UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

FERNANDO HENRIQUE DO NASCIMENTO

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS DE ANÁLISE POR INJEÇÃO SEQUENCIAL COM DETECÇÃO ELETROQUÍMICA PARA A APLICAÇÃO EM ESTUDOS DE INTERAÇÃO DE Hg(II), As(III) E Se(IV) COM LIGANTES HETEROGÊNEOS DE OCORRÊNCIA NATURAL

Versão original da Tese corrida

São Paulo

25/11/2016

FERNANDO HENRIQUE DO NASCIMENTO

Desenvolvimento de métodos de análise por injeção sequencial com detecção eletroquímica para a aplicação em estudos de interação de Hg(II), As(III) e Se(IV) com ligantes heterogêneos de ocorrência natural

Tese apresentada ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo, como requisito para obtenção do Título de Doutor em Química

Orientador: Prof. Dr. Jorge Cesar Masini

São Paulo

2016

Dedico essa tese a minha mãe por todo o amor, carinho, paciência, apoio e conselhos dados durante o período de realização deste trabalho e nos demais momentos da minha vida.

Dedico essa tese ao Prof. Jorge por todos os ensinamentos, ajuda e paciência nesses últimos anos, sempre tentando explorar meu potencial, e pelas demais contribuições ao meu amadurecimento científico e pessoal, às quais sou muito grato.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por tudo o que me proporcionou nesses últimos anos e que me continua a proporcionar, sempre me guiando pelos caminhos que decidi seguir e me mostrando que se é possível se tirar o bom de tudo nesta vida.

Ao Prof. Jorge por tudo o que fez por mim durante o período do doutorado, pela excelente orientação, estando sempre aberto a discussões, dúvidas, resolução dos problemas tanto acadêmicos quanto pessoais, imensa paciência e amizade.

À Dra. Marilda Rigobello-Masini pelos ensinamentos e por toda a participação e ajuda nos trabalhos envolvendo as microalgas, estando sempre à disposição para discussões e dúvidas e pela amizade.

A todos os membros de minha família que de alguma forma contribuíram para a o meu amadurecimento pessoal e/ou pelo apoio emocional.

Aos amigos de laboratório com os quais tive maior contato: Ricardo, sempre disposto a me ajudar tanto na vida acadêmica quanto pessoal; Diego, pelas discussões e contribuição quanto ao meu amadurecimento como orientador; Luís Fernando, Gabriel e Renan, que apesar do pouco contato acadêmico com este trabalho, contribuíram com a sua amizade e ajuda quando necessários. Além disso, gostaria também de agradecer a todos pelo excelente ambiente de trabalho, sempre receptivo a discussões e opiniões, e por todo o apoio prestado de alguma forma, o que gera o bom andamento e qualidade das atividades do nosso grupo de pesquisa.

Aos demais amigos do IQ pelo companheirismo e apoio, oferecidos, de alguma forma, durante o decorrer do desenvolvimento deste trabalho.

Aos demais amigos pelo incentivo, apoio, alegria dados durante este período.

Aos professores de disciplinas nas quais fui aluno ou monitor, por toda a experiência e conhecimentos adquiridos.

Aos técnicos de laboratório do IQ com os quais tive a oportunidade de trabalhar, que sempre se mostraram receptivos e dispostos a ajudar.

Às agências de fomento a pesquisa FAPESP e CNPq pela concessão da bolsa de doutorado e apoios financeiros ao desenvolvimento do projeto.

"A ciência humana de maneira nenhuma nega a existência de Deus. Quando considero quantas e quão maravilhosas coisas o homem compreende, pesquisa e consegue realizar, então reconheço claramente que o espírito humano é obra de Deus, e a mais notável".

Galileu Galilei

RESUMO

Do Nascimento, F. H. **Desenvolvimento de métodos de análise por injeção sequencial com detecção eletroquímica para a aplicação em estudos de interação de Hg(II), As(III) e Se(IV) com ligantes heterogêneos de ocorrência natural**. 2016. 201 p. Tese. Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade de São Paulo.

Os diferentes efeitos que Hg(II), As(III) e Se(IV) causam ao meio ambiente e à saúde dos seres vivos levaram ao desenvolvimento de uma ampla variedade de técnicas analíticas para a determinação destas espécies, com destaque para a voltametria e cronopotenciometria de redissolução. As interações com ligantes heterogêneos de ocorrência natural são fundamentais para o transporte e disponibilidade de Hg(II), As(III) e Se(IV) no meio ambiente. O estudo das interações pode contribuir com tecnologias de remediação mais eficientes, evitando a introdução, ou permitindo a remoção de espécies de Hg(II), As(III) e Se(IV) de meios impactados. Na presente tese foram desenvolvidos métodos controlados por Análise por Injeção Sequencial (SIA) com detecção eletroquímica, especificamente voltametria de onda quadrada (SIA-SWASV) para Hg(II), As(III) e Se(IV) e um método com detecção por cronopotenciometria (SIA-SCP) para Hg(II) visando sua utilização em estudos de interação com vermiculita natural e modificada com tióis, microalga *Chlamydomonas reinhardtii* e vermiculita modificada com poli-hidróxi-cátions de Fe(III). Em todos os casos foram usados eletrodos de ouro como eletrodo de trabalho. Os limites de detecção (LD) para Hg(II) foram de 0,01 e 0,02 μmol L^{-1} para os métodos SIA-CSP e SIA-SWASV, respectivamente. Para As(III) e Se(IV) os valores de LD foram de 0,02 e 0,06 μmol L^{-1}, respectivamente. Para a adsorção de Hg(II) em amostras de vermiculita, a amostra modificada com cisteamina foi a que apresentou maior capacidade de adsorção (q_{max}), 83±30 μmol g^{-1}. A variação da força iônica e do pH não afetou significativamente a adsorção nos materiais modificados com cisteamina, cisteína e (3-mercaptopropil)trimetoxisilano, devido a alta afinidade entre Hg(II) e os grupos tióis. Dessorções em HCl foram sempre < 21%, sugerindo que todos os materiais possuem potencialidade para aplicação *in situ* em ambientes impactados. A adsorção de Se(IV) na FeOH-VT resultou um q_{max} = 45±4 μmol g^{-1}, sendo que a capacidade diminui com o aumento da força iônica, indicando que a atração eletrostática exerce papel importante na adsorção. A biossorção de Hg(II) na *C. reinhardtii* teve seu maior valor de q_{max}, 3,3±0,8 mmol g^{-1}, em pH 4,0, sendo o Hg(II) concentrado no interior das células. A capacidade de adsorção de Hg(II) em *C. reinhardtii* foi significativamente maior do que na vermiculita, natural e modificada, sugerindo a elevada potencialidade para biorremediação de águas contaminadas. As medidas cronopotenciométricas feitas na presença das células sugerem que a interação é parcialmente lábil, de modo que essa fração trocável com o ambiente deveria ser considerada nos processos de tratamento. O aumento da força iônica praticamente não afetou a biossorção, indicando pouca influência de atração eletrostática. Estudos preliminares de biossorção de As(III) por *C. reinhardii* em um tempo de contato de 120 min resultaram em q_{max} = 41±1 μmol g^{-1}, independente da variação do pH entre 4 e 7, enquanto que o aumento da força iônica aumentou as quantidades de As(III) biossorvido.

Palavras-chave: mercúrio, arsênio, selênio, adsorção, voltametria, SIA.

ABSTRACT

Do Nascimento, F. H. **Development of methods of sequential injection analysis with electrochemical detection for application in interaction studies of Hg(II), As(III) and Se(IV) with heterogeneous naturally occurring ligands**. 2016. 201 p. Thesis. Post-graduate Program in Chemistry, University of São Paulo, São Paulo.

The different effects that Hg(II), As(III) and Se IV) cause to the environment and to the health of living beings led to the development of a wide range of analytical techniques for the determination of these species, especially stripping voltammetry and chronopotenciometry. Interactions with heterogeneous naturally occurring ligands play a key role in the transport and availability of Hg(II), As(III) and Se(IV) in the environment. The study of these interactions may contribute to more effective remediation technologies, avoiding their loading in environmental compartments, or enabling the removal of Hg(II), As(III) and Se(IV) species from impacted medium. The present thesis describes the development of methods controlled by Sequential Injection Analysis (SIA) with electrochemical detection, specifically square wave voltammetry (SIA-SWASV) for determination of Hg(II), As(III) and Se(IV), and chronopotentiometry (SIA-SCP) for Hg(II) aiming their use in interaction studies with the clay mineral vermiculite (natural and modified with thiols and polyhydroxy cations of Fe(III)) and with the microalgae *Chlamydomonas reinhardtii*. In all cases gold electrodes were used as working electrode. The limits of detection (LOD) for Hg(II) were 0.01 and 0.02 μmol L^{-1} for SIA-SCP and SIA-SWASV methods, respectively. For As(III) and Se(IV) the LOD values were 0.02 and 0.06 μmol L^{-1}, respectively. For the adsorption of Hg(II) in vermiculite samples, the sample modified with cysteamine showed the highest adsorption capacity (q_{max}), 83 ± 30 μmol g^{-1}. As a consequence of the high affinity between Hg(II) and the thiols, the variation of the ionic strength and pH did not significantly affect the adsorption on materials modified with cysteamine, cysteine, and (3-mercaptopropyl) trimethoxysilane. Desorption in HCl was always < 21%, suggesting that all materials have potential for *in situ* application in impacted environments. Adsorption of Se(IV) in FeOH-VT resulted in a q_{max} = 45 ± 4 μmol g^{-1}, and the capacity decreased with increasing ionic strength, indicating that the electrostatic attraction played an important role in adsorption. The biosorption of Hg(II) by *C. reinhardtii* had its greatest value q_{max}, 3.3 ± 0.8 mmol g^{-1}, at pH 4.0, and Hg(II) concentrated in the cells. The adsorption capacity of Hg(II) in *C. reinhardtii* was significantly higher than that in vermiculite, natural or modified, suggesting high potential for bioremediation of contaminated water. The chronopotentiometric measurements in the presence of cells suggested that the interaction was partially labile, so that the exchangeable fraction with the environment should be considered for treatment processes. The increase in ionic strength did not affect the biosorption, indicating little influence of electrostatic attraction. Preliminary studies on biosorption of As(III) by *C. reinhardii* with a contact time of 120 min resulted in q_{max} = 41 ± 1 μmol g^{-1}, independent of pH variation between 4 and 7, whereas the increase of ionic strength increased amounts of As(III) biosorbed.

Keywords: mercury, arsenic, selenium, adsorption, voltammetry, SIA.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS – Espectrometria de absorção atômica (do inglês *Atomic Absorption Spectroscopy*)

ACSV – Voltametria de redissolução catódica adsortiva (do inglês *Adsorptive Catodic Stripping Voltammetry*)

AFS - Espectrometria de fluorescência atômica (do inglês *Atomic Fluorescence Spectroscopy*)

ASV - voltametria de redissolução anódica (do inglês, *Anodic Stripping Voltammetry*)

AST – Área Superficial Total

ATP - Trifosfato de adenosina (do inglês *adenosine triphosphate)*

ATSDR - Agência de Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças (do inglês *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*)

CE – Eletroforese Capilar (do inglês *Capillary Electrophoresis*)

CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

CSV - voltametria de redissolução catódica (do inglês, *Catodic Stripping Voltammetry*)

CTA – Cisteamina (do inglês *Cysteamine*)

CTC – Capacidade de Troca Catiônica

CV – Vapor frio (do inglês *Cold Vapor*)

CYS – Cisteína (do inglês *Cysteine*)

EGME – Éter Monoetílico de Etilo Glicol (do inglês, *Ethylene Glycol Monomethyl Ether*)

ET - Atomização eletrotérmica (do inglês *Electrothermal Atomic*)

EWFD – Diretiva para a Qualidade de Água Européia (do inglês *European Water Framework Directive*)

FI – Injeção em Fluxo (do inglês *Flow Injection*)

HG – Geração de hidreto (do inglês *Hydride Generation*)

HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês *High Performance Liquid Chromatography*)

HMDE – Eletrodo de gota pendente de mercúrio (do inglês *Hanging mercury drop electrode*)

GCE – Eletrodo de carbono vítreo (do inglês *Glass Carbon Electrode*)

GF – Forno de grafite (do inglês *Grafite Furnace*)

IARC – Agência Internacional para Pesquisa do Câncer (do inglês *International Agency f research on cancer*)

IC – Cromatografia iônica (do inglês *Ionic Chromatography*)

ICP-MS – Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*)

ICP OES – Espectrometria de emissão ótica com plasma induzivamente acoplado (do inglês *Inductive Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy*)

LD – Limite de detecção

LHON – Ligantes heterogêneos de ocorrência natural

LIBS – Espectrometria de emissão ótica com plasma induzido por laser (do inglês, *Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*)

LQ – Limite de quantificação

MES - ácido 2-N-morfolinoetanossulfônico

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

NP – Nanopartículas (do inglês *Nanoparticles*)

OMS – Organização mundial de saúde

PEEK - polieteretercetona (do inglês *Polyether ether ketone*)

SCP – Cronopotenciometria de redissolução (do inglês, *Stripping Chronopotenciometry*)

SIA - Análise por injeção sequencial (do inglês *Sequential Injection Analysis*)

SPCE e SPGE – Eletrodo impresso de carbono ou ouro (do inglês *Screen Printed Carbon or Gold Electrode*)

SW – Onda quadrada (do inglês *Square Wave*)

US CERCLA – Ato Norte Americano de comprensiva resposta, compensação e responsabilidade ambientais (do inglês *United States Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act*)

US EPA – Agência de Proteção ambiental Norte Americana (do inglês *United States Environmental Protection Agency*)

VT - Vemiculita

3-MPS - 3-mercaptopropiltrimetoxisilano

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo biogeoquímico do mercúrio no ambiente (Leopold et al. 2010).... 24

Figura 2. Distribuição de espécies de As no ambiente (Basu et al. 2014)..... 28

Figura 3. Esquema do ciclo biogeoquímico global do Se. Setas em azul representam processos de oxidação e as setas verdes, processos de redução. Símbolos de atenção representam os potenciais locais em que pode haver a deficiência do Se (símbolo aberto) ou seu excesso (símbolo sombreado) (Winkel et al. 2012)..... 32

Figura 4. Representação esquemática das reações eletroquímicas envolvidas na voltametria de redissolução anódica (ASV). M = cátion metálico, n = valência, L = ligante, ML = metal ligado (podendo estar adsorvido e/ou complexado), E = potencial, ΔE = variação de potencial (varredura de potencial)..... 39

Figura 5. Representação esquemática do sistema de injeção sequencial (SIA) (Masini 2008)..... 53

Figura 6. (A) Estrutura cristalina para argilominerais do tipo 2:1 (Silva Junior 2007); (B) Espaçamento basal de um argilomineral (De Paiva et al. 2008)..... 58

Figura 7. Ilustração da estrutura da célula da *Chlamydomonas reinhardtii*. N = núcleo central, Nu = nucléolo, F = flagelo, C = cloroplasto, E = fotorreceptor, P = pirenoide contendo amido, M = mitocôndria, V = vesículo de Golgi, S = granulos de amido, V = vacúolos (Harris 2001)..... 61

Figura 8. Sistema de fluxo contínuo para avaliação das colunas de adsorção. BP = bomba peristáltica (vazão = 10 μL s^{-1} em cada canal); CEF = cela eletroquímica de fluxo (detecção amperométrica a 0 V vs. referência de Ag/AgCl); R = descarte de resíduos..... 73

Figura 9. Sensor impresso (A) e seus respectivos eletrodos de trabalho (Au), auxiliar (C) e de pseudo-referência (Ag) e (B) o sensor impresso acoplado à célula de fluxo..... 78

Figura 10. Sistema de injeção sequencial para a determinação de Hg(II) com detecção por voltametria de onda quadrada. ST – solução transportadora, HCl e NaCl 0,050 mol L^{-1}, VS – válvula da seringa (posições In e Out), S – seringa, BS – bomba de seringa, BC – bobina coletora (3m de tubulação PTFE com 0,8 mm d.i.), VR – válvula de seleção rotatória; CE – célula eletroquímica de fluxo, R – rejeitos..... 79

Figura 11. Variação da corrente de pico em função da concentração de HCl (0,020, 0,030, 0,050, 0,070 e 0,10 mol L^{-1}), nas seguintes condições: volume de amostra de 1000 μL, vazão de 15 μL s^{-1}, frequência de 100 Hz, com tempo de condicionamento de 55 s..... 87

Figura 12. Variação da corrente de pico em função do potencial de deposição, nas seguintes condições: volume de amostra de 1000 μL, vazão de 15 μL s^{-1}, frequência de 100 Hz, com tempo de condicionamento de 55 s..... 88

Figura 13. Voltamogramas gerados para a solução de Hg 0,30 μmol L^{-1}, após subtração do sinal do branco, em potencial de deposição de 0,30 V (A) e 0,20 V (B). Demais condições adotadas: vazão de 15 μL s^{-1}, volume de amostra de 1000 μL, tempos de condicionamento e de deposição de 55s e frequência de 100 Hz.... 89

Figura 14. Variação do sinal voltamétrico em função de valores de vazão de 5, 10, 15, 30, 50 e 100 μL s^{-1} e volume de amostra de: (■) 250 μL, com respectivos tempos de deposição de 55, 30, 22, 13, 10 e 8 s, e tempo de condicionamento de 20 s; (●) 750 μL, com respectivos tempos de deposição de 155, 80, 55, 30, 20 e 13 s, e tempo de condicionamento de 55 s; (▲) 1500 μL, com respectivos tempos de deposição de 305, 155, 105, 55, 35 e 20 s, e tempo de condicionamento de 70 s. Demais condições usadas: frequência de 100 Hz..... 90

Figura 15. (I) Voltamogramas obtidos para os níveis de concentração de 0,07 (A), 0,10 (B), 0,20 (C), 0,30 (D), 0,40 (E) e 0,50 (F). (II) Curva analítica (i_p = 5,3±0,1.$C_{Hg(II)}$ – 0,04±0,02, r = 0,996) obtida no intervalo de concentrações de Hg(II) entre 0,070 e 0,10 μmol L^{-1}, sob as condições: vazão de 30 μL s^{-1}, volume de amostra de 1500 μL e frequência de 100 Hz..... 92

Figura 16. Voltamogramas para soluções de HCl 0,050 mol L^{-1} (A), Hg(II) 0,070 μmol L^{-1} (B) e 0,10 μmol L^{-1} (C). Condições usadas: vazão de 30 μL s^{-1}, volume de amostra de 1500 μL e frequência de 100 Hz..... 93

Figura 17. (I) Voltamogramas gerados para soluções de HCl 0,050 mol L^{-1} em concentrações de Cu(II) de 0 (A), 0,10 (B), 0,25 (C), 0,50 (D), 0,75 (E) e 1,0 μmol L^{-1} (F); (II) as mesmas concentrações, mas na presença de Hg(II) 0,30 μmol L^{-1}. Demais condições adotadas: potencial de deposição de 0,20 V, vazão de 15 μL s^{-1}, volume de amostra de 750 μL, tempos de condicionamento e de deposição de 55s e frequência de 100 Hz..... 96

Figura 18. Cronopotenciogramas obtidos em correntes de redissolução de 0,1 (A), 0,25 (B), 0,50 (C), 0,75 (D) e 1,0 μA (E). Demais condições: potencial de condicionamento de 0,7 V; potencial de deposição de 0,3 V; tempo de condicionamento, 70 e 55 s, para volumes de amostra de 750 e 1500 μL; tempo de deposição 55 s; potencial para o fim da medida de corrente de 0,7 V..... 98

Figura 19. Cronopotenciogramas para concentrações correspondestes ao experimento de linearidade e a curva analítica (Q = 2,32±0,05.$C_{Hg(II)}$ + 0,12±0,03) obtida para as concentrações: branco (A), 0,10 (B), 0,20 (C), 0,30 (D), 0,40 (E), 0,50 (F), 0,60 (G), 0,70 (H), 0,80 (I), 0,90 (J) e 1,0 μmol L^{-1} (L) em meio de HCl 0,050 mol L^{-1}. 99

Figura 20. Efeito da concentração de HCl como ES no sinal voltamétrico na determinação de As(III) pelo método SIA-SWASV em diferentes condições. STR e AS: (■) ambas em HCl 0,050 mol L^{-1}, (▲) 0,050 e 1,0 mol L^{-1}, respectivamente e (●) ambas em HCl 1,0 mol L^{-1}..... 102

Figura 21. Variação da corrente de pico (i) para diferentes frequências de pulsos de onda quadrada para medidas de uma solução de As(III) 1,0 μmol L^{-1}, sob as condições: vazão de 15 μL s^{-1}; e volume de solução As(III) de 1000 μL..... 104

Figura 22. Variação da corrente de pico (i) para medidas de uma solução de As(III) 1,0 μmol L^{-1} sob as condições: tempo de condicionamento de 70 s; tempos de deposição correspondentes de 205, 105, 40, 25 e 15 s (correspondentes às vazões de 5, 10, 15, 30, 50 e 100 μL s^{-1}, respectivamente); volume de amostra de 1000 μL; e frequência de pulsos de 100 Hz..... 105

Figura 23. Variação da corrente de pico (i) para medidas de uma solução de As(III) 1,0 μmol L^{-1} sob as condições: tempos de condicionamento de 60, 65, 70 e 85 s; tempos de deposição de 10, 20, 35 e 55 s (correspondentes aos volumes de amostra de 250, 500, 1000 e 1500 μL, respectivamente); e frequência de pulsos de 100 Hz..... 106

Figura 24. (I) Voltamogramas obtidos para soluções (a) 0,10, (b) 0,25, (c) 0,50, (d) 0,75 e (e) 1,0 μmol L^{-1} de As(III), que resultaram na (II) curva analítica, $i_p = (9,7\pm0,5)C_{As(III)} + (0,5\pm0,3)$, obtida em condições de vazão e volume de amostra de 15 μL s^{-1} e 1500 μL, respectivamente, concentração de eletrólito suporte de 0,10 mol L^{-1} HCl, frequência de 100 Hz..... 107

Figura 25. Voltamogramas cíclicos obtidos na região de potencial de -0,5 a 1,5 V a 0,05 V s^{-1}. (A) região de potencial -0,35 a 0,02 V ampliada e (B) região de potencial 0,95 a 1,3 V ampliada. (a) H_2SO_4 0,10 mol L^{-1}; soluções de Se(IV) (b) 0,10; (c) 0,20; (d) 0,30; (d) 0,40; (e) 0,50; (f) 0,60; (g) 0,70; (h) 0,80; (i) 0,90; (l) 1,0 μmol L^{-1}..... 111

Figura 26. Efeito da concentração de H_2SO_4 como eletrólito suporte no sinal voltamétrico na determinação de Se(IV) pelo método SIA-SWASV nas condições: tempo de condicionamento de 70 s; tempos de deposição 105 s, vazão de 15 μL s^{-1}, volume de amostra de 1500 μL; e frequência de pulsos de 50 Hz..... 113

Figura 27. Variação da corrente de pico (i) para medidas de uma solução de Se(IV) 1,0 μmol L^{-1} sob as condições: tempo de condicionamento de 70 s; tempos de deposição correspondentes de 205, 75, 40, 25 e 15 s (correspondentes às vazões de 5, 15, 30, 50 e 100 μL s^{-1}, respectivamente); volume de amostra de 1000 μL; e frequência de pulsos de 50 Hz..... 114

Figura 28. Variação da corrente de pico (i) para medidas de uma solução de Se(IV) 1,0 μmol L^{-1} sob as condições: tempos de condicionamento de 60, 65, 70 e 85 s; tempos de deposição de 20, 35, 70 e 105 s (correspondentes aos volumes de amostra de 250, 500, 1000 e 1500 μL, respectivamente); vazão de 15 μ s^{-1} e frequência de pulsos de 100 Hz..... 115

Figura 29. Variação da corrente de pico (i) para diferentes frequências de pulsos de onda quadrada para medidas de uma solução de Se(IV) 1,0 μmol L^{-1}, sob as condições: 100 Hz; vazão de 15 μL s^{-1}; e volume de solução As(III) de 1500 μL.. 116

Figura 30. Efeito das diferentes soluções eletrolíticas (a 0,050 mol L^{-1}) como solução transportadora e de condicionamento na corrente de pico (i_p) para uma solução de Se(IV) 1,0 μmol L^{-1} em H_2SO_4 0,10 mol L^{-1}, nas seguintes condições: vazão de 15 μL s^{-1}, volume de amostra de 1500 μL e frequência de pulso de 50 Hz..... 117

Figura 31. (I) Voltamogramas obtidos para soluções (a) 0,20, (b) 0,40, (c) 0,60, (d) 0,80 e (e) 1,0 µmol L^{-1} de Se(IV) que resultaram na (II) curva analítica, i_p = (7,9±0,2)$C_{Se(IV)}$ – (1,2±0,1), obtida em condições de vazão e volume de amostra de 15 µL s^{-1} e 1500 µL, respectivamente, concentração de eletrólito suporte de 0,10 mol L^{-1} H_2SO_4, frequência de 50 Hz..... 118

Figura 32. FTIR da vermiculita homoiônica em Na+ comparada com os das vermiculitas modificadas por tióis..... 123

Figura 33. Padrões de XRD da vermiculita homoiônica em Na^+ comparados aos das vermiculitas modificadas por tióis..... 125

Figura 34. Imagens de Microscopia eletrônica de varredura (SEM) da (a) Na-VT, (B) CYS-VT, (c) CTA-VT e (d) 3-MPS-VT..... 126

Figura 35. FTIR da vermiculita homoiônica em Na+ comparada com o da vermiculita modificadas por poli-hidroxi-cátions de Fe(III)..... 127

Figura 36. Padrões de XRD da Na-VT (preto) comparados aos da FeOH-VT (vermelho)..... 128

Figura 37. Imagens de Microscopia eletrônica de varredura (SEM) da (a) Na-VT e (b) FeOH-VT..... 128

Figura 38. Adsorção de Hg(II) em função do tempo de contato no intervalo entre 0 e 120 min para uma inicial $C_{Hg,T}$ = 1,0 µmol L^{-1} na presença de 0,625 g de adsorventes. Os experimentos foram feitos a pH 6,0 ± 0,1 (MES 0,010 mol L^{-1}) em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}, a 25,0 ± 0,5 ^oC..... 129

Figura 39. Efeito de quantidade de adsorvente na remoção de Hg(II) de uma solução 0,70 µmol L^{-1} a 25,0 ± 0,5 ^oC e pH 6,0 ± 0,1 (0,010 mol L^{-1} MES) em 0,050 mol L^{-1} $NaNO_3$, tempo de contato = 60 min. Linhas tracejadas correspondem às porcentagens de adsorção e as linhas sólidas a quantidade de Hg(II) adsorvido por grama de adsorvente..... 135

Figura 40. Isotermas de Adsorção (25,0 ± 0,5 ^oC) de Hg(II) em Na-VT, CYS-VT, CTA-VT e 3-MPS-VT em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1} a pH 6,0 ± 0,1 (MES 0,01 mol L^{-1}). Concentrações iniciais de Hg(II) ($C_{Hg,T}$) de 1 a 100 µmol L^{-1}. Linhas sólidas e tracejadas correspondem às curvas ajustadas por Langmuir e Freundlich, respectivamente..... 136

Figura 41. Quantidade de Hg(II) ligada aos adsorventes em diferentes pH, em 0,050 mol L^{-1} $NaNO_3$ a 25,0 ± 0,5 ^oC. Condições experimentais: massa de adsorvente = 25 mg; volume de solução = 10 mL; concentração inicial de Hg(II) = 10 µmol L^{-1}..... 140

Figura 42. Efeito da concentração salina na quantidade de Hg(II) adsorvida a pH 6,0 ± 0,1 e 25,0 ± 0,5 ºC. Concentração inicial de Hg(II) = 10 µmol L^{-1}; massa de adsorvente = 25 mg, volume de solução = 10 mL..... 141

Figura 43. Volumes de breakthrough encontrados nas colunas de adsorção preparadas com cerca de 180 mg de adsorvente, vazão de 10 µL s^{-1} e $C_{Hg,0}$ = 100 µmol L^{-1} condicionada a pH 6,0 ± 0,1..... 143

Figura 44. Efeito de quantidade de adsorvente na remoção de Se(IV) de uma solução 20,0 µmol L^{-1} a 25,0 ± 0,5 ^{o}C e pH 6,0 ± 0,1 em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}, tempo de contato = 60 min. A linha tracejada corresponde às porcentagens de adsorção e a linha sólida a quantidade de Se(IV) adsorvido por grama de adsorvente..... 146

Figura 45. Isoterma de Adsorção (25,0 ± 0,5 ^{o}C) de Se(IV) em FeOH-VT em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1} a pH 6,0 ± 0,1. Concentrações iniciais de Se(IV) ($C_{Se,T}$) de 1 a 400 µmol L^{-1}. Linhas azul e vermelha correspondem às curvas ajustadas por Langmuir e Freundlich, respectivamente..... 147

Figura 46. Distribuição das espécies de Se(IV) em função do pH, para uma faixa de pH de 1 a 10, levando-se em consideração uma concentração inicial de Hg(II) de 10^{-6} mol L^{-1}. Espécies: $HSeO_3^-$ – verde, SeO_3^{2-} - vermelho, H_2SeO_3 - azul claro, SeO_2 - azul..... 150

Figura 47. Quantidade adsorvida de Se(IV) em função da concentração salina a pH 6,0 ± 0,1 e 25,0 ± 0,5 ºC. Concentração inicial de Se(IV) = 5 µmol L^{-1}; massa de adsorvente = 25 mg, volume de solução = 10 mL..... 151

Figura 48. Espectros de Infravermelho de refletância total atenuada por transformada de Fourier de *C. reinhardtii* na ausência (linha cheia) e presença de Hg(II) (linha tracejada) agrupados nos três pHs estudados. Experimentos na presença de mercúrio foram feitos pelo equilíbrio entre 2,5 µmol de Hg(II) com 7,4 x 10^6 células durante 120 minutos. As células foram separadas por centrifugação, lavadas duas vezes com água e secas sob um fluxo de N_2 antes da aquisição dos espectros..... 154

Figura 49. Curva de titulação potenciométrica da suspensão de *C. reinhardtii* em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1} a 25,0 ± 0,1 ºC com NaOH, sobreposta por funções de Gran modificadas para o excesso de HCl e NaOH (MGF_{HCl} e MGF_{NaOH}, respectivamente) e cinco classes de sítios ionizáveis (MGF_{HA1} to MGF_{HA5})..... 156

Figura 50. Adsorção de Hg(II) em função do tempo de contato no intervalo entre 0 e 180 min para uma $C_{Hg,T}$ inicial de 20,0 µmol L^{-1} na presença de 4 x 10^9 células L^{-1}. O experimento foi feito em pH 6,0 ± 0,1 e em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}, a 25,0 ± 0.5 ^{o}C. Aplicação dos modelos de cinética de pseudo-segunda ordem (A) e de difusão intrapartícula (B)..... 158

Figura 51. Efeito de quantidade de biossorvente (*C. reinhardtii*) na remoção de Hg(II) de uma solução Hg(II) 15,0 µmol L^{-1} a 25,0 ± 0,5 ^{o}C, pH 6,0 ± 0,1 em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}, tempo de contato = 120 min..... 160

Figura 52. Isotermas de biossorção (25,0 ± 0,5 ^{o}C) de Hg(II) na *C. reinhartii* em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1} nos pHs 4,0; 5,0 e 6,0 (± 0,1). Concentrações iniciais de Hg(II) ($C_{Hg,T}$) foram de 5 a 500 µmol L^{-1}. O efeito da presença das células de microalgas foi estudado em pH 6,0 pela obtenção de dados na presença e ausência de células de microalgas (filtrado). As linhas contínuas são as curvas ajustadas de Langmuir-Freundlich..... 162

Figura 53. Efeito da concentração de $NaNO_3$ na remoção de Hg(II) de uma solução 27,0 µmol L^{-1} a 25,0 ± 0,5 ^{o}C, pH 6,0 ± 0,1, tempo de contato = 120 min..... 167

Figura 54. Efeito de quantidade de biossorvente (*Chlamydomonas reinhardtii*) na remoção de As(III) de uma solução 10,0 µmol L^{-1} a 25,0 ± 0,5 ^{o}C, pH 6,0 ± 0,1 em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}, tempo de contato = 120 min..... 169

Figura 55. Isoterma de biossorção (25,0 ± 0,5 ^{o}C) de As(III) em *C. reinhartii* em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1} e pH 6,0 ± 0,1. Concentrações iniciais de As(III) ($C_{Hg,T}$) de 1 a 13 µmol L^{-1}..... 171

Figura 56. Efeito do pH na remoção de As(III) de uma solução 7,0 µmol L^{-1} a 25,0 ± 0,5 ^{o}C, pH 6,0 ± 0,1, em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}, tempo de contato = 120 min. A linha tracejada corresponde as porcentagens de adsorção e as linhas sólidas a quantidade de As(III) biossorvido por grama de biossorvente. 172

Figura 56. Distribuição das espécies de As(III) em função do pH, para uma faixa de pH de 1 a 10, levando-se em consideração uma concentração inicial de Hg(II) de 10^{-6} mol L^{-1}. Espécies: H_3AsO_3 - azul claro, $H_2AsO_3^-$- amarelo, $H_4AsO_3^+$- azul..... 173

Figura 58. Efeito da concentração de $NaNO_3$ na remoção de As(III) de uma solução 27,0 µmol L^{-1} a 25,0 ± 0,5 ^{o}C, pH 6,0 ± 0,1, tempo de contato = 120 min..... 174

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Exemplos de trabalhos publicados na literatura empregando diferentes técnicas espectroscópicas e associações para a determinação de Hg e espécies com suas respectivas características analíticas..... 37

Tabela 2. Exemplos de trabalhos publicados na literatura empregando diferentes tipos de eletrodos para a determinação de Hg e espécies e suas respectivas características..... 41

Tabela 3. Exemplos de trabalhos publicados na literatura empregando diferentes técnicas espectroscópicas para a determinação de As e espécies com suas respectivas características analíticas..... 46

Tabela 4. Exemplos de trabalhos publicados na literatura empregando diferentes técnicas voltamétricas para a determinação de As e espécies com suas respectivas características analíticas..... 48

Tabela 5. Exemplos de trabalhos publicados na literatura empregando diferentes técnicas espectroscópicas para a determinação de Se e espécies com suas respectivas características analíticas..... 50

Tabela 6. Exemplos de trabalhos publicados na literatura empregando diferentes técnicas voltamétricas para a determinação de Se e espécies com suas respectivas características analíticas..... 51

Tabela 7. Substâncias contendo tiol, usadas para modificar a Na^+-vermiculita (Na-VT)..... 68

Tabela 8. Sequência de operações realizadas no sistema SIA-SWASV para a determinação de Hg(II)..... 81

Tabela 9. Influência das possíveis espécies interferentes em meios aquáticos no sinal voltamétrico para a determinação de Hg(II) 0,30 μmol L^{-1} a um nível de interferência próximo a ±5%..... 95

Tabela 10. Variação do sinal voltamétrico e cronopotenciométrico para medidas da solução do branco (HCl 0,050 mol L^{-1}) antes e após medidas de soluções contendo Hg(II) 0,50 e 10,0 μmol L^{-1}..... 100

Tabela 11. Influência das possíveis espécies interferentes em meios aquáticos no sinal voltamétrico para a determinação de As(III) a um nível de interferência próximo a ±5%..... 108

Tabela 12. Influência das possíveis espécies interferentes em meios aquáticos no sinal voltamétrico para a determinação de Se(IV)..... 119

Tabela 13. Áreas superficiais totais e análises elementares para os materiais estudados (n = 2)..... 122

Tabela 14. Parâmetros cinéticos de adsorção para a adsorção de Hg(II) nos materiais de vermiculita a 25,0 ± 0,5 ^oC..... 132

Tabela 15. Parâmetros das isotermas de adsorção (25.0 ± 0.5 ^oC) para adsorção de Hg(II) na Na-VT e vermiculita funcionalizada com tióis..... 137

Tabela 16. Variação do pH após a interação do Se(IV) com FeOH-VT..... 148

Tabela 17. Porcentagens de dessorção de Se(IV) em FeOH-VT em meio de $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1} e H_2SO_4 0,10 mol L^{-1}..... 152

Tabela 18. Concentração, pK_a e porcentagem de contribuição das cinco classes de sítios ionizáveis caracterizados na *Chlamydomonas reinhardtii*, determinados a 25,0±0,1 ºC em meio de $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}..... 156

Tabela 19. Parâmetros de Langmuir-Freundlich para a biossorção de Hg(II) em *C. reinhardtii* a 25,0 ± 0,5 ^oC em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}e diferentes valores de pH. O "pH 6,0 – F" corresponde a valores obtidos a remoção das algas da solução por filtração..... 163

SUMÁRIO

1. MERCÚRIO..... 22
2. ARSÊNIO..... 27
3. SELÊNIO..... 31
4. TÉCNICAS PARA A DETERMINAÇÃO..... 35
4.1. MERCÚRIO..... 35
4.2. ARSÊNIO..... 45
4.3. SELÊNIO..... 49
5. ANÁLISE POR INJEÇÃO SEQUÊNCIAL (SIA)..... 52
6. LIGANTES HETEROGENEOS DE OCORRÊNCIA NATURAL (LHON)..... 55
6.1. INFLUÊNCIA AMBIENTAL..... 55
6.2. USO TECNOLÓGICO..... 56
6.2.1. Argilominerais e modificações..... 57
6.2.2. Biomassa..... 59
7. OBJETIVOS..... 62
7.1. OBJETIVOS GERAIS..... 62
7.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... 62
8. PARTE EXPERIMENTAL..... 64
8.1. REAGENTES E APARELHOS..... 64
8.2. AMOSTRA DE VERMICULITA..... 66
8.2.1. Modificação com cloridrato de cisteamina (CTA) e L-cisteína (CYS)..... 67
8.2.2. Modificação com 3-mercaptopropiltrimetoxisilano (3-MPS)..... 67
8.2.3. Modificação com $Fe(OH)_3$ polimérico (FeOH-VT)..... 68
8.2.4. Caracterização da Na-VT, CTA-VT, CYS-VT e 3-MPS-VT..... 69
8.2.5. Cinética de Adsorção..... 69
8.2.6. Quantidade de adsorvente..... 70
8.2.7. Isotermas de Adsorção..... 70
8.2.8. Colunas de Adsorção..... 72
8.3. *Chlamydomonas reinhardtii*..... 73
8.3.1. Caracterização..... 75
8.3.2. Experimentos de Cinética..... 75
8.3.3. Quantidade de biossorvente..... 76
8.3.4. Isotermas de Biossorção..... 77
8.4. SISTEMA SIA-SWASV E SIA-SCP..... 78

8.4.1. Determinação de Hg(II)..... 78
8.4.2. Determinação de As(III) e Se(IV)..... 82
8.4.3. Seletividade..... 83
8.5. TRATAMENTO DE DADOS..... 84
80. RESULTADOS E DISCUSSÕES..... 86
9.1. MERCÚRIO..... 86
9.1.1. Desenvolvimento do método SIA-SWASV..... 86
9.1.1.1. Eletrólito Suporte..... 86
9.1.1.2. Potencial de Deposição..... 87
9.1.1.3. Vazão e Volume de Amostra..... 89
9.1.1.4. Figuras Analíticas de Mérito..... 91
9.1.2. Desenvolvimento do método SIA-SCP..... 97
9.2. ARSÊNIO..... 101
9.2.1. Desenvolvimento do método SIA-SWASV..... 101
9.2.1.1. Efeito da concentração de HCl..... 101
9.2.1.2. Efeito da frequência de pulso, vazão e volume de amostra..... 104
9.2.1.3. Figuras Analíticas de Mérito..... 107
9.3. SELÊNIO..... 110
9.3.1. Desenvolvimento do método SIA-SWASV..... 110
9.3.1.1. Determinação do potencial de deposição (redução) e a faixa de potenciais para a redissolução (oxidação)..... 110
9.3.1.2. Efeito da concentração de H_2SO_4..... 112
9.3.1.3. Efeito da vazão, volume de amostra e frequência de pulsos..... 114
9.3.1.4. Solução Transportadora..... 116
9.3.1.5. Figuras Analíticas de Mérito..... 117
9.4. VERMICULITA E MODIFICAÇÕES..... 121
9.4.1. CARACTERIZAÇÃO..... 121
9.4.1.1. Na-VT, 3-MPS-VT, CYS-VT e CTA-VT..... 121
9.4.1.2. FeOH-VT..... 126
9.4.2. Interação com Hg(II)..... 129
9.4.2.1. Cinética de Adsorção..... 129
9.4.2.2. Quantidade de adsorvente..... 133
9.4.2.3. Isotermas de Adsorção..... 135
9.4.2.4. Efeito do pH e da força iônica..... 139
9.4.2.5. Dessorção..... 141

9.4.2.6. Colunas de Adsorção..... 142
9.4.2.7. Seletividade..... 144
9.4.3. Interação com Se(IV)..... 145
9.4.3.1. Cinética de adsorção..... 145
9.4.3.2. Quantidade de adsorvente..... 146
9.4.3.3. Isoterma de Adsorção..... 147
9.4.3.4. Efeito do pH e da Força iônica..... 148
9.4.3.5. Seletividade..... 151
9.4.3.6. Dessorção..... 152
9.5. BIOSSORÇÃO EM *Chlamydomonas reinhardtii*..... 153
9.5.1. Caracterização..... 153
9.5.1.1. Espectros de IR..... 153
9.5.1.2. Titulação Potenciométrica..... 155
9.5.2. Interação com Hg(II)..... 157
9.5.2.1. Cinética de Biossorção..... 157
9.5.2.2. Quantidade de Biossorvente..... 159
9.5.2.3. Isotermas de Biossorção..... 161
9.5.2.4. Efeito da Força Iônica..... 166
9.5.3. Interação com As(III)..... 167
9.5.3.1. Tempo de Contato..... 167
9.5.3.2. Quantidade de Biossorvente..... 169
9.5.3.3. Isoterma de Adsorção..... 170
9.5.3.4. Efeito do pH e da Força Iônica..... 171
10. CONCLUSÃO..... 175
11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 178
12. SÚMULA CURRICULAR..... 197

1. MERCÚRIO

As intensas atividades industriais conduzem a um aumento significativo da carga de compostos potencialmente tóxicos no meio ambiente, especialmente em sistemas aquáticos (Ulusoy et al. 2012; Mil-Homens et al. 2013). O aporte de mercúrio e espécies mercuriais no meio aquático e solo recebeu e continua recebendo muita atenção devido a alta toxicidade desses compostos, longo tempo de residência e bioacumulação pelos seres vivos (Yin et al. 2012; Chandio et al. 2014; Lu et al. 2014; Wang et al. 2014).

O mercúrio é o único elemento metálico que pode ocorrer na forma líquida em condições de pressão e temperatura ambientes. No meio ambiente, o mercúrio pode estar associado a outros elementos químicos, formando compostos inorgânicos e orgânicos, tais como o cinábrio (HgS, insolúvel) e organometálicos (Baird, 2002). O transporte geoquímico (pela água, solo e ar) é resultado de reações químicas e processos biológicos (Forsythe et al. 2015).

A sua inserção no meio ambiente pode ser proveniente de fontes naturais e antrópicas. As fontes naturais são o vulcanismo e a evaporação natural, contribuindo com 2.700-6.000 T ano^{-1} (Leopold et al. 2010). As fontes antrópicas têm adicionado grandes quantidades do metal ao ambiente (2.000-3.000 T ano^{-1}). Alguns exemplos são a queima de combustíveis fosseis, incineração de resíduo médico e urbano, indústria metalúrgica, usos farmacêuticos, agricultura e a disposição de resíduos industriais ou urbanos (Johannesson e Neumann 2013; Sheykhi e Moore 2013; Lu et al. 2014; Zhou et al. 2014; Forsythe et al. 2015; Saleh 2015). As emissões de Hg por essas fontes são principalmente na forma de mercúrio elementar (Hg^0), sendo aproximadamente 99% do mercúrio total na atmosfera (Leopold et al. 2010).

As transformações biogeoquímicas e a alta mobilidade das espécies de mercúrio fazem dele um poluente global que pode ser transportado por milhares de quilômetros através da atmosfera. No ciclo biogeoquímico a fração majoritária de Hg presente na atmosfera se apresenta na forma metálica (Hg^0), e transformações biogeoquímicas podem levá-lo aos estados de oxidação I e II. Os compostos inorgânicos de Hg(I) são poucos solúveis em água, enquanto o Hg(II) forma complexos ou compostos com espécies orgânicas e/ou inorgânicas dependendo das condições ambientais. O tempo de residência desses compostos no ar é muito curto, sendo rapidamente removidos por processos de deposição devido a sua alta reatividade e solubilidade em água. A geoquímica do Hg em águas naturais é complexa, visto que a biodisponibilidade e transporte geoquímico dependem da especiação de Hg, que, por sua vez, depende da concentração de oxigênio dissolvido, do pH, do potencial redox, da força iônica, da composição química de solos, e da temperatura do meio (Araujo et al. 2010; Leopold et al. 2010; Zhao et al. 2012; Johannesson e Neumann 2013).

Ao ser inserido no ambiente aquático (sendo que 90% do Hg é proveniente da deposição atmosférica), o Hg pode formar complexos com íons cloreto e sulfeto ou ligar-se fortemente a matéria orgânica dissolvida e/ou coloidal. Pode também ser precipitado na forma de HgS (sob condições anaeróbias em presença de S^{2-}), de baixíssima solubilidade, tendendo a depositar nas partículas de sedimento. O mercúrio nos sedimentos pode também se associar a diferentes suportes inorgânicos como carbonatos, hidróxidos de Al, Fe e Mn, ou a matéria orgânica particulada, ou ainda permanecer na água intersticial, associado à matéria orgânica dissolvida e/ou coloidal e fosfatos (Araujo et al. 2010; Leopold et al. 2010).

O Hg(II) inorgânico pode ainda sofrer processos biológicos de metilação, resultando na formação de monometilmercúrio (MMeHg; CH_3Hg^+) e dimetilmercúrio (DMeHg; $(CH_3)_2Hg$), sendo estas espécies de alta mobilidade (Leopold et al. 2010; Locatelli 2010). Tais processos biogeoquímicos estão representados e resumidos na Figura 1.

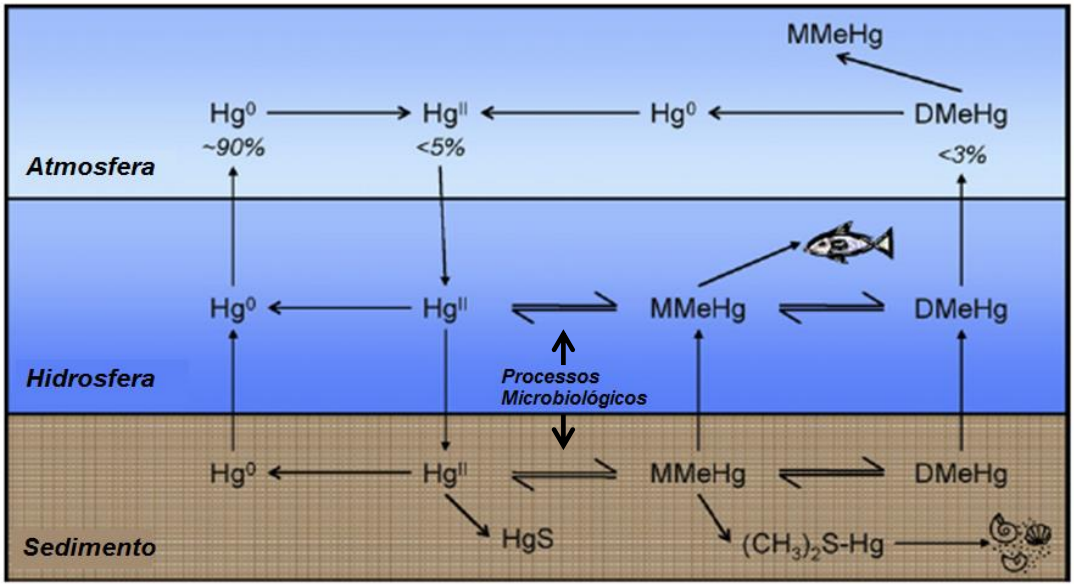


Figura 1. Ciclo biogeoquímico do mercúrio no ambiente (Leopold et al. 2010).

Todas as espécies de mercúrio são tóxicas, sendo os compostos orgânicos, como o metilmercúrio, mais tóxicos que as espécies inorgânicas. As formas metiladas de Hg são lipossolúveis, acumulando nos organismos, sendo biomagnificadas na cadeia alimentar, causando diversos efeitos nocivos a saúde dos seres vivos (Leopold et al. 2010; Johannesson e Neumann 2013; Laffont et al. 2015). O Hg(II) dissolvido no meio aquático é biometilado pelo fitoplâncton (Figura 1), originando o metilmercúrio (MMeHg) e o dimetilmercúrio (DMeHg), dando início à bioacumulação (Qiu e Wang 2016). As espécies metiladas por serem lipossolúveis, se bioacumulam primeiramente nos baixos níveis tróficos da cadeia alimentar e com a sua passagem pela cadeia alimentar, pelos diferentes níveis tróficos, alcançam o predador do topo da cadeia aquática (normalmente peixes carnívoros), ocasionando, assim, sua biomagnificação, podendo afetar as espécies mamíferas como os seres humanos (Conko et al. 2013; Laffont et al. 2015; Qiu e Wang 2016).

Como exemplo, os peixes predadores tem o mercúrio 10^6 vezes mais concentrado do que o meio aquático em que vivem, estando cerca de 95% na forma metilada (Leopold et al. 2010; Zhao et al. 2012). Dessa forma, as espécies de mercúrio são consideradas como compostos altamente perigosos de acordo com a *United States Environmental Protection Agency* (US EPA, 2011). O mercúrio e seus compostos são ainda classificados como um dos 30 poluentes de caráter altamente perigoso, segundo a *European Water Framework Directive* (EWFD, 2006) e, ainda, listados pela *United States Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act* na lista de prioridade de substâncias perigosas (US CERCLA, 1980).

Como exemplo de impacto ambiental pode-se mencionar o desastre no sudoeste do Japão em 1953 com a emissão de Hg(II) a um corpo aquático. A espécie (subproduto da produção de cloreto de vinila, que usava o cloreto de mercúrio como catalisador) foi despejada num efluente por uma indústria local e contaminou a biota marinha e as águas de sua vizinhança. A contaminação alcançou a população através da ingestão de peixes e frutos do mar, levando a um nível de mortalidade de cerca de 20% das pessoas expostas e, aos sobreviventes, incapacitação permanente (Micaroni et al. 2000; Leopold et al. 2010; Shi et al. 2015; Zaib et al. 2015). Além desse episódio, a presença de mercúrio em peixes é um grande problema em países nórdicos (Ottesen et al. 2013).

Dentre os efeitos mais graves do Hg à saúde humana temos os carcinogênicos e a neurotoxicidade que pode levar a danos permanentes ao cérebro. Tais efeitos são devido a alta afinidade das espécies de Hg(II) pelos grupos tióis presentes no aminoácido cisteína, permitindo a sua combinação com proteínas e enzimas, provocando sua inativação pelo bloqueio de seus sítios ativos. Tal efeito pode ocasionar a interferência na síntese proteica e nas atividades enzimáticas pró-oxidantes e antioxidantes de diferentes vias metabólicas, e, por consequência, o estresse oxidativo ou mesmo disfunção celular, que acaba dificultando também a sua eliminação

do organismo uma vez que a interação com Hg(II) é um processo irreversível (Walcarius et al. 2004; Zhang et al. 2013a, 2014; Sharma et al. 2014; Tinkov et al. 2015). Outros prováveis efeitos são danos aos sistemas endócrino, imune, cardiovascular, ósseo, reprodutor e renal (Conko et al. 2013; Kolya et al. 2014; Zhang et al. 2014; Shi et al. 2015).

Assim, em função de toda a problemática relacionada com a saúde humana, de acordo com as orientações da US EPA (2014), as concentrações totais de Hg(II) devem ser abaixo de 10 nmol L^{-1} (2 µg L^{-1}) em águas de consumo, enquanto que o recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) é que os níveis de Hg(II) não excedam 5 nmol L^{-1} (1µg L^{-1}) (Yin et al., 2012). Há ainda limites legislativos mais rigorosos que impuseram em muitos países o valor de 0,1 µg L^{-1} em águas superficiais (Li et al. 2016). No Brasil os valores máximos de Hg total para as diferentes classificações de corpos d'água estabelecidos pela resolução 357/05 do CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) estão na faixa de 0,2 a 2 µg L^{-1}. Já Portaria do Ministério da Saúde (MS) 2914 estabelece como padrão de potabilidade de água a concentração de 1 µg L^{-1}.

2. ARSÊNIO

O arsênio é um metalóide que ocorre naturalmente, sendo um constituinte comum da crosta terrestre, estando amplamente distribuído no solo, águas naturais e ambientes marinhos (Wang et al. 2015). Pode ocorrer em formas orgânicas e inorgânicas, sendo as formas predominantes em águas superficiais e subterrâneas, o arsenato, AsO_4^{3-}, e o arsenito, AsO_2^-, (Bhowmick et al. 2014). Para os dois casos, o estado de oxidação do arsênio (As^{3+} ou As^{5+}) dependente principalmente do pH e do potencial redox do meio (Basu et al. 2014).

O arsênio é liberado ao ambiente por fontes naturais (poeiras e vulcões) e antropogênicas, como mineração de metais não ferrosos e fundição, aplicação de agrotóxicos, combustão de carvão e madeira e incineração de lixo. O transporte e a distribuição do arsênio na água dependem da sua forma química e de interações com outros materiais presentes no meio. O As^0 é insolúvel em água, mas muitos compostos de arsênio são solúveis e podem contaminar a água subterrânea. O arsênio é introduzido na água por dissolução de rochas e minérios, efluentes industriais, incluindo resíduos de mineração e via deposição atmosférica. O arsênio presente no solo forma complexos insolúveis com óxidos de ferro, alumínio e magnésio e, nesta forma, o metal apresenta pouca mobilidade. No entanto, o As(V) pode ser liberado da fase sólida sob condições redutoras, resultando em formas de As(III) de maior solubilidade, que podem ser lixiviadas para a água subterrânea ou escoar para águas superficiais (CETESB, 2012; Basu et al. 2014; Kim et al. 2014). Na Figura 2, está apresentado um esquema da distribuição das espécies de As no ambiente.

