

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE  
CONTAMINANTES METÁLICOS (Hg, Ag, Zn, Cd, Pb e  
TI) EM CONCENTRADO POLIELETROLÍTICO  
UTILIZANDO ELETRODOS SÓLIDOS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Ananda Fagundes Guarda**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2012**

**DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE CONTAMINANTES  
METÁLICOS (Ag, Zn, Cd, Pb e Tl) EM CONCENTRADO  
POLIELETROLÍTICO UTILIZANDO ELETRODOS SÓLIDOS**

**por**

**Ananda Fagundes Guarda**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química,  
Área de Concentração em Química Analítica, da Universidade Federal  
de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do  
grau de **Mestre em Química**.

**Orientador: Prof. Dr. Paulo Cícero do Nascimento**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2012**

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Naturais e Exatas  
Programa de Pós-Graduação em Química**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Dissertação de Mestrado

**DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE CONTAMINANTES  
METÁLICOS (Hg, Ag, Zn, Cd, Pb e TI) EM CONCENTRADO  
POLIELETROLÍTICO UTILIZANDO ELETRODOS SÓLIDOS**

elaborada por  
**Ananda Fagundes Guarda**

como requisito parcial para a obtenção do grau de  
**Mestre em Química**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

---

**Paulo Cícero do Nascimento, Dr.**  
(Presidente/Orientador)

---

**Marcelo Barcellos da Rosa, Dr. (UFSC)**

---

**Cristiane Luisa Jost, Dr.<sup>a</sup> (UFSC)**

Santa Maria, 08 de março de 2012.

Dedico

Dedico este trabalho aos meus pais, Gilson Antônio Guarda e Marlene Fagundes Guarda por me amarem incondicionalmente e estarem presentes em todas as etapas da minha vida, me apoiando e incentivando a seguir em frente em momentos difíceis desse caminho.

Às minhas irmãs, Eduarda Fagundes Guarda e Gabriela Fagundes Guarda pelas risadas, companheirismo e amor infinito.

Amo vocês.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Paulo Cícero do Nascimento, meus sinceros agradecimentos pela oportunidade, orientação, apoio, paciência e por todas as contribuições para a minha formação pessoal e profissional.

Ao Prof. Dr. Leandro Machado de Carvalho, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Denise Bohrer do Nascimento e o Prof. Dr. Marcelo Barcellos da Rosa pela assistência durante a realização deste trabalho.

Aos meus pais Gilson Antônio Guarda e Marlene Fagundes Guarda, e as minhas irmãs que sempre me apoiaram em cada etapa de minha vida, me ajudando e me incentivando em tudo, meu eterno muito obrigada a vocês.

A todos os colegas e amigos do LACHEM, pela convivência, carinho, ajuda, apoio e pelos momentos de descontração vividos durante todo esse período.

Gostaria de agradecer em especial à Daiane Dias pelo incentivo e coragem, pois garra, determinação e honestidade não se aprendem nos livros. Muito obrigada por tudo, amiga.

Também ao Alexandre B. Schneider pela ajuda, mesmo distante e, enorme paciência, sem o qual não teria conseguido chegar até aqui. Obrigada de coração.

Bruna Wiethan e Alexsandro Colim: Muito obrigada pelas risadas e companheirismo nas horas difíceis. Vocês foram (e são!) essenciais na minha vida.

As amigas do meu coração: Thieli Schmidt Gabbi, Aline Machado Kirchoff, Jaqueline da Rosa Barreto e Débora Lombe de Mello. Obrigada por tudo.

Ao Fernando Guilherme Kaehler Guarda pela enorme paciência, amor, amizade, carinho e compreensão que precisei durante esse período, meu sincero obrigada, amor.

A todos os funcionários e professores que colaboraram indiretamente para o desenvolvimento deste trabalho.

À Universidade Federal de Santa Maria, pela oportunidade oferecida de realizar o curso de mestrado.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

**À Deus pela vida...**

*“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”*

*(José de Alencar)*

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Química  
Universidade Federal de Santa Maria

### **DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE CONTAMINANTES METÁLICOS (Hg, Ag, Zn, Cd, Pb e Tl) EM CONCENTRADO POLIELETROLÍTICO UTILIZANDO ELETRODOS SÓLIDOS**

AUTORA: ANANDA FAGUNDES GUARDA

ORIENTADOR: PROF. DR. PAULO CÍCERO DO NASCIMENTO

Local e Data da Defesa: Santa Maria, 08 de março de 2012.

Neste trabalho é descrita a determinação voltamétrica de Hg, Ag, Zn, Cd, Pb e Tl utilizando eletrodos sólidos como eletrodos de trabalho em amostras de concentrado polieletrólítico de hemodiálise (CPHD). Estas possuem uma elevada força iônica ( $\sim 4,1 \text{ mol L}^{-1}$ ), o que impossibilita a análise direta em outras técnicas analíticas, como ETAAS. Métodos voltamétricos mostraram-se adequados para a determinação dos analitos em amostras de CPHD, sem ser necessário diluição, agentes mascarantes ou etapas de pré-concentração. As condições experimentais foram otimizadas com o objetivo de aumentar a seletividade e sensibilidade dos sinais de corrente de cada analito. Foram desenvolvidos dois métodos independentes, que permitem a análise dos metais em estudo com adequada sensibilidade, conforme é exigido pela legislação. Foi utilizado o eletrodo de carbono vítreo como eletrodo de trabalho e também como suporte para as modificações. Nesse eletrodo foi possível determinar Ag e, sequencialmente, com a formação do filme de bismuto, Zn, Cd, Pb. Com a adição de DTPA (Ácido Dietilenotriaminopentacético), determinou-se Tl. Buscando a determinação de mercúrio com adequada sensibilidade, uma segunda modificação foi realizada, e o segundo método apresenta a aplicação de cisteína sobre o filme de bismuto. Os métodos foram utilizados nas amostras de CPHD comerciais, comparando o comportamento individual dos analitos, com um meio não-salino. Os valores de limite de quantificação variam de 0,23 a 5,32  $\mu\text{g L}^{-1}$ , e os valores obtidos nos ensaios de recuperações variam entre 93,6 a 106,3%.

Palavras-chave: carbono vítreo, bismuto, cisteína, metais, concentrado polieletrólítico para hemodiálise.

## ABSTRACT

Master's Dissertation in Chemistry  
Post-graduate in Chemistry  
Universidade Federal de Santa Maria

### **DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA DE CONTAMINANTES METÁLICOS (Hg, Ag, Zn, Cd, Pb e Tl) EM CONCENTRADO POLIELETROLÍTICO UTILIZANDO ELETRODOS SÓLIDOS**

AUTHOR: ANANDA FAGUNDES GUARDA

ADVISOR: PROF. DR. PAULO CÍCERO DO NASCIMENTO

Place and Date of the presentation: Santa Maria, March 8<sup>th</sup> 2012.

This work describes the voltammetric determination of Hg, Ag, Zn, Cd, Pb and Tl using solid electrodes as working electrodes in samples of dialysate concentrates (DCs). These contain a very high ionic strength ( $\sim 4.1 \text{ mol L}^{-1}$ ), which makes the direct analysis of other analytical techniques such as ETAAS. Voltammetric methods were suitable for the determination of analytes in samples of DCs without the need for dilution, masking agents or pre-concentration steps. The experimental conditions were optimized in order to increase the selectivity and sensitivity of the current signals of each analyte. Were developed two individual methods, which enable the analysis of metals in a study with adequate sensitivity required by law. Were used a glassy carbon electrode as working electrode and as electrode support for the changes. In this electrode and Ag was determined sequentially with the film formation of bismuth, Zn, Cd, Pb. With the addition of DTPA (diethylene triamine pentaacetic acid) was analyzed Tl. Searching a second modification, the second method has the application of cysteine on the film of bismuth, showed that with adequate sensitivity for the determination of mercury. The methods were used for the analysis of commercial samples of CPHD, comparing the voltammograms of each analyte with a non-saline medium. The limit of quantification values ranging from 0.23 to  $5.32 \mu\text{g L}^{-1}$ , and the values obtained from tests for recoveries ranging from 93.6 to 106.3%.

Keywords: Glassy carbon, bismuth, cysteine, metals, dialysis concentrates.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Gráfico tensão vs. tempo empregado na voltametria de pulso diferencial, onde S1 e S2 indicam medidas de corrente.....	23
Figura 2 - Estrutura da molécula de cisteína.....	32
Figura 3 - Resumo das modificações nas superfícies dos eletrodos – Determinação de Hg.....	46
Figura 4 - Resumo das modificações nas superfícies dos eletrodos – Determinação de Ag, Zn, Cd, Pb e Tl.....	50
Figura 5 - Voltametria cíclica da modificação do eletrodo de carbono vítreo (a), (b) bismuto e (c) cisteína .....	50
Figura 6 – Relação de potencial de pré-concentração e corrente dos analitos.....	52
Figura 7 - Voltamograma das análises de mercúrio no eletrodo de cisteína em A) água Milli-Q, B) CPHD industrial LOTE: 090249012 VALIDADE: 03/02/2011 e C) CPHD industrial LOTE: 410259811 VALIDADE: 03/02/2012 .....	54
Figura 8 - Voltamograma das análises de prata no eletrodo de carbono vítreo em A) água Milli-Q, B) CPHD industrial LOTE: 090249012 VALIDADE: 03/02/2011 e C) CPHD industrial LOTE: 410259811 VALIDADE: 03/02/2012 .....	57
Figura 9 - Voltamograma das análises de Zn, Cd e Pb no eletrodo de bismuto em A) água Milli-Q, B) CPHD industrial LOTE: 090249012 VALIDADE: 03/02/2011 e C) CPHD industrial LOTE: 410259811 VALIDADE: 03/02/2012 .....	59
Figura 10 - Voltamograma das análises de tálio no eletrodo de bismuto em A) água Milli-Q, B) CPHD industrial LOTE: 090249012 VALIDADE: 03/02/2011 e C) CPHD industrial LOTE: 410259811 VALIDADE: 03/02/2012 .....	61
Figura 11 – Adição do padrão de mercúrio com adições de $2,4 \mu\text{g L}^{-1}$ .....	65
Figura 12 - Adição do padrão de prata com adições de $18,8 \mu\text{g L}^{-1}$ .....	65

Figura 13 - Adição do padrão de zinco com adições de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ .....	66
Figura 14 - Adição do padrão de chumbo com adições de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ ..	66
Figura 15 - Adição do padrão de cádmio com adições de $12 \mu\text{g L}^{-1}$ ...	67
Figura 16 - Adição do padrão de tálio com adições de $24 \mu\text{g L}^{-1}$ ...	67

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Descrição da constituição do CPHD (fração ácida).....	18
Tabela 2 - Descrição da constituição do dialisato para hemodiálise .....	18
Tabela 3 - Valores máximos permitidos de contaminantes para o dialisato e o concentrado polieletrólítico.....	19
Tabela 4 - Condições otimizadas para a formação do filme de bismuto .....	45
Tabela 5 - Condições otimizadas para a aplicação de cisteína.....	45
Tabela 6 - Condições otimizadas para a determinação de mercúrio.....	47
Tabela 7 - Condições otimizadas para a determinação de Prata.....	48
Tabela 8 - Condições otimizadas para a determinação de Zn, Cd, Pb e Tl .....	49
Tabela 9 - Valores máximos para a prata .....	56
Tabela 10 - Resultados e recuperações para as duas amostras de CPHD .....	63
Tabela 11 - Limites de detecção e quantificação dos metais estudados.....	68

