solid phase extraction". *Food Chem.*, **141**: 1941, 2013.

KHAJEH, M.; YAMINI, Y.; GHASEMI, E.; FASIHI, J. & SHAMPISUR, M. "Imprinted polymer particles for selenium uptake: synthesis, characterization and analytical applications". *Anal. Chim. Acta*, **581**: 208, 2007.

KHAN, M. H., WARWICK, P. & EVANS, N. "Spectrophotometric determination of uranium with arsenazo-III in perchloric acid". *Chemosphere*, **63**: 1165, 2006.

KLASSEN, A.; KIM, M. L.; TUDINO, M. B.; BACCAN, N. & ARRUDA, M. A. Z. "A metallic furnace atomizer in hydride generation atomic absorption spectrometry: determination of bismuth and selenium". *Spectrochim. Acta Part B*, **63**: 850, 2008.

KRAWCZYK, M., JESZKA-SKOWRON, M. & MATUSIEWICZ, H. "Sequential multi-element determination of iron and zinc in water samples by high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry after column solid-phase extraction onto multiwalled carbon nanotubes". *Microchem. J.*, **117**: 138, 2014.

KRYSCIO, D. R. & PEPPAS, N. A. "Critical review and perspective of macromolecularly imprinted polymers". *Acta Biomaterialia*, **8**: 461, 2012.

KUMAR, A. R. & RIYAZUDDIN, P. "Chemical interferences in hydride-generation atomic spectrometry". *Trends Anal. Chem.*, **29**: 166, 2010.

LEMOS, V. A.; NOVAES, C. G.; LIMA, da SILVA, A. & VIEIRA, D. R. "Flow injection preconcentration system using a new functionalized resin for determination of cadmium and nickel in tobacco samples". *J. Hazard. Mater.*, **155**: 128, 2008.

LEMOS, V. A.; SANTOS, L. N. & BEZERRA, M. A. "Determination of cobalt and manganese in food seasonings by flame atomic absorption spectrometry after preconcentration with 2-hydroxyacetophenone-functionalized polyurethane foam". *J. Food Compost. Anal.*, **23**: 277, 2010.

LI, Q.; ZHANG, Z. & WANG, Z. "Determination of Hg^{2+} by on-line separation and pre-concentration with atmospheric-pressure solution-cathode glow discharge atomic emission spectrometry". *Anal. Chim. Acta*, **845**: 7, 2014.

LI, SHUN-XING; ZHENG, FENG-YING; CAI, SHU-JIE & CAI, TIAN-SHOU. "Determination of mercury and selenium in herbal medicines and hair by using a nanometer TiO₂-coated quartz tube atomizer and hydride generation atomic absorption spectrometry". *J. Hazard. Mater.*, **189**: 609, 2011.

LIMA, G. F.; FERREIRA, V. S.; GODOY, N. V.; MEDEIROS, R. F.; GARRIDO, dos SANTOS, F. M.; RIBEIRO, E. S.; NAKAGAKI, S.; SEGATELLI, M. G.; BEZERRA, M. A. & TARLEY, C. R. T. "Study of silica-manganese oxide hybrid material as a new solid phase for on-line continuous flow enrichment of Cd(II) ions coupled to flame atomic absorption spectrometry". *Microchem. J.*, **109**: 98, 2013.

LIMA, L. S.; Los WEINERT, P.; PEZZA, L. & PEZZA, H. R. "Sensitive flow-injection spectrophotometric analysis of bromopride". *Spectrochim. Acta Part A*, **133**: 597, 2014.

LÜ, H.; AN, H. & XIE, Z. "Ion-imprinted carboxymethyl chitosan-silica hybrid sorbent for extraction of cadmium from water samples". *Int. J. Biol. Macromol.*, **56**: 89, 2013.

MADRAKIAN, T., AFLKHAMI, A. & MOUSAVI, A. "Spectrophotometric determination of trace amounts of uranium(VI) in water samples after mixed micelle-mediated extraction". *Talanta*, **71**: 610, 2007.

MANICKAM, E., SDRAULIG, S. AND TINKER, R. A. "Method design and validation for the determination of uranium levels in human urine using high-resolution alpha spectrometry". *J. Environ. Radioactiv.*, **99**: 491, 2008.

MARTÍN-ESTEBAN, A. "Molecularly imprinted polymers: new molecular recognition materials for selective solid-phase extraction of organic compounds". *Fresenius J. Anal. Chem.*, **370**: 795, 2001.

