

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA
Programa de Pós-Graduação em Química

FELIPE AUGUSTO KURACHINA AFONSO

**Dispositivo analítico em papel para análise em águas
de efluentes.**

Versão Corrigida da Dissertação.

São Paulo

Data do Depósito na SPG:
20/05/2020

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

A257d Afonso, Felipe Augusto Kurachina
Dispositivo analítico em papel para análise em
águas de efluente. / Felipe Augusto Kurachina
Afonso. - São Paulo, 2020.
62 p. + disserta??o

Dissertação (mestrado) - Instituto de Química da
Universidade de São Paulo. Departamento de Química
Fundamental.

Orientador: Paixão, Thiago Regis Longo Cesar

1. QUÍMICA. 2. QUÍMICA ANALÍTICA. 3. MÉTODO
COLORIMÉTRICO. I. T. II. Paixão, Thiago Regis Longo
Cesar, orientador.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA
Programa de Pós-Graduação em Química

FELIPE AUGUSTO KURACHINA AFONSO

**Dispositivo analítico em papel para análise em águas
de efluentes.**

*Dissertação apresentada ao Instituto de Química
da Universidade de São Paulo para obtenção do
Título de Mestre em Ciências (no Programa de
Química)*

Orientador (a): Prof (a). Dr (a). Thiago Regis Longo Cesar da Paixão

São Paulo

Data do Depósito na SPG:
20/05/2020

AGRADECIMENTO(S)

Agradeço aos meus pais por todo o apoio, carinho, dedicação e por sempre acreditarem em mim, fazendo o possível para me ajudarem em minhas conquistas.

Ao prof. Dr. Thiago Regis Longo Cesar da Paixão, orientador que com sabedoria soube dirigir meus passos e pensamentos para o alcance de meus objetivos. Principalmente por sempre me auxiliar prontamente, e pela amizade, compartilhando comigo seus conhecimentos.

Aos amigos de laboratório e do grupo de pesquisa por toda ajuda e conhecimento compartilhado. Em especial ao William Reis de Araujo, por me socorrer nos momentos difíceis da pesquisa, pela amizade e incentivo, compartilhando comigo seus conhecimentos e me auxiliando nos momentos necessários.

.

À Maria Cristina, técnica do laboratório, por toda a amizade, carinho, incentivo e ajuda que me deu durante essa etapa de minha vida, bem como durante a graduação.

À CAPES e ao CNPq pela bolsa de mestrado e suporte financeiro concedido, assim como à FAPESP pelo suporte financeiro ao laboratório.

Aos meus colegas pelo companheirismo de sempre, por sempre me apoiarem, e por me darem o prazer da amizade tornando essa etapa de minha vida muito mais especial e divertida.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a finalização dessa dissertação de mestrado.

E principalmente à Luciene de Camargo Lima, minha companheira por todo esse período da minha vida, me incentivando e me amparando quando mais precisei

RESUMO

Afonso, F. A. K. **Dispositivo analítico em papel para análise de águas em efluentes.** 2020. 62p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

A poluição de águas por diferentes tipos de poluentes é um dos maiores problemas ambientais no âmbito mundial. Dentre eles os metais pesados possuem uma característica diferenciada, a bioacumulação pela fauna e flora. Por não serem degradados naturalmente, eles podem se tornar extremamente nocivos à saúde humana, causando complicações no cérebro, sistema nervoso, rins, pulmões, ossos, etc. Dispositivos analíticos em papel tem sido utilizado como substrato para fabricação de sensores químicos portáteis devido às suas características como: confecção de dispositivos de baixo custo, portabilidade, descartáveis, de simples utilização em locais com poucos recursos e voltados para diagnósticos *point-of-care*. Com isso, nessa dissertação, avaliou-se inicialmente a fabricação de dispositivos colorimétricos em papel visando à detecção de nitrito (NO_2^-), zinco (Zn) e níquel (Ni). Foram observados resultados preliminares bastante promissores, alcançando limites de detecção da ordem de 1 ppm, 5 ppm e 5 ppm, respectivamente. Limites esses, bem próximas aos estipulados pelo CONAMA 357/2005. Visando explorar a melhora do limite de detecção, otimizações dos parâmetros experimentais do método propostos para o Ni foram realizados, alcançando limites de detecção experimental de até 0,5 ppm. Vale destacar que essa abordagem para o Ni é parte de um movimento crescente, relacionada à procura por metodologias de análises de baixo custo, de fácil manuseio e descartável. Além disso, o dispositivo diminui drasticamente o uso de reagentes, e a complexidade do exame para Ni, podendo ser aplicado tanto em campo como no controle para as águas de descarte das indústrias.

Palavras-chave: dispositivo de papel; Zinco; Níquel.

ABSTRACT

Afonso, F. A. K. **Paper-based analytical device for wastewater analysis.** 2020. 62p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Química. Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

The pollution of water by different types of pollutants is one of the biggest concerns worldwide. Between the pollutants, the heavy metals have a singular characteristic, bioaccumulation in the fauna and flora. As they are not naturally degraded, they can be extremely dangerous for human health, causing issues on the brain, nervous system, kidneys, lungs, bones, etc. The paper-based chemical sensor devices have been fabricating due to its characteristics: low cost, low transport weight, disposable, and easy to use in resource-poor locations and focused on point-of-care diagnostics. Thereby, a paper-based device was evaluated to analyze nitrite (NO_2^-), zinc (Zn) and nickel (Ni). The results observed were promising, experimental detections limits of 1 ppm, 5 ppm and 5 ppm, respectively. The concentrations were very close to the limits stipulated by CONAMA 357/2005 regarding the quality of waters in the Brazilian territory. Moreover, optimizations of some parameters were performed in the Ni analysis methodology, reaching experimental detection limits up to 0,5 ppm. It is worth mentioning that this approach for Ni is part of an important movement that has been growing, related to the search for low cost, easy to use and disposable analysis methodologies. In addition, the device drastically reduces the use of reagents and the complexity of the examination of Ni, it can be applied both in the field and as a control for industrial wastewater.

Keywords: paper-based device; Zinc; Nickel.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.1:** Estrutura química da celulose e passos de ativação dos grupos hidroxila pela ligação covalente de grupos amino. Adaptado com permissão de [16]. Copyright© 2016 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim..... 21
- Figura 3.1:** Esquema da confecção do dispositivo em papel com cera. Y. Xia e colaboradores. Biosensors and Bioelectronics 77 (2016) 774–789. [32] Número da licença 4774990888475..... 23
- Figura 3.2:** Esquema de etapas de análise de dispositivos em papel e cera.
..... 24
- Figura 3.3:** (A) Impressora multifuncional HP Deskjet 5456; (B) Câmara de controle de iluminação, angulação e posição..... 25
- Figura 3.4:** Mecanismo de reação de griess..... 26
- Figura 3.5:** Estrutura do Alaranjado de Xilenol..... 27
- Figura 3.6:** Estrutura do Cloreto de Cetilpiridínio..... 27
- Figura 4.1:** Imagem do experimento visando à detecção de nitrito e influência da direção das fibras do papel. Nas três zonas de detecção (B, C, e D) 0,5 µL do reagente de Griess foi imobilizado em cada uma e após a secagem completa do reagente, 10 µL de amostra do padrão analítico de 1 mmol L⁻¹ de NO₂⁻ foi adicionada à zona A..... 29
- Figura 4.2:** Imagem dos dispositivos contendo duas zonas visando à detecção de NO₂⁻. Na figura da esquerda Teste de volume de amostragem de 0,3 a 5 µL do reagente de Griess foi imobilizado nas zonas de detecção, zonas da direita, e após a secagem completa do reagente 5 µL de padrão analítico de 0,01 mol L⁻¹ de NO₂⁻. Na figura da

direita ficou-se em 0,5 µL do reagente de Griess e variou-se a concentração do padrão analítico de 1 mmol L⁻¹ a 0,01 mmol L⁻¹..... 31

Figura 4.3: *(A) Imagem do teste colorimétrico para NO₂⁻ na faixa de concentração de 0 a 100 ppm. Parâmetros: 0,5 µL do reagente de Griess. Após a secagem completa do reagente, foi aplicado 5 µL dos padrões analíticos 0 a 100 ppm de NO₂⁻, aquisição da imagem feita por scanner. (B) curva analítica de 1 a 100 ppm de NO₂⁻ correlacionando com a intensidade de magenta extraídas da imagem digitalizada..... 32*

Figura 4.4: *Imagem do teste colorimétricos visando à detecção de Zn(II) na faixa de concentração de 0 a 62,5 ppm. Parâmetros: 3 µL de solução AX (5 mmol L⁻¹) e CPC (5 mmol L⁻¹) em uma proporção de 2:1 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foi aplicado 5 µL dos padrões analíticos de Zn(II). (A) curva analítica de 2,5 a 62,5 ppm de Zn(II) para a intensidade de magenta obtida da imagem digitalizada. (B) curva analítica descontando o sinal do branco analítico para os valores de magenta obtidos da imagem digitalizada..... 34*

Figura 4.5: *Imagem do teste colorimétrico para diferentes metais 10 ppm. Parâmetros: 3 µL de solução AX (5 mmol L⁻¹) e CPC (5 mmol L⁻¹) em uma proporção de 2:1 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foi aplicado 5 µL dos padrões analíticos dos metais. À esquerda imagem obtida do teste ainda em solução, à direita o teste com as zonas de detecção já secas.....35*

Figura 4.6: *(A) Imagem do teste colorimétrico para Co(II) na faixa de concentração de 0 a 250 ppm, experimentos realizados em duplicata. Parâmetros: 3 µL de solução AX (5 mmol L⁻¹) e CPC (5 mmol L⁻¹) em uma proporção de 2:1 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foi aplicado 5 µL dos padrões analíticos de Co(II), o branco foi feito em triplicata, os demais padrões analíticos em duplicata. (B) (a) curva analítica de 10 a 250 ppm de Co(II) para a intensidade de magenta obtida da imagem fotografadas. (b) curva analítica descontando o sinal do branco analítico para os valores de magenta obtidos da imagem digitalizada.....36*

Figura 4.7: (A) Imagem do teste colorimétrico para Ni(II) de 0 a 50 ppm. Parâmetros: 3 μL de solução AX (5 mmol L^{-1}) e CPC (5 mmol L^{-1}) em uma proporção de 1:2 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foi aplicado 15 μL dos padrões analíticos de Ni(II). Após 30 minutos uma fotografia foi registrada. (B) curva analítica de 5 a 50 ppm de Ni(II) para a intensidade de ciano obtida da imagem..... 37

Figura 4.8: Imagem do teste do reagente AX:CPC com padrão analítico de 10 ppm de Ni(II). Primeira linha testes com 3 μL de AX. Segunda linha, testes com apenas 3 μL CPC. Terceira linha, Adição de 3 μL AX ao teste contendo 3 μL CPC..... 39

Figura 4.9: Imagem do teste de concentração do reagente CPC. Variação entre 2 e 5 mmol L^{-1} . Solução de padrão analítico de 10 ppm de Ni(II). Concentração de AX 5 mmol L^{-1} variação da concentração de CPC de 2 a 5 mmol L^{-1} , proporção dos reagentes 1:2 de AX:CPC (v/v). Foi adicionado 5 μL do reagente nas zonas de detecção após secagem completa, foi adicionado 15 μL de padrão analítico de 10 ppm de Ni(II)..... 40

Figura 4.10: Curva analítica de 0 a 50 ppm de Ni(II), em função da proporção de AX:CPC v/v. Nas zonas de detecção foram adicionadas os reagentes em diferentes proporções de AX:CPC, 1:2, 1:3 e 1:4, após a secagem completa do reagente, padrões analíticos de 0 a 50 ppm de Ni(II) foram adicionados..... 41

Figura 4.11: (A) Imagem do teste colorimétrico para Ni(II), volume de amostragem de 7,5 a 20 μL . Parâmetros: 3 μL de solução AX (5 mmol L^{-1}) e CPC (4 mmol L^{-1}) em uma proporção de 1:3 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foram aplicados diferentes volumes de uma amostra de 10 ppm de Ni(II). (B) Intensidade de ciano obtida da imagem para diferentes volumes de amostragem..... 42

Figura 4.12: Imagem do teste colorimétrico para Ni(II), volume de reagente de 2,5 a 5 μL . Após a secagem completa do reagente foi aplicado 15 μL do padrão analítico de 10 ppm de Ni(II). Parâmetros: Diferentes volumes da solução AX (5 mmol L^{-1}) e CPC (4 mmol L^{-1}) em uma proporção de 1:3 (v/v), respectivamente, foram adicionados nas zonas de detecção. Após a secagem completa do reagente, foi adicionado 15 μL de um padrão analítico de 10 ppm de Ni(II)..... 43

Figura 4.13: Imagem do teste colorimétrico para Ni^{2+} , faixa de pH 1,25 a 12. Parâmetros: 3 μL de solução AX (5 mmol L^{-1}) e CPC (4 mmol L^{-1}) em uma proporção de 1:3 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foram aplicados 15 μL de padrão analítico 10 ppm de Ni(II) em tampões com diferentes valores de pH..... 44

Figura 4.14: Curva analítica de 0 a 250 ppm de Ni(II), tampão fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, faixa de pH 6,2 a 8,2. Parâmetros: 3 μL de solução AX (5 mmol L^{-1}) e CPC (4 mmol L^{-1}) em uma proporção de 1:3 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foram aplicados 15 μL de padrões analíticos de 0 a 250 ppm de Ni(II). (A) curva de 0 a 250 ppm de Ni(II). (B) curva de 0 a 25 ppm de Ni(II)..... 45

Figura 4.15: Curva analítica de 0 a 100 ppm de Ni(II), tampão fosfato pH 8,2. Concentração testada: $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e 1 mol L^{-1} . Parâmetros: 3 μL de solução AX (5 mmol L^{-1}) e CPC (4 mmol L^{-1}) em uma proporção de 1:3 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foram aplicados 15 μL de padrões analíticos de 0 a 100 ppm de Ni(II)..... 46

Figura 4.16: Imagem do teste colorimétrico para 10 ppm Ni(II), tampão fosfato $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$ pH 8,2, variando a força iônica de 0 a 4 mol L^{-1} com KCl. Parâmetros: 3 μL de solução AX (5 mmol L^{-1}) e CPC (4 mmol L^{-1}) em uma proporção de 1:3 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foram aplicados 15 μL de padrão analítico de 10 ppm de Ni(II)..... 47

Figura 4.17: (A) Imagem do teste para Ni(II), tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹ pH 8,2, variando o diâmetro do Spot de 3 a 7 mm. Parâmetros: 3 µL de solução AX (5 mmol L⁻¹) e CPC (4 mmol L⁻¹) em uma proporção de 1:3 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foram aplicados 15 µL de padrão analítico de 10 ppm de Ni(II) em tampão fosfato pH 8,2. (B) Teste para Ni(II), tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹ pH 8,2, variando o diâmetro do Spot de 3 a 7 mm. Intensidade de Ciano..... 48

Figura 4.18: (A) Imagem do teste colorimétrico para Ni(II) na faixa de concentração de 0 a 100 ppm. Parâmetros: 3 µL de solução AX (5 mmol L⁻¹) e CPC (4 mmol L⁻¹) em uma proporção de 1:3 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foi aplicado 15 µL dos padrões analíticos de Ni(II) em tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹ pH 8,2, zonas de detecção de 5 mm de diâmetro. (B) Curvas analíticas de 0 a 100 ppm de Ni(II) para a intensidade de ciano obtida de imagens obtidas em diferentes tempos de reação..... 49

Figura 4.19: Curvas analíticas de 0 a 25 ppm de Ni(II) para a intensidade de ciano obtida de imagens de 30 minutos de reação. Parâmetros: 3 µL de solução AX (5 mmol L⁻¹) e CPC (4 mmol L⁻¹) em uma proporção de 1:3 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foi aplicado 15 µL dos padrões analíticos de Ni(II) em tampão fosfato 0,01 mol.L⁻¹ pH 8,2. (A) Sem tratamento dos dados do eixo X, linearidade de 0,5 a 5 ppm de Ni(II). (B) Com tratamento do dos dados do eixo X, linearidade de 0,5 a 10 ppm de Ni(II)..... 50

Figura 4.20: Teste de interferência de Zn(II) em solução de 10 ppm de Ni(II), variação de 0 a 250 ppm de Zn(II). Parâmetros: 3 µL de solução AX (5 mmol L⁻¹) e CPC (4 mmol L⁻¹) em uma proporção de 1:3 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foi aplicado 15 µL dos padrões analíticos de Ni(II) em tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹ pH 8,2, contendo diferentes concentrações de Zn(II)..... 51

Figura 4.21: Teste de interferência de Co(II) em solução de 10 ppm de Ni(II), variação de 0 a 250 ppm de Co(II). Parâmetros: 3 µL de solução AX (5 mmol L⁻¹) e CPC (4 mmol L⁻¹) em uma proporção de 1:3 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do

reagente, foi aplicado 15 μL dos padrões analíticos de Ni(II) em tampão fosfato 0,01 mol L^{-1} pH 8,2, contendo diferentes concentrações de Co(II)..... 51