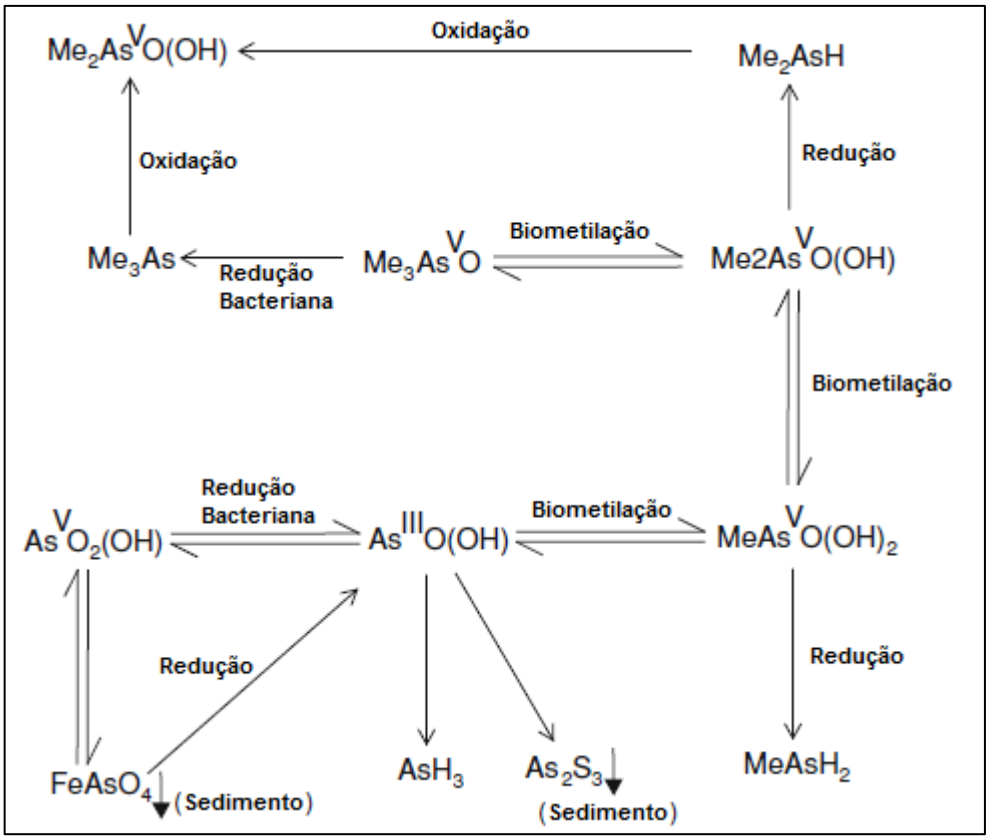


Figura 2. Distribuição de espécies de As no ambiente (Basu et al. 2014).

Os compostos de arsênio trivalentes são mais tóxicos que os pentavalentes (Teixeira et al. 2014), sendo que também as espécies inorgânicas são consideradas as formas mais tóxicas, como exemplo a arsina (AsH_3), enquanto que as suas espécies orgânicas tais como arsenobetaína ou arsenocolina são caracterizadas pelas suas baixas toxicidades (Komorowicz e Baralkiewicz 2014).

Dessa forma, o estudo da especiação de compostos de arsênio tem recebido atenção especial devido aos riscos de contaminação de meios aquáticos. A principal rota de intoxicação humana é o consumo de água contaminada, em especial de água subterrânea (Barats et al. 2014; Teixeira et al. 2014), mas pode também ser introduzido no organismo humano por meio da cadeia alimentar, devido aos processos de bioconcentração e biomagnificação. Dentre os diferentes e possíveis efeitos sobre a saúde humana, a exposição ao arsênio pode resultar em conjuntivite, fraqueza muscular, doenças de pele, problemas

respiratórios, doenças cardiovasculares (arritmia), danos ao fígado, rins e ossos, distúrbios no sistema nervoso central e vascular periférico, além de gangrena nos membros (CETESB, 2012; Fang et al. 2014; Haider et al. 2014). Ainda, o As é classificado como genotóxico, mutagênico e/ou carcinogênico pela Agência Internacional para Pesquisa do Câncer (IARC) (Komorowicz e Baralkiewicz 2014), de maneira que, em casos de exposição em longo prazo, há o risco de morte. Tais efeitos tóxicos são devido a afinidade do As(III) pelos grupos tióis de proteínas, ocasionando inibição enzimática e desnaturação de diferentes proteínas fundamentais ao metabolismo; e também devido a química do As ser comparável ao do P, uma vez que o arsenato de geometria tetraédrica é idêntica ao do fosfato, interferindo, assim, no metabolismo da glicose para a geração de ATP (Gibbon-Walsh et al. 2012; Basu et al. 2014).

Com o aumento populacional, somado às mudanças climáticas, as águas subterrâneas acabam sendo as mais importantes e estáveis fontes de água potável (Basu et al. 2014). Assim, a contaminação de água subterrânea para abastecimento humano com As é um problema sério e atual, de interesse global, resultando em alta incidência de arsenicose (envenenamento por arsênio) em mais de 20 países.

Países como Bangladesh, Índia, Taiwan e Tailândia tem reportado casos de ambientes aquáticos contaminados (Punrat et al. 2013). Por estes casos e muitos outros similares pelo mundo, as espécies de arsênio estão na primeira posição da lista das substâncias tóxicas mais perigosas no meio ambiente definida pela Agência de Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças (do inglês *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, ATSDR, 2011). Além disso, a contaminação por arsênio é atualmente considerada a causa de uma das piores crises da saúde pública, de forma que a Organização Mundial da Saúde (OMS), devido à magnitude do problema de envenenamento junto a enormes implicações para a saúde, baixou o valor de referência provisório para arsênio na água potável de 50 para 10 $\mu g\ L^{-1}$, coincidente com o

valor recomendado pela US EPA (Chen et al. 2009). Os valores máximos As total para as diferentes classificações de corpos d'água estabelecidos pela resolução 357/05 do CONAMA e pela Portaria MS 2914 variam de 0,01 a 0,69 mg L^{-1}. A população humana potencialmente exposta varia de 1 milhão a 30 milhões de pessoas em países como Vietnã, Argentina e Bangladesh, envolvendo concentrações de As de origem natural entre 1 e 9.900 μg L^{-1}, em águas de lençóis freáticos (Basu et al. 2014).

3. SELÊNIO

O selênio é um metalóide que possui 4 diferentes estados de oxidação, Se(IV) e Se(VI), presentes como SeO_3^{2-} e SeO_4^{2-} na fase aquosa, Se(0) na fase sólida ou coloidal e Se^{2-}, ocorrendo como seleneto em minerais sob condições redutoras ou em compostos orgânicos. Se(IV) é predominante em ambientes aeróbios e neutro-alcalinos e o Se(VI), em ambientes ácidos. O selênio no de maior estado valência pode formar uma grande variedade de compostos, predominantemente em formas orgânicas como proteínas (Chen et al. 2006; Beni et al. 2011).

O Se pode ser incorporado no meio ambiente via fontes naturais (como processos geofísicos e biológicos) e fontes antrópicas, como indústrias de refino de metais, mineração, fertilizantes, sendo estas responsáveis pela sua redistribuição no ambiente. As fontes naturais são responsáveis pela presença do Se no meio ambiente, enquanto as fontes antrópicas acabam por redistribuí-lo no mesmo. A atmosfera é a maior fonte natural de Se para o meio terrestre (por deposição seca ou úmida), e o meio aquático marinho é pressuposto ser a maior fonte para a atmosfera (Seixas e Kehrig, 2007).

Devido a sua boa condutividade elétrica na presença de luz, o Se tem um alto valor comercial, especialmente em ótico-eletrônicos e indústrias químicas. A principal aplicação industrial é decorrente das suas propriedades supercondutoras, que é apropriada para a conversão da energia solar em energia elétrica (Salazar-Banda et al. 2008). Cerca de 50% do Se encontrado em sedimentos e 91% do encontrado em organismos marinhos está na forma orgânica. Isso evidencia que as formas orgânicas são parte essencial do ciclo natural do Se (Figura 3), exercendo papel importante na atividade biológica de vários organismos (Seixas e Kehrig, 2007).

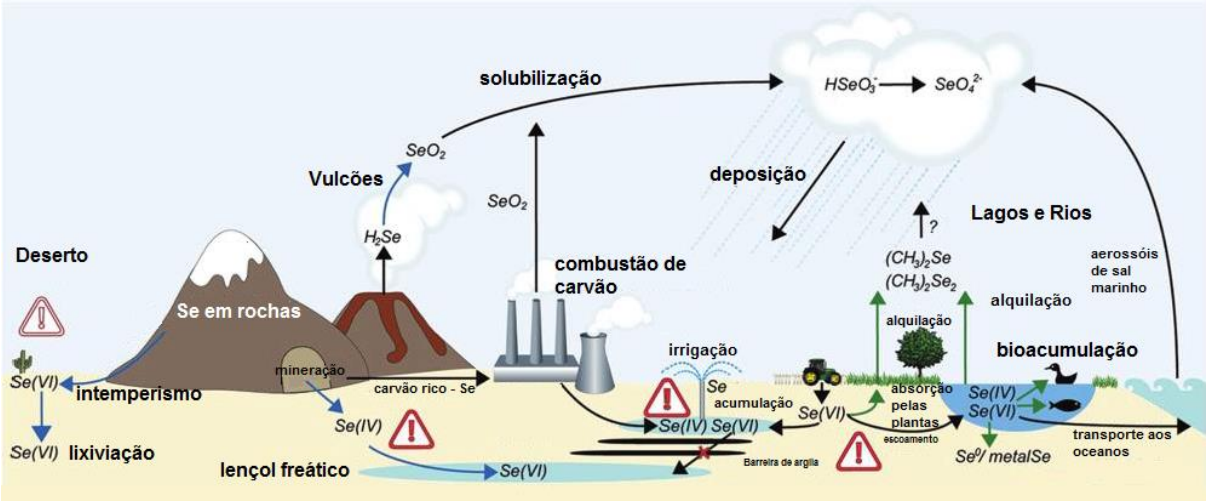


Figura 3. Esquema do ciclo biogeoquímico global do Se. Setas em azul representam processos de oxidação e as setas verdes, processos de redução. Símbolos de atenção representam os potenciais locais em que pode haver a deficiência do Se (símbolo aberto) ou seu excesso (símbolo sombreado) (Winkel et al. 2012).

A toxicidade e a disponibilidade dos compostos de selênio dependem em grande parte das suas formas químicas, as quais influenciam suas solubilidades e consequentemente suas mobilidades num determinado meio. Dos diferentes estados de oxidação que podem ser encontrados naturalmente, o Se(IV) é o mais tóxico (Beni et al. 2011; Kolliopoulos et al. 2013). Dessa forma, há um grande interesse em se entender o seu comportamento no meio ambiente e nos organismos, isto é, sua mobilidade e propriedades de adsorção na biosfera e os variados fatores que a influenciam (Kamei-Ishikawa et al. 2007; Ashournia e Aliakbar 2009; Zhang et al. 2010; Tolu et al. 2011).

A imobilização do Se ocorre pela sua remoção do meio aquático por redução química e microbiana do selenato a selenito, seguida pela adsorção nas partículas de sedimento. Já a disponibilidade à biota é devida aos processos de oxidação e metilação dos compostos inorgânicos por meio da ação de vegetais e microrganismos. A oxidação converte as formas imobilizadas em formas mais solúveis como selenito e selenato, enquanto a metilação torna o Se mais volátil (Seixas & Kehrig, 2007).

Devido à ambiguidade biológica, ou seja, importância fisiológica (como micronutriente essencial) em baixas concentrações e toxicológica (como substância tóxica para os seres vivos) em altas concentrações, o limite da concentração de Se tornou-se um ponto de discussão científica pela medicina, bioquímica, indústria alimentícia e ciência ambiental, uma vez que os níveis essenciais e tóxicos do elemento se diferem sutilmente (Bertolino et al. 2006; Wang et al. 2009; Beni et al. 2011; Kolliopoulos et al. 2013).

Autoridades de saúde ao redor do mundo recomendam o consumo de diário de 70 µg de Se para adultos. A concentração máxima permitida pela US EPA em água potável é 10 µg L^{-1}, enquanto que nos padrões no Brasil, segundo a resolução CONAMA 357/05 e a Portaria MS 2914, as concentrações limites variam de 0,01 a 0,29 mg L^{-1}, para os diferentes corpos d'água. Tal consumo pode evitar doenças decorrentes de sua deficiência como a degeneração necrótica do fígado, pâncreas, coração e rim e, em algumas vezes, diminuir o risco de câncer (Bertolino et al. 2006; Wang et al. 2009).

Os papéis biológicos do Se, além da participação na composição de proteínas (incorporação em aminoácidos, como a selenocisteína e selenometionina), incluem a defesa celular contra danos oxidativos e infecções virais, atividade anticancerígena e o controle metabólico da tireoide (Bertolino et al. 2006; Beni et al. 2011).

O Se ainda pode inibir a toxicidade de alguns elementos potencialmente tóxicos como As, Hg, Cd, Pb, Tl e Sn (Seixas & Kehrig, 2007; Kolliopoulos et al. 2013), usando para isso um hipotético mecanismo elaborado a partir de estudos com mamíferos marinhos, no qual o Se através de selenoproteínas proporciona a desmetilação do Hg pela formação de grânulos inertes de seleneto de mercúrio (HgSe) no fígado desses organismos (Seixas & Kehrig, 2007).

Por outro lado, altas concentrações podem gerar sintomas como a perda de unhas e cabelo, irritações de pele e dos olhos (Bertolino et al. 2006; Wang et al. 2009). A dose de 350 µg dia^{-1} produz tais sintomas (Lambert e Turoczy 2000), além de inibição enzimática decorrente

da substituição do enxofre pelo selênio em proteínas que estão sendo formadas nas células, gerando a ausência da ligação S-S, que ordena as moléculas de proteínas na sua estrutura terciária, necessária para o seu correto funcionamento (Seixas & Kehrig, 2007).

4. TÉCNICAS ANALÍTICAS

A toxicidade das espécies de Hg, As e Se e a tendência para a bioconcentração e bioacumulação, especialmente em organismos aquáticos, assim como a necessidade da compreensão dos mecanismos que regulam as suas mobilidades no ambiente, requerem o desenvolvimento de métodos analíticos para a aplicação em diferentes áreas (Cavicchioli et al. 2004). Pesquisas em química analítica ambiental visam o desenvolvimento de métodos para a determinação dessas espécies, com a finalidade de se obter informações sobre a sua biodisponibilidade e possível toxicidade à biota no meio em que estão presentes. Para isso, métodos rápidos e de baixo custo utilizando instrumentação portátil com potencial para medidas em campo torna-se interessante para tais finalidades (Augelli et al. 2005; Xiao et al. 2006).

4.1. MERCÚRIO

Para a determinação de Hg total, as técnicas mais comumente empregadas são as espectroscópicas, tais como a espectrometria de absorção atômica (AAS, do inglês *Atomic Absorption Spectroscopy*), a espectrometria de fluorescência atômica (AFS, do inglês *Atomic Fluorescence Spectroscopy*), que podem ser associadas a geração de vapor frio (respectivamente, CV-AFS e CV-AAS) e a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS, do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*) (Punrat et al. 2014; Yamamoto et al. 2015). Os instrumentos utilizados podem ser acoplados a sistemas cromatográficos, como a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*) para fins de especiação (Amde et al. 2016), ou a

técnicas em fluxo como a Análise por Injeção Sequencial (SIA, do inglês *Sequential Injection Analysis*). A grande utilização destas técnicas se deve a sua versatilidade, robustez, alta sensibilidade e os baixos limites de detecção (da ordem de ng L^{-1} a pg L^{-1}) (Cavicchioli et al. 2004; Yamamoto et al. 2015). Apesar de as características atrativas, as mesmas apresentam algumas limitações como: a exigência de procedimentos de pré-concentração efetivos e seletivos em casos de especiação (por não serem capazes de discriminar entre diferentes estados de oxidação); preparo de amostra devido a matriz conter uma variedade de interferentes, como amostras salinas e biológicas; o custo elevado de instrumentação e operação; além de baixa portabilidade para determinações *in situ* (Cavicchioli et al. 2004; Punrat et al. 2014; Yamamoto et al. 2015). Aplicações de diferentes técnicas espectroscópicas para a determinação de Hg em diferentes amostras podem ser encontradas em Leopold et al. (2010) e outros exemplos de trabalhos mais recentes são mostrados na Tabela 1.

Nesse contexto, a busca por metodologias analíticas capazes de determinar baixas concentrações de Hg(II), a um baixo custo, com resposta rápida e com portabilidade, especialmente em amostras de água, é alvo de estudos de vários pesquisadores por todo o mundo (Razmi et al. 2016). Assim, as técnicas eletroanalíticas acabam sendo uma alternativa para estas limitações. Suas características são simplicidade, alta sensibilidade, baixos limites de detecção, podendo alcançar até 10^{-11} mol L^{-1} (Wu et al. 1997), análises rápidas, além do baixo custo e portabilidade de instrumentação (Salaün et al. 2012; Punrat et al. 2014; Li et al. 2016).

Tabela 1. Exemplos de trabalhos publicados na literatura empregando diferentes técnicas espectroscópicas e associações para a determinação de Hg e espécies com suas respectivas características analíticas.

Técnica	Analito	Amostra	Preparo da Amostra	Faixa Linear	LD	Referência
CV-AAS	Hg(II)	Água de chuva, poço e tratada	Pré concentração em sílica magnética modificada por tiol	0,2-5,0 ng mL^{-1}	0,06 ng mL^{-1}	(Xiang et al. 2013)
CV-AFS	Hg total	Algas marinhas	Digestão ácida	2-80 ng g^{-1}	0,6 ng g^{-1}	(Fernández-Martínez et al. 2015)
ICP OES	Hg total	Sedimento	Digestão ácida	dnd*	0,05 mg L^{-1}	(Sheykhi e Moore 2013)
ICP-MS	Hg total	Solo e Sedimento	Extração e Digestão ácida	dnd*	Dnd	(Conko et al. 2013)
HPLC-HG-AFS	Hg^{2+}, MeHg, EtHg e PhHg	Água de rio e lago	Micro extração líquido-líquido dispersiva	dnd*	0,016-0,092 μg L^{-1}	(Song et al. 2013)
CE-ICP-MS	MeHg, EtHg e Hg(II)	Água e peixe	Filtração em 0,20 μm Extração ácida	0,5-100 ng mL^{-1}	0,021- 0,032 ng mL^{-1}	(Zhao et al. 2012)
HPLC-ICP-MS	Hg^{2+}, MeHg e EtHg	Água do mar	Pré concentração em coluna de troca catiônica	0,5-100 ng L^{-1}	0,008-0,42 ng L^{-1}	(Jia et al. 2012)
SI-CV-AFS	Hg total	Sedimento	Digestão ácida	0,02-30 μg L^{-1}	1,5 ng L^{-1}	(Leng et al. 2013)

*dnd: dado não disponível.

Dentre as técnicas eletroanalíticas disponíveis para a determinação de Hg(II) as de redissolução (do inglês, *Stripping*) são as mais amplamente utilizadas para a determinação de Hg, assim como de outros elementos traço (Parat et al. 2011), podendo ser a cronopotenciometria de redissolução (SCP, do inglês, *Stripping Chronopotenciometry*) e a voltametria de redissolução anódica (ASV, do inglês, *Anodic Stripping Voltammetry*). Ambas as técnicas, além das características gerais citadas anteriormente, apresentam versatilidade, possibilidade de se discriminar a fração lábil, seletividade e a possibilidade e realização de determinações multielementares (Augelli et al. 2005; Chakraborty et al. 2007). Todavia, também apresentam algumas limitações como a adsorção de matéria orgânica no eletrodo de trabalho, alteração da superfície do eletrodo de trabalho, baixa robustez e pronunciado efeito de matriz (Leeuwen & Town, 2003; Giacomino et al. 2008).

A ASV, originalmente proposta para a determinação de Hg por Perone e Kretlow (1965) é mais comumente usada, e é baseada em duas etapas. Na primeira delas aplica-se um potencial no eletrodo que seja suficiente para promover a redução e acumulação do Hg^{2+} sobre o eletrodo de trabalho de trabalho (Figura 4). A quantidade de material acumulada no eletrodo durante esse tempo é controlada pela concentração livre e lábil do metal em solução, sendo determinada pelas constantes cinéticas de dissociação e pelo coeficiente de difusão do metal livre e dos complexos, bem como pela espessura da camada de difusão durante a etapa de acumulação. Na segunda etapa aplica-se uma varredura de potencial no sentido anódico, promovendo a reoxidação do metal (Figura 4), monitorando-se a corrente gerada. Por fim se obtém um voltamograma (gráfico de corrente *versus* potencia) no qual, usualmente, a corrente limite ou de pico (dependendo do modo de varredura) é proporcional à concentração do metal livre no bojo da solução, mais a fração lábil que se dissocia dos complexos na escala de tempo do experimento (Giacomino et al. 2008; Skoog 2009).

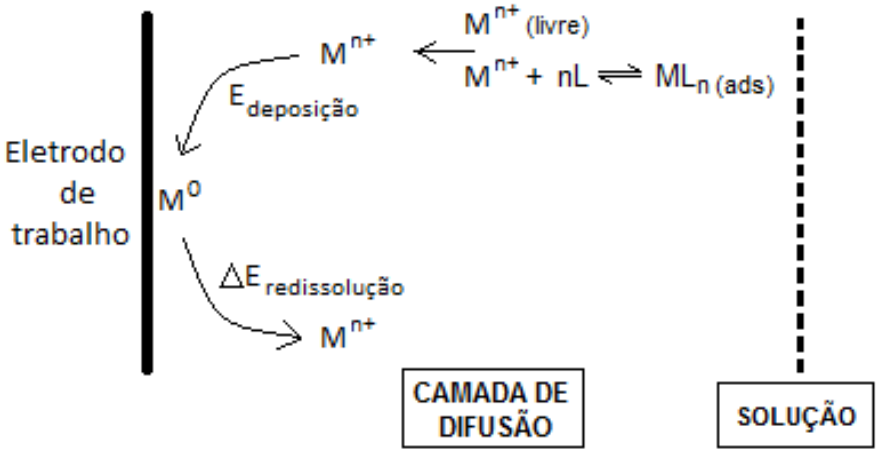


Figura 4. Representação esquemática das reações eletroquímicas envolvidas na voltametria de redissolução anódica (ASV). M = cátion metálico, n = valência, L = ligante, ML = metal ligado (podendo estar adsorvido e/ou complexado), E = potencial, ΔE = variação de potencial (varredura de potencial).

A SCP foi originalmente aplicada para determinação de Hg por Jagner (1979) usando permanganato de potássio como oxidante. Atualmente, a técnica consiste de uma etapa inicial similar de redução, mas diferindo na etapa de oxidação que ocorre pela aplicação de uma corrente constante ao eletrodo de trabalho. O sinal analítico resultante é o tempo tomado para a reoxidação, que é determinado pela medida da área sob o pico em um gráfico *dt/dE* versus *E(V)* (cronopotenciograma), onde *dt/dE* representa o inverso da derivada do tempo no potencial registrado (Parat et al. 2011).

O ácido clorídrico é usado preferencialmente como eletrólito suporte por permitir a obtenção de um formato de linha base melhor (menor corrente de fundo) em comparação a outros eletrólitos, especialmente para a ASV no modo Onda Quadrada (SW, do inglês *Square Wave*) (Giacomino et al. 2008; Bernalte et al. 2011). Quando usado como meio de redissolução, o HCl permite a formação de clorocomplexos com o Hg(II), o que facilita a etapa de redissolução (Wu et al. 1997; Abollino et al. 2008; Do Nascimento e Masini 2012; Punrat et al. 2014; Do Nascimento e Masini 2016).

Por ambas as técnicas (ASV e CSP), na determinação de Hg(II) diferentes tipos de materiais de eletrodos podem ser usados, como o ouro (Giacomino et al. 2008), diamante (Chaiyo et al. 2014), carbono vítreo (Okçu et al. 2008), pasta de carbono (Svancara et al. 1997) e grafite modificado quimicamente (Faller et al. 1999). O Au tem interessantes propriedades, incluindo alta ductilidade e maleabilidade, baixa reatividade e alta condutividade elétrica (Martín-Yerga et al. 2013), e dentre os materiais disponíveis, é o mais comumente usado como eletrodo de trabalho devido a sua alta afinidade com o Hg (pela formação do amalgama), o que aumenta seu efeito de pré concentração (Abollino et al. 2008; Giacomino et al. 2008). O Hg sofre, sobre o Au, o chamado processo de deposição em subtensão, decorrente da forte interação entre os metais após a redução do Hg^{2+}. O potencial usado para produzir a subtensão é mais positivo do que seria para a deposição normal. Como este processo ocorre apenas em baixas concentrações do metal, torna-se útil para se alcançar elevadas sensibilidades em métodos eletroquímicos (Martín-Yerga et al. 2013). Além disso, como a deposição do Hg no Au ocorre em potenciais mais positivos em relação a outros materiais, minimiza-se a deposição de outros metais. Por essas razões, o Au é o principal eletrodo de trabalho utilizado para determinações de Hg(II) por ASV ou SCP.

Há diferentes tipos de eletrodos de Au que podem ser usados para a determinação voltamétrica de Hg, como o planar, de filme, microfio, fibra, arranjo de ultra micro bandas, rotatório e de nanopartículas sobre outros substratos (Abollino et al. 2008). Em Martín-Yerga et al. (2013) são citados vários trabalhos empregando diferentes eletrodos para a determinação de Hg por técnicas eletroquímicas e na Tabela 2 estão mostrados mais exemplos.

Tabela 2. Exemplos de trabalhos publicados na literatura empregando diferentes tipos de eletrodos para a determinação de Hg e espécies e suas respectivas características).

Eletrodo	Analito	Amostra	Faixa Linear	LD	Informação	Referência
Fibra de Carbono	CH_3Hg^+	Água destilada	15-600 mg L^{-1}	dnd*	Rápida varredura (10 V s^{-1})	(Afonso et al. 2005)
Gold Microwire	Hg^{2+}	Água do mar	dnd*	0,005 µg L^{-1}	PSA (10 min de deposição)	(Salaün e Van Den Berg 2006)
Ouro sólido	Hg^{2+}	Água de rio, mar e torneira	5-50 µg L^{-1}	0,05 µg L^{-1}	ASV (9 min de deposição)	(Richter et al. 2002)
Ouro de CDs	Hg^{2+}	Água do mar e água de torneira	5-30 e 1-6 ng mL^{-1}	0,25 ng mL^{-1}	SCP (5 min de deposição)	(Richter et al. 2000)
SPCE/filme de ouro	Hg^{2+}	Água de torneira	0,2-0,8 µg L^{-1}	0,08 µg L^{-1}	SWASV (2 min de deposição)	(Mandil et al. 2010)
SPCE/filme de ouro	Hg^{2+}	Água de consumo e do mar	1-20 µg L^{-1}	0,22 µg L^{-1}	SI-SWASV (110 s de deposição)	(Punrat et al. 2014)
SPGE	Hg^{2+}	Ácido húmico	10-100 µg L^{-1}	3,4 µg L^{-1}	SI-SWASV (32 s de deposição)	(Do Nascimento e Masini 2012)
SPCE/nanopartículas de ouro	Hg^{2+}	Água de rio e de chuva	2-8 ng mL^{-1}	0,8 ng mL^{-1}	SWASV (60 s de deposição)	(Bernalte et al. 2012)
Microdiscos de irídio	Hg^{2+}	Água de consumo	1-9 µg L^{-1}	0,6 µg L^{-1}	SWASV (6 min deposição)	(Nolan e Kounaves 1999)
Diamante	Hg^{2+}	Água do mar	0,1-30 e 5-60 ng mL^{-1}	40 pg mL^{-1}	SI-SWASV (150 s de deposição)	(Chaiyo et al. 2014)
Microeletrodo de Pt	CH_3Hg^+	Peixe	5-250 µM	0,56 µM	CV (50 V s^{-1})	(Lai et al. 1998)
Pt/filme de antimônio	Hg^{2+}	Amostra de água	2,5-80 µg L^{-1}	0,39 µg L^{-1}	SWASV (2 min de deposição)	(Dal Borgo et al. 2013)

O eletrodo de ouro proporciona reprodutibilidade, sensibilidade e precisão adequadas. No entanto, após determinações sucessivas ocorrem mudanças estruturais na superfície pela adsorção irreversível do Hg (causada pela formação do amalgama Au-Hg), requerendo, assim, tratamento mecânico e eletroquímico para regenerar e superfície e alcançar reprodutibilidade (Augelli et al. 2005; Abollino et al. 2008; Giacomino et al. 2008).

Outra limitação causada pela remoção incompleta do Hg na etapa de redissolução é que o efeito acumulativo na superfície do eletrodo gera aumento da corrente de fundo nos voltamogramas e efeito de memórias em determinações sucessivas (Martín-Yerga et al. 2013). Dessa forma, dependendo da quantidade de determinações realizadas, o uso do eletrodo de ouro pode sofrer a perda de repetibilidade das determinações, como mencionado por Giacomino et al. (2008), após 5 meses de uso intenso do eletrodo.

A determinação de Hg(II) por ASV ou SCP pode ser feita com a utilização dos eletrodos impressos (SPE, do inglês *Screen Printed Electrodes*). Estes sensores eletroquímicos são simplesmente um filme depositado sobre um suporte inerte, geralmente de PVC ou cerâmica de alumina, sendo coberto por uma segunda camada de um isolante para definir uma área de contato elétrico numa extremidade e outra para ser a superfície do eletrodo (Nascimento e Angnes 1998).

Os uso de SPEs para a determinação de Hg(II) foi inicialmente proposto por (Wang e Tian 1993). Desde então, vários trabalhos têm sido descritos na literatura para a determinação de Hg(II) (Bernalte et al. 2011, 2012) , As(III), Cd(II), Pb(II), Zn(II) (Laschi et al. 2007; Khairy et al. 2010) usando SPE de ouro, ou de outros materiais como carbono, mercúrio e bismuto. O grande interesse nestes sensores se deve ao fato dos SPE serem descartáveis, eliminando a necessidade de regeneração de superfície do eletrodo de trabalho (Nascimento e Angnes, 1998), e requerendo apenas procedimentos mais simples de voltametria cíclica para a sua ativação (Beni et al. 2011).

Além dos diferentes materiais e tipos de eletrodos de trabalho, ainda existe a possibilidade de modificação desses eletrodos visando aumento de sensibilidade e seletividade nas determinações. Modificações são também muito comuns nos sensores impressos. A modificação do eletrodo é feita usualmente pela deposição de filmes (Martín-Yerga et al. 2013). Tal procedimento permite a determinação de Hg com eletrodo de platina modificada com filme de antimônio, conforme descrito por Dal Borgo et al. (2013), ou com eletrodos impressos de carbono (SPCEs) recobertos com filme de ouro descritos por Punrat et al. (2014).

Outra forma de modificação é a química, introduzindo grupos funcionais que tenham elevada afinidade por Hg(II), como aminoácidos contendo grupos tióis. Outra possibilidade é a modificação com nanopartículas de metais, de carbono ou de materiais híbridos. Essa forma de modificação afeta significativamente as propriedades dos eletrodos, aumentando as áreas superficiais, tornando o eletrodo mais sensível aos processos de superfície; aumentando sua habilidade em catalisar transferências eletrônicas; melhorando as capacidades adsortivas; permitindo ainda modificações com compostos de interesse, como biomoléculas (Martín-Yerga et al. 2013). Como exemplo, tem-se a modificação dos SPCEs com nanopartículas de Au

realizada por Bernalte et al. (2012), pela aplicação de um potencial de -0,8 V por 6 min com o eletrodo imerso em solução de $HAuCl_4$.

4.2. ARSÊNIO

Devido aos diferentes incidentes de intoxicação por As, há a necessidade do desenvolvimento de métodos analíticos avançados. Tais métodos poderiam contribuir para a criação de regulamentações legais apropriadas que venham a oferecer orientações claras para a definição de limites de concentração das espécies de As em diversas matrizes (Komorowicz e Baralkiewicz 2014).

Para determinação de As(III), as técnicas mais comumente utilizadas são a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), a espectrometria de fluorescência atômica (AFS) e a de absorção atômica (AAS) que podem ser combinadas ao forno de grafite (GFAAS, do inglês *Grafite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy*), ou com a geração de hidreto (HG-AAS e HG-AFS), sendo essas duas últimas capazes de promover a separação do analito da matriz reduzindo o efeito de vários interferentes (Punrat et al. 2013; Teixeira et al. 2014). Essas técnicas podem ser acopladas a cromatografia líquida de alta eficiência para fins de especiação, tais como: HPLC-AAS, HPLC-AFS e HPLC-ICP-MS, e/ou a técnicas em fluxo, como FI-HG-AAS e SIA-HPLC-AFS (Chooto et al. 2015). Essas técnicas apesar de fornecerem alta sensibilidade e baixos limites de detecção, são limitadas pelo alto custo de instrumentação. Na Tabela 3 estão alguns exemplos de trabalhos empregando técnicas espectroscópicas para a determinação de As e suas espécies.

Tabela 3. Exemplos de trabalhos publicados na literatura empregando diferentes técnicas espectroscópicas para a determinação de As e espécies com suas respectivas características analíticas (*dnd: dado não disponível).

Técnica	Analito	Amostra	Preparo da Amostra	Faixa Linear	LD	Referência
HG-AAS	As total	Água de consumo, superficial e subterrânea	Meio de NaOH 0,4%	1,54-10 μg L^{-1}	0,46 μg L^{-1}	(Piston et al. 2012)
HG-AAS	As(III) e As(V)	Água subterrânea	Preconcentração em leonardita	0,5-4 mg L^{-1} (As(III)) 0,5-3 mg L^{-1} (As(V))	dnd*	(Chammui et al. 2014)
HG-AFS	As total	Água residual	Meio de HCl 0,2%	0,24-100 μg L^{-1}	0,09 μg L^{-1}	(Luo 2012)
ICP-OES	As total	Solos	Extração ácida	Dnd	Dnd	(Kim et al. 2014)
HG-ICP-MS	As total	Água de consumo	Tratamento com HNO_3 (pH 1,0) e H_2O_2 1%	0,1-1 ng L^{-1}	0,25 ng L^{-1}	(Klaue e Blum 1999)
HPLC-ICP-MS	AsB, As(III), MMA, DMA, As(V)	Água destilada	Filtração em 0,45 μm	0,2-10 μg L^{-1}	0,01-0,035 μg L^{-1}	(Komorowicz e Baralkiewicz 2014)
FI-HG-AAS	As(III) e As(V)	Vegetais	Extração por ultrassom e digestão ácida	1-20 mg L^{-1}	20 μg L^{-1} (As(III)) 30 μg L^{-1} (As(V))	(Chooto et al. 2015)
SIA-HPLC-AFS	As(III), MMA, DMA, As(V)	Peixe	Extração por ultrassom e Filtração em 0,20 μm	2,5-7,5 ng mL^{-1}	Dnd	(Jesus et al. 2011)
LIBS	As total	Água subterrânea	Preconcentração em ZnO	1-100 mg L^{-1}	< 100 μg L^{-1}	(Haider et al. 2014)

A voltametria de redissolução pode ser usada na forma anódica (ASV) e catódica (CSV) para a determinação de As, podendo ser utilizados diferentes tipos de eletrodo de trabalho, como platina, ouro, substratos de carbono e diamante dopado com boro. O Au, dentre os diferentes substratos disponíveis, é o que promove uma resposta mais sensível para a oxidação do As, além de possuir um maior sobrepotencial de hidrogênio que a Pt (Giacomino et al. 2011).

Chooto et al. (2015) utilizou as técnicas FI-HG-AAS e SWCSV para a determinação de espécies de As inorgânico. FI-HG-AAS apresentou bom desempenho (LD, LQ, precisão, exatidão e sensibilidade), mas com alto custo e requerendo preparação laboratorial da amostra, enquanto que a SWCSV permitiu simplicidade, custos menores, alta seletividade, mas limitada aos maiores LD e LQ. Salaün et al. (2007) combinou SCP e ASV para a especiação de arsênio inorgânico, sendo a SCP usada para determinar As(III) e ASV para As(III) e As(V) em água do mar. Procedimento similar foi adotado por Gibbon-Walsh et al. (2010) para a especiação de As em águas doces e subterrâneas, possuindo a potencialidade para monitorar As(III) *in situ* em águas estagnadas e águas correntes por dispensar a desoxigenação e a adição de reagentes para a determinação. Gibbon-Walsh et al. (2012) aplicou a ASV para a determinação indireta de As(V). A adição de Mn^{2+} em solução promoveu a redução de As(V) a As(III), com todo o procedimento realizado em meio neutro. Na Tabela 4 estão outros exemplos de trabalhos empregando técnicas voltamétricas para a determinação de As.

Tabela 4. Exemplos de trabalhos publicados na literatura empregando diferentes técnicas voltamétricas para a determinação de As e espécies com suas respectivas características analíticas (*dnd: dado não disponível).

Eletrodo	Analito	Amostra	Faixa Linear	LD	Técnica	Referência
Planar de ouro	As(III)	Água de torneira e de rio	0,2-250 µg L^{-1}	0,15 µg L^{-1}	ASV (100 s de deposição)	(Kopanica e Novotný 1998)
Lateral de ouro	As(III)	Água de consumo	1-15 µg L^{-1}	0,06 µg L^{-1}	DPASV (120 s de deposição)	(Giacomino et al. 2011)
Microeletrodo de ouro	As(III) e As(V)	Água subterrânea, de rio, lago e de consumo	1 nM-100 µM	0,5 ng L^{-1}	CSV (60 s de deposição)	(Gibbon-Walsh et al. 2010)
GSE com filme de ouro	As(III)	Água do mar	dnd*	0,022 µg L^{-1}	SCP (150 s de deposição)	Vandenhecke (2007)
Ouro revestido com Mn	As(V)	Água do mar	75-300 nM	19,2 nM	ASV (120 s de deposição)	(Gibbon-Walsh et al. 2012)
Ouro/Mercaptoetilamina	As(III)	Água de lago	0,2-12 µg L^{-1}	0,02 µg L^{-1}	DPASV (100 s de deposição)	(Li et al. 2012)
Ouro/Aminoácido	As(III)	Águas naturais e de consumo	3-100 µg L^{-1}	0,5 µg L^{-1}	ASV (150 s de deposição)	(Chen et al. 2011)
SPGE	As(III)	Água de consumo	5-200 µg L^{-1}	2,5 µg L^{-1}	SWASV (60 s de deposição)	(Laschi et al. 2007)
SPGE/NPAu	As(III)	Água de consumo	2-30 µg L^{-1}	0,4 µg L^{-1}	ASV (300 s deposição)	(Cinti et al. 2014)

4.3. SELÊNIO

Devido a ambiguidade biológica do selênio (importância fisiológica e toxicológica), dependendo da concentração do elemento, diferentes técnicas analíticas já foram exploradas para a sua determinação e especiação. As técnicas mais comumente usadas são as espectroscópicas como a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GFAAS) ou com atomização eletrotérmica (ETAAS, do inglês *Electrothermal Atomic Absorption Spectroscopy*), ICP-MS, havendo como técnicas alternativas a eletroforese capilar (CE, do inglês *Capillary Electrophoresis*) e cromatografia acoplada à espectrometria de massa (Beni et al. 2011; Zhang et al. 2014). Santos et al. (2015) revisaram os métodos baseados em técnicas espectroscópicas para a determinação de Se e suas espécies em diferentes amostras. Na Tabela 5 são apresentados alguns exemplos dessas técnicas analíticas, o tipo de amostra estudada e o respectivo preparo de amostra, bem como as características analíticas dos métodos.

Assim como para Hg e As, a voltametria de redissolução é uma técnica alternativa muito explorada para a determinação de Se, mais comumente sendo utilizada na forma catódica (CSV), com possibilidade do uso no modo adsortivo (ACSV). Materiais como ouro, platina, carbono (grafite ou vítreo) e irídio tem sido usados como eletrodos de trabalho em voltametria (Zhang et al. 2010). Na Tabela 6 são mencionados alguns trabalhos que aplicaram técnicas voltamétricas para a determinação de Se em diferentes amostras de água.

Tabela 5. Exemplos de trabalhos publicados na literatura empregando diferentes técnicas espectroscópicas para a determinação de Se e espécies com suas respectivas características analíticas (*dnd: dado não disponível).

Técnica	Analito	Amostra	Preparo da Amostra	Faixa Linear	LD	Referência
GFAAS	Se(IV) e Se(VI)	Água de rio, mar e de torneira	Micro extração líquido-líquido dispersiva	0,1-3 μg L^{-1}	0,05 μg L^{-1}	(Bidari et al. 2007)
HG-AAS	Se(IV)	Água subterrânea e do mar	Análise direta	0,18-50 ng mL^{-1}	0,06 ng mL^{-1}	(Kozak e Niedzielski 2011)
HG-AFS	Se(IV) e Se(VI)	Águas naturais	Separação com nanopartículas de TiO_2	dnd*	0,042 e 0,024 μg L^{-1}	(Fu et al. 2012)
ET-ICP-MS	Se(IV)	Água de rio e lago	Micro extração líquido-líquido dispersiva	0,04-10 μg L^{-1}	8,6 ng L^{-1}	(Liu et al. 2015)
CE-MS	Se(IV) e Se(VI)	Água de consumo	Pré concentração on-line	5-5000 ng mL^{-1}	1,0 e 1,4 ng mL^{-1}	(Zhang et al. 2011)
IC-ICP-MS	Se(IV) e Se(VI)	Água subterrânea e solo	Extração com cloreto de hidroxilamônio	dnd*	4,2 e 3,8 μg L^{-1}	(Vassileva et al. 2001)

Tabela 6. Exemplos de trabalhos publicados na literatura empregando diferentes técnicas voltamétricas para a determinação de Se e espécies com suas respectivas características analíticas.

Eletrodo	Analito	Amostra	Faixa Linear	LD	Técnica	Referência
HMDE	Se(IV) e Se(VI)	Água do mar, de lago e de consumo	1-150 µg L^{-1}	0,35 µg L^{-1}	DPCSV	(De Carvalho et al. 1999)
Prata/filme de Hg	Se(IV)	Água	0,5-100 Nm	0,22 nM	DPCSV (45 e 90 s de deposição)	(Piech 2008)
Ultra-microeletrodo de arranjo de Au	Se(IV)	-	0-100 e 0-500 µg L^{-1}	0,42 µg L^{-1}	SWASV (10 e 200 s de deposição)	(Tan e Kounaves 1998)
GSE/filme de ouro	Se(IV) e Se(VI)	Água do mar	2-50 ng mL^{-1}	0,37 ng mL^{-1}	DPCSV (600 s de deposição)	(Ashournia e Aliakbar 2009)
Platina	Se(IV)	Água de rio	0,01-20 µg L^{-1}	0,004 µg L^{-1}	SWASV	(Bertolino et al. 2006)
Macroeletrodo SPCE	Se(IV)	Água de consumo	10-100 µg L^{-1}	4,9 µg L^{-1}	ASV (300 s de deposição)	(Kolliopoulos et al. 2013)
Prata renovável	Se(IV)	Águas superficiais	1-10 µg L^{-1}	0,15 µg L^{-1}	DPCSV (300 s de deposição)	(Bas et al. 2014)

5. ANÁLISE POR INJEÇÃO SEQUENCIAL (SIA)

A ASV e a SCP para a determinação de Hg(II), As(III) e Se(IV) podem ser combinadas com técnicas em fluxo, como a análise por injeção sequencial, SIA, do inglês, *Sequential Injection Analysis* (Ruzicka & Marshall, 1990), como já foi feito para as técnicas espectroscópicas para a determinação de Hg (Leng et al. 2013), As (Jesus et al. 2011).

O sistema SIA (Figura 5) consiste de uma bomba de pistão ou de seringa, uma única linha de transmissão e uma válvula rotatória ou seletora. Esta válvula é o componente principal do sistema, contendo de seis a dez portas, além de uma porta central, que tem acesso a cada uma das outras com a rotação da válvula. A ligação da válvula ao sistema de propulsão de líquidos é feita com uma bobina coletora conectada na porta central da válvula seletora. As outras portas desta válvula são conectadas a reagentes, amostra, padrões, detector, bobinas auxiliares, reservatório para acúmulo de resíduos, etc. Um computador comanda a bomba e a válvula (para a aspiração de determinados volumes de reagentes e amostras no sistema a uma dada vazão) com um software apropriado para controle sincronizado do movimento de ambos, assim como a aquisição de dados do detector. Com a reversão do fluxo, a zona de mistura é bombeada através da bobina de reação até a célula de fluxo do detector (Ruzicka e Marshall 1990; da Silva e Masini 2000; Masini 2008).

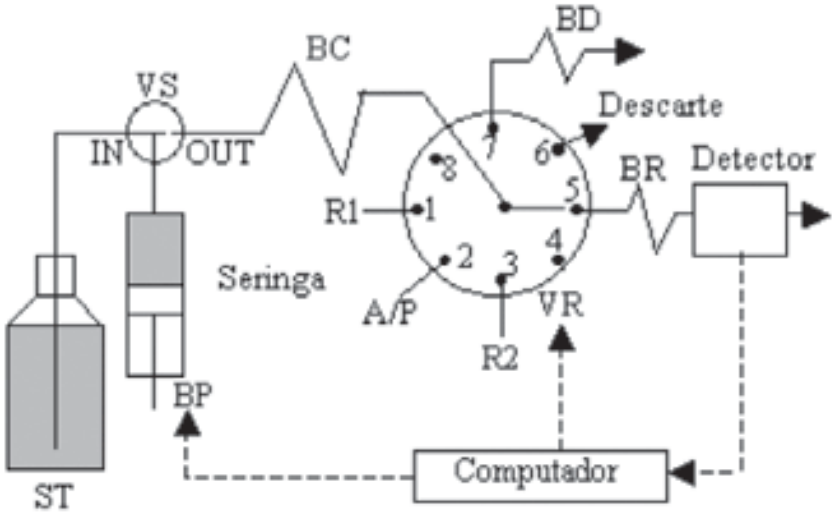


Figura 5. Representação esquemática do sistema de injeção sequencial (SIA) (Masini 2008).

A associação com SIA, SIA-ASV ou SIA-SCP, pode melhorar a desempenho das determinações de elementos traço, viabilizando a automação, com controle de amostragem e inserção de soluções no sistema (minimizando riscos de contaminação de amostras), proporcionando um menor consumo de soluções de trabalho. Por consequência diminui-se a geração de resíduos, como reportado por (Guzsvány et al. 2011), para a determinação de Cd(II), Pb(II) e Zn(II) com eletrodos de filme de antimônio e bismuto sob condições comparáveis tanto para o modo de determinação estático como em fluxo.

A combinação das técnicas também é caracterizada pela versatilidade, que permite atender a diferentes objetivos analíticos, como exemplo, o procedimento de troca de meio realizado em fluxo, originalmente proposto por Ivaska e Kubiak (1997) e aplicado em trabalhos anteriores (Do Nascimento e Masini 2012, 2014; Do Nascimento e Masini 2016), ou seja, a troca da solução usada na etapa de deposição por outra para se efetuar a redissolução, pelo bombeamento de uma solução de composição adequada (pH, concentração de tampão, etc.), que possa conter espécies químicas que auxiliem no processo de redissolução do metal. Isso contorna a distorção de sinal causado pela saturação dos sítios de adsorção na camada de

difusão durante a etapa de redissolução, no caso de estudos de complexação com ligantes naturais, além de evitar o contato do eletrodo de trabalho com O_2 atmosférico, o que ocorre quando o processo de troca de meio é realizado manualmente pela troca da cela. Além disso, as técnicas de injeção em fluxo ou injeção sequencial melhoram a precisão das medidas voltamétricas, pois a dispersão controlada e altamente reprodutível da zona de amostra nas condições de fluxo faz com que o transporte de massa apresente melhor reprodutibilidade do que a obtida no modo estático. As medidas são mais rápidas levando a uma maior frequência de amostragem. As técnicas em fluxo permitem ainda o monitoramento de processos ou aplicações *in situ*, dada a portabilidade compatível com a instrumentação eletroanalítica (Yamamoto et al. 2015).

6. LIGANTES HETEROGÊNEOS DE OCORRÊNCIA NATURAL (LHON)

6.1. INFLUÊNCIA AMBIENTAL

Atualmente é bem conhecido o fato de que a concentração total de um elemento não é um parâmetro adequado para avaliação da sua reatividade, biodisponibilidade e toxicidade no meio ambiente ou em meios biológicos. A biodisponibilidade e a mobilidade de metais-traço em amostras de ambientes aquáticos, solos e sedimentos são controlados pela presença de ligantes homogêneos e heterogêneos, os quais exercem um papel importante na manutenção da vida (Leeuwen & Town 2003; Abate e Masini 2002).

Os ligantes heterogêneos de ocorrência natural (LHON) recebem essa denominação devido a apresentarem tanto heterogeneidade de caráter físico quanto químico. Essa classificação e heterogeneidade são devidas a esses ligantes possuírem características comuns como: massa molar dentro de uma grande faixa de valores (10^2 -10^6 g mol^{-1}), grande número de sítios ionizáveis de diferentes naturezas químicas por molécula, elevadas áreas superficiais, elevada capacidade de troca catiônica, fortes propriedades polieletrolíticas e polidispersivas e capacidade de interações com íons metálicos. A última propriedade é o resultado das demais características, que fazem essa classe de compostos ter alto interesse ambiental e ser tema de pesquisa em todo o mundo, devido principalmente à sua capacidade de controle da biodisponibilidade de nutrientes e espécies contaminantes no meio ambiente (Feng et al. 2005).

Os LHON também podem ser classificados quanto a sua natureza química como orgânicos e inorgânicos. Entre os ligantes orgânicos destacam-se as substâncias húmicas, polissacarídeos e superfícies externas de membranas celulares, cujos sítios de ligação a cátions metálicos podem ser constituídos em larga extensão por grupos carboxílicos e

hidroxílicos de natureza alifática ou aromática, além de grupos amina e sulfídricos, em menor extensão. Apresentam heterogeneidade física, devido a diferenças de tamanho nas moléculas, e química, graças à diversidade de sítios de ligação, citando-se como exemplo a constituição dominada por grupos carboxílicos e fenólicos, principalmente (Buffle 1990).

6.2. USO TECNOLÓGICO

Hoje em dia há uma crescente demanda por materiais e métodos para remover Hg(II) (Banerjee et al. 2015), As(III) (Bhowmick et al. 2014) e Se(IV) (Huang 2015) de soluções aquosas com o objetivo de tratamento de águas residuais, ou mesmo para a remediação de ambientes já contaminados.

Atualmente os processos para a remoção de Hg(II), As(III) e Se(IV) de soluções aquosas podem ser baseados na precipitação química, coagulação, troca iônica, filtração em membrana, eletrólise, osmose reversa, extração com solvente, ultrafiltração, adsorção, entre outros. (Kolya et al. 2014; Türk e Alp 2014; Zhou et al. 2014; Huang 2015). Dentre esses processos, a adsorção é a tecnologia mais econômica, sendo de fácil operação, oferecendo flexibilidade para a aplicação e, em muitos casos, resultando em alta qualidade no tratamento de efluentes (Sharma et al. 2014; Zhou et al. 2014). Em tecnologias de adsorção, diferentes materiais podem ser empregados, como os próprios LHONs, que são materiais muito atrativos pelas suas características (Sharma et al. 2014).

6.2.1. Argilominerais e modificações

A adsorção em argilominerais como esmectitas ganhou interesse devido a sua abundância no meio ambiente e seu baixo custo. Alguns destes materiais têm uma grande área superficial (como no caso da montmorilonita), ou alta capacidade de troca catiônica (por exemplo, a vermiculita). A modificação de argilominerais pode ser de origem natural ou artificial, por processos físicos ou químicos. Modificações naturais são estudadas buscando-se compreender a mobilidade de elementos traço num dado meio e como a interação entre argilominerais e outras espécies naturais, tais como substâncias húmicas e fúlvicas, também com propriedades adsortivas, atua nesse processo (Feng et al. 2005; Do Nascimento e Masini 2012, 2014). Modificações artificiais são exploradas tecnologicamente (Aguado et al. 2005; Chammui et al. 2014; Wang et al. 2014), tendo-se como objetivo a exploração de diferentes argilominerais e formas de modificação destes visando o estabelecimento de tecnologias alternativas, de baixo custo e eficientes para o tratamento de efluentes industriais, ou também para o desenvolvimento de tecnologias para pré-concentração de íons (Dias Filho e Do Carmo 2006).

A vermiculita é um argilomineral comumente usado em processos de adsorção. É um argilomineral de classe 2:1, Figura 6, com cargas permanentes negativas geradas pela substituição isomórfica de Si(IV) por Al(III), principalmente nas folhas tetraédricas (McBride 1994). Estas cargas negativas são contrabalançadas por Na^{+}, Ca^{2+} e Mg^{2+} (presentes no espaço interlamelar) e conferem elevada capacidade de troca catiônica para o material. A adsorção de cátions metálicos pela vermiculita ocorre principalmente por troca catiônica interlamelar, onde íons interagem com as cargas negativas permanentes presentes, mas também através da formação de complexos de esfera interna ou externa que envolvam grupos Si-O e Al-O nas bordas de partículas minerais (Brigatti et al. 2005).

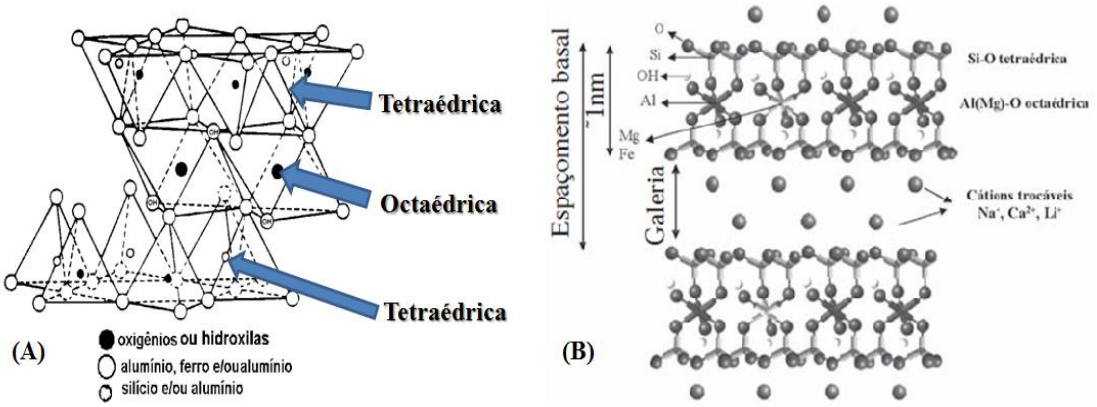


Figura 6. (A) Estrutura cristalina para argilominerais do tipo 2:1 (Silva Junior 2007); (B) Espaçamento basal de um argilomineral (Paiva et al. 2008).