MATOS, G. D.; PEREIRA-FILHO, E. R.; POPPI, R. J. & ARRUDA, M. A. Z. "Análise exploratória em química analítica com emprego de quimiometria: PCA e PCA de imagens". *Analytica*, **6**: 38, 2003.

MATUSIEWICZ, H. & KRAWCZYK, M. "On-line hyphenation of hydride generation with in situ trapping flame atomic absorption spectrometry for arsenic and selenium determination". *Anal. Sci.*, **22**: 249, 2006.

MEHDI, Y.; HORNICK, JEAN-LUC; ISTASSE, L. & DUSFRASNE, I. "Selenium in the environment, metabolism and involvement in body functions". *Molecules*, **18**: 3292, 2013.

MELCHERT, W. R.; REIS, B. F. & ROCHA, F. R. P. “Green chemistry and the evolution of flow analysis. A review”. *Anal. Chim. Acta*, **714**: 8, 2012.

METILDA, P., GLADIS, J. M. & PRASADA RAO T. “Influence of binary/ternary complex of imprint ion on the preconcentration of uranium(VI) using ion imprinted polymer materials”. *Anal. Chim. Acta*, **512**: 63, 2004.

MILJA, T. E.; PRATHISH, K. P. & PRASADA RAO, T. “Synthesis of surface imprinted nanospheres for selective removal of uranium from simulants of Sambhar salt lake and ground water”. *J. Hazard. Mater.*, **188**: :384, 2011.

MUÑIZ-NAVEIRO, O.; DOMINGUEZ-GONZÁLEZ, R.; BERMAJO-BARRERA, A.; BERMEJO-BARRERA, P. ;COCHO, J. A. & FRAGA, J. M. “Selenium speciation in cow milk obtained after supplementation with different selenium forms to the cow feed using liquid chromatography coupled with hydride generation-atomic fluorescence spectrometry”. *Talanta* ,**71**: 1587, 2007.

NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. Hazardous Substances Data Bank (HSDB). 1996.

NISHIDE, H.; DEGUCHI, J. & TSUCHIDA, E. “Selective adsorption of metal ions on crosslinked poly (vinylpyridine) resin prepared with a metal ion as template”. *Chem. Lett.*, 5(2): 169, 1976.

NOMNGONGO, P. N. & NGILA, J. C. “Multivariate optimization of dual-bed solid phase extraction for preconcentration of Ag, Al, As and Cr in gasoline prior to inductively coupled plasma optical emission spectrometric determination”. *Fuel*, **139**: 285, 2015.

NOMNGONGO, P. N. ; NGILA, J. C. ; MSAGATI, T. A. M. & MOODLEY. B. “Preconcentration of trace multi-elements in water samples using Dowex 50W-x8 and Chelex-100 resins prior to their determination using inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-OES)”. *Phys. Chem. Earth*, **66** : 83, 2013.

NOOKABKAEW, S.; RANGKADILOK, N. & SATAYAVIVAD, J. “Determination of trace elements in herbal tea products and their infusions consumed in Thailand”. *J. Agric. Food Chem.*, **54**: 6939, 2006.

OLWILL, A.; HUGHES, H.; O’RIORDAIN, M. & McLOUGHLIN, P. “The use of molecularly imprinted sol–gels in pharmaceutical separations”. *Biosens. Bioelectron.*, **20**:1045, 2004.

OSHITA, K.; SEO, K.; SABARUDIN, A.; OSHIMA, M.; TAKAYANAGIM T. & MOTOMIZU, S. "Synthesis of chitosan resin possessing a phenylarsonic acid moiety for collection/concentration of uranium and its determination by ICP-AES". *Anal. Bioanal. Chem.*, **390**: 1927, 2008.

ÖZCAN, M. M.; ÜNVER, A.; UÇAR, T. & ARSLAN, D. "Mineral content of some herbs and herbal teas by infusion and decoction". *Food Chem.*, **106**: 1120, 2008.

PANIGATI, M.; FALCIOLA, L.; MUSSINI, P.; BERETTA, G. & FACINO, R. M. "Determination of selenium in Italian rices by differential pulse cathodic stripping voltammetry". *Food Chem.*, **105**: 1091, 2007.

PATNAIK, P. *A Comprehensive Guide to the Hazardous Properties of Chemical Substances*. 3a ed. John Wiley & Sons, 2007. p. 652-653.