Figura 4.22: Imagem do teste colorimétrico para Ni(II) das amostras reais 2, 6 e 10. Primeira coluna amostra 2, segunda coluna amostra 10 e terceira coluna amostra 6. Parâmetros: 3 μL de solução AX (5 mmol L^{-1}) e CPC (4 mmol L^{-1}) em uma proporção de 1:3 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foi aplicado 15 μL das amostras e a imagem registrada com 30 minutos de reação..... 54

Figura 4.23: Curva analítica de absorção atômica para Ni(II) de 0,1 a 10 ppm de Ni^{2+} em tampão de pH, 8,2. Equipamento Varian SpectrAA 55B, chama de acetileno, lâmpada de Níquel ($\lambda = 232,0 \text{ nm}$).....55

LISTA DE TABELA

Tabela 4.1: Tabela de informações fornecidas pela empresa das amostras reais.....	53
Tabela 4.2: Tabela de informações das análises das amostras reais.....	54
Tabela 4.3: Tabela de informações das análises das amostras reais no ensaio de absorção atômica.....	55

SUMÁRIO

1. Introdução.....	16
1.1. Zinco (Zn).....	17
1.2. Nitrato (NO ₃ ⁻) e Nitrito (NO ₂ ⁻)	18
1.3. Níquel (Ni)	18
1.4. Legislação	19
1.5. Dispositivo em papel.....	19
2. OBJETIVOS.....	22
3. MATERIAIS E MÉTODOS	22
3.1. Fabricação do dispositivo em papel.....	22
3.2. Aquisição das imagens.....	24
3.3. Método analítico visando à detecção de Nitrito.....	25
3.4. Método analítico visando à detecção de Zinco.....	27
3.5. Método analítico visando à detecção de Níquel.....	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
4.1. Análise de Nitrito.....	28
4.1.1. Direção das fibras.....	29
4.1.2. Dispositivo com duas zonas.....	30
4.1.3. Dispositivo com uma zona.....	31
4.2. Análise de Zinco.....	32
4.3. Análise de diferentes metais.....	34
4.4. Análise de Cobalto.....	35
4.5. Análise de Níquel.....	36
4.5.1. Composição dos reagentes.....	37
4.5.2. Volume de amostra na zona de detecção.....	40

4.5.3. Volume de reagente.....	41
4.5.4. pH.....	42
4.5.5. Concentração tampão fosfato	44
4.5.6. Força iônica.....	45
4.5.7. Dimensões da zona de detecção.....	46
4.5.8. Tempo de reação.....	47
4.5.9. Análise de interferentes.....	49
4.6. Análise em amostras reais.....	51
5. CONCLUSÕES.....	53
6. PERSPECTIVAS.....	54
7. REFERÊNCIAS.....	55
8. SÍNTESE CURRICULAR.....	59
ANEXO 1.....	61
ANEXO 2.....	62

1- INTRODUÇÃO

A disponibilidade hídrica no Brasil é de 257.790 m³/s (8130 km³/ano), 19% dos recursos hídricos disponíveis no mundo (42.600 km³/ano). A ideia de abundância serviu durante muito tempo como suporte à cultura do desperdício da água disponível, a falta dos investimentos necessários para seu uso, preservação mais eficiente e à sua pequena valorização econômica. Os problemas de escassez hídrica no Brasil decorrem, fundamentalmente, da combinação do crescimento exagerado das demandas localizadas e da degradação da qualidade das águas. Esse quadro é consequência do aumento desordenado dos processos de urbanização, industrialização e expansão agrícola, verificado a partir da década de 1950. [1]

A conservação dos recursos hídricos no ambiente hídrico depende: (a) do controle dos efluentes de esgoto doméstico, industrial, pluvial e poluição difusa agrícola sobre os rios, reservatórios e os aquíferos; (b) das práticas agropecuárias e do uso do solo; (c) desenvolvimento de áreas urbanas em áreas costeiras; (d) construção de obras hidráulicas como reservatórios, diques, entre outros. [2] [3]

A CETESB (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental) faz o monitoramento de parâmetros físicos, químicos e biológicos no estado de São Paulo. Dentre os parâmetros químicos estão inclusos: alcalinidade total, pH, oxigênio dissolvido, dureza, quantidades de diversos metais pesados, alguns ânions e alguns parâmetros a mais. Entretanto, a frequência de monitoramentos ainda está muito distante do ideal, sendo o principal entrave o custo de tais procedimentos, assim como o tempo gasto por análise e a geração de resíduos. Este último tema está diretamente ligado ao volume de amostras e reagentes necessários por análise, sendo objeto de estudo de vários pesquisadores. [4]

A poluição de águas é um dos maiores problemas ambientais pelo mundo. O crescimento da atividade humana e o rápido desenvolvimento das indústrias estão introduzindo uma quantidade enorme de poluentes no meio ambiente, o que

invariavelmente irá contaminar as redes hídricas que possuímos e colocar em risco a saúde do meio ambiente. [5]

Com o rápido desenvolvimento das indústrias, a quantidade de metais tóxicos e não-tóxicos liberados no meio ambiente através de águas de efluentes aumentaram muito nas últimas décadas, especialmente em países desenvolvidos. Os metais existentes em águas de efluentes estão em sua forma catiônica, e estes íons são acumulados por peixes e mariscos mesmo em baixas concentrações. Com isso, e por não serem degradados naturalmente, eles se tornam extremamente perigosos para a saúde humana, causando complicações no cérebro, sistema nervoso, rins, pulmões, ossos, etc... [5], além de acarretarem prejuízos para plantas e outros seres vivos. [6]

1.1 - Zinco (Zn)

Zn é um micronutriente que pode desenvolver várias funções nos organismos, por exemplo, como cofator para diversas enzimas, ou atuando na estabilização de domínios de proteínas que por sua vez interagem com moléculas de DNA. [7]

Em plantas, o metal, é essencial para o crescimento e regulação de seu metabolismo, assim como no processo de fotossíntese e produção de diversas proteínas. Contudo em solos de áreas de mineração com altas concentrações de Zn, ele se torna tóxico causando complicações no crescimento e desenvolvimento das plantas, atingindo as plantas em sua fase de germinação, suas raízes, fase de reprodução, metabolismo celular, o que em casos extremos pode levar à morte do organismo. [6]

Por muitos anos as pesquisas sobre o Zn eram focadas em suas ações no corpo humano, assim como a falta deste elemento na dieta que leva a problemas de anemia. Entretanto relativamente pouca atenção foi dada quando altas concentrações de Zn são consumidas, salvo casos de inalação do fumo deste metal que pode causar quadros de febre aguda. [8]

Muitas pessoas não percebem o mal que estão fazendo a si próprias quando utilizam suplementos alimentares, que mesmo em dosagens pequenas pode acabar por provocarem efeitos adversos em seus corpos. A quantidade indicada para consumo é de 15 – 100 mg de Zn por dia, o que é frequentemente utilizado em suplementos alimentares. Dosagens acima de 300 mg de Zn o corpo humano fica letárgico, aparecem dores de cabeça e dificuldades de coordenação motora. Entre 100 e 300 mg de Zn, normalmente administrados em casos de anemia em tratamentos médicos, os pacientes podem desenvolver grande deficiência de Cu causando queda de células brancas no sangue e enfraquecimento do sistema imunológico. Em dosagem moderada 15 – 100 mg de Zn, a deficiência de Cu pode também ser desenvolvida, assim como o aumento de HDL no sangue. O mecanismo pelo qual o Zn mimetiza o Cobre ainda não está bem definido. [8]

1.2- Nitrato (NO_3^-) e Nitrito (NO_2^-)

NO_3^- e NO_2^- ocorrem, naturalmente, em solos e água, como produtos da mineralização de material orgânico (plantas e animais). Entretanto, grandes concentrações destes íons podem ocorrer, quando há lançamento de material orgânico ou, então, aplicação excessiva de fertilizantes nitrogenados no solo.. A lixiviação de nitratos e nitritos no solo pode alcançar grandes magnitudes, se estes ânions estiverem presentes no solo em quantidades acima da capacidade de absorção pela cultura quando a irrigação ou chuva exceder a capacidade de armazenagem de água no solo. Neste caso, em razão de suas altas solubilidades em água, eles devem acompanhar a água de recarga dos aquíferos subterrâneos, trazendo sérios riscos ambientais e sanitários. [10]

1.3- Níquel (Ni)

O Ni é um elemento estável e persistente no ambiente, visto que não pode ser biologicamente ou quimicamente degradado ou destruído.

Pessoas expõem-se, através da respiração, a 0,1 a 1 μg de níquel por dia, exceto as que fumam tabaco, estas estão expostas a uma maior quantidade dependendo da quantidade consumida. O ser humano também se expõe ao níquel ao

tocar em objetos contendo este metal, como por exemplo: moedas, joias e aço inoxidável. O níquel é um agente sensibilizante comum e ocasiona alta prevalência de dermatite alérgica de contato. Cerca de 170 µg de níquel são ingeridos diariamente pelos seres humanos por meio da alimentação. Alimentos ricos em níquel incluem amendoim, nozes, soja, lentilhas, legumes, peixes, mariscos, ervilhas, cacau, aveia e chocolate ao leite. Já através do consumo de água, os seres humanos ingerem cerca de 2 µg de níquel por dia. A ingestão de níquel por meio de alimentos e água potável é uma importante fonte de exposição, uma vez que também tem sido demonstrado que indivíduos em jejum absorvem mais níquel a partir do trato gastrointestinal. [11]

Ao entrar em contato com a pele o níquel pode ser solubilizado e formar íons de níquel, que serão absorvidos pela pele devido ao processo da difusão através da derme, causando a dermatite. Em indivíduos mais sensíveis este contato produz dermatite com inflamação, que pode resultar em vermelhidão, erupções cutâneas, e, nos casos extremos, úlceras. Observou-se que o Ni(II) é capaz de alterar a expressão do gene e do metabolismo celular. Conseqüentemente, causando a sua toxicidade reprodutiva e sua carcinogenicidade. [11]

1.4 - Legislação

No Brasil a legislação vigente para águas de efluentes e potabilidade de águas é proveniente do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), em sua resolução Nº 357, de 17 de Março de 2005 dispõe sobre a classificação de corpos de água e diretrizes ambientais para seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. Valores específicos para águas de efluente estão dispostos no Anexo 1.[12]

1.5 – Dispositivos em papel

O papel tem sido selecionado como substrato prontamente disponível para aplicação de reagentes químicos visando à alteração de alguma propriedade química que possa resultar na fabricação de sensores químicos, como exemplo a alteração de

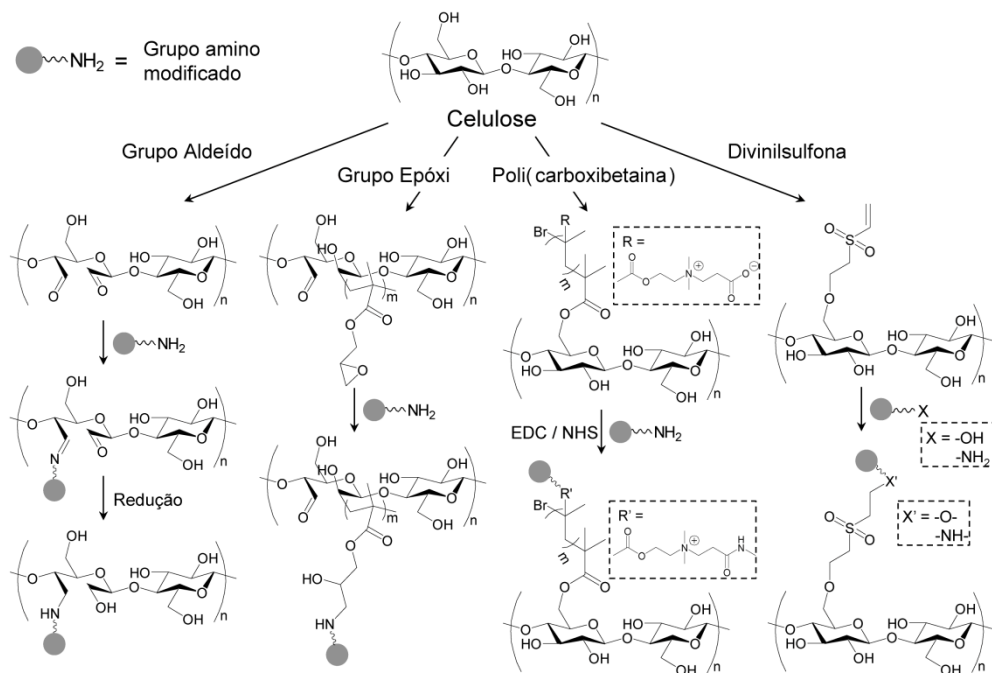
cor. A natureza microporosa de papel resulta em uma característica bastante interessante para esse tipo de detecção, que é a alta razão superfície e volume, sendo esse um dos principais motivos para esses dispositivos utilizarem técnicas colorimétricas com detecção visual ou comparação com um padrão de cores.

Hoje em dia, um número incontável de Químicos Analíticos, Orgânicos, Inorgânicos, Engenheiros, pesquisadores da área de Materiais e muitos outros estão trabalhando para o desenvolvimento de novos sensores químicos e materiais para com propriedades diferentes para serem aplicadas aos dispositivos. No trabalho de Oliver publicado em 1883, [13] simplicidade e portabilidade são características muito positivas e parecem ser características muito interessantes como força motriz para o desenvolvimento desses sensores químicos em muitos dos artigos publicados até hoje. Além disso, outra principal motivação para a utilização do papel se deve ao baixo custo do material, disponibilidade em qualquer lugar do mundo e ser um material descartável [14]. Uma crescente demanda social por desenvolver dispositivos de baixo custo, confiáveis, descartáveis e de simples utilização em locais com poucos recursos e voltados para análises *point-of-care*. Nesses locais, os recursos financeiros e equipamentos técnicos são escassos e especialistas treinados não estão disponíveis, tornando-se essencial ter uma tecnologia simples e independente da infraestrutura disponível. Campo esse que torna também os dispositivos de transmissão de informação como celulares e *smartphones* muito interessantes para o acoplamento com esses sensores.

As propriedades físico-químicas de papel trazem também uma série de "efeitos colaterais positivos" que não estão relacionados com o fator custo. Uma característica própria de dispositivos em papel deve-se as propriedades microfluídicas dos dispositivos, capacidade do papel em transportar líquidos aquosos espontaneamente por capilaridade [15]. Esta funcionalidade não é tão facilmente alcançada por mais materiais considerados "*high-tech*". Além disso, a grande razão superfície e volume, sua porosidade, permite a imobilização de vários reagentes não só por retenção física simples ou de adsorção, mas também com a possibilidade de ligação covalente. Apesar de não ser muito reativo, existem várias estratégias para ativar os grupos hidroxilo de celulose, como mostrado na Figura 1.1 visando à modificação da superfície, sendo esse

ramo de pesquisa bastante interessante para melhorar as características analíticas dos métodos desenvolvidos.

Figura 1.1: Estrutura química da celulose e passos de ativação dos grupos hidroxila pela ligação covalente de grupos amino. Adaptado com permissão de [16]. Copyright© 2016 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.



Por último, mas não menos importante, muitos tipos de modificações do substrato de papel são necessários para se obter sensores químicos e essas modificações são majoritariamente realizadas por métodos de impressão, o que não é surpreendente, já que esse material é fabricado com essa finalidade. Praticamente qualquer tipo de método de estampagem e de impressão tem sido relatado, em particular para a formação de estruturas de microfluidos no papel. Tecnologias usadas frequentemente incluem serigrafia [17] [18], a impressão a partir de jato de tinta [19] - [24], a impressão de cera [25] - [27] e impressão flexográfica [28] [29], entre outros. Impressão utilizando jato de tinta é um dos poucos métodos que permite não só a fabricação do padrão microfluidico, mas também a deposição de todos os reagentes utilizados para a detecção. Em alguns casos, dispositivos completos foram obtidos por meio da impressão utilizando jato de tinta [30] [31], sendo essa uma característica

interessante para a produção em larga escala. Finalmente, destaca-se aqui, mais uma vez, que apesar de muitas características interessantes e vantajosas que acompanham o uso de papel em sensores químicos, custo e desempenho são os fatores dominantes para a escolha de papel como substrato alternativo.