A vermiculita pode ser utilizada na sua forma natural (Dos Anjos et al. 2014), ou depois de uma modificação química ou física para melhorar a sua afinidade e/ou seletividade para um dado adsorbato ou classe de adsorbatos (Abate e Masini 2005; Kónya e Nagy 2011). Devido a presença de grupos silanóis e aluminóis reativos na estrutura da vermiculita, assim como os cátions interlamelares trocáveis, a modificação química pode ser através de ligação covalente ou da troca iônica, possibilitando a introdução de compostos orgânicos ou inorgânicos na estrutura destes argilominerais (Nam e Gomez-Salazar 2003; Zhou et al. 2014).

A modificação pode melhorar a capacidade de adsorção da vermiculita para Hg(II), assim como para As(III) e Se(IV). Como exemplo, uma das formas de modificação é baseada na inserção de compostos que apresentam o grupo sulfidrila (R-S-H), os quais apresentam grande afinidade com íons desses elementos. Exemplos são os trabalhos de Nam e Gomez-Salazar (2003) com cerâmica organofilizada, Aguado et al. (2005) para sílica mesoporosa e Guerra et al. (2009) que modificou esmectita com o reagente sililante 3-mercaptopropiltrimetoxisilano, sendo todos os trabalhos visando a remoção de Hg(II) de amostras aquosas.

6.2.2. Biomassa

Outras estruturas moleculares consideradas reguladoras da biodisponibilidade de íons potencialmente tóxicos são superfícies biológicas, que possuem compostos ou grupos funcionais que podem interagir com espécies contaminantes (Buffle 1990). Esses processos podem ser chamados biossorção e podem envolver diferentes tipos de biomassa - espécies de bactérias, algas, fungos e leveduras – as quais podem e vem sendo utilizadas para o desenvolvimento de metodologias de baixo custo e com alta eficiência para a remoção de íons contaminantes de meios aquosos, chamados de processos de biorremediação. Esses processos são uma alternativa aos processos de adsorção convencionais, e, portanto, muitos pesquisadores tem explorado o uso de diferentes tipos de biomassa, como fungos, bactérias ou algas, ativos ou mortos (Tang et al. 2011) para o desenvolvimento de tecnologias de remediação mais baratas e efetivas (Bayramoglu et al. 2006; Sari e Tuzen 2009). Como exemplos, temos os diferentes trabalhos descritos por Hashim et al. (2011) empregando vários tipos de biomassa para remediação de águas subterrâneas contaminadas com metais potencialmente tóxicos.

Dentre as diferentes biomassas disponíveis, as algas têm elevadas capacidades de biossorção de íons metálicos porque sua parede celular é constituída por uma estrutura fibrosa e amorfa resultante da incorporação de vários polissacarídeos e proteínas contendo grupos amino, carboxílico, fenóis, hidróxido, fosfato, sulfidrílico, entre outros, que complexam esses íons metálicos, (Tüzün et al. 2005; Bayramoglu et al. 2006). Os benefícios do uso das microalgas como tecnologia de biorremediação são a rápida concentração de metais, uso sem riscos ao meio ambiente, baixo custo, reusabilidade/reciclabilidade, rápida taxa de crescimento (comparada com plantas superiores), aplicabilidade a ambientes contendo de

baixa a alta concentração de espécies metálicas, alta eficiência de remoção de metais e alta seletividade (Kumar et al. 2015).

Dessa forma, há o interesse no estudo de biossorção de íons metálicos por microalgas, pelo fato destas desempenharem um papel no controle de concentração de espécies metálicas em meios aquáticos. Inthorn et al. (2002) usaram uma grande variedade de espécies de microalgas para a remoção de Cd, Pb e Hg de meio aquoso. Diferentes trabalhos usando microalgas imobilizadas para a remoção de poluentes de efluentes são descritos por De-Bashan e Bashan (2010) com ênfase aos aspectos práticos da aplicação desse tipo de tecnologia de remediação. Suresh Kumar et al. (2015) cita uma grande variedade de trabalhos com diferentes espécies de algas usadas para a remoção de metais potencialmente tóxicos com foco nos fatores bióticos e abióticos que afetam a remoção, estratégias de utilização e as tecnologias de remediação baseadas em algas atualmente em uso. Já Abinandan e Shanthakumar (2015) discutem as chances e oportunidades da aplicação das microalgas para o tratamento de efluentes mencionando diferentes tipos de águas e uso para este propósito.

Dentre as algas unicelulares, a microalga *Chlamydomonas reinhardtii*, neste contexto, ganha grande destaque devido sua ampla tolerância a metais potencialmente tóxicos como cobre, zinco, chumbo, cobalto, níquel, mercúrio, prata e ouro (Tüzün et al. 2005). Essa microalga vem sendo utilizada amplamente como organismo modelo para homeostase metálica, resposta de estresse induzido por metais e na área de ecotoxicologia (Elbaz et al. 2010).

A *Chlamydomonas reinhardtii* é uma alga verde unicelular eucariótica pertencente ao filo *Chlorophyta*. Esta espécie de alga pode ser encontrada ao redor do mundo no solo, águas doces, oceanos, e, às vezes, na neve e no topo de montanhas. A microalga possui um volume quando totalmente crescida de aproximadamente 56,05 μm^3. Tem o formato elíptico e seus

flagelos são claramente definidos nos lados frontal e traseiro que permitem a sua movimentação e reprodução. Possui uma parede celular e um cloroplasto, onde está o aparato fotossintético no qual ocorrem processos metabólicos críticos, Figura 7 (Harris 2001). Os mecanismos de biossorção são divididos em 2 processos: (1) incluem mecanismos não-metabólicos como as interações iônicas e formação de complexos entre os íons metálicos e os grupos funcionais presentes na parede celular; (2) processo dependente do metabolismo que envolve o transporte dos íons metálicos através da membrana celular e posterior acumulação na célula por meio da ligação com compostos intracelulares, tais como as fitoquelatinas, dando assim possibilidade a diferentes mecanismos de interação, como ligação covalente, reações redox, dentre outros (Kumar, 2015).

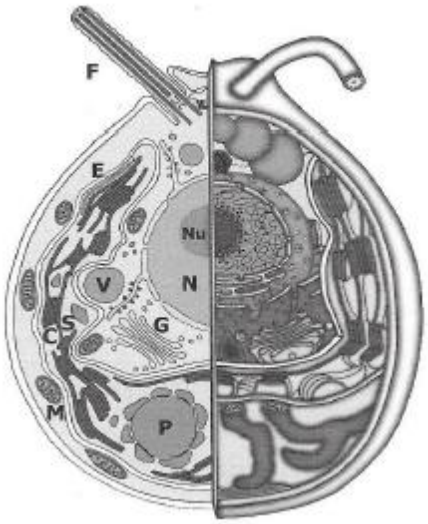


Figura 7. Ilustração da estrutura da célula da *Chlamydomonas reinhardtii*. N = núcleo central, Nu = nucléolo, F = flagelo, C = cloroplasto, E = fotorreceptor, P = pirenoide contendo amido, M = mitocôndria, G = vesículo de Golgi, S = granulos de amido, V = vacúolos (Harris 2001).

7. OBJETIVOS

7.1. OBJETIVOS GERAIS

Desenvolver métodos de análise por injeção sequencial com detecção eletroquímica (SCP ou SWASV) para a determinação de Hg(II), As(III) e Se(IV). Aplicar esses métodos para avaliar a remoção dos mesmos metais e metalóides por ligantes/adsorventes heterogêneos e microalgas, de maneira a se efetuar, quando possível, a determinação da fração lábil em solução na presença do ligante, sob condições de pH e força iônica que simulem condições ambientais ou nas condições que melhor favoreçam os processos adsortivos.

7.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver métodos automatizados em SIA com detecção eletroquímica (SCP ou SWASV), usando sensores impressos ou eletrodo planar de Au, para a determinação de Hg(II), As(III) e Se(IV), buscando a situação de compromisso entre sensibilidade e frequência de amostragem apropriada para estudos de adsorção.

- Avaliar comparativamente as técnicas de detecção SWASV e SCP em termos de sensibilidade, linearidade e viabilidade para estudos de adsorção de Hg(II).

- Modificar a vermiculita com compostos orgânicos contendo o grupamento sulfidrila, como a L-cisteína, cisteamina e o reagente sililante 3-mercaptopropiltrimetoxisilano. Intercalar a vermiculita com poli-hidróxi-cátions de Fe(III).

- Estudar comparativamente a adsorção/dessorção em termos de capacidade e constante de adsorção, cinética de interação, seletividade e efeitos do pH e da força iônica na adsorção de Hg(II) pelas vermiculitas modificadas com tióis.

- Avaliar a vermiculita intercalada por poli hidróxi-cátions de Fe(III) para a adsorção de Se(IV).

- Estudar a biossorção de Hg(II) e As(III) pela microalga *Chlamydomonas reinhardtii* efetuando as determinações diretamente na presença das células visando avaliar a labilidade dos complexos formados.

8. PARTE EXPERIMENTAL

8.1. REAGENTES E INSTRUMENTAÇÃO

As concentrações de Hg(II) (livre e lábil) foram determinadas por cronopotenciometria de redissolução (SCP) usando um potenciostato PalmSens (Palm Instrumento BV, Houten, Holanda) e o software PSTrace 2.4 para controle de instrumentos e aquisição de dados. A célula de fluxo eletroquímica foi montada com o sensor impresso comprado da PalmSens, e consistiu de um eletrodo de trabalho de filme de Au (área de 7,06 mm^2), um pseudo-referência de Ag e um contra eletrodo de grafite (Laschi et al. 2006). A manipulação das soluções foi realizada no sistema de análise por injeção sequencial utilizando instrumentos e procedimentos descritos em outros trabalhos (Do Nascimento e Masini 2012, 2014).

Os experimentos de adsorção/dessorção em batelada foram feitos em um agitador orbital termostático da Marconi (Piracicaba, SP, Brasil), modelo MA-832, com temperatura fixada a 25,0 ± 0,5 ºC. Salvo indicação em outro local, todos os experimentos de adsorção/dessorção foram feitos em tubos de centrífuga de polipropileno da Cornning® (capacidade de 15 mL), que foram acomodados na posição horizontal no interior do agitador. As suspensões foram filtradas através de filtros de seringa de 0,45 mm (Minisart®, Sartorius Stedim Biotech GmbH, Alemanha).

Determinações de enxofre foram feitas por espectrometria de emissão ótica por plasma indutivamente acoplado (ICP OES) usando um instrumento Spectro Arcos (Spectro Analytical Instruments GmbH, Kleve, Alemanha) após a digestão das amostras com HNO_3 concentrado a 80 ºC em sistema fechado em um bloco digestor. Espectros de Infravermelho (IR) por transformada de Fourier foram obtidos em um Espectrômetro Perkin Elmer-Frontier

usando pastilhas de KBr na faixa espectral de 4000 a 400 cm^{-1} com resolução de 1 cm^{-1}. Análises elementares foram feitas com um analisador elementar da Perkin Elmer 2400 series II (Waltahn, MA, EUA).

Microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi feita com um instrumento Fesem Jeol JSM-740 1F (Jeol Ltda, Tóquio, Japão). Experimentos de difração de Raio-X (XRD) foram feitos em um instrumento Rigaku Miniflex usando uma fonte de radiação Cu Kα em voltagem = 30kV, corrente = 15 mA, fenda de espalhamento = 4,2º e fenda de recepção = 0,3 mm. Modo contínuo de escaneamento foi usado a uma velocidade = 1,000º min^{-1}, amplitude de amostragem = 0,020º e faixa de escaneamento de 2 a 50,000º.

Todos os reagentes foram de grau analítico e procedência Merck (Darmstadt, Alemanha) e Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Cisteamina (CTA), L-cisteína (CYS) e 3-mercaptopropiltrimetoxisilano (3-MPS) foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Ácido clorídrico Suprapur® da Merck Millipore (0,050 mol L^{-1}) foi utilizado como transportador no procedimento de SIA, e para condicionar as soluções de Hg(II) após os processos de adsorção/dessorção. As curvas de calibração para quantificação de Hg(II) foram construídas com soluções preparadas por diluição adequada de uma solução padrão 1000 mg L^{-1} para ICP (em 10% v v^{-1} HNO_3) da Merck (Rio de Janeiro, Brasil). A determinação da área superficial total foi feita com éter monoetílico de etilenoglicol (EGME) da Merck. O meio de adsorção foi tamponado a pH 6,0 ± 0,1, utilizando ácido 2- (N-morfolino) etanosulfônico (MES) da Sigma-Aldrich. Um medidor de pH E-654 da Metrohm (Suíça) foi utilizado para medições de pH, equipado com um eletrodo combinado de vidro da Metrohm (Ag/ AgCl, KCl 3 mol L^{-1}, saturado com AgCl) calibrado com tampões de pH 4 e 7. A força iônica foi ajustada com $NaNO_3$ de grau analítico da Merck. Outras soluções utilizadas neste trabalho foram: $NaNO_3$ 0,50 e 2,0 mol L^{-1}; HCl 0,050 e 1,0 mol L^{-1} (Suprapur®); HNO_3 0,10 e 1,0 mol L^{-1}; acetato de amônio 1,0 mol L^{-1}; NaOH 0,10 e 3,0 mol L^{-1}; etanol 95% (v v^{-1}). As soluções foram

preparadas com água de alta pureza, destilada num destilador de vidro (Marconi, Piracicaba, SP, Brasil) e desionizada (resistividade > 18 MΩ cm) em um equipamento Simplicity 185 equipado com uma lâmpada UV da Millipore (Billerica, MA, EUA). As soluções empregadas para formação do meio de cultivo das microalgas foram a mistura da solução de Beijerinck, TAP (tris-acetato-fosfato) e de micronutrientes, com os preparos detalhadamente escritos na *seção 8.3.* Foi utilizada uma bomba peristáltica (Watson-Marlon, 403U/C8) nos experimentos descritos na *seção 8.2.8*.

8.2. VERMICULITA

A vermiculita bruta da mina Massapê (Paulistana, PI, Brasil) foi moída com almofariz e pistilo, e peneirada. Uma fração granulométrica entre 212 e 300 µm foi escolhida para os estudos de adsorção. Esta amostra peneirada (80 g) foi tratada com HCl 1,0 mol L^{-1} (250 mL) durante 3 h. A suspensão foi centrifugada (15 min, 3000 rpm) e a fase sólida foi lavada com água desionizada até a água de lavagem não apresentar cloreto detectável ($<10^{-5}$ mol L^{-1}) (Do Nascimento e Masini 2014), o que foi verificado por meio de reação com solução de $AgNO_3$ 2 mol L^{-1} (em HNO_3 0,1 mol L^{-1}). Para obter a vermiculita homoiônica em Na^+, a forma protonada foi tratada com 250 mL de $NaNO_3$ 1 mol L^{-1} durante 24 h, sob agitação contínua. A vermiculita homoiônica em Na^+ (Na-VT) foi lavada com água desionizada, filtrada através de membrana 0,45 um, e seca em estufa a vácuo a 45 °C até massa constante.

8.2.1. Modificação com cloridrato de cisteamina (CTA) e L-cisteína (CYS)

Quantidades adequadas de CYS e CTA (cujas características estão apresentadas na Tabela 1) foram adicionadas a uma dispersão de Na-VT (10,0 g de Na-VT em cerca de 70 mL de água), ajustada para pH 6,0 pela adição de NaOH ou HNO_3. As massas de CYS e CTA foram calculadas para proporcionar uma razão molar 1: 1 entre o tiol e a CTC (Capacidade de Troca Catiônica) da Na-VT (1,154 ± 0,006) mmol g^{-1}. A dispersão foi agitada num agitador orbital (180 rpm, 25,0 ± 0,5 ° C) durante 72 h, o tempo necessário para que o sistema atingisse o equilíbrio, o que foi verificado pela determinação da concentração de tiol livre em uma alíquota da solução em contato com a vermiculita. Esta determinação foi feita em intervalos de 24 h por meio de análise por injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica (Chagas et al. 2009).

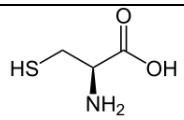
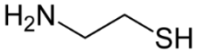
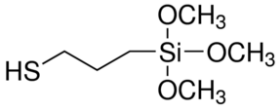
As fases sólidas das dispersões foram decantadas e a solução foi rejeitada. Os sólidos foram lavados com porções de 50 mL de água desionizada (três vezes) sob agitação durante 5 minutos, rejeitando as águas de lavagem. Depois disso, os materiais foram secos a vácuo (40 °C) até peso constante. Os materiais resultantes foram nomeados como CYS-VT e CTA-VT para as vermiculitas trocadas com L-cisteína e cisteamina, respectivamente.

8.2.2. Modificação com 3-mercaptopropiltrimetoxisilano (3-MPS)

A modificação de Na-VT com 3-MPS (Tabela 7) foi baseada no procedimento de Guerra et al. (2009). Em resumo, 5,0 g de Na-VT foram dispersos em tolueno isento de água (seco com $MgSO_4$ anidro, 1,5 g para 100 mL), seguido pela adição de 5,0 mL de 3-MPS. A

dispersão foi continuamente borbulhada com N_2 dentro de uma garrafa de lavagem de gás e aquecida até ao ponto de ebulição de tolueno durante 3 h. O tolueno foi descartado e os sólidos foram lavados com porções de 10 mL de tolueno e em seguida com acetona (3 vezes com cada solvente). Finalmente, o material foi seco em vácuo a 40 °C por 12 h, e o material resultante foi denominado 3-MPS-VT.

Tabela 7. Substâncias contendo tiol, usadas para modificar a Na^+-vermiculita (Na-VT).

Organotiol	**Estrutura**	**Massa Molar (g mol^{-1})**	**PKa** Carboxílico	Tiol	Amino
CYS[a]		121,15	1,71	8,33	10,78
CTA[b]		77,15	-	8,19	10,75
3-MPS[c]		196,34	-	- [d]	-

[a] L-cisteína, [b] cisteamina, [c] 3-mercaptopropiltrimetoxisilano, [d] não há pKa reportado ao grupo tiol de 3-MPS em meio aquoso.

8.2.3. Modificação com poli-hidróxi-cátions de Fe(III)

A vermiculita modificada por poli-hidróxi-cátions de Ferro(III) foi baseada no procedimento de Abate e Masini (2005). Numa primeira etapa foi feita a preparação da dispersão de intercalação de Fe(III), pela adição de 50 mL de solução de NaOH 0,40 mol L^{-1} a 50 mL de $FeCl_3$ 0,4 mol L^{-1} a uma vazão de 1,0 mL min^{-1} usando uma bomba peristáltica. O meio de reação foi mantido sob aquecimento e agitação enquanto a solução de NaOH foi bombeada, promovendo uma razão molar de $[OH^-]$:[Fe(III)] de 1:1. A solução foi mantida a 50 ºC por 48 h. Em seguida, a dispersão de Na-VT (Na-VT em 100 mL de água desionizada,

para auxiliar na mistura) foi aquecida a 50 ºC e a solução de intercalação foi adicionada a uma vazão de 1,0 mL min^{-1}, sob forte agitação e a uma proporção de 10 mmol de Fe(III) por grama de Na-VT. A suspensão foi deixada em repouso por 72 h. Por fim, a fração líquida foi descartada e a fração sólida lavada 3 vezes com água desionizada para a remoção do excesso de Fe(III) e seca em vácuo a 40 °C por 12 h, resultando no material denominado como FeOH-VT.

8.2.4. Caracterização da Na-VT, CTA-VT, CYS-VT e 3-MPS-VT

Os procedimentos para a determinação da capacidade de troca catiônica (CTC) e da área superficial total (AST) da Na-VT foram previamente descritos nos trabalhos de Hesse (1971) e Chlou e Rutherford (1993), respectivamente.

8.2.5. Cinética de Adsorção

Para estes experimentos envolvendo Na-VT, CYS-VT, CTA-VT e 3-MPS-VT, 250 mL de uma solução de Hg(II) 1,0 μmol L^{-1}, tamponada a pH 6,0 com tampão MES 0,01 mol L^{-1} em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1} foi agitada continuamente com uma barra de agitação magnética. A esta solução foi adicionado 0,625 g do adsorvente, sob agitação contínua, e foram amostradas alíquotas de 2,0 mL, depois de 0, 5, 15, 30, 60, 120 minutos de tempo de contato. As alíquotas foram filtradas e acidificadas para gerar soluções finais a 0,050 mol L^{-1} de HCl (usado como eletrólito suporte). O mesmo procedimento foi adotado para o

experimento envolvendo Se(IV) e FeOH-VT, acondicionadas em pH 6,0 por adição de NaOH em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1} e com acidificação do meio para 0,10 mol L^{-1} de H_2SO_4. O método SIA-SCP foi usado para determinar as concentrações de Hg(II).

8.2.6. Quantidade de adsorvente

Quantidades de adsorventes de 25, 50, 75 e 100 mg foram pesadas em tubos de centrífuga (n = 3). Alíquotas de 10 mL de solução de Hg(II) 0,70 μmol L^{-1} condicionadas a pH 6,0 (tampão MES 0,010 mol L^{-1} em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}) foram adicionadas aos tubos, que foram fechados e agitados em um agitador orbital (25,0 ± 0,5 °C) durante 2 h. Após o tempo de contato, as dispersões foram filtradas e acidificadas para gerar soluções finais a 0,050 mol L^{-1} em HCl. Os experimentos envolvendo Se(IV) e FeOH-VT foram similares, mas usando soluções de Se(IV) 20 μmol L^{-1} (acondicionadas em pH 6,0 por adição de NaOH em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}) e com acidificação a 0,10 mol L^{-1} de H_2SO_4. O método SIA-SCP foi usado para determinar as concentrações de Hg(II), enquanto o SIA-SWASV foi usado para a determinar as concentrações de Se(IV).

8.2.7. Isotermas de Adsorção

Quantidades de 25 mg dos adsorventes foram tratados com soluções de Hg(II) de concentrações variando de 1 a 100 μmol L^{-1} em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1} a pH 6.0 (0,010 mol L^{-1} de tampão MES). As dispersões foram agitadas durante 2 h (250 rpm, 25,0 ± 0,5 ° C) e, em

seguida, filtradas em membranas de 0,45 μm de porosidade. As soluções resultantes foram acidificadas a 0,050 mol L^{-1} de HCl. Para avaliar as taxas de dessorção em condições ácidas, os resíduos nos tubos de ensaio foram tratados com 10 mL de HCl 0,050 mol L^{-1} por 2 h a 25,0 ± 0,5 °C, e por fim, as soluções foram separadas por filtração e posteriormente analisadas para determinação das concentrações de Hg(II) pelo método SIA-SCP.

Para avaliar o efeito do pH sobre a adsorção, experimentos semelhantes foram feitos ajustando o pH da suspensão para valores de pH de 2,0, 4,0, 6,0 e 8,0 por adição de soluções de NaOH ou HNO_3. Todas as soluções foram preparadas em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1} para manter constante a força iônica. O efeito da força iônica foi avaliado em pH 6,0 usando soluções de $NaNO_3$ 0,050, 0,25 e 1,0 mol L^{-1}. Estes experimentos para avaliar o efeito do pH e da força iônica tiveram concentrações iniciais de 10,0 μmol L^{-1} de Hg(II), massa adsorvente de 25,0 mg e o volume final de 10,0 mL. Para corrigir a adsorção de espécies de Hg(II) ($Hg(OH)_2$, Hg-MES) em tubos de centrífuga de polipropileno, ou precipitação de HgO, soluções padrão de Hg(II) foram tratadas de modo semelhante ao descrito para os estudos de adsorção (condições de pH, força iônica, tempo de agitação e temperatura), mas na ausência dos adsorventes.

Para os experimentos de adsorção entre Se(IV) em FeOH-VT, procedimentos similares aos descritos para Hg(II) foram realizados, mas usando-se concentrações iniciais variando de Se(IV) de 1 a 400 μmol L^{-1} e acidificação a 0,10 mol L^{-1} de H_2SO_4. Para avaliar as taxas de dessorção, os resíduos nos tubos de ensaio foram tratados inicialmente com 10 mL de $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1} por 2 h a 25,0 ± 0,5 ° C, e por fim, as soluções foram separadas por filtração e posteriormente analisadas para determinação das concentrações Se(IV). A dessorção foi avaliada em meio H_2SO_4 0,10 mol L^{-1}, adotando-se o mesmo procedimento. Para avaliar o efeito do pH sobre a adsorção, os valores de pH investigados foram 4,0, 5,0, 6,0 e 10,0. O efeito da força iônica foi avaliado em $NaNO_3$ 0,050, 0,25 e 1,0 mol L^{-1}. A

concentração inicial de Se(IV) em ambos os experimentos (pH e força iônica) foi de 5,0 μmol L^{-1}.

A seletividade do material FeOH-VT foi avaliada por experimentos similares aos de adsorção, entretanto foram usadas concentrações iniciais de Se(IV) de 5,0 μmol L^{-1} na presença individual de espécies como Cd^{2+}, Pb^{2+}, Cu^{2+}, As^{3+}, Ca^{2+}, Mg^{2+} (5,0 μmol L^{-1}) e Cl^{-}, PO_4^{3-} e SO_4^{2-} (1,0 mmol L^{-1}). O método SIA-SWASV foi utilizado para determinar as concentrações de Se(IV)

8.2.8. Colunas de Adsorção

Tubos de polieteretercetona (PEEK) (50 mm de comprimento x 2 mm de diâmetro interno) foram preenchidos com os materiais adsorventes (cerca de 180 mg) e ligados ao sistema de fluxo contínuo esquematizado na Figura 8. Primeiramente, os canais de fluxo foram cuidadosamente preenchidos com água desionizada e HCl 0,050 mol L^{-1} para remover as bolhas de ar da coluna e da célula de fluxo eletroquímica. Em seguida, o fluxo foi interrompido e o canal preenchido com água desionizada foi imerso na solução de Hg(II) 100 μmol L^{-1}. A bomba peristáltica foi ligada simultaneamente com a aplicação do potencial de redução de 0 V no sensor impresso. As soluções foram bombeadas (0,6 mL min^{-1}) até que a coluna fosse saturada com Hg(II), ou que um aumento sistemático da corrente de redução medida pelo potenciostato fosse observada. A partir da curva de *breakthrough* obtida, a capacidade de adsorção dos materiais foi estimada após se descontar o volume morto do canal correspondente a solução de 100 μmol L^{-1} Hg (II).

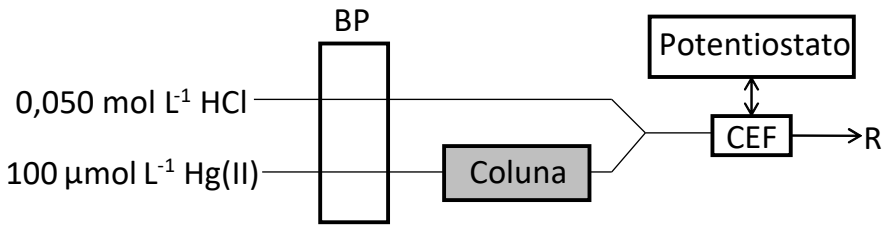


Figura 8. Sistema de fluxo contínuo para avaliação das colunas de adsorção. BP = bomba peristáltica (vazão = 0,6 mL min^{-1} em cada canal); CEF = cela eletroquímica de fluxo (detecção amperométrica a 0 V vs. referência de Ag/AgCl); R = descarte de resíduos.

8.3. *Chlamydomonas reinhardtii*

O meio de cultivo da microalga *Chlamydomonas reinhardtii* consiste de uma mistura de 6,25 mL da solução de Beijerinck, 6,25 mL da solução de Tri-acetato-fosfato (TAP) e 250 µL da solução de metais para o preparo de 1 L de solução de cultivo. A solução Beij foi preparada pela dissolução de 16 g de NH_4Cl, 4 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ e 2 g de $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ em 1L de água desionizada. A solução TAP foi feita pela dissolução de 97 g de tris(hidroximetil)-aminometano, 40 mL de tampão fosfato $H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$ (em concentrações de 0,4 e 0,6 mol L^{-1}, respectivamente) e com pH ajustado a 7,0 (pela adição de ácido acético concentrado) em 1 L de água desionizada. A solução de metais consistiu na dissolução de 11,4 g de H_3BO_3, 22 g de $ZnSO_4.7H_2O$, 5 g de $MnCl_2.4H_2O$, 5 g de $FeSO_4.7H_2O$, 1,6 g de $CoCl_2.6H_2O$, 11 g de $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ e 50 g de $Na_2.EDTA.2H_2O$, em um 1 L de água desionizada). As soluções de nutrientes e tampão, as vidrarias e os demais materiais usados para o cultivo, foram esterilizados em autoclave (Phoenix, AV-50) (Harris 1989).

À solução do meio de cultivo (após 24 h da preparação para atingir o equilíbrio) foram acrescidos cerca de 10 mL da solução estoque da microalga (preparada sob mesmas condições, mas num volume de 500 mL, usada exclusivamente para o preparo de novos

cultivos). A solução foi mantida em uma incubadora com temperatura controlada (Marconi, MA-403) a 20º C e com luminosidade ajustada a 350 μE m^{-2} s^{-1}, com ciclo claro/escuro de 12 h, por cerca de 4-7 dias para que fosse atingida a fase exponencial do crescimento populacional das algas.

Após o tempo de crescimento, entre 250 e 500 mL da suspensão das microalgas foram submetidos a uma primeira etapa de centrifugação a 2737 x *g* a 10 ºC por 10 min, para a remoção do meio de cultivo. A biomassa (fração sólida) foi recolhida em um único tubo de 50 mL e lavada com 3 porções de 30 mL de $NaNO_3$ 0,010 mol L^{-1} para remoção das substâncias provenientes do meio de cultivo. Após isso, a biomassa foi dispersa em 30 mL de $NaNO_3$ 0,010 mol L^{-1}, na suspensão usada para a contagem, caracterização e controle de força iônica nos experimentos de adsorção.

Para a contagem das células de microalgas, 1,0 mL da suspensão concentrada foi adicionado a um tubo de 15 mL, junto a 1 mL de lugol (mistura de I_2 1% e KI 2%) e o volume final foi ajustado a 10 mL. Essa solução foi usada para preencher uma câmara de contagem do tipo Fuchs Rosenthal (Labor Optik), e a contagem das células foi feita em 16 subáreas da câmera usando um microscópio (Bioval). Os valores das contagens dessas 16 áreas foram somados e multiplicados por um fator de 5000 para se obter a concentração em células mL^{-1}, a qual foi convertida para células L^{-1} (levando-se a diluição ocorrida), a ser usada nos experimentos de biossorção.

8.3.1. Caracterização

As microalgas lavadas (9,6 mg, o que corresponde a 20 mL de cultura de células contendo (4,0 ± 0,4)x10^9 células L^{-1}) foram suspensas em 20,0 mL de $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1} em um recipiente de titulação termostatizado (25,0 ± 0,2 ºC). Esta suspensão foi acidificada com 2,0 mL de HCl 0,10 mol L^{-1} padronizado (em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}) para protonar os grupos superficiais ionizáveis (observações por microscopia ótica evidenciaram que nenhuma ruptura das paredes celulares ocorreu como consequência da acidificação). Depois de o sistema atingir o equilíbrio térmico, a titulação foi realizada por adição de pequenos incrementos de NaOH 0,10 mol L^{-1} (em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}) padronizado para promover a variação do pH de 3 a 11 em intervalos de cerca de 0,1 unidades de pH. Os dados obtidos, volume de NaOH e p^cH (pH em termos de concentração de íons de hidrogênio), foram tratados matematicamente utilizando as funções de Gran modificadas que forneceram a concentração e o pKa dos sítios ionizáveis na superfície das microalgas (Maguerroski et al. 2013).

8.3.2. Experimentos de Cinética

Para estes experimentos, 100 mL de uma solução concentrada de microalgas com uma concentração de 4,0x10^9 células L^{-1} (ou 0,01387 g de biomassa) em meio iônico de $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1} foi agitada continuamente com uma barra de agitação magnética. A esta solução foi adicionado volume adequado da solução de Hg(II) 200 μmol L^{-1} (com pH previamente ajustado a 6,0 com NaOH), afim de gerar uma concentração de 20,0 μmol L^{-1}. Foram amostradas alíquotas de 500 μL da suspensão resultante depois de 0, 2, 5, 10, 20, 60,

90 e 180 minutos de tempo de contato pelo sistema SIA e foram logo em seguida analisadas para determinar a soma das concentrações livre e lábil de Hg(II). Para As(III), o experimento foi feito em 500 mL de suspensão de microalgas na concentração de $1{,}0 \times 10^{9}$ células L^{-1} (ou 0,045 g de biomassa) e a uma concentração de As(III) inicial de 7,0 μmol L^{-1}. Foram amostradas alíquotas de 3.000 μL da solução resultante depois de 0, 5, 10, 15, 30, 60, 90, 120 e 180 minutos de tempo de contato. Estas foram filtradas em membranas de 0,20 μm de porosidade e acidificadas a 0,50 mol L^{-1} de HCl para a determinação de As(III) pelo método SIA-SWASV.

8.3.3. Quantidade de biossorvente

Quantidades de biossorvente de 0,225, 0,450, 0,900, 1,80 e 3,60 mg (correspondentes a concentrações variando entre 5×10^{8} e 8×10^{9} cel L^{-1}) foram adicionadas em tubos de centrífuga. A força iônica foi ajustada a 0,050 mol L^{-1} com $NaNO_3$ e a concentração inicial de Hg(II) foi 15,0 μmol L^{-1}. Os tubos foram fechados e agitados em um agitador orbital (25,0 ± 0,5 °C) durante 2 h. Após o tempo de contato, as soluções foram analisadas para a determinação da concentração residual de Hg(II). Nos experimentos com As(III), há distinção nas quantidades de biomassa que foram 0,045, 0,090, 0,180, 0,360 e 0,720 mg (correspondentes a concentrações variando entre 1×10^{9} e $1{,}6 \times 10^{10}$ cel L^{-1}), bem como na concentração inicial de As(III), que foi de 10 μmol L^{-1}. Estas suspensões foram filtradas em membranas de 0,20 μm de porosidade e acidificadas a 0,50 mol L^{-1} de HCl para a determinação de As(III).

8.3.4. Isotermas de Biossorção

Volumes da solução concentrada de microalgas para gerar uma concentração de $4x10^9$ cel L^{-1} foram tratados com soluções de Hg(II) de concentrações variando de 5 a 500 µmol L^{-1} em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1} a pH 6,0 (com todas as soluções previamente ajustadas em pH 6,0). As soluções foram agitadas durante 2 h (250 r.p.m., 25,0 ± 0,5 °C) e, em seguida, analisadas para determinação das concentrações de Hg(II), que foram determinadas diretamente na solução e após filtração em membranas com porosidade de 0,20 µm. Para avaliar o efeito da força iônica e do pH sobre a biossorção, experimentos semelhantes foram feitos, mas ajustando a concentração de $NaNO_3$ para 0,10; 0,50 e 1,0 mol L^{-1} e o pH das soluções para 4,0; 5,0 e 6,0. Todas as soluções foram preparadas em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1} para manter constante a força iônica.

Os experimentos de biossorção envolvendo As(III) diferiram na concentração de microalgas usada, $1x10^9$ cel L^{-1}, e com soluções de As(III) com concentrações variando de 1 a 13 µmol L^{-1}. Para avaliar o efeito do pH, experimentos de adsorção similares foram realizados, mas com uma concentração fixa de As(III) de 8 µmol L^{-1} para os pH de 4,0; 5,0; 6,0 e 7,0, enquanto que para avaliar a força iônica, uma concentração fixa de As(III) de 7 µmol L^{-1} foi adotada.

8.4. SISTEMA SIA-SWASV E SIA-SCP

8.4.1. Determinação de Hg(II)

Medidas voltamétricas e cronopotenciométricas foram realizadas em um potenciostato PalmSens (Palm Instrument BV, Houten, Holanda) usando o software PSTrace 2.4 para controle de instrumentos e aquisição de dados. A célula de fluxo (Figura 9B) foi montada usando o sensor impresso da Universidade de Florença, SPGE (do inglês, *Screen Printed Gold Electrode*), Figura 9A, composto por um eletrodo de trabalho de ouro (área de 7,06 mm² e 450 mm de espessura), um eletrodo de pseudo-referência de Ag e um contra-eletrodo de grafite (Laschi et al. 2006) para as determinações.

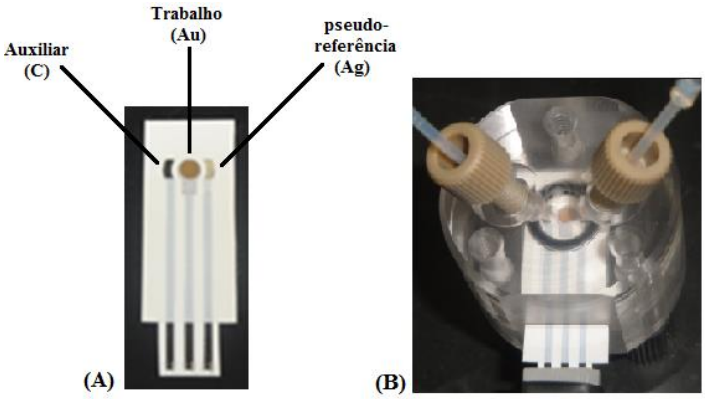


Figura 9. Sensor impresso (A) e seus respectivos eletrodos de trabalho (Au), auxiliar (C) e de pseudo-referência (Ag) e (B) o sensor impresso acoplado à célula de fluxo.

A manipulação das soluções foi feita por meio de um sistema de injeção sequencial FIAlab 3500 (FIAlab Instruments, Bellevue, WA) de acordo com a Figura 10. As soluções foram conduzidas por uma bomba de seringa de 5,00 mL Cavro, SP (Cavro Scientific Instruments, Sunnyvale, CA) e uma válvula rotativa de 10 portas, RV (Valco Instrument Co., Houston, TX). A bomba de seringa e a válvula rotatória foram ligadas através de uma válvula

de três vias, VS (Posições in e out), pela bobina coletora, BC, a qual foi feita com tubo de Teflon® de 3 m de comprimento com 0,8 mm de diâmetro interno. Conexões entre as portas da válvula rotatória com as soluções e a célula de detecção foram feitas com tubos de PTFE com diâmetro interno de 0,5 mm e conexões de PTFE (Upchurch, Oak Harbor, WA). Os controles da bomba e da válvula foram efetuados com o software FIAlab 5.0.

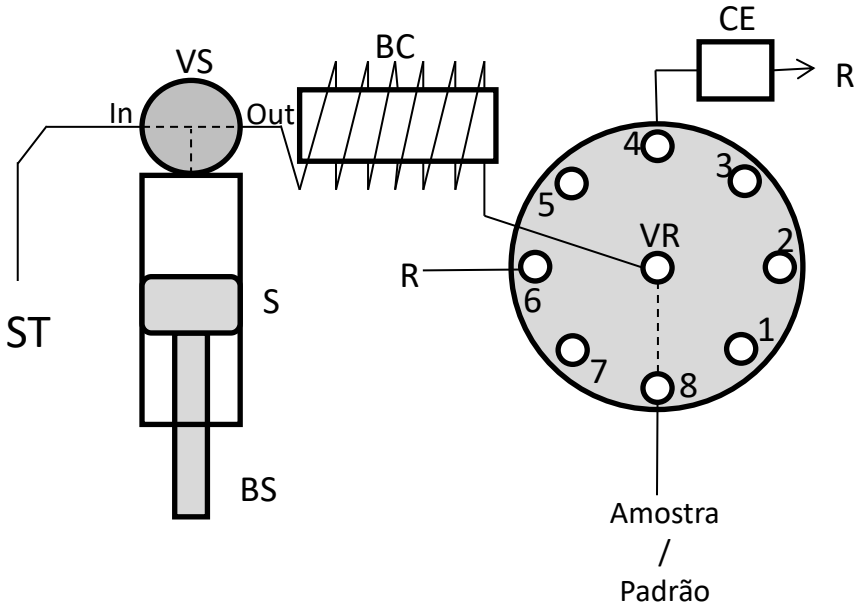


Figura 10. Sistema de injeção sequencial para a determinação de Hg(II) com detecção por voltametria de onda quadrada. ST – solução transportadora, HCl e NaCl 0,050 mol L^{-1}, VS – válvula da seringa (posições In e Out), S – seringa, BS – bomba de seringa, BC – bobina coletora (3 m de tubulação PTFE com 0,8 mm d.i.), VR – válvula de seleção rotatória; CE – célula eletroquímica de fluxo, R – rejeitos.

A ativação do eletrodo impresso de ouro (SPGE) foi feita em fluxo, baseada no procedimento de Bernalte et al. (2011), com HCl 0,050 mol L^{-1} (solução transportadora usada para preenchimento da célula eletroquímica) e realizando-se ciclos de voltametria cíclica. A sequência de procedimentos para ativação do SPGE foi: (i) sistema SIA, preenchimento da seringa com 2.000 μL da solução transportadora e envio deste volume para célula eletroquímica a uma vazão de 200 μL s^{-1} (preenchimento da célula), em seguida, sob parada

de fluxo, (ii) Potenciostato, com a aplicação de um potencial de 0,7 V por 15 s, seguido de 10 ciclos de voltametria cíclica na faixa de potencial de 0 a 0,7 V a 0,050 V s^{-1}.

O procedimento para determinar as concentrações de Hg(II) é descrito na Tabela 8. Primeiramente toda a tubulação do sistema que conecta o reservatório da solução transportadora à célula eletroquímica foi preenchida com a solução transportadora (0,050 mol L^{-1} HCl). Antes de iniciar uma nova determinação, a linha de amostragem foi conectada ao reservatório de amostra ou padrão (porta 8 de VR) e foi lavada com a solução a ser analisada. O ciclo de análise (Tabela 8) foi iniciado pela aspiração de 3.000 μL da solução transportadora (ST) para dentro da seringa (S), seguida pela injeção de 1.000 μL de ST na célula de fluxo a 100 μL s^{-1}, enquanto o potenciostato aplicava um potencial de condicionamento de 0,7 V entre os eletrodos de trabalho e de referência (etapas de 1 a 6). O volume de amostra foi aspirado para BC (etapas 7 e 8) e, durante esta operação, o potenciostato continuou aplicando o potencial de condicionamento. Porém, pouco antes destas etapas serem concluídas o potenciostato começou a aplicar o potencial de deposição de 0,3 V (etapa 9), no qual o Hg(II) presente na solução que passa pelo eletrodo será reduzido a Hg^0. Em seguida, um volume de 1.500 μL da amostra foi injetado na célula de fluxo, a uma vazão constante de 30 μL s^{-1} (etapas 10 e 11). Um volume de 500 μL da solução transportadora foi bombeado para a célula de fluxo para realização da troca de meio (etapa 12). O fluxo foi interrompido e o potenciostato fez uma varredura de potencial de 0,1 a 0,7 V, numa frequência de onda quadrada de 100 Hz, com altura de pulso de 0,03 V e amplitude de 0,04 V (etapas 12 e 14), reoxidando o Hg^0 depositado. Finalmente, a seringa foi esvaziada, expulsando toda a solução transportadora restante (etapa 15) contendo os resíduos de Hg(II) reoxidado, deixando assim o sistema pronto para uma nova determinação.

Tabela 8. Sequência de operações realizadas no sistema SIA-SWV para a determinação de Hg(II).

Etapa	Componente	Comando	Parâmetro/Posição	Comentário
1	Potenciostato		0,7 por 70 s	Aplicando potencial de condicionamento
2	VS	Comuta	In	
3	BS	Aspira	3.000 μL a 200 μL s^{-1}	Aspirando solução transportadora na seringa
4	VS	Comuta	Out	
5	RV	Comuta	Porta 2	
6	BS	Dispensa	1.000 μL a 100 μL s^{-1}	Condicionamento eletroquímico e limpeza da célula
7	VR	Comuta	Porta 8	
8	BS	Aspira	1.500 μL a 50 μL s^{-1}	Aspirando amostra para a BC
9	Potenciostato		0,3 V por 70 s	Aplicando potencial de deposição
10	VR	Comuta	Porta 4	
11	BS	Dispensa	1.500 μL a 30 μL s^{-1}	Injetando amostra na CE
12	BS	Dispensa	500 μL a 50 μL s^{-1}	Realização da troca de meio
13	BS	Parada de fluxo	10 s	Parada de fluxo para a etapa de redissolução
14	Potenciostato		Varredura 0,1 a 0,7, 100 Hz, altura de pulso 0,03 V	Varredura de potencial para a redissolução
15	BS	Esvazia	200 μL s^{-1}	Esvaziamento da seringa para o término da análise

A determinação de Hg(II) por SCP controlada por análise por injeção sequencial (método SIA-SCP) difere do método descrito anteriormente na etapa 14, na qual, sob parada de fluxo, uma corrente de oxidação de 0,10 μA é aplicada à célula, sendo registrada a carga decorrente da reoxidação do Hg^0 a Hg(II) como uma função do tempo.

A determinação da concentração de Hg(II) (C_{Hg}) foi feita por meio de curvas de calibração externas usando soluções de Hg(II) preparadas no mesmo meio iônico, $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}, e acidificadas a 0,050 mol L^{-1} de HCl (usado como eletrólito suporte). Para as

determinações envolvendo as microalgas, entre o volume de amostra de 500 μL e o transportador, foi aspirada uma bolha de ar (100 μL) para manter o pH das soluções, provenientes dos experimentos de biossorção, em pH 6,0, de forma que as soluções empregadas para a calibração também foram ajustadas a pH 6,0. Para os experimentos envolvendo as microalgas, apenas o meio iônico, 0,050 mol L^{-1} $NaNO_3$, foi utilizado para o preparo das soluções de calibração.

8.4.2. Determinação de As(III) e Se(IV)

Os métodos SIA-SWASV usados para a determinação de As(III) e Se(IV) diferem do método usado para Hg(II) pelo uso de uma célula eletroquímica composta de um eletrodo duplo de Au (2 mm de diâmetro, sendo um usado como eletrodo de trabalho e o outro como auxiliar) e um de referência de Ag/AgCl (em KCl saturado) e nas seguintes etapas anteriormente descritas pela Tabela 8:

- As(III): Na **Etapa 9** foi aplicado um potencial de deposição de -0,5 V por 105 s; na **Etapa 11** foi injetado um volume de amostra de 1.500 μL a 15 μL s^{-1}; e na **Etapa 14** a varredura de potencial foi feita entre 0 e 0,4 V.

- Se(IV): A solução transportadora usada foi H_2SO_4 0,10 mol L^{-1}. Na **Etapa 1** pela aplicação de 1,2 V por 70 s para o condicionamento; Na **Etapa 9** foi aplicado um potencial de deposição de -0,2 V por 105 s; na **Etapa 11** foi injetado um volume de amostra de 1.500 μL a 15 μL s^{-1}; e na **Etapa 14** a varredura de potencial foi feita entre 0,5 e 1,2 V numa frequência de pulsos de 50 Hz.

A determinação da concentração As(III) e Se(IV) (C_{As} *e* C_{Se}) foi similar a adotada para Hg(II), mas com soluções preparadas em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1} acidificadas a 0,50 mol L^{-1} de HCl (usado como eletrólito suporte) para o As(III) e a 0,10 mol L^{-1} de H_2SO_4 (usado como eletrólito suporte) para Se(IV). Nos experimentos envolvendo microalgas e As(III), as soluções foram centrifugadas a 2373 x *g* e filtradas em filtros de acetato de celulose de 0,20 µm para remoção da biomassa, com posterior acidificação do meio a 0,50 mol L^{-1} de HCl, enquanto para os experimentos de adsorção entre Se(IV) e FeOH-VT o mesmo procedimento foi adotado para remoção do material adsorvente, mas com a acidificação das soluções a 0,10 mol L^{-1} de H_2SO_4.

8.4.3. Seletividade

Para avaliar a seletividade dos métodos os seguintes procedimentos foram usados:

- SIA-SWASV para Hg(II): preparo de soluções de Hg(II) 0,30 µmol L^{-1} na ausência e presença de concentrações estabelecidas pelo CONAMA, Resolução nº 357 (Brasil, 2005) para a águas doces de classe III, para as seguintes espécies e respectivas concentrações em mg L^{-1}: Cu(II) 0,013; As(III) 0,033; Hg(II) 0,002; e ácidos húmico e fúlvico (AH e AF) 100. Foram comparadas as correntes de pico obtidas para a reoxidação de Hg(II) para se calcular o nível de interferência: % Interferência = ($i_{\text{Hg(II), As(III) ou Se(IV) na ausência de interferente}}$) – ($i_{\text{Hg(II), As(III) ou Se(IV) na presença de interferente}}$) x 100. As concentrações da Resolução foram usadas como valores de partida para os experimentos de seletividade, sendo usadas concentrações menores até a obtenção de um nível de interferência de ± 5%.

- SIA-SWASV para As(III) e Se(IV): o mesmo procedimentos foram adotados, mas com o preparo de soluções de As(III) ou Se(IV) 1,0 µmol L^{-1} na ausência e presença de espécies potencialmente interferentes.

8.5. TRATAMENTO DE DADOS

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados em função do desvio padrão das medidas de branco com um intervalo de confiança de 95%, conforme as equações (1) e (2) (Skoog, 2009):

$$LD = \frac{3\sigma_B}{m} \quad \text{e} \quad LQ = \frac{10\sigma_B}{m} \qquad (1) \text{ e } (2)$$

Onde m é a inclinação da curva e σ_B, o desvio das medidas do branco.

A quantidade de espécie (E, Hg(II), As(III) ou Se(IV)) adsorvida foi calculada como:

$$q = \frac{(C_{E,T} - C_E)V}{m} \qquad (3)$$

Onde q é a quantidade da espécie por massa de adsorvente em µmol g^{-1}, $C_{Hg,\,T}$ e C_{Hg} são as concentrações total e livre (mais lábil) da espécie (em µmol L^{-1}), respectivamente. V é o volume da suspensão e m é a massa do adsorvente.

Para a construção de isotermas de adsorção, os valores de q foram representados graficamente como uma função de C_E e os dados foram ajustados pelas equações de Langmuir e Freundlich (Eq. 4 e 5) por análise de regressão não-linear utilizando o software Origin 8.0 (OriginLab Corp. Northampton, MA, EUA).

$$q = \frac{q_{\max} b C_E}{1 + b C_E} \quad (4)$$

onde q_{max} é a quantidade máxima da espécies que pode ser adsorvida e b é o termo relacionado a livre energia livre de Gibbs da adsorção (Langmuir 1918).

$$q = K_f C_E^{1/n} \quad (5)$$

onde K_f é a constante empírica de Freundlich relacionada com a capacidade de adsorção ($\mu mol^{1-1/n}$ g^{-1} $L^{1/n}$) e 1/n é o termo relacionado com a intensidade de adsorção e heterogeneidade energética dos sítios de adsorção (Altmann e Buffle 1988).

9. RESULTADOS E DISCUSSÃO

9.1. MERCÚRIO

9.1.1. Desenvolvimento do método SIA-SWASV

9.1.1.1. Eletrólito Suporte

HCl 0,050 mol L^{-1} foi adotado como eletrólito suporte, pois resulta em voltamogramas com linha base e picos bem regulares e definidos (Bonfil et al. 2000; Chuanuwatanakul et al. 2008; Giacomino 2008; Bernalte 2011). Como solução transportadora e de reoxidação usou-se HCl 0,050 mol L^{-1} (diluído a partir de HCl concentrado suprapuro). Com o procedimento de troca de meio com solução de Cl^- (Walcarius et al. 2004; Xiao et al. 2006) se tem melhora na eficiência da reoxidação do Hg amalgamado pela formação de cloro-complexos ($HgCl_n^{2-n}$). Ainda, a concentração de HCl (0,050 mol L^{-1}) utilizada em estudos anteriores (Do Nascimento e Masini 2012) permitiu a realização de cerca de 50 determinações com um mesmo sensor impresso. Concentrações mais altas de HCl reduziram a vida útil desses sensores (ver *seção 9.2.1.1.*).

Para se avaliar o efeito da concentração de HCl, esta foi variada de 0,01 a 0,10 mol L^{-1} e foi verificado que o sinal independe da concentração de HCl na faixa estudada (Figura 11).

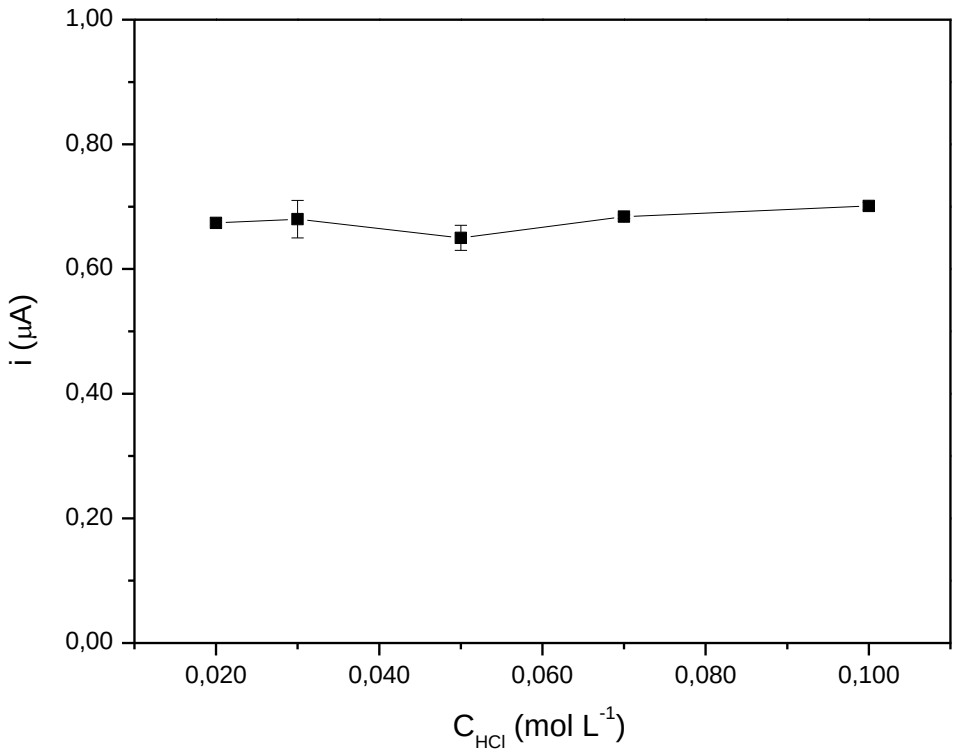


Figura 11. Variação da corrente de pico em função da concentração de HCl (0,020, 0,030, 0,050, 0,070 e 0,10 mol L^{-1}), nas seguintes condições: volume de amostra de 1.000 μL, vazão de 15 μL s^{-1}, frequência de 100 Hz, com tempo de condicionamento de 55 s.