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES

<b>AAMI</b>	Association for the Advancement of Medical Instrumentation's
<b>ANVISA</b>	Agência nacional de vigilância sanitária
<b>CPHD</b>	Concentrado polieletrólítico para hemodiálise
<b>DTPA</b>	Ácido Dietilenotriaminopentacético
<b>ETAAS</b>	Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry
<b>HUSM</b>	Hospital Universitário de Santa Maria
$i_c$	Corrente capacitiva
$i_{con}$	Corrente convectiva
$i_f$	Corrente faradáica
$i_m$	Corrente de migração
<b>INMETRO</b>	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
<b>LD</b>	Limite de detecção
<b>LQ</b>	Limite de quantificação
<b>NIST</b>	National Institute of Standards and Technology
<b>RDC</b>	Resolução da Diretoria do Colegiado
<b>rpm</b>	Rotação por minuto
<b>CV</b>	Do inglês, <i>cyclic voltammetry</i>

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>15</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>17</b>
<b>2.1 Concentrado Polieletrólítico de Hemodiálise</b> .....	<b>17</b>
<b>2.2 Princípio da medida</b> .....	<b>20</b>
<b>2.3 Técnicas Voltamétricas</b> .....	<b>21</b>
2.3.1 Voltametria cíclica – Caracterização do eletrodo.....	21
2.3.2 Métodos de pulso.....	22
2.3.2.1 Voltametria de pulso diferencial.....	22
2.3.3 Voltametria de redissolução.....	24
<b>2.4 Eletrodos de Trabalho</b> .....	<b>25</b>
2.4.1 Eletrodo de Carbono Vítreo .....	25
2.4.2 Eletrodo de Bismuto.....	27
2.4.3 Eletrodo de Cisteína .....	30
<b>2.5 Características dos metais analisados</b> .....	<b>35</b>
2.5.1 Mercúrio.....	35
2.5.2 Prata .....	36
2.5.3 Cádmió .....	37
2.5.4 Chumbo .....	38
2.5.5 Zinco .....	39
2.5.6 Tálíó .....	40
<b>3 ADVERSIDADES E SOLUÇÕES</b> .....	<b>41</b>
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>41</b>
<b>4.1 Otimização das condições experimentais</b> .....	<b>43</b>
<b>4.2 Método I: Descrição dos materiais e métodos para a determinação de Hg no eletrodo de cisteína</b> .....	<b>44</b>
4.2.1 Aplicação do filme de bismuto sobre o eletrodo de carbono vítreo.....	44

4.2.2	Aplicação de cisteína sobre o eletrodo de bismuto.....	45
4.2.3	Determinação de Hg no eletrodo de cisteína.....	46
4.3	<b>Método II. Descrição dos materiais e métodos para a determinação sequencial de Ag, Zn, Cd, Pb e Tl no eletrodo de carbono vítreo e bismuto.....</b>	<b>47</b>
5	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>50</b>
5.1	<b>Caracterização do eletrodo.....</b>	<b>50</b>
5.2	<b>Otimização .....</b>	<b>56</b>
5.3	<b>Método I. Determinação de mercúrio – Aplicação de cisteína sobre o filme de bismuto.....</b>	<b>58</b>
5.3.1	Voltamogramas Hg .....	59
5.4	<b>Método II. Determinação de Prata.....</b>	<b>56</b>
5.4.1	Voltamogramas Ag .....	59
5.5	<b>Método II. Determinação de Zinco, Cádmio, Chumbo e Tálho .....</b>	<b>58</b>
5.5.1	Voltamogramas Zn, Cd e Pb.....	59
5.5.2	Voltamogramas Tl.....	60
5.6	<b>Aplicação em amostras reais e possíveis interferentes .....</b>	<b>62</b>
5.7	<b>Características analíticas .....</b>	<b>64</b>
5.7.1	Linearidade .....	64
5.7.2	Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) .....	68
6	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>70</b>
7	<b>SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>72</b>
8	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>73</b>

# 1 INTRODUÇÃO

Tendo em vista a necessidade de substituição do eletrodo clássico de mercúrio, devido a sua alta toxicidade, desenvolveram-se, neste trabalho, dois novos métodos para análise de mercúrio (II), prata (I), zinco (II), cádmio (II), chumbo (II) e tálio (III) em amostras de concentrado polieletrólítico para hemodiálise (CPHD). Fez-se o uso de técnicas voltamétricas em carbono vítreo e com modificações.

Cátions de metais pesados, os quais podem ser definidos como metais que possuem uma densidade superior a  $5 \text{ g cm}^{-3}$ , possuem importância bioquímica em algumas reações celulares. Porém, em elevadas concentrações, elementos como cádmio, chumbo, mercúrio e tálio são extremamente tóxicos ao corpo humano (NIES, 1999).

A presença de elementos traço nas amostras de CPHD traz grandes prejuízos à saúde de pacientes renais crônicos, levando em consideração que os mesmos realizam o processo de diálise duas vezes por semana e, em casos mais graves, diariamente, sendo expostos a um grande volume (superior a 300 L/semana) de dialisato. Portanto, qualquer quantidade mínima de contaminante pode levar a uma elevada toxicidade clínica (TONELLI *et al.*, 2009). Por isso, um rigoroso controle de qualidade se faz necessário para o dialisato utilizado na sessão de hemodiálise, bem como para seus constituintes que, basicamente, são a água de elevada pureza e o CPHD (HOENICH, 2006).

Os valores limites existentes para água de hemodiálise são estabelecidos por órgãos internacionais como a AAMI (*Association for the Advancement of Medical Instrumentation's*) com a resolução ANSI/AAMI 13958:2009 (*Recommended practices for dialysis water treatment system*) e nacionais, como a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) com a resolução RDC 154/2004. No entanto, não há nenhuma legislação que estabeleça um limite de contaminantes para o CPHD, mesmo sendo conhecida a contaminação por metais nos sais (como por exemplo, KCl e NaCl) que originam o CPHD (SABBIONI *et al.*, 1989; NASCIMENTO *et al.*, 2011).

Entre os contaminantes presentes nos sais, o mais prejudicial à saúde é o alumínio (D' HAESE, 1996). Porém, a presença de outros metais como a prata, cádmio, chumbo, tálio e mercúrio podem ser prejudiciais à saúde humana.

A técnica analítica atual para a análise dos fluidos de hemodiálise é a espectrometria de absorção atômica (do inglês, *Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry*, ETAAS) (NASCIMENTO *et al.*, 2011). Porém, a amostra de CPHD não pode ser analisada diretamente no forno de grafite, pois esta possui altas concentrações de íons cloretos (aproximadamente  $400 \text{ g L}^{-1}$ ) o que torna o sinal de fundo muito alto, mesmo com o corretor de fundo por efeito Zeeman. Para corrigir este problema, é necessária a diluição da amostra, o que afeta a sensibilidade da medida, tendo em vista que os metais pesquisados podem estar em concentrações muito pequenas. Outras técnicas podem ser usadas, como pré-concentração através de resinas de troca iônica (BOHRER *et al.*, 1999) e co-precipitação (ELÇI, 1997), porém a sensibilidade é afetada e o risco de contaminação é elevado.

Já as técnicas voltamétricas se mostram apropriadas para o meio salino, pois possuem alta sensibilidade, seletividade, baixo custo, e excelente reprodutividade, sem ser necessária a diluição ou pré-concentração da amostra.

Frente a isso e a elevada toxicidade do eletrodo de mercúrio, a busca por novos métodos e, principalmente, novos materiais alternativos, são muito desejadas na área eletroquímica.

O eletrodo de carbono vítreo é um dos materiais mais utilizados em pesquisa eletroquímica (SHIU, 1998). Algumas modificações podem ser feitas na superfície desse eletrodo, como o filme de bismuto, que é uma alternativa muito atraente devido a sua alta reprodutividade, alta evolução de hidrogênio, bom sinal de fundo e com características comparáveis aos eletrodos comuns de mercúrio (WANG, 2005). Além dessa modificação, as proteínas têm sido utilizadas como modificadoras de superfície, devido a sua alta seletividade, que varia de metal para metal, dependendo da cadeia lateral da proteína. A cisteína, por exemplo, possui alta afinidade pelo mercúrio, através da ligação do mesmo pelo grupo sulfidril presente na molécula (MAKKUNI *et al.*, 2005).

Neste trabalho dois novos métodos são propostos para análise de metais em concentrados polieletrólíticos para hemodiálise utilizando eletrodo sólido e modificações. Foram realizadas medidas simultâneas e sequenciais de maneira a buscar o melhor sinal analítico dos metais e o melhor modo de determiná-los sem interferência mútua.



## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Concentrado Polieletrólítico de Hemodiálise

Os rins possuem um papel importante na manutenção do equilíbrio natural do corpo. Pois, quando saudáveis, regulam os eletrólitos, o equilíbrio ácido-base e a pressão arterial, atuando como um filtro natural do sangue, eliminando na urina, ureia e amônia. Também, são responsáveis pela reabsorção de água, glicose e aminoácidos, além de produzirem hormônios, como a eritropoietina (FISSEL, 1999).

Quando os rins atingirem a fase terminal, é necessário que um processo artificial remova os resíduos e o excesso de água do sangue. Existem três métodos mais comumente usados no tratamento: a diálise peritoneal, a hemodiálise e o transplante renal.

A diálise peritoneal aproveita a membrana peritoneal do abdome para filtrar o sangue, com a inserção de uma solução polieletrólítica na cavidade abdominal. Já a hemodiálise usa um tubo formado por uma membrana dialisadora, pela qual uma grande quantidade de sangue passa, retirando, através do fenômeno da osmose, a maioria das impurezas, visto que as células sanguíneas, proteínas e outros constituintes do sangue são muito grandes para atravessar a membrana (BERKOBEN, 1999).

A hemodiálise é a forma mais comum de tratamento para pacientes com doenças renais em estágio final. Esse processo ocorre por um processo de difusão entre o sangue e o dialisato (usado para manter o equilíbrio iônico) através de uma membrana semi-permeável. Este tratamento, que utiliza como princípio uma simples difusão, proporciona a remoção de toxinas urêmicas e fluidos que seriam naturalmente removidos pelo rim em uma pessoa saudável (HOENICH, 2006; TONELLI *et al.*, 2009).

O CPHD utilizado nas sessões de hemodiálise é produzido de acordo com elevados padrões de controle de qualidade química e microbiológica, e a constituição da fração ácida, que é a amostra deste trabalho, é mostrada na Tabela 1.

**Tabela 1** - Descrição da constituição do CPHD (fração ácida)

<b>Componente</b>	<b>Concentração (mol L<sup>-1</sup>)</b>
NaCl	3,61
KCl	0,05
CaCl <sub>2</sub>	0,06
MgCl <sub>2</sub>	0,03
CH <sub>3</sub> COOH	0,15

FONTE: Adaptado de rótulo da embalagem da amostra de CPHD.