2- OBJETIVOS

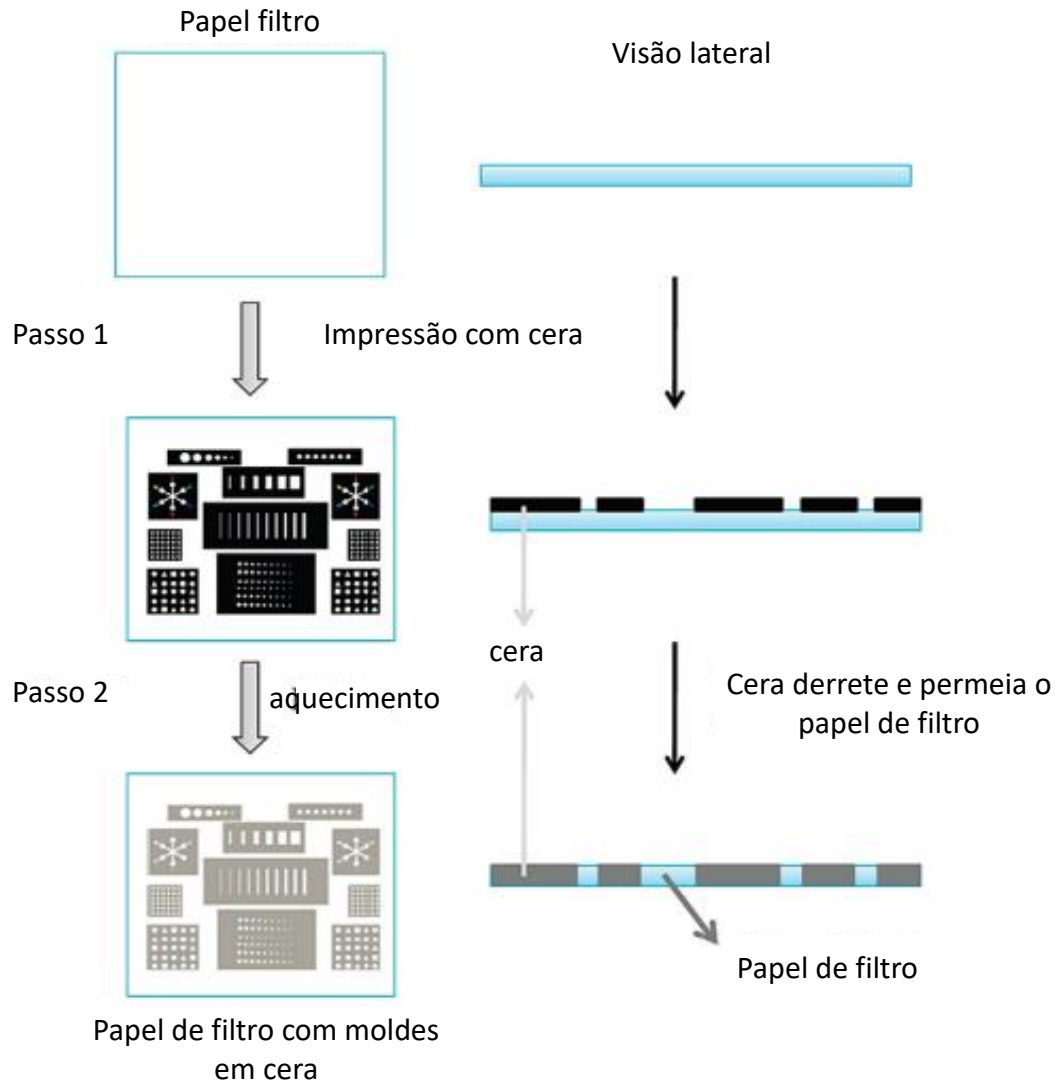
O objetivo deste trabalho é desenvolver um dispositivo analítico fabricado em plataforma de papel para detecção colorimétrica de poluentes ambientais.

3- MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 – Da fabricação do dispositivo em papel

Utilizou-se o *software Corel DRAW®* para desenhar os *layouts* dos dispositivos fabricados para os diferentes métodos analíticos estudados. Esses desenhos foram impressos utilizando uma impressora de cera Color Qube 8570 em papel de filtro Whatman, produzindo as zonas hidrofílicas desejadas. O papel com cera impressa foi levado a uma chapa térmica HLM 230, a uma temperatura de 120°C por aproximadamente 1 minuto, para que a cera derreta e permeie a estrutura do papel, hidrofobizando às regiões delimitadas pela impressão.

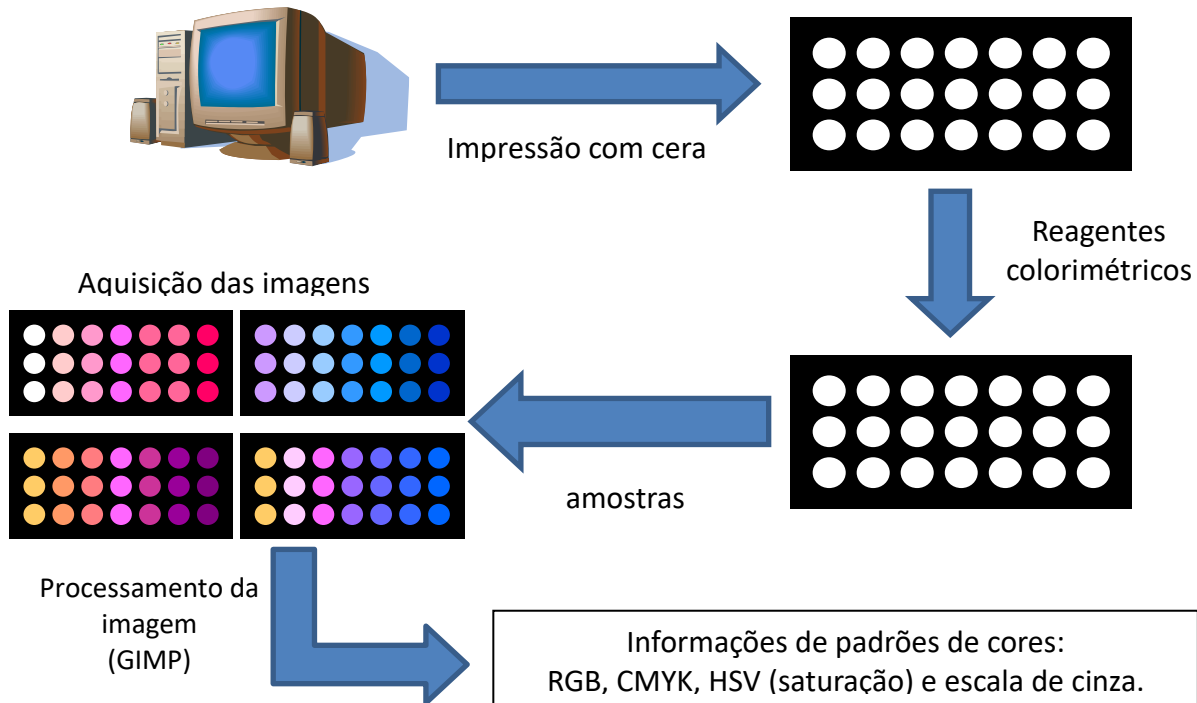
Figura 3.1: Esquema da confecção dos dispositivos em papel com cera. Y. Xia e colaboradores. *Biosensors and Bioelectronics* 77 (2016) 774–789. [32] Número da licença 4774990888475, reproduzido e traduzido com permissão.



Após a confecção do dispositivo, reagentes foram adicionados na zona de detecção, e somente após a secagem completa, os analitos foram acrescentados. Para cada analito foram adotadas diferentes metodologias analíticas e reagentes que serão discutidos em tópicos específicos, porém todas têm como base reações com alteração do padrão de cores, detecção colorimétrica. As detecções foram realizadas a partir dos padrões de cor extraídos de uma foto e/ou imagem digitalizada em um scanner (HP deskjet 2546), e as imagens foram processadas no *software* GIMP® para extração de

parâmetros de cor, por exemplo, RGB (sigla do inglês para vermelho, verde e azul) e CMYK (sigla do inglês para ciano, magenta, amarelo e preto). De acordo com a intensidade dos parâmetros extraídos foi avaliada a correlação entre a esse e a concentração do analito de interesse.

Figura 3.2: Esquema de etapas de análise utilizando os dispositivos analíticos em papel.



3.2 – Da aquisição de imagens

Inicialmente utilizou-se um aparelho de celular modelo *iPhone 4S* para a aquisição dos dados acoplado à uma câmara com controle de iluminação específica para este modelo. Posteriormente o aparelho de celular foi substituído por outro modelo, *ASUS Zenphone 3 (ZE552KL)*, por conta da definição das imagens coletadas por este último. Uma nova câmara de controle de iluminação, angulação e posição foi utilizada, dado a incompatibilidade da câmara anterior com o novo modelo de celular.

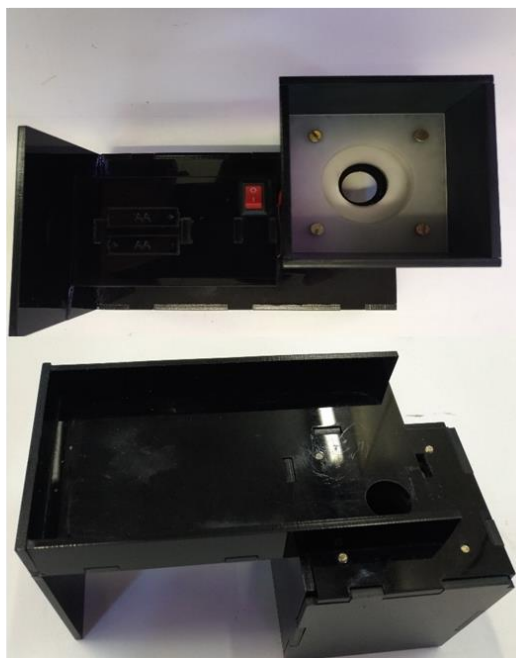
A câmara de controle de iluminação é um dispositivo de material polimérico, representado nas imagens da Figura 3.3 B, em seu interior possui 4 luzes de LED, duas placas foscas para desfocalizar os feixes de luz, assim obter uma iluminação mais homogênea e uma abertura na parte superior para a câmera [33].

Figura 3.3: (A) Impressora multifuncional HP Deskjet 5456; (B) Câmara de controle de iluminação, angulação e posição.

A Scanner HP Deskjet 2546



B Câmara com controle de iluminação



3.3 – Método analítico visando à detecção de Nitrito

Inicialmente foram conduzidos estudos à familiarização com os dispositivos analíticos em plataforma de papel. Com isso, o método de Griess foi eleito devido à sua robustez e aplicação de longo prazo, desde 1879 [34]. Além disso, é uma das reações colorimétricas mais utilizadas para detecção de nitrito em amostras ambientais. A solução de Griess foi preparada dissolvendo sulfanilamida (SA), ácido cítrico, dicloreto de N - (1-Naftil) - etilendiamina (NED) em metanol 80% (v/v), conforme reportado por

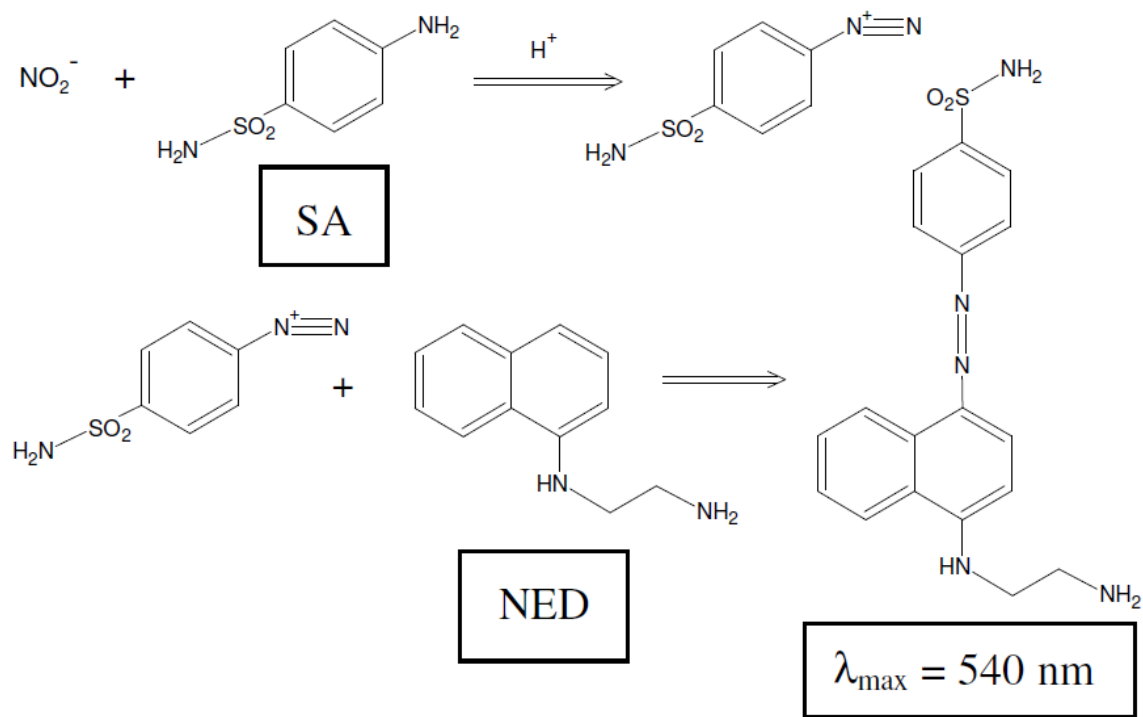
Sun e colaboradores [35] e Jayawardane e colaboradores [36]. A solução foi acondicionada fora do alcance da luz, por ser fotossensível.

Em zona de detecção de 4 mm delimitada pela cera impressa no papel e um volume de 0,5 μL , e após a completa secagem do reagente, 5 μL da padrões analíticos foram adicionados.

Após a secagem completa da amostra, foi feita a aquisição da imagem utilizando um scanner, e extração do padrão de cor Magenta na escala de cor CMYK (sigla do inglês para ciano, magenta, amarelo e preto). De posse dos resultados adquiridos da imagem foi utilizado o *software Origin®* para a análise dos dados.

A figura 5 representa o mecanismo da reação proposto por Sun [35] e colaboradores e Jayawardane [36] e colaboradores. A molécula de nitrito reage com a sulfanilamida formando um diazocomposto, que por sua vez reage com o NED dando origem a um composto de coloração rósea.

Figura 3.4: Mecanismo de reação de griess.



Soluções padrão de nitrito foram preparadas, diariamente, a partir de NaNO_2 (Merck) dissolvido em água desionizada.

3.4 – Método Analítico visando à detecção de Zinco

Com base no trabalho desenvolvido por Benamor e colaboradores [37], foi desenvolvido um método analítico para análise de Zinco, utilizando o Alaranjado de Xilenol (AX), Figura 3.5, e Cloreto de Cetilpiridíneo (CPC), Figura 3.6, ambos da Merck. Soluções de 5 mmol L^{-1} de AX e 5 mmol L^{-1} de CPC foram preparadas dissolvendo os sais em água desionizada, e posteriormente misturadas numa proporção de 2:1 (v/v). Então, a mistura foi adicionada nas zonas delimitadas no dispositivo analítico em papel. Para a solução padrão foi utilizado ZnSO_4 (Merck) preparada em água desionizada.

Em zona de detecção de 4 mm de diâmetro delimitado pela cera impressa no papel, um volume de $3 \mu\text{L}$ do reagente, e após sua secagem completa, $5 \mu\text{L}$ de padrões analíticos foram adicionados. A aquisição da imagem e processamento dos dados foi realizada utilizando a mesma abordagem para o nitrito, escaneamento da imagem e processamento dela no software GIMP®.

Figura 3.5: Estrutura do Alaranjado de Xilenol.

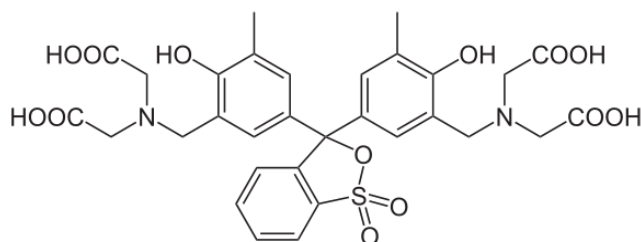
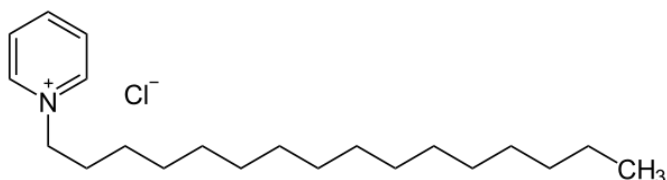


Figura 3.6: Estrutura do Cloreto de Cetilpiridíneo.



Como reportado por Benamor e colaboradores [37], esta reação trata-se de uma reação de complexação, formando um complexo ternário entre o AX, o CPC e o metal. Porém não há muitos estudos sobre o processo de complexação que ocorre efetivamente.