PAULING, L. J. "A theory of the structure and process of formation of antibodies". *J. Am. Chem. Soc.*, **62**: 2643, 1940.

PEREIRA, J. S. F.; PEREIRA, L. S. F.; SCHMID, L.; MOREIRA, C. M.; BARIN, J. S. & FLORES, E. M. M. "Metals determination in milk powder samples for adult and infant nutrition after focused-microwave induced combustion". *Microchem. J.*, **109**: 29, 2013.

PICHON, V. "Selective sample treatment using molecularly imprinted polymers". *J. Chromatogr. A*, **1152**: 41, 2007.

PICHON, V. & CHAPUIS-HUGON, F. "Role of molecularly imprinted polymers for selective determination of environmental pollutants-a review". *Anal. Chim. Acta*, **622**: 48, 2008.

Portaria nº 2914, 12 de dezembro de 2011, Ministério da saúde, http://www.cvs.saude.sp.gov.br/zip/Portaria_MS_2914-11.pdf : acessado em 8 de novembro de 2014.

POURREZA, N. ; RASTEGARZADEH, S. & LARKI, A. " Nano-TiO₂ modified with 2-mercaptobenzimidazole as an efficient adsorbent for removal of Ag(I) from aqueous solutions,". *J. Ind. Eng. Chem.*, **20**: 124, 2014.

PRASADA RAO, T.; DANIEL, S. & MARY GLADIS, J. "Tailored materials for preconcentration or separation of metals by ion-imprinted polymers for solid-phase extraction (IIP-SPE)". *Trends in Anal. Chem.*, **23**: 28, 2004.

PRASADA RAO, T.; KALA, R. & DANIEL, S. "Metal ion-imprinted polymers-novel materials for selective recognition of inorganics". *Anal. Chim. Acta*, **578**: 105, 2006.

PYRZYNSKA, K. & TROJANOWICZ, M. "Functionalized cellulose sorbents for preconcentration of trace metals in environmental analysis". *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **29**: 313, 1999.

RAHMAN, I. M. M.; BEGUN, Z. A. & HASEGAWA, H. "Selective separation of elements from complex solution matrix with molecular recognition plus macrocycles attached to a solid-phase: a review". *Microchem. J.*, **110**: 485, 2013.

RAJABI, H. R.; SHAMPISUR, M.; ZAHEDI, M. M. & ROUSHANI, M. "On-line flow injection solid phase extraction using imprinted polymeric nanobeads for the preconcentration and determination of mercury ions". *Chem. Eng. J.*, **259**: 330, 2015.

REIS, B. F. "Análise química por injeção em fluxo: vinte anos de desenvolvimento". *Quim. Nova*, **19**: 51, 1996.

ROMAN, M., JITARU, P. & BARBANTE, C. "Selenium biochemistry and its role for human health". *Metallomics*, **6**: 25, 2014.

ROUX, K. C. ; MALTEZ, H. F. ; CARLETTO, J. S. ; MARTENDAL, E. & CARASEK, E. "Application of factorial design and Doehlert matrix for determination of trace lead in environmental samples by on-line column preconcentration FAAS using silica gel chemically modified with niobium(V) oxide". *Anal. Sci.* **24**: 365, 2008.

SADEGHI, S. & MOFRAD, A. A. "Synthesis of a new ion imprinted polymer material for separation and preconcentration of traces of uranyl ions". *React. Funct. Polym.*, **67**: 966, 2007.

SADEGHI, S. & SHEIKHZADEH, E. "Solid phase extraction using silica gel modified with murexide for preconcentration of uranium (VI) ions from water samples". *J. Hazard. Mater.*, **163**: 861, 2009.

SAEED, M. M. & AHMAD, R. "Adsorption modeling and thermodynamic characteristics of uranium (VI) ions onto 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol (PAN) supported polyurethane foam". *Radiochim. Acta*, **93**: 333, 2005.

SANG, H., LIANG, P. & DU, D. "Determination of trace aluminum in biological and water samples by cloud point extraction preconcentration and

graphite furnace atomic absorption spectrometry detection. *J. Hazard. Mater.*, **154**: 1127, 2008.

SANTOS, J. S.; TEIXEIRA, L. S. G.; dos SANTOS, W. N. L.; LEMOS, V. A.; GODOY, J. M. & FERREIRA, S. L. C. "Review uranium determination using atomic spectrometric techniques: an overview". *Anal. Chim. Acta*, **674**: 143, 2010.