As soluções de hemodiálise, também chamadas de dialisato, são preparadas misturando na proporção 1 parte de CPHD de fração ácida com 1,225 parte de fração básica, que corresponde a fração de bicarbonato 8,4%. Essa mistura é, então, diluída aproximadamente 32 vezes em parte de água tratada. A mistura final é chamada de dialisato, preparada automaticamente pela própria máquina de hemodiálise e imediatamente antes de cada sessão. A constituição do dialisato é descrita na Tabela 2.

**Tabela 2** - Descrição da constituição do dialisato para hemodiálise

<b>Soluto</b>	<b>Dialisato (mmol L<sup>-1</sup>)</b>
Sódio	130 – 145
Potássio	2,0 – 3,0
Cálcio	1 – 2
Magnésio	0,25 – 1,2
Cloreto	90 – 120
Bicarbonato	32 – 45
Lactato	0
Glicose	0 – 12

FONTE: Adaptado de rótulo da embalagem da amostra de CPHD.

Como os pacientes de hemodiálise são expostos a um grande volume de dialisato (cerca de 15 000 a 30 000 L por ano), existe uma grande probabilidade de contaminação se os constituintes (água ultrapura e concentrado polieletrólítico) do dialisato não apresentarem adequada pureza (TONELLI *et al.*, 2009).

Existem legislações nacionais e internacionais que regulam o valor máximo permitido para cada possível contaminante em águas de hemodiálise, como a AMMI (*Association for the Advancement of Medical Instrumentation*), além de estabelecerem práticas do sistema de tratamento de água de hemodiálise.

No Brasil, a ANVISA (Agência Nacional da Vigilância Sanitária) regulamenta as boas práticas e valores máximos de possíveis contaminantes nas amostras de água de hemodiálise, descritas na resolução ANVISA/RDC 154 de 15/06/2004 e também na resolução RDC Nº 8, DE 2 DE JANEIRO DE 2001. Todavia, não existe nenhuma resolução que traga valores de contaminantes para o concentrado polieletrólítico, somente para a água de hemodiálise.

Neste trabalho, consideraram-se os valores máximos permitidos para os metais presentes na água de hemodiálise, multiplicados por 32, que é o fator de diluição que o concentrado salino sofre na formação do dialisato.

Na Tabela 3 seguem os valores máximos permitidos para todos os metais estudados, seguido dos valores correspondentes para o concentrado salino.

**Tabela 3** - Valores máximos permitidos de contaminantes para o dialisato e o concentrado polieletrólítico

<b>Componente</b>	<b>Dialisato (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Concentrado salino (mg L<sup>-1</sup>)</b>
Mercúrio	0,0002	0,0064
Tálio	0,002	0,064
Prata	0,005	0,16
Cádmio	0,001	0,032
Chumbo	0,005	0,16
Zinco	0,1	3,2

FONTE: Adaptado de ANVISA/RDC 154, 15/06/2004.

Sabendo-se que a constituição principal do concentrado polieletrólítico de hemodiálise são sais, por maior que seja o controle de qualidade, esses sais de partida trazem contaminações de metais pesados naturalmente na sua composição (SABBIONI *et al.*, 1989; NASCIMENTO *et al.*, 2011).

Embora o alumínio seja o elemento que mais está relacionado com problemas junto aos pacientes de hemodiálise, outros elementos traço podem ser significativos se presentes em concentrações fora do permitido (D'HAESE 1996).

## 2.2 Princípio da medida

Em voltametria, um potencial é aplicado no eletrodo de trabalho em relação ao eletrodo de referência. Esse potencial aplicado na superfície pequena do eletrodo de trabalho faz com que o analito troque elétrons na superfície do mesmo, se reduzindo ou se oxidando. O consumo do analito, em virtude da pequena área superficial do eletrodo é desprezível.

A corrente medida é a soma da contribuição das correntes individuais, tais como a corrente capacitiva ( $i_c$ ), resultante da formação da dupla camada elétrica na interface eletrodo-solução e a corrente Faradaica ( $i_f$ ), resultante da troca de elétrons entre o analito e o eletrodo. A  $i_c$  não tem ligação com a lei de Faraday, e pode ser negligenciada com o uso do eletrodo estacionário, pois uma vez formada a dupla camada elétrica, ela permanece estável (KAPOOR, 1991; ZUTSHI, 2006).

## 2.3 Técnicas Voltamétricas

A mais importante característica dos métodos eletroquímicos é o estabelecimento da relação direta entre a concentração do analito e alguma propriedade elétrica como corrente, potencial, condutividade, resistência ou carga. No caso da voltametria, a relação direta se dá através da relação entre concentração do analito e corrente elétrica.

Além do baixo custo e elevada sensibilidade, a voltametria apresenta uma vantagem que consiste na medida ser realizada diretamente na amostra sem necessidade de pré-tratamento, fazendo com que as técnicas voltamétricas sejam cada vez mais utilizadas (SOUZA, 2003).

### 2.3.1 Voltametria cíclica – Caracterização do eletrodo

Embora a voltametria cíclica (do inglês, *cyclic voltammetry*, CV) não seja comumente empregada na análise quantitativa, ela é muito importante para estudos como ferramenta do diagnóstico que fornece informações do mecanismo de reação redox envolvendo produtos formados no eletrodo.

Na CV primeiramente a varredura de potenciais é feita em um sentido e logo após é realizada a varredura em sentido contrário, tudo isso enquanto a corrente é medida. Pode-se realizar apenas um ou vários ciclos. A direção da varredura pode ser tanto positiva, quanto negativa dependendo da composição da amostra.

São chamados de potenciais de inversão aqueles potenciais nos quais a reversão de sentido ocorre e devem ser escolhidos de forma que se possa analisar e observar o pico de redução ou oxidação da espécie estudada (SKOOG, 2006).

Devido a sua irrefutável importância, a voltametria cíclica pode ser usada para estudos complexos em eletrodos modificados com filmes (SCHOLZ, 2002).

### 2.3.2 Métodos de pulso

Devido ao avanço no desenvolvimento de técnicas eletroanalíticas e à evolução da tecnologia na parte da informática, houve a possibilidade de melhora na interface com equipamentos eletroquímicos. Este avanço mudou o modo da perturbação imposta ao eletrodo de trabalho, assim como a medida do sinal, que proporcionou o desenvolvimento e o aperfeiçoamento de técnicas voltamétricas de pulso. Na década de 50, a técnica de pulso começou a substituir outras técnicas voltamétricas, como a polarografia, que até então eram utilizadas e que estavam em declínio devido à lentidão e inconveniência dos equipamentos, além dos pobres limites de detecção.

Na técnica de pulso, a perturbação do potencial do eletrodo não é linear em função do tempo, sendo que esta variação do potencial segue no formato de degraus, ou seja, uma sequência de pulsos que vão aumentando no sentido positivo ou negativo. A corrente medida também está relacionada com a largura do pulso e com o degrau de potencial que é aplicado.

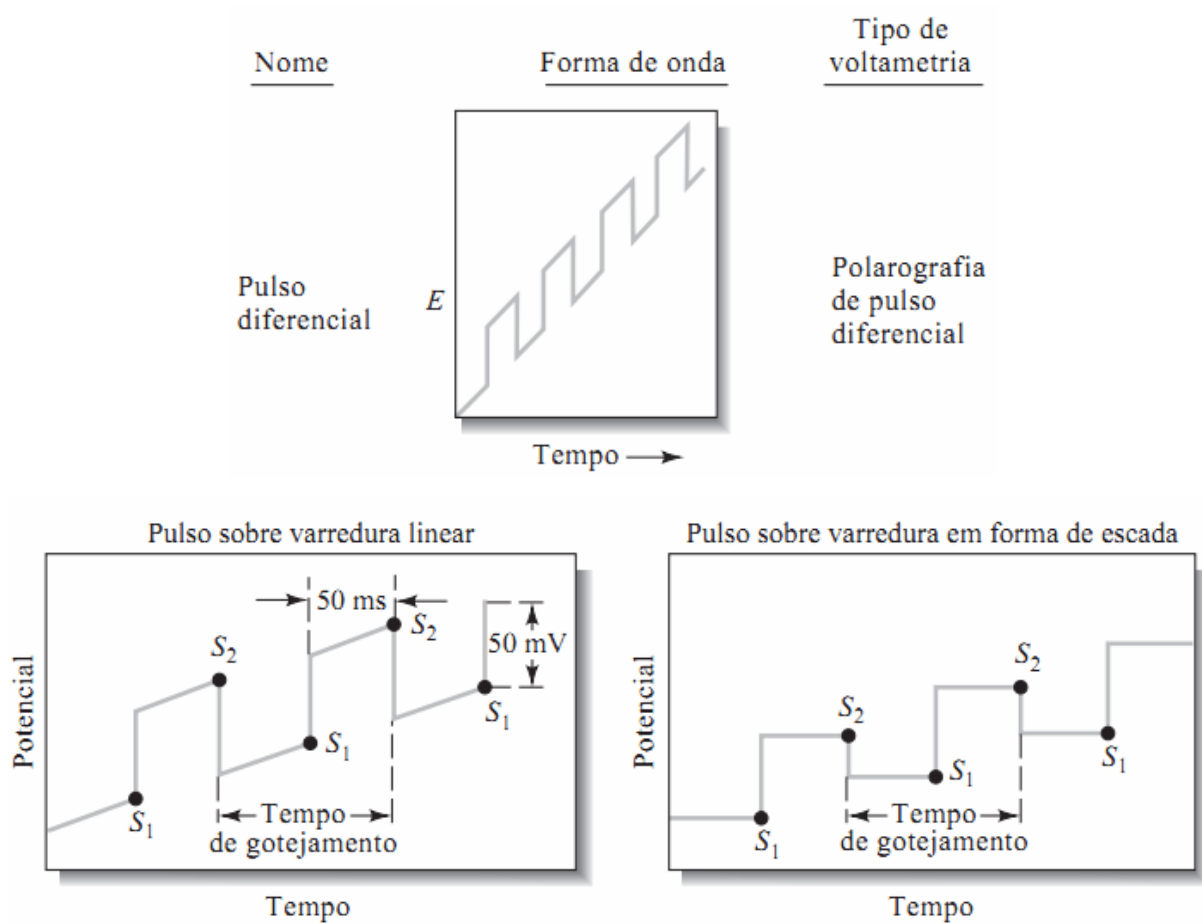
A diferença na maneira de como os pulsos são aplicados é que define as características de cada técnica de pulso (SOUZA, 2003).

#### 2.3.2.1 Voltametria de pulso diferencial

Na voltametria de pulso diferencial, os pulsos são aplicados na forma de degrau de mesma amplitude sobre uma rampa de potencial, e a corrente é medida antes do pulso ser aplicado e no final da aplicação do pulso. A subtração das correntes medidas é a corrente final.

Ao medir-se a corrente antes da aplicação do pulso, é obtida uma corrente não-faradáica, no entanto, com o tempo, essa corrente aproxima-se de zero, e é nesse instante que a nova medida de corrente é feita. Essa segunda medida de corrente é ainda subtraída da corrente residual não-faradáica tornando o sinal-ruído menor. Isso faz com que esta técnica possua melhor sensibilidade. Esta correção de

correntes possibilitada pelo modo de pulso diferencial permite obter limites de detecção da ordem de  $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  (SKOOG, 2006).