3.5 – Método Analítico visando à detecção de Níquel

Uma variação dos reagentes utilizados para análise de Zinco foi empregada para desenvolver um método analítico de análise em papel para Níquel, onde as soluções 5 mmol L⁻¹ de AX e 4 mmol L⁻¹ de CPC foram preparadas dissolvendo os sais em água deionizada, e posteriormente misturadas numa proporção de 1:3 (v/v) respectivamente. Esta mistura foi depositada na região de detecção. Para a solução padrão foi utilizado NiSO₄ (Merck), em água desionizada e posteriormente em tampão fosfato pH 8,2.

Em zona de detecção de 5 mm de diâmetro delimitado pela cera impressa no papel, um volume de 3 µL foi adicionado, e após a completa secagem do reagente, 15 µL de padrões analíticos foram adicionados. A aquisição das imagens foi feita por câmera do aparelho de celular ASUS Zenphone 3 acoplado em câmara de controle de iluminação, posição e ângulo, com a amostra ainda em solução após 30 minutos de reação, e tratada no *software GIMP®* pelo padrão de cor Ciano, da escala de cor CMYK (sigla do inglês para ciano, magenta, amarelo e preto).

4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

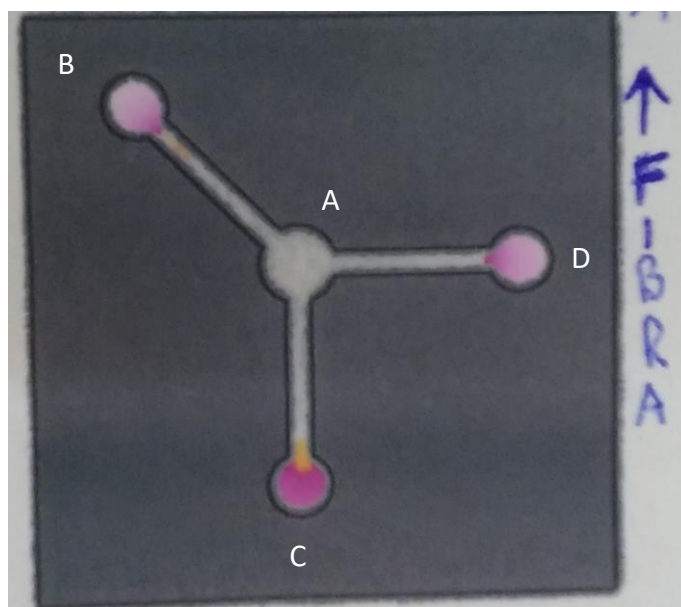
4.1– Análise de Nitrito

Inicialmente foram conduzidos experimentos visando à detecção de nitrito, a partir da reação de Griess, Figura 3.4, com o intuito de se familiarizar com a técnica de detecção colorimétrica em dispositivos de papel. Nessa etapa alguns parâmetros dos experimentos com dispositivo em papel foram avaliados e serão discutidos abaixo.

4.1.1 – Direção Fibras

Em experimentos com um dispositivo contendo três zonas de detecção, e uma para a amostragem (Figura 4.1), foram adicionados 3 μL do reagente de Griess, em cada zona de detecção e 15 μL de uma solução de 100 ppm de NO_2^- . Um primeiro parâmetro que poderia influenciar nas propriedades microfluídicas do dispositivo pode ser o alinhamento das fibras do papel na posição ou perpendicular ao alinhamento do canal projeto no dispositivo, dessa forma estudos iniciais foram realizados visando avaliar esse parâmetro. Com a ajuda de um microscópio ótico, foi possível determinar a direção das fibras. Na Figura 4.1 há a indicação da direção das fibras, na vertical, pode-se observar que a reação na zona de detecção C, que está na direção das fibras do papel ocorre antes das demais zonas, B e D. Como a zona de detecção B está em posição angular, 45° , com a direção das fibras, a reação começou ligeiramente antes da reação ser iniciada na zona de detecção D, a qual está perpendicular à direção das fibras.

Figura 4.1: Imagem do experimento visando à detecção de nitrito e influência da direção das fibras do papel. Nas três zonas de detecção (B, C, e D) 0,5 μL do reagente de Griess foi imobilizado em cada uma e após a secagem completa do reagente, 10 μL de amostra do padrão analítico de 1 mmol L^{-1} de NO_2^- foi adicionada à zona A.

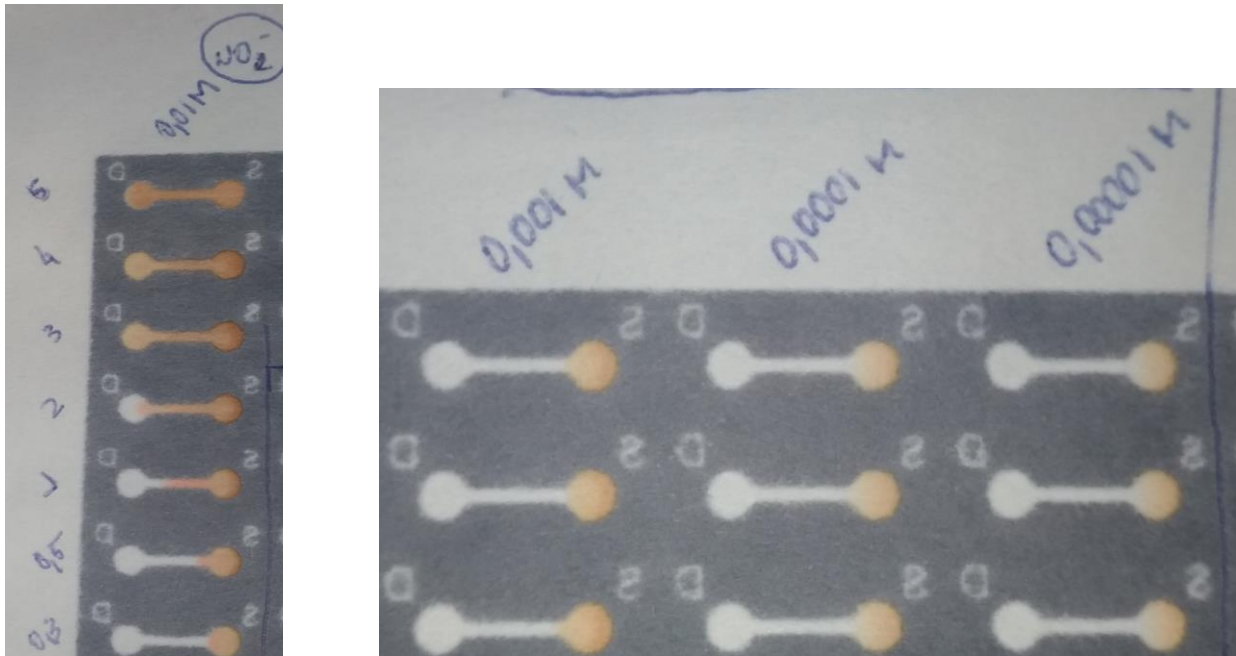


4.1.2 – Dispositivo com duas zonas

Após alguns experimentos com apenas duas zonas, detecção e amostragem, ilustrado na Figura 4.2, foi observado um fenômeno descrito como “efeito de lavagem”, onde o solvente acaba por empurrar para as bordas da zona de detecção tanto os reagentes quanto o analito em si, não havendo a homogeneidade da cor na zona de detecção, causando certa dificuldade para aquisição de dados colorimétricos. Ocorre, também, que por haver uma distância entre a zona de amostragem e a zona de detecção, parte do analito fica retido durante o percurso, diminuindo a quantidade de analito que chega de fato a zona de detecção e, por conseguinte, aumentando o limite de detecção do método analítico desenvolvido. Estudos com as técnicas de MALDI-TOF (matrix-assisted laser desorption ionization acoplado com espectrômetro de massa de tempo de voo) e DESI MS (desorption electrospray ionization acoplado com espectrômetro de massas) realizados por de Freitas e equipe, obtiveram imagens de experimentos colorimétricos, e chegaram à conclusão de que a uniformidade e a concentração dos analitos são prejudicadas pelo “efeito de lavagem”. [38]

Sendo o NO_2^- um dos analitos de interesse da dissertação, otimizaram os parâmetros analíticos visando utilizar esse teste para o respectivo analito. Contudo, os testes com NO_2^- apresentaram um limite de detecção acima do permitido pela legislação CONAMA 357/2005 [12]. Dessa forma, a fim de obter o menor limite de detecção possível ao se utilizar a reação de Griess, foi confeccionado dispositivo em papel com apenas uma zona de detecção, evitando assim, a perda do analito e uma maior sensibilidade ao método proposto.

Figura 4.2: Imagem dos dispositivos contendo duas zonas visando à detecção de NO_2^- . Na figura da esquerda Teste de volume de amostragem de 0,3 a 5 μL do reagente de Griess foi imobilizado nas zonas de detecção, zonas da direita, e após a secagem completa do reagente 5 μL de padrão analítico de 0,01 mol L^{-1} de NO_2^- . Na figura da direita fixou-se em 0,5 μL do reagente de Griess e variou-se a concentração do padrão analítico de 1 mmol L^{-1} a 0,01 mmol L^{-1} .



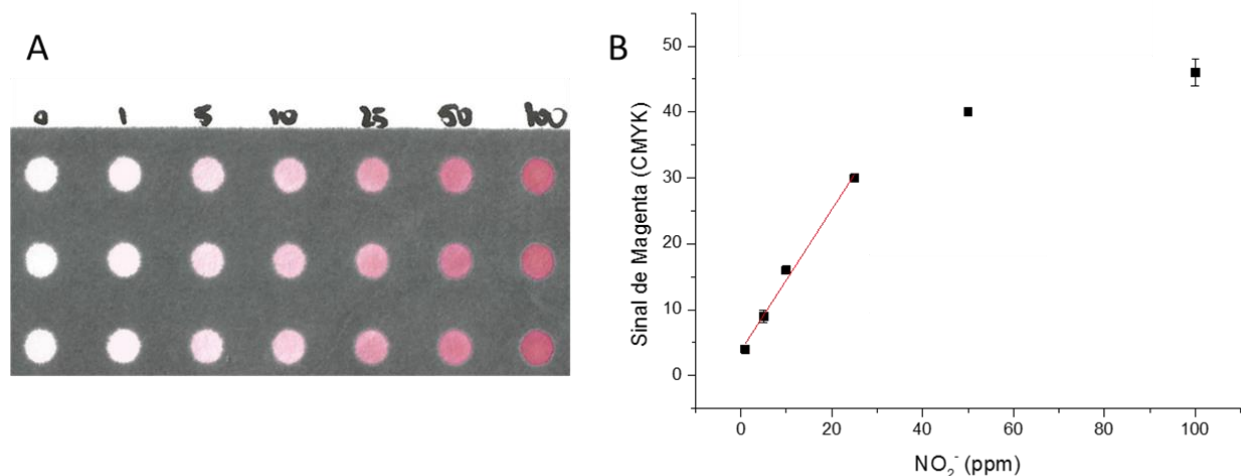
Da figura 4.2, pode-se observar uma coloração amarelada ao invés de uma coloração rósea, isso se deve pelo fato do com posta rósea ser fotossensível e após um tempo ele passa a apresentar um coloração amarelada, portanto a aquisição da imagem para análise não pode ser feita em um tempo muito longo após a análise. A variação da concentração de nitrito durante o ensaio foi de 1 mM a 0,01 mM, o que equivale a 46,0 a 0,46 ppm de NO_2^- .

4.1.3 – Dispositivo com uma zona

A forma de aquisição de dados também influencia nos resultados, em virtude da diferença de luminosidade no ambiente, resultando em problemas na extração da informação de cor. Foram feitas diferentes formas de aquisição, tanto com fotografias

quanto com imagens de digitalizações utilizando um scanner. Dentre essas abordagens, as imagens digitalizadas apresentaram os melhores resultados, com o sinal de magenta da escala de cores CMYK apresentou a melhor correlação com a concentração de NO_2^- . Figura 4.3.

Figura 4.3: (A) Imagem do teste colorimétrico para NO_2^- na faixa de concentração de 0 a 100 ppm. Parâmetros: 0,5 μL do reagente de Griess. Após a secagem completa do reagente, foi aplicado 5 μL dos padrões analíticos 0 a 100 ppm de NO_2^- , aquisição da imagem feita por scanner. (B) curva analítica de 1 a 100 ppm de NO_2^- correlacionando com a intensidade de magenta extraídas da imagem digitalizada.



Pode-se observar na Figura 4.3 (B) uma região linear na faixa de 0 e 25 ppm de NO_2^- com um coeficiente $R^2 = 0,98$, sendo os limites teóricos calculados de 1,6 ppm e 5,4 ppm, respectivamente limites de detecção e quantificação. Ao olho nu, pode-se observar coloração a partir de 1 ppm de NO_2^- . Para o cálculo do limite de detecção (LD) utilizou-se a definição reportada na IUPAC [39], equação 1:

$$\text{LD} = \frac{3 \times \text{DP}_{\text{branco}}}{S} \quad \text{Eq. 1}$$

Onde, DP_{branco} é o desvio padrão obtido entre as medidas realizadas na ausência do analito e S a sensibilidade/coeficiente angular da curva obtida. O limite de quantificação (LQ) foi obtido segundo a equação 2:

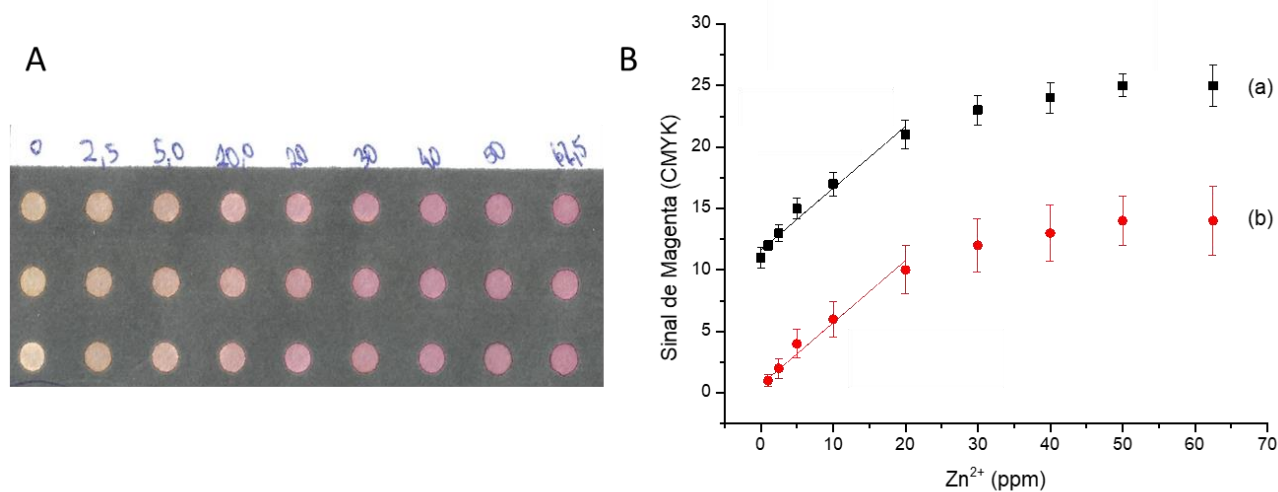
$$LQ = \frac{10 \times DP_{\text{branco}}}{S} \quad \text{Eq. 2}$$

4.2 – Análise de Zinco

Após os experimentos com nitrito, foram pesquisadas diversas reações colorimétricas para diferentes metais descritos no CONAMA 357/2005. Em seguida, essas reações foram testadas e avaliadas se seriam compatíveis com o dispositivo fabricados em papel e se poderiam resultar em um método analítico com sensibilidade adequada.

Deste modo a reação colorimétrica proposta por Benamor e colaboradores [37] foi replicada e obteve-se um resultado satisfatório, porém não o ideal, dado que a forma de detecção proposta pelos pesquisadores era utilizada para detecção espectrofotométrica. A fim de melhorar alterar o procedimento proposto, e adequar a reação ao dispositivo em papel, estudos foram conduzidos variando a quantidade e a concentração dos reagentes utilizados (Alozanjado de Xilenol (AX) e Cloreto de Cetil piridínio (CPC). Dentre as condições experimentais avaliadas observou-se que uma proporção de 2:1 (v/v) de AX e CPC apresentação as melhores condições experimentais, Figura 4.4. A aquisição das imagens foram feitas por meio de scanner HP após a secagem completa das zonas de detecção, que apresentou a melhor correlação dentre as formas de aquisição da imagem, assim como o sinal de magenta da escala CMYK.

Figura 4.4: Imagem do teste colorimétricos visando à detecção de Zn(II) na faixa de concentração de 0 a 62,5 ppm. Parâmetros: 3 μL de solução AX (5 mmol L^{-1}) e CPC (5 mmol L^{-1}) em uma proporção de 2:1 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foi aplicado 5 μL dos padrões analíticos de Zn(II). (A) curva analítica de 2,5 a 62,5 ppm de Zn(II) para a intensidade de magenta obtida da imagem digitalizada. (B) curva analítica descontando o sinal do branco analítico para os valores de magenta obtidos da imagem digitalizada.