SARACOGLU, S. & SOYLAK, M. "Carrier element-free coprecipitation (CEFC) method for separation and pre-concentration of some metal ions in natural water and soil samples". *Food Chem. Toxicol.*, **48**: 1328, 2010.

SARAJI, M. & YOUSEFI, H. "Selective solid-phase extraction of Ni(II) by an ion-imprinted polymer from water samples". *J. Hazard. Mater.* **167**: 1152, 2009.

SEGATELLI, M. G.; SANTOS, V. S.; PRESOTTO, A. B. T.; PAGOTTO, I. V. & TARLEY, C. R. T. "Cadmium ion-selective sorbent preconcentration method using ion imprinted poly(ethylene glycol dimethacrylate-co-vinylimidazole)". *React. Funct. Polym.*, **70**: 325, 2010.

SEIDI, S.; YAMINI, Y. & REZAZADEH, M. "Electrochemically assisted solid based extraction techniques: a review". *Talanta*, **132**: 339, 2015.

SERRA, A. M.; ESTELA, J. M.; COULOMB, B.; BOUDENNE, J. L. & CERDÁ, V. "Solid phase extraction – multisyringe flow injection system for the spectrophotometric determination of selenium with 2,3-diaminonaphthalene". *Talanta*, **81**: 572, 2010.

SHAKERIAN, F.; DADFARNIA, S.; SHABANI, A. M. H. & ROHANI, M. "MultiSimplex optimization of on-line sorbent preconcentration and determination of iron by FI-AAS and microcolumn of immobilized ferron". *Talanta*, **77**: 551, 2008.

SHAKERIAN, F.; DADFARNIA, S. & SHABANI, A. M. H. "Synthesis and application of nano-pore size ion imprinted polymer for solid phase extraction and determination of zinc in different matrices". *Food Chem.* **134**: 488, 2012.

SHAKERIAN, F.; DADFARNIA, S.; SHABANI, A. M. H. & ABADI, M. N. A. "Synthesis and characterisation of nano-pore antimony imprinted polymer and its use in the extraction and determination of antimony in water and fruit juice samples". *Food Chem.*, **145**: 571, 2014.

SHAMSIPUR, M., FASIHI, J. & ASHTARI, K. "Grafting of ion-imprinted polymers on the surface of silica gel particles through covalently surface-bound initiators: a selective sorbent for uranyl ion". *Anal. Chem.* **79**: 7116, 2007.

SHAMSIPUR, M.; BESHARATI-SEIDANI, A.; FASIHI, J. & SHARGI, H. "Synthesis and characterization of novel ion-imprinted polymeric nanoparticles for very fast and highly selective recognition of copper(II) ions". *Talanta*, **83**: 674, 2010.

SHAMSIPUR, M. & BESHARATI-SEIDANI, A. "Synthesis of a novel nanostructured ion-imprinted polymer for very fast and highly selective recognition of copper(II) ions in aqueous media". *React. Funct. Polym.*, **71**: 131, 2011.

SHRIVAS, K. & PATEL, D. K. Ultrasound assisted-hollow fibre liquid-phase microextraction for the determination of selenium in vegetable and fruit samples by using GF-AAS. *Food Chem.*, **124**: 1673, 2011.

SHRIVASTAVA, A.; SHARMA, J. & SONI, V. "Various electroanalytical methods for the determination of uranium in different matrices". *Bull. Fac. Sci. Cairo Univ.*, **51**: 113, 2013.

SINGH, D. K. & MISHRA, S. "Synthesis and characterization of UO₂²⁺-ion imprinted polymer for selective extraction of UO₂²⁺". *Anal. Chim. Acta*, **644**: 42, 2009.

SINGH, D. K. & MISHRA, S. "Synthesis and characterization of Hg(II)-ion-imprinted polymer: kinetic and isotherm studies". *Desalination*, **257**: 177, 2010.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M. & HOLLER, F. J. *Fundamentals of Analytical Chemistry*. 7 a ed. Saunders college publishing. Orlando, 1996.

STRELOW, F. W. E. & VAN DER WALT, T. N. "Comparative study of the masking effect of various complexans in the spectrophotometric determination of uranium with arsenazo III and chlorophosphonazo III". *Talanta*, **26**: 537, 1979.