9.1.1.2. Potencial de Deposição

Numa primeira etapa, para a variação do potencial de deposição na faixa de 0,2 a 0,37 V, verifica-se que o sinal analítico tende a diminuir no sentido anódico (entre 0,25 e 0,37 V), Figura 12. No sentido catódico se tem aumento do sinal voltamétrico (de 0,3 a 0,2 V). Resultados similares foram reportados por Abollino et al. (2008) (para uma faixa de potencial de -0,4 a +0,4 V). Esses autores adotaram um potencial de deposição de 0,3 V em função da melhor reprodutibilidade para aplicação em amostras digeridas. No presente trabalho foi escolhido o potencial de deposição de 0,3 V devido à maioria dos íons metálicos não se

depositarem sob estas condições (Richter 2000), sendo também adequado para aplicação em SPGE (Bernalte et al. 2011). No entanto, foram necessários estudos de seletividade com Cu^{2+} (*seção 9.1.1.4.*) para confirmar a adoção do potencial de 0,30 V para as determinações, ao invés de potencial de 0,20 V.

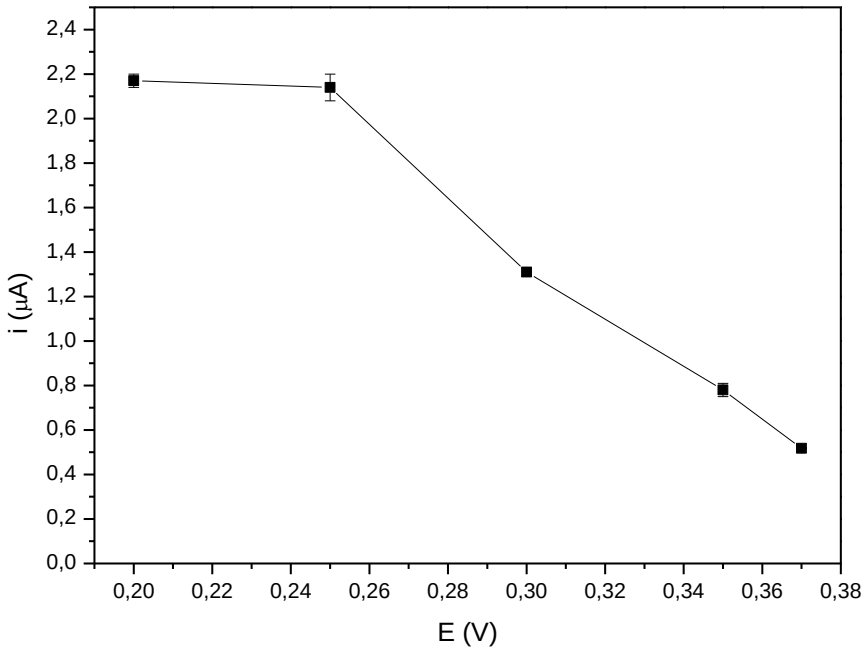


Figura 12. Variação da corrente de pico em função do potencial de deposição, nas seguintes condições: volume de amostra de 1.000 μL, vazão de 15 μL s^{-1}, frequência de 100 Hz, com tempo de condicionamento de 55 s.

Numa segunda etapa, foram feitas medidas voltamétricas com a solução de Hg(II) 0,30 μmol L^{-1}, utilizando-se um potencial de deposição de 0,30 V e 0,20 V, empregando-se vazão de 15 μL s^{-1} e volume de amostra de 1.000 μL. Segundo a Figura 13, pode-se verificar que a aplicação do potencial de deposição de 0,20 V proporciona um sinal voltamétrico 43,5 % maior.

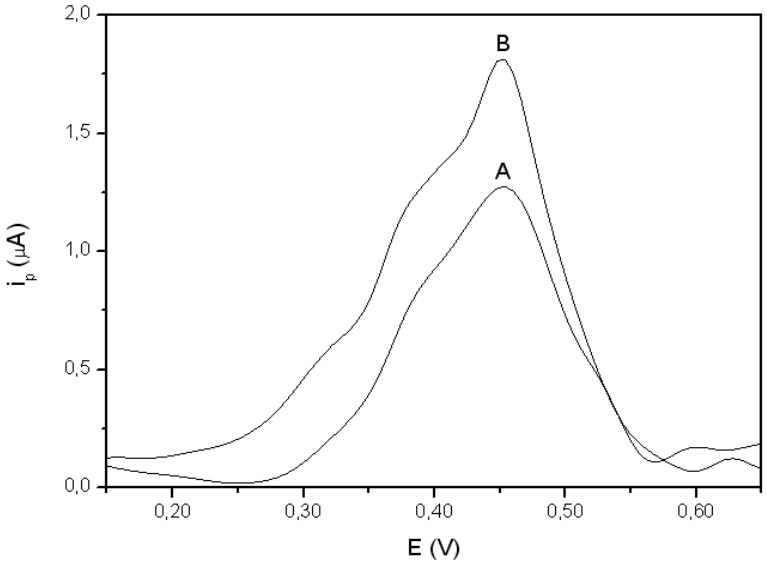


Figura 13. Voltamogramas gerados para a solução de Hg(II) 0,30 μmol L^{-1}, após subtração do sinal do branco, em potencial de deposição de 0,30 V (A) e 0,20 V (B). Demais condições adotadas: vazão de 15 μL s^{-1}, volume de amostra de 1.000 μL, tempos de condicionamento e de deposição de 55 s e frequência de 100 Hz.

9.1.1.3. Vazão e Volume de Amostra

Para avaliar o efeito da vazão e volume de amostra no sinal voltamétrico foram feitas medidas de solução de Hg(II) 0,30 μmol L^{-1} em vazões de 5, 10, 15, 30, 50 e 100 μL s^{-1} e volumes de amostra de 250, 750 e 1.500 μL. Na Figura 14 está a variação das correntes de pico em função da vazão para diferentes volumes de amostra.

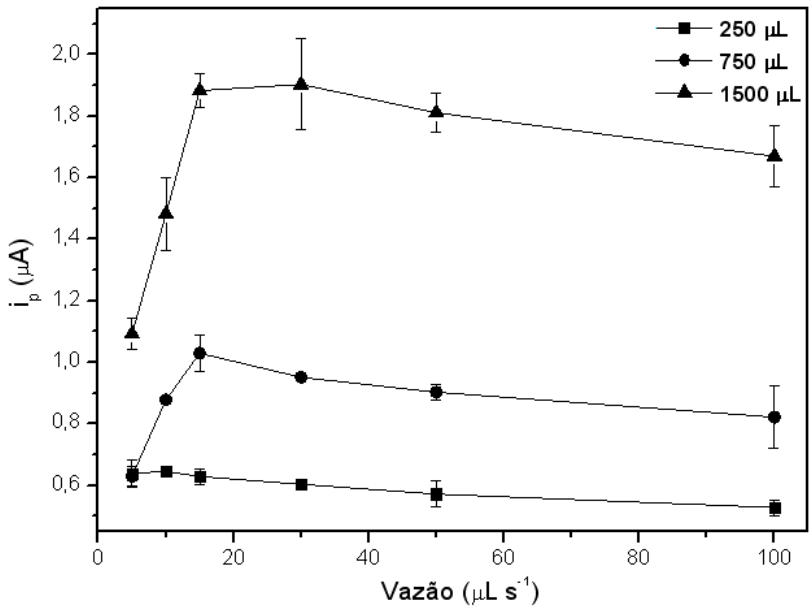


Figura 14. Variação do sinal voltamétrico em função de valores de vazão e volume de amostra de: (■) 250 µL, com respectivos tempos de deposição de 55, 30, 22, 13, 10 e 8 s, e tempo de condicionamento de 20 s; (●) 750 µL, com respectivos tempos de deposição de 155, 80, 55, 30, 20 e 13 s, e tempo de condicionamento de 55 s; (▲) 1.500 µL, com respectivos tempos de deposição de 305, 155, 105, 55, 35 e 20 s, e tempo de condicionamento de 70 s. Demais condições usadas: potencial de condicionamento 0,7 V, potencial de deposição 0,3 V e frequência de 100 Hz.

Os resultados mostram que o aumento da vazão de 5 a 15 µL s^{-1} aumenta o sinal voltamétrico, pois torna mais eficiente o transporte de massa à superfície do eletrodo de trabalho durante a etapa de deposição, independentemente dos volumes utilizados (Siriangkhawut et al. 2011). No entanto, o tempo de deposição também influencia na magnitude do sinal, isto é, com o aumento da vazão e para volumes fixos de amostra, menores foram os tempos de deposição e, por consequência, menores os sinais quando foram usadas vazões maiores que 15 µL s^{-1} (Ninwong et al. 2012). Dessa forma, baseando-se na melhor relação entre eficiência no transporte de massa e tempo de deposição, as vazões de 15 ou 30 µL s^{-1} e o volume de 1.500 µL poderiam ser adotados para a etapa de deposição do método. Levando-se em consideração a frequência de amostragem, o uso da vazão de 15 µL s^{-1} leva a uma frequência de 18 determinações h^{-1}, enquanto com 30 µL s^{-1}, esta seria

de 24 determinações h^{-1}, ou seja, 33% maior, sendo que o ganho em sinal seria pouco significativo. Assim a vazão de 30 μL s^{-1} foi escolhida para o método.

Com a finalidade de verificar a reprodutibilidade dos resultados, estes experimentos foram realizados em diferentes SPGEs de mesma procedência, no caso feitos em 2 eletrodos. Ambos os eletrodos apresentaram resultados similares, confirmando assim os parâmetros adotados.

9.1.1.4. Figuras Analíticas de Mérito

A melhor faixa de resposta linear foi para o intervalo de concentrações entre 0,07 e 0,50 μmol L^{-1} (r = 0,996), Figura 15, com níveis de concentração de 0,10, 0,20, 0,30, 0,40 e 0,50 μmol L^{-1}, em HCl 0,050 mol L^{-1}, e sob as condições de 1.500 μL de volume de amostra e vazão de 30 μL s^{-1}. A faixa alcançada corresponde a metade da faixa obtida por Walcarius et al. (2004), entre 0,1 e 1,0 μmol L^{-1}, para o mesmo potencial de deposição de 0,3 V, mas com um eletrodo de ouro rotatório.

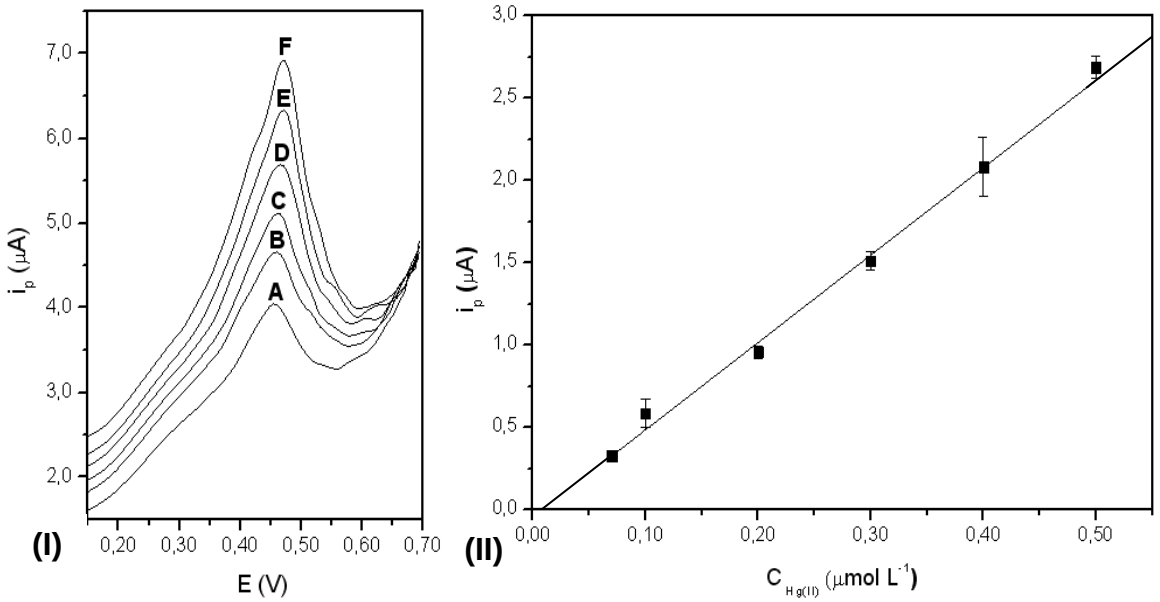


Figura 15. (I) Voltamogramas obtidos para os níveis de concentração: branco (A), 0,10 (B), 0,20 (C), 0,30 (D), 0,40 (E) e 0,50 μmol L^{-1} (F). (II) Curva analítica (i_p = 5,3±0,1.$C_{Hg(II)}$ – 0,04±0,02, r = 0,996) obtida no intervalo de concentrações de Hg(II) entre 0,070 e 0,10 μmol L^{-1}, sob as condições: vazão de 30 μL s^{-1}, volume de amostra de 1.500 μL, potencial de condicionamento de 0,7 V, potencial de deposição de 0,3 V e frequência de 100 Hz.

Os limites de detecção e quantificação foram de 0,022 e 0,075 μmol L^{-1}, respectivamente, ou 4,0 e 14,0 μg L^{-1}. O LD determinado é muito menor do obtido por Sheykhi e Moore (2013), de 50 μg L^{-1}, por espectrometria de plasma indutivamente acoplado (ICP), e cerca de 3,6 vezes maior que o LD reportado por Bernalte et al. (2011) de 1,1 μg L^{-1} para SPGE em um tempo de deposição próximo de 1 min. LDs menores são encontrados em trabalhos em que elevados tempos de deposição (t_{dep}) são adotados, como exemplos, Richter e colaboradores (2000), de 0,25 μg L^{-1} para um t_{dep} de 5 min; Wu et al. (1997), com t_{dep} de 10 min e um LD de 0,11 nmol L^{-1}; e Abollino et al. (2008), que adotaram um t_{dep} de 2 min, proporcionando um LD de 0,40 μg L^{-1}. Melhorias na sensibilidade podem ser alcançadas usando SPCEs com filme de Au formado “in situ” (sob um fluxo de solução de Au e

aplicação de um adequado potencial de deposição) como reportado por Punrat et al. (2014), ou por várias etapas de reversão de fluxo para aumentar o tempo de deposição sem aumentar o volume de amostra (Ribeiro e Masini 2014).

Numa outra etapa preparou-se uma solução de Hg(II) 0,070 μmol L^{-1}, concentração próxima ao limite de quantificação, para se verificar se tal concentração poderia ser realmente quantificada. Na Figura 16 estão os voltamogramas obtidos.

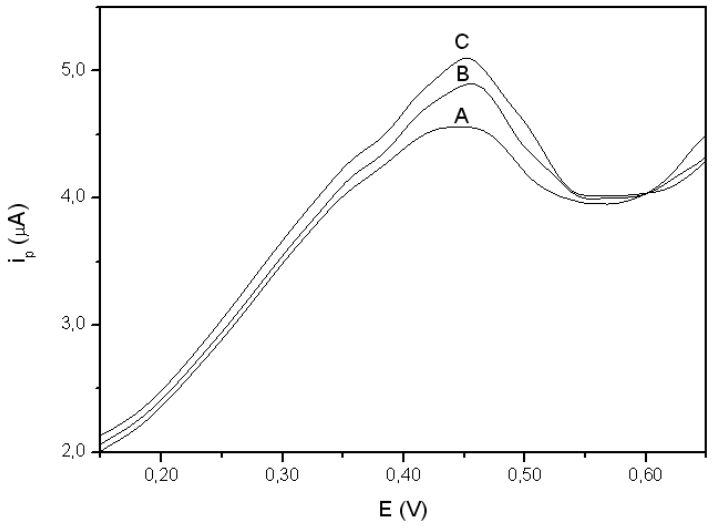


Figura 16. Voltamogramas para soluções de HCl 0,050 mol L^{-1} (A), Hg(II) 0,070 μmol L^{-1} (B) e 0,10 μmol L^{-1} (C). Condições usadas: vazão de 30 μL s^{-1}, volume de amostra de 1500 μL, potencial de condicionamento de 0,7 V, potencial de deposição de 0,3 V, e frequência de 100 Hz.

A precisão foi avaliada pela repetividade das correntes de pico obtidas com soluções de Hg(II) 0,10, 0,20 e 0,30 μmol L^{-1} (n=3), para as quais os respectivos desvios padrões relativos (DPR) das correntes foram 4,4 %, 4,2 % e 2,9 %.

Foram investigados os efeitos da presença de outras espécies iônicas no sinal voltamétrico do Hg(II). Na Tabela 9 estão apresentadas todas as espécies possivelmente interferentes estudadas com suas respectivas concentrações que provocaram um nível de interferência < ± 5%.

Dentre os íons estudados não foi observada nenhuma interferência. No entanto, como discutido na seção 10.1.1.2., mesmo com o aumento do sinal com a aplicação do potencial de deposição de 0,20 V, foram feitas medidas voltamétricas de soluções de HCl 0,050 mol L^{-1} e de Hg(II) 0,30 μmol L^{-1}, variando-se a concentração de Cu(II) de 0,10 a 1,0 μmol L^{-1} (potencial íon interferente nesse potencial), sob as mesmas condições descritas na *seção 8.4.3.* Na Figura 17 estão apresentados os voltamogramas obtidos para as situações avaliadas.

Tabela 9. Influência das possíveis espécies interferentes (E) em meios aquáticos no sinal voltamétrico para a determinação de Hg(II) 0,060 mg L^{-1} (0,30 μmol L^{-1}) a um nível de interferência próximo a ±5%.

Espécie (E)	**Concentração (mg L^{-1})**	**Razão molar $C_E/C_{Hg(II)}$**	**Nível de interferência (%)**
Mg^{2+}	0,28	38	-3
Fe^{3+}	15	895	+1
Cu^{2+}	0,1	5,2	+4
Al^{3+}	0,1	12	+3
Zn^{2+}	0,05	2,5	+4
Pb^{2+}	0,05	0,80	+5
Ni^{2+}	0,2	11	+1
Cr^{3+}	1,0	64	+2
SO_4^{2-}	0,24	8,3	+2
PO_4^{3-}	0,035	1,2	+6
AH	30	-	-2
AF	30	-	-2

Como apresentado pela Figura 17, com o aumento da concentração de Cu(II) tem-se o aumento do sinal, tanto para a solução de HCl 0,05 mol L^{-1} quanto para a de Hg(II). Nos voltamogramas da solução de HCl 0,05 mol L^{-1} com concentrações de 0,25, 0,50, 0,75 e 1,0 mol L^{-1} Cu(II) pode ser visualizado ainda um sinal característico para Cu(II) num potencial de pico de 0,30 V (Alves et al. 2013).

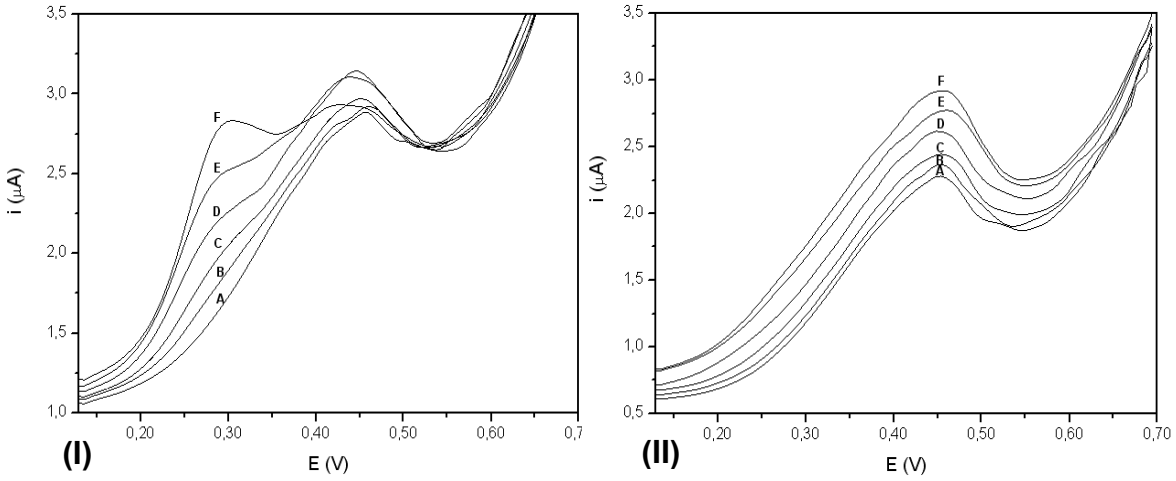


Figura 17. (I) Voltamogramas gerados para soluções de HCl 0,050 mol L^{-1} em concentrações de Cu(II) de 0 (A), 0,10 (B), 0,25 (C), 0,50 (D), 0,75 (E) e 1,0 μmol L^{-1} (F); (II) as mesmas concentrações, mas na presença de Hg(II) 0,30 μmol L^{-1}. Demais condições adotadas: potencial de deposição de 0,20 V, vazão de 15 μL s^{-1}, volume de amostra de 750 μL, tempos de condicionamento e de deposição de 55s e frequência de 100 Hz.

Estes resultados mostram que apesar de o potencial de deposição de 0,20 V proporcionar uma maior sensibilidade, a interferência por Cu(II) é significativa, tornando inviável a sua adoção para o método em desenvolvimento. Assim, o potencial de 0,30 V foi o mais adequado para as determinações de Hg(II), na eventual presença de íons Cu(II) no meio e evitando sua interferência (Richter et al. 2000; Punrat et al. 2014).

A exatidão do método foi avaliada pela análise do material certificado de sedimento estuarino ERM-CC580 (132 ± 3 mg kg^{-1}). O Hg foi extraído deste material (0,25 g, n =3) pelo tratamento com 3 mL de HNO_3 concentrado em tubos de vidro de borosilicato em sistema fechado a 80 ºC por 4 h (com taxa de aquecimento de 5 ºC min^{-1}) usando um bloco digestor. Os extratos foram diluídos a 50,0 mL com água desionizada em balões volumétricos. Os extratos foram diluídos (1:10) em HCl 0,050 mol L^{-1}. A quantificação do Hg(II) foi feita por calibração externa usando soluções padrão preparadas em HCl 0,050 mol L^{-1} e

HNO_3 0,080 mol L^{-1} (concentração de HNO_3 estimada nos extratos após a diluição). As quantificações de Hg(II) resultaram num erro relativo de 104 ± 6%.

9.1.2. Desenvolvimento do método SIA-SCP

Como alternativa ao método SIA-SWASV foi desenvolvido o método com detecção cronopotenciométrica a fim de se contornar problemas como o efeito de memória nos SPGEs. O processo de redissolução anódico não é quantitativamente reversível em medidas voltamétricas (Watson et al. 1999; Souza et al. 2003) e após uma série de medidas, considerável quantidade de Hg^0 encontra-se acumulada no eletrodo de trabalho de ouro e, por consequência, acaba-se tendo um efeito de memória quando pretende-se determinar baixas concentrações em amostras de água, por exemplo.

O método SIA-SCP baseou-se nas mesmas condições (vazão e volume de amostra) adotadas no método voltamétrico devido a etapa de deposição ser similar, mas sendo necessário verificar a melhor corrente a ser utilizada na etapa de redissolução. Para isso, foram feitas medidas cronopotenciométricas de uma solução de Hg(II) 0,50 μmol L^{-1} em correntes de redissolução de 0,1, 0,25, 0,75 e 1,0 μA, correspondentes a Figura 18. As demais condições utilizadas foram: potencial de condicionamento de 0,7 V; potencial de deposição de 0,3 V; tempo de condicionamento, 70 e 55 s, para volumes de amostra de 750 e 1.500 μL; tempo de deposição 55 s; potencial para o fim da medida de corrente de 0,7 V.

Como pode ser visto pela Figura 18, com a diminuição da corrente na etapa de redissolução foram obtidas maiores áreas de pico (convertidas em μC) para os cronopotenciogramas. Com a aplicação de correntes maiores ocorrem redissoluções mais

rápidas, não permitindo que todo o Hg^0 depositado seja reoxidado a Hg^{2+}, ocasionando em menores áreas de pico, enquanto que correntes menores tornam o processo mais lento, dando tempo suficiente para sua completude (Richter et al. 2000; Augelli et al. 2005). Dessa forma, adotou-se a corrente de redissolução de 0,1 μA para o método.

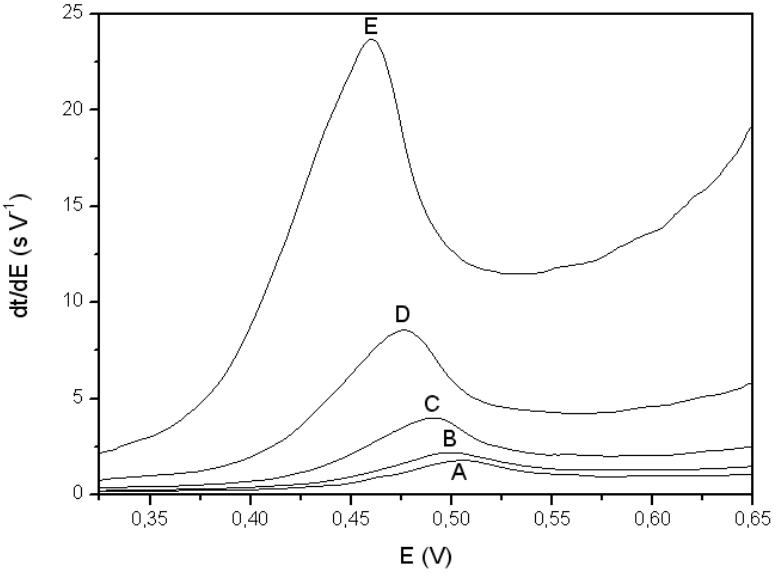


Figura 18. Cronopotenciogramas obtidos em correntes de redissolução de 1,0 (A), 0,75 (B), 0,50 (C), 0,25 (D) e 0,10 μA (E). Demais condições: potencial de condicionamento de 0,7 V; potencial de deposição de 0,3 V; tempo de condicionamento, 70 e 55 s, para volumes de amostra de 750 e 1.500 μL; tempo de deposição 55 s; potencial para o fim da medida de corrente de 0,7 V.

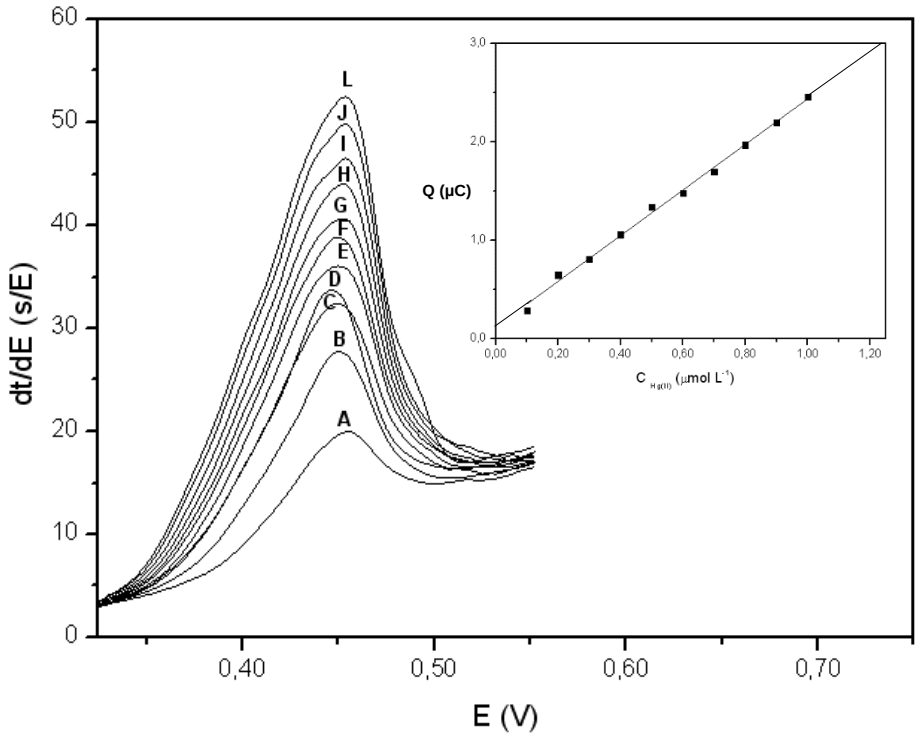


Figura 19. Cronopotenciogramas para concentrações correspondestes ao experimento de linearidade e a curva analítica ($Q = 2{,}32 \pm 0{,}05.C_{Hg(II)} + 0{,}12 \pm 0{,}03$) obtida para as concentrações: branco (A), 0,10 (B), 0,20 (C), 0,30 (D), 0,40 (E), 0,50 (F), 0,60 (G), 0,70 (H), 0,80 (I), 0,90 (J) e 1,0 µmol L^{-1} (L) em meio de HCl 0,050 mol L^{-1}.

De acordo com a Figura 19, a faixa de resposta linear foi para o intervalo de concentrações entre 0,10 e 1,0 µmol L^{-1} (r = 0,998). A faixa encontrada é cerca de duas vezes maior que a faixa obtida pelo método SIA-SWASV, de 0,07 a 0,50 µmol L^{-1}; e de magnitude similar que as obtidas por: Richter et al. (2000), de 0,05 a 0,50 µmol L^{-1} (10 a 120 µg L^{-1}) obtida com eletrodo de ouro construído de um CD gravável e 300 s de tempo de deposição; e por Augelli et al. (2005), de 0,025 a 0,25 µmol L^{-1} (5 a 50 µg L^{-1}), usando o mesmo tipo de eletrodo e com tempo de deposição de 180 s.

Os LD e LQ foram de 0,0143 e 0,0476 µmol L^{-1} (ou 2,87 e 9,55 µg L^{-1}), respectivamente. Os limites são cerca de 1,8 vezes menores que os obtidos pelo método SIA-SWASV.

A precisão foi avaliada por estudos de repetividade pela determinação de Hg(II) nos níveis de concentração de 0,10, 0,20 e 0,30 μmol L^{-1}, em triplicata. As médias para as integrações de pico (em μC) foram de 0,37, 0,54 e 0,71, com respectivos desvios padrão relativos (DPR) de 1,1, 0,9 e 1,1 %. Os desvios padrão foram cerca de 3 a 4 vezes menores em relação aos obtidos pelo método SIA-SWASV.

A exatidão do método foi determinada pela utilização do material certificado ERM-CC580, sedimento estuarino contendo Hg. A porcentagem de recuperação obtida foi de 103 ± 1%, estando próxima a obtida pelo método SIA-SWASV (104 ± 6 %), mas com um desvio-padrão 6 vezes menor, indicando o método como mais preciso.

Para comparar o efeito de memória observado no método SIA-SWASV para os SPGE, foram feitos experimentos comparando-se os sinais voltamétricos e cronopotenciométricos de 3 medidas para a solução do branco (HCl 0,050 mol L^{-1}) antes, após 5 medidas com solução de Hg(II) 0,50 μmol L^{-1} e após 3 medidas com solução Hg(II) 10,0 μmol L^{-1}, Tabela 10.

Tabela 10. Variação do sinal voltamétrico e cronopotenciométrico para medidas da solução do branco (HCl 0,050 mol L^{-1}) antes e após medidas de soluções contendo Hg(II) 0,50 e 10,0 μmol L^{-1}.

Momento da medida	Sinal SIA-SWASV (μA)	% Variação	Sinal SIA-SCP (μC)	% Variação
Antes	1,6±0,2	-	0,65±0,07	-
Após*	1,4±0,1	-13	0,67±0,04	3
Após**	1,8±0,1	29	0,69±0,02	3

Medidas realizadas: *após 5 medidas da solução de Hg(II) 0,50 μmol L^{-1} e **após 3 medidas da solução de Hg(II) 10,0 μmol L^{-1}.

Segundo a Tabela 10, pode ser visto que o método SIA-SCP é menos suscetível ao efeito de memória que o método SIA-SWASV, com porcentagens de variação do sinal cerca de 4 a 8 vezes menores. Tais resultados indicam que a reversibilidade de conversão do Hg^0 depositado em Hg^{2+} na etapa de redissolução, pela aplicação de uma corrente constante é maior, assim como também verificado por Augelli et al. (2005) que obteve recuperações entre 93 e 105% amostra de água de rio certificada (NIST).

9.2. ARSÊNIO

9.2.1. Desenvolvimento do método SIA-SWASV

9.2.1.1. Efeito da concentração de HCl

O método SIA-SWASV desenvolvido foi baseado no método proposto por Punrat et al. (2013), que associa o sistema de análise por injeção sequencial (SIA) com a detecção por voltametria. Ácido clorídrico é usado quase sempre como eletrólito suporte, em concentrações que podem variar desde 0,1 a 7 mol L^{-1} para a determinação de As(III) (Cavicchioli et al., 2004).

Apesar de a preferência ao HCl como eletrólito, os íons cloreto adsorvem fortemente em eletrodos de ouro, afetando a carga do eletrodo, podendo assim afetar também a interação do ouro com o As(III) (Gibbon-Wash et al. 2010), além do fato que altas concentrações de HCl podem causar a dissolução da superfície do eletrodo do ouro pela complexação com íons cloreto ($AuCl_4^-$), que diminui sua superfície (tornando-a menos porosa) e leva a perda de sensibilidade das medidas com o tempo (Giacomino et al. 2011).

Assim, inicialmente foi avaliado o efeito da concentração de HCl como eletrólito suporte (ES), como solução transportadora e de redissolução (STR) e como solução de ativação (SA). Para isto, foram feitas determinações de As(III) 1,0 µmol L^{-1} em diferentes combinações de concentrações de HCl nas soluções anteriormente mencionadas, sendo as concentrações avaliadas de 0,050 e 1,0 mol L^{-1} para STR e AS, e 0,05, 0,10, 0,25, 0,50, 1,0 mol L^{-1} para ES, Figura 20. O procedimento de troca de meio com solução de HCl adotado para os método SIA-SWASV e SIA-SCP para as determinações de Hg(II) também foi usado para a melhora na eficiência da reoxidação do As^0 depositado no eletrodo, supondo a formação de cloro-complexos ($AsCl_n^{3-n}$).

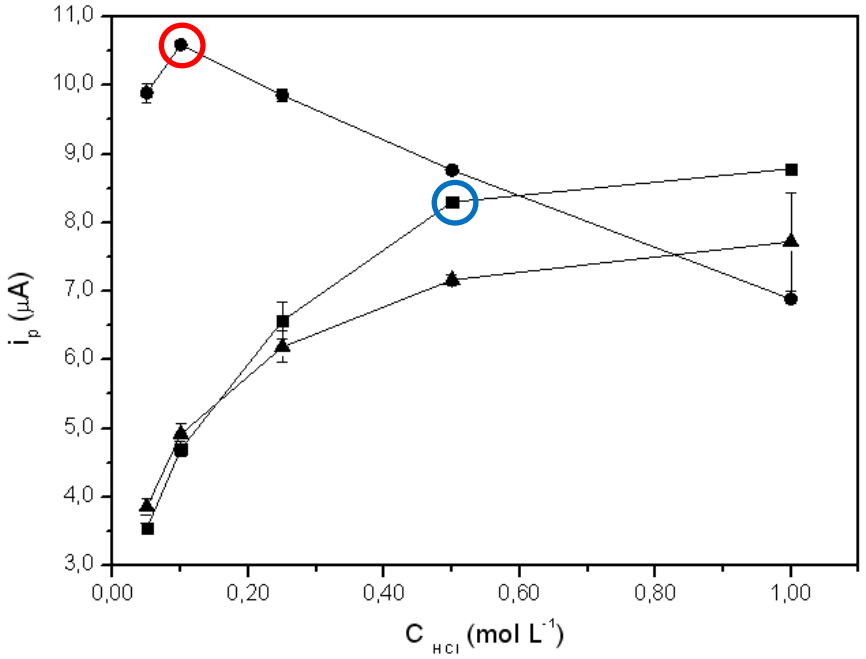


Figura 20. Efeito da concentração de HCl como ES no sinal voltamétrico na determinação de As(III) pelo método SIA-SWASV em diferentes condições. STR e SA: (■) ambas em HCl 0,050 mol L^{-1}, (▲) 0,050 e 1,0 mol L^{-1}, respectivamente e (●) ambas em HCl 1,0 mol L^{-1}.

Como pode ser verificado pela Figura 20, o sinal aumenta com o aumento da concentração de HCl no ES nas condições em que STR e SA são ambas 0,050 mol L^{-1} ou 0,050 e 1,0 mol L^{-1}, respectivamente, sugerindo que 1,0 mol L^{-1} é a concentração adequada para a SA. Já ao se utilizar STR e SA em 1,0 mol L^{-1}, se obtém os maiores sinais voltamétricos. No entanto, para estas concentrações de HCl para STR e AS houve a diminuição do sinal com o aumento da concentração de ES, indicando assim 0,10 mol L^{-1} como a concentração de HCl adequada para ES (condição destacada em vermelho).

No entanto, a condição de HCl 0,050 mol L^{-1} para STR e SA, e HCl 0,50 mol L^{-1} para ES (destacada em azul), também resulta numa sensibilidade adequada. Com a troca de condição, houve uma perda de sinal voltamétrico de 22 %, mas proporcionando o trabalho com soluções de HCl menos concentradas, ou seja, havendo menos consumo de reagente e geração de resíduos, além de também contribuir com uma maior vida útil da instrumentação de SIA usada, além de se evitar a perda da sensibilidade das medidas com o tempo (Giacomino et al. 2011) pelo uso de altas concentrações de Cl^-, como já discutido anteriormente.

9.2.1.2. Efeito da frequência de pulso, vazão e volume de amostra

Com uso de maiores frequências de pulso de onda quadrada (fixos o volume de amostra em 1.000 μL e vazão de 15 μL s^{-1}), Figura 21, maiores foram os sinais voltamétricos (Giacomino et al. 2011). Houve ganho de cerca de 7 vezes no sinal entre a frequência de 25 e 100 Hz, sendo a frequência de 100 Hz adotada para o método.

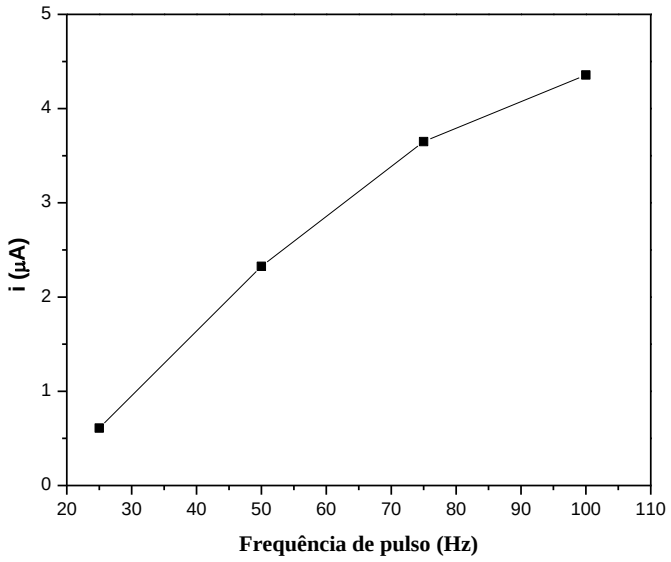


Figura 21. Variação da corrente de pico (i) para diferentes frequências de pulsos de onda quadrada para medidas de uma solução de As(III) 1,0 μmol L^{-1}, sob as condições: vazão de 15 μL s^{-1} e volume de solução As(III) de 1.000 μL.

O efeito da vazão foi estudado numa faixa entre 5 e 100 μL s^{-1}, com um volume de amostra e frequência de pulsos fixos de 1.000 μL e 100 Hz, respectivamente. A Figura 22 mostra que o aumento da vazão diminui a corrente de pico, assim como reportado por Punrat et al. (2013), com perda de cerca de 5 vezes no sinal voltamétrico entre a vazão de 5 e 100 μL s^{-1}.

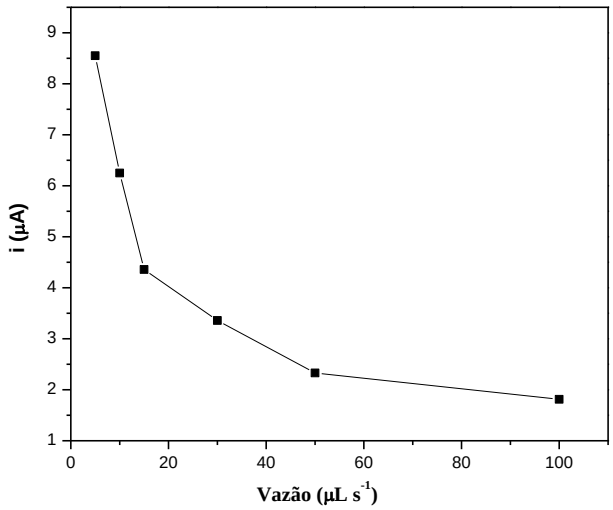


Figura 22. Variação da corrente de pico (i) para medidas de uma solução de As(III) 1,0 μmol L^{-1} sob as condições: tempo de condicionamento de 70 s; tempos de deposição correspondentes de 205, 105, 40, 25 e 15 s (correspondentes às vazões de 5, 10, 15, 30, 50 e 100 μL s^{-1}, respectivamente); volume de amostra de 1.000 μL; e frequência de pulsos de 100 Hz.

Quanto maior o volume de amostra usado, maior foi o tempo de deposição necessário para que este passasse pela célula de fluxo durante a etapa de deposição. Assim, como mostrado na Figura 23, para maiores volumes de amostra, maiores sinais voltamétricos foram obtidos (Punrat et al. 2013; Laschi et al. 2007), sendo que o sinal aumentou cerca de 5 vezes com o aumento de volume de 250 para 1.500 μL.

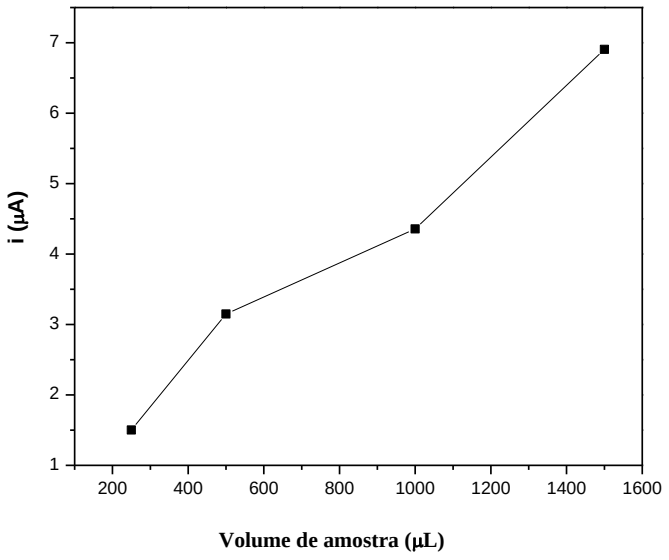


Figura 23. Variação da corrente de pico (i) para medidas de uma solução de As(III) 1,0 μmol L^{-1} sob as condições: tempos de condicionamento de 60, 65, 70 e 85 s; tempos de deposição de 10, 20, 35 e 55 s (correspondentes aos volumes de amostra de 250, 500, 1.000 e 1.500 μL, respectivamente); vazão de 15 μL s^{-1} e frequência de pulsos de 100 Hz.

Com base nestes resultados as melhores condições seriam a adoção da vazão de 5 μL s^{-1} e o volume de amostra de 1.500 μL. Todavia, levando-se em consideração uma perda de sinal voltamétrico (cerca de 19 %) e uma maior frequência de amostragem (que aumenta de 10 para 20 determinações h^{-1}) ao se usar a vazão de 15 μL s^{-1}, tanto a vazão de 15 μL s^{-1} quanto o volume de 1.500 μL foram considerados aceitáveis para o uso no método em estudos de adsorção.

9.2.1.3. Figuras de Mérito

A faixa de resposta linear foi observada para o intervalo de concentrações entre 0,10 e 1,0 μmol L^{-1} (r = 0,996), Figura 24, com níveis de concentração de 0,10, 0,25, 0,50, 0,75 e 1,0 μmol L^{-1}, em HCl 0,10 mol L^{-1} e sob as condições de 1.500 μL de volume de amostra e vazão de 15 μL s^{-1}.

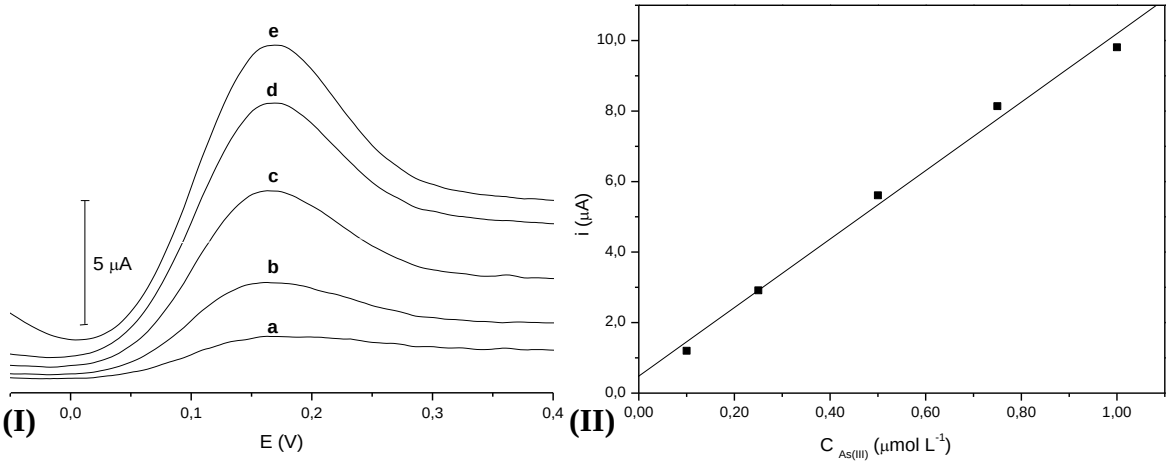


Figura 24. (I) Voltamogramas obtidos para soluções (a) 0,10, (b) 0,25, (c) 0,50, (d) 0,75 e (e) 1,0 μmol L^{-1} de As(III), que resultaram na (II) curva analítica, $i_p = (9{,}7\pm0{,}5)C_{As(III)} + (0{,}5\pm0{,}3)$, obtida em condições de vazão e volume de amostra de 15 μL s^{-1} e 1500 μL, respectivamente, concentração de eletrólito suporte de 0,10 mol L^{-1} HCl, frequência de 100 Hz.

Os limites de detecção e quantificação foram de 0,02 e 0,07 μmol L^{-1} (ou 1,5 e 5,2 μg L^{-1}), respectivamente. O limite de quantificação é cerca de 2 vezes menor que a concentração permitida pela organização mundial de saúde (OMS) para As(III) em água potável (10 μg L^{-1}). O limite de detecção é menor que o obtido por Laschi et al. (2007), 2,5 μg L^{-1}, usando o método SWASV em modo estático com tempo de deposição de 60 s, volume de cela de 2 mL e os mesmos sensores SPGE.

A precisão foi avaliada por estudos de repetividade pela determinação de As(III) nos níveis de concentração de 0,25, 0,50 e 0,75 μmol L^{-1}, em triplicata. Os respectivos desvios padrão relativos (DPR) para as medidas dessas soluções foram 7,9, 2,8 e 0,7 %, sendo que o DPR torna-se menor quanto maior a corrente de pico da medida. Resultados similares foram obtidos por Punrat et al. (2013).

Foram avaliadas as possíveis interferências da presença de outras espécies iônicas no sinal voltamétrico para As(III). Para isso foram comparadas as correntes de pico das medidas de soluções de As(III) 1,0 μmol L^{-1} na ausência e presença das espécies, Tabela 11, em concentrações que provocaram um nível de interferência < ± 5%.

Tabela 11. Influência das possíveis espécies interferentes em meios aquáticos no sinal voltamétrico para a determinação de As(III) 0,075 mg L^{-1} (1,0 μmol L^{-1}) a um nível de interferência próximo a ±5%.

Espécie (E)	**Concentração (mg L^{-1})**	**Razão $C_E/C_{As(III)}$**	**Nível de interferência (%)**
Mg^{2+}	0,003	0,12	+3
Fe^{3+}	0,15	2,7	+1
Cu^{2+}	0,01	0,16	+3
Al^{3+}	0,001	0,037	+1
Zn^{2+}	0,05	0,76	+3
Pb^{2+}	0,05	0,24	-5
Ni^{2+}	0,2	3,4	+3
Cr^{3+}	1,0	19	-1
SO_4^{2-}	0,24	2,5	+4
PO_4^{3-}	0,35	3,7	+5
AH	10	-	+3
AF	10	-	-1

Confirmadas e definidas as condições do método, este foi aplicado a uma amostra de água doce coletada no rio Ribeirão no município de Lençóis, BA, Brasil. Ao se analisar pelo método de adição de padrão (com os mesmos níveis de concentração para a curva analítica) foi obtida uma concentração de 5,7 μg L^{-1} de As(III), valor menor ao permitido pela OMS de As para água potável de 10 μg L^{-1} (Basu et al. 2014).

Assim, para avaliar a exatidão do método a amostra de água foi enriquecida com 10 μg L^{-1} (0,133 μmol L^{-1}) de As(III). A porcentagem de recuperação foi de 108 ± 12 % (n = 3). Esse resultado foi próximo ao obtido por GFAAS (colaboração com o GAPE, Grupo de Análises e Pesquisa em Espectrometria do Instituto de Química da USP), no qual teve-se uma recuperação de 95,5 ± 0,9 % (n = 2). Levando-se em consideração a coloração da amostra de água ser castanha (sugerindo a presença de concentrações elevadas de matéria orgânica natural) e os resultados iniciais obtidos, o método tem grande potencial para a aplicação em outras amostras de água naturais.

9.3. SELÊNIO

9.3.1. Desenvolvimento do método SIA-SWASV

9.3.1.1. Determinação do potencial de deposição (redução) e a faixa de potenciais para a redissolução (oxidação)

Para determinar os potenciais a serem empregados no método, foram obtidos voltamogramas cíclicos empregando-se um eletrodo de ouro em modo estático, registrados de -0,5 a 1,5 V, a 0,05 V s^{-1}, para soluções de Se(IV) com concentrações entre 0,10 e 1,0 µmol L^{-1} em H_2SO_4 0,10 mol L^{-1} (Figura 25). Foi aplicado um potencial de condicionamento de 1,2 V em H_2SO_4 0,10 mol L^{-1} entre cada medida.

Nos voltamogramas duas regiões podem ser observadas, referentes às reações oxidação e redução. Na região A, ampliada na Figura 25A, há picos de corrente de redução correspondendo a, inicialmente a redução do Se^{4+}a Se^0 (deposição de uma monocamada na superfície do eletrodo de Au), seguida pela redução do Se^0 a H_2Se (Se^{2-}), entre o potencial de 0 a -0,2 V, conforme as reações 01 e 02 em meio ácido (Tan e Kounaves 1998; Salazar-Banda et al. 2008; Kolliopoulos et al. 2013; Maranowski et al. 2015):

$$H_2SeO_3 + 4H^+ + 4e^- \rightarrow Se^0 + 3H_2O \qquad \text{(Reação 1)}$$

$$Se^0 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2Se \qquad \text{(Reação 2)}$$

Em meio ácido ocorre a reação de comproporcionamento na presença de ácido selenoso, levando a formação de Se^0, segundo a reação 03 (Beni et al. 2011):

$$H_2SeO_3 + 2H_2Se \rightarrow 3Se + 3H_2O \qquad \text{(Reação 3)}$$

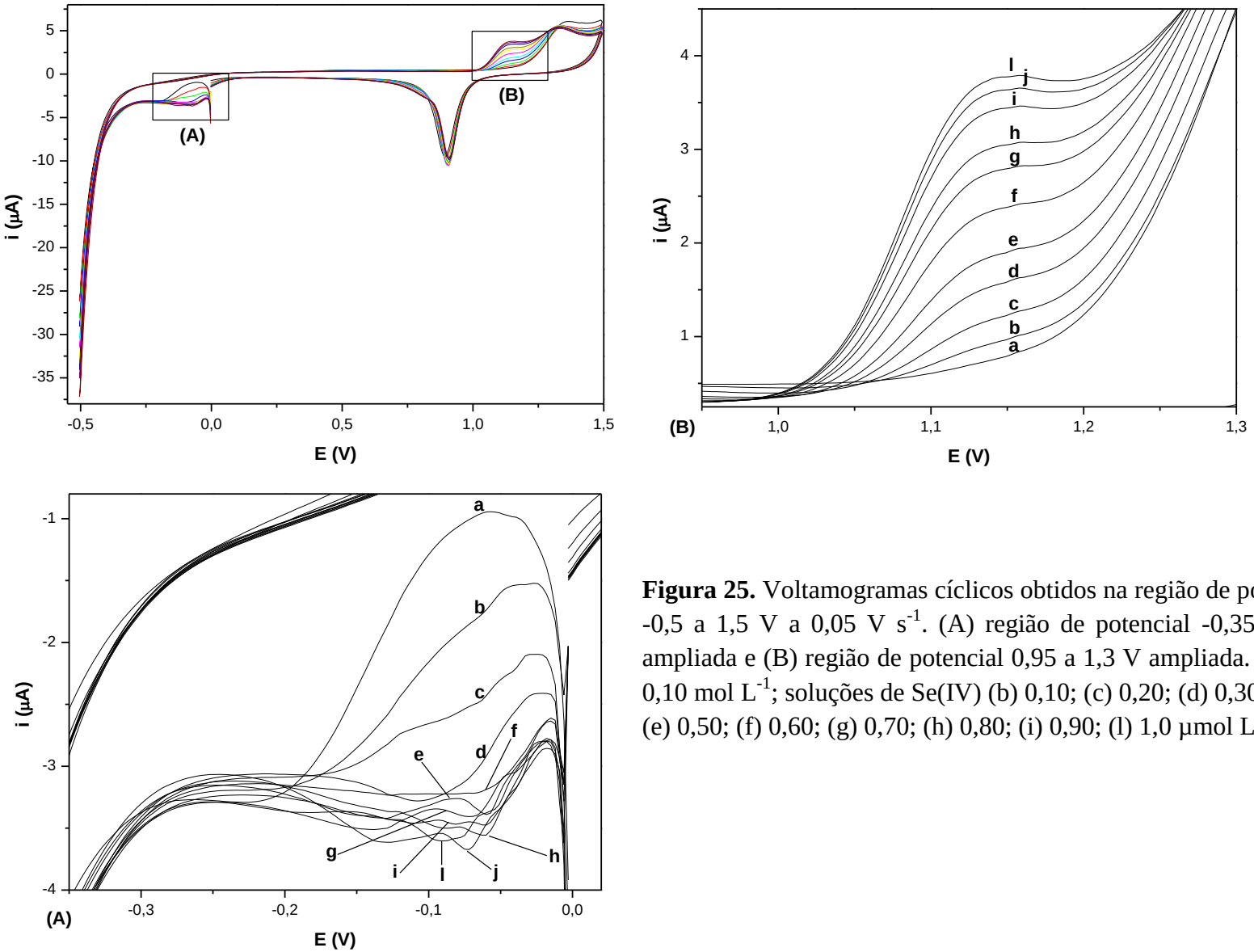


Figura 25. Voltamogramas cíclicos obtidos na região de potencial de -0,5 a 1,5 V a 0,05 V s^{-1}. (A) região de potencial -0,35 a 0,02 V ampliada e (B) região de potencial 0,95 a 1,3 V ampliada. (a) H_2SO_4 0,10 mol L^{-1}; soluções de Se(IV) (b) 0,10; (c) 0,20; (d) 0,30; (d) 0,40; (e) 0,50; (f) 0,60; (g) 0,70; (h) 0,80; (i) 0,90; (l) 1,0 µmol L^{-1}.