**Figura 1** - Gráfico tensão vs. tempo empregado na voltametria de pulso diferencial, onde  $S_1$  e  $S_2$  indicam medidas de corrente. FONTE: SKOOG, 2006.

### 2.3.3 Voltametria de redissolução

A voltametria de redissolução possui excelente sensibilidade que é atribuída a uma etapa de pré-concentração com agitação, juntamente com um processo de medida que gera um sinal-ruído extremamente favorável.

Na etapa de pré-concentração, apenas uma fração do analito é depositada no eletrodo, que necessita que certos fatores como tempo de pré-concentração, potencial, tamanho do eletrodo e velocidade de agitação sejam controlados para que os resultados quantitativos sejam confiáveis.

Após esta etapa de pré-concentração, é feita uma varredura de potencial no qual o analito é redissolvido (do inglês, *stripping*) para a solução. A análise voltamétrica por redissolução possui duas variantes, sendo uma delas a varredura no sentido positivo e a outra no sentido negativo.

A quantidade de analito depositado representa uma pequena (porém reprodutível) fração do analito presente na solução.

Terminada a etapa de deposição, a agitação da solução é encerrada para se terminar com o transporte de massa, e o potencial é, então, varrido no sentido positivo ou negativo, de forma linear ou pulsado (pulso diferencial ou onda quadrada).

No caso dos metais, durante a varredura no sentido positivo dos potenciais os metais amalgamados são reoxidados, sendo redissolvidos do eletrodo para a solução, numa sequência que respeita os seus potenciais padrões (HENZE & THOMAS, 2001).



## 2.4 Eletrodos de Trabalho

O mercúrio tem sido o material de eletrodo utilizado em muitas aplicações voltamétricas. Embora este eletrodo de pequeno volume ofereça um desempenho atraente, eletrodos com materiais alternativos e com desempenho semelhante são urgentemente necessários para suprir as crescentes preocupações em relação à toxicidade, volatilidade, manipulação e o tratamento de resíduos desse tipo de eletrodo (WANG, 2005). Tais preocupações são importantes para estimular o crescimento de novas alternativas, para que o desafio de se conseguir um eletrodo sólido com características semelhantes ao eletrodo de mercúrio seja alcançado.

Para a medida voltamétrica possuir essas características, a escolha do eletrodo sólido é fundamental, e dependerá fortemente da faixa de potenciais úteis na solução de trabalho e da pureza do material. A faixa de trabalho está delimitada por um ou mais dos seguintes fatores:

- Decomposição do solvente;
- Decomposição do eletrólito suporte;
- Envenenamento por contaminação;
- Dissolução do eletrodo ou formação de uma camada de substância isoladora (BRETT, 1996).

Neste trabalho foram utilizados três eletrodos de trabalho: eletrodo de carbono vítreo, bismuto e cisteína.

### 2.4.1 Eletrodo de Carbono Vítreo

O carbono é um dos elementos mais abundantes na Terra, surgindo livremente na forma cristalina, como grafite ou diamante. Esse tipo de material tem um papel importante no desenvolvimento de eletrodos sólidos, pois geralmente são de baixo custo e estão disponíveis em várias formas, além de possuir uma ampla

janela de potenciais. Além disso, possui propriedades físicas e químicas que o torna um interessante material para eletrodos, como pequena permeabilidade e porosidade, além de baixa taxa de oxidação e inércia elevada (JOVANOVIĆ *et al.*, 2001; ZITTEL, 1965).

Para serem obtidos eletrodos de carbono vítreo de forma reprodutível, é necessário um tratamento em sua superfície. Este tratamento é realizado polindo a superfície com pó de alumina, disponível em uma gama de tamanhos de partículas. No entanto, após o polimento o eletrodo não está completamente limpo, e é necessário um tratamento eletroquímico, aplicando diferentes potenciais, durante determinados períodos de tempo, para oxidar ou reduzir impurezas, removendo-as da superfície do eletrodo (WANG *et al.*, 2000).

Apesar do sinal de fundo gerado por impurezas, na fase estacionária ou pela formação da dupla camada elétrica, eletrodos sólidos como o eletrodo de carbono vítreo são utilizados para diversos fins (ZITTEL, 1965). Devido à elevada atividade em sua superfície são mais susceptíveis a problemas de interferência e seletividade. Apesar disso, o eletrodo de carbono vítreo pode ser usado em determinações de diversos analitos, como a determinação de Zn, Cd, Pb e Cu em fluxo, evitando a formação de intermetálicos (STADEN, 2000), Mg e Al por voltametria adsortiva (EL-MAALI *et al.*, 2000), Cu e suas melhores condições de análise (SHIU, 1998), Cr utilizando eletrodo modificado com nanopartículas de ouro (ZI *et al.*, 2008). Além de compostos inorgânicos, a determinação de compostos orgânicos, como dopamina, ácido ascórbico e ácido úrico usando um modificador, também é descrita por HU *et al.*, 2009.

Existe ainda uma grande variedade de trabalhos descritos na literatura que mostram a versatilidade do eletrodo para inúmeros compostos e modificações superficiais (GHONEIM, 2001; WANG *et al.*, 2002; COX, 1984; LAU, 1989; SHI, 2001; SOUZA, 1996; GOYAL, 2006; ANGUIANO *et al.*, 2011; SONG, 2010; ZHAO *et al.*, 2010; HE *et al.*, 2012).

Já a determinação da prata não permite a análise simultânea e/ou sequencial de outros metais, como o Zn, Cd, Pb e Tl, devido a formação de compostos intermetálicos, pois ao formar uma liga muito estável com o bismuto, torna-se um forte interferente na determinação dos mesmos (MIKKELSEN *et al.*, 2003).

Devido a formação desta liga, a determinação sequencial de Zn, Cd, Pb e Tl no eletrodo de bismuto é prejudicada, pois a preferência do bismuto pela formação

da liga Ag-Bi do que pelos outros metais diminui a quase zero o valor da corrente de pico dos mesmos, comparados as mesmas condições, sem a presença de prata.

Com base nessas informações, buscou-se uma forma de minimizar a interferência da prata na análise sequencial. De acordo com KIRCHHOFF, 1996 e SHARMA, 1969, a prata forma um complexo estável com o selênio ( $\text{Ag}_2\text{Se}$ ), diminuindo assim sua interferência, e permitindo a análise sequencial de Zn, Cd, Pb e Tl.

Porém, acima de 2,268  $\mu\text{g}$  de Ag(I) e acima de 3,765  $\mu\text{g}$  de Se(VI), a análise torna-se inviável, pois o excesso de selênio forma ligações covalentes Se-Se, deixando a prata livre, e interferindo na análise sequencial de Zn, Cd, Pb e Tl de forma a ficar abaixo dos valores descritos pela legislação. Essa massa de prata corresponde à massa total da célula, ou seja, a soma das massas das adições com a massa da amostra, e a de selênio corresponde à massa adicionada na célula voltamétrica.

Essa massa pré-definida é muito próxima ao valor máximo sugerido das amostras de CPHD nesse trabalho, fornecendo a possibilidade de análise com curvas de calibração bem menores do que máxima definida por esse trabalho.

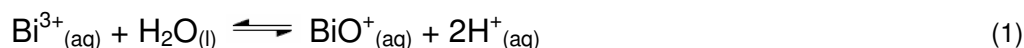
#### 2.4.2 Eletrodo de Bismuto

Eletrodos quimicamente modificados foram introduzidos por MURRAY em 1980 para designar eletrodos com moléculas quimicamente ativas, imobilizadas na superfície do eletrodo, com o objetivo de modificar e controlar a interface eletrodo/solução. Como a modificação na superfície do eletrodo modifica a reatividade e/ou seletividade das espécies em solução, possibilita o desenvolvimento de eletrodos com adequada resposta para vários propósitos (SOUZA, 1997).

Um aspecto importante é a escolha do substrato, ou seja, o eletrodo base para a modificação. Este deve apresentar características eletroquímicas apropriadas e ser adequado para o método de imobilização escolhido. Entre os mais usados podemos citar: ouro, platina, carbono vítreo, mercúrio na forma de filme, fibras de carbono e pasta de carbono (PEREIRA, 2002).

Existem vários tipos de agentes modificadores de eletrodos que são empregados em determinações voltamétricas de metais com fim analítico. Dentre estes, encontra-se o bismuto, que vem sendo bastante utilizado por possuir características semelhantes às do eletrodo de mercúrio, sem o inconveniente da toxicidade.

O bismuto é um metal cristalino e de coloração branco avermelhado. Funde a 271,5°C. Forma íons trivalentes e pentavalentes, sendo o mais comum o trivalente,  $\text{Bi}^{3+}$ . O hidróxido de bismuto,  $\text{Bi}(\text{OH})_3$  é uma base fraca, portanto, os sais de bismuto se hidrolisam rapidamente, conforme a equação (1).



O íon bismutílica,  $\text{BiO}^{+}$ , forma sais insolúveis, como por exemplo o cloreto de bismutílica ( $\text{BiOCl}$ ) com a maioria dos íons. Para manter o íon bismuto em solução, deve-se acidificar o meio, pois assim, o equilíbrio acima se desloca no sentido da formação dos íons  $\text{Bi}^{3+}$  (VOGEL, 1981).

Além disso, o eletrodo de filme de bismuto (da sigla inglesa, BiFE) apresenta vários pontos favoráveis como amplo intervalo de potencial negativo, alta sensibilidade e simples preparação (HUTTON, 2004).

A eletrodeposição de bismuto metálico sobre a superfície do eletrodo normalmente não ocorre como uma simples camada monoatômica. A formação do filme acontece em duas etapas: a nucleação e o crescimento, onde se dá a formação dos núcleos de crescimento e o crescimento do filme a partir desses núcleos. O número de núcleos formados depende da qualidade da superfície do eletrodo, do potencial adequado para a formação do filme e da composição da solução de eletrodeposição. Quando o eletrodo de trabalho não é composto pelo material a ser eletrodepositado, é necessária a criação dos núcleos para o subsequente crescimento do filme. Já quando o substrato é composto pelo mesmo material do filme, este cresce a partir da superfície do eletrodo, sendo desnecessária a formação dos núcleos de crescimento (BOBROWSKI, 2004).

Existem dois tipos principais de eletrodo de bismuto: o eletrodo de bismuto *in situ* e o eletrodo de bismuto *ex situ*. Existem, ainda, os eletrodos de bismuto produzidos por nanopartículas (LEE *et al.*, 2010) e aqueles produzidos por técnicas de *sputtering* (ECONOMOU *et al.*, 2007).

Os eletrodos produzidos *in situ* são aqueles que possuem a solução de bismuto concomitante com os analitos de interesse, ou seja, bismuto e analito competem com a deposição no substrato ou formam ligas que se depositam na superfície do eletrodo sólido. Nesse caso, as condições de eletrodeposição são determinadas pelas condições de análise.

Se a formação do filme for *in situ*, essa etapa ocorre simultaneamente com a etapa de pré-concentração, onde por uma aplicação de potencial constante e agitação, o analito e o bismuto se eletrodepositam na superfície do eletrodo.