SULEIMAN, J. S.; HU, B.; HUANG, C. & ZHANG, N. J. "Determination of Cd, Co, Ni and Pb in biological samples by microcolumn packed with black stone (Pierre noire) online coupled with ICP-OES". *J. Hazard. Mater.* **157**: 410, 2008.

TARLEY, C. R. T.; SOTOMAYOR, M. D. P. T. & KUBOTA, L. T. "Polímeros biomiméticos em química analítica. parte 1: preparo e aplicações de MIP

(“molecular imprinted polymers”) em técnicas de extração e separação”. *Quim. Nova*, **28**: 1076, 2005.

TARLEY, C. R. T.; BARBOSA, A. F.; SEGATELLI, M. G.; FIGUEIREDO, E. C. & LUCCAS, P. O. “Highly improved sensitivity of TS-FF-AAS for Cd(II) determination at ng L⁻¹ levels using a simple flow injection minicolumn preconcentration system with multiwall carbon nanotubes”. *J. Anal. At. Spectrom.*, **21**: 1305, 2006.

TARLEY, C. R. T.; SILVEIRA, G.; dos SANTOS, W. N. L.; MATOS, G. D.; da SILVA, E. G. P.; BEZERRA, M. A.; MIRÓ, M. & FERREIRA, S. L. C. “Chemometric tools in electroanalytical chemistry: methods for optimization based on factorial design and response surface methodology”. *Microchem. J.*, **92**: 58, 2009.

TARLEY, C. R. T.; ANDRADE, F. N.; de SANTANA, H.; ZAIA, D. A. M.; BEIJO, L. A. & SEGATELLI, M. G. “Ion-imprinted polyvinylimidazole-silica hybrid copolymer for selective extraction of Pb(II): Characterization and metal adsorption kinetic and thermodynamic studies”. *React. Funct. Polym.*, **72**: 83, 2010.

TARLEY, C. R. T.; ANDRADE, F. N.; de OLIVEIRA, F. M.; CORAZZA, M. Z.; de AZEVEDO, L. F. M. & SEGATELLI, M. G. “Synthesis and application of imprinted polyvinylimidazole-silica hybrid copolymer for Pb²⁺ determination by flow-injection thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, **703**: 145, 2011.

TEIXEIRA, L. S. G. & ROCHA, F. R. P. “A green analytical procedure for sensitive and selective determination of iron in water samples by flow-injection solid-phase spectrophotometry”. *Talanta*, **71**: 1507, 2007.

TEÓFILO, R. F. & FERREIRA, M. M. C. *Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais*. *Quim. Nova*, **29**: 338, 2006.

THIRY, C.; RUTTENS, A.; DE TEMMERMAN, L.; SCHNEIDER, YVES-JACQUES & PUSSEMIER, L. “Review current knowledge in species-related bioavailability of selenium in food”. *Food Chem.*, **130**: 767, 2012.

TYBURKA, A.; JANKOWSKI, K. & RODZIK, A. “Determination of arsenic and selenium by hydride generation and headspace solid phase microextraction coupled with optical emission spectrometry”. *Spectrochim. Acta Part B*, **66**: 517, 2011.

TYBURSKA, A. & JANKOWSKI, K. "Determination of selenium in dietary supplements by optical emission spectrometry after alkaline dissolution and subsequent headspace solid phase microextraction". *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **74**: 268, 2013.

TYSON, J. F. "Flow injection analysis techniques for atomic-absorption spectrometry a review". *Analyst*, **110**: 419, 1985.

UNITED NATIONS CHILDREN'S FUND (UNICEF). *Handbook on Water Quality*. United nations children's fund., New York, 2008. p. 20-21.

VEGUERÍA, S. F. J.; GODOY, J. M.; de CAMPOS, R. C. & GONÇALVEZ, R. A. "Trace element determination in seawater by ICP-MS using online, offline and bath procedures of preconcentration and matrix elimination". *Microchem. J.*, **106**: 121, 2013.

VERLI, H. & BARREIRO, E. J. "Um paradigma da química medicinal: a flexibilidade dos ligantes e receptores". *Quim. Nova*, **28**(1): 95, 2005.

VIDAL, L.; RIEKKOLA, Marja-Liisa & CANALS, A. "Ionic liquid-modified materials for solid-phase extraction and separation: a review". *Anal. Chim. Acta*, **715**: 19, 2012.