Na etapa de redissolução, para potenciais maiores que +0,66 V (Salazar-Banda et al. 2008), ocorre a oxidação do Se^0 a Se^{4+} (que não ocorre na totalidade) em 3 etapas: a primeira consiste na oxidação do Se depositado sobre o filme de Se gerado na superfície do eletrodo; a segunda pela oxidação do Se proveniente do composto intermetálico Se-Au; e na terceira, a oxidação da monocamada de Se que está diretamente em contato com a superfície do Au (Tan e Kounaves, 1998). Na região B, ampliada na Figura 25B, são observados os picos de oxidação (redissolução) do Se^0 a Se^{4+}, entre o potencial de 1,1 e 1,2 V, segundo a reação 04:

$$Se^0 + 3H_2O \rightarrow H_2SeO_3 + 4H^+ + 4e^- \qquad \text{(Reação 4)}$$

De acordo com a Figura 25, optou-se pelo uso do potencial de -0,2 V, suficiente para promover a redução do Se(IV), enquanto que para a oxidação, o potencial de 1,2 V foi escolhido, também sendo suficiente para a oxidação do Se^0.

9.3.1.2. Efeito da concentração de H_2SO_4

Para a determinação de Se(IV) por SWASV, $HClO_4$ e H_2SO_4 podem ser usados como eletrólito suporte (Beni et al. 2011). Apesar de a melhor definição de pico obtida em $HClO_4$ como também descrita por estes autores, o H_2SO_4 foi escolhido para o método SIA-SWASV pelas maiores respostas eletroquímicas que este eletrólito suporte proporcionou. Concentrações entre 0,010 e 0,20 mol L^{-1} foram avaliadas, conforme apresentado na Figura 26.

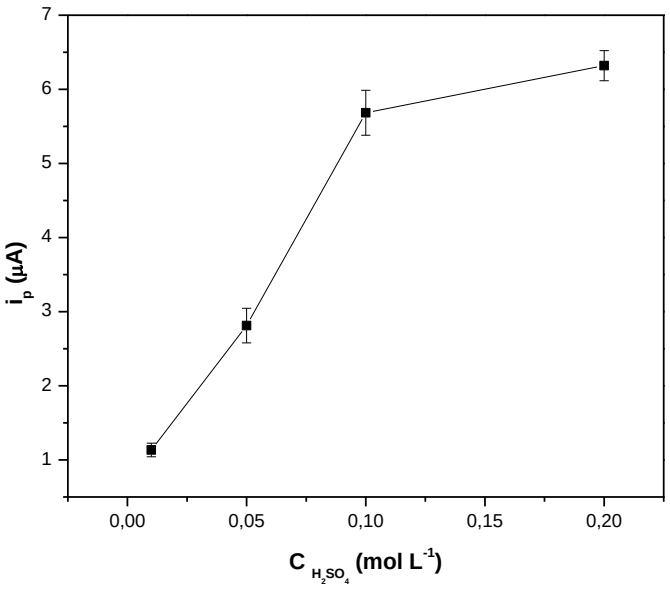


Figura 26. Efeito da concentração de H_2SO_4 como eletrólito suporte no sinal voltamétrico na determinação de Se(IV) pelo método SIA-SWASV nas condições: tempo de condicionamento de 70 s; tempos de deposição 105 s, vazão de 15 μL s^{-1}, volume de amostra de 1.500 μL; e frequência de pulsos de 50 Hz.

Como pode ser visto pela Figura 26, entre as concentrações de 0,010 e 0,10 mol L^{-1} H_2SO_4, tem-se um ganho de 5 vezes no sinal voltamétrico para Se(IV), assim como nos resultados de Bertolino et al. (2006), devido ao aumento da concentração de íons H^+ no meio favorecer a deposição do Se, conforme a reação 01 e 02 mostrada anteriormente. Como entre 0,10 e 0,20 mol L^{-1}, o ganho foi menor, cerca de 11%, escolheu-se a concentração de 0,10 mol L^{-1} para o método, o que contribui com o menor gasto de reagente e a inserção de soluções ácidas menos concentradas no sistema SIA.

9.3.1.3. Efeito da vazão, volume de amostra e frequência de pulsos

O efeito da vazão foi estudado numa faixa entre 5 e 100 μL s^{-1}, com um volume de amostra de 1.000 μL e frequência de onda quadrada de 50 Hz. Com uma vazão de 5 μL s^{-1} não foi observado pico algum no voltamograma. Com o aumento da vazão até 15 μL s^{-1} começa a ser observado um pico relativo a oxidação do Se^0 (Figura 27) decorrente do transporte de massa convectivo mais eficiente e diminuição da espessura da camada de difusão (Siriangkhawut et al. 2011). Vazões maiores que 15 μL s^{-1} levam a diminuição da corrente de pico devido a diminuição do tempo efetivo de deposição, isto é, o volume de solução passa muito rapidamente pela célula de fluxo (Ninwong et al. 2012). Dessa forma, a vazão escolhida para o método foi de 15 μL s^{-1}.

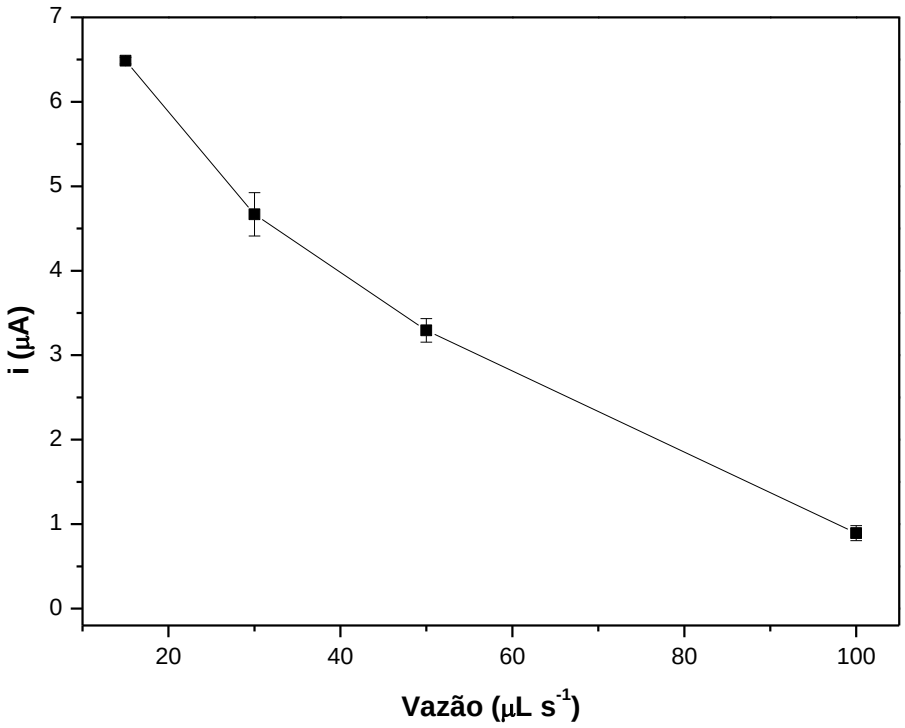


Figura 27. Variação da corrente de pico (i) para medidas de uma solução de Se(IV) 1,0 μmol L^{-1} sob as condições: tempo de condicionamento de 70 s; tempos de deposição correspondentes de 205, 75, 40, 25 e 15 s (correspondentes às vazões de 5, 15, 30, 50 e 100 μL s^{-1}, respectivamente); volume de amostra de 1.000 μL; e frequência de pulsos de 50 Hz.

Com o aumento do volume de amostra usado, maior foi o tempo de deposição necessário, a uma mesma vazão, para que este passasse pela célula de fluxo durante a etapa de deposição. Assim, como mostrado na Figura 28, para maiores volumes de amostra, maiores sinais voltamétricos foram obtidos.

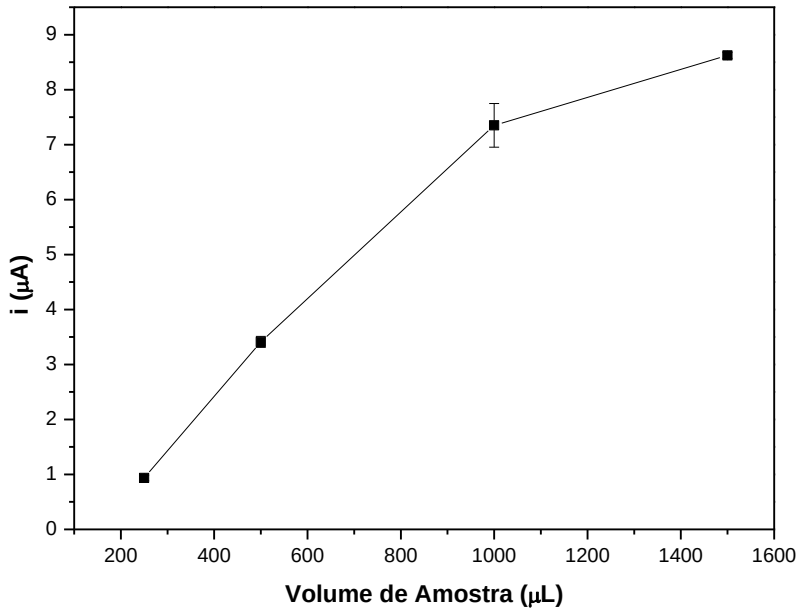


Figura 28. Variação da corrente de pico (i) para medidas de uma solução de Se(IV) 1,0 μmol L^{-1} sob as condições: tempos de condicionamento de 60, 65, 70 e 85 s; tempos de deposição de 20, 35, 70 e 105 s (correspondentes aos volumes de amostra de 250, 500, 1000 e 1500 μL, respectivamente); vazão de 15 μL s^{-1} e frequência de pulsos de 50 Hz.

Com o aumento da frequência de pulso de onda quadrada (fixos o volume de amostra em 1500 μL e vazão de 15 μL s^{-1}), Figura 29, de 25 a 50 Hz, maiores foram os sinais voltamétricos, havendo um ganho de sinal de cerca de 2 vezes. Já entre 50, 75 e 100 Hz, não houve diferença significativa para as correntes de pico medidas. Deste modo, a frequência de 50 Hz foi escolhida para aplicação no método.

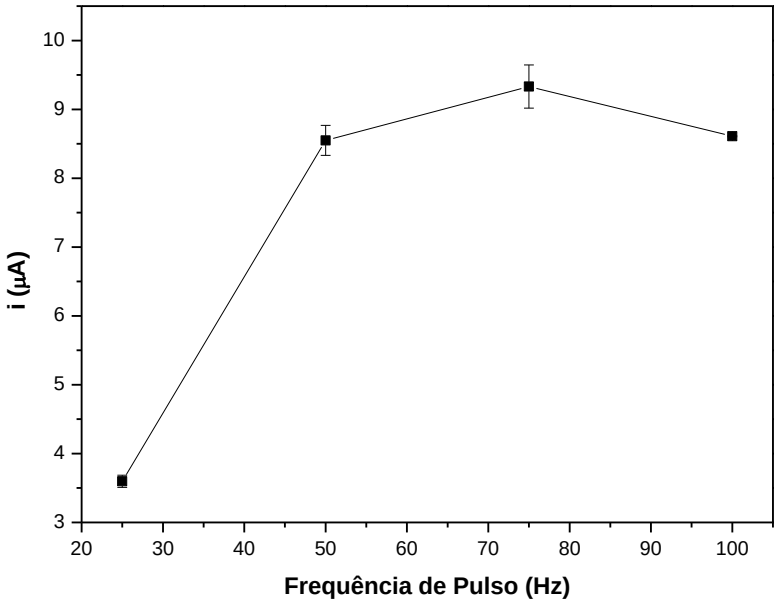


Figura 29. Variação da corrente de pico (i) para diferentes frequências de pulsos de onda quadrada para medidas de uma solução de Se(IV) 1,0 μmol L^{-1}, sob as condições: vazão de 15 μL s^{-1} e volume de solução As(III) de 1.500 μL.

9.3.1.4. Solução Transportadora

Foram avaliadas quatro soluções eletrolíticas para uso como solução transportadora e de condicionamento no método SIA-SWASV. Ao se comparar os sinais voltamétricos obtidos sob as condições anteriormente descritas adotadas no método (seções 10.3.1.1., 10.3.1.2., 10.3.1.3.), verifica-se que a solução de H_2SO_4 0,050 mol L^{-1} é a solução mais adequada para o propósito devido a maior corrente de pico proporcionada pela sua utilização, Figura 30.

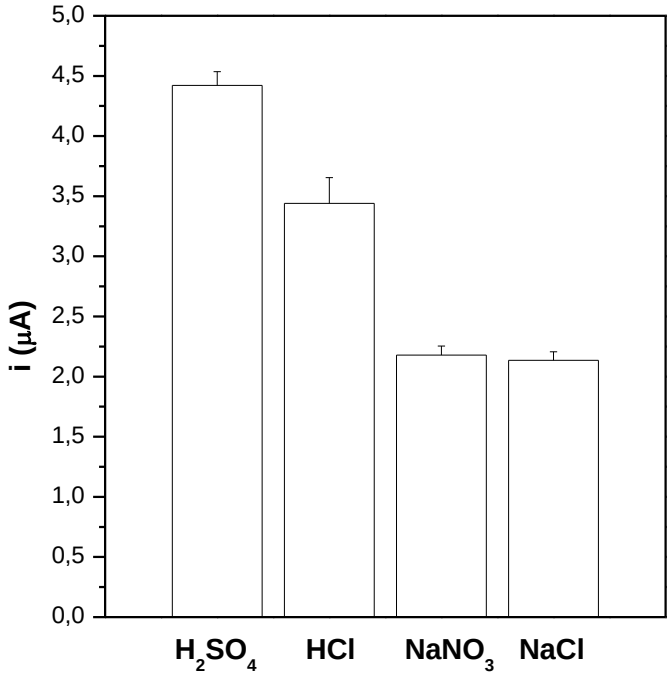


Figura 30. Efeito das diferentes soluções eletrolíticas (a 0,050 mol L^{-1}) como solução transportadora e de condicionamento na corrente de pico (i_p) para uma solução de Se(IV) 1,0 μmol L^{-1} em H_2SO_4 0,10 mol L^{-1}, nas seguintes condições: vazão de 15 μL s^{-1}, volume de amostra de 1.500 μL e frequência de pulso de 50 Hz.

9.3.1.5. Figuras Analíticas de Mérito

A faixa de resposta linear foi observada para o intervalo de concentrações entre 0,20 e 1,0 μmol L^{-1} (r = 0,999), Figura 31, em H_2SO_4 0,10 mol L^{-1} e sob as condições de 1500 μL de volume de amostra e vazão de 15 μL s^{-1}. Os limites de detecção e quantificação foram de 0,06 e 0,20 μmol L^{-1} (ou 4,7 e 15,8 μg L^{-1}), respectivamente. O limite de detecção é cerca de 2 vezes menor que a concentração recomendada pela US EPA em água potável (10 μg L^{-1}). O limite de detecção é menor que o obtido por Kolliopoulos et al. (2013), 5,3 μg L^{-1}, que desenvolveram o método SWASV em modo estático com tempo de deposição de 300 s, usando um macro eletrodo impresso de grafite para aplicação em amostras de águas naturais;

e duas vezes menor que o reportado por Kozak et al. (2012), 10 µg L^{-1}, que empregou os sistema analítico HPLC-HG-AAS para a determinação de Se(IV) e Se(VI) em amostras de suplementos alimentares.

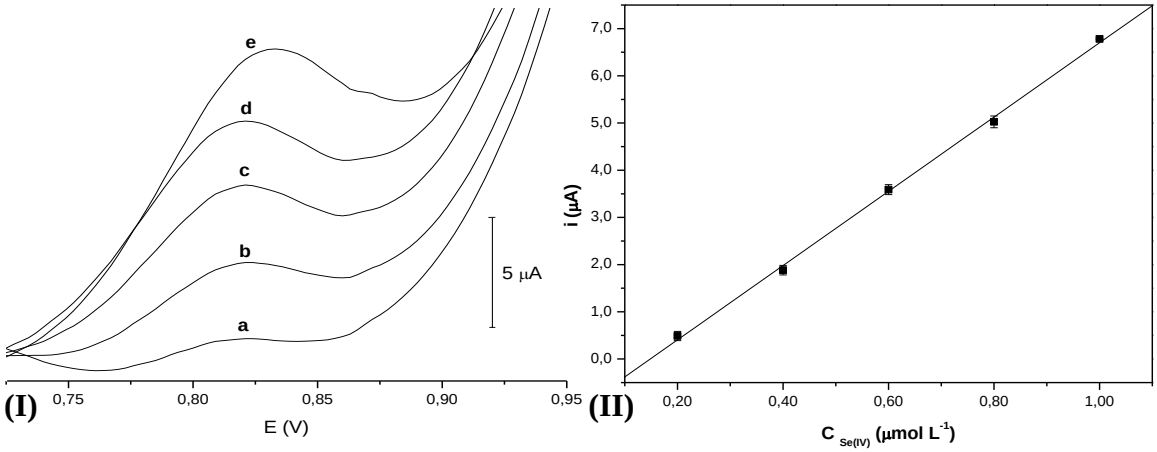


Figura 31. (I) Voltamogramas obtidos para soluções (a) 0,20, (b) 0,40, (c) 0,60, (d) 0,80 e (e) 1,0 µmol L^{-1} de Se(IV) que resultaram na (II) curva analítica, $i_p = (7{,}9\pm0{,}2)C_{Se(IV)} - (1{,}2\pm0{,}1)$, obtida em condições de vazão e volume de amostra de 15 µL s^{-1} e 1.500 µL, respectivamente, concentração de eletrólito suporte de 0,10 mol L^{-1} H_2SO_4, frequência de 50 Hz.

Por estudos de repetividade, a precisão para as determinações de Se(IV) foi avaliada para os níveis de concentração de 0,60, 0,80 e 1,0 µmol L^{-1} (n = 3), resultando em respectivos desvios padrão relativos (DPR) de 9,4, 4,1 e 1,5 %. Foi observada uma tendência para o aumento do DPR quanto menores são as concentrações determinadas, estando de acordo com os resultados de Bertolino et al. (2006).

Foram avaliadas as possíveis interferências na faixa de potencial em que é observada a corrente de pico para Se(IV), na presença de outras espécies iônicas potencialmente interferentes, como Hg^{2+}, Cu^{2+} e As^{3+}, e orgânicas como AH e AF. Para isso foram comparadas as correntes de pico das medidas de soluções de Se(IV) 1,0 µmol L^{-1} na ausência e presença das espécies, Tabela 12.

Tabela 12. Influência das possíveis espécies interferentes em meios aquáticos no sinal voltamétrico para a determinação de Se(IV) 1,0 μmol L^{-1}.

Espécie (E)	Concentração (mg L^{-1})	Razão $C_{Se(IV)}/C_E$	Nível de interferência (%)
As^{3+}	0,033	0,44	-2
Hg^{2+}	0,002	0,010	3
Cu^{2+}	0,013	0,20	-2
AH	10	-	-31
AF	10	-	-40

As espécies iônicas não mostraram significativa interferência nas correntes de pico na determinação de Se(IV). Já na presença de AH e AF houve a uma perda de sinal, interferência que pode ser decorrente da passivação da superfície do eletrodo de trabalho durante a etapa de deposição. Outra possibilidade seria a interação, por ligações de hidrogênio, entre os ácidos na forma protonada (devido ao meio de medida ser ácido) e o $HSeO_3^-$.

Confirmadas e definidas as condições do método, este também foi aplicado a uma amostra de água doce coletada no rio Ribeirão no município de Lençóis, BA, Brasil. Ao se analisar amostra (n = 2) empregando a calibração externa (por curva analítica) nenhuma concentração de Se(IV) foi detectável. Assim, para avaliar a exatidão do método a amostra de água foi enriquecida com 0,05 mg L^{-1} (0,633 μmol L^{-1}) de Se(IV), nível máximo recomendado pelo CONAMA (2005) para água doce de classe III, que são destinadas ao consumo humano, após tratamento convencional e para a proteção das comunidades aquáticas. A porcentagem de recuperação foi de 80,7 ± 0,4 %, pouco menor que reportado por outros autores, como Bertolino et al. (2006) que obteve recuperações na faixa de 107 a 112 % para amostras de água de rios enriquecidas com Se(IV) usando SWASV, e por Ashournia et al. (2009) que obteve 99,6 % de recuperação para o material de referência para elementos

traço em águas (SRM 1643e) da NIST pela técnica DPCSV. Como a amostra de água usada apresentava coloração castanha (sugerindo a presença de concentrações elevadas de matéria orgânica natural), estes resultados iniciais confirmaram que o método é suscetível a interferência por espécies orgânicas. Todavia, o método tem grande potencial para a aplicação em outras amostras de água que possuam composição química mais simples ou em amostras mais complexas (presença de quantidades consideráveis de compostos orgânicos e espécies metálicas), mas pelo uso do método de adição de padrão.

9.4. VERMICULITA E MODIFICAÇÕES

9.4.1. CARACTERIZAÇÃO

9.4.1.1. Na-VT, 3-MPS-VT, CYS-VT e CTA-VT

A amostra de vermiculita foi previamente caracterizada por difratometria de raio-X (XRD) e análise térmica, indicando a ausência de impurezas consideráveis (Abate e Masini 2003). A XRD revelou as características refletivas da vermiculita, e o aquecimento a 700 ºC reduziu o espaçamento basal d(001) de 1,4 a 1,0 nm, um aspecto que distingue a vermiculita de esmectitas e cloritas. A saturação do material com EGME não alterou a reflexão basal, outro comportamento característico da vermiculita que não é observado para esmectitas, que mostram um aumento a 1,7 nm (Douglas 1989). Análise térmica diferencial mostrou dois processos exotérmicos a 109 e 210 ºC correspondendo a perda de massa devido a dessorção de água, e um processo exotérmico a 860 ºC como consequência de recristalização como mulita. Esta última transição de temperatura distingue vermiculitas de esmectitas, para as quais a transição ocorre a temperaturas > 920 ºC (Smykatz-kloss 1974).

A CTC da Na-VT foi 1,154 ± 0,006 mmol g^{-1} (n = 3), consistente com trabalhos anteriores (Abate & Masini 2003). Os valores de AST, determinados pelo método EGME (Yukselen-Aksoy e Kaya 2006), variaram de 90 a 120 m^2 g^{-1} (Tabela 13) sendo menor que a área de 330 ± 10 m^2 g^{-1} determinada para a amostra de uma mesma origem, mas com tamanho de partículas muito menor (< 63 µm) (Abate e Masini 2003; Do Nascimento e Masini 2014).

Da concentração de enxofre encontrada nos materiais modificados (Tabela 13), é possível estimar que cerca de 51,6 e 0,42 % da CTC da Na-VT foi trocado por CTA e CYS, respectivamente. A incorporação de CTA pode impedir parcialmente o acesso do EGME ao espaço interlamelar, diminuindo a AST (Tabela 13). A baixa incorporação de CYS é consistente com a insignificante alteração da AST, e pode ser explicada pela carga negativa de grupos carboxilatos sujeitos a repulsão eletrostática das cargas negativas permanentes da estrutura da vermiculita. Além disso, a liberação de H_2S durante a modificação da Na-VT com CYS, causou significativa perda de S. O conteúdo de N neste caso não foi usado para avaliar a incorporação de CYS ou CTA porque a Na-VT contém resíduos de $NaNO_3$ usado para saturar o argilomineral com Na^+.

A incorporação de 3-MPS pode ocorrer por substituição nucleofílica de segunda ordem (SN_2), com o ataque de um dos pares de elétrons dos átomos de oxigênio nos grupos silanol ou aluminol da vermiculita no átomo de Si do 3-MPS, e a consequente liberação de uma molécula de metanol. Dependendo da conformação e impedimento estérico envolvido, até três sítios silanóis da Na-VT podem reagir com uma molécula de 3-MPS. Silva et al. (2014) verificaram a partir de espectros de RMN de ^{27}Al que grupos aluminol não são afetados pela reação com silanos, sugerindo que a sililação ocorre apenas em grupos silanol.

Tabela 13. Áreas superficiais totais e análises elementares para os materiais estudados (n = 2).

Material	**AST (m^2 g^{-1})**	**Elemento %**			
		S	**C**	**H**	**N**
Na-VT	112 ± 3	N.D.*	0,02	1,27	0,39
3-MPS-VT	129 ± 6	0,98 ± 0,2	0,20	1,21	0,22
CTA-VT	90 ± 9	1,91 ± 0,07	0,31	1,37	0,13
CYS-VT	110 ± 0,1	0,16 ± 0,01	0,90	1,19	0,42

*N.D.: não detectado.

O espectro de infravermelho da Na-VT mostra uma larga banda centrada a 3440 cm^{-1} devido ao estiramento –OH de água absorvida (Figura 32). A larga banda a 1006 cm^{-1} pode ser associada ao estiramento de Si-O-Si e Si-O-Al. Em 1641 cm^{-1} aparece uma banda devido a deformação da ligação O-H de água absorvida (Alves et al. 2007). O formato da banda a 1386 cm^{-1} que aparece no espectro de IR de Na-VT e 3-MPS-VT deve ser associado a NO_3^- do $NaNO_3$ usado para preparar a Na-VT (Goebbert et al. 2009). CTA-VT foi o único material que exibiu bandas vibracionais extras, a 1508 cm^{-1} (estiramento alifático e de deformação de C-H) e 3022 cm^{-1} (estiramento N-H). Os espectros de infravermelho confirmam os resultados de análise elementar quanto a maior adsorção de CTA em relação a CYS ou 3-MPS.

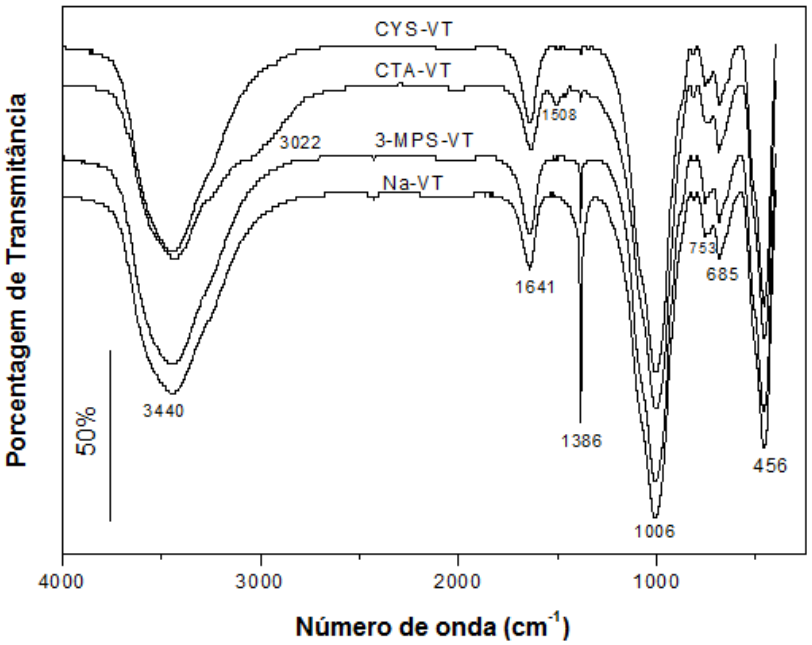


Figura 32. FTIR da vermiculita homoiônica em Na^+ comparada com os das vermiculitas modificadas por tióis.

O espectro de XRD da Na-VT mostra picos a 2θ = 6,24, 7,40 e 7,94º correspondendo ao espaçamento basal (d001) de 1,415, 1,194 e 1,113 nm, respectivamente (Figura 33). O pico mais intenso é o relacionado ao espaçamento 1,415 nm, que é típico para vermiculitas hidratadas trocadas com Na^+. 3-MPS-VT e CYS-VT tem os mesmos 3 picos, mas enquanto que a intensidade relativa do pico em 1,415 nm foi significativamente reduzida, as intensidades dos picos a 1,194 e 1,113 nm, aumentaram. CTA-VT teve apenas dois d001 picos correspondendo a 1,261 e 1,150 nm (Figura 33). O desaparecimento do pico a 1,415 nm pode ser explicado pelo fato que a CTA ter sido muito mais trocada que a CYS no espaço interlamelar de VT. A diminuição de 0,25 nm no espaço basal pode ser atribuído a substituição dos íons Na^+ hidratados da Na-VT por CTA e CYS, consistente com a presença de uma monocamada de carbono interlamelar, estando de acordo com Celis et al. (2000) para a modificação da montmorilonita com CTA. Tran et al. (2015) não encontraram alterações na XRD da vermiculita modificada com 3-MPS, um fato que pode ser relacionado ao procedimento usado para a modificação. Enquanto Lytuong et al. (2015) hidrolisaram a molécula de 3-MPS, no presente trabalho a modificação foi feita em tolueno isento de água (Celis et al. 2000) com o objetivo de promover a sililação dos grupos silanóis da vermiculita. A redução do espaçamento basal na 3-MPS-VT pode ser explicada pela eliminação das moléculas de água das intercamadas durante a modificação.

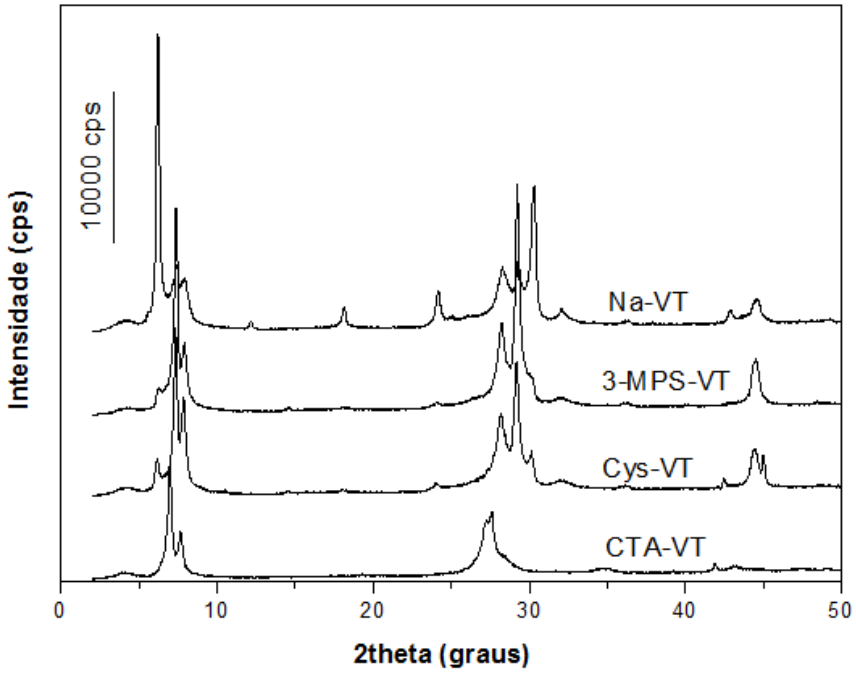


Figura 33. Padrões de XRD da vermiculita homoiônica em Na^+ comparados aos das vermiculitas modificadas por tióis.

A morfologia da Na-VT mostrou a estrutura de camadas característica das vermiculitas (Figura 34a). Quanto aos materiais modificados, CTA-VT, CYS-VT e 3-MPS-VT (Figura 34b, 34c e 34d) as imagens de MEV não forneceram informações conclusivas quanto as modificações realizadas em comparação a Na-VT, mostrando apenas a estrutura lamelar, da mesma forma como visto para a Na-VT.

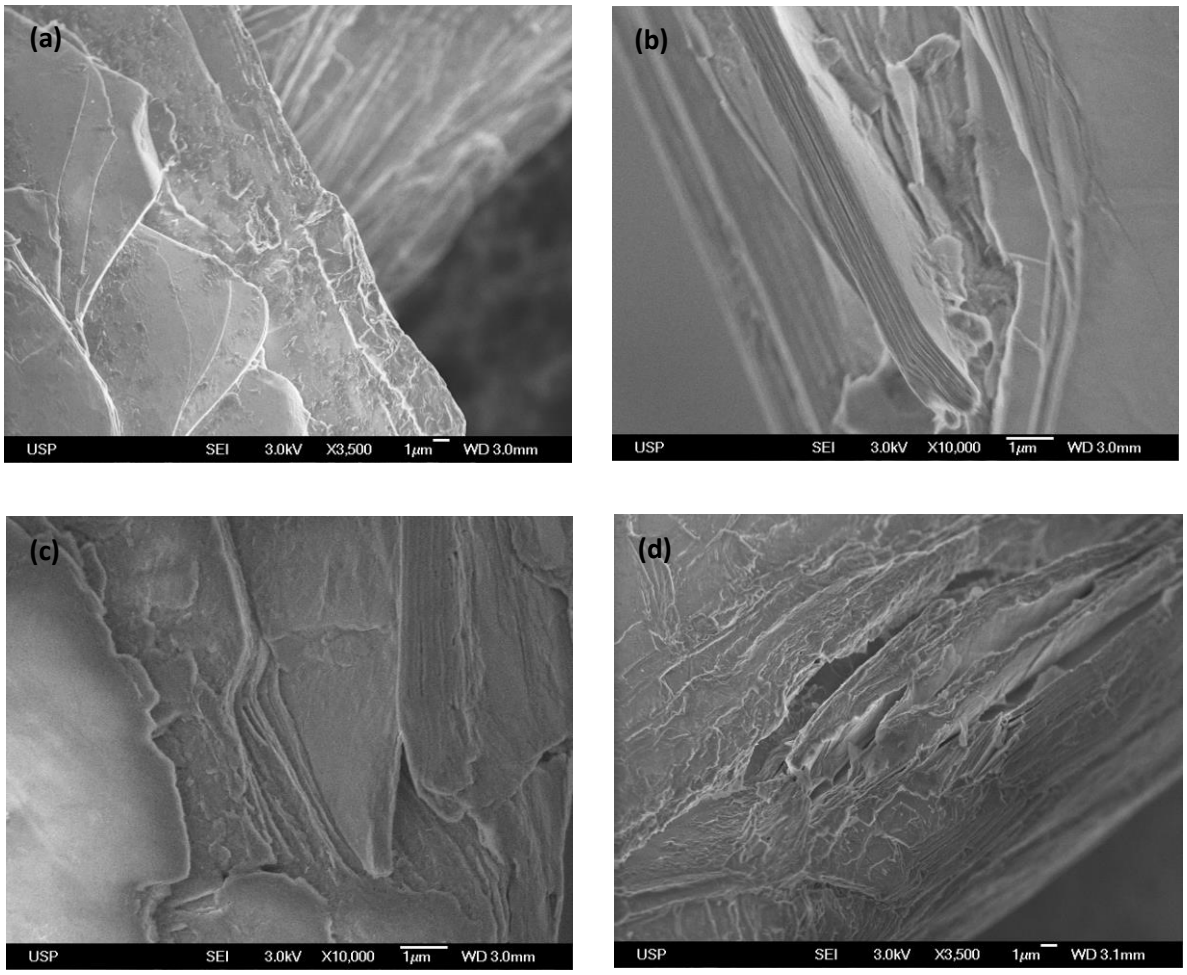


Figura 34. Imagens de Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da (a) Na-VT, (B) CYS-VT, (c) CTA-VT e (d) 3-MPS-VT.

9.4.1.2. FeOH-VT

O teor de Fe determinado para a FeOH-VT foi de 6,7 ± 0,2%, sendo, em termos de quantidade de matéria por massa, 1,208 mmol g^{-1}, que é pouco superior a CTC da Na-VT (1,154 ± 0,006 mmol g^{-1}), indicando que praticamente toda o Na^{+} de Na-VT foi trocado pelos poli-hidroxi-cátions de Fe(III) usados como intercalante, havendo, assim, o acesso do mesmo ao espaço interlamelar.

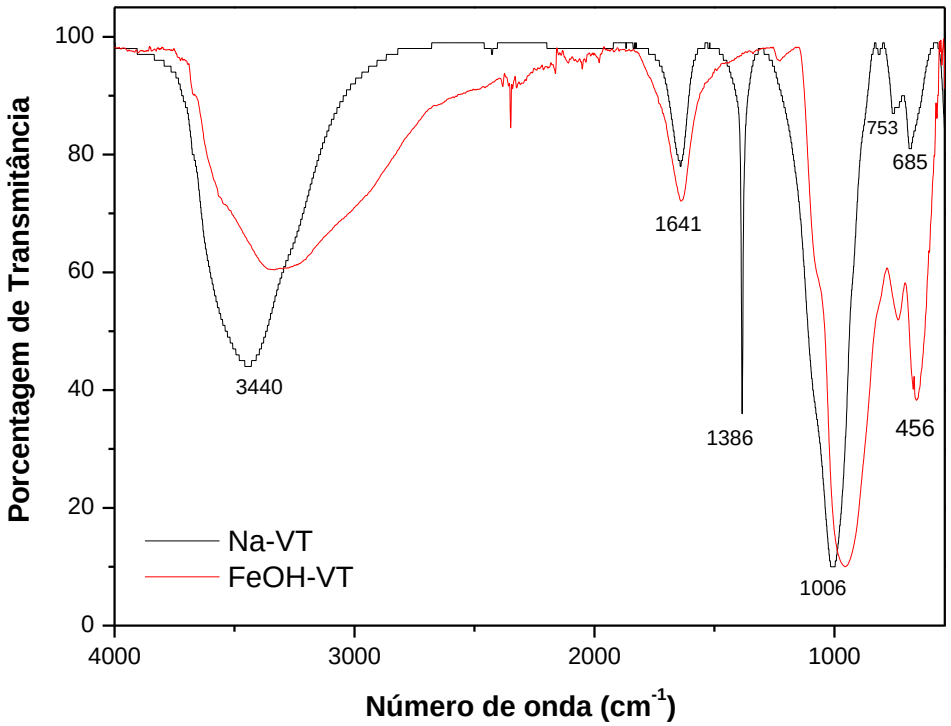


Figura 35. FTIR da vermiculita homoiônica em Na+ comparada com o da vermiculita modificadas por poli-hidroxi-cátions de Fe(III).

Ao se comparar os espectros de IR da Na-VT e FeOH-VT (Figura 35) nenhuma diferença significativa foi verificada, não podendo se concluir algo referente à modificação. Apesar do aumento do teor de Fe no material, a modificação não alterou o espaçamento basal (d001), não sendo observada diferenças significativas nos espectros de XRD para a FeOH-VT e Na-VT, vista a grande proximidade dos picos, $2\theta = 6{,}35^{o}$ e $6{,}24^{o}$, respectivamente, Figura 36. Isso é consistente com a AST, $122 \pm 12\ m^2\ g^{-1}$, que também não teve alteração em relação a da Na-VT, $112 \pm 3\ m^2\ g^{-1}$.

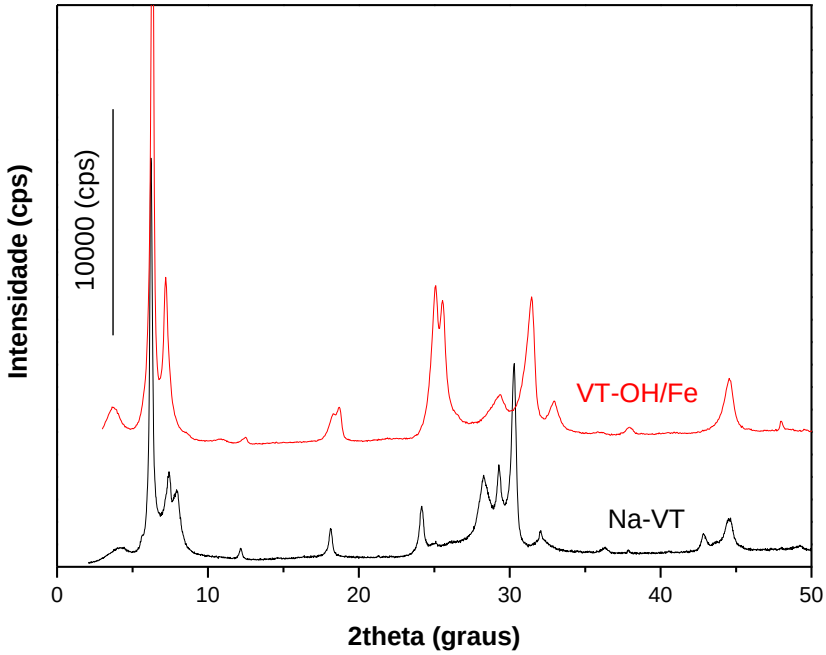


Figura 36. Padrões de XRD da Na-VT (preto) comparados aos da FeOH-VT (vermelho).

Ao se comparar a morfologia da Na-VT com a da FeOH-VT (Figura 37), não foi possível notar qualquer alteração no material modificado nas condições utilizadas para obtenção das imagens.

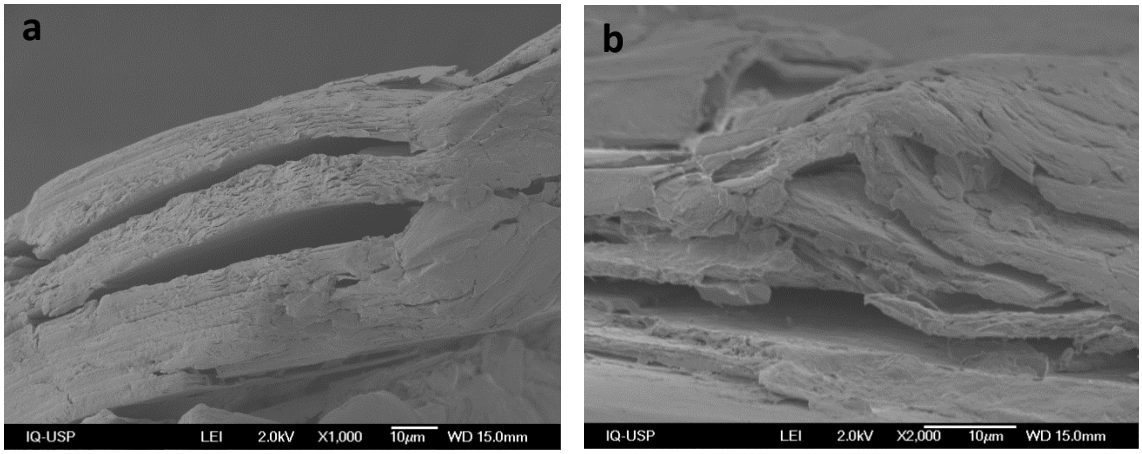


Figura 37. Imagens de Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da (a) Na-VT e (b) FeOH-VT.

9.4.2. Interação com Hg(II)

9.4.2.1. Cinética de Adsorção

A variação tempo de contato de 0,5 a 120 min aumentou a remoção de Hg(II) significativamente, com o equilíbrio aparente alcançado em t > 60 min (Figura 38). Para tempos de contato curtos o grau de adsorção diminui na ordem: 3-MPS-VT > CTA-VT > Na-VT > CYS-VT. Esta ordem sugere que a modificação da Na-VT para 3-MPS-VT ocorreu com os grupos silanóis externos, fazendo os grupos tióis facilmente acessíveis ao solvente, permitindo uma rápida adsorção de Hg(II).

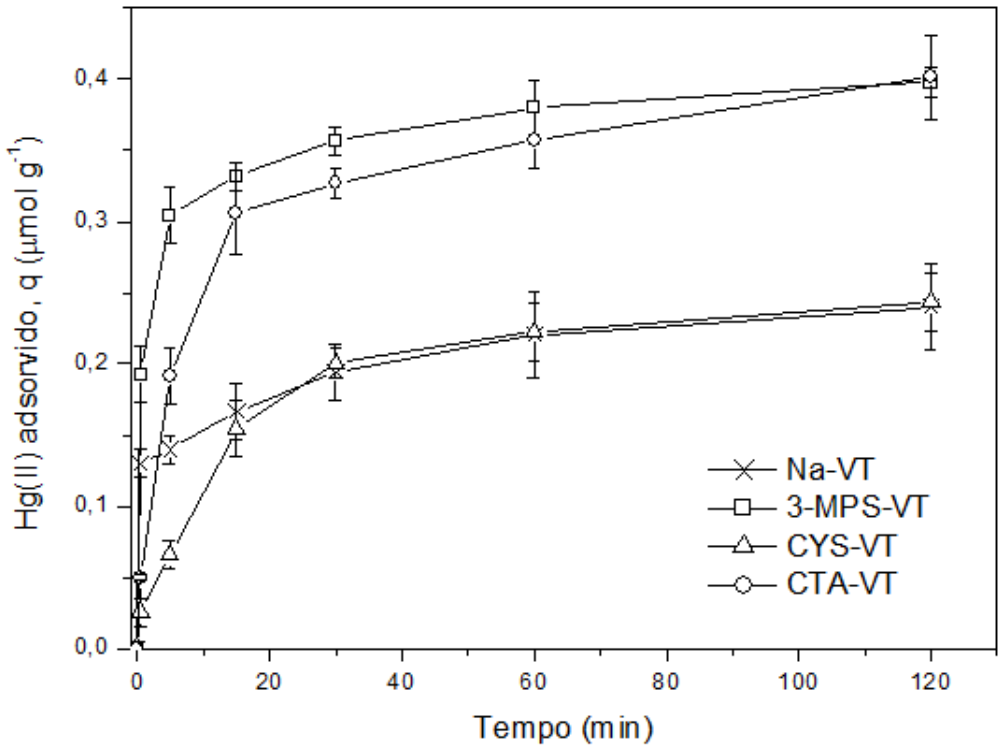


Figura 38. Adsorção de Hg(II) em função do tempo de contato no intervalo entre 0 e 120 min para uma inicial $C_{Hg,T}$ = 1,0 µmol L^{-1} na presença de 0,625 g de adsorventes. Os experimentos foram feitos a pH 6,0 ± 0,1 (MES 0,010 mol L^{-1}) em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}, a 25,0 ± 0,5 ^{o}C.

Os dados dos experimentos foram ajustados pela equação cinética de primeira ordem (Ho e McKay 1999a):

$$\log(q_{e,\exp} - q_t) = \log(q_{e,calc.}) - \frac{k_1 t}{2.303} \qquad (6)$$

Onde $q_{e,exp}$, é a quantidade de Hg(II) adsorvida (determinada experimentalmente) por grama de adsorvente depois de 2 h de tempo de contato (tempo assumido como necessário para o sistema atingir o equilíbrio aparente). O $q_{e,calc}$. é a quantidade calculada de Hg(II) adsorvida por grama de adsorvente no equilíbrio, e q_t é a quantidade adsorvida no tempo t. A inclinação da curva de $\log(q_{e,\exp.} - q_t)$ *vs. t* fornece k_1, a constante cinética de primeira ordem. Os valores de k_1 e $q_{e,calc.}$ são apresentados na Tabela 14, juntamente com o coeficiente de correlação linear, o que indica que este modelo é obedecido apenas para Na-VT.

A adsorção de íons metálicos sobre sólidos é geralmente melhor ajustada pelo modelo de pseudo segunda ordem (Ho e McKay 1999b):

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e} + \frac{1}{q_e} t \qquad (7)$$

Este modelo não requer o conhecimento experimental da capacidade de adsorção, de modo que q_e pode ser calculado diretamente a partir da inclinação t/q_t vs. t. Para todos os materiais estudados o coeficiente de correlação linear foi > 0,994 (Tabela 14), indicando que os dados experimentais foram devidamente ajustados à equação de pseudo segunda ordem. A constante cinética de pseudo segunda ordem (Tabela 14) permite estabelecer a seguinte ordem de velocidade de adsorção: 3-MPS-VT > Na-VT > CTA-VT ~ CYS-VT, o que confirma que a ligação de Hg(II) é mais rápida em sítios de adsorção localizadas nas bordas da superfície da vermiculita do que no espaço interlamelar.

Para avaliar se a difusão intrapartícula é o passo limitante da velocidade, os dados experimentais foram ajustados à equação (Ho e McKay 1999; Wu et al. 2009):

$$k_{id} = \frac{q_t}{t^{1/2}} \qquad (8)$$

Tabela 14. Parâmetros cinéticos de adsorção para a adsorção de Hg(II) nos materiais de vermiculita a 25,0 ± 0,5 °C.

	Modelo								
	1ª Ordem de Lagergren			Pseudo 2ª Ordem			Difusão Intrapartícula		
Material	k_1 (min^{-1})	$q_{e,\ calc.}$[a] (µmol g^{-1})	R^2	k_2 (g µmol^{-1} min^{-1})	$q_{e,\ calc.}$[a] (µmol g^{-1})	R^2	k_{id} (µmol g^{-1} min$^{-1/2}$)	C (µmol g^{-1})	R^2
Na-VT	0,022	0,11	0,992	0,84	0,24	0,995	0,012	0,12	0,97
3-MPS-VT	0,034	0,14	0,97	1,07	0,40	0,998	0,011	0,29	0,95
CYS-VT	0,022	0,23	0,85	0,40	0,26	0,994	0,030	-0,0039	0,98
CTA-VT	0,027	0,24	0,94	0,39	0,41	0,998	0,081	0,0007	0,99

[a] $q_{e,\ calc.}$ = calculado pelo modelo; os valores experimentais de q_e foram 0,25, 0,40, 0,29 e 0,41 µmol g^{-1} para a Na-VT, 3-MPS-VT, CYS-VT e CTA-VT, respectivamente.

O gráfico de q_t em função de $t^{1/2}$ não foi linear na janela de tempo de 0 a 120 minutos (Figura 38). Para Na-VT e 3-MPS-VT a linearidade é observada após 0,5 min (Na-VT) e 15 min (3-MPS-VT) de tempo de contato, respectivamente, o que implica na ocorrência de uma adsorção instantânea na superfície externa (coeficiente linear positivo, Tabela 14), seguida por uma adsorção gradual controlada por difusão intrapartícula (Wu et al. 2009). Para CYS-VT e CTA-VT a porção inicial do gráfico q_t vs $t^{1/2}$ é linear e passa pela origem (Figura 38), o que sugere que a adsorção inicial é controlada pela difusão intrapartícula. Este comportamento é consistente com a localização dos grupos tiol no espaço interlamelar. Uma segunda porção linear pode ser observada para tempos > 15 min (CTA-VT) e 30 min (CYS-VT) (Figura 38), com inclinação significativamente menor, o que sugere que as espécies de Hg(II) podem lentamente mover a partir de grupos silanol e aluminol (com baixa afinidade e grande abundância na superfície) para os tióis (baixa abundância e de alta afinidade no espaço interlamelar). Assim, o mecanismo de adsorção de Hg(II) em todos os materiais é complexo e tanto a adsorção superficial quanto a difusão intrapartícula influenciam a velocidade de reação (Bhattacharya et al. 2008).

9.4.2.2. Quantidade de adsorvente

O efeito da quantidade de adsorvente foi estudado utilizando massas de 25, 50, 75 e 100 mg dispersas em 10,0 mL de uma solução de Hg(II) 0,70 µmol L^{-1} (Figura 39). A porcentagem de adsorção aumentou até 99,7% para o CTA-VT e até 87,0% para 3-MPS-VT. Para CYS-VT e Na-VT as porcentagens de remoção não ultrapassaram os 71% e nenhuma tendência clara foi observada com o aumento da quantidade de adsorvente.

O aumento na porcentagem de remoção de Hg(II) com o aumento da massa do adsorvente observado para o CTA-VT é esperado devido ao aumento do número de sítios ativos com o aumento da massa de adsorvente. Por outro lado, houve uma clara diminuição na capacidade de adsorção por unidade de massa do adsorvente com o aumento da dosagem (Figura 39). Para 75 e 100 mg de CTA-VT a concentração em equilíbrio de Hg(II) foi menor que 14 nmol L^{-1}, o LD do método SIA-SCP, de modo que o Hg(II) não foi suficiente para ocupar os sítios de adsorção. Para a Na-VT, CYS-VT e 3-MPS-VT a diminuição da capacidade de adsorção por unidade de massa pode ser explicada pelas interações partícula-partícula, que podem ocorrer nas suspensões que contêm grandes quantidades de adsorvente, diminuindo a disponibilidade efetiva dos sítios de adsorção (Rao et al. 2009b). Foram observadas tendências similares para adsorção de Hg(II) e de outros metais em carvões ativados (Rao et al. 2009a,b). É necessário considerar também que nesses experimentos a quantidade de matéria de Hg(II) é fixa enquanto a massa de adsorvente aumenta, ou seja, uma mesma quantidade do Hg(II) se distribui em uma massa maior do adsorvente, acarretando uma diminuição da quantidade de Hg(II) adsorvida por unidade de massa do adsorvente. Além disso, a utilização de quantidades elevadas de adsorvente torna difícil a determinação da capacidade máxima de adsorção dos adsorventes (Q_{max}) devido a alta C_{HgT} inicial que teve de ser usada, aumentando a possibilidade de precipitação de HgO.