Após essa etapa, descrita na equação 4, ocorre a redissolução do metal, onde  $M^{+n}$  é o metal a ser analisado e  $M(\text{Bi})$  é a liga formada entre o metal e o bismuto, semelhante ao que ocorre na formação do amálgama, no eletrodo de mercúrio.

A concentração dos íons  $\text{Bi}^{3+}$  deverá ser superior a dos analitos a serem determinados, como forma de evitarem-se problemas de saturação no eletrodo. Uma vez que os íons de bismuto são muito susceptíveis a sofrer hidrólise em meios neutros ou alcalinos, há certas limitações em relação aos valores de pH utilizados. Porém, a utilização da formação do filme *in situ* simplifica e reduz o tempo de análise.

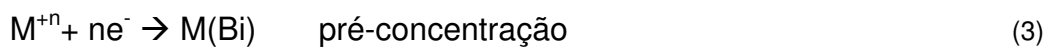
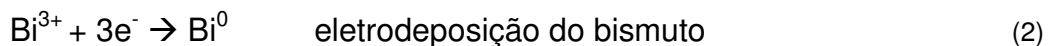
Através desse método, diversas análises de metais foram realizadas como, por exemplo, análise de Pb (WANG *et al.*, 2000; KEFALA, 2003), Cd (COMPTON *et al.*, 2007), Zn (WANG, 2005), In (ECONOMOU, 2005), TI (NETO, 2007), Sn (PRIOR, 2005) e Al (ECONOMOU, 2006).

Já os eletrodos produzidos *ex situ* tem como característica a formação do filme sobre o eletrodo de carbono vítreo, onde o recobrimento da superfície transfere as propriedades do bismuto à superfície vítrea. As condições de eletrodeposição do filme são variáveis. Meio ácido é sempre recomendado, pois o bismuto é facilmente hidrolisado em pH elevado. Além disso, este meio deve conter uma concentração adequada de íons  $\text{Bi}^{3+}$  e o potencial e tempos de eletrodeposição devem ser suficientes para promover a completa formação do filme (ECONOMOU, 2005).

No caso do uso desse tipo de formação do filme, o processo de revestimento do eletrodo é complicado, e uma cobertura ineficiente de sua superfície pode levar a degradação do eletrodo (HWANG *et al.*, 2008). Porém os metais estudados neste trabalho formam uma liga metálica com o bismuto, e a presença destes e de  $\text{Bi}^{3+}$  em solução garante a homogeneidade do filme durante a análise.

A deposição *ex situ*, de uma maneira geral, ocorre primeiramente com a eletrodeposição do bismuto na superfície do eletrodo, em uma solução contendo íons  $\text{Bi}^{3+}$ , por uma aplicação constante de potencial e agitação. Em uma solução separada (amostra), ocorre a pré-concentração dos metais na superfície do filme. O meio ácido também deve ser mantido, para evitar a degradação do filme.

O mecanismo envolvido na deposição do bismuto na superfície do carbono vítreo está descrita nas equações (2), (3) e (4) (WANG, 2005):



Na etapa de eletrodeposição do bismuto, ocorre a transferência de elétrons entre a superfície do eletrodo e o  $\text{Bi}^{3+}$  em solução, e o  $\text{Bi}^{3+}$  se reduz a  $\text{Bi}^0$ .

Eletrodos de bismuto previamente depositado têm sido utilizados para a determinação de metais como Co (KOROLCZUK, 2005; HUTTON, 2006; KROLICKA, 2002), Ni (HUTTON, 2005), Cr (CHATZITHEODOROU, 2004), V (WANG *et al.*, 2006) e U (LIN *et al.*, 2005; KEFALA, 2005).

Por permitir que o processo de deposição do filme de bismuto e a determinação dos analitos sejam controlados em processos individuais, a formação de filmes de bismuto *ex situ* é mais versátil do que a *in situ*, porém é um método laborioso, demandando maior tempo de análise.

#### 2.4.3 Eletrodo de Cisteína

O ácido 2-amino-3-mercaptopropanóico (L-cisteína) é um aminoácido com papel importante nos setores como medicina e química dos alimentos. É considerado um aminoácido não essencial quando em condições fisiológicas normais, quantidades suficientes do mesmo são originadas da dieta e do metabolismo do aminoácido essencial metionina e do aminoácido não essencial serina. No entanto, a L-cisteína é estabelecida como condicionalmente essencial em certas condições, como em casos de neonatos prematuros (SHEW *et al.*, 2005).

Existem trabalhos que propõem a utilização de proteínas como modificação de eletrodos para a determinação de uma série de analitos, que variam de acordo com a proteína utilizada e o tipo de eletrodo que agirá nesse caso como suporte (GULABOSKI *et al.*, 2011).

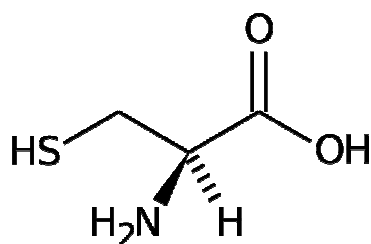
Essas proteínas podem se arranjar de muitas formas para a determinação de vários metais. Suas cadeias laterais polares podem atuar como ligantes para íons metálicos com base na teoria de ácidos e bases duros e moles. A teoria HSAB (do inglês, *hard soft acids bases*) é descrita por Pearson em 1963 e relata as interações entre íons metálicos (ácido de Lewis) e ligantes (bases de Lewis). Ficou convencionalizado que cátions duros são aqueles que formam complexos estáveis com ligantes duros e cátions moles com ligantes moles.

De acordo com esta classificação, íons duros são caracterizados por pequeno raio e grande carga, portanto, ligantes duros também, resultando apenas atração eletrostática na combinação de ambos. Já íons moles, ou seja, grande raio e pequena carga, combinados com ligantes moles formam entre si complexos estáveis.

A seletividade entre íons metálicos e ligantes depende da natureza dos dois e também de fatores como o tamanho do íon e o pH do meio (PEARSON, 1963).

A complexação de metais por aminoácidos é dada pela reação do grupo amino e do grupamento carboxílico com a formação do anel. Quando este aminoácido possuir outro grupo funcional além do grupamento amino e carboxílico pode atuar como um ligante tridentado.

Quando o aminoácido possui nitrogênio como doador na sua cadeia lateral como histidina, lisina, arginina ou possui enxofre como doador, como a cisteína, eles têm forte preferência de ligação para a classe B de metais ( $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Hg}^+$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ , e  $\text{Au}^{2+}$ ) (YUSOF, 2011; MAKKUNI *et al.*, 2005). A Figura 2 mostra a estrutura da molécula de cisteína.



**Figura 2** – Estrutura da molécula de cisteína.

Existem muitos trabalhos que descrevem a adsorção de L-cisteína sobre o eletrodo de ouro devido à alta afinidade desse elemento pelo enxofre da molécula da proteína (HERNÁNDEZ, 2002; HIBBERT, 2001; RISO *et al.*, 2000).

Com a atual conscientização ambiental sobre o impacto de metais pesados no meio ambiente, cada vez mais se faz necessário o monitoramento desse tipo de contaminação. Mercúrio é um dos mais perigosos contaminantes ambientais e com sérias implicações na vida humana devido a sua afinidade pelos íons sulfidríla, grupos presentes nas proteínas, levando à inibição inespecífica de células enzimáticas (CHEN, 2011; JALILEHVAND *et al.*, 2006). A busca pela determinação desse elemento em concentrações cada vez mais baixas exige métodos analíticos cada vez mais sensíveis (ROMANENKO, 2005).

Segundo TAN *et al.* o filme de cisteína teria melhor resposta sendo aplicado sobre uma modificação no eletrodo de carbono vítreo, visto que isso aumenta a resposta do eletrodo, pois diminui o sobrepotencial associado aos processos no eletrodo, aumentando a corrente oxidativa dos compostos sulfidríla presente na proteína.

Autores confirmam que a aplicação do eletrodo de bismuto sobre o eletrodo de carbono vítreo proporciona a superfície adequada para a deposição eletroquímica da cisteína, seguindo a equação (5) (XU, 2008; SOTIROPOULOS *et al.*, 2008):



Como foi constado experimentalmente, o sinal do mercúrio não é observado no eletrodo de carbono vítreo e filme de bismuto nas quantidades sugeridas por este trabalho, mesmo com tempos de pré-concentração elevados, de até 10 minutos.



Sabe-se que existe uma faixa de concentração de bismuto que é necessária para que a espessura do filme proporcione a melhora dos sinais. Tanto baixas quanto altas concentrações interferem negativamente na formação de sítios de nucleação do bismuto na superfície do eletrodo de carbono vítreo.

A concentração ótima de bismuto é de 0,01 a 1 mg L<sup>-1</sup> (COMPTON *et al.*, 2007), sendo que a escolhida nesse trabalho foi de 0,6 mg L<sup>-1</sup>. No entanto, mesmo alterando a espessura do filme, não se obteve a sensibilidade requerida para os valores estipulados para as amostras de CPHD nos eletrodos de bismuto e carbono vítreo. Buscou-se então uma modificação na superfície do eletrodo de carbono vítreo ou bismuto que proporcionasse a sensibilidade requerida.

Um grupo de pesquisadores tem investigado o desenvolvimento de biossensores eletroquímicos baseados em peptídeos para a detecção de metais pesados, pois os estes podem apresentar um número grande de ligações com diversos metais (YUSOF, 2011; MAKKUNI *et al.*, 2005).

Com base na afinidade dos íons de mercúrio pela sulfidril, o aminoácido cisteína foi escolhido para a modificação do eletrodo (HEYROVSKY *et al.*, 1997). A descrição da formação do composto Bi(Cys)<sub>3</sub> é apresentada pela literatura e, com base nesse composto, a determinação de mercúrio é proposta a partir da interação do mesmo com o eletrodo modificado de cisteína (SOTIROPOULOS *et al.*, 2008; XU, 2008).

Quando exposta ao ar ou no interior de proteínas, a cisteína se oxida para cistina, que é um dissulfeto formado pela oxidação de duas moléculas de cisteína. Para evitar a oxidação, a solução preparada de 1% de L-cisteína era desaerada antes e após a solubilização da mesma em ultrassom (SAGARA, 1993).

A formação do composto Bi(CyS)<sub>3</sub> é favorecida em valores de pH mais elevados do que o usado nesse trabalho (pH 4,7), pois os grupos tiol e amina são protonados. Porém, medidas experimentais e relatos na literatura (SOTIROPOULOS *et al.*, 2008) mostram que em valores de pH elevados, ocorre a formação de hidróxido de bismuto durante a aplicação do potencial, impedindo a formação do filme de cisteína.

A determinação de mercúrio pela aplicação do filme de cisteína sobre o de bismuto em um eletrodo de carbono vítreo não é descrita pela literatura. Apenas é possível verificar a existência da formação dos compostos Hg-Cis e Cis-Bi e, portanto, pode-se sugerir que, com a aplicação do filme de cisteína sobre o eletrodo

de bismuto, a determinação de mercúrio é possível obedecendo aos limites impostos pela legislação.