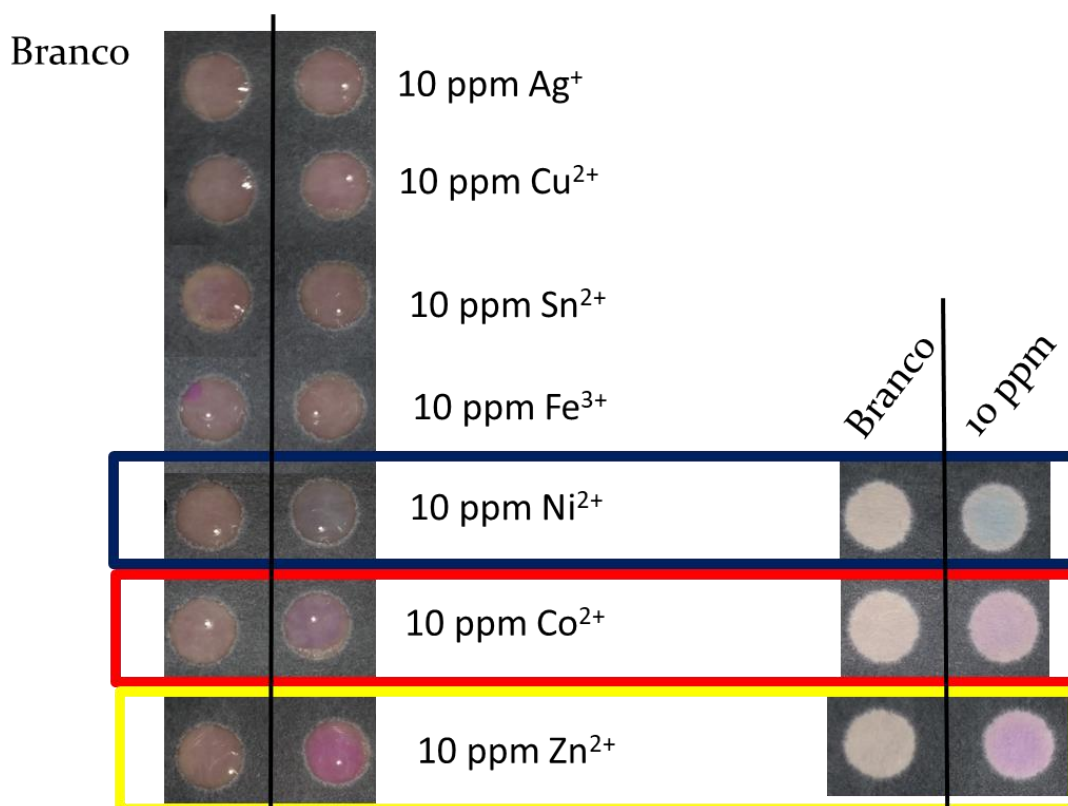


Observa-se na Figura 4.4 uma região linear entre 5 e 20 ppm de Zn (II) com um coeficiente $R^2 = 0,97$, sendo os limites de detecção e quantificação de 5,1 e 17,0 ppm, respectivamente. Utilizando-se a mesma metodologia para os cálculos de LD e LQ explicitada anteriormente, equações 1 e 2. Ao olho nu, pode-se observar a mudança de coloração a partir de 5 ppm de Zn(II).

4.3 – Análise de diferentes metais

A partir dos resultados da análise do Zn(II), foram conduzidos experimentos utilizando o mesmo método proposto anteriormente visando à detecção de outros metais. Dentre os metais avaliados (Ag, Cu, Sn, Fe, Ni e Co), somente os íons metálicos de Co(II) e Ni(II) apresentaram uma alteração de cor para o teste avaliado, Figura 4.5.

Figura 4.5: Imagem do teste colorimétrico para diferentes metais 10 ppm. Parâmetros: 3 μL de solução AX (5 mmol L^{-1}) e CPC (5 mmol L^{-1}) em uma proporção de 2:1 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foi aplicado 5 μL dos padrões analíticos dos metais. À esquerda imagem obtida do teste ainda em solução, à direita o teste com as zonas de detecção já secas.

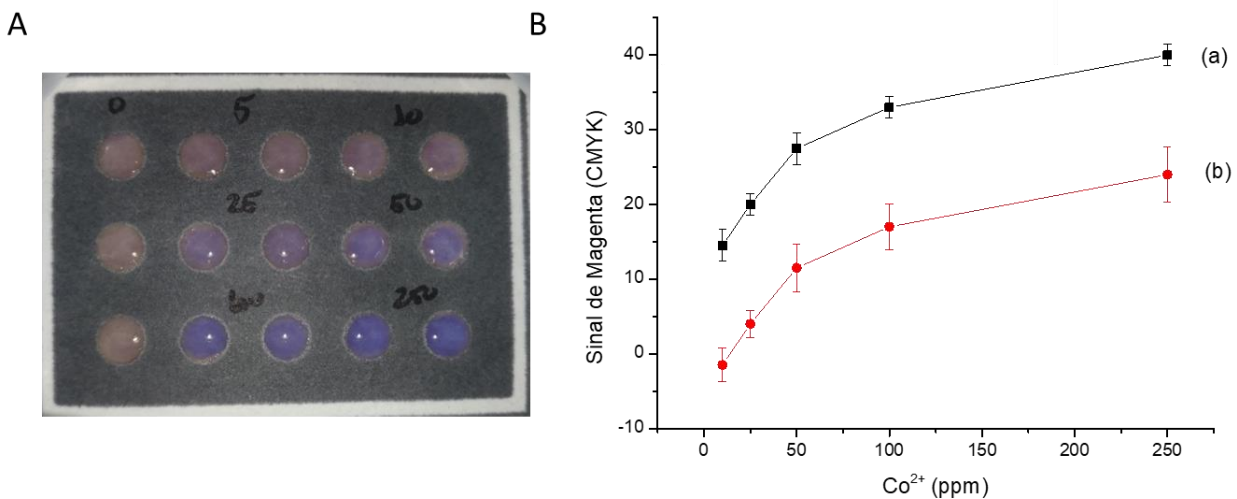


Diante dos resultados ilustrados na Figura 4.5, foram conduzidos experimentos tanto para Co quanto para Ni.

4.4 – Análise de Cobalto

Utilizando a mesma composição do reagente investigada anteriormente (AX e CPC, avaliou-se a possibilidade de desenvolvimento de um método analítico para a detecção de o Co(II), Figura 4.6.

Figura 4.6: (A) Imagem do teste colorimétrico para Co(II) na faixa de concentração de 0 a 250 ppm, experimentos realizados em duplicata. Parâmetros: 3 μL de solução AX (5 mmol L^{-1}) e CPC (5 mmol L^{-1}) em uma proporção de 2:1 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foi aplicado 5 μL dos padrões analíticos de Co(II), o branco foi feito em triplicata, os demais padrões analíticos em duplicata. (B) (a) curva analítica de 10 a 250 ppm de Co(II) para a intensidade de magenta obtida da imagem fotografadas. (b) curva analítica descontando o sinal do branco analítico para os valores de magenta obtidos da imagem.



Diferentemente das aquisições de imagens feitas para as análises anteriores, as imagens provenientes de fotografia por aparelho de celular e em câmara de controle de iluminação [33], posição e ângulo, mostraram resultados melhores. Com relação a escala de cores, o sinal de magenta da escala CMYK apresentou melhor correlação com a concentração de Co. Pode-se observar na Figura 4.6 uma região de linearidade 10 e 50 ppm de Co(II) com um coeficiente $R^2 = 0,99$, sendo que o método apresenta um limite de detecção de 14,3 ppm e limite de quantificação de 47,7 ppm. Ao olho nú pode-se observar uma ligeira mudança de cor a partir de 5 ppm de Co(II).

Pelo experimento ilustrado na Figura 4.6, pode-se concluir que o Co(II) pode interferir diretamente na análise de Zn(II), já que apresenta sinal na escala de Magenta. Apesar de obter uma coloração azulada em altas concentrações o sinal de Ciano só é

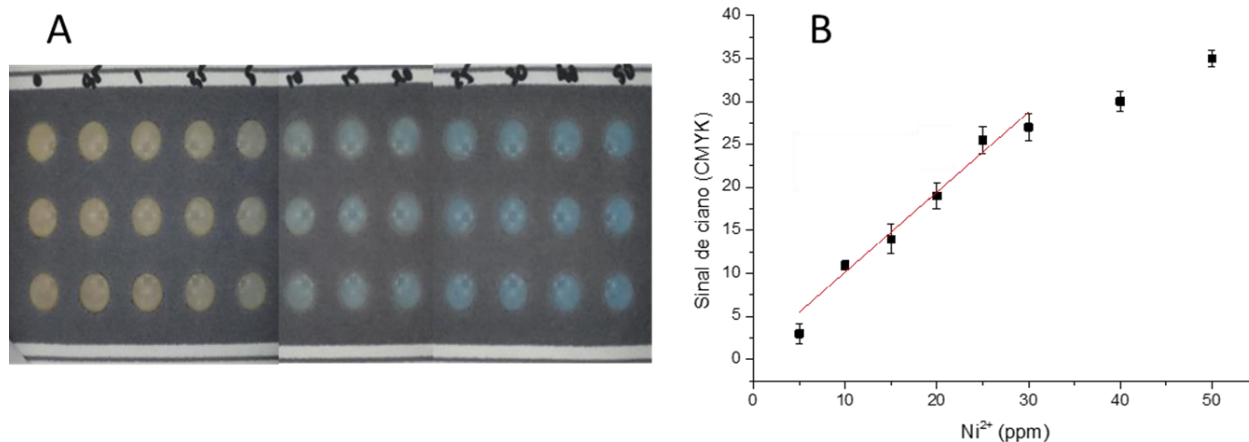
detectado a partir de 5 ppm, o que está cerca de 20 vezes acima da concentração regulamentada pelo CONAMA 357/05 [12].

Em casos onde ambos os metais estão presentes pode-se utilizar separação por solventes reportados por Mahlman e equipe, utilizando tricloroetileno para a separação do Zn(II) na fase orgânica e o Co(II) permanece na fase aquosa. [40]

4.5 – Análise de Níquel

Assim com o Co(II), avaliou-se a possibilidade de detecção de Ni(II) utilizando o método reportado anteriormente. Os resultados foram promissores, mas ainda a sensibilidade do método proposto não era compatível com o proposto pela legislação [12]. Diante disso, com o intuito de estudar se o método analítico proposto poderia ser mais sensível, estudos mais aprofundados foram conduzidos. As imagens foram obtidas através de fotografias com smartfone acoplado na câmara de controle de iluminação, posição e ângulo, que apresentaram os maiores sinais.

Figura 4.7: (A) Imagem do teste colorimétrico para Ni(II) de 0 a 50 ppm. Parâmetros: 3 μL de solução AX (5 mmol L^{-1}) e CPC (5 mmol L^{-1}) em uma proporção de 1:2 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foi aplicado 15 μL dos padrões analíticos de Ni(II). Após 30 minutos uma fotografia foi registrada. (B) curva analítica de 5 a 50 ppm de Ni(II) para a intensidade de ciano obtida da imagem.



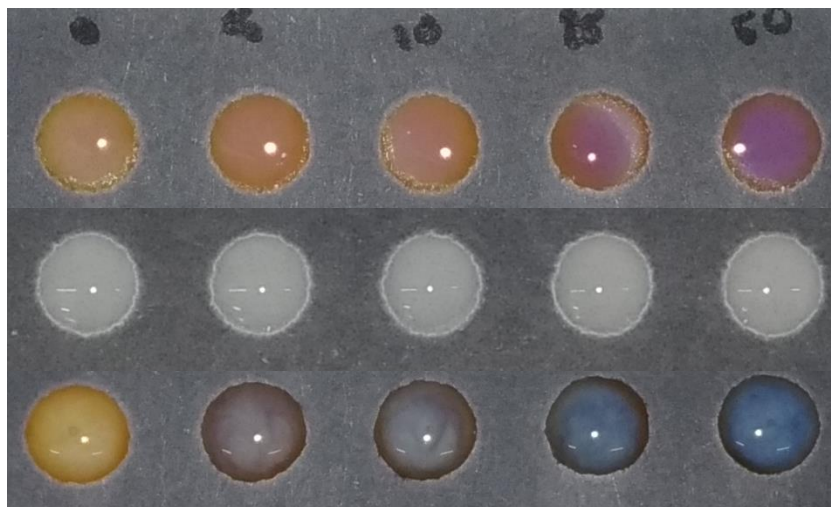
Como pode-se observar na Figura 4.7 (A) a mudança de coloração vai de amarelo para azul, assim o melhor parâmetro encontrado foi a o sinal de Ciano da escala CMYK, diferentemente das análises anteriores que foi utilizado o sinal de magenta. Utilizando um sinal diferente há a possibilidade de analisar o Ni(II) mesmo em matrizes que contenham Zn(II) ou Co(II). Assim, estudos para otimizar o método de análise de Ni(II) foi conduzido.

Na figura 4.7 (B) pode-se observar uma região de linearidade 10 e 30 ppm de Ni(II) com um coeficiente $R^2 = 0,95$, os limites teóricos calculados foram: limite de detecção 3,7 ppm e limite de quantificação 12,4 ppm de Ni(II). Ao olho nu, pode-se observar a mudança de coloração a partir de 5 ppm de Ni(II). Verificado o potencial do método proposto para a detecção de Ni(II), outros parâmetros analíticos foram avaliados visando à melhora das figuras de mérito do método proposto (parâmetros estudados: volume de amostragem, composição dos reagentes; pH da solução, concentração de tampão, força iônica, tamanho de *spot* e tempo de reação).

4.5.1 – Composição dos reagentes

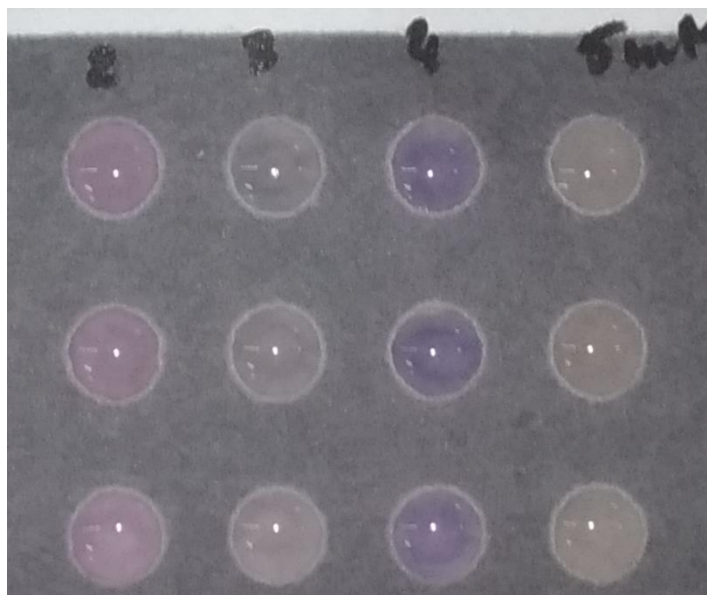
Inicialmente avaliou-se a necessidade dos reagentes AX e CPC serem adicionados simultaneamente na zona de detecção. Primeiramente testes foram conduzidos utilizando apenas o AX, variando a concentrações de Ni(II) de 0 a 50 ppm. Nesse experimento houve uma mudança de coloração do laranja para uma coloração rósea a partir de 25 ppm de Ni(II). Quando testado apenas o CPC, em nenhum momento as soluções adquiriram coloração. Contudo, quando o AX foi adicionado ao experimento com CPC, a zona de detecção adquiriu uma tonalidade azulada a partir de 5 ppm de Ni(II). Por tanto, necessariamente ambos os reagentes precisam estar presentes para que a tonalidade azulada, a qual confere maior sensibilidade para a metodologia em questão, fique evidente como ilustrado na Figura 4.8.

Figura 4.8: Imagem do teste do reagente AX:CPC com padrão analítico de 10 ppm de Ni(II). Primeira linha testes com 3 μL de AX. Segunda linha, testes com apenas 3 μL CPC. Terceira linha, Adição de 3 μL AX ao teste contendo 3 μL CPC.



Para avaliar concentração dos reagentes, variou-se as concentrações de ambos os reagentes de 2 a 5 mmol L^{-1} mantendo a proporção de 1:2 de AX:CPC (v/v). Fixando a concentração de CPC em 5 mmol L^{-1} e variando a concentração de AX não foi notada qualquer mudança expressiva, nos testes com padrão analítico de 10 ppm de Ni(II), porém fixando a concentração de AX em 5 mmol L^{-1} e variando a concentração de CPC houve mudanças significativas, os ensaios foram feitos em triplicata. A maior intensidade da coloração azulada foi detectada com 4 mmol.L^{-1} de CPC, ilustrado na Figura 4.9.