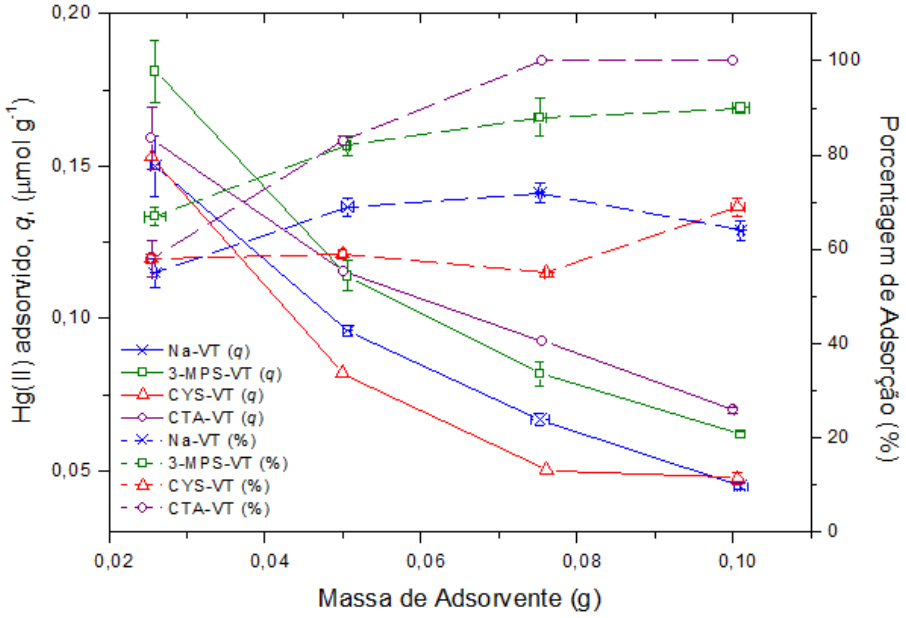


Figura 39. Efeito de quantidade de adsorvente na remoção de Hg(II) de uma solução 0,70 µmol L^{-1} a 25,0 ± 0,5 ^{o}C e pH 6,0 ± 0,1 (0,010 mol L^{-1} MES) em 0,050 mol L^{-1} $NaNO_3$, tempo de contato = 60 min. Linhas tracejadas correspondem às porcentagens de adsorção e as linhas sólidas a quantidade de Hg(II) adsorvido por grama de adsorvente.

9.4.2.3. Isotermas de Adsorção

As isotermas de adsorção para Na-VT, 3-MPS-VT e CYS-VT foram do tipo L na classificação de Giles et al. (1960), sendo bem ajustadas por ambas as equações de Langmuir e Freundlich (Figura 40), com coeficientes de correlação > 0,93 (Tabela 15). Para a isoterma de CTA-VT foi observado um formato do tipo cooperativo sob as condições de baixo grau de ocupação de sítios e o coeficiente de correlação do ajuste pelas equações de Langmuir e Freundlich não foi maior do que 0,93 e 0,91, respectivamente, resultando em desvios padrão altos para os parâmetros de adsorção ajustados (Tabela 15). Apesar disso, fica claro que CTA-VT é o material com maior capacidade de adsorção (Figura 40) em comparação com os outros adsorventes (maiores valores de q_{max} e K_f) (Figura 40, Tabela 15). CYS-VT teve também um

aumento na capacidade de adsorção (Figura 40, Tabela 15), em comparação com Na-VT. Este aumento de q_{max} é consistente com a introdução de grupos tiol no espaço interlamelar, adicionalmente aos grupos silanol e aluminol na borda da superfície. Troca iônica no espaço interlamelar, governado por atração eletrostática, provavelmente não ocorre a pH 6,0, uma vez que a espécie dominante de Hg(II) é neutra ($Hg(OH)_2$). A hipótese para explicar o aumento na capacidade de adsorção de CTA-VT e CYS-VT é o equilíbrio simultâneo envolvido na dissociação do $Hg(OH)_2$ na solução e a forte complexação superficial do Hg(II) livre pelos grupos tióis no espaço interlamelar.

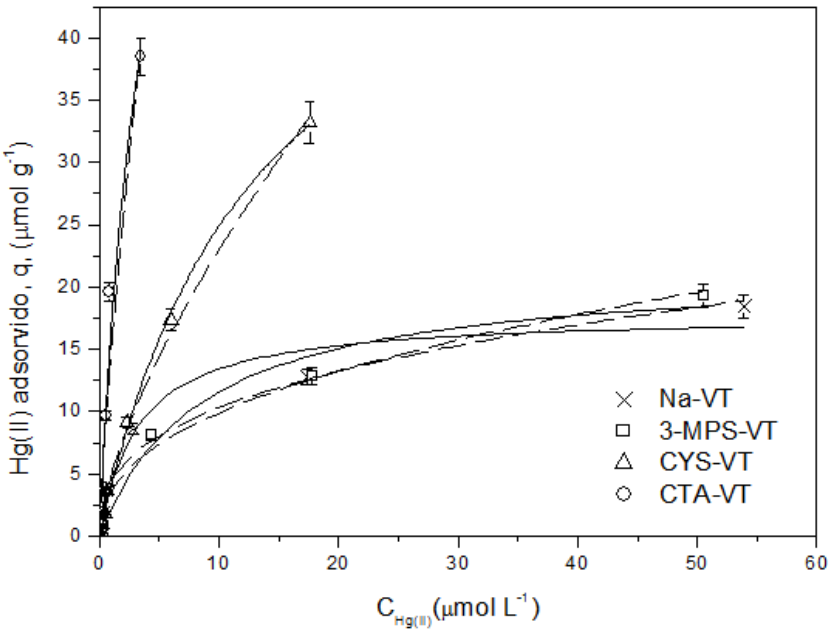


Figura 40. Isotermas de Adsorção (25,0 ± 0,5 ^{o}C) de Hg(II) em Na-VT, CYS-VT, CTA-VT e 3-MPS-VT em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1} a pH 6,0 ± 0,1 (MES 0,01 mol L^{-1}). Concentrações iniciais de Hg(II) ($C_{Hg,T}$) de 1 a 100 µmol L^{-1}. Linhas sólidas e tracejadas correspondem às curvas ajustadas por Langmuir e Freundlich, respectivamente.

Tabela 15. Parâmetros das isotermas de adsorção (25,0 ± 0,5 ^{o}C) para adsorção de Hg(II) na Na-VT e vermiculita funcionalizada com tióis.

Material	Modelo					
	Freundlich			Langmuir		
	K_f ($\mu mol^{1-1/n} g^{-1} L^{1/n}$)	*1/n*	R^2	q_{max} ($\mu mol\ g^{-1}$)	b ($L\ g^{-1}$)	R^2
Na-VT	4,5 ± 0,6	0,35 ± 0,04	0,97	18 ± 1	0,30 ± 0,09	0,96
3-MPS-VT	3,7 ± 0,6	0,42 ± 0,05	0,97	21 ± 2	0,12 ± 0,04	0,97
CYS-VT	4,9 ± 0,5	0,67 ± 0,04	0,99	57 ± 4	0,075 ± 0,009	0,996
CTA-VT	15 ± 3	0,8 ± 0,1	0,91	83 ± 30	0,8 ± 0,1	0,93

Não há alteração significativa na capacidade de adsorção de 3-MPS-VT, em comparação com Na-VT (Figura 40, Tabela 15). O fato corrobora a hipótese de que a reação de sililação dos grupos silanóis pode obedecer a estequiometrias tanto 1:1, 1:2 ou 1:3, ou seja, até três destes grupos são modificados para se obter outro grupo que contenha uma funcionalidade tiol (Airoldi e De Farias 2004; Silva et al. 2014).

Os materiais estudados no presente trabalho exibiram maior capacidade de adsorção comparada com os resultados obtidos por Tran et al. (2015) para outra amostra de vermiculita modificada com CTA e 3-MPS. A maior q_{max} encontrada pelos autores foi 286,26 µg g^{-1} para a 3-MPS-VT (1,41 µmol g^{-1}). A explicação para as grandes diferenças pode ser a CTC de apenas 0,42 meq g^{-1} da amostra comercial usada por Lytuong et al. (2015).

A partir do teor de S encontrado nas vermiculitas modificadas (Tabela 13), é possível estimar a presença de 595, 304 e 49 µmol de tióis por grama de CTA-VT, 3-MPS-VT e CYS-VT, respectivamente. Assumindo que a ligação de Hg(II) nas vermiculitas modificadas obedecem a estequiometria 1:1, os valores de q_{max} (Tabela 15) correspondem a 116, 13,9 e 6,9% do conteúdo total de grupos tióis na CYS-VT, CTA-VT e 3-MPS-VT, respectivamente. Os sítios –SH da CYS-VT devem ter sido completamente ocupados por Hg(II) e parte da capacidade de adsorção foi controlada pela interação com grupos silanóis e aluminóis.

O parâmetro *1/n* da equação de Freundlich sugere que a ligação de Hg(II) na Na-VT e 3-MPS-VT ocorre em sítios de elevada heterogeneidade energética, o que é consistente com a adsorção em grupos silanol e aluminol na borda da superfície, bem como no espaço interlamelar. A heterogeneidade na 3-MPS-VT é alta devido a adsorção ocorrer tanto nos grupos tióis quanto nos grupos silanóis não modificados. A heterogeneidade diminuiu para CYS-VT e CTA-VT, provavelmente como uma consequência da adsorção ocorrer predominantemente nos grupos SH, apesar de que na CYS-VT estes grupos foram

provavelmente saturados por Hg(II), como mencionado anteriormente. Para CTA-VT, a baixa diminuição da heterogeneidade energética (1/n → 1) foi consistente com o fato que os grupos tióis não foram saturados com Hg(II) na janela de concentrações estudada (1,0-100 µmol L^{-1}).

9.4.2.4. Efeito do pH e da força iônica

A adsorção de metais potencialmente tóxicos por vermiculita ocorre por dois processos principais: (i) de troca de cátions nos sítios do espaço interlamelar, resultantes das interações entre íons metálicos e a carga permanente negativa (complexos de esfera externa) e (ii) a formação de complexos de esfera interna com os grupos Si-O- e Al-O- nas bordas das partículas do argilomineral (El-Bayaa et al. 2009). Estes mecanismos são dependentes do pH, porque a pH < 4, a maioria dos grupos silanol e aluminol nas bordas estão protonados (Malandrino et al. 2006). A quantidade de Hg(II) ligado a CYS-VT e 3-MPS-VT se mostrou independente do pH (Figura 41), sugerindo que o processo de adsorção é predominantemente dominado por grupos tiol (Nam et al. 2003). Para CTA-VT é notado um aumento na quantidade de Hg(II) adsorvida de cerca de 37% com o aumento do pH de 2,0 a 6,0, o que sugere a participação de grupos silanol e aluminol das bordas superficiais na adsorção, já que estes grupos são desprotonados a pH 6,0. Para Na-VT há uma clara concorrência entre íons H^+ e Hg(II) para pH < 4. Em pH 2,0, por exemplo, a espécie predominante de Hg(II) é Hg^{2+}, e os grupos silanol e aluminol da borda são protonados, inibindo a adsorção. A quantidade de Hg(II) ligado em pH 4,0 é cerca de três vezes mais elevada do que em pH 2,0 (Figura 41). Estes resultados são consistentes com outros estudos de adsorção envolvendo argilominerais e metais potencialmente tóxicos (Konya et al. 2011; Brigatti et al. 2005; Padilla-Ortega et al. 2014; Sis e Uysal 2014).

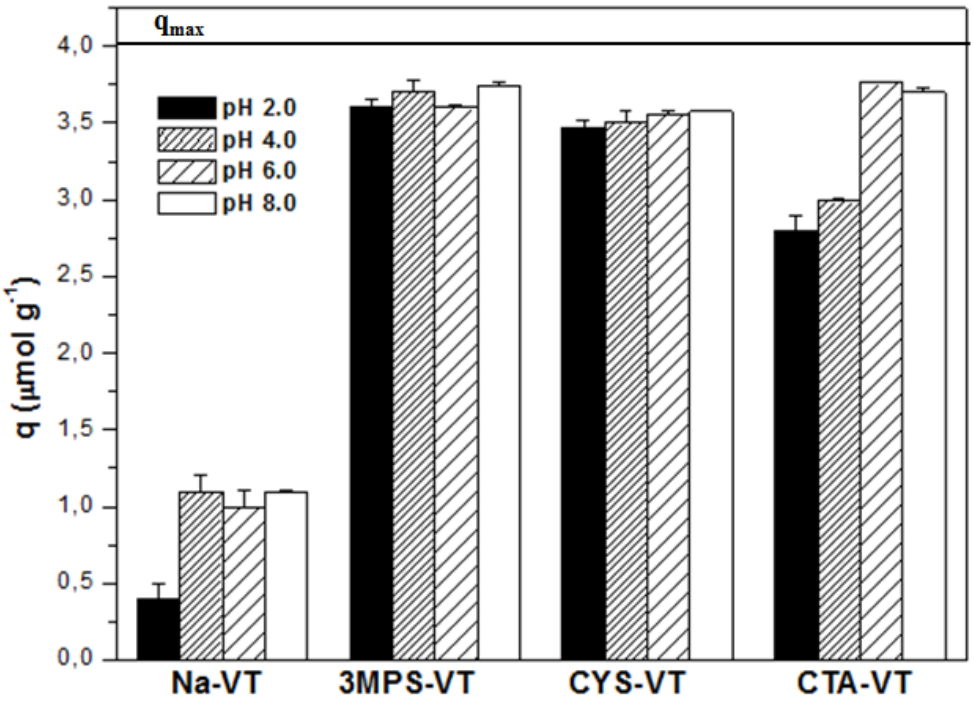


Figura 41. Quantidade de Hg(II) ligada aos adsorventes em diferentes valores de pH, em 0,050 mol L^{-1} $NaNO_3$ a 25,0 ± 0,5 ^oC. Condições experimentais: massa de adsorvente = 25 mg; volume de solução = 10 mL; concentração inicial de Hg(II) = 10 µmol L^{-1}.

Potenciais zeta negativos tem sido descritos para vermiculitas naturais e vermiculitas modificadas com aminotióis a pH 6,0, indicando superfícies carregadas negativamente, e sugerindo que interações eletrostáticas desempenham papel chave na adsorção de espécies carregadas positivamente (Tran et al. 2015). A adsorção de Hg(II) na Na-VT foi fortemente afetada pela força iônica (Figura 42); a quantidade de Hg(II) adsorvido em Na-VT na presença de $NaNO_3$ 1,0 mol L^{-1} diminuiu para 7,4% da quantidade adsorvida em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}. A diminuição da adsorção com o aumento da força iônica é consistente com os resultados de Dos Santos et al. (2015) para a adsorção de Hg(II) em K^+-montmorilonita. A espécie neutra $Hg(OH)_2$ é a principal espécie de Hg(II) em solução a pH 6,0, de modo que a troca catiônica neutralizando as cargas negativas envolveria uma prévia dissociação dos hidróxi-complexos para a posterior atração eletrostática pelas cargas negativas do argilomineral.

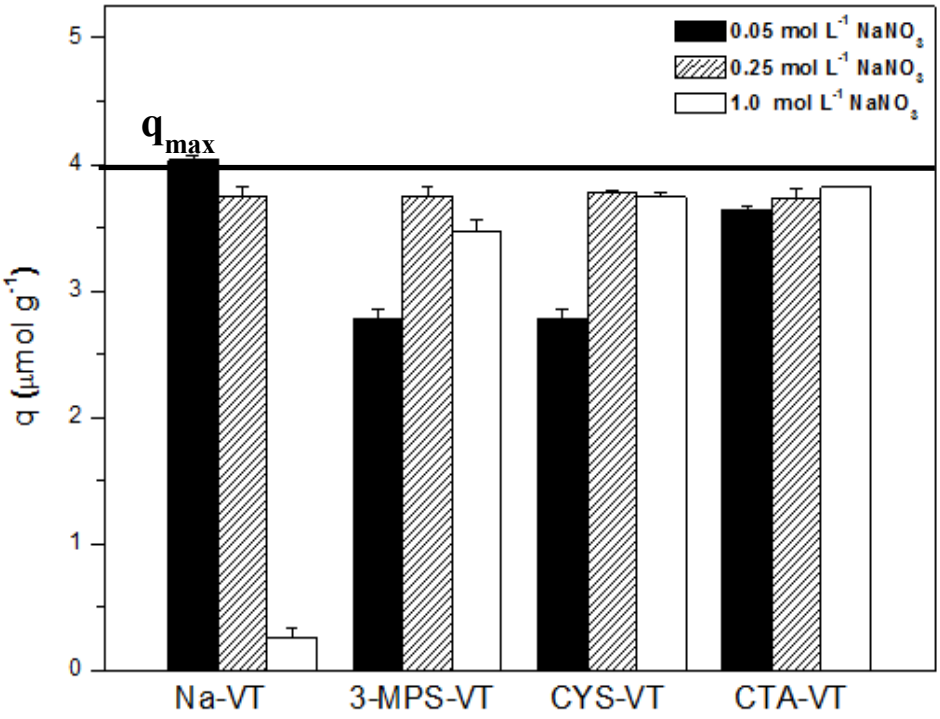


Figura 42. Efeito da concentração salina na quantidade de Hg(II) adsorvida a pH 6,0 ± 0,1 e 25,0 ± 0,5 ºC. Concentração inicial de Hg(II) = 10 µmol L^{-1}; massa de adsorvente = 25 mg, volume de solução = 10 mL.

A adsorção de Hg(II) em vermiculitas modificadas por tiol é muito menos afetada pelo aumento da força iônica (Figura 42), um fato que é consistente com a elevada afinidade e seletividade dos grupos tiol (bases moles) para com o Hg(II) (ácido mole), formando complexos de esfera de coordenação interna, que são menos afetados por efeitos eletrostáticos em meio de força iônica elevada (Zhou et al. 2014).

9.4.2.5. Dessorção

A dessorção foi testada em HCl 0,050 mol L^{-1} para todos os materiais depois da adsorção com solução de Hg(II) 10,0 µmol L^{-1} (60 min de extração). A quantidade de Hg(II)

dessorvida de CTA-VT e CYS-VT foi inferior a 1% da quantidade inicialmente adsorvida. Este fato pode ser explicado novamente pela alta energia de interação do Hg(II) com os grupos tióis em comparação com grupos silanol de Na-VT (Zhou et al. 2014; Walcarius et al. 2002; Padilla-Ortega. 2014), que exibiu uma dessorção de cerca de 21%. Dessorção de 3-MPS-VT foi cerca de 12% do Hg(II) inicialmente adsorvido, indicando que parte das espécies de Hg(II) estavam ligados a grupos silanol e aluminol como sugerido pelo elevado termo de heterogeneidade da equação de Freundlich. Se a dessorção é alta, o material pode ser reutilizado várias vezes, mas, se a adsorção é fracamente reversível em ácido diluído, tal como observado para a 3-MPS-VT, CTA-VT e CYS-VT, o material tem potencial para aplicações de remediação "in situ", já que esta tecnologia exige um longo tempo de imobilização de metais potencialmente tóxicos (Melamed et al. 2006).

9.4.2.6. Colunas de Adsorção

A Figura 43 mostra a relação $C_{Hg}/C_{Hg,0}$ em função do volume bombeado através das colunas, onde $C_{Hg,0}$ é a concentração do Hg(II) que entra na coluna (100 μmol L^{-1}). O volume de *breakthrough* foi definido como o volume que sai da coluna de vermiculita com concentração de Hg(II) superior ao limite de quantificação do método (1,5 μmol L^{-1}), implicando numa porcentagem de adsorção < 98,5%. Diferentes volumes de breakthrough foram observados para a solução de Hg(II) 100 μmol L^{-1} (pH ajustado para 6,0 ± 0,1) para os diferentes materiais. A quantidade de Hg(II) retida até o volume de breakthrough de cada material foi calculado a partir da vazão e do tempo. 3-MPS-VT foi o material com a mais elevada capacidade de adsorção para o volume de breakthrough (6,55 μmol g^{-1}), seguido pelo CTA-VT (4,82 μmol g^{-1}), CYS-VT (0,42 μmol g^{-1}) e Na-VT (0,24 μmol g^{-1}). Na-VT foi o

único material totalmente saturado com Hg(II) ($C_{Hg}/C_{Hg,0}$ = 1). A maior capacidade de 3-MPS-VT, em comparação com os outros materiais, pode estar relacionada com a incorporação destes grupos tiol nos grupos silanol da borda da vermiculita. Estes grupos de superfície externa podem ser facilmente acessados por toda a solução, enquanto que para a CTA-VT e CYS-VT os tióis provavelmente estão localizados no espaço interlamelar. É possível que alguns destes grupos modificados por CTA e CYS estejam localizados em poros preenchidos com solução estagnada que podem ser acessados apenas pela difusão do $Hg(OH)_2$, retardando o equilíbrio, conduzindo a volumes de *breakthrough* menores em comparação com 3-MPS-VT.

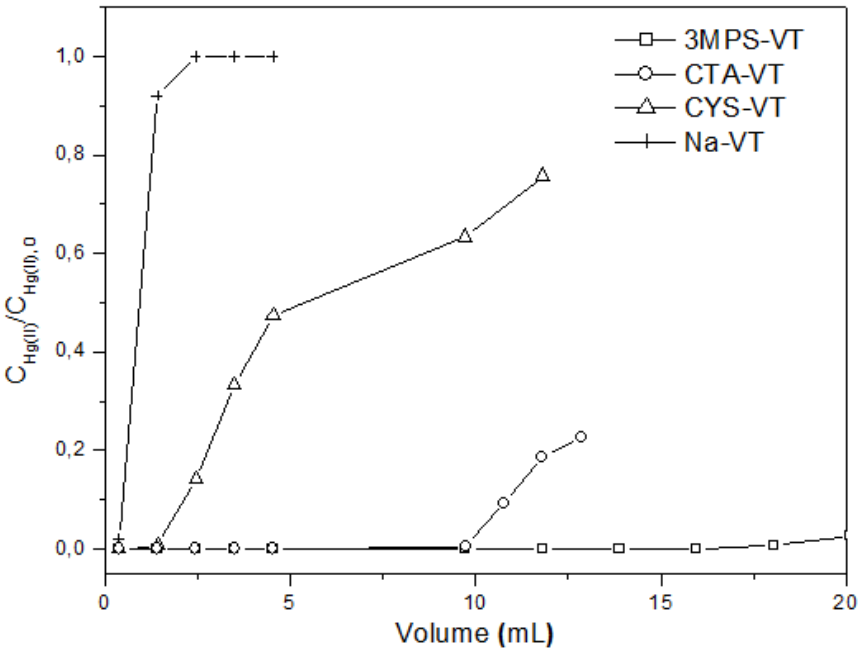


Figura 43. Volumes de *breakthrough* encontrados nas colunas de adsorção preparadas com cerca de 180 mg de adsorvente, vazão de 10 µL s^{-1} e $C_{Hg,0}$ = 100 µmol L^{-1} condicionada a pH 6,0 ± 0,1.

Para avaliar a reutilização dos materiais, as colunas foram lavadas com HCl 0,50 mol L^{-1} (durante 5 min) e regeneradas com $NaNO_3$ 1,0 mol L^{-1} (durante 5 min), seguida por um segundo experimento de adsorção que foi efetuado sob as mesmas condições. No entanto, no segundo ciclo a quantidade de Hg(II) adsorvido diminuiu em 67, 73 e 89% para 3MPS-VT, Na-VT e CTA-VT, respectivamente (em relação ao primeiro ciclo de adsorção). Este resultado sugere que, de acordo com os estudos de dessorção, o segundo ciclo de adsorção foi efetuado com os sítios de adsorção parcialmente saturados com Hg(II).

9.4.2.7. Seletividade

A fim de verificar a seletividade dos materiais, a adsorção de uma solução de Hg(II) 100 μmol L^{-1} foi estudada em presença de Ca(II), Mg(II), Cd(II) ou Pb(II), todos a uma concentração de 100 μmol L^{-1}. Na-VT, CYS-VT e CTA-VT exibiram forte perda de eficiência na presença de todos os íons interferentes. No caso da Na-VT a perda de eficácia pode ser explicada pela competição dos íons interferentes pelos sítios de troca iônica. Para CYS-VT e CTA-VT a perda de eficácia pode ser explicada por impedimento estérico e difusão lenta do $Hg(OH)_2$ para atingir os sítios de adsorção. Para 3-MPS-VT, de modo diferente dos outros materiais, adsorção não foi afetada pela presença de Cd(II), Pb(II) e Mg(II). Este fato pode ser explicado tanto pela alta seletividade dos tióis para interação com Hg(II) quanto pela grande acessibilidade aos sítios de adsorção para o fluxo de solução.

9.4.3. Interação com Se(IV)

9.4.3.1. Cinética de adsorção

A interação entre Se(IV) e a FeOH-VT mostrou-se ser um processo praticamente instantâneo. Ao se adicionar o material a uma solução contendo 1,0 µmol L^{-1} de Se(IV) e se recolher a primeira alíquota da fração líquida da dispersão, correspondente ao tempo de contato tendendo a 0, foi estimada uma concentração de 0,14 µmol L^{-1} de Se(IV), sendo 86% do Se(IV) já adsorvido pelo material. Após 5 min de contado, 93% do Se(IV) já havia sido adsorvido pela FeOH-VT, sendo que as determinações de Se(IV) para as demais alíquotas (tempos de coleta > 5 min) foram muito menores que o LQ (0,2 µmol L^{-1}). Resultado similar foi obtido por Zelmanov e Semiat (2013) que usaram nanopartículas baseadas em óxido/hidróxido de Fe(III) e observaram que a adsorção de Se foi completa e alcançou o equilíbrio em menos de 1 min de contato. A adsorção de Se(IV) em FeOH-VT se mostrou rápida em comparação com adsorventes como casca de ovo e membrana de casca de ovo empregados por Mafu et al. (2014) para a remoção de Se de águas naturais, que atingiram o máximo de adsorção após 50 min de contato. A rápida interação observada pode ser atribuída a grande quantidade de sítios presente na massa do adsorvente frente à quantidade de matéria de Se(IV) usada no experimento, isto é, com a adição do Se(IV) ao meio, havia uma grande disponibilidade de sítios que levaram a uma rápida adsorção. Mesmo apresentando rápido efeito adsortivo, preferiu-se adotar um tempo de contato de 2 h para a construção das isotermas de adsorção a fim de se garantir que todo o Se(IV) removido da solução estivesse estavelmente adsorvido na estrutura da FeOH-VT. Devido ao fato de a maior parte das determinações de Se(IV) terem resultado em valores menores do que o LQ do método

impediu o tratamento matemático dos dados experimentais para obtenção das constantes cinéticas.

9.4.3.2. Quantidade de adsorvente

O efeito da quantidade de adsorvente foi estudado utilizando massas de 25, 50, 75 e 100 mg dispersas em 10,0 mL de uma solução de Se(IV) 20,0 µmol L^{-1} (Figura 44). A porcentagem de adsorção variou de 96,9 a 97,6% entre as massas de 25 e 100 mg, mostrando que a adsorção foi pouco dependente da massa de FeOH-VT para a faixa de massas avaliada. No entanto, houve uma clara diminuição na capacidade de adsorção por unidade de massa do adsorvente com o aumento da dosagem (Figura 44). Estes resultados indicam que a concentração de Se(IV) utilizada não foi suficiente para saturação do sítios presentes nas massas de material usadas e, dessa forma, optou em usar uma massa de 25 mg para os experimentos de adsorção.

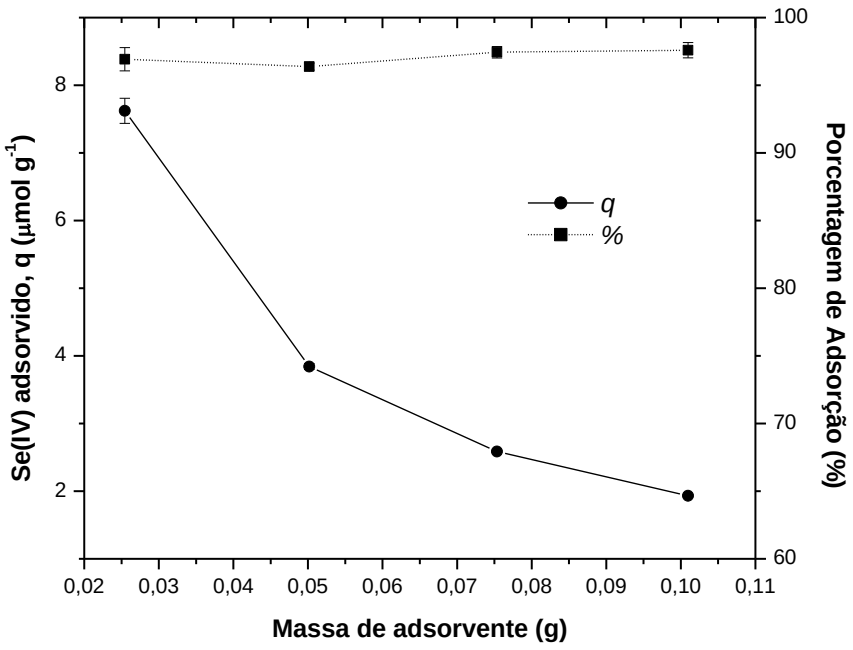


Figura 44. Efeito de quantidade de adsorvente na remoção de Se(IV) de uma solução 20,0 µmol L^{-1} a 25,0 ± 0,5 ^{o}C e pH 6,0 ± 0,1 em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}, tempo de contato = 60 min. A linha tracejada corresponde às porcentagens de adsorção e a linha sólida a quantidade de Se(IV) adsorvido por grama de adsorvente.

9.4.3.3. Isoterma de Adsorção

A isoterma de adsorção para a interação entre Se(IV) e FeOH-VT foi bem ajustada por ambas as equações de Langmuir e Freundlich (Figura 45), com coeficientes de correlação > 0,97. Os parâmetros de Freundlich foram de *1/n* = 0,58 ± 0,3 e K_f = 2,54 µmol$^{1-1/n}$g^{-1}L$^{1/n}$, sugerindo que a interação de Se(IV) e a FeOH-VT ocorre em sítios de energia heterogênea. Já os parâmetros de Langmuir foram q_{max} = 45 ± 4 µmol g^{-1} (3,6 ± 0,3 mg g^{-1}) e *b* = (3,2 ± 0,6)x10^{-2} L g^{-1}. A q_{max} obtida foi maior que a reportada por Kongsri et al. (2013) para a hidroxi-apatita, 1,58 mg g^{-1}, e quitosana, 1,92 mg g^{-1}.

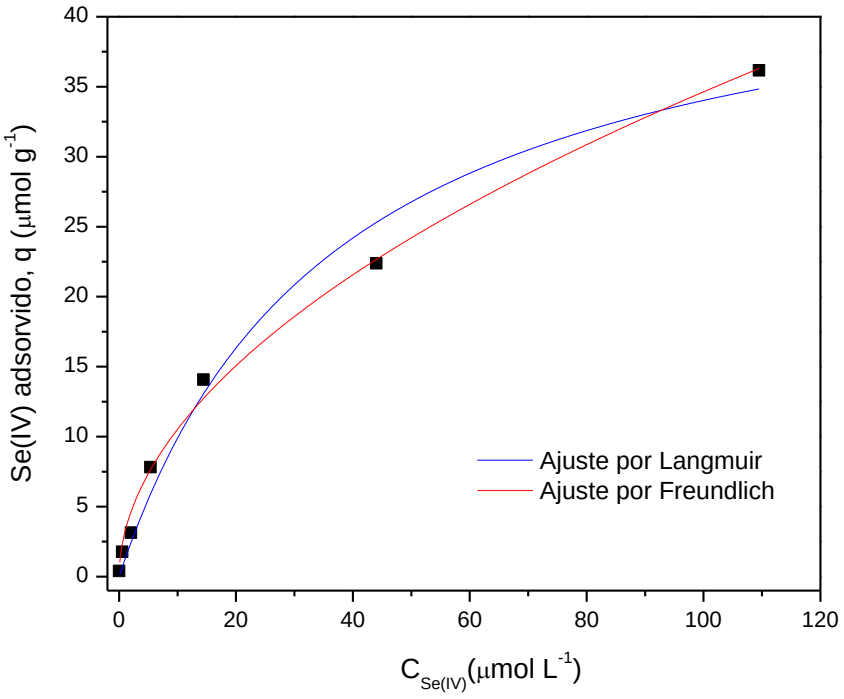


Figura 45. Isoterma de Adsorção (25,0 ± 0,5 ^{o}C) de Se(IV) em FeOH-VT em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1} a pH 6,0 ± 0,1. Concentrações iniciais de Se(IV) ($C_{Se,T}$) de 1 a 400 µmol L^{-1}. Linhas azul e vermelha correspondem às curvas ajustadas por Langmuir e Freundlich, respectivamente.

9.4.3.4. Efeito do pH e da Força iônica

Para avaliar a influência do pH na adsorção, numa primeira tentativa as soluções de Se(IV) foram previamente ajustadas a pH 2,0, 4,0, 6,0 e 8,0 e com posterior adição a massa de 25 mg de FeOH-VT e em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}. No entanto essa abordagem resultou em grandes variações de pH nas dispersões, em comparação aos pHs inicialmente ajustados. Numa segunda tentativa, após o preparo das dispersões, nas determinadas concentrações de Se(IV) e massa de adsorvente, o pH foi ajustado previamente e medido após as 2 h de interação, conforme a Tabela 16.

Tabela 16. Variação do pH após a interação do Se(IV) com FeOH-VT.

pH das dispersões ajustado	pH das dispersões após interação
4,4 ± 0,2	3,7 ± 0,1
5,6 ± 0,2	5,1 ± 0,7
8,0 ± 0,4	6,2 ± 0,1
10,99 ± 0,03	10,91 ± 0,03

Como pode ser visto pela Tabela 16, há diminuição do valor de pH de todas as dispersões, sendo as maiores variações observadas para as dispersões ajustadas a pH de 4,0, 6,0 e 8,0. Essa variação pode ser decorrente da acidez proveniente da hidrólise do Fe(III).

A interação entre $HSeO_3^-$ e a FeOH-VT pode ser explicada pelo mecanismo proposto por Duc et al. (2006), representado pelas reações 5, 6 e 7, para a formação de complexos de esfera interna. Em pH 4,0 as porcentagens de adsorção variaram de 40 a 56%; para pH 6,0 entre 9 e 17%, enquanto em pH 8,0 e 10,0, não houve adsorção. O aumento da acidez do meio tornou os experimentos de adsorção pouco reprodutíveis para cada pH avaliado (n = 3), justificando a faixa de porcentagem de adsorção para cada pH.

$$S{>}Fe\text{-}OH + H^+ + SeO_3^{2-} \rightleftharpoons S{>}Fe\text{-}OSe(O)O^- + H_2O \qquad \text{(Reação 5)}$$

$$S{>}Fe\text{-}OH + 2H^+ + SeO_3^{2-} \rightleftharpoons S{>}Fe\text{-}OSe(O)OH + H_2O \qquad \text{(Reação 6)}$$

$$2(S{>}Fe\text{-}OH) + 2H^+ + SeO_3^{2-} \rightleftharpoons 2(S{>}Fe\text{-}O)_2SeO + 2\,H_2O \qquad \text{(Reação 7)}$$

Onde S representa a matriz sólida do adsorvente.

Em valores de pHs menores que o pH do ponto isoelétrico do material (pH_{IEP}), a atração eletrostática entre os grupos carregados positivamente na estrutura da FeOH-VT (representados por $=FeOH^{2+}$) promovem a adsorção do $HSeO_3^-$, espécie majoritária na faixa de pH estudada, Figura 46. Adicionalmente à atração eletrostática ocorre a troca de ligantes no adsorvente, levando à formação de um complexo de esfera de coordenação interna bastante

estável. Já em valores de pHs maiores que o pH_{IEP} a quantidade de grupos $=FeOH^{2+}$ na estrutura do material diminui, e com a progressiva desprotonação, os grupos $=FeO^{-}$ são formados e as cargas negativas na estrutura passa a dominar. Somado a isso, a espécie majoritária de Se(IV) para pH > 6,0 é o selenito, SeO_3^{2-}, e tais condições desfavorecem a interação eletrostática (repulsão de cargas do adsorvente e adsorbato), levando a uma menor adsorção com o aumento do pH (Zhang et al. 2009; Jordan et al. 2013; Huang 2015). Resultados similares foram reportados para a interação de Se(IV) com nanopartículas de óxido/hidróxido de ferro por Zelmanov e Semiat (2013); com maghemita por Jordan (2013); e com nano-TiO_2. por Huang (2015).

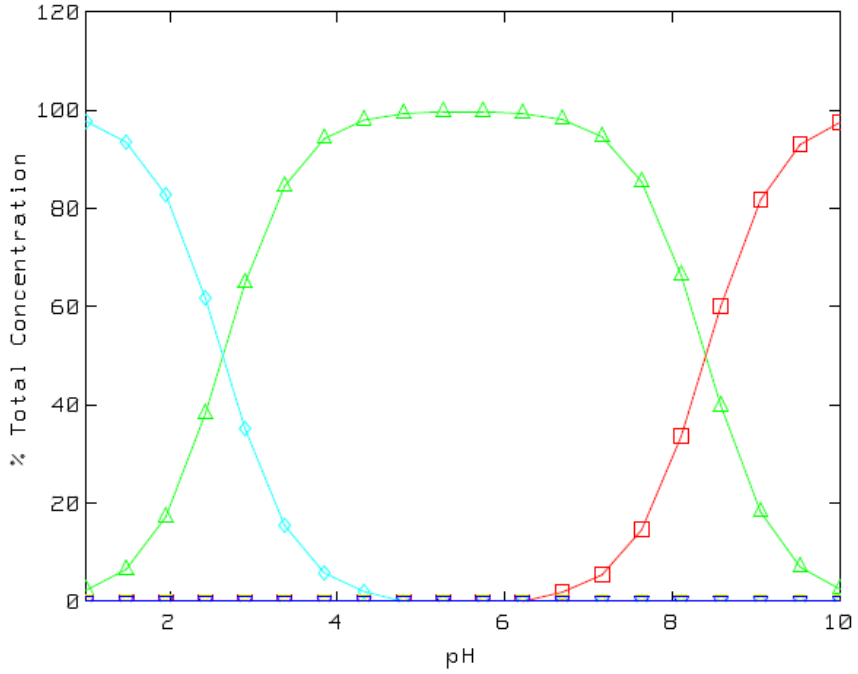


Figura 46. Distribuição das espécies de Se(IV) em função do pH, para uma faixa de pH de 1 a 10, levando-se em consideração uma concentração inicial de Se(IV) de 10^{-6} mol L^{-1}. Espécies: $HSeO_3^{-}$ – verde, SeO_3^{2-} - vermelho, H_2SeO_3 - azul claro, SeO_2 - azul.

A porcentagem de adsorção de Se(IV) pela FeOH-VT variou de 70 a 53% ao se aumentar a força iônica de 0,050 a 1,0 mol L^{-1} (Figura 47). Como nenhuma adsorção foi observada para Na-VT, após a modificação de Na-VT para FeOH-VT o material provavelmente pode apresentar em sua estrutura cargas positivas (maior teor de Fe em relação a CTC da Na-VT), pela presença de Fe(III), parte do Se(IV) pode ter sido adsorvido por interações eletrostáticas por estar na forma de $HSeO_3^-$ (biselenito). Os íons NO_3^- podem ter atuado como competidores pela adsorção no material, interferindo assim nesse mecanismo de interação. Apesar de a formação dos complexos de esfera interna entre Se(IV) e a estrutura do material ser o mecanismo que governa a interação, a diminuição da adsorção sugere que um dos componentes para a interação seja a atração eletrostática, mas com menor contribuição, já que a diminuição da adsorção não foi tão pronunciada. Tal evidência também foi verificada para as nano-partículas de dióxido de titânio (nano-TiO_2) desenvolvidas por Huang (2015) para a adsorção de Se(IV) e por Jordan et al. (2013) para a interação de Se(VI) com maghemita.

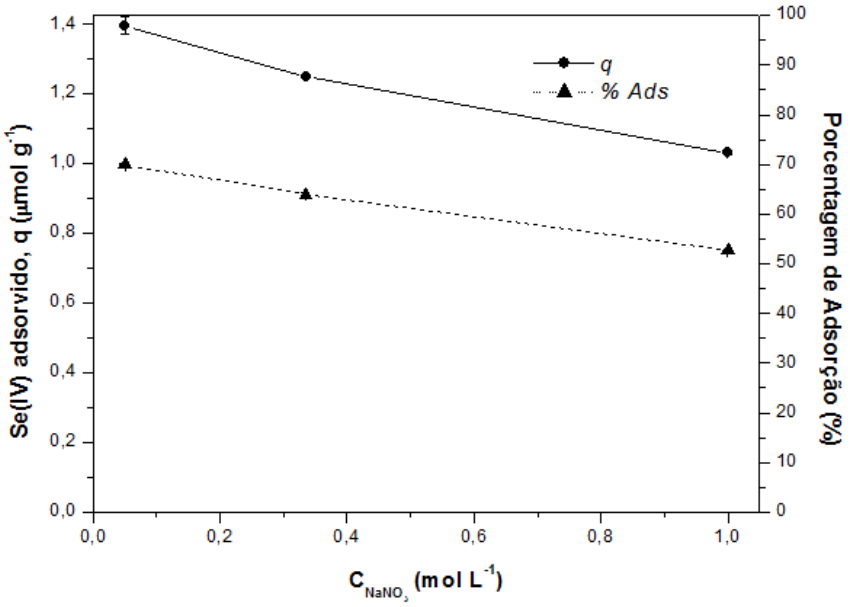


Figura 47. Quantidade adsorvida de Se(IV) em função da concentração salina a pH 6,0 ± 0,1 e 25,0 ± 0,5 ºC. Concentração inicial de Se(IV) = 5 µmol L^{-1}; massa de adsorvente = 25 mg, volume de solução = 10 mL.

9.4.3.5. Seletividade

A seletividade da FeOH-VT foi avaliada por experimentos de adsorção de Se(IV) na presença de espécies catiônicas como Cu^{2+}, Pb^{2+}, Cd^{2+}, Mg^{2+}, Ca^{2+}, As^{3+} (5 µmol L^{-1}) e aniônicas como Cl^-, SO_4^{2-} e $H_2PO_4^-$ (1,0 mmol L^{-1}), sob as mesmas condições dos experimentos anteriormente descritos. Para todas as espécies, os níveis de interferência foram menores que ± 5% na adsorção. Apenas a presença de $H_2PO_4^-$ levou a diminuição da adsorção de Se(IV) que passou de 83,5 ± 0,6%, nos experimentos controle, para 61 ± 2%, no experimento na presença de $H_2PO_4^-$, caracterizando, assim, essa espécie como uma potencial competidora pela adsorção de $HSeO_3^-$. O efeito competidor do $H_2PO_4^-$ (Gonzalez et al. 2010; Sharrad et al. 2012; Kim et al. 2012) é devido a similar formação de complexos de esfera interna com a espécie (similar ao que ocorre com Se(IV)) na superfície do material, da mesma forma como observado por Goh e Lim (2004) para superfícies que contém óxidos de ferro.

9.4.3.6. Dessorção

Após a adsorção (em contato com soluções de Se(IV) de 1,0; 25,0 e 200,0 µmol L^{-1}), as massas (~25 mg) de FeOH-VT foram separadas da fração líquida e tratadas sequencialmente com soluções de $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1} e H_2SO_4 0,10 mol L^{-1}, sob agitação a 200 r.p.m. a 25 ºC por 2 h, com posterior determinação das concentrações de Se(IV) na fase líquida. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 17.

Tabela 17. Porcentagens de dessorção de Se(IV) em FeOH-VT em meio de $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1} e H_2SO_4 0,10 mol L^{-1}.

C_{inial} Se(IV) (µmol L^{-1})	**% Adsorção**	**% Dessorção ($NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1})**	**% Dessorção (H_2SO_4 0,10 mol L^{-1})**
1,0	100 ± 0	0 ± 0	26 ± 3
25,0	79 ± 1	3,4 ± 0,5	34 ± 2
200,0	28 ± 1	6,1 ± 0,8	37 ± 3

Como pode ser observado pela Tabela 17, o meio de $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}, promoveu uma baixa dessorção em comparação ao meio de H_2SO_4 0,10 mol L^{-1}. A dessorção em H_2SO_4 0,10 mol L^{-1} foi maior provavelmente pela protonação do biselenito adsorvido a ácido selenoso, de carga neutra, levando a uma menor atração eletrostática entre o Se(IV) e a estrutura do material. Assim, devido às baixas dessorções obtidas em ambos os meios, a reusabilidade do material para uma novos ciclos de adsorção foi descartada.

9.5. BIOSSORÇÃO EM *Chlamydomonas reinhardtii*

9.5.1. Caracterização

9.5.1.1. Espectros de IR

A caracterização da microalga *C. reinhardtii* por Espectroscopia de Infravermelho por ATR (Reflexão Total Atenuada) foi realizada em um aparelho Frontier (Perkin Elmer, Walthan, MA, EUA), no intervalo de 400 a 4000 cm^{-1}, em pH 4,0, 5,0 e 6,0, na presença e ausência de 500 µmol L^{-1} Hg(II) (2,5 µmol) (Figura 48). Os espectros obtidos são consistentes com espectros descritos por outros autores (Kiefer et al.1997; Adhiya et al. 2002; Erkaya et al. 2014). Uma forte banda centrada a 3284 cm^{-1} pode ser associada a ligações N-H e O-H de

grupos amino e carboxílicos, como também a vibrações O-H da água. As bandas a 1538 e 1638 cm^{-1} são devido a amida II (dobramento N-H e estiramento C-N) e amida I (estiramento C = O), respectivamente. As bandas a 1393 e 1450 cm^{-1} podem ser atribuídas a uma mistura de vibrações de carboxilato e carboxílicos. A banda em 1230 cm^{-1} pode ser atribuída ao estiramento C-O de fenóis e as bandas a 1076 e 1014 cm^{-1} ao estiramento C-O de grupos alcoólicos em carboidratos (Kiefer et al. 1997). Outras bandas são relacionadas a vibrações C-N, N-H, C-H, C=O de grupos funcionais de proteínas e polissacarídeos, que são os principais constituintes das paredes celulares e membranas.

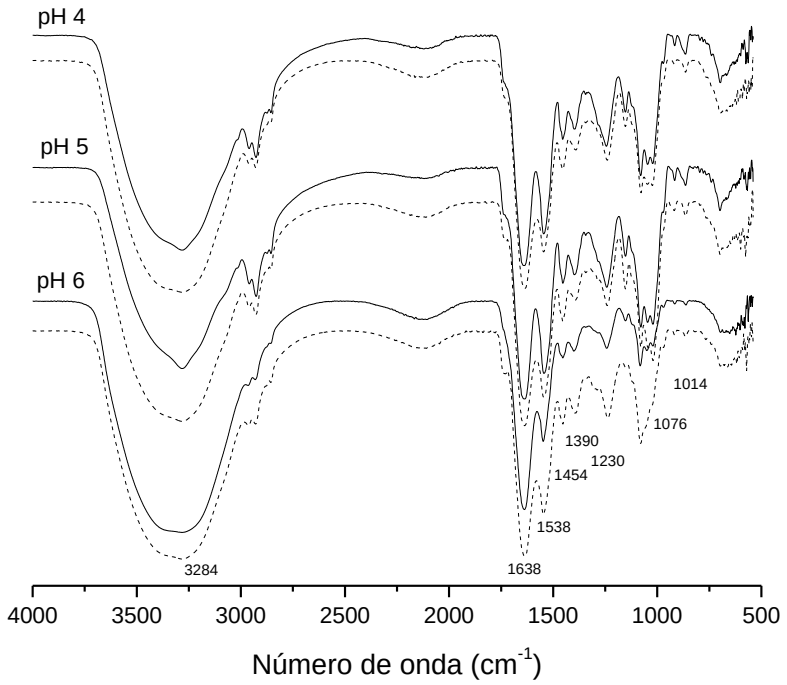


Figura 48. Espectros de Infravermelho de refletância total atenuada por transformada de Fourier de *C. reinhardtii* na ausência (linha cheia) e presença de Hg(II) (linha tracejada) agrupados nos três pHs estudados. Experimentos na presença de mercúrio foram feitos pelo equilíbrio entre 2,5 µmol de Hg(II) com 7,4 x 10^6 células durante 120 minutos. As células foram separadas por centrifugação, lavadas duas vezes com água e secas sob um fluxo de N_2 antes da aquisição dos espectros.

A presença de Hg(II) não alterou nenhum dos comprimentos de onda, diferentemente do observado por Fourest e Volesky (1996) para a interação de Cd(II) e Pb(II) com alginato e biomassa seca da alga marinha *Sargassum fluitans*. A ausência de mudanças nos comprimentos de onda indica que o Hg(II) não se ligou a grupos funcionais presentes na superfície das algas expostas a radiação infravermelho, o que é consistente com os resultados de Tuzun et al. (2005) para a interação de Hg(II), Cd(II) e Pb(II) com *C. reinhardtii*. No entanto, como a internalização é um processo mais lento que a adsorção na superfície, a ausência de mudanças nos comprimentos de onda é provavelmente uma consequência da baixa sensibilidade das medidas de infravermelho nas concentrações de Hg(II) estudadas. Após 2 h de exposição uma parte do Hg(II) deve ter sido internalizada e o Hg(II) adsorvido na superfície pode ocupar uma pequena fração do total de sítios de ligação disponíveis, de modo que não haveria mudanças observáveis de comprimento de onda.

9.5.1.2. Titulação Potenciométrica

Os dados de titulação potenciométrica tratados pelas funções de Gran modificadas (Aleixo et al. 1992) foram devidamente ajustados por cinco classes distintas de grupos ionizáveis (Figura 49), com os valores de pKa entre 4,4 e 10,6 (Tabela 18). Grupos HA1 e HA2 foram titulados dentro da faixa de pH típico de grupos carboxílicos, enquanto a espécie HA3 pode ser associada a grupos de imidazol da histidina ou aos grupos de fosfato de fosfolipídios. A presença de grupos fenólicos ou tiol de cisteína ou metionina pode ser explicado pelo grupo ionizável com pKa 8,8 (HA4), enquanto os grupos amina das proteínas da parede celular e aminoácidos são titulados em meio alcalino com pKa 10,6 (HA5) (Bayramoglu et al. 2006). Os grupos amina foram significativamente mais abundantes do que

os grupos restantes (56,4%), seguidos pela soma dos grupos carboxílicos que contribuíram com 25,1% do total de sítios ionizáveis (6,4 ± 0,4 mmol g^{-1}).

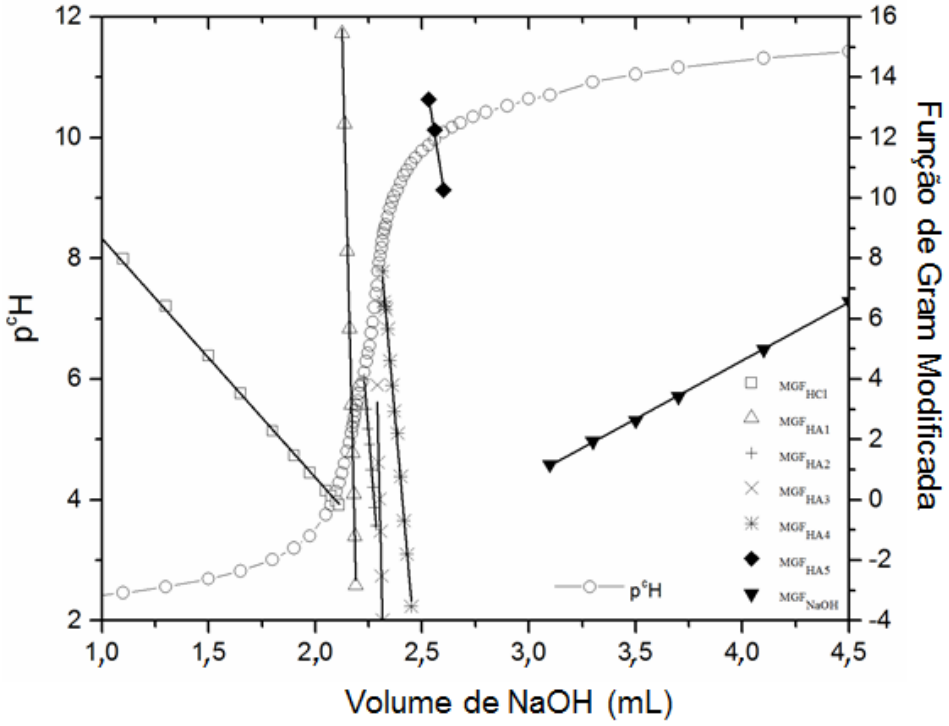


Figura 49. Curva de titulação potenciométrica da suspensão de *C. reinhardtii* em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1} a 25,0 ± 0,1 ºC com NaOH, sobreposta por funções de Gran modificadas para o excesso de HCl e NaOH (MGF_{HCl} e MGF_{NaOH}, respectivamente) e cinco classes de sítios ionizáveis (MGF_{HA1} to MGF_{HA5}).

Tabela 18. Concentração, pK_a e porcentagem de contribuição das cinco classes de sítios ionizáveis caracterizados na *C. reinhardtii*, determinados a 25,0±0,1 ºC em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}.

Sítio	C_{HAi} (mmol g^{-1})	pKa	%HA_i
HA1	0,8 ± 0,1	4,4 ± 0,2	12,5
HA2	0,8 ± 0,1	5,7 ± 0,6	12,5
HA3	0,28 ± 0,04	7,2 ± 0,4	4,4
HA4	0,9 ± 0,2	8,8 ± 0,4	14,1
HA5	3,6 ± 0,5	10,6 ± 0,2	56,4

Kiefer et al. (1997) obtiveram 0,91 mmol g^{-1} de sítios ionizáveis, enquanto Adhiya et al. (2002) encontraram cerca de 2 mmol g^{-1} quando as algas foram tituladas na faixa de pH 3,8-9,6. Estes valores estão concordantes com os encontrados no presente trabalho, 2,8 ± 0,4 mmol g^{-1}, que corresponde à soma do HA1 para HA4. As discrepâncias encontradas na literatura são uma consequência das diferentes abordagens utilizadas para executar a titulação potenciométrica (diferentes faixas de pH) e até mesmo os diferentes modelos de computação aplicados.