Amostras salinas com concentrações de íons cloreto entre  $2 \cdot 10^{-3}$  a 0,5 M aumentam o valor de corrente de mercúrio, devido à formação de  $\text{HgCl}_4^{2-}$ . Porém as amostras de CPHD possuem concentrações de íons cloretos muito superior a estes valores ( $\sim 400 \text{ g L}^{-1}$ ) e a formação de  $\text{Hg}_2\text{Cl}_2$  nesse tipo de amostra é favorecida, diminuindo o sinal analítico do mercúrio (RISO *et al.*, 2000).

Apesar da formação de  $\text{Hg}_2\text{Cl}_2$  pela alta concentração de íons cloreto presente na amostra, o método possui sensibilidade suficiente que atenda aos valores estipulados nesse trabalho para esse tipo de amostra.

## 2.5 Características dos metais analisados

### 2.5.1 Mercúrio

Este elemento pode estar presente na forma orgânica (metilmercúrio) ou inorgânica. Atualmente, o mercúrio é usado em conservantes, em algumas vacinas e em produtos comerciais, como lâmpadas, baterias, termômetros e medidores de pressão arterial.

A forma mais comum de intoxicação por mercúrio pela população de uma forma geral incluem vapores de mercúrio inorgânico, amálgamas dentárias (que hoje não são mais usadas) e mercúrio orgânico derivado do consumo de peixes (CLARKSON, 2003; NUTTAL, 2004).

Os órgãos do corpo humano que sofrem por intoxicação de mercúrio são os rins e o sistema nervoso. Levando em consideração os pacientes urêmicos que passam pelo processo de hemodiálise, estes não devem se contaminar neste tratamento, pois não podem excretar a contaminação (TONELLI *et al.*, 2009).

Os sintomas de uma contaminação grave por mercúrio a partir de vapores incluem: pneumonite, tremor intencional, sintomas psiquiátricos e gengivite. Os sintomas de mercúrio metilado podem demorar de semanas a meses para ocorrerem, sendo eles: ataxia e constrição do campo visual.

Vários estudos têm sugerido que o aumento dos níveis de mercúrio na unha, cabelo ou no sangue (na forma orgânica ou inorgânica) estão associados a um risco maior de infarto do miocárdio ou outros eventos vasculares (KAZANTZIS, 2002; HOUSTON, 2011).

## 2.5 2 Prata

A prata pode ser absorvida pelo corpo humano através da ingestão, administração tópica ou inalação. Devido as suas características, como excelente condutividade térmica e baixa resistividade, este elemento possui inúmeras aplicações.

Prata metálica é utilizada para a fabricação de próteses, fungicidas e cunhagem. Prata solúvel é usada para o tratamento de doenças mentais, epilepsia, doenças infecciosas incluindo gonorreia e sífilis.

A indústria fotográfica utiliza propriedades fotossensíveis do cloreto de prata. Já a medicina, a combinação da prata mais conhecida é com a sulfadiazina como agente tópico para evitar infecções em queimaduras, além de possuir excelente atividade bactericida.

Estudos oftalmológicos afirmam que o decréscimo da visão noturna é devido à deposição da prata na córnea ocular (DRAKE, 2005).

Quando há exposição por tempo prolongado por diferentes compostos de prata, como o lactato de prata, nitrato de prata, e algumas proteínas de prata, como o Protargol apresentam efeitos tóxicos no sistema nervoso central e nas células glia (PANYALA, 2008).

Pessoas que ingerem a prata coloidal, além de possuírem aparência de pele azulada e serem fotossensíveis, podem apresentar outros problemas, tais como: hiperlipidemia, hipertensão, diabetes, doença do refluxo gastroesofágico, hipertrofia prostática benigna, e transtorno de estresse pós-traumático (CHANG, 2006).

Quando o processo de hemodiálise não ocorre de forma eficiente, ou quando há contaminação nas soluções usadas no tratamento de insuficiência renal, o paciente pode vir a se intoxicar e o processo de diálise não é capaz de retirar a prata que fica ligada aos tecidos do corpo (SUE *et al.*, 2001).

### 2.5.3 Cádmi

A intoxicação por cádmio pode ser principalmente por via respiratória, oral ou parenteral, resultando em sintomas como: vômitos, tonturas, síncope, dificuldades de respiração, perda da consciência, retardo do crescimento, comprometimento da reprodução, hipertensão, risco de câncer, câibras e diminuição de absorção de cálcio no sistema gastrointestinal.

Mesmo assim, este elemento é usado em anti-helmínticos, anti-sépticos, acaricidas e nematicidas. O cádmio também é usado como estabilizador e em plásticos, baterias Ni-Cd recarregáveis, na constituição de materiais semicondutores, em esmaltes cerâmicos e outros (ROBARDS, 1991; NORDBERG, 2009).

O cádmio que aparece no meio ambiente ocorre como resultado das emissões vulcânicas, que por sua vez também é liberado pela vegetação.

A permanência do cádmio no corpo humano varia de 5 a 30 anos e a maior concentração se encontra no fígado.

Os níveis séricos de cádmio em pacientes com insuficiência renal crônica que fazem hemodiálise, possuem valores aumentados (cerca de 114%) em relação a pacientes que não passam pelo processo.

Como a presença desse elemento pode estar agregada a cosméticos, poluição do ar e água, os pacientes que ainda não tem perda total da função renal podem vir a acumular elementos tóxicos que podem contribuir para a deterioração dos rins (EL-SHERBENY, 2006).

#### 2.5.4 Chumbo

O chumbo é utilizado em uma grande variedade de produtos, como baterias, corantes, tintas para colorir o cabelo e cosméticos em geral. Exposição ocupacional pode ocorrer em minas, fundições e fábricas de baterias.

Na área ambiental e médica, a exposição ao chumbo continua a ser um importante problema em termos de impacto e saúde pública (PAN *et al.*, 2010).

O chumbo pode causar danos à saúde humana através de três rotas: inalação, ingestão e contato com a pele.

Os níveis de chumbo são medidos através do sangue, em microgramas de chumbo por decilitro de sangue ( $\mu\text{g dL}^{-1}$ ), onde acima de  $70 \mu\text{g dL}^{-1}$  o paciente deve ser internado imediatamente.

Os efeitos tóxicos do chumbo envolvem vários sistemas de órgãos dentro do corpo humano, e variam desde sutis efeitos bioquímicos, que são, na verdade, biomarcadores de exposição, até manifestações de efeitos clínicos. Anemia hipocrômica pode ocorrer em  $80 \mu\text{g dL}^{-1}$ , enquanto a redução da produção de hemoglobina ocorre acima de  $50 \mu\text{g dL}^{-1}$  em adultos e  $40 \mu\text{g dL}^{-1}$  em crianças. Sua toxicidade também é associada à esterilidade, abortos e mortalidade neonatal (JUBERG, 1997).

O tratamento da ingestão aguda de chumbo é feito com lavagem gástrica com solução de sulfato de magnésio a 1%. As cólicas são tratadas com atropina e gluconato de cálcio e a agitação e convulsão com benzodiazepínicos. Quando houver ausência de encefalopatia, procede-se à infusão endovenosa de EDTA cálcico em concentrações abaixo de 3% por 5 a 7 dias, prosseguindo com penicilamina oral, na dose de  $20 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ . Na vigência de encefalopatia associa-se ao EDTA ( $12,5 \text{ mg kg}^{-1}$ ), o BAL  $3 \text{ mg kg}^{-1}$  a cada 4 horas por via intramuscular (VALENTINE *et al.*, 1976).

Após a absorção do chumbo, o fluxo sanguíneo elimina o mesmo em até 35 dias, no entanto, leva de anos a décadas para a eliminação do chumbo aderido ao osso. Em períodos como a lactação, gravidez e menopausa há um aumento da incorporação de chumbo, ao invés de cálcio nos ossos (LU *et al.*, 2011).

Recentes investigações mostram que a exposição ambiental ao chumbo está relacionada com a insuficiência renal progressiva em pacientes com ou sem

diabetes. Em pacientes em estágio final da doença renal, o chumbo acumulou-se nos ossos, e os níveis de chumbo no sangue aumentaram com a manutenção da hemodiálise (LIN *et al.*, 2010).

Devido ao grande volume a que são expostos os pacientes de insuficiência renal, durante o processo de hemodiálise, substâncias presentes no dialisato e não no sangue tendem a acumularem-se nos pacientes, podendo levar a toxicidade de elementos traço (D'HAESE *et al.*, 1999; RUCKER, 2010).

### 2.5.5 Zinco

O zinco é um elemento que representa cerca de 0,02% da crosta terrestre e é o 23º elemento mais abundante.

O zinco é associado a mais de 50 distintas metalo-enzimas, que tem uma gama diversificada de funções, incluindo a síntese de ácidos nucleicos e proteínas específicas, tais como hormônios e seus receptores. Por estas razões, o zinco desempenha um papel muito importante no crescimento celular e metabolismo.

A absorção do zinco se dá no intestino delgado, que também regula a absorção fracionada de zinco, como a excreção no suco pancreático e em outras secreções gastrointestinais (KENNETH, 2000).

Tanto o excesso como a deficiência desse elemento é prejudicial ao corpo humano. A falta de zinco diminui a condução nervosa, a cicatrização, causa infertilidade, lesões de pele. Já o excesso apresenta um distúrbio respiratório após a inalação de zinco, náuseas, vômitos, diarreia e um elevado risco de câncer de próstata (PLUM, 2010).

Relatos na literatura indicam que pacientes submetidos ao processo de hemodiálise perdem consideráveis níveis de zinco, sendo necessária a ingestão do mesmo na forma de comprimidos. Já a contaminação nesse processo não é relatada, porém não pode ser descartada (RUCKER, 2010; THOR *et al.*, 1978; AGGETT, 1979).

### 2.5.6 Tálío

As concentrações médias de tálío na Terra são da ordem de  $0,1 - 1,7 \text{ mg kg}^{-1}$ , presente principalmente no minério de sulfeto de zinco, chumbo, cobre e também no carvão.

No passado, este elemento foi extensivamente utilizado para fins medicinais. Foi dado a crianças para produzir a queda de cabelo para o tratamento de micoses no couro cabeludo, no tratamento de doenças venéreas, tuberculose e malária. Atualmente, os principais usos do mesmo estão nas indústrias de ponta de eletrônica, presentes em dispositivos eletrônicos semi-condutores, termômetros de baixa temperatura e equipamentos de laser. A liga com chumbo, zinco, prata, e antimônio aumenta a resistência à corrosão, entre outros (KAZANTZIS, 2000).

Tálío é considerado um veneno cumulativo, pois seus compostos são prontamente absorvidos no corpo humano. A sua exposição pode seguir três rotas diferentes: ingestão de alimentos contaminados, cutânea ou respiratória. Uma vez que entra no corpo, a gravidade da intoxicação vai depender da quantidade de tálío absorvido, reação imunológica e intolerância individual ao veneno.

No corpo humano, os rins mostram o mais elevado nível de contaminação, seguido em ordem decrescente por: ossos, estômago, intestinos, baço, fígado, músculos, pulmão e cérebro. No cérebro, o metal atravessa a barreira hematoencefálica, provocando a neurodegeneração, desmielinização, e acúmulo de produtos finais da oxidação lipídica. A principal via de excreção em humanos é a renal e fecal.