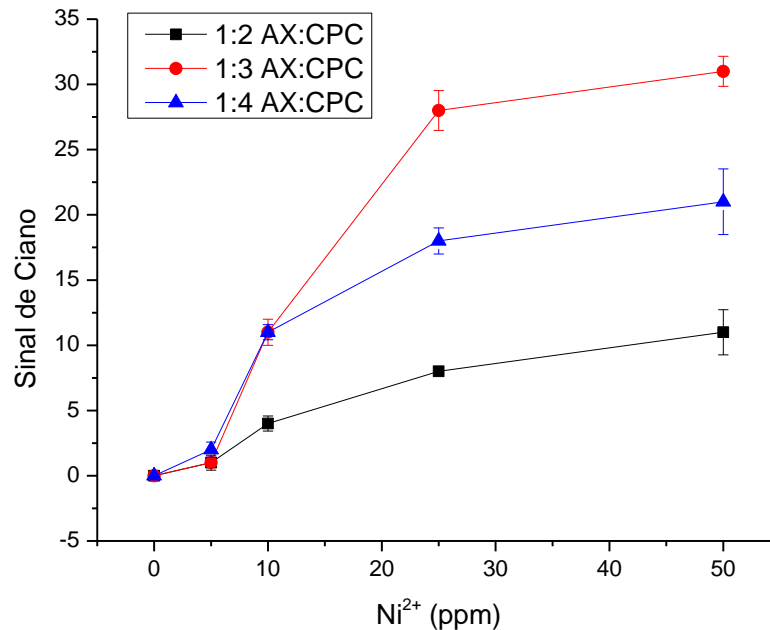
Figura 4.9: Imagem do teste de concentração do reagente CPC. Variação entre 2 e 5 mmol L^{-1} . Solução de padrão analítico de 10 ppm de Ni(II). Concentração de AX 5 mmol L^{-1} variação da concentração de CPC de 2 a 5 mmol L^{-1} , proporção dos reagentes 1:2 de AX:CPC (v/v). Foi adicionado 5 μL do reagente nas zonas de detecção após secagem completa, foi adicionado 15 μL de padrão analítico de 10 ppm de Ni(II).



Diante dos resultados obtidos ilustrados na Figura 4.9, adotou-se as seguintes concentrações para os reagentes: 5 mmol L^{-1} para AX e 4 mmol L^{-1} para CPC.

Em uma segunda etapa avaliou-se a proporção dos reagentes utilizados. Nota-se da Figura 4.10 que o maior sinal de Ciano resulta da proporção 1:3 de AX:CPC (v/v) do método, a qual foi adotada para os experimentos seguintes.

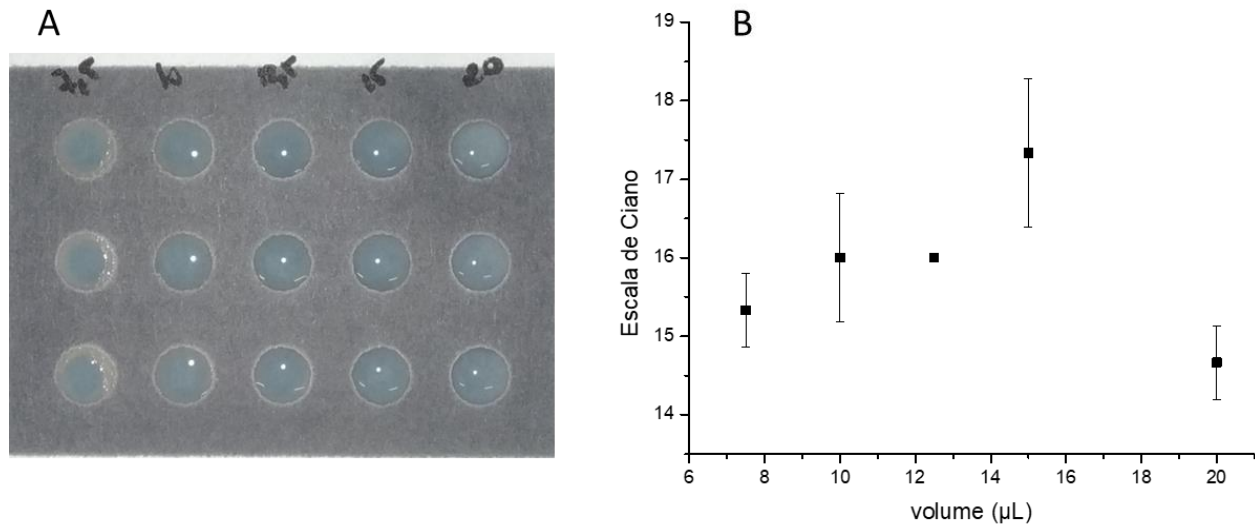
Figura 4.10: Curva analítica de 0 a 50 ppm de Ni(II), em função da proporção de AX:CPC (v/v). Nas zonas de detecção foram adicionados os reagentes em diferentes proporções de AX:CPC, 1:2, 1:3 e 1:4, após a secagem completa do reagente, padrões analíticos de 0 a 50 ppm de Ni(II) foram adicionados.



4.5.2 – Volume de amostra na zona de detecção

Com o intuito de avaliar qual o maior volume que a zona de detecção de 7 mm suportaria, foram testados diferentes volumes de amostragem entre 7,5 a 20 μ L de um padrão de 10 ppm de Ni(II).

Figura 4.11: (A) Imagem do teste colorimétrico para Ni(II), volume de amostragem de 7,5 a 20 μL . Parâmetros: 3 μL de solução AX (5 mmol L^{-1}) e CPC (4 mmol L^{-1}) em uma proporção de 1:3 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foram aplicados diferentes volumes de uma amostra de 10 ppm de Ni(II). (B) Intensidade de ciano obtida da imagem para diferentes volumes de amostragem.

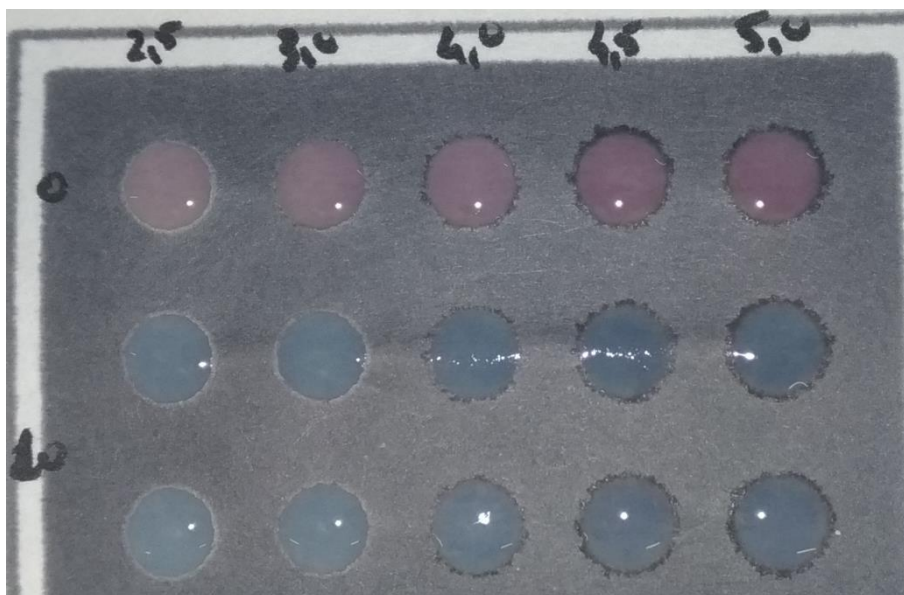


Dos resultados ilustrados na Figura 4.11, observar-se que o volume de 15 μL resultou em uma maior detectabilidade da solução padrão de Ni(II). Assim, adotou-se esse volume para os testes seguintes.

4.5.3 – Volume de reagente

Assim como foi feito para o volume de amostra, testes de volume dos reagentes adicionados também foram realizados, volumes entre 2,5 e 5,0 μL do reagente foram testados, Figura 4.12.

Figura 4.12: Imagem do teste colorimétrico para Ni(II), volume de reagente de 2,5 a 5 μL . Após a secagem completa do reagente foi aplicado 15 μL do padrão analítico de 10 ppm de Ni(II). Parâmetros: Diferentes volumes da solução AX (5 mmol L^{-1}) e CPC (4 mmol L^{-1}) em uma proporção de 1:3 (v/v), respectivamente, foram adicionados nas zonas de detecção. Após a secagem completa do reagente, foi adicionado 15 μL de um padrão analítico de 10 ppm de Ni(II).



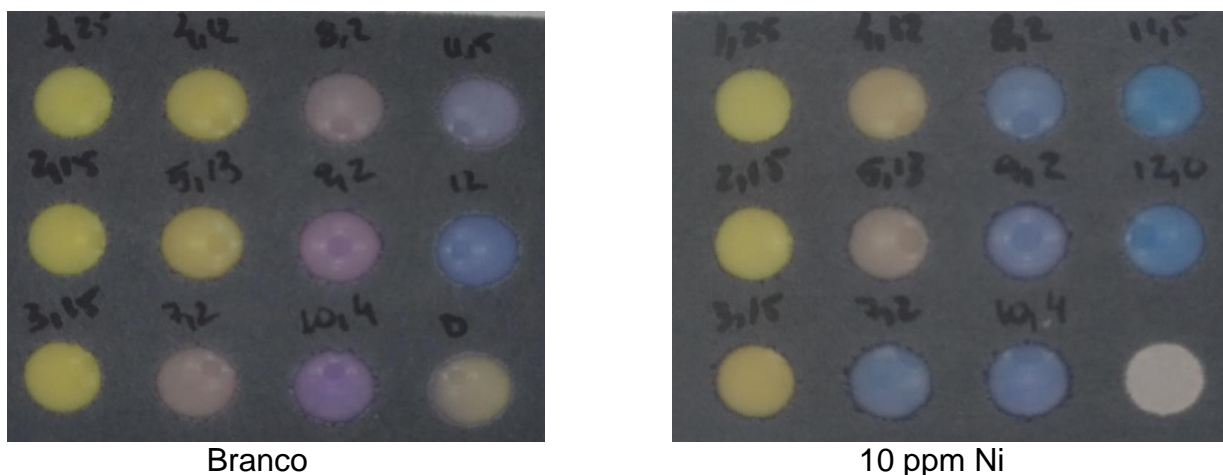
Na Figura 4.12, as zonas de detecção rosadas são o branco, em seguida uma duplicata com solução de 10 ppm de Ni(II). Com o aumento do volume de reagente, da esquerda para a direita, observou-se que a partir de 4,0 μL começou a formar uma auréola ao redor da zona de detecção, indicando que a mistura começa a permear a cera e, por conseguinte, diminuindo a quantidade do analito na zona de detecção. Assim, o volume de 3 μL do reagente foi adotado.

4.5.4 – pH

De acordo com Burrows [41] o pH da solução gera um impacto bastante importante em reações de complexação, bem como a força iônica. Portanto, a avaliação desses parâmetros é de extrema importância para o estudo visando ao desenvolvimento de um método analítico envolvendo reações de complexação. Para

verificar o pH ótimo para se obter a maior detectabilidade do método proposto, foram feitas várias soluções tampão em diferentes valores de pH entre 1 e 12 e avaliou-se o efeito sobre o sinal colorimétrico de uma solução contendo 10 ppm Ni(II).

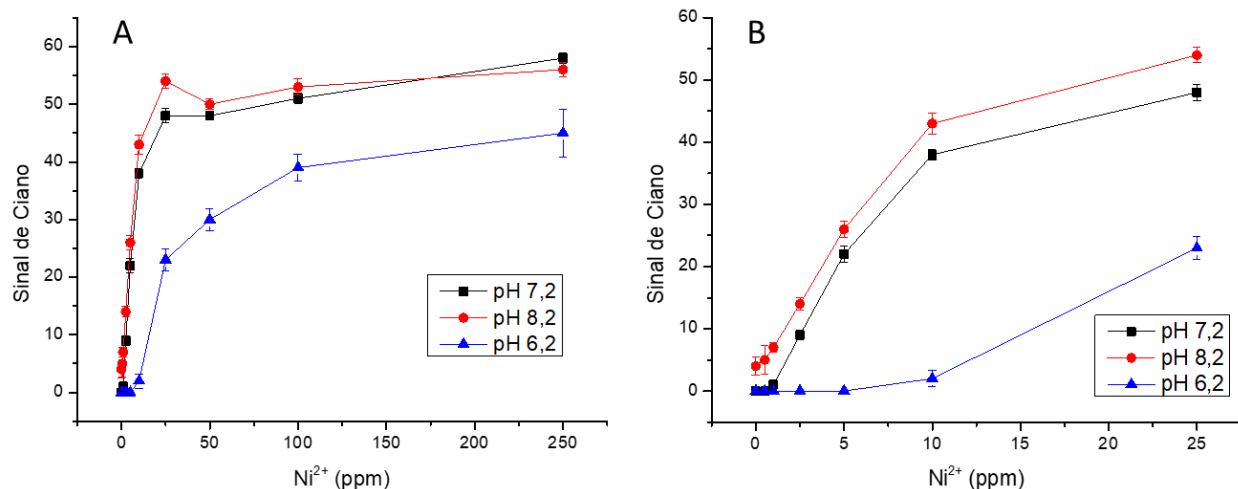
Figura 4.13: Imagem do teste colorimétrico para Ni^{2+} , faixa de pH 1,25 a 12. Parâmetros: 3 μ L de solução AX (5 mmol L⁻¹) e CPC (4 mmol L⁻¹) em uma proporção de 1:3 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foram aplicados 15 μ L de padrão analítico 10 ppm de Ni(II) em tampões com diferentes valores de pH.



Na Figura 4.13, observa-se que a partir do pH 9,2 o próprio tampão começa a interferir na coloração da análise, Figura 4.18 Branco, e abaixo de 5,13 a coloração amarela é dominante. Ao adicionar o tampão com o padrão de Ni(II) foi observado que abaixo de pH 5,13 a mudança de coloração é tênue, e acima do pH 7,2 a coloração se torna azulada, porém o problema com a interferência do próprio tampão restringe a análise para a faixa de pH entre 5,13 e 8,2. No que diz respeito à análise de águas, o resultado é satisfatório, visto que, em geral, o pH das águas de rejeito precisam estar em pH próximo de 7 [12].

Após isso, verificou-se a possibilidade de quantificação de Ni(II) em três diferentes valores de pH 6,2, 7,2 e 8,2, Figura 4.14. Os resultados mostraram um sinal maior em pH 8,2. Assim, os testes seguintes foram feitos todos em tampão fosfato pH 8,2.

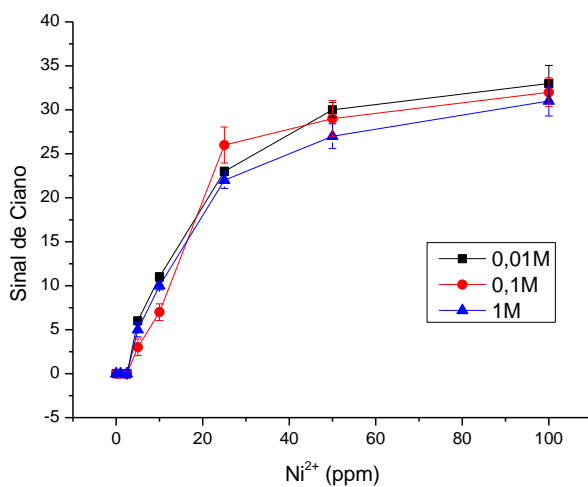
Figura 4.14: Curva analítica de 0 a 250 ppm de Ni(II), tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, faixa de pH 6,2 a 8,2. Parâmetros: 3 µL de solução AX (5 mmol L⁻¹) e CPC (4 mmol L⁻¹) em uma proporção de 1:3 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foram aplicados 15 µL de padrões analíticos de 0 a 250 ppm de Ni(II). (A) curva de 0 a 250 ppm de Ni(II). (B) curva de 0 a 25 ppm de Ni(II).



4.5.5 – Concentração do tampão fosfato

Definido o pH da solução tampão, uma avaliação de sua concentração foi realizada, curvas analíticas de Ni(II) de 0 a 100 ppm foram feitas variando-se a concentração do tampão fosfato, de 0,01 a 1 mol L⁻¹. Porém nenhuma diferença efetiva foi constatada, como ilustrado na Figura 4.15, assim o tampão de concentração 0,01 mol L⁻¹ foi adotada.

Figura 4.15: Curva analítica de 0 a 100 ppm de Ni(II), tampão fosfato pH 8,2. Concentração testada: 0,01 mol L⁻¹, 0,1 mol L⁻¹ e 1 mol L⁻¹. Parâmetros: 3 µL de solução AX (5 mmol L⁻¹) e CPC (4 mmol L⁻¹) em uma proporção de 1:3 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foram aplicados 15 µL de padrões analíticos de 0 a 100 ppm de Ni(II).