9.5.2. Interação com Hg(II)

9.5.2.1. Cinética de Biossorção

Um aumento do tempo de contato de 0,5 a 60 min levou a uma remoção de Hg(II) significativa, atingindo cerca de 72 % de biossorção, aproximando-se de um aparente equilíbrio em 90 min (74 %), Figura 50. Já em 180 min, a porcentagem de biossorção manteve-se praticamente constante em relação ao tempo de 90 min (75 %). Dessa forma, um tempo de 120 min, foi adotado para se realizar os experimentos de biossorção envolvendo Hg(II) e a espécie de microalga estudada. Os dados de cinética de interação foram ajustados aos modelos de primeira ordem e pseudo segunda ordem (*seção 9.4.2.1.*), e de difusão intrapartícula (*seção 9*.4.2.1).

O modelo cinético de primeira ordem não foi adequado para ajustar os dados experimentais (Figura 50), enquanto que o modelo de pseudo segunda ordem forneceu um $r^2 > 0,999$ (Figura 50A). Os valores de q_e e k_2 foram 76,9 ± 0,8 μmol g^{-1} e 0,41 ± 0,09 g μmol min^{-1}, respectivamente. A rápida sorção pode ser facilmente explicada pelas interações de

Hg(II) com os sítios de adsorção facilmente acessíveis de polissacáridos, proteínas e lipídeos na superfície externa da parede celular, sendo consistentes com os resultados reportados na literatura para a biossorção de Hg(II), Cd(II) e Pb(II) por *C. reinhardtii* (Tuzun et ai, 2005; Bayramoglu et al, 2006).

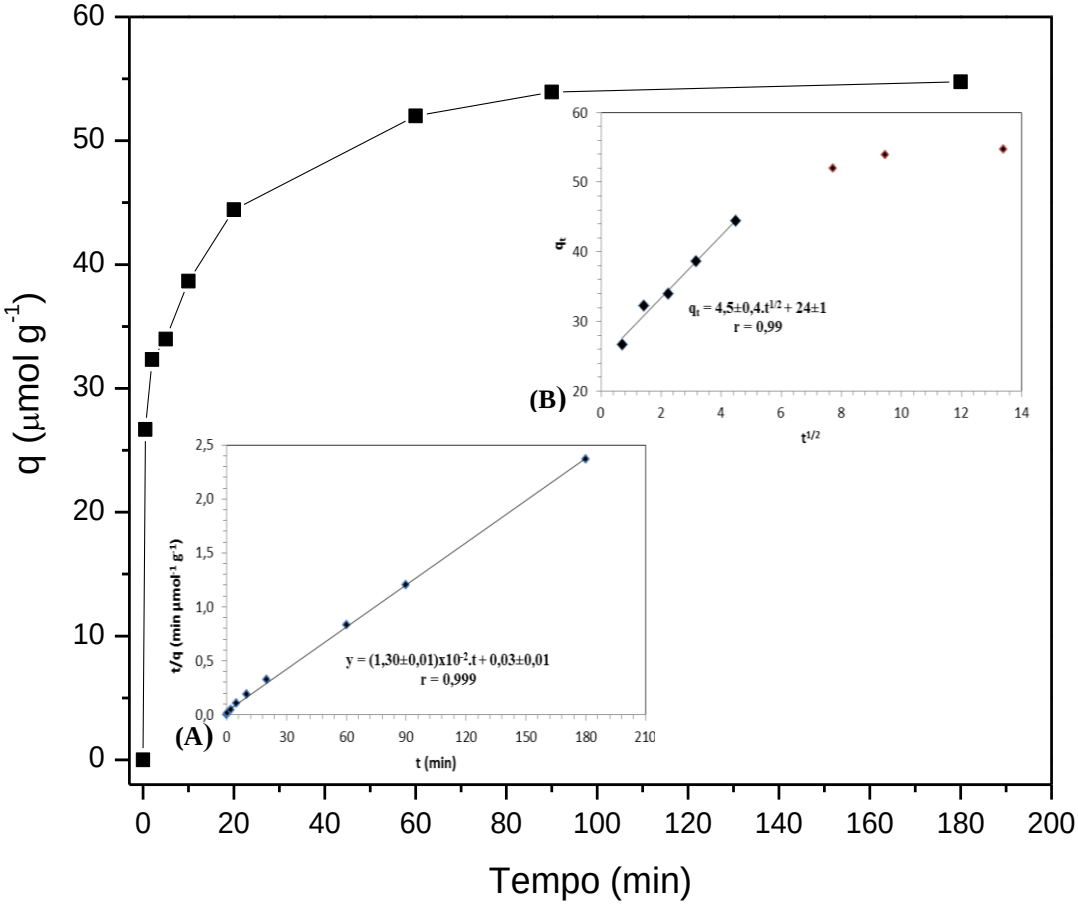


Figura 50. Adsorção de Hg(II) em função do tempo de contato no intervalo entre 0 e 180 min para uma $C_{Hg,T}$ inicial de 20,0 µmol L^{-1} na presença de 4 x 10^9 células L^{-1}. O experimento foi feito em pH 6,0 ± 0,1 e em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}, a 25,0 ± 0.5 ^oC. Aplicação dos modelos de cinética de pseudo-segunda ordem (A) e de difusão intrapartícula (B).

Após a rápida adsorção, houve ainda a acumulação do Hg(II) no citoplasma, o que é caracterizado por um processo mais lento de internalização (Sinha e Khare 2012). Isso pode ser verificado pelo modelo de difusão intrapartícula a partir do ajuste dos dados experimentais à equação de Weber e Morris (1963), equação 8 (*seção 9.4.2.1.*), no qual foi observada uma

linearidade no gráfico de q^t em função de $t^{1/2}$ até o tempo de 20 min (r = 0,99), Figura 50B, e visto que a constante C (24±1 μmol g^{-1}), que está relacionada com a resistência a difusão ser diferente de 0, implica que a biossorção ocorreu de modo praticamente instantâneo, seguido por um processo mais lento de difusão intrapartícula, sendo consistente com o verificado para a alga verde *Chlorella vulgaris* (Inthorn et al. 2012). Tal resultado está de acordo com o modelo de pseudo-segunda ordem que melhor se aplicou aos dados. Após 20 min de contato e agitação, o processo de biossorção tornou-se mais lento, ou seja, sendo provavelmente dependente da permeação do Hg(II) pela membrana da microalga e principalmente pela diminuição da concentração de Hg(II) no seio da solução (Sinha e Khare 2012).

9.5.2.2. Quantidade de Biossorvente

O efeito da quantidade de biossorvente foi estudado utilizando concentrações entre 5 x 10^8 e 8 x 10^9 células L^{-1}, correspondendo a massas entre 0,225 e 3,60 mg (Figura 51). As células foram dispersas em 5,0 mL de uma solução de Hg(II) 15,0 μmol L^{-1} em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}, pH 6,0 ± 0,1. A remoção de Hg(II) aumentou de 74 ± 1 para 96 ± 1 % ao se aumentar a concentração de 5 x 10^8 para 8 x 10^9 células L^{-1} (Figura 50), sendo consequência do aumento do número de sítios disponíveis para a biossorção. Por outro lado, este aumento de 22% na remoção de Hg(II) para o aumento de 16 vezes da biomassa levou a uma diminuição na proporção molar de Hg(II) ligado, n_{HgL}, para o número total de sítios ionizáveis (n_{HA}, determinados por titulação potenciométrica), assumindo uma estequiometria de complexação de 1:1 (Figura 51). A proporção de n_{HgL} / n_{HA} tende a se estabilizar para concentrações de células maiores que 4x10^9 células L^{-1}, e, portanto, esta foi a concentração usada para construir as isotermas de biossorção. A diminuição da quantidade de metal ligado por unidade celular

com o aumento das concentrações de células tem sido atribuído a interações eletrostáticas entre as células adjacentes, conduzindo à formação de agregados de algas em mais altas populações de células, diminuindo, assim, a disponibilidade de sítios para a biossorção (Tuzen et al. 2009; Giri et al. 2011). No entanto, com o aumento da biomassa, a quantidade fixa de metal tem que se distribuir por muito mais células, de modo que cada célula liga menos metal. Além disso, como os sítios de ligação são heterogêneos e os sítios com maior força de ligação são preferencialmente ocupados sob baixa ocupação de sítios (baixo n_{HgL} / n_{HA}), proporcionalmente menos metal lábil é obtido em altas concentrações de células.

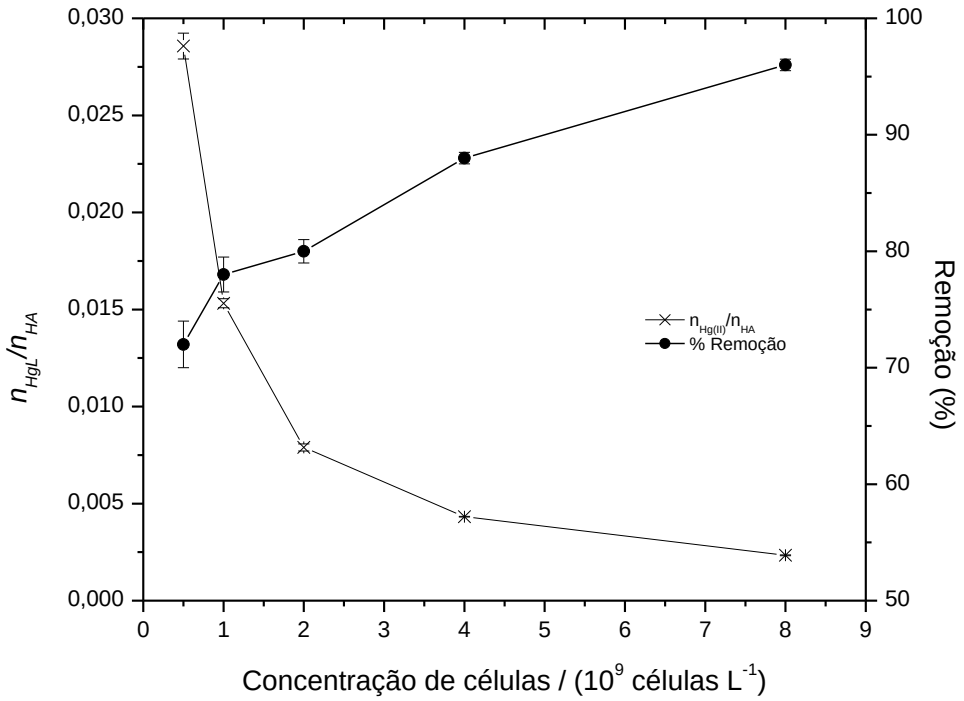


Figura 51. Efeito de quantidade de biossorvente (*C. reinhardtii*) na remoção de Hg(II) de uma solução Hg(II) 15,0 µmol L^{-1} a 25,0 ± 0,5 ^oC, pH 6,0 ± 0,1 em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}, tempo de contato = 120 min.

9.5.2.3. Isotermas de Biossorção

As isotermas de biossorção de Hg(II) foram obtidas a pH 4,0, 5,0 e 6,0 (Figura 52), e ajustadas pela equação de Langmuir-Freundlich. A isoterma de Langmuir-Freundlich, foi a que melhor ajustou dos dados experimentais. Esta equação descreve as relações específicas entre as concentrações em equilíbrio de adsorbato e adsorvente em sistemas heterogêneos com três parâmetros de ajuste, de acordo com a equação 9:

$$q = \frac{q_{\max}(bC_{Hg})^m}{1+(bC_{Hg})^m} \qquad (9)$$

onde, C_{Hg} é a concentração livre de Hg(II) no equilíbrio e q é quantidade de Hg(II) ligado por grama de microalgas, determinada experimentalmente. Os parâmetros ajustados são q_{max}, o número total de sítios de ligação, b, a afinidade de ligação média relacionada com a energia livre de adsorção de Gibbs e m, o índice de heterogeneidade que varia de 0 (totalmente heterogêneo) a 1 (totalmente homogêneo). O valor de m > 1 sugere que os efeitos cooperativos podem exercer um papel importante na adsorção (Hammami et al. 2016). Se m = 1, a equação se reduz a isoterma de Langmuir. Se C_{Hg} ou b se aproxima de 0, a equação se reduz à isoterma de Freundlich. Assim, a principal vantagem do modelo combinado de Langmuir-Freundlich é a possibilidade de modelar ambas as superfícies de sorção homogênea e heterogênea (Umpleby et al. 2001).

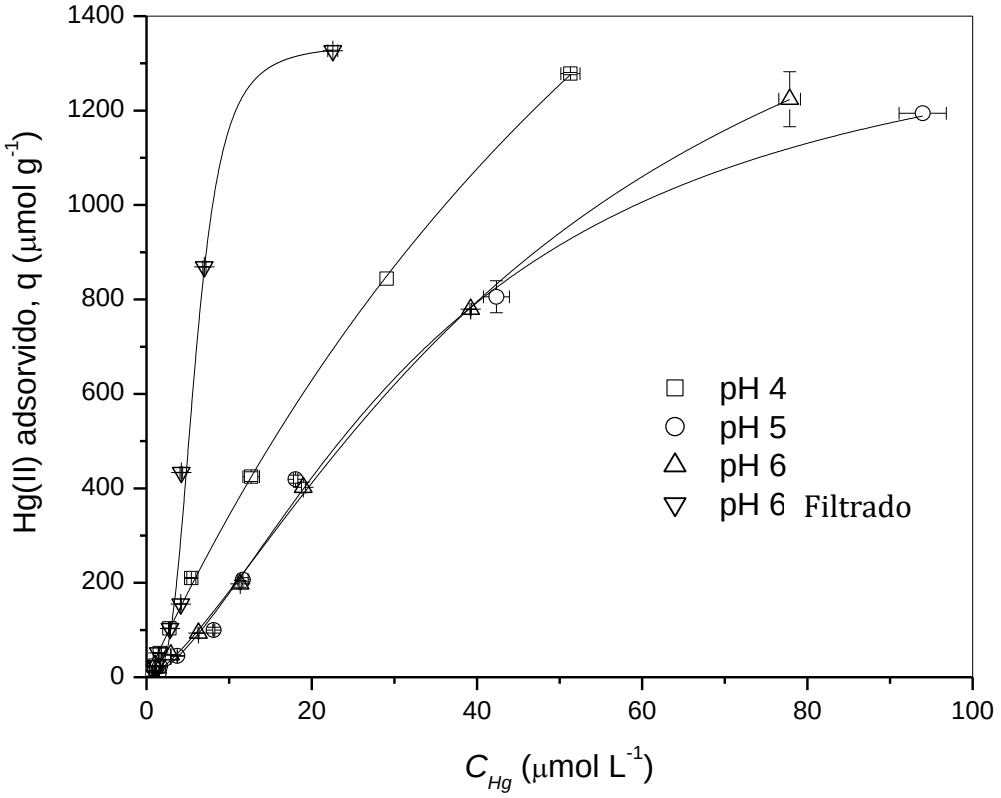


Figura 52. Isotermas de biossorção (25,0 ± 0,5 ^{o}C) de Hg(II) na *C. reinhartii* em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1} nos pHs 4,0; 5,0 e 6,0 (± 0,1). Concentrações iniciais de Hg(II) ($C_{Hg,T}$) foram de 5 a 500 µmol L^{-1}. O efeito da presença das células de microalgas foi estudado em pH 6,0 pela obtenção de dados na presença e ausência de células de microalgas (filtrado). As linhas contínuas são as curvas ajustadas de Langmuir-Freundlich.

Em pH 4,0 o parâmetro de heterogeneidade se aproximou de 1 (Tabela 19), indicando uma alta homogeneidade dos sítios de adsorção; os dados poderiam ser bem ajustados tanto pelas isotermas de Langmuir e Langmuir-Freundlich, sem qualquer diferença significativa nos parâmetros ajustados ($p < 0,05$). A maior q_{max}, 3,3 ± 0,9 mmol g^{-1}, foi obtida em pH 4,0. Em pH 5,0 e 6,0 os valores de q_{max} foram 1,20 ± 0,10 e 1,40 ± 0,14 mmol g^{-1}, respectivamente. Este é um comportamento inesperado uma vez que a capacidade de adsorção deve aumentar com o pH, como consequência da diminuição da concorrência com íons H^+ pelos sítios de ligação na superfície das microalgas. Le Faucheur et al. também obtiveram um aumento na absorção de Hg(II) sob a acidificação (Le Faucheur et al. 2011, 2014), levantando a

possibilidade que a adsorção do Hg(II) pode ser parcialmente mediada por H^+. Na verdade, o valor obtido para o parâmetro *b*, que está relacionada com a constante de sorção, é consistente com a concorrência por próton; um menor *b* foi obtido em pH 4,0 do que a valores de pH mais elevados.

Tabela 19. Parâmetros de Langmuir-Freundlich para a biossorção de Hg(II) em *C. reinhardtii* a 25,0 ± 0,5 ^oC em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}e diferentes valores de pH. O "pH 6,0 – F" corresponde a valores obtidos a remoção das algas da solução por filtração.

pH	q_{max} (mmol g^{-1})	*b* (L g^{-1})	*M*	R^2
4,0	3,3 ± 0,9	0,007 ± 0,003	0,97 ± 0,05	0,999
5,0	1,2 ± 0,1	0,024 ± 0,03	1,5 ± 0,1	0,996
6,0	1,4 ± 0,1	0,019 ± 0,002	1,38 ± 0,07	0,999
6,0 – F	1,00 ± 0,07	0,017 ± 0,01	3,6 ± 0,7	0,96

Em pH 4,0 os sítios da superfície da microalgas são predominantemente protonados e as principais espécies de Hg(II) no meio estudado, calculadas pelo software MINEQL+ (versão 4.6 para Windows), são o complexo neutro $Hg(OH)_2$ (92,7%) seguido pelas espécies catiônicas $HgOH^+$ (5,8%) e Hg^{2+} (1,4%). Assumindo que existem de 0,8 mmol g^{-1} de grupos carboxílicos com pKa de 4,4, apenas 0,32 mmol g^{-1} (39%) desses grupos estão desprotonadas em pH 4,0, implicando que menos de 10% da capacidade total de ligação de Hg(II) (q_{max}) pode ser explicada por interações eletrostáticas entre espécies carregadas positivamente de Hg(II) e carboxilatos carregados negativamente. Além disso, de acordo com toda a faixa de pH estudada há uma grande abundância de grupos amina carregados positivamente, que imporia um barreira eletrostática para as espécies de Hg(II) carregadas positivamente. Em pH 5,0 e 6,0 a principal espécie de Hg(II) é o $Hg(OH)_2$, contribuindo com 99,4 e 99,9% do total de Hg(II), respectivamente. Assim, atrações eletrostáticas desempenham apenas um papel

menor na biossorção de Hg(II) nestes valores de pH mais altos, ao mesmo tempo contribuem para a maior capacidade de adsorção em pH 4,0. A influência da força iônica sobre a remoção de Hg(II) a pH 6,0 foi insignificante, confirmando que atrações eletrostáticas não desempenham um papel importante na biossorção do $Hg(OH)_2$ neutro. A biossorção de Hg(II) envolve a etapa de difusão do $Hg(OH)_2$ do seio da solução para a superfície celular (Le Faucheur et al. 2014), seguido pelos processos de dissociação e troca de ligante, liberando OH^- e formando complexos com grupos carboxilato e amina na membrana celular externa. Esta liberação de OH^- seria favorecida a um pH baixo explicando o maior valor de q_{max} encontrado em pH 4,0.

Em pH 5,0 e 6,0, houve uma tendência clara para uma isoterma em forma de S, indicando algum tipo de efeito cooperativo na adsorção (Figura 52), isto é, a adsorção inicial de Hg(II) facilitou a biossorção em maior $C_{Hg,T}$. A labilidade da interação de Hg(II)-microalga foi avaliada através da realização de medidas cronopotenciométricas na presença e ausência das células (Figura 52). As suspensões foram tratadas com concentrações de Hg(II) entre 5 e 100 μmol L^{-1} em pH 6,0 e 0,050 mol L^{-1} $NaNO_3$. Após 120 minutos de tempo de contato, as suspensões foram filtradas e o sobrenadante foi analisado para a determinação do Hg(II), resultando nos dados descritos como "pH 6 filtrado" na Figura 52 e Tabela 19. Sob estas condições experimentais, a quantidade de Hg(II) ligado por unidade de massa de microalgas é significativamente maior do que a observada na presença das células (Figura 52). O ajuste pela equação de Langmuir-Freundlich resultou em um termo de energia de ligação cerca de 10 vezes maior do que para a suspensão não filtrada e um termo *m* significativamente maior do que 1, consistente com a adsorção cooperativa. A força motriz imposta pelo potencial de deposição foi capaz de dissociar parcialmente o Hg(II) a partir da superfície da microalga, sugerindo uma rápida dissociação do metal complexado na escala de tempo das medidas por SCP (Rotureau et al. 2014), o que significa que a interação do íon metálico com as paredes

das células é, pelo menos, parcialmente lábil. Este resultado é consistente com as conclusões de Le Faucheur et al. (2011), que estima que o fluxo de Hg(II) do seio da solução à superfície das algas é muito maior do que o fluxo de internalização, não sendo, assim, a etapa limitante da absorção de mercúrio. Esta fração lábil de mercúrio acumulado permaneceu ligada à superfície de algas durante a filtração, o que implica em maiores quantidades de Hg(II) ligado por grama de microalgas (q) para a mesma concentração de mercúrio livre (C_{Hg}).

A maior capacidade de biossorção (q_{max}), 662 mg g^{-1} (3,3 ± 0,9 mmol g^{-1}), é muito maior que a verificada para a mesma espécie de microalga em condição de biossorção reportada por Tuzun et al. (2005) de 72 mg g^{-1} ou em condição de imobilização apresentada por Bayramoglu et al. (2006), os quais utilizaram condições para os experimentos de adsorção muito similares as aqui descritas. Com relação a outros biossorventes sob mesmas condições de adsorção, o q_{max} obtido também foi elevado, por exemplo, ao se comparar os resultados de Sari et al. (2005) com o musgo *Drenocladus revolvens*, 94,4 mg g^{-1}, e de Tuzen et al. (2009) com o líquen *Xanthoparmelia conspersa*, 82,5 mg g^{-1}.

Como mencionado anteriormente, o efeito cooperativo observado em pH 5,0 e 6,0 e a baixa $C_{Hg,T}$ sugere que a exposição da microalga a Hg(II) desencadeia um mecanismo de defesa fisiológico que aumenta a adsorção de Hg(II). Por exemplo, a redução de Hg(II) e subsequente volatilização de Hg^0 tem sido considerada um mecanismo de resistência da *Chlorella pyrenoidosato* na presença de mercúrio inorgânico (Monteiro et al. 2012). Para investigar o processo de interação, experimentos de adsorção foram realizados com 10 mL de Hg(II) 500 μmol L^{-1} (5,0 μmol). Após 120 minutos de tempo de contato, as suspensões foram centrifugadas e 1,12 μmol de Hg(II) foi encontrado na solução sobrenadante. O resíduo contendo as microalgas foi lavado três vezes com água desionizada e digerido em HNO_3 concentrado durante 4 h a 80 ° C. A concentração de Hg(II) nesta solução permitiu inferir que 4,25 μmol de Hg(II) foram retidos nas células, sorvido na superfície ou mesmo internalizado

(recuperação de 107 ± 7% do Hg (II) adicionado). Este resultado descartou as possibilidades de formação de Hg^0 e excreção de metabólitos de Hg(II) complexado, de modo que as capacidades de adsorção elevadas estão relacionadas com a formação de complexos estáveis no citoplasma, de acordo com trabalhos anteriores investigando a absorção de Hg(II) por *C. reinhardtii* (Le Faucheur et al. 2014), pela interação com glutationa e fitoquelantes, moléculas sufidrílicas sintetizadas intracelularmente pelas microalgas, quando expostas as altas concentrações de Hg(II), como reportado por Gomez-Jacinto et al. (2015).

9.5.2.4. Efeito da Força Iônica

A força iônica exerceu uma pequena influência na biossorção de Hg(II) na *C. reinhardtii* (Figura 53), de forma que a quantidade de Hg(II) adsorvido variou de 63,7 ± 0,1 μmol g^{-1} a 62,0 ± 0,1 μmol g^{-1}, com o aumento da concentração de $NaNO_3$ de 0,050 a 1,0 mol L^{-1}. O aumento da força iônica e a diminuição pouco significativa da quantidade de Hg(II) adsorvida é consistente com as pesquisas de Monteiro et al. (2012), uma vez que a especiação do metal em solução com NO_3^- não é alterada e o processo de remoção das espécies de Hg(II) ocorre com espécies neutras na região de pH entre 4,0 e 6,0, como $Hg(OH)_2$, a espécie majoritária nesta condição. Além disso, o Na^+ não afeta a ligação metal-biomassa, portanto, o efeito eletrostático não é o responsável pela remoção do metal em meio aquoso. Estes resultados suportam a ideia que a biossorção de Hg(II) está associada com espécies neutras do metal em solução.

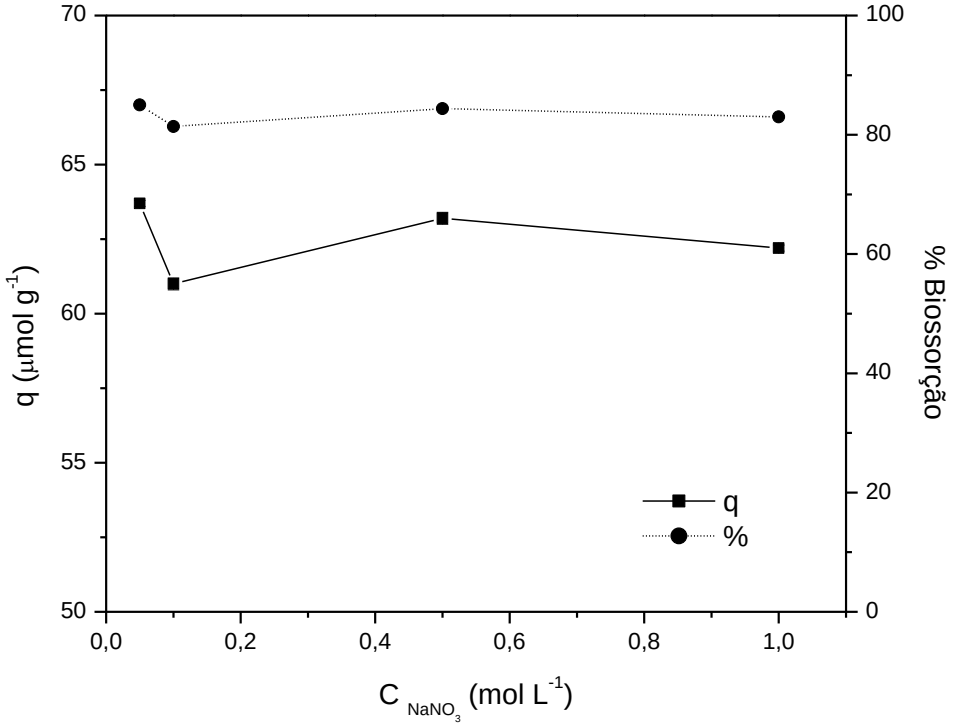


Figura 53. Efeito da concentração de $NaNO_3$ na remoção de Hg(II) de uma solução 27,0 µmol L^{-1} a 25,0 ± 0,5 ^{o}C, pH 6,0 ± 0,1, tempo de contato = 120 min.

9.5.3. Interação com As(III)

9.5.3.1. Tempo de contato

A adsorção de As para uma ampla variedade de espécies de microalgas ocorre, numa etapa inicial, na parede celular, devido aos diferentes grupos funcionais. Numa segunda etapa, ao permear a parede celular, o As(III) pode ser complexado por moléculas fitoquelantes ou metilado a monometilarsênio (MMA) e dimetilarsênio (DMA), ou mesmo ser oxidado a As(V) e assim sofrer os processos de metilação, para gerar espécies menos tóxicas intracelularmente e que podem ser eliminadas da célula (Zhang et al. 2013b; Wang et al.

2015). Após 30 min de exposição houve uma adsorção de 21%, enquanto após 120 min, a adsorção diminui para 3,7%. Kaise et al. (1999) reportou que culturas de *Chlamydomonas reinhardtii* tratadas com As(III) 300 µmol L^{-1} acumularam cerca de 80-90% do metaloide, convertendo-o a DMA num período de 2 dias, caracterizando assim num processo lento de acumulação. Como a concentração usada neste experimento (7 µmol L^{-1}) e a escala de tempo usada foram muito menores, pode se atribuir que a diminuição da quantidade de As(III), pode ser associada aos processos metabólicos de excreção do As(III), que são mecanismos de desintoxicação em resposta do aumento da concentração do As(III) intracelular (Wang et al. 2015). A capacidade de biossorção de As(III) pela *C. reinhardtii* foi menor do que aquela obtida para Hg(II) em 120 min de tempo de contato. Uma possibilidade para a baixa adsorção observada para As(III) pode ser a dependência da biossorção do As(III) na etapa de metilação. Outra possibilidade ainda poderia ser devido a adsorção ser dependente da oxidação do As(III) a As(V) para o acúmulo intracelular, que pode vir a ser metabolizado pelas microalgas da mesma forma como o fosfato (de estrutura molecular similar) (Wang et al. 2015). Apesar dos resultados obtidos comparáveis aos encontrados na literatura, estes não foram conclusivos quanto a adoção de um tempo de contato para uso nos demais experimentos de adsorção e, dessa forma, foram adotados arbitrariamente, 120 min de tempo de contato para ter uma base de comparação com os experimentos de biossorção de Hg(II).

9.5.3.2. Quantidade de Biossorvente

Diferentemente do que foi observado para Hg(II), o aumento da concentração de células de 1 x 10^9 a 1,6 x 10^{10} células L^{-1} não aumentou a capacidade de biossorção, com porcentagens de remoção variando entre 22 e 26%. A quantidade de As(III) biossorvido (*q*) diminuiu com o aumento da massa de biossorvente, Figura 54. Esses resultados indicam que o tempo de contato usado nestes experimentos pode ter sido um fator limitante para a biossorção, sendo indiferente a quantidade de biomassa empregada, isto é, estando relacionado a um processo lento de biossorção, como também foi reportado por Samal et al. (2004) para as espécies de microalgas *Chlorella vulgaris*, *Spirulina platensis* e *Euglena gracilis*, nas quais somente depois de 21 dias de exposição foi possível determinar porcentagens de remoção de 38, 44 e 44%, respectivamente, usando-se concentrações iniciais de 6,6 µmol L^{-1} (0,5 mg L^{-1}) de As(III) e 2,4 x 10^9 células L^{-1}.

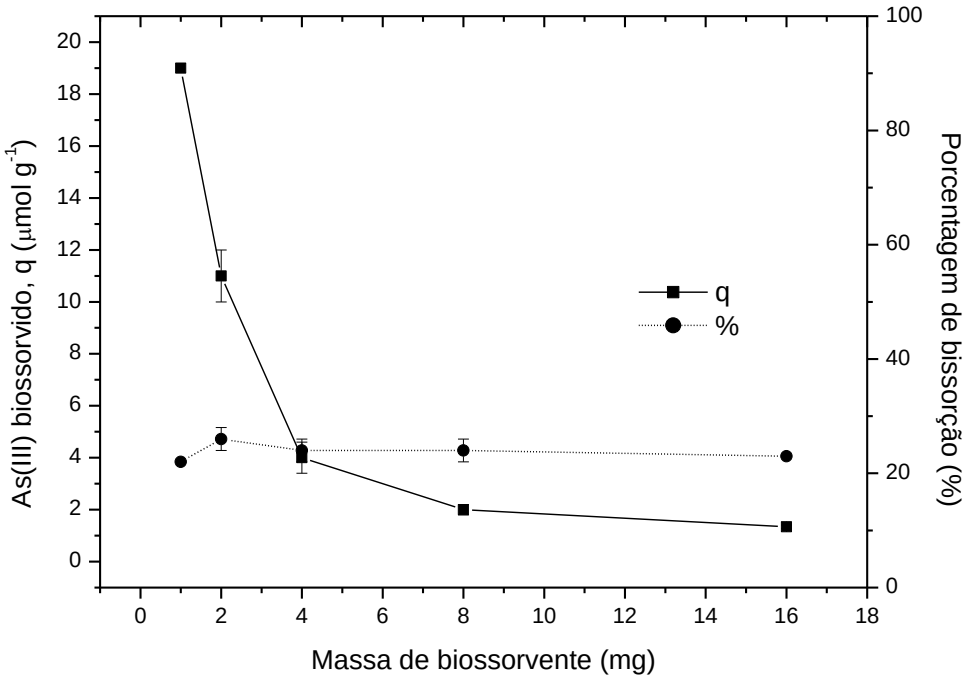


Figura 54. Efeito de quantidade de biossorvente (*Chlamydomonas reinhardtii*) na remoção de As(III) de uma solução 10,0 µmol L^{-1} a 25,0 ± 0,5 ^oC, pH 6,0 ± 0,1 em $NaNO_3$ 0,050 mol L^{-1}, tempo de contato = 120 min.

9.5.3.3. Isoterma de Adsorção

Os dados experimentais das isotermas foram ajustados apenas pela equação de Freundlich, com coeficiente de correlação de 0,96, Figura 55. O parâmetro *1/n* obtido foi de 0,68 ± 0,7, sugerindo que a ligação do As(III) na parede celular das microalgas ocorre em sítios de energia heterogênea. Já o valor de K_f foi de 8 ± 1 $\mu mol^{1-1/n} g^{-1} L^{1/n}$. Ao se aumentar a concentração de As(III) no meio entre 1 e 4 µmol L^{-1} há uma tendência para a diminuição da porcentagem de remoção, que variou de 56 ± 3 a 37 ± 3%, enquanto que ao se aumentar a concentração para 8,5 e 13 µmol L^{-1}, esta variou muito pouco, para 37 ±7 e 40,7 ± 0,8%, respectivamente. No entanto, a quantidade de As(III) sorvida aumentou de 4,6 ± 0,2 a 41 ± 1 µmol g^{-1} (para concentrações iniciais de As(III) 1,0 e 13,0 µmol g^{-1}, respectivamente), indicando que o aumento da concentração de As(III) favorece a biossorção, como também obtido por Zhang et al. (2013b) para a interação com a microalga marinha *Ostreococcus tauri*. Porcentagens similares de remoção de As(III) foram obtidas por Taboada-de la Calzada et al. (1999), de 45 % para um tempo de contato de 120 min para a alga *Chlorella vulgaris*. Porcentagens de remoção de 38, 42 e 44% de remoção foram reportados por Samal et al. (2004) nas algas *Scenedemus bijuga*, *Spirula platensis* e *Euglena gracilis*, respectivamente, num tempo de contato de 21 dias. Uma porcentagem de remoção de 38,6 % foi obtida por Bahar et al. (2013) ao expor a alga *Scenedesmus sp.* a As(III) 0,75 mg L^{-1}, mas usando-se um tempo de contato de 8 dias e uma concentração de algas de 10^8 cel L^{-1}.

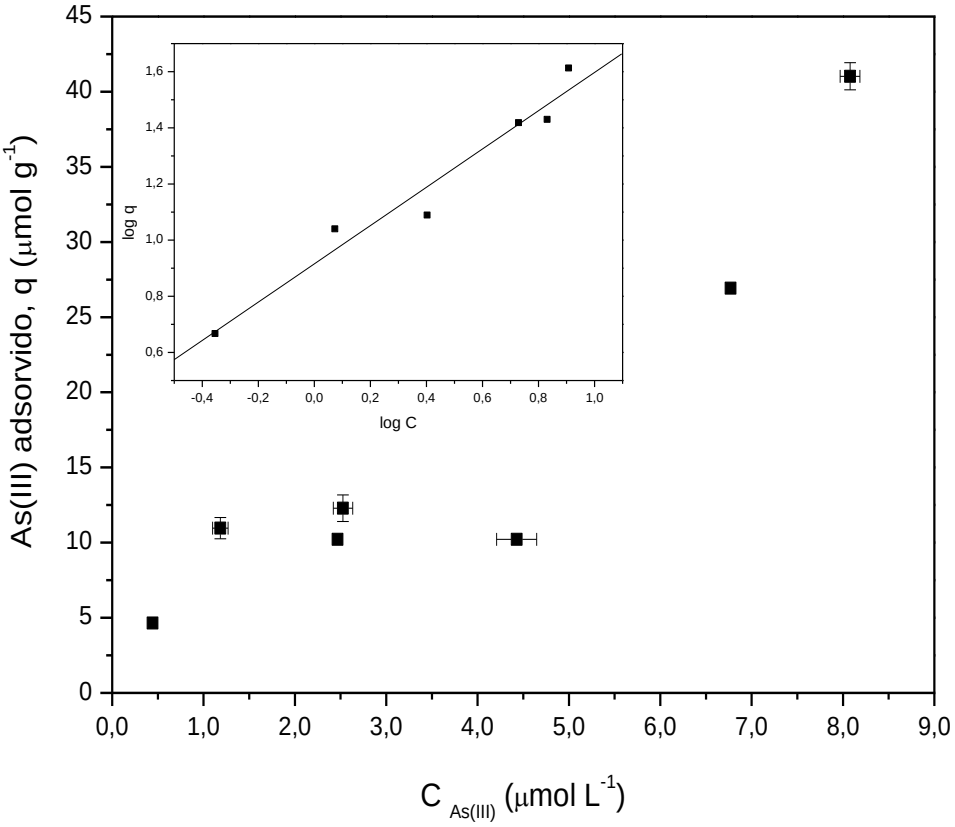


Figura 55. Isoterma de biossorção (25,0 ± 0,5 ^{o}C) de As(III) em *C. reinhartii* em $NaNO_3$ 0,50 mol L^{-1} e pH 6,0 ± 0,1. Concentrações iniciais de As(III) ($C_{Hg,T}$) de 1 a 13 µmol L^{-1}.

9.5.3.4. Efeito do pH e da Força Iônica

A biossorção de As(III) não foi significativamente afetada pela variação do pH, Figura 56. As porcentagens de biossorção de 49% foram similares entre os pHs 4,0 e 5,0 (49 ± 4 e 49 ± 2 %, respectivamente) e foram pouco menores para os pHs 6,0 e 7,0 (41 ± 6 e 41 ± 2 %, respectivamente). Dessa forma, como na faixa de pH avaliada a espécie majoritária é o H_3AsO_3 (Figura 57), a interação com a superfície das microalgas dependente principalmente da carga superficial nas membranas celulares. Em menores valores de pH, os grupos carboxílicos estão neutros (protonados) e os grupos amino, predominantes, carregados positivamente. Já em pH 7,0 a carga líquida positiva é menor devido a desprotonação dos

grupos carboxílicos (carregados negativamente), enquanto que os grupos aminos permanecem carregados positivamente. Assim, visto que o pH não é o fator limitante para a interação, esta pode ser baseada no mecanismo de troca de ligante para a adsorção de ânions em sítios do tipo ≡SOH (Missana et al. 2009; Muñoz et al. 2002), como mostrado pelas reações 9 e 10:

$$\equiv SOH + H^+ + A^{n-} \rightleftharpoons \equiv SA^{(n-1)-} + H_2O \qquad \text{(Reação 9)}$$

$$\equiv SOH + H_3AsO_3 \rightleftharpoons \equiv SH_2AsO_3 + H_2O \qquad \text{(Reação 10)}$$

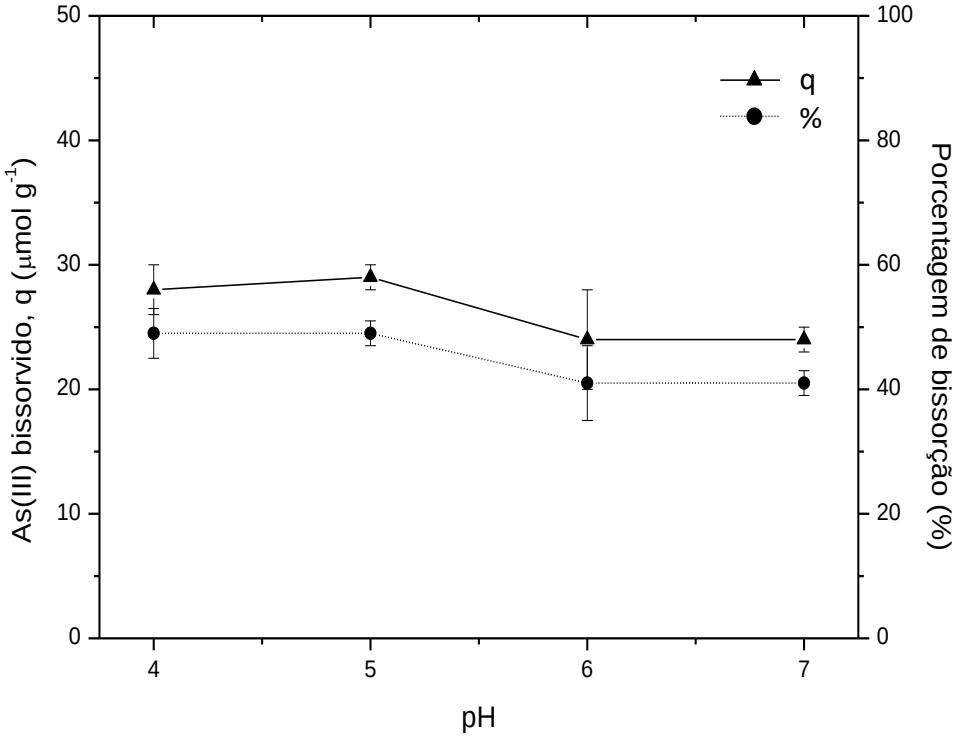


Figura 56. Efeito do pH na remoção de As(III) de uma solução 7,0 µmol L^{-1} a 25,0 ± 0,5 ^oC em $NaNO_3$ 0,50 mol L^{-1}, tempo de contato = 120 min. A linha tracejada (●) corresponde as porcentagens de adsorção e as linhas sólidas a quantidade de As(III) biossorvido por grama de biossorvente.

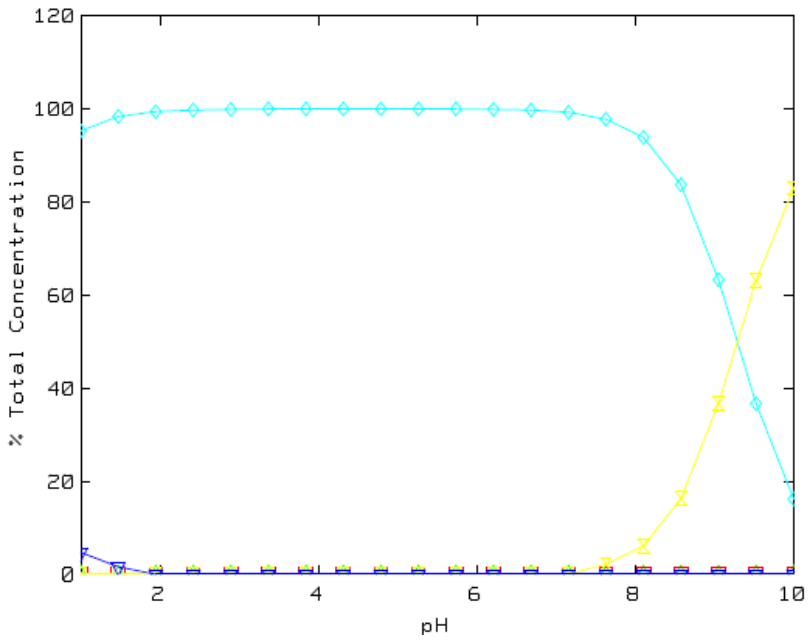


Figura 57. Distribuição das espécies de As(III) em função do pH, para uma faixa de pH de 1 a 10, levando-se em consideração uma concentração inicial de Hg(II) de 10^{-6} mol L^{-1}. Espécies: H_3AsO_3 - azul claro, $H_2AsO_3^-$- amarelo, $H_4AsO_3^+$- vermelho.

Diferentemente do observado para a biossorção de Hg(II), com o aumento da força iônica houve um aumento na quantidade de As(III) adsorvido (*q*), assim como aumento das porcentagens de biossorção, que variaram de 0 a 21,4%, Figura 58. Uma possível explicação seria a variação no grau de hidratação do H_3AsO_3 e dos grupos funcionais na superfície da alga. Com o aumento da concentração de Na^+ e NO_3^-, o H_3AsO_3 estaria menos solvatado, facilitando (menor impedimento estérico) sua interação com os sítios presentes na superfície das microalgas, levando assim a uma maior porcentagem de biossorção, o que é consistente com o mecanismo de troca de ligante. Uma tendência inversa foi observada por diferentes trabalhos descritos por Wang et al. (2015) envolvendo algas (inclusive a *C. reinhardtii*), nos quais o aumento da concentração de NO_3^- promoveu a diminuição da sorção de As(III). No entanto, como o tempo de contato entre o presente trabalho (2h) e os reportados nesta revisão (da ordem de dias) são muito diferentes, diferentes mecanismos de sorção podem estar

envolvidos e afetados pela presença de Na^+ e NO_3^- no meio, lembrando que NO_3^- é um nutriente para o crescimento celular.

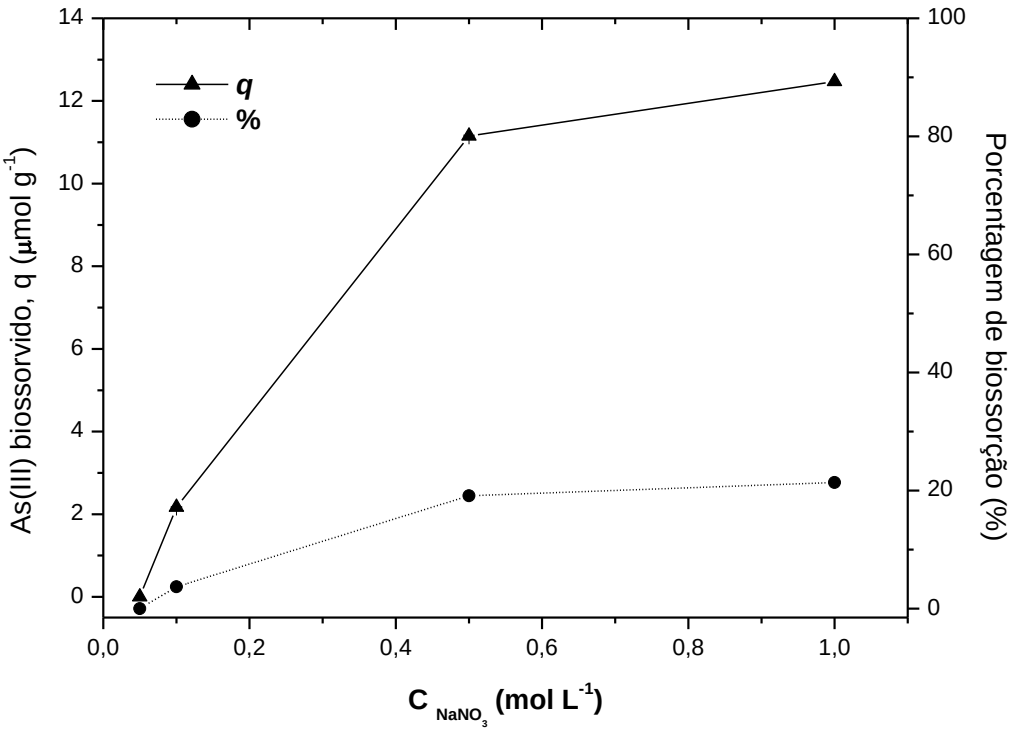


Figura 58. Efeito da concentração de $NaNO_3$ na remoção de As(III) de uma solução 27,0 µmol L^{-1} a 25,0 ± 0,5 ^oC, pH 6,0 ± 0,1, tempo de contato = 120 min.

10. CONCLUSÕES

Os métodos SIA-SCP para a determinação de Hg(II) e os de SIA-SWASV para a determinação de As(III) e Se(IV) foram adequados para a aplicação em estudos de interação com os diferentes ligantes estudados (vermiculita, suas modificações e as microalgas). Por estes métodos foi possível a avaliação da capacidade de remoção de Hg(II), As(III) e Se(IV) de meios aquosos pelos diferentes ligantes, além de avaliar comparativamente os materiais adsorventes. Dessa forma, os métodos desenvolvidos podem ser aplicados na avaliação da eficiência de tecnologias de remediação que utilizem outros adsorventes, dependendo do nível de concentração envolvido. Apresentam potencialidade para a aplicação em amostras ambientais, como águas naturais e/ou sedimentos.

Com relação a vermiculita, a incorporação de CTA e CYS no espaço interlamelar melhorou a capacidade do argilomineral em adsorver Hg(II) em experimentos de adsorção em batelada, sendo a cinética de adsorção inicialmente controlada pela difusão intrapartícula. A modificação das bordas superficiais com 3-MPS resultou num material com capacidade de adsorção semelhante ao da Na-VT para a adsorção em batelada, obedecendo a um modelo cinético de pseudo-segunda ordem com uma adsorção instantânea significativa. Esta reação inicial rápida favoreceu a utilização da 3-MPS-VT em colunas, exibindo os volumes de *breakthrough* mais elevados em comparação com os outros materiais estudados. Este comportamento pode ser explicado pelo fácil acesso de todo o volume de solução aos tióis em um curto intervalo de tempo, ao passo que no CTA-VT-VT e CYS a adsorção ocorre provavelmente no espaço interlamelar, de acordo com a cinética controlada pela difusão intrapartícula. A adsorção de Hg(II) nos materiais se mostrou predominantemente irreversível, de modo que sua potencial aplicabilidade seria para as tecnologias de remediação “in-situ”

que requerem um longo período de imobilização de metais potencialmente tóxicos. Além disso, foi verificado que a diminuição do pH influenciou a adsorção de Hg(II) na Na-VT devido a competição pela adsorção com os íons H^+, enquanto que os efeitos do pH são mínimos para os materiais modificados, demonstrando, assim, sua seletividade para a adsorção de Hg(II), o que também foi verificado com o aumento da força iônica, sendo Na-VT o material mais afetado pela alteração da concentração de $NaNO_3$ no meio. A dessorção em HCl diluído foi mínima para a remoção do Hg(II) adsorvido nos materiais modificados, sendo baixa para a Na-VT, indicando que todos estes materiais tem potencialidade para aplicações de remediação "in situ".

A modificação da vermiculita com poli-hidróxi-cátions de Fe(III) gerou um material com capacidade de adsorver Se(IV), diferentemente da Na-VT não modificada. O aumento do pH diminuiu consideravelmente a adsorção devido a alterações de cargas na estrutura do material e na especiação de Se(IV), enquanto que o aumento da concentração salina no meio não afetou significativamente a adsorção.

Com relação ao uso da *C. reinhardtii* foi verificado uma elevada capacidade de adsorção, de maneira que o processo de biossorção de Hg(II) ocorre, numa primeira etapa, muito rapidamente devido a provável alta acessibilidade aos grupos funcionais presentes na membranas das microalgas e depois mais lentamente devido ao processo de internalização. A condição de pH 4,0 apresentou uma maior capacidade de adsorção, indicando uma mediação da biossorção pelos íons H^+, sendo que a força iônica não influenciou o processo. Dessa forma, o uso da *C. reinhardtii* possui grande potencialidade como tecnologia de biorremediação e apresenta vantagens frente a outros materiais adsorventes, devido à facilidade de aplicação e cultivo das microalgas que mostraram capacidade de adsorção comparável. Apesar dos resultados promissores com Hg(II), a biossorção com As(III) mostrou-se ser um processo aparentemente mais lento, exigindo um maior tempo de contato

entre as microalgas e o adsorbato. O pH não afetou significativamente a biossorção, ao contrário da força iônica. No entanto é ainda necessário investigar o mecanismo de interação entre a *C. reinhardtii* e o As(III) em outras condições do meio, para verificar a sua viabilidade na biossorção como possível tecnologia para a remoção de As(III) de meios aquosos.

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abate G, Masini JC. Adsorption of atrazine, hydroxyatrazine, deethylatrazine, and deisopropylatrazine onto Fe(III) polyhydroxy cations intercalated vermiculite and montmorillonite. **J Agric Food Chem**. 2005.

Abate G and Masini JC. Complexation of Cd(II) and Pb(II) with humic acids studied by anodic stripping voltammetry using differential equilibrium functions and discrete site models. **Organic Geochemistry.** 2002; 33:1171–1182

Abate G e Masini JC. Influence of pH and ionic strength on removal processes of a sedimentary humic acid in a suspension of vermiculite **Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects.** 2003; 226:25–34.

Abinandan S, Shanthakumar S. Challenges and opportunities in application of microalgae (Chlorophyta) for wastewater treatment: A review. **Renew Sustain Energy Rev**. 2015; 52:123–32.

Abollino O, Giacomino A, Malandrino M, Piscionieri G, Mentasti E. Determination of mercury by anodic stripping voltammetry with a gold nanoparticle-modified glassy carbon electrode. **Electroanalysis**. 2008; 20:75–83.

Adhiya J, Cai X, Sayre RT, Traina SJ.. Binding of aqueous cadmium by the lyophilized biomass of Chlamydomonas reinhardtii. **Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp**. 2002; 210:1–11.

Afonso F, Ribeiro F, Proença L, Lopes MIS., Rocha MM., Neto MMM., et al. Voltammetric Studies on the Electrochemical Reduction of Methylmercury in HCl Aqueous Medium at a Carbon Microelectrode. **Electroanalysis**. 2005; 17:127–33.

Agency for Toxic Substances and Disease Registre (ATSDR). **Toxic Substances Portal**. Março de 2011. Disponível em: http://www.atsdr.cdc.gov/substances/inde AZ.asp. Acesso em: Abril de 2016.

Aguado J, Arsuaga JM, Arencibia A. Adsorption of Aqueous Mercury(II) on Propylthiol-Functionalized Mesoporous Silica Obtained by Cocondensation. **Ind Eng Chem Res**. 2005;44(10):3665–71.

Aleixo LM, Godinho OES, da Costa WF.. Potentiometric study of acid-base properties of humic acid using linear functions for treatment of titration data. **Anal. Chim. Acta**. 1992; 257:35–39.

Altmann RS, Buffle J. The use of differential equilibrium functions for interpretation of metal binding in complex ligand systems: Its relation to site occupation and site affinity distributions. **Geochim Cosmochim Acta**. 1988; 52(6):1505–19.