A dose letal mínima de sais solúveis de tálío foi estimada em  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  a  $15 \text{ mg kg}^{-1}$  de massa corporal (CVJETKO, 2010; PETER, 2005).

Como os sais de partida para a fabricação do CPHD (classificados como *Suprapur* pela Merck) possuem em sua constituição natural mais de 0,1 ppm de cádmio, chumbo e tálío, fica evidente a necessidade de um rigoroso controle de qualidade não somente no dialisato, como também nas amostras de CPHD.



### 3 ADVERSIDADES E SOLUÇÕES

Na busca por novos métodos para a análise de metais que são relatados pela legislação brasileira para amostras de CPHD, utilizando eletrodos sólidos como eletrodos de trabalho e como substrato para modificações, houve as seguintes adversidades, as quais modificaram a sequência de análise:

- I. A análise simultânea desses metais não é possível no carbono vítreo, pois há formação de compostos intermetálicos. O único analito que não altera seu pico devido à presença de outros metais é a prata (COMPTON *et al.*, 1999; HART *et al.*, 2002);
- II. Tendo como base de informação o item I, procurou-se uma modificação para o eletrodo de carbono vítreo. Para análise de Zn, Cd, Pb e Tl a que se mostrou mais eficiente foi a aplicação do filme de bismuto sobre o eletrodo de carbono vítreo. A análise sequencial de todos esses metais com a prata é estudada (WANG *et al.*, 2000; CARVALHO *et al.*, 2007; NETO, 2007);
- III. A determinação de mercúrio é possível com o eletrodo de bismuto. Porém, sua sensibilidade para a amostra de CPHD não é alcançada nas condições usadas. Então, investigou-se outra modificação capaz de proporcionar a sensibilidade requerida. Com base na literatura, fez-se o uso de um filme de cisteína sobre o filme bismuto. Com isso, a análise de mercúrio para as amostras de CPHD é possível e será apresentada nesse trabalho.

Portanto, foram criados dois métodos independentes para a análise de Ag, Zn, Cd, Pb, Tl e Hg:

**Método I:** Determinação de mercúrio (II) em eletrodo de carbono vítreo modificado com L-cisteína sobre o filme de bismuto;

**Método II:** Determinação sequencial de prata (I), zinco(II), cádmio (II), chumbo (II) e tálio (I) em concentrados polieletrólíticos, com eletrodo de carbono vítreo para a prata, e de bismuto *in situ* para os demais.

A determinação de tálio é possível, pois neste pH (3,78), o tálio se comporta como um metal alcalino, apresentando uma constante de formação desprezível para um possível complexo com DTPA, estando na forma livre, para poder se depositar sobre a superfície do eletrodo. Ao contrário do tálio, Zn ( $k_f = 18,61$ ), Cd ( $k_f = 17,85$ ) e Pb ( $k_f = 18,90$ ) apresentam um valor de constante de estabilidade bastante alto com o DTPA, de modo a proporcionar a adequada seletividade para o ligante (NASCIMENTO *et al.*, 2011; CROUCH *et al.*, 2001).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho, todas as medidas de corrente foram registradas utilizando um processador 693 VA e 694 VA Stand (Metrohm, Suíça). Um fio de platina foi utilizado como eletrodo auxiliar, e todos os potenciais foram aplicados contra um eletrodo de Ag/AgCl/KCl 3 mol L<sup>-1</sup> como eletrodo de referência.

As medidas voltamétricas foram feitas em uma célula voltamétrica convencional, e o volume total utilizado foi de 20 mL.

Para a quantificação dos analitos, o método da adição do padrão foi empregado através das medições de corrente de pico de cada analito.

Medidas de pH foram realizadas através da medida de um eletrodo de vidro combinado (Metrohm), medido diretamente na célula voltamétrica.

As soluções foram ambientalizadas a  $23 \pm 1$  °C e purgadas com nitrogênio por 300 s antes da análise. Pouco antes do uso, a célula voltamétrica foi descontaminada com uma mistura de 10% HNO<sub>3</sub> em etanol (v/v) e lavados com água desmineralizada utilizando um sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, EUA).

### 4.1 Otimização das condições experimentais

Foram realizadas investigações sobre os potenciais de pré-concentração, tempo de pré-concentração, pH da célula, taxas de varredura de potenciais, amplitude de pulso e concentração de reagentes.

Para encontrar um potencial de pré-concentração onde os analitos se depositassem sobre a superfície do eletrodo de trabalho, de forma a ser suficientemente sensível em CPHD, o mesmo foi variado no intervalo de -1,400 a -1,000 V para bismuto, zinco, cádmio, chumbo e tálio, -0,800 a 0,400 V para cisteína e mercúrio.

O tempo de pré-concentração foi variado de 0 a 600 s. O pH da célula foi testado de 4,6 a 8,0. As variações da taxa de varredura foram de 0,010 a 0,120 V s<sup>-1</sup>. Os testes com amplitude de pulso variaram de 0,025 a 0,100 V.

## 4.2 Método I: Descrição dos materiais e métodos para a determinação de Hg no eletrodo de cisteína

### 4.2.1 Aplicação do filme de bismuto sobre o eletrodo de carbono vítreo

Para a determinação de Hg, foi utilizado um eletrodo de carbono vítreo como suporte para a aplicação do filme de bismuto e, logo após, a aplicação do filme de cisteína.

Porém, antes de cada medida, foi realizado o polimento com alumina (0,3  $\mu\text{m}$ ) seguido de lavagem com água ultra-pura e etanol.

Todas as soluções foram feitas a partir do seu respectivo sal, sendo estes diluídos em água Milli-Q. Somente os padrões dos metais foram feitos a partir da diluição do padrão certificado do NIST-USA Specsol 1  $\text{g L}^{-1}$ .

Para a aplicação do filme de bismuto sobre o eletrodo de carbono vítreo, utilizou-se como constituição da célula voltamétrica:

- 15 mL de uma solução salina com a mesma força iônica da amostra ( $\sim 4,1 \text{ mol L}^{-1}$ );
- 5 mL do tampão acetato (pH 4,7);
- 30  $\mu\text{L}$  da solução de  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  400  $\text{mg L}^{-1}$ , totalizando uma concentração de 0,6  $\text{mg L}^{-1}$  de Bi(III) na célula voltamétrica.

Logo após, aplicou-se as condições descritas na Tabela 4, para a deposição do bismuto sobre o eletrodo de carbono vítreo. Após essa aplicação de potencial, fez-se a lavagem do eletrodo.

**Tabela 4** - Condições otimizadas para a formação do filme de bismuto

<b>Parâmetros</b>	<b>Condições</b>
Potencial de pré-concentração	-1,4 V
Tempo de pré-concentração	300 s
pH da célula	3,78 (25°C)
Agitação	3000 rpm

#### 4.2.2 Aplicação de cisteína sobre o eletrodo de bismuto

Para a aplicação da cisteína sobre o bismuto, utilizou-se a mesma célula do item 3.1.1, fazendo-se ainda a adição de:

- 200 µL da solução 1% (m/v) de L-cisteína diluída em tampão acetato (pH 4,7).

Logo após, aplicou-se as condições descritas na Tabela 5, para que a deposição da cisteína no eletrodo de bismuto fosse realizada. Após aplicação do potencial, fez-se a lavagem do eletrodo com água ultra-pura, estando o eletrodo pronto para a determinação de mercúrio.

**Tabela 5** - Condições otimizadas para a aplicação de cisteína

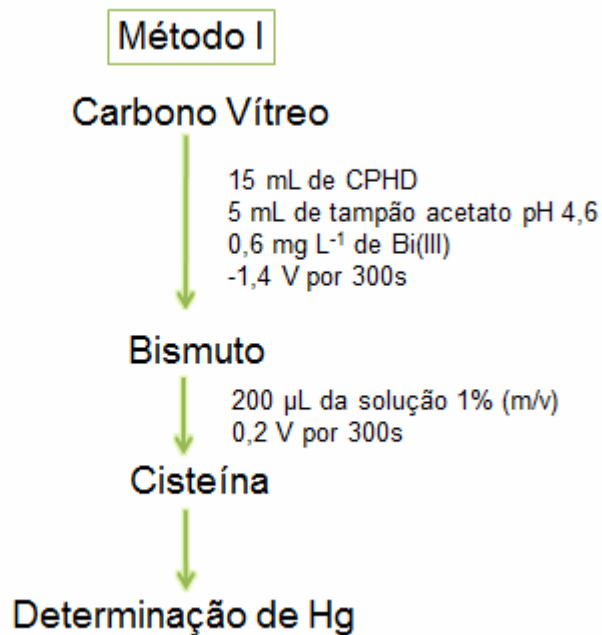
<b>Parâmetros</b>	<b>Condições</b>
Potencial de pré-concentração	0,2 V
Tempo de pré-concentração	300 s
pH da célula	3,78 (25°C)
Agitação	3000 rpm

#### 4.2.3 Determinação de Hg no eletrodo de cisteína

Para a determinação de Hg utilizando como eletrodo de trabalho o eletrodo de cisteína, e nessa etapa a célula voltamétrica foi constituída por:

- 15 mL de amostra de CPHD;
- 5 mL do tampão acetato (pH 4,7);

O resumo das modificações superficiais nos eletrodos está descrito na Figura 3 e as condições utilizadas para a determinação de mercúrio estão descritas a seguir, na Tabela 6.



**Figura 3** - Resumo das modificações nas superfícies dos eletrodos – Determinação de Hg.

**Tabela 6** - Condições otimizadas para a determinação de mercúrio

<b>Parâmetros</b>	<b>Condições Otimizadas</b>
Potencial de pré-concentração	-0,8 V
Tempo de pré-concentração	600 s
Potencial inicial	-0,8 V
Potencial final	0,4 V
Potencial de pico	+0,05 V ( $\pm 0,03$ V)
Velocidade de varredura	0,06 V s <sup>-1</sup>
Amplitude de pulso	0,05 V
pH da célula	3,78 (25°C)
Agitação	3000 rpm

#### **4.3 Método II. Descrição dos materiais e métodos para a determinação sequencial de Ag, Zn, Cd, Pb e Tl no eletrodo de carbono vítreo e bismuto**

Para a determinação de prata no eletrodo de carbono vítreo, fez-se o polimento do mesmo com alumina, seguido de lavagem com água ultra-pura e etanol, previamente a cada medida.

Nessa etapa, a célula voltamétrica foi constituída por:

- 15 mL do CPHD ou água Milli-Q;
- 5 mL do tampão acetato (pH 4,7);

As condições otimizadas da varredura são descritas na Tabela 7.

**Tabela 7** - Condições otimizadas para a determinação de Prata

<b>Parâmetros</b>	<b>Condições Otimizadas</b>
Potencial de pré-concentração	-1,0 V
Tempo de pré-concentração	60 s
Potencial inicial	-1,0 V
Potencial final	0,4 V
Potencial de pico	+0,185 V ( $\pm 0,03$ V)
Velocidade de varredura	0,06 V s <sup>-1</sup>
Amplitude de pulso	0,05 V
pH da célula	3,78 (25°C)
Agitação	3000 rpm

Após as adições de prata, adicionou-se 166,66% de Selênio em relação à massa de prata adicionada, para que a prata não gere interferência na análise sequencial de Zn, Cd, Pb e Tl.