4.5.6 – Força iônica

Como mencionada anteriormente, a força iônica do meio é outro fator importante quando se trata de reações de complexação, então testes variando a força iônica do tampão adotado foram conduzidos. Avaliou-se soluções com 0 a 4 mol L⁻¹ de força iônica, Figura 4.16.

Figura 4.16: Imagem do teste colorimétrico para 10 ppm Ni(II), tampão fosfato 0,01 mol.L⁻¹ pH 8,2, variando a força iônica de 0 a 4 mol L⁻¹ com KCl. Parâmetros: 3 µL de solução AX (5 mmol L⁻¹) e CPC (4 mmol L⁻¹) em uma proporção de 1:3 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foram aplicados 15 µL de padrão analítico de 10 ppm de Ni(II).

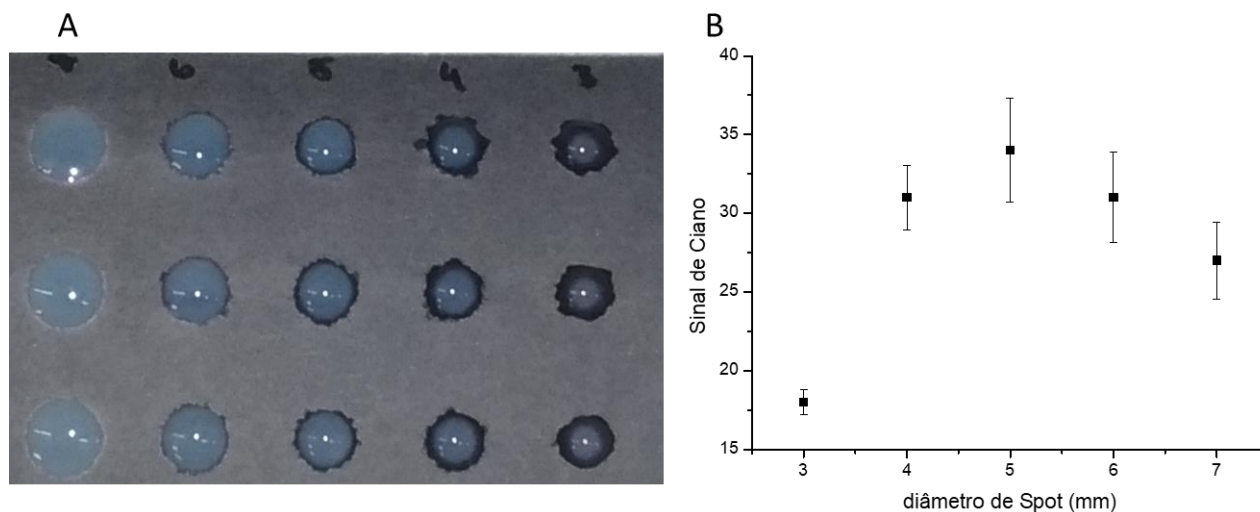


Dos resultados obtidos na Figura 4.16, tanto a solução com 100 mmol L⁻¹ quanto a com força iônica 0, tiveram quase as mesmas intensidades de Ciano para o padrão analítico de 10 ppm de Ni(II). Entretanto as soluções acima de 500 mmol L⁻¹ tiveram a intensidade do sinal de ciano suprimido com o aumento da força iônica do meio. Tanto o Branco com a solução com 100 mmol L⁻¹ apresentaram a mesma intensidade de sinal de Ciano, assim, soluções com força iônica 0 foi adotada para os testes seguintes.

4.5.7 – Dimensões da zona de detecção

Nessa etapa variou-se o tamanho da zona de detecção. Foram feitas zonas de diâmetro entre 3 e 7 mm e adicionou-se 3 µL dos reagentes. Em seguida, e após secagem completa dos reagentes, adicionou-se 15 µL de padrão analítico de 10 ppm de Ni(II). Os resultados estão ilustrados na Figura 4.17.

Figura 4.17: (A) Imagem do teste para Ni(II), tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹ pH 8,2, variando o diâmetro da zona de detecção de 3 a 7 mm. Parâmetros: 3 µL de solução AX (5 mmol L⁻¹) e CPC (4 mmol L⁻¹) em uma proporção de 1:3 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foram aplicados 15 µL de padrão analítico de 10 ppm de Ni(II) em tampão fosfato pH 8,2. (B) Teste para Ni(II), tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹ pH 8,2, variando o diâmetro da zona de detecção de 3 a 7 mm. Intensidade de Ciano.



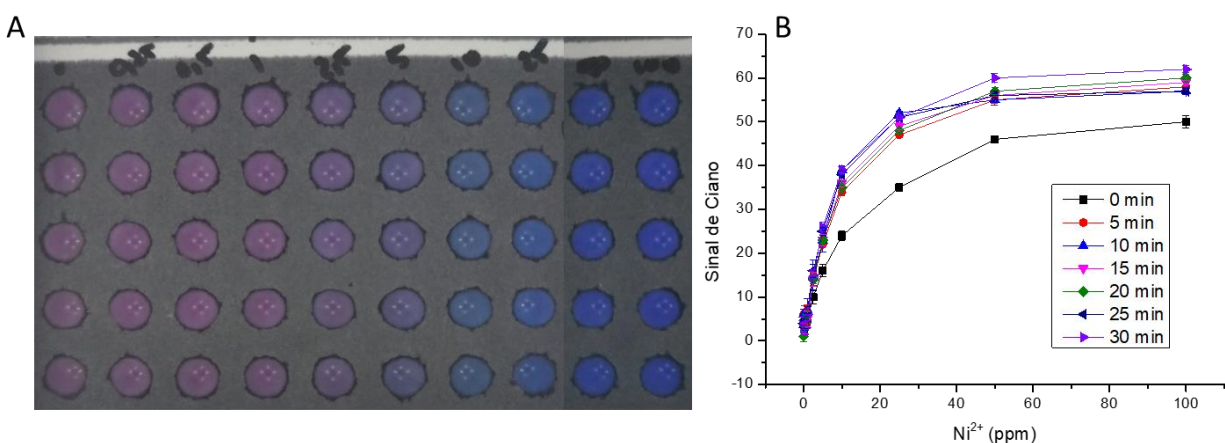
Observando a Figura 4.17, obteve-se a maior intensidade do sinal de Ciano com zona de detecção de diâmetro de 5 mm, entretanto há também a formação de uma pequena auréola ao redor da zona de detecção, o que significa perda de analito. Contudo o sinal adquirido com a zona de detecção de diâmetro de 5 mm é cerca de 30% maior do que o sinal da zona de detecção com 7 mm de diâmetro. Por mais que exista uma pequena perda do analito, o fato deste estar em uma área menor acaba aumentando a sua concentração e conseqüentemente a intensidade do sinal de Ciano obtida. Assim, os testes seguintes foram realizados com zonas de detecção de 5mm de diâmetro.

4.5.8 – Tempo de reação

Durante a otimização foi utilizado um intervalo de 30 minutos após a aplicação dos padrões analíticos para realizar a aquisição das fotos, porém ainda não havia sido avaliada qual seria o tempo ótimo para a aquisição das fotos. Portanto curvas analíticas

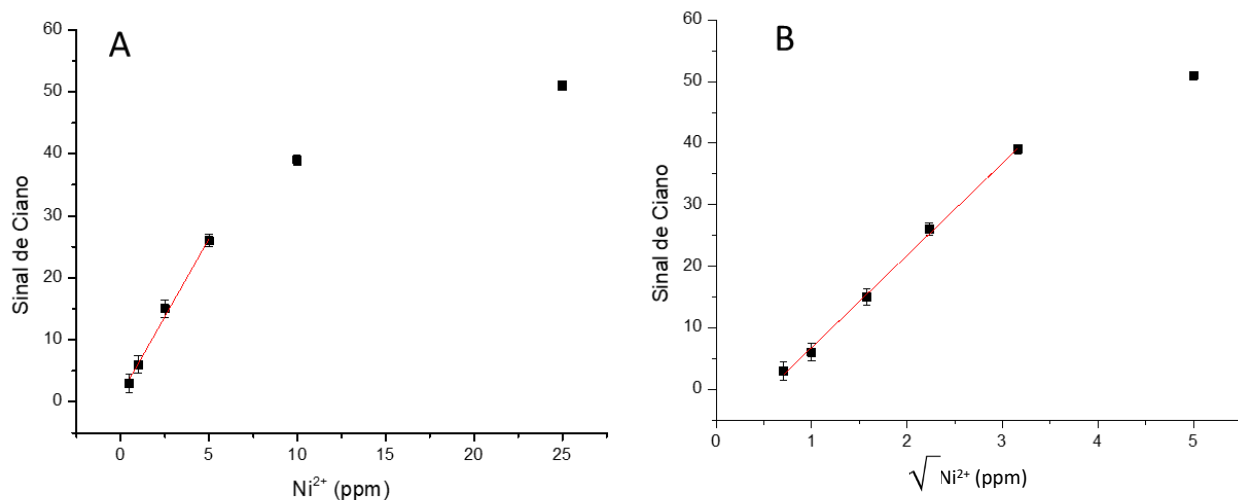
foram feitas em diferentes tempos de reação utilizando toda a otimização feita anteriormente, Figura 4.18.

Figura 4.18: (A) Imagem do teste colorimétrico para Ni(II) na faixa de concentração de 0 a 100 ppm. Parâmetros: 3 μL de solução AX (5 mmol L^{-1}) e CPC (4 mmol L^{-1}) em uma proporção de 1:3 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foi aplicado 15 μL dos padrões analíticos de Ni(II) em tampão fosfato $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ pH 8,2, zonas de detecção de 5 mm de diâmetro. (B) Curvas analíticas de 0 a 100 ppm de Ni(II) para a intensidade de ciano obtida de imagens obtidas em diferentes tempos de reação.



Observa-se, na Figura 4.18 que acima de 20 minutos aparentemente não há mudanças significativas de coloração, porém a maior sinal de Ciano se deu nas fotos adquiridas com 30 minutos de reação.

Figura 4.19: Curvas analíticas de 0 a 25 ppm de Ni(II) para a intensidade de ciano obtida de imagens de 30 minutos de reação. Parâmetros: 3 μL de solução AX (5 mmol L^{-1}) e CPC (4 mmol L^{-1}) em uma proporção de 1:3 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foi aplicado 15 μL dos padrões analíticos de Ni(II) em tampão fosfato 0,01 mol.L^{-1} pH 8,2. (A) Sem tratamento dos dados do eixo X, linearidade de 0,5 a 5 ppm de Ni(II). (B) Com tratamento dos dados do eixo X, linearidade de 0,5 a 10 ppm de Ni(II).



Avaliando-se a curva com tempo de aquisição de 30 minutos, Figura 4.19, pode-se constatar uma região de linearidade 0,5 e 10 ppm de Ni(II) com um coeficiente $R^2 = 0,99$. Os limites teóricos calculados foram: limite de detecção 0,7 ppm e limite de quantificação 2,3 ppm de Ni(II). Ao olho nu, pode-se observar a variação de cor a partir de 0,5 ppm de Ni(II).

4.5.9 – Análise de interferentes

Feitas as otimizações para a análise de Ni(II), é necessário saber se há algum tipo de metal interferente para a análise proposta, assim foram realizados ensaios com diferentes metais para avaliar possíveis interferências na intensidade do sinal de Ciano. Como já discutido, os metais Zn(II) e Co(II), poderiam interferir na análise do Ni(II). Então testes para estes metais foram conduzidos e os resultados estão ilustrados nas Figuras 4.20 e 4.21.

Figura 4.20: Teste de interferência de Zn(II) em solução de 10 ppm de Ni(II), variação de 0 a 250 ppm de Zn(II). Parâmetros: 3 μL de solução AX (5 mmol L^{-1}) e CPC (4 mmol L^{-1}) em uma proporção de 1:3 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foi aplicado 15 μL dos padrões analíticos de Ni(II) em tampão fosfato 0,01 mol L^{-1} pH 8,2, contendo diferentes concentrações de Zn(II).

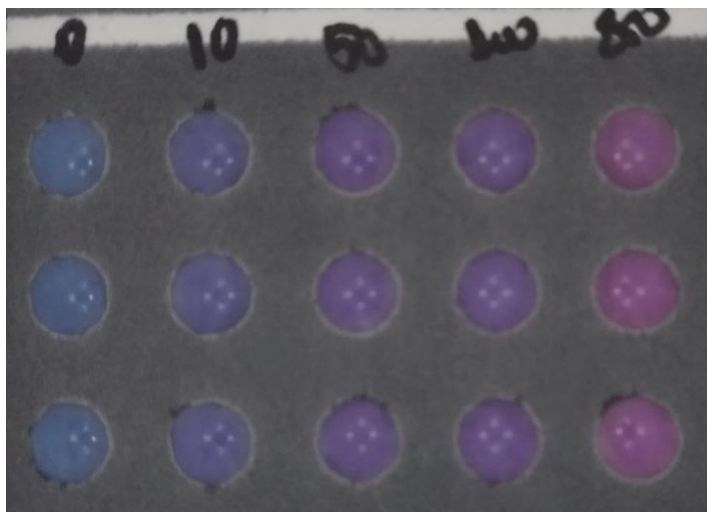
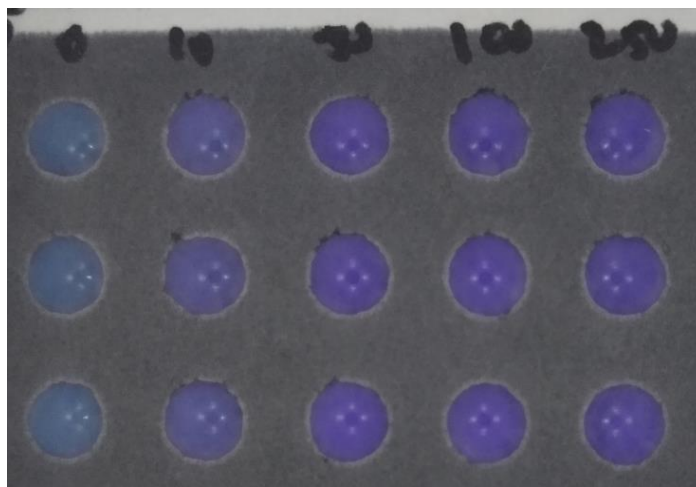


Figura 4.21: Teste de interferência de Co(II) em solução de 10 ppm de Ni(II), variação de 0 a 250 ppm de Co(II). Parâmetros: 3 μL de solução AX (5 mmol L^{-1}) e CPC (4 mmol L^{-1}) em uma proporção de 1:3 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foi aplicado 15 μL dos padrões analíticos de Ni(II) em tampão fosfato 0,01 mol L^{-1} pH 8,2, contendo diferentes concentrações de Co(II).



De fato, observando as Figuras 4.20 e 4.21, houve interferência na análise de Ni(II) dos metais Zn(II) e Co(II). O resultado era esperado devido à utilização dos mesmos reagentes nas análises, e os três metais reagirem com este, porém o fato de ter mudado a composição dos reagentes havia a possibilidade de a metodologia ficar seletiva para o Ni(II), que não foi o caso. Entre o Co(II) e o Zn(II), a maior interferência se deu por parte do Zn(II) alterando a coloração de azul para rósea da solução de 10 ppm de Ni(II), o Co(II) intensificou a coloração azul, indicando que em sua presença os resultados seriam falsos positivos.

Portanto para análise de amostras que contenham um ou mais desses metais, será preciso um tratamento prévio da amostra no sentido de separar os metais indesejados, isolando assim o metal desejado. Estudos com separação por sinergia de solventes foi apresentada por Zhu e equipe, onde conseguiram a separação dos três metais com sucesso utilizando misturas de solventes específicos. [42]

4.6 – Análise em amostras reais

A fim de aplicar o método proposto para análise de Ni(II), amostras de água de processos industriais de uma fábrica de tintas automotivas foram coletadas e avaliadas. Essas amostras foram retiradas de etapas durante o processo e a água de descarte.

Tabela 4.1: Tabela de informações fornecidas pela empresa das amostras reais.

Amostras	pH	Ni(II) (ppm)
1	8,07	0,32
2	3,47	103,0
3	1,54	65,9
4	0,65	132
5	8,34	0,30
6	3,31	109,0
7	2,78	6,57
8	13,28	0,088
9	6,39	óleo
10	3,12	87,9

As amostras 1, 5 e 8 foram excluídas em função da baixa concentração de Ni(II). As amostras 3, 4 e 7 foram excluídas em função do baixo pH, mesmo com diluição com tampão pH 8,3, ainda assim, não foi possível chegar ao pH de análise. A amostra 9 foi excluída por ser muito viscosa e não conter a informação de concentração de Ni(II).