Alves GMS, Magalhães JMCS, Soares HMVM. Voltammetric Quantification of Zn and Cu, Together with Hg and Pb, Based on a Gold Microwire Electrode, in a Wider Spectrum of Surface Waters. **Electroanalysis**. 2013;25493 –502.

Amde M, Yina Y, Zhanga D, Liu J. Methods and recent advances in speciation analysis of mercury chemical species in environmental samples: a review. **Chem Speciat Bioavailab**. 2016;28(1-4):51–65.

Araujo BF, Almeida MG De, Sarmet M, Barros M, Gobo RR, Siqueira VC, et al. **Quim. Nova**. 2010; 33(3):501–7.

Ashournia M, Aliakbar A. Determination of selenium in natural waters by adsorptive differential pulse cathodic stripping voltammetry. **J Hazard Mater**. 2009; 168(1):542–7.

Augelli M, Abarza Munoz R, Richter E, Gouveia Junior A, Angnes L. Chronopotentiometric Stripping Analysis Using Gold Electrodes, an Efficient Technique for Mercury Quantification in Natural Waters. **Electroanalysis**. 2005; 17(9):755–61.

Bahar MM, Megharaj M, Naidu R. Bioremediation of arsenic-contaminated water: recent advances and future prospects. **Water Air Soil Poll**. 2013; 224:1–20.

Baird C. **Química Ambiental**. 2ªed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

Banerjee G, Pandey S, Ray AK, Kumar R. Bioremediation of heavy metals by a novel bacterial strain Enterobacter cloacae and its antioxidant enzyme activity, flocculant production, and protein expression in presence of lead, cadmium, and nickel. **Water Air Soil Pollut**. 2015; 226(4).

Barats A, Feraud G, Potot C, Philippini V, Travi Y, Durrieu G, et al. Naturally dissolved arsenic concentrations in the Alpine/Mediterranean Var River watershed (France). **Sci Total Environm**. 2014; 473-474:422–36.

Bas B, Jedlinska K, Wegiel K. New electrochemical sensor with the renewable silver annular band working electrode: Fabrication and application for determination of selenium(IV) by cathodic stripping voltammetry. **Electrochem commun**. 2014; 49:79–82.

Basu A, Saha D, Saha R, Ghosh T, Saha B. A review on sources, toxicity and remediation technologies for removing arsenic from drinking water. **Res Chem Intermed**. 2014; 40(2):447–85.

Bayramoglu G, Tuzun I, Celik G, Yilmaz M, Arica MY. Biosorption of mercury(II), cadmium(II) and lead(II) ions from aqueous system by microalgae Chlamydomonas reinhardtii immobilized in alginate beads. **Int J Miner Process**. 2006; 81(1):35–43.

Beni V, Collins G, Arrigan DWM. Investigation into the voltammetric behaviour and detection of selenium(IV) at metal electrodes in diverse electrolyte media. **Anal Chim Acta**. 2011; 699(2):127–33.

Bernalte E, Marin Sanchez C, Pinilla Gil E. Gold nanoparticles-modified screen-printed carbon electrodes for anodic stripping voltammetric determination of mercury in ambient water samples. **Sensors Actuators, B Chem**. 2012; 161(1):669–74.

Bernalte E, Sanchez CM, Gil EP. Determination of mercury in ambient water samples by anodic stripping voltammetry on screen-printed gold electrodes. **Anal Chim Acta**. 2011; 689(1):60–4.

Bertolino FA, Torriero AAJ, Salinas E, Olsina R, Martinez LD, Raba J. Speciation analysis of selenium in natural water using square-wave voltammetry after preconcentration on activated carbon. **Anal Chim Acta**. 2006; 572(1):32–8.

Bhattacharya AK, Naiya TK, Mandal SN, Das SK. Adsorption, kinetics and equilibrium studies on removal of Cr(VI) from aqueous solutions using different low-cost adsorbents. **Chem Eng J.** 2008;137(3):529–41.

Bhowmick S, Chakraborty S, Mondal P, Van Renterghem W, Van den Berghe S, Roman-Ross G, et al. Montmorillonite-supported nanoscale zero-valent iron for removal of arsenic from aqueous solution: Kinetics and mechanism. **Chem Eng J**. 2014; 243:14–23.

Bidari A, Zeini Jahromi E, Assadi Y, Milani Hosseini MR. Monitoring of selenium in water samples using dispersive liquid-liquid microextraction followed by iridium-modified tube graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Microchem J**. 2007; 87(1):6–12.

Bonfil Y, Brand M, Kirowa-Eisner E. Trace determination of mercury by anodic stripping voltammetry at the rotating gold electrode. **Anal Chim Acta**. 2000; 424(1):65–76.

Brigatti MF, Colonna S, Malferrari D, Medici L, Poppi L. Mercury adsorption by montmorillonite and vermiculite: A combined XRD, TG-MS, and EXAFS study. **Appl Clay Sci**. 2005;28:1–8.

Buffle J. **Complexation Reactions in Aquatic Systems. An Analytical Approach**. New York: Ellis Horwood, 1990.

Cavicchioli A, La-Scalea MA, Gutz IGR. Analysis and speciation of traces of arsenic in environmental, food and industrial samples by voltammetry: A review. **Electroanalysis**. 2004; 16(9):697–711.

Celis R, Hermosi MC, Cornejo J, Recursos I De. Heavy Metal Adsorption by Functionalized Clays. **Environ. Sci. Technol.** 2000;34(21):4593–9.

Chagas MP, Santos EBGN, Oliveira TD, Korn M. Exploiting Iminoquinone Free Radical Production for Thiol Based Drugs Determination in Pharmaceutical Formulations. **J Braz Chem Soc**. 2009; 20(9):1646–52.

Chaiyo S, Chailapakul O, Siangproh W. Highly sensitive determination of mercury using copper enhancer by diamond electrode coupled with sequential injection-anodic stripping voltammetry. **Anal Chim Acta**. 2014; 852:55–62.

Chakraborty P, Fasfous II, Murimboh J, Chakrabarti CL. Simultaneous determination of speciation parameters of Cu, Pb, Cd and Zn in model solutions of Suwannee River fulvic acid by pseudopolarography. **Anal Bioanal Chem**. 2007; 388(2):463–74.

Chammui Y, Sooksamiti P, Naksata W, Thiansem S, Arqueropanyo O anong. Removal of arsenic from aqueous solution by adsorption on leonardite. **Chem Eng J**. 2014; 240:202–10.

Chandio ZA, Talpur FN, Khan H, Afridi HI, Khaskheli GQ, Mughal MA. On-line preconcentration and determination of ultra trace amounts of mercury using surfactant coated alumina modified by dithizone with cold vapor atomic absorption spectrometry. **RSC Adv**. 2014; 4(7):3326–31.

Chen ASC, Tien Shiao H, Wang L. **Arsenic Removal from Drinking Water by Adsorptive Media U. S. EPA Demonstration Project at Taos, NM. Performance Evaluation Report**. 2009; 82. Disponível em: http://www.epa.gov/nscep. Acesso em: Maio, 2016.

Chen L, Zhou N, Li J, Chen Z, Liao C, Chen J. Synergy of glutathione, dithiothreitol and N-acetyl-l-cysteine self-assembled monolayers for electrochemical assay: sensitive determination of arsenic(iii) in environmental and drinking water. **Analyst**. 2011; 136(21):4526.

Chen YW, Li L, D'Ulivo A, Belzile N. Extraction and determination of elemental selenium in sediments-A comparative study. **Anal Chim Acta**. 2006; 577(1):126–33.

Chlou CT, Rutherford DW. Sorption of N2 and EGME vapours o some soils, clays, and mineral oxides and determination of sample surface areas by use of sorption data. **Environ Sci Technol**. 1993; 27:1587-1594.

Chooto P, Wararattananurak P, Kangkamano T, Innuphat C, Sirinawin W. Determination of inorganic arsenic species by hydride generation atomic absorption spectrophotometry and cathodic stripping voltammetry. **Science Asia**. 2015; 41(3):187–97.

Chuanuwatanakul S, Dungchai W, Chailapakul O, Motomizu S. Determination of trace heavy Metals by Sequential Injection – anodic Stripping Voltammetry using Bismuth Film Screen-printed Carbon Electrode. **Analytical Sciences**. 2008; 24:589-594.

Cinti S, Politi S, Moscone D, Palleschi G, Arduini F. Stripping Analysis of As(III) by means of screen-printed electrodes modified with gold nanoparticles and carbon black nanocomposite. **Electroanalysis**. 2014; 26(5):931–9.

Companhia de Tecnologia e Saneamento ambiental (CETESB). **Arsênio: ficha de informação toxicológica**. Julho de 2012. Disponível em: http://cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/sites/47/2013/11/Arsenio.pdf. Acesso em: abril de 2016.

Conko KM, Landa ER, Kolker A, Kozlov K, Gibb HJ, Centeno JA, et al. Arsenic and Mercury in the Soils of an Industrial City in the Donets Basin, Ukraine. **Soil Sediment Contam**. 2013; 22(5):574–93.

Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). **Resolução 357**, de 17 de março de 2005. Disponível em: http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf. Acesso em: Maio, 2016.

Dal Borgo S, Jovanovski V, Hocevar SB. Antimony film electrode for stripping voltammetric measurement of Hg(II) in the presence of Cu(II). **Electrochim Acta**. 2013; 88:713–7.

Da Silva CL, Masini JC. Determination of Cu, Pb, Cd, and Zn in river sediment extracts by sequential injection anodic stripping voltammetry with thin mercury film electrode. **Fresenius J Anal Chem**. 2000; 367(3):284–90.

De-Bashan LE, Bashan Y. Immobilized microalgae for removing pollutants: Review of practical aspects. **Bioresour Technol**. 2010; 101(6):1611–27.

De Carvalho LM, Schwedt G, Henze G, Sander S. Redoxspeciation of selenium in water samples by cathodic stripping voltammetry using an automated flow system. **Analyst**. 1999; 124(12):1803–9.

Dias Filho NL, Do Carmo DR. Study of an organically modified clay: Selective adsorption of heavy metal ions and voltammetric determination of mercury(II). **Talanta**. 2006; 68(3):919–27.

Do Nascimento FH, Masini JC. Complexation of Hg(II) by humic acid studied by square wave stripping voltammetry at screen-printed gold electrodes. **Talanta**. 2012; 100:57–63.

Do Nascimento FH, Masini JC. Influence of humic acid on adsorption of Hg(II) by vermiculite. **J Environ Manage**. 2014; 143:1–7.

Do Nascimento FH, Masini JC. Sequential Injection Assisted Stripping Chronopotentiometry at Screen Printed Gold Electrodes for Determination of Hg(II) in Adsorption Studies. **Anal Lett**. 2016; 49(5):699–710.

Dos Anjos, V.E.; Rohwedder, JR, Cadore S, Abate G, Grassi MT. Montmorillonite and vermiculite as solid phases for the preconcentration of trace elements in natural waters: Adsorption and desorption studies of As, Ba, Cu, Cd, Co, Cr, Mn, Ni, Pb, Sr, V, and Zn. **Appl. Clay Sci**. 2014; 99:289-296.

Dos Santos VCG, Grassi MT, Abate G. Sorption of Hg(II) by modified K10 montmorillonite: Influence of pH, ionic strength and the treatment with different cations. **Geoderma**. 2015; 237:129–36.

El-Bayaa AA, Badawy NA, AlKhalik EA. Effect of ionic strength on the adsorption of copper and chromium ions by vermiculite pure clay mineral. **J. Hazard. Mater.** 2009; 170:1204-1209.

Elbaz A, Wei YY, Meng Q, Zheng Q, Yang ZM. Mercury-induced oxidative stress and impact on antioxidant enzymes in Chlamydomonas reinhardtii. **Ecotoxicology**. 2010; 19(7):1285–93.

Erkaya IA, Arica MY, Akbulut A, Bayramoglu G,. Biosorption of uranium(VI) by free and entrapped Chlamydomonas reinhardtii: Kinetic, equilibrium and thermodynamic studies. **J. Radioanal. Nucl. Chem**. 2014; 299:1993–2003.

European Water Framework Directive. **Directive 76/464/EEC - Water pollution by discharges of certain dangerous substances**, 2006. Disponível em: http://ec.europa.eu/environment/water/water-dangersub/76_464.htm. Acesso em: Abril, 2016.

Faller C, Stojko NY, Henze G, Brainina KZ. Stripping voltammetric determination of mercury at modified solid electrodes. **Anal Chim Acta**. 1999; 396(2-3):195–202.

Fang Y, Sun X, Yang W, Ma N, Xin Z, Fu J, et al. Concentrations and health risks of lead, cadmium, arsenic, and mercury in rice and edible mushrooms in China. **Food Chem**. 2014; 147:147–51.

Feng X, Simpson AJ, Simpson MJ. Chemical and mineralogical controls on humic acid sorption to clay mineral surfaces. **Org Geochem**. 2005; 36(11):1553–66.

Fernández-Martínez R, Rucandio I, Gómez-Pinilla I, Borlaf F, García F, Larrea MT. Evaluation of different digestion systems for determination of trace mercury in seaweeds by cold vapour atomic fluorescence spectrometry. **J Food Compos Anal**. 2015; 38:7–12.

Forsythe KW, Gawedzki A, Rodriguez P, Irvine KN, Perrelli M. An Geospatial Estimation of Mercury Contamination in Buffalo River Sediments. **Soil Sediment Contam**. 2015; 22:37–41.

Fourest E, Volesky, B. Contribution of sulfonate groups and alginate to heavy metal biosorption by the dry biomass of Sargassum fluitans. **Environ. Sci. Technol**. 1996; 30:277–282.

Fu J, Zhang X, Qian S, Zhang L. Preconcentration and speciation of ultra-trace Se (IV) and Se (VI) in environmental water samples with nano-sized TiO 2 colloid and determination by HG-AFS. **Talanta**. 2012; 94:167–71.

Giacomino A, Abollino O, Lazzara M, Malandrino M, Mentasti E. Determination of As(III) by anodic stripping voltammetry using a lateral gold electrode: Experimental conditions, electron transfer and monitoring of electrode surface. **Talanta**. 2011; 83(5):1428–35.

Giacomino A, Abollino O, Malandrino M, Mentasti E. Parameters affecting the determination of mercury by anodic stripping voltammetry using a gold electrode. **Talanta**. 2008; 75(1):266–273.

Gibbon-Walsh K, Salaun P, van den Berg CMG. Arsenic speciation in natural waters by cathodic stripping voltammetry. **Anal Chim Acta**. 2010; 662(1):1–8.

Gibbon-Walsh K, Salaün P, van den Berg CMG. Determination of arsenate in natural pH seawater using a manganese-coated gold microwire electrode. **Anal Chim Acta**. 2012; 710:50–7.

Giles CH, Smith D, Huitson A. General treatment and classification of solute adsorption-isotherm .1. Theoretical. **J. Colloid Interface Sci**. 1974; 47:755-765.

Giri AK, Patel RK, Mahapatra SS. Artificial neural network (ANN) approach for modelling of arsenic (III) biosorption from aqueous solution by living cells of bacillus cereus biomass. **Chem Eng J**. 2011; 178:15–25.

Goebbert DJ, Garand E, Wende T, Bergmann R, Meijer G, Asmis KR, et al. Infrared spectroscopy of the microhydrated nitrate ions $NO_3^-(H_2O)_{1-6}$. **J Phys Chem A**. 2009; 113(26):7584–92.

Goh KH, Lim TT. Geochemistry of inorganic arsenic and selenium in a tropical soil: effect of reaction time, pH, and competitive anions on arsenic and selenium adsorption. **Chemosphere**. 2004; 55:849–859.

Gomez-Jacinto V, Garcia-Barrera T, Gomez-Ariza JL, Garbayo-Nores I, Vilchez-Lobato C. Elucidation of the defence mechanism in microalgae Chlorella sorokiniana under mercury exposure. Identification of Hg-phytochelatins. **Chem Biol Interact.** 2015; 238:82–90.

Gonzalez CM, Hernandez J, Parsons JG, Gardea-Torresdey JL. A study of the removal of selenite and selenate from aqueous solutions using a magnetic iron/ manganese oxide nanomaterial and ICP-MS. **Microchem J**. 2010; 96, 324–329.

Guerra DL, Santos MRMC, Airoldi C. Mercury adsorption on natural and organofunctionalized smectites - thermodynamics of cation removal. **J Braz Chem Soc**. 2009; 20(4):594–603.

Guzsvány V, Nakajima H, Soh N, Nakano K, Švancara I, Vytřas K, et al. Anodic stripping voltammetry combined with sequential injection analysis for measurements of trace metal ions with bismuth- and antimony film electrodes under comparable conditions. **Electroanalysis**. 2011; 23(7):1593–601.

Haider a. FMY, Hedayet Ullah M, Khan ZH, Kabir F, Abedin KM. Detection of trace amount of arsenic in groundwater by laser-induced breakdown spectroscopy and adsorption. **Opt Laser Technol**. 2014; 56:299–303.

Hammami K, El-Feki H, Marsan O, Drouet, C.. Adsorption of nucleotides on biomimetic apatite: The case of adenosine 5-triphosphate (ATP). **Appl. Surf. Sci**. 2016; 360:979–988.

Harris EH. *Chamydomonas* as a model organism. **Mol Biol**. 2001;52(1):363–406.

Harris ER. **Culture and storage method in the Chlamydomonas sourcebook-a comprehensive guide to biology and laboratory use.** Academic Press: San Diego, 1989.

Hashim MA, Mukhopadhyay S, Sahu JN, Sengupta B. Remediation technologies for heavy metal contaminated groundwater. **J Environ Manage**. 2011; 92(10):2355–88.

Hesse PR. **A Textbook of Soil Chemical Analysis**; John Murray Publishers: London, 1971.

Ho YS e McKay G. Pseudo-second order model for sorption processes. **Process Biochem.** 1999a; 34:451-465.

Ho YS e McKay G. The sorption of lead(II) ions on peat. **Water Res.** 1999b; 33: 578-584.

Huang T. Adsorption of trace selenium on nano-TiO_2 from natural water samples. **Curr Anal Chem**. 2015; 11(3):193–8.

Inthorn D, Sidtitoon N, Silapanuntakul S, Incharoensakdi A. Sorption of mercury , cadmium and lead by microalgae. **Science Asia**. 2002; 28:253–61.

Ivaska A, Kubiak WW. Application of sequential injection analysis to anodic stripping voltammetry. **Talanta**. 1997; 44:713 -723.

Jagner D. Potentiometric stripping analysis for mercury. **Anal Chim Acta**. 1979; 105:33–41.

Jesus JP, Suarez CA, Ferreira JR, Gine MF. Sequential injection analysis implementing multiple standard additions for As speciation by liquid chromatography and atomic fluorescence spectrometry (SIA-HPLC-AFS). **Talanta**. 2011; 85(3):1364–8.

Jia XY, Gong DR, Han Y, Wei C, Duan TC, Chen HT. Fast speciation of mercury in seawater by short-column high-performance liquid chromatography hyphenated to inductively coupled plasma spectrometry after on-line cation exchange column preconcentration. **Talanta**. 2012; 88:724–9.

Johannesson KH, Neumann K. Geochemical cycling of mercury in a deep, confined aquifer: Insights from biogeochemical reactive transport modeling. **Geochim Cosmochim Acta**. 2013; 106:25–43.

Jordan N, Ritter A, Foerstendorf H, Scheinost AC, Weiß S, Heim K, et al. Adsorption mechanism of selenium(VI) onto maghemite. **Geochim Cosmochim Acta**. 2013; 103:63–75.

Kaise T, Fujiwara S, Tsuzuki M, Sakurai T, Saitoh T, Mastubara C. Accumulation of arsenic in a unicellular alga Chlamydomonas reinhardtii. **Appl Organomet Chem**. 1999; 13(2):107–11.

Kamei-Ishikawa N, Tagami K, Uchida S. Sorption kinetics of selenium on humic acid. **J Radioanal Nucl Chem**. 2007;274(3):555–61.

Khairy M, Kampouris DK, Kadara RO, Banks CE. Gold Nanoparticle Modified Screen Printed Electrodes for the Trace Sensing of Arsenic(III) in the Presence of Copper(II). **Electroanalysis**. 2010; 22(21):2496–501.

Kiefer E, Sigg L, Schosseler P.. Chemical and spectroscopic characterization of algae surfaces. **Environ. Sci. Technol**. 1997; 31:759–764.

Kim EJ, Yoo JC, Baek K. Arsenic speciation and bioaccessibility in arsenic-contaminated oils: Sequential extraction and mineralogical investigation. **Environ Pollut**. 2014; 186:29–35.

Kim SS, Min JH, Lee JK, Baik MH, Choi JW, Shin HS. Effects of pH and anions on the sorption of selenium ions onto magnetite. **J Environ Radioact**. 2012; 104, 1–6.

Klaue B, Blum JD. Trace analyses of arsenic in drinking water by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry : High Resolution versus Hydride Generation. **Anal Chem**. 1999; 71(7):1408–14.

Kolliopoulos A V., Metters JP, Banks CE. Electroanalytical sensing of selenium(iv) utilising screen printed graphite macro electrodes. **Anal Methods**. 2013; 5(4):851.

Kolya H, Das S, Tripathy T. Synthesis of Starch-g-Poly-(N-methylacrylamide-co-acrylic acid) and its application for the removal of mercury (II) from aqueous solution by adsorption. **Eur Polym J**. 2014; 58:1–10.

Komorowicz I, Baralkiewicz D. Arsenic speciation in water by high-performance liquid chromatography/ inductively coupled plasma mass spectrometry-method validation and uncertainty estimation. **Rapid Commun Mass Spectrom**. 2014; 28(2):159–68.

Kongsri S, Janpradit K, Buapa K, Techawongstien S, Chanthai S. Nanocrystalline hydroxyapatite from fish scale waste: preparation, characterization and application for selenium adsorption in aqueous solution. **Chem Eng J**. 2013; 215:522–532.

Kónya J, Nagy NM. Sorption of dissolved mercury (II) species on calcium-montmorillonite: an unusual pH dependence of sorption process. **J Radioanal Nucl Chem**. 2011; 288(2):447–54.

Kopanica M, Novotný L. Determination of traces of arsenic(III) by anodic stripping voltammetry in solutions, natural waters and biological material. **Anal Chim Acta**. 1998; 368(3):211–8.

Kozak L, Niedzielski P. The simultaneous arsenic, antimony, and selenium determination in water samples by batch hydride generation atomic absorption spectrometry. **Anal Lett**. 2011; 44(13):2312–20.

Kwan H. Nam, Sergio Gomez-Salazar, et al. Mercury(II) Adsorption from Wastewaters Using a Thiol Functional Adsorbent. **Ind Eng Chem Res**. 2003; 42(Ii):1955–64.

Laffont L, Hezard T, Gros P, Heimburger LE, Sonke JE, Behra P, et al. Mercury(II) trace detection by a gold nanoparticle-modified glassy carbon electrode using square-wave anodic stripping voltammetry including a chloride desorption step. **Talanta**. 2015; 141:26–32.

Lai R, Huang EL, Zhou F, Wipf DO. Selective Determination of Methylmercury by Flow-Injection Fast-Scan Voltammetry. **Electroanalysis.** 1998; 13(10):926–30.

Lambert DF, Turoczy NJ. Comparison of digestion methods for the determination of selenium in fish tissue by cathodic stripping voltammetry. **Anal Chim Acta**. 2000; 408(1-2):97–102.

Langmuir I. The Adsorption of Gases on Plane Surfaces of Glass, Mica and Platinum. **J Am Chem Soc**. 1918; 40(9):1361–403.

Laschi S, Bagni G, Palchetti I, Mascini M. As(III) Voltammetric Detection by Means of Disposable Screen-Printed Gold Electrochemical Sensors. **Anal Lett**. 2007; 40(16):3002–13.

Laschi S, Palchetti I, Mascini M. Gold-based screen-printed sensor for detection of trace lead. **Sensors Actuators, B Chem**. 2006; 114(1):460–5.

Leeuwen HV e Town R. Electrochemical metal speciation analysis of chemically heterogeneous samples: the outstanding features of stripping chronopotenciometry at scanned deposition potencial. **Environ. Sci. Technol**. 2003; 37:3945-3952.

Le Faucheur S, Campbell PGC, Fortin C, Slaveykova VI. Interactions between mercury and phytoplankton: Speciation, bioavailability, and internal handling. **Environ. Toxicol. Chem**. 2014; 33:1211–1224.

Le Faucheur Ś, Tremblay Y, Fortin C, Campbell PGC. Acidification increases mercury uptake by a freshwater alga, Chlamydomonas reinhardtii. **Environ. Chem**. 2011; 8: 612–622.

Leng G, Feng L, Li S-B, Qian S, Dan D-Z. Determination of Mercury (Hg) in Sediment by a Sequential Injection (SI) System With Cold Vapor Generation Atomic Fluorescence Spectrometry (CVAFS) Detection After a Rapid and Mild Microwave-Assisted Digestion. **Environ Forensics**. 2013; 14(1):9–15.

Leopold K, Foulkes M, Worsfold P. Methods for the determination and speciation of mercury in natural waters-A review. **Anal Chim Acta**. 2010; 663(2):127–38.

Li D, Li J, Jia X, Han Y, Wang E. Electrochemical determination of arsenic(III) on mercaptoethylamine modified Au electrode in neutral media. **Anal Chim Acta**. 2012; 733:23–7.

Li L, Wen Y, Xu L, Xu Q, Song S, Zuo X, et al. Development of mercury (II) ion biosensors based on mercury-specific oligonucleotide probes. **Biosens Bioelectron**. 2016; 75:433–45.

Liu Y, He M, Chen B, Hu B. Simultaneous speciation of inorganic arsenic, selenium and tellurium in environmental water samples by dispersive liquid liquid microextraction combined with electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry. **Talanta**. 2015; 142:213–20.

Locatelli C. Mutual interference problems in the simultaneous voltammetric determination of trace total mercury(ii) in presence of copper(ii) at gold electrode. Applications to environmental matrices. **Anal Methods**. 2010; 2(11):1784.

Lu X, Huangfu X, Zhang X, Wang Y, Ma J. Strong enhancement of trace mercury removal from aqueous solution with sodium thiosulfate by in situ formed Mn-(hydr)oxides. **Water Res**. 2014; 65:22–31.

Luo G. Determination of Total Arsenic in Wastewater and Sewage Sludge Samples by Using Hydride-Generation Atomic Fluorescence Spectrometry Under the Optimized Analytical Conditions. **Anal Lett**. 2012; 45(17):2493–507.

Mafu LD, Msagati TAM, Mamba BB. Adsorption studies for the simultaneous removal of arsenic and selenium using naturally prepared adsorbent materials. I**nt J Environ Sci Technol**. 2014; 11(6):1723–32.

Maguerroski SK, Rigobello-Masini M, Masini JC. A Voltammetric Study on the Adsorption of Cd(II) and Zn(II) on Marine Microalgae *Tetraselmis gracilis* (Kylin) Butcher. **J Braz Chem Soc**. 2013; 24(6):922-930.

Mandil A, Idrissi L, Amine A. Stripping voltammetric determination of mercury(II) and lead(II) using screen-printed electrodes modified with gold films, and metal ion preconcentration with thiol-modified magnetic particles. **Microchim Acta**. 2010; 170(3):299–305.

Martín-Yerga D, González-García MB, Costa-García A. Electrochemical determination of mercury: A review. **Talanta**. 2013;116:1091–104.

Masini JC. Demonstrando os fundamentos, potencialidades e limitações da análise por injeção sequêncial. **Quim Nova**. 2008; 31(3):704–8.

Malandrino M, Abollino O, Giacomino A, Aceto M, Mentasti E. Adsorption of heavy metals on vermiculite: Influence of pH and organic ligands. **J. Colloid Interface Sci.** 2006; 299:537-546.

Maranowski B, Strawski M, Osowiecki W, Szklarczyk M. Study of selenium electrodeposition at gold electrode by voltammetric and rotating disc electrodes techniques. **J Electroanal Chem**. 2015; 752:54-59.

McBride MB. **Environmental chemistry of soils**. Oxford University Press, New York, 1994.

Melamed R e da Luz AB. Efficiency of industrial minerals on the removal of mercury species from liquid effluents. **Sci. Total Environ**. 2006; 368:403-406.

Micaroni RC da CM.; Bueno M. I. M. S, JARDIM W de F. Compostos de mercúrio. Revisão de métodos de determinação, tratamento e descarte. **Quim. Nova.** 2000; 23:487-495.

Mil-Homens M, Costa AM, Fonseca S, Trancoso MA, Lopes C, Serrano R, et al. Characterization of heavy-metal contamination in surface sediments of the minho river estuary by way of factor analysis. **Arch Environ Contam Toxicol**. 2013; 64(4):617–31.

Missana T, Alonso U, García-Gutiérrez M. Experimental study and modelling of selenite sorption onto illite and smectite clays. **J Colloid Interface Sci**. 2009; 334(2):132–8.

Monteiro CM, Brandão TRS, Castro PML, Malcata FX. Modelling growth of, and removal of Zn and Hg by a wild microalgal consortium. **Appl Microbiol Biotechnol**. 2012;94(1):91–100.

Muñoz JA, Gonzalo A, Valiente M. Arsenic adsorption by Fe(III)-Loaded Open-Celled Cellulose Sponge. Thermodynamic and selectivity aspects. **Environ. Sci. Technol**. 2002; 36(15):3405-3411.

Nascimento VB, Angnes L. Eletrodos fabricados por “silk-screen”. **Quím. Nova.** 1998; 21:614-629.

Ninwonga B, Chuanuwatanakul S, Chailapakul O, Dungchaic W, Motomizud S. On-line preconcentration and determination of lead and cadmium by sequential injection/anodic stripping voltammetry. **Talanta**. 2012; 96:75–81.

Nolan MA, Kounaves SP. Microfabricated array of iridium microdisks as a substrate for direct determination of Cu^{2+} or Hg^{2+} using square-wave anodic stripping voltammetry. **Anal Chem**. 1999; 71(16):3567–73.

Okçu F, Ertas H, Ertas FN. Determination of mercury in table salt samples by on-line medium exchange anodic stripping voltammetry. **Talanta**. 2008; 75(2):442–6.

Ottesen RT, Birke M, Finne TE, Gosar M, Locutura J, Reimann C, et al. Mercury in European agricultural and grazing land soils. **Appl Geochemistry**. 2013; 33:1–12.

Padilla-Ortega E, Leyva-Ramos R, Mendoza-Barron J. Role of electrostatic interactions in the adsorption of cadmium(II) from aqueous solution onto vermiculite, **App. Clay Sci**. 2014; 88-89:10-17.

Paiva LB de, Morales AR, Díaz FRV. Argilas organofílicas: características, metodologias de preparação, compostos de intercalação e técnicas de caracterização. **Cerâmica.** 2008; 54:213-226.

Parat C, Schneider A, Castetbon A, Potin-Gautier M. Determination of trace metal speciation parameters by using screen-printed electrodes in stripping chronopotentiometry without deaerating. **Anal Chim Acta**. 2011; 688(2):156–62.

Piech R. Determination of selenium traces on cyclic renewable mercury film silver electrode in presence of copper ions using cathodic stripping voltammetry. **Electroanalysis**. 2008; 20(22):2475–81.

Piston M, Silva J, Pérez-Zambra R, Dol I, Knochen M. Automated method for the determination of total arsenic and selenium in natural and drinking water by HG-AAS. **Environ Geochem Health**. 2012; 34(2):273–8.

Punrat E, Chuanuwatanakul S, Kaneta T, Motomizu S, Chailapakul O. Method development for the determination of arsenic by sequential injection/anodic stripping voltammetry using long-lasting gold-modified screen-printed carbon electrode. **Talanta**. 2013; 116:1018–25.

Punrat E, Chuanuwatanakul S, Kaneta T, Motomizu S, Chailapakul O. Method development for the determination of mercury(II) by sequential injection/anodic stripping voltammetry using an in situ gold-film screen-printed carbon electrode. **J Electroanal Chem**. 2014; 727:78–83.

Qiu YW, Wang WX. Comparison of mercury bioaccumulation between wild and mariculture food chains from a subtropical bay of Southern China. **Environ Geochem Health**. 2016; 38(1):39–49.

Rao MM, Ramana DK, Seshaiah K, Wang MC, Chien SWC. Removal of some metal ions by activated carbon prepared from Phaseolus aureus hulls. **J. Hazard. Mater**. 2009a; 166:1006-1013.

Rao MM, Reddy D, Venkateswarlu P, Seshaiah K. Removal of mercury from aqueous solutions using activated carbon prepared from agricultural by-product/waste. **J. Environ. Manage**. 2009b; 90:634-643.

Razmi H, Musevi SJ, Mohammad-Rezaei R. Solid phase extraction of mercury(II) using soluble eggshell membrane protein doped with reduced graphene oxide, and its quantitation by anodic stripping voltammetry. **Microchim Acta**. 2016;183(2):555–62.

Ribeiro LF, Masini JC. Automated Determination of Cu(II), Pb(II), Cd(II) and Zn(II) in Environmental Samples by Square Wave Voltammetry Exploiting Sequential Injection Analysis and Screen Printed Electrodes. **Electroanalysis**. 2014; 26(12):2754–63.

Richter EM, Augelli M a, Kume GH, Mioshi RN, Angnes L. Gold electrodes from recordable CDs for mercury quantification by flow injection analysis. **Fresenius J Anal Chem**. 2000; 366(5):444–8.

Richter P, Toral MI, Abbott B. Anodic Stripping Voltammetric Determination of Mercury in Water by Using a New Electrochemical Flow Through Cell. **Electroanalysis**. 2002; 14(18):1288–93.

Rotureau E. Analysis of metal speciation dynamics in clay minerals dispersion by stripping chronopotentiometry techniques. **Colloids Surfaces A Physicochem. Eng**. Asp. 2014; 441:291–297.

Ruzicka, J.; MARSHALL, G. D. Sequential injection: a new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays. **Anal. Chim. Acta**. 1990;237:329-343.

Salaün P, Van Den Berg CMG. Voltammetric detection of mercury and copper in seawater using a gold microwire electrode. **Anal Chem**. 2006; 78(14):5052–60.

Salaün P, Gibbon-Walsh KB, Alves GMS, Soares HMVM, van den Berg CMG. Determination of arsenic and antimony in seawater by voltammetric and chronopotentiometric stripping using a vibrated gold microwire electrode. **Anal Chim Acta**. 2012; 746:53–62.

Salaün P, Planer-Friedrich B, van den Berg CMG. Inorganic arsenic speciation in water and seawater by anodic stripping voltammetry with a gold microelectrode. **Anal Chim Acta**. 2007; 585(2):312–22.

Salazar-Banda GR, Solaliendres MO, Manzoli A, Eguiluz KIB, Tanimoto ST, Machado SAS. The processes involved in the Se electrodeposition and dissolution on Au electrode: The H_2Se formation. **J Solid State Electrochem**. 2008; 12(6):679–86.

Saleh TA. Isotherm, kinetic, and thermodynamic studies on Hg(II) adsorption from aqueous solution by silica- multiwall carbon nanotubes. **Environ Sci Pollut Res**. 2015; 22(21):16721–31.

Samal AC, Bhar G, Santra SC. Biological process of arsenic removal using selected microalgae. **Indian J Exp Biol**. 2004; 42:522–528.

Santos S, Ungureanu G, Boaventura R, Botelho C. Selenium contaminated waters: An overview of analytical methods, treatment options and recent advances in sorption methods. **Sci Total Environ**. 2015; 521-522(1):246–60.

Sari A, Tuzen M. Removal of mercury(II) from aqueous solution using moss (Drepanocladus revolvens) biomass: Equilibrium, thermodynamic and kinetic studies. **J Hazard Mater**. 2009; 171(1-3):500–7.

Seixas TG, Moreire I, Kehrig HA, et al. O. O selênio no meio ambiente. **Oecol. Bras**. 2007; 11:264-276.

Sharma A, Sharma A, Arya RK. Removal of Mercury (II) From Aqueous Solution: A Review of Recent Work. **Sep Sci Technol**. 2014; 6395.

Sharrad MOM, Liu HJ, Fan MH. Evaluation of FeOOH performance on selenium reduction. **Sep Purif Technol**. 2012; 84:29–34.

Sheykhi V, Moore F. Evaluation of potentially toxic metals pollution in the sediments of the Kor river, southwest Iran. **Environ Monit Assess**. 2013; 185(4):3219–32.

Shi D, Yan F, Wang M, Zou Y, Zheng T, Zhou X, et al. Rhodamine derivative functionalized chitosan as efficient sensor and adsorbent for mercury(II) detection and removal. **Mater Res Bull**. 2015; 70:958–64.

Smykatz-Kloss W. **Differential Thermal Analysis**. Springer-Verlag, Berlin Hildelberg New York, 1974.

Silva MMF, Gomes SSS, Fonseca MG, Sousa KS, Espinola JGP, da Silva EC. Synthesis and characterization of a silylated Brazilian clay mineral surface. **Chem. Pap**. 2014; 68:950-958.

Silva Junior UG da, Dantas HV, Lima MB de. Adsorção de metais em água de produção através de um argilomineral. **II Congresso de Pesquisa e Inovacao da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnologica Joao Pessoa, PB**, 2007. Disponível em: http://www.redenet.edu.br/publicacoes/arquivos/20080922_ 093945_ QUIM-003.pdf. Acesso em: Março, 2016.

Sinha A, Khare SK. Mercury bioremediation by mercury accumulating Enterobacter sp. cells and its alginate immobilized application. **Biodegradation**. 2012; 23(1):25–34.

Siriangkhawut W, Grudpan K, Jakmunee J. Sequential injection anodic stripping voltammetry with monosegmented flow and in-line UV digestion for determination of Zn(II), Cd(II), Pb(II) and Cu(II) in water samples. **Talanta**. 2011;84:1366–1373.

Sis H e Uysal T. Removal of heavy metal ions from aqueous medium using Kuluncak (Malatya) vermiculites and effect of precipitation on removal. **Appl. Clay Sci.** 2014; 95: 1-8.

Song X, Ye M, Tang X, Wang C. Ionic liquids dispersive liquid–liquid microextraction and HPLC-atomic fluorescence spectrometric determination of mercury species in environmental waters. **J Sep Sci**. 2013; 36(2):414–20.

Suresh Kumar K, Dahms HU, Won EJ, Lee JS, Shin KH. Microalgae - A promising tool for heavy metal remediation. **Ecotoxicol Environ Saf**. 2015; 113:329–52.

Svancara I, Sikora E, Schachl K, Kalcher K. Carbon Paste Electrodes Plated with a Gold Film for the Voltammetric Determination of Mercury. **Electroanalysis**. 1997; 11:827-833.

Taboada-de la Calzada A, Villa-Lojo MC, Beceiro-González E, Alonso-Rodríguez E, Prada-Rodríguez D. Accumulation of arsenic(III) by Chlorella vulgaris. **Appl Organomet Chem**. 1999; 13:159–162.

Tan SH, Kounaves SP. Determination of Selenium(IV) at a Microfabricated Gold Ultramicroelectrode Array Using Square Wave Anodic Stripping Voltammetry. **Electroanalysis**. 1998; 10(6):364–8.

Tang H, Chang C, Zhang L. Efficient adsorption of Hg^{2+} ions on chitin/cellulose composite membranes prepared via environmentally friendly pathway. **Chem Eng J**. 2011; 173(3):689–97.

Teixeira MC, Tavares EDFL, Saczk AA, Okumura LL, Cardoso MDG, Magriotis ZM, et al. Cathodic stripping voltammetric determination of arsenic in sugarcane brandy at a modified carbon nanotube paste electrode. **Food Chem**. 2014; 154:38–43.

Tinkov AA, Ajsuvakova OP, Skalnaya MG, Popova E V., Sinitskii AI, Nemereshina ON, et al. Mercury and metabolic syndrome: A review of experimental and clinical observations. **BioMetals**. 2015; 28(2):231–54.

Tolu J, Le Hécho I, Bueno M, Thiry Y, Potin-Gautier M. Selenium speciation analysis at trace level in soils. **Anal Chim Acta**. 2011; 684(1-2):126–33.

Tran L, Wu P, Zhu Y, Yang L, Zhu N. Highly enhanced adsorption for the removal of Hg(II) from aqueous solution by Mercaptoethylamine/ Mercaptopropyltrimethoxysilane functionalized vermiculites. **J Colloid Interface Sci**. 2015; 445:348–56.

Türk T, Alp I. Arsenic removal from aqueous solutions with Fe-hydrotalcite supported magnetite nanoparticle. **J Ind Eng Chem**. 2014; 20(2):732–8.

Tuzen M, Sari A, Mendil D, Soylak M. Biosorptive removal of mercury(II) from aqueous solution using lichen (Xanthoparmelia conspersa) biomass: Kinetic and equilibrium studies. **J Hazard Mater**. 2009; 169(1-3):263–70.

Tüzün I, Bayramoğlu G, Yalçin E, Başaran G, Çelik G, Arica MY. Equilibrium and kinetic studies on biosorption of Hg(II), Cd(II) and Pb(II) ions onto microalgae Chlamydomonas reinhardtii. **J Environ Manage**. 2005; 77(2):85–92.

Ulusoy HB, Gürkan R, Ulusoy S. Cloud point extraction and spectrophotometric determination of mercury species at trace levels in environmental samples. **Talanta**. 2012; 88:516–23.

Umpleby RJ, Baxter SC, Chen,Y, Shah RN, Shimizu KD. Characterization of molecularly imprinted polymers with the Langmuir - Freundlich isotherm. **Anal. Chem**. 2001; 73:4584–4591.

United States Comprehensive Environmental Response, Compensation, and Liability Act. **United States Environmental Protection Agency**, 1980. Disponível em: http://www.epa.gov/superfund/policy /cercla.htm. Acesso em: Abril, 2016.

United States Environmental Protection Agency. **Arsenic Removal from Drinking Water by Adsorptive Media U.S. EPA Demonstration Project at Taos, NM Final Performance Evaluation Report**, 2009 Disponível em: http://www.epa.gov/mercury/. Acesso em: Abril, 2016.

United States Environmental Protection Agency. **Mercury**. Disponível em: http://www.epa.gov/mercury/. Acesso em: Abril, 2016.

Vassileva E, Becker A, Broekaert JAC. Determination of arsenic and selenium species in groundwater and soil extracts by ion chromatography coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry. **Anal Chim Acta**. 2001; 441(1):135–46.

Walcarius A, Etienne M, Delacote C. Uptake of inorganic HgII by organically modified silicates: Influence of pH and chloride concentration on the binding pathways and electrochemical monitoring of the processes. **Anal Chim Acta**. 2004; 508(1):87–98.

Wang J, Tian B. Screen-printed electrodes for stripping measurements of trace mercury. **Anal Chim Acta**. 1993; 274(1):1–6.

Wang X, Yang L, Zhang J, Wang C, Li Q. Preparation and characterization of chitosan-poly(vinyl alcohol)/bentonite nanocomposites for adsorption of Hg(II) ions. **Chem Eng J**. 2014; 251:404–12.

Wang Y, Liu Z, Yao G, Zhu P, Hu X, Yang C, et al. An electrochemical assay for the determination of Se (IV) in a sequential injection lab-on-valve system. **Anal Chim Acta**. 2009; 649(1):75.

Wang Y, Wang S, Xu P, Liu C, Liu M, Wang Y, et al. Review of arsenic speciation, toxicity and metabolism in microalgae. **Rev Environ Sci Bio/Technology**. 2015; 14(3):427–51.

Weber WJ, Morris JC. Kinetics of adsorption on carbon from solution. **Journal of Sanitary Engineering, Division ASCE**. 1963; 89:31 – 60.

Winkel LHE, Johnson CA, Lenz M, Grundl T, Leupin OX, Amini M, et al. Environmental selenium research: From microscopic processes to global understanding. **Environ Sci Technol**. 2012; 46(2):571–9.

Wu FC, Tseng RL, Juang RS. Initial behavior of intraparticle diffusion model used in the description of adsorption kinetics. **Chem. Eng. J.** 2009; 153:1-8.

Wu Q, Apte SC, Batley GE, Bowles KC. Determination of the mercury complexation capacity of natural waters by anodic stripping voltammetry. **Anal Chim Acta**. 1997;350(1-2):129–34.

Xiang G, Li L, Jiang X, He L, Fan L. Thiol-Modified Magnetic Silica Sorbent for the Determination of Trace Mercury in Environmental Water Samples Coupled with Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry. **Anal Lett**. 2013; 46(4):706–16.

Xiao L, Dietze W, Nyasulu F, Mibeck BAF. Ultramicroband array electrode. 1. Analysis of mercury in contaminated soils and flue gas exposed samples using a gold-plated iridium portable system by anodic stripping voltammetry. **Anal Chem**. 2006; 78(14):5172–8.

Yamamoto M, Kodamatani H, Kono Y, Takeuchi A, Takai K, Tomiyasu T, et al. Development of a deep-sea mercury sensor using in situ anodic stripping voltammetry. **Geochem J**. 2015; 49(6):613–20.

Yin C, Iqbal J, Hu H, Liu B, Zhang L, Zhu B, et al. Sensitive determination of trace mercury by UV-visible diffuse reflectance spectroscopy after complexation and membrane filtration-enrichment. **J Hazard Mater**. 2012; 233-234:207–12.

Yukselen Y e Kaya A. Comparison of Methods for Determining Specific Surface Area of Soils. **Journal of Geotech. And Geonenviron. Enginn.** 2006; 931-936.

Zaib M, Athar MM, Saeed A, Farooq U. Electrochemical determination of inorganic mercury and arsenic-A review. **Biosens Bioelectron**. 2015; 74:895–908.

Zelmanov G, Semiat R. Selenium removal from water and its recovery using iron (Fe3+) oxide/hydroxide-based nanoparticles sol (NanoFe) as an adsorbent. **Sep Purif Technol**. 2013; 103:167–72.

Zhang H, Gavina J, Feng YL. Understanding mechanisms of pressure-assisted electrokinetic injection: Application to analysis of bromate, arsenic and selenium species in drinking water by capillary electrophoresis-mass spectrometry. **J Chromatogr A**. 2011; 1218(20):3095–104.

Zhang H, Yang L, Zhou B, Liu W, Ge J, Wu J, et al. Ultrasensitive and selective gold film-based detection of mercury (II) in tap water using a laser scanning confocal imaging-surface plasmon resonance system in real time. **Biosens Bioelectron**. 2013a; 47:391–5.

Zhang Q, Li X, Shi H, Hongzhou, Yuan Z. Determination of trace selenium by differential pulse adsorptive stripping voltammetry at a bismuth film electrode. **Electrochim Acta** [Internet]. 2010;55(16):4717–21.

Zhang SY, Sun GX, Yin XX, Rensing C, Zhu YG. Biomethylation and volatilization of arsenic by the marine microalgae Ostreococcus tauri. **Chemosphere**. 2013b; 93(1):47–53.

Zhang X, Jia X, Zhang G, Hu J, Sheng W, Ma Z, et al. Efficient removal and highly selective adsorption of Hg2+ by polydopamine nanospheres with total recycle capacity. **Appl Surf Sci**. 2014; 314:166–73.

Zhao Y, Zheng J, Fang L, Lin Q, Wu Y, Xue Z, et al. Speciation analysis of mercury in natural water and fish samples by using capillary electrophoresis-inductively coupled plasma mass spectrometry. **Talanta**. 2012; 89:280–5.

Zhou Y, Zhang J, Luo X, Lin X. Adsorption of Hg(II) in aqueous solutions using mercapto-functionalized alkali lignin. **J Appl Polym Sci**. 2014; 131(18):9128–36.

12. SÚMULA CURRICULAR

DADOS PESSOAIS

Nome: Fernando Henrique do Nascimento

Nascimento: 10/05/1988 – São Paulo/SP - Brasil

FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

2012 – 2016 **Doutorado em Química** (Química Analítica) em andamento
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
Título: Desenvolvimento e validação de metodologias em fluxo com detecção eletroquímica para aplicação em estudos de interações de Hg(II), As(III) e Se(IV) com ligantes heterogêneos de ocorrência natural.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Cesar Masini.
Bolsista da: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

2010 – 2012 **Mestrado em Química** (Química Analítica).
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
Título: Estudo de interação de Hg(II) com ligantes heterogêneos de ocorrência natural usando voltametria de redissolução anódica automatizada em sistema de análise por injeção sequencial.

Ano de Obtenção: 2012.
Orientador: Jorge Cesar Masini.
Bolsista da: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

2006 – 2009 **Graduação em Química**.
Centro Universitário FIEO, UNIFIEO, Brasil.

Título: Estudo toxicológico dos sedimentos de São Sebastião, SP, por meio da razão MSE/SVA e foraminíferos como bioindicadores.

Orientador: Sílvio Miranda Prada

FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

2011 Microondas para o preparo de amostras. (Carga horária: 8h). Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

2009 Extensão universitária em HPLC: Princípios e Aplicações. (Carga horária: 15h). Centro Universitário FIEO, UNIFIEO, Brasil.

ATUAÇÃO PROFISSIONAL/ACADÊMICA

- Centro Universitário FIEO

- Pesquisador

2008 – 2009: – Iniciação científica.

Funções: Pesquisa no "Estudo Toxicológico de sedimentos do Canal de São Sebastião por meio da razão MSE/SVA e foraminíferos como bioindicadores"

Carga horária: 15 h semanais.

- Universidade de São Paulo

- Pesquisador

2010 – 2016: Bolsista de Pós-graduação pela FAPESP

Funções: Pesquisa no:

- "Estudo de interação de Hg(II) com ligantes heterogêneos de ocorrência natural usando voltametria de redissolução anódica automatizada em sistema de análise por injeção sequencial"

- "Desenvolvimento e validação de metodologias em fluxo com detecção eletroquímica para aplicação em estudos de interações de Hg(II), As(III) e Se(IV) com ligantes heterogêneos de ocorrência natural"

Carga horária: Dedicação exclusiva.

- Estagiário no Programa de Aperfeiçoamento do Ensino da USP

2014 Química Analítica para o curso de Engenharia Química
Química Analítica Instrumental para o curso de Química

2013 Química Analítica para o curso de Oceanografia
Química Analítica Instrumental para o curso de Oceanografia

2012 Química Analítica para o curso de Engenharia Química

2011 Química Analítica para o curso de Farmácia
Química Analítica Instrumental para o curso de Oceanografia

2010 Química Analítica para o curso de Oceanografia

PARTICIPAÇÃO/APRESENTAÇÃO DE TRABALHOS EM EVENTOS

DO NASCIMENTO, FERNANDO H.; Rigobello-Masini, Marilda; DOMINGOS, Rute F.; PINHEIRO, JOSÉ P.; MASINI, JORGE C. Stripping chronopotentiometry controlled by sequential injection analysis to investigate adsorption of Hg(II) on *Chlamydomonas reinhardtii*. Em: 18º Euroanalysis, 2015, Bordeaux, França.

DO NASCIMENTO, FERNANDO H.; MASINI, JORGE C. Development of a sequential injection anodic stripping voltammetry for determination of As(III) using screen-printed gold electrodes. Em: 18º Euroanalysis, 2015, Bordeaux, França.

DO NASCIMENTO, FERNANDO H.; COSTA, DIEGO M. S.; MASINI, JORGE C. Evaluation of thiol-modified vermiculite for removal of Hg(II) from aqueous solutions. Em: 38º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia, SP- Brasil.

DO NASCIMENTO, FERNANDO H.; MASINI, JORGE C. Interação de Hg(II) com ácido húmico e vermiculita avaliada por injeção sequencial com detecção voltamétrica em sensores impressos de Au. Em: 17º Encontro Nacional de Química Analítica, 2013, Belo Horizonte, MG- Brasil.

DO NASCIMENTO, FERNANDO H.; MASINI, JORGE C. Análise por Injeção Sequencial com detecção por voltametria de onda Quadrada (SIA-SWASV) para a determinação de Hg(II) em sedimentos. Em: 17º Encontro Nacional de Química Analítica, 2013, Belo Horizonte, MG- Brasil.

DO NASCIMENTO, FERNANDO H.; MASINI, JORGE C. Análise por injeção sequencial com detecção voltamétrica para estudos de adsorção de Hg(II) em ácido húmico. Em: 16º Encontro Nacional de Química Analítica, 2011, Campos do Jordão - SP. 16º Encontro Nacional de Química Analítica, 2011.

DO NASCIMENTO, FERNANDO H.; PRADA, SÍLVIO M. Avaliação da toxicidade dos sedimentos da região do Saco da Capela, São Sebastião, SP, por meio da integração da razão MSE/SVA e foraminíferos. Em: 16º Encontro Nacional de Química Analítica, 2011, Campos do Jordão - SP. 16º Encontro Nacional de Química Analítica, 2011.

DO NASCIMENTO, FERNANDO H.; PRADA, Sílvio M. Integração da Razão MSE/SVA e foraminíferos para avaliação da toxicidade dos sedimentos da região de Cigarras, São Sebastião - SP. Em: 15º Encontro de Química Analítica e 3º Congresso Ibero-Americano de Química Analítica, 2009, Salvador, BA - Brasil.

ARTIGOS PUBLICADOS

DO NASCIMENTO, FERNANDO H.; COSTA, DIEGO M. S.; MASINI, JORGE C. Evaluation of thiol-modified vermiculite for removal of Hg(II) from aqueous solutions. Applied Clay Science (Print), v. 124, p. 227, 2016.

DO NASCIMENTO, FERNANDO H.; MASINI, JORGE C. Sequential Injection Assisted Stripping Chronopotentiometry at Screen Printed Gold Electrodes for Determination of Hg(II) in Adsorption Studies. Analytical Letters, v. 49, p. 699-710, 2015.

DA SILVA, L. C. C.; INFANTE, CARLOS M. C.; DE PRÁ URIO, RICARDO; COSENTINO, IVANA C.; DE ABREU FANTINI, MARCIA C.; DO ROSÁRIO MATOS, JIVALDO; **DO NASCIMENTO, FERNANDO H.**; MASINI, JORGE C. Adsorption/Desorption of Hg(II) on FDU-1 Silica and FDU-1 Silica Modified with Humic Acid. Separation Science and Technology (Print), v. 50, p. 984-992, 2015.

DO NASCIMENTO, FERNANDO H.; MASINI, JORGE C. Influence of humic acid on adsorption of Hg(II) by vermiculite. Journal of Environmental Management, v. 143, p. 1-7, 2014.

DO NASCIMENTO, FERNANDO H.; MASINI, JORGE C. Complexation of Hg(II) by humic acid studied by square wave stripping voltammetry at screen-printed gold electrodes. Talanta (Oxford), v. 100, p. 57-63, 2012.