Existe um limite estabelecido para que a quantidade de prata e selênio não interfira na análise sequencial, que seria que a quantidade total de prata (massa das adições + massa da amostra) não ultrapasse 752 ng.

Após as adições de prata e de selênio, fez-se a adição de 30  $\mu$ L da solução de Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>.5H<sub>2</sub>O 400 mg L<sup>-1</sup>, para uma concentração final de 0,6 mg L<sup>-1</sup> de Bi(III) na célula.

Em seguida, iniciou-se a aplicação do potencial de pré-concentração e posterior varredura, nas condições descritas na Tabela 8.

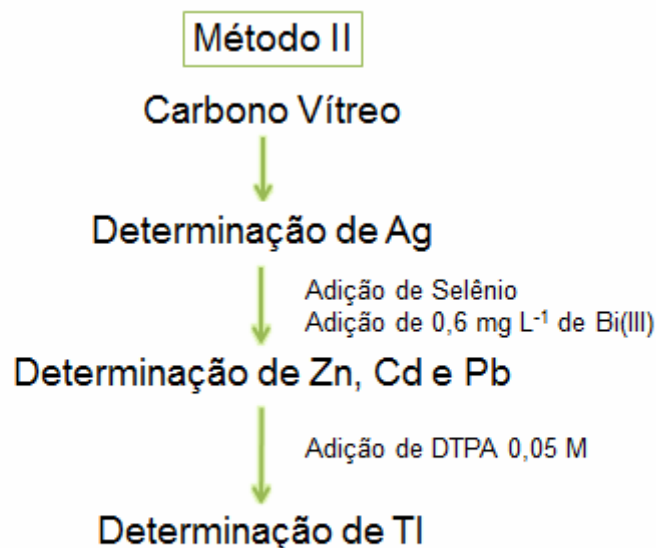


**Tabela 8** - Condições otimizadas para a determinação de Zn, Cd, Pb e Tl

Parâmetros	Condições Otimizadas
Potencial de pré-concentração	-1,4 V
Tempo de pré-concentração	60 s
Potencial inicial	-1,4 V
Potencial final	0,4 V
Velocidade de varredura	0,06 V s <sup>-1</sup>
Amplitude de pulso	0,05 V
pH da célula	3,78 (25°C)
Agitação	3000 rpm

Após as adições de Zn, Cd, Pb, adicionou-se na célula voltamétrica 200 µL de DTPA 0,05 M para a determinação sequencial de Tálíio. Usou-se as mesmas condições da Tabela 8.

Na Figura 4, é mostrado o resumo das modificações na superfície do eletrodo de carbono vítreo que permitiu a análise sequencial.

**Figura 4** - Resumo das modificações nas superfícies dos eletrodos – Determinação de Ag, Zn, Cd, Pb e Tl.

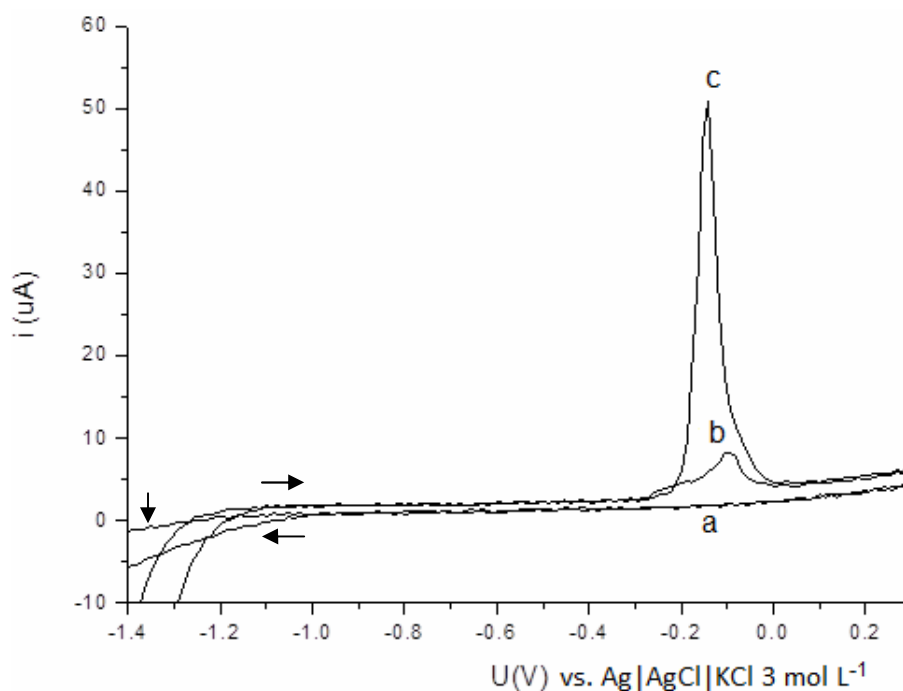
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Caracterização do eletrodo

Para a caracterização da modificação realizada na superfície de um eletrodo, são usados vários métodos, como a microscopia eletrônica (CARUSO *et al.*, 1998), a voltametria cíclica (HIBBERT, 2001) e a espectroscopia de impedância eletroquímica (SOLAK, 2009).

Neste trabalho, empregou-se a voltametria cíclica por fornecer características relativas ao reconhecimento da modificação da superfície do eletrodo.

Os voltamogramas cíclicos do eletrodo de carbono vítreo (a), do bismuto (b) e da cisteína (c), observados na Figura 6, foram obtidos em tampão acetato (pH 4,7) na faixa de potencial de -1,4 V a 0,3 V. A diferença de intensidade entre os sinais e o deslocamento entre os potenciais de pico na Figura 5, sugerem a modificação do eletrodo.



**Figura 5** - Voltametria cíclica da modificação do eletrodo de carbono vítreo (a), (b) bismuto e (c) cisteína.

No voltamograma cíclico (a), somente o carbono vítreo é responsável pelo voltamograma. Quando se adiciona o bismuto na solução, obtendo-se o voltamograma cíclico (b) há o surgimento de um sinal analítico, sugerindo o recobrimento da superfície do carbono vítreo pelo bismuto. O voltamograma (c) representa a inserção da cisteína na célula voltamétrica, e o surgimento de um sinal analítico maior do que o apresentado pelo bismuto, sugerindo o recobrimento do eletrodo de bismuto pela cisteína.

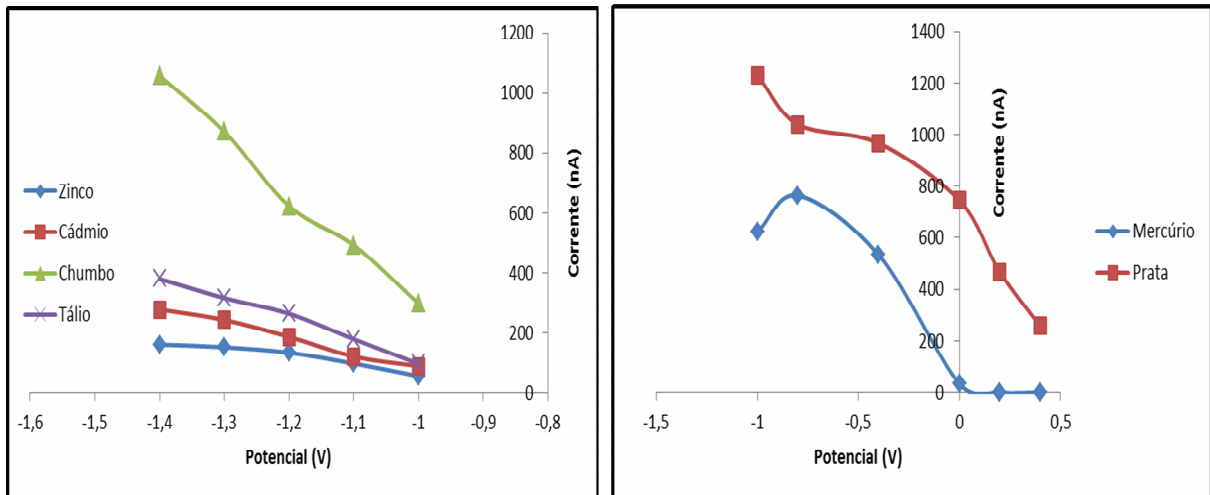
O pico (c) sugere que a cisteína é associada ao filme de bismuto e a estrutura BiFE-Cys pode ter melhor resposta ao sinal do mercúrio devido à ligação Hg-S na superfície do eletrodo. Quando a cisteína está ausente, de tal forma que somente o filme de bismuto esteja presente, a resposta é baixa quando comparada à modificação com cisteína.

## 5.2 Otimização das condições experimentais

A otimização de parâmetros voltamétricos, como o potencial e o tempo de pré-concentração, pH, velocidade de varredura e amplitude de pulso, visando a aplicação da metodologia em amostras reais, é de grande importância para a realização de medidas mais sensíveis, precisas e reproduzíveis.

Para encontrar um potencial adequado de deposição tanto para a modificação do eletrodo de carbono vítreo quanto para a determinação dos metais, o potencial de pré-concentração foi variado de -1,0 a 0,4V para a determinação da prata no eletrodo de carbono vítreo e de -1,4 a -1,0 V para a deposição do bismuto, zinco, cádmio, chumbo e tálio, pois o potencial de aplicação do filme *in situ* é o mesmo da deposição dos metais. Já para a deposição da cisteína sobre o eletrodo de bismuto e a determinação de mercúrio, o potencial foi variado de -0,8 a 0,4 V.

Os resultados que proporcionaram a escolha do potencial de pré-concentração estão descritos na Figura 6, onde se relaciona o potencial aplicado com a corrente obtida para cada analito.



**Figura 6** – Relação potencial de pré-concentração e corrente dos analitos.

Como se pode observar, o potencial que apresenta maior corrente para Zn, Cd, Pb e Tl é o de -1,4 V. Não aplica-se potencial mais negativo que esse no eletrodo de bismuto, por ocorrer a evolução do hidrogênio.

Para o mercúrio, o potencial mais adequado para a deposição do metal, de acordo com a Figura 7 foi de -0,8 V.

Já para a prata o potencial mais adequado foi o de -1,0 V.

O tempo de pré-concentração estudados variaram de 0 a 600 s, onde para os analitos Zn, Cd, Pb e Tl o tempo de 60 s é suficiente para um sinal analítico com sensibilidade suficiente. Já o mercúrio necessita de um tempo maior, 600 s, para atingir a sensibilidade estipulada para o tipo de amostra.

O pH para a análise de Ag, Zn, Cd, Pb e Tl nas amostras de CPHD utilizando eletrodo de bismuto se restringem ao pH ácido (< 6), pois a formação do filme não é realizada com sucesso (ver equação 1). O pH que se mostrou apropriado para essa medida foi o de 4,6.

Já para o mercúrio, o mesmo pH mostrou-se satisfatório, visto que a formação do filme de bismuto é um dos passos para esta análise.

Tanto a taxa de varredura quanto a amplitude de pulso não modificaram significativamente o valor de corrente dos analitos.

### **5.3 Método I. Determinação de mercúrio – Aplicação de cisteína sobre o filme de bismuto**