Para as amostras 2, 6 e 10, foi feito um processo de diluição de 20 vezes com tampão fosfato pH 8,3, a posteriormente adicionados 15 μ L do preparado nas zonas de detecção já contendo o reagente seco para análise de Ni(II), Figura 4.22.

Figura 4.22: Imagem do teste colorimétrico para Ni(II) das amostras reais 2, 6 e 10. Primeira coluna amostra 2, segunda coluna amostra 10 e terceira coluna amostra 6. Parâmetros: 3 μL de solução AX (5 mmol L^{-1}) e CPC (4 mmol L^{-1}) em uma proporção de 1:3 (v/v), respectivamente. Após a secagem completa do reagente, foram aplicados 15 μL das amostras e a imagem registrada com 30 minutos de reação.

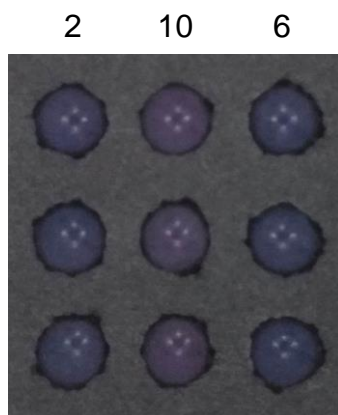


Tabela 4.2: Tabela de informações das análises das amostras reais.

Amostras	Valor real (ppm)	Valor obtido (ppm)	Desvio padrão	Desvio
2	103,0	98	3,6	- 4,6 %
6	109,0	104	3,7	- 4,6 %
10	87,9	75	3,2	- 11,7 %

Nota-se na Tabela 4.2 um resultado bastante satisfatório com valores muito próximo dos valores reais das amostras, sendo a taxa de recuperação entre 88% a 95%.

Para comparar e averiguar as reais concentrações das amostras fornecidas, as amostras foram submetidas a ensaio de absorção atômica no equipamento, SpectrAA 55B da Varian, com chamas de acetileno. Para o ensaio uma lâmpada de Níquel ($\lambda = 232,0 \text{ nm}$) foi utilizada.

Figura 4.23: Curva analítica de absorção atômica para Ni(II) de 0,1 a 10 ppm de Ni²⁺ em tampão de pH, 8,2. Equipamento Varian SpectrAA 55B, chama de acetileno, lâmpada de Níquel ($\lambda = 232,0 \text{ nm}$).

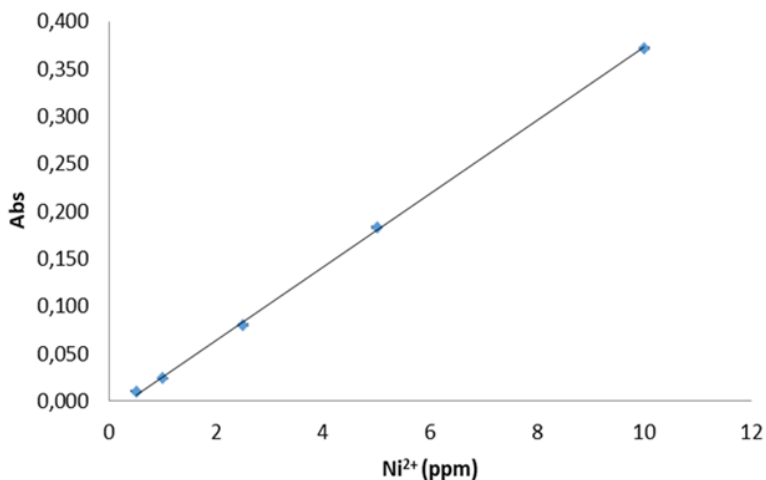


Tabela 4.3: Tabela de informações das análises das amostras reais no ensaio de absorção atômica.

Amostras	Valor real (ppm)	Abs	Valor obtido (ppm)	Desvio padrão	Desvio
2	103,0	0,191	105,2	0,4	2,6 %
6	109,0	0,201	110,9	0,2	1,7 %
10	87,9	0,154	86,5	0,4	- 1,7 %

Da figura 4.23, pode-se observar que no intervalo de 0,1 a 10 ppm de Ni²⁺ obteve-se uma ótima correlação linear com $R^2 = 0,999$, utilizando a equação obtida da curva de calibração pode-se analisar as amostras reais das quais os resultados condiziam com os valores descritos pela própria empresa fornecedora.

Existem registros de reações colorimétricas para a análise de Ni(II) a bastante tempo, um exemplo é a publicação de Ayres e Smith, o qual relatam a quantificação do complexo de níquel com amônia [43], em 1939. Porém diversos outros trabalhos foram publicados ao longo do tempo, entretanto, quase todos utilizando equipamentos de espectrometria e que podem detectar concentrações 94 nmol L^{-1} [44], e para chegar a

limites de detecção dessa magnitude, técnicas extremamente complexas e trabalhosas foram empregadas.

O método proposto possui um limite de 0,7 ppm de Ni(II), equivalente a aproximadamente $12 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Ni(II), e suas grandes vantagens são simplicidade e portabilidade, além de conferir resultados muito similares aos obtidos em técnicas mais complexas e rebuscadas.

5 – CONCLUSÕES

Na presente dissertação desenvolveram-se dispositivos analíticos em papel com detecção colorimétrica obtendo-se limites de detecção e/ou limites de quantificação abaixo ou muito próximos dos limites estipulados pela resolução do CONAMA 357. Na análise de NO_2^- , pode-se observar um limite de detecção experimental de 1 ppm, e o limite da legislação apresenta o mesmo valor para águas doces classe III, utilizando técnicas já reportadas em literatura. Para os íons metálicos Zn(II) e Co(II), foi possível observar mudanças de coloração a partir de 5 ppm para ambos os metais, e a legislação coloca como limite máximo 5 ppm para o Zn em águas de efluente e 0,2 ppm para o Co em águas doces classe III, Anexo 2. Contudo, para Zn(II) e Co(II), estudos de otimização dos métodos precisam ser feitos, mas não se pode descartar a utilização de ambas para a análise dos metais.

Com relação à análise de Ni(II), pode-se afirmar que o método desenvolvido, e após uma série de otimizações, apresentou mudança de coloração a partir de 0,5 ppm e o limite máximo exigido pela legislação é de 2 ppm para águas de efluentes. Em testes quantitativos de amostras reais retiradas de processo industrial durante a produção de tintas automotivas, também foram observados resultados bastante satisfatórios, com recuperações de até 95%. Vale destacar que em amostras com mais de um dos analitos estudados (Ni(II), Zn(II) e Co(II)) será preciso utilizar uma etapa de pré-tratamento a fim de isolar um deles para análise final. Alguns estudos oferecem como alternativa a utilização de diferentes solventes para a realização desta separação.

Adicionalmente, pré-tratamento eletroquímico também poderá ser uma opção para a remoção desses da solução.

6 – PERSPECTIVAS

- Estudos de otimização para a análise de Zn(II);
- Estudo de otimização para análise de Co(II);
- Estudo de otimização para análise de NO₂⁻;
- Estudos para confecção de dispositivo integrado para análise de diversos parâmetros ao mesmo tempo, assim como a resolução do problema de interferência.

7 – REFERÊNCIAS

- [1] Jorge Enoch Furquim Werneck Lima. EMBRAPA, Documento 33 (2001), ISSN 1517-5111.
- [2] R.Iturbe. Water Resource Research, 36 (2009), nº1, 3-9.
- [3] C.E.M. Tucci. Global Water Partnerships South America. 2004.
- [4] E. M. Richter, A. Fornaro, C. L. do Lago, L. Agnes. Quim. Nova, 30 (2007), 5, 1147-1152.
- [5] L. Liu, H. Lin. Anal. Chem., 86 (2014), 8829-8834.
- [6] P. G. Rout. Das. Agronomie, EDP Sciences, 23 (2003), 3-11.
- [7] J. C. King, D. M. Shames, L. Woodhouse, J. Nutr., 130 (2000).
- [8] G. J. Fosmire. Am. J. Clin. Nutr., 51 (1990), 225-227.
- [9] A. M. Baldotto; A. C. X., Velloso. Rev. Ceres, Viçosa, v. 61, n. 6, p. 1012-1021, Dec. 2014.
- [10] A. T. Matos, A. F. Lemos, F. M. Barros. Engenharia na Agricultura, 12 (2004), 57-65.
- [11] K. R. Gonzales. Revista Intertox de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade, v. 9, n. 2, p. 30-54, jun. 2016.
- [12] BRASIL. Resolução CONAMA 357, Conselho Nacional de Meio Ambiente (2005). <www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>.

- [13] G. L. Oliver, 121 (1883), 139–140.
- [14] E. W. Nery, L. T. Kubota, *Anal. Bioanal. Chem.*, 405 (2013), 7573–7595.
- [15] R. Masoodi, K. M. Pillai. *AIChE J.*, 56 (2010), 2257–2267.
- [16] K. Yamada, T.G. Henares, K. Suzuki, D. A. Citterio. *Chemie Int. Ed.*, 54 (2015), 5294–5310.
- [17] W. Dungchai, O.Chailapakul, C. S.Henry. *Analyst* , 136 (2001), 77–82.
- [18] Y. Sameenoi, P. N. Nongkai, S. Nouanthavong, C. S. Henry, D. Nacapricha. *Analyst*, 139 (2014), 6580–6588.
- [19] K. Abe, K. Suzuki, D. Citterio. *Anal. Chem.*, 80 (2008), 6928–6934.
- [20] X. Li, J. Tian, G. Garnier, W. Shen. *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, 76 (2010), 564–570.
- [21] K. Maejima, S. Tomikawa, K. Suzuki, D. Citterio. *Rsc Adv.* 2013, 3 (2013), 9258–9263.
- [22] J. Wang, M. R. N. Monton, X. Zhang, C. D. M. Filipe, R. Pelton, J. D. Brennan. *Lab Chip*, 14 (2014), 691–695.
- [23] V. Rajendra, C. Sicard, J. D. Brennan, M. A. Brook. *Analyst* 2014, 139, 6361–6365.
- [24] Y. Lu, W. Shi, L. Jiang, J. Qin; B. Lin. *Electrophoresis*, 30 (2009), 1497–1500.
- [25] E. Carrilho, A. W. Martinez, G. M. Whitesides. *Anal. Chem.*, 81 (2009), 7091–7095.

- [26] C. Renault, J. Koehne, A. J. Ricco, R. M. Crooks. *Langmuir*, 30 (2014), 7030–7036.
- [27] J. Olkkonen, K. Lehtinen, T. Erho. *Anal. Chem.*, 82 (2010), 10246–10250.
- [28] A. Maattanen, D. Fors, S. Wang, D. Valtakari, P. Ihalainen, P. Peltonen. *Sensors Actuators B Chem.*, 160 (2011), 1404–1412.
- [29] K. Abe, K. Kotera, K. Suzuki, D. Citterio. *Anal. Bioanal. Chem.*, 398 (2010), 885–893.
- [30] K. Yamada, K. S. Takaki, S. N. Komuro, N. K. Suzuki, K., D. Citterio. *Analyst*, 139 (2014), 1637–1643.
- [31] P. Nath, R.K. Arun, N. Chanda. *RSC Adv.*, 4 (2014), 59558.
- [32] Y. Xia e colaboradores. *Biosensors and Bioelectronics* 77 (2016) 774–789.
- [33] M. O. Salles, G. N. Meloni, W. R. de Araujo, T. R. L. C. Paixão. *Anal. Methods*, (2014). 6(7), 2047–2052.
- [34] P. Griess. *Ber. Deutsch Chem. Ges.*, 12 (1879), 426.
- [35] J. Sun, X. Zhang, M. Broderick, H. Fein. *Sensor*, 3 (2003), 276-284.
- [36] B. M. Jayawardane, W. Shen, I. D. MacKelvie, S. D. Kolev. *Anal. Chem.*, 86 (2014), 7274-7279.
- [37] M. Benamor, K. Belhamel, M.T Dra. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 23 (2000), 1033-1038.

- [38] S. V. de Feritas, F. R. de Souza, J. C. R. Neto, G A. Vasconcelos, P. V. Abdelnur, B. G. Vaz, C. S. Henry, W. K. T. Coltro. *Analytical Chemistry* **2018** 90 (20), 11949-11954.
- [39] IUPAC - Mocak, J., e colaboradores. *Pure and Applied Chemistry*, 1997. 69: p. 297-328.
- [40] H. A. Mahlman, G. W. Leddicotte, F. L. Moore. *Analytical Chemistry*, 1954, 26(12), 1939–1941. doi:10.1021/ac60096a022
- [41] A. Burrows, J. Holman, A. Parsons, G. Pilling; G. Price. *Chemistry*³, Oxford University Press, 2ª Edição (19 de Maio, 2013).
- [42] Z. Zhu, W. Zhang, Y. Pranolo, C. Y. Cheng. *Hydrometallurgy*, 2012, 127-128, 1–7.
- [43] G. H. Ayres, F. Smith. *Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition*, 1939, 11(7), 365–367.
- [44] L. Feng, Y. Zhang, L. Wen, L. Chen, Z. Shen, Y. Guan. *The Analyst*, 2011, 136(20), 4197.

8 – SÚMULA CURRICULAR

1.DADOS PESSOAIS

Nome: Felipe Augusto Kurachina Afonso

Local e data de nascimento: São Paulo, 15/03/1988

2.EDUCAÇÃO

Ensino Fundamental e médio: Colégio Via Sapiens, Cotia, 2005.

Ensino Superior: Bacharel e Licenciatura em Química, Universidade de São Paulo, Instituto de Química, 2013.

3. FORMAÇÃO COMPLEMENTAR

2009 - Técnicas analíticas para o isolamento/identificação de compostos de algas – II Workshop Novos Bioativos de Macroalgas – Ilhabela.

2017 - PAE (Programa de Aperfeiçoamento de Ensino)

QFL1212 – Química Analítica II

QFL0230 – Química Analítica

4.OCUPAÇÃO

Bolsista de Mestrado, CNPQ, 2017-2018.

Perito Criminal do Estado de São Paulo, 2018 até o presente.

5.PUBLICAÇÕES (Artigos Completos e Resumos em Congressos)

Artigos Científicos Publicados

STEIN, ERIKA M. ; COLEPICOLO, PIO ; **AFONSO, F. A. K.** ; FUJII, MUTUE T. .
Screening for antifungal activities of extracts of the brazilian seaweed genus Laurencia

(Ceramiales, Rhodophyta). Revista Brasileira de Farmacognosia-Brazilian Journal of Pharmacognosy, v. 21, p. 290-295, 2011.

Resumos publicados em anais de congresso

Stein, E.M. ; Stein, C.E. ; **AFONSO, F. A. K.** ; Colepicolo, P.; Fujii, M.T. . Contribuição ao conhecimento de espécies do "complexo Laurencia": Dosagem de proteínas totais usando três diferentes métodos espectrofotométricos. In: II Workshop: Novo Bioativos de Macroalgas, 2009, Ilhabella. II Wokshop: Novos Boativos de Macroalgas, 2009. p. 45.

Anexo 1

Padrões de Lançamento de efluentes, parâmetros inorgânicos.

Parâmetros Inorgânicos	Valores Máximos (ppm ou mg/L)
Arsênio total	0,5
Bário total	5,0
Boro total	5,0
Cádmio total	0,2
Chumbo total	0,5
Cianeto total	1,0
Cianeto livre	0,2
Cobre dissolvido	1,0
Cromo hexavalente	0,1
Cromo trivalente	1,0
Estanho total	4,0
Ferro dissolvido	15,0
Fluoreto total	10,0
Manganês dissolvido	1,0
Merúrio total	0,01
Níquel total	2,0
Nitrogênio amoniacal total	20,0
Prata total	0,1
Selênio total	0,30
Sulfeto	1,0
Zinco total	5,0

Anexo 2

Padrões de qualidade de água Doce Classe 3

Parâmetros Inorgânicos	Valores Máximos (ppm ou mg/L)
Alumínio dissolvido	0,2
Arsênio total	0,033
Bário total	1,0
Berílio total	0,1
Boro total	0,75
Cádmio total	0,01
Chumbo total	0,033
Cianeto livre	0,022
Cloreto total	250
Cobalto total	0,2
Cobre dissolvido	0,013
Cromo total	0,05
Ferro dissolvido	5,0
Fluoreto total	1,4
Fósforo total	1,4
Lítio total	2,5
Manganês total	0,5
Mercurio total	0,002
Níquel total	0,025
Nitrato	10,0
Nitrito	1,0
Nitrogênio amoniacal total	13,3 mg/L N, para pH ≤ 7,5 5,6 mg/L N, para 7,5 < pH ≤ 8,0 2,2 mg/L N, para 8,0 < pH ≤ 8,5 1,0 mg/L N, para pH > 8,5
Prata total	0,05
Selênio total	0,05
Sulfato total	250
Sulfeto (H ₂ S não dissociado)	0,3
Urânio total	0,02
Vanádio total	0,1
Zinco total	5,0