VIÑAS, P.; PARDO-MARTÍNEZ, M. & HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. "Rapid determination of selenium, lead and cadmium in baby food samples using electrothermal atomic absorption spectrometry and slurry atomization". *Anal. Chim. Acta*, **412**: 121, 2000.

VINCETI, M.; MANDRIOLI, J.; BORELLA, P.; MICHALKE, B.; TSATSAKIS, A. & FINKELSTEIN, Y. "Selenium neurotoxicity in humans: bridging laboratory and epidemiologic studies". *Toxicol. Lett.*, **230**: 295, 2014.

WAKE, B. D.; BOWIE, A. R.; BUTLER, E. C. V. & HADDAD, P. R. "Modern preconcentration methods for the determination of selenium species in environmental water samples". *Trends Anal. Chem.*, **23**: 491, 2004.

WANG, J. & LIU, F. "Synthesis and application of ion-imprinted interpenetrating polymer network gel for selective solid phase extraction of Cd²⁺". *Chem. Eng. J.*, **242**: 117, 2014.

WANG, S. M.; WANG, T. C. & GIANG, Y. S. "Simultaneous determination of amphetamine and methamphetamine enantiomers in urine by simultaneous liquid-liquid extraction and diastereomeric derivatization followed by gas

chromatographic-isotope dilution mass spectrometry". *J. Chromatogr. B*, **816**: 131, 2005.

XU, S.; LI, J. & CHEN, L. "Molecularly imprinted polymers by reversible addition-fragmentation chain transfer precipitation polymerization for preconcentration of atrazine in food matrices". *Talanta*, **85**: 282, 2011.

YE, L. & MOSBACH, K. "Molecularly imprinted microspheres as antibody binding mimics". *React. Func. Polym.*, **48**: 149, 2001.

YE, L. & MOSBACH, K. "Molecular imprinting: synthetic materials as substitutes for biological antibodies and receptors". *Chem. Mater.*, **20**: 859, 2008.

YILMAZ, V.; HAZER, O. & KARTAL, S. "Synthesis, characterization and application of an oval ion-imprinted polymer for Selective solid Phase extraction of copper(II) ions from high salt matrices prior to its determination by FAAS". *Talanta*, **116**: 322, 2013.

YOUSEFI, S. R.; AHMADI, S. J.; SHEMIRANI, F.; JAMALI, M. R. & SALAVATI-NIASARI, M. "Simultaneous extraction and preconcentration of uranium and thorium in aqueous samples by new modified mesoporous silica prior to inductively coupled plasma optical emission spectrometry determination". *Talanta*, **80**: 212, 2009.

ZAMBRZYCKA, E.; ROSZKO, D.; LEŚNIEWSKA, B.; WILCZEWSKA, A. Z. & GODLEWSKA-ŻYŁKIEWICZ, B. "Studies of ion-imprinted polymers for solid-phase extraction of ruthenium from environmental samples before its determination by electrothermal atomic absorption spectrometry". *Spectrochim. Acta Part B*, **66**: 508, 2011.

ZHANG, S.; SHU, X.; ZHOU, Y.; HUANG, L. & HUA, D. "Highly efficient removal of uranium (VI) from aqueous solutions using poly(acrylic acid)-functionalized microspheres". *Chem. Eng. J.*, **253**: 55, 2014.

ZHANG, Y. & ADELOJU, S.B. "Flow injection-hydride generation atomic absorption spectrometric determination of selenium, arsenic and bismuth". *Talanta*, **76**: 724, 2008.

ZHAO, L.; ZHONG, S.; FANG, K.; QIAN, Z. & CHEN, J. "Determination of cadmium(II), cobalt(II), nickel(II), lead(II), zinc(II), and copper(II) in water samples using dual-cloud point extraction and inductively coupled plasma emission spectrometry". *J. Hazard. Mater.*, **239-240**: 206, 2012.

ZONG, P. & COU, J. "Rapid and economical synthesis of magnetic multiwalled carbon nanotube/iron oxide composite and its application in preconcentration of U(VI)". *J. Mol. Liquids*, **195**: 92, 2014.

WESLER, P. *Encyclopedia of Toxicology*. 2a ed. Oxford, Elsevier, 2005.p. 375.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Guidelines for Drinking-Water Quality*. 3a ed. Geneva, 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Guidelines for Drinking-Water Quality*". 4a ed. Geneva, 2011. p. 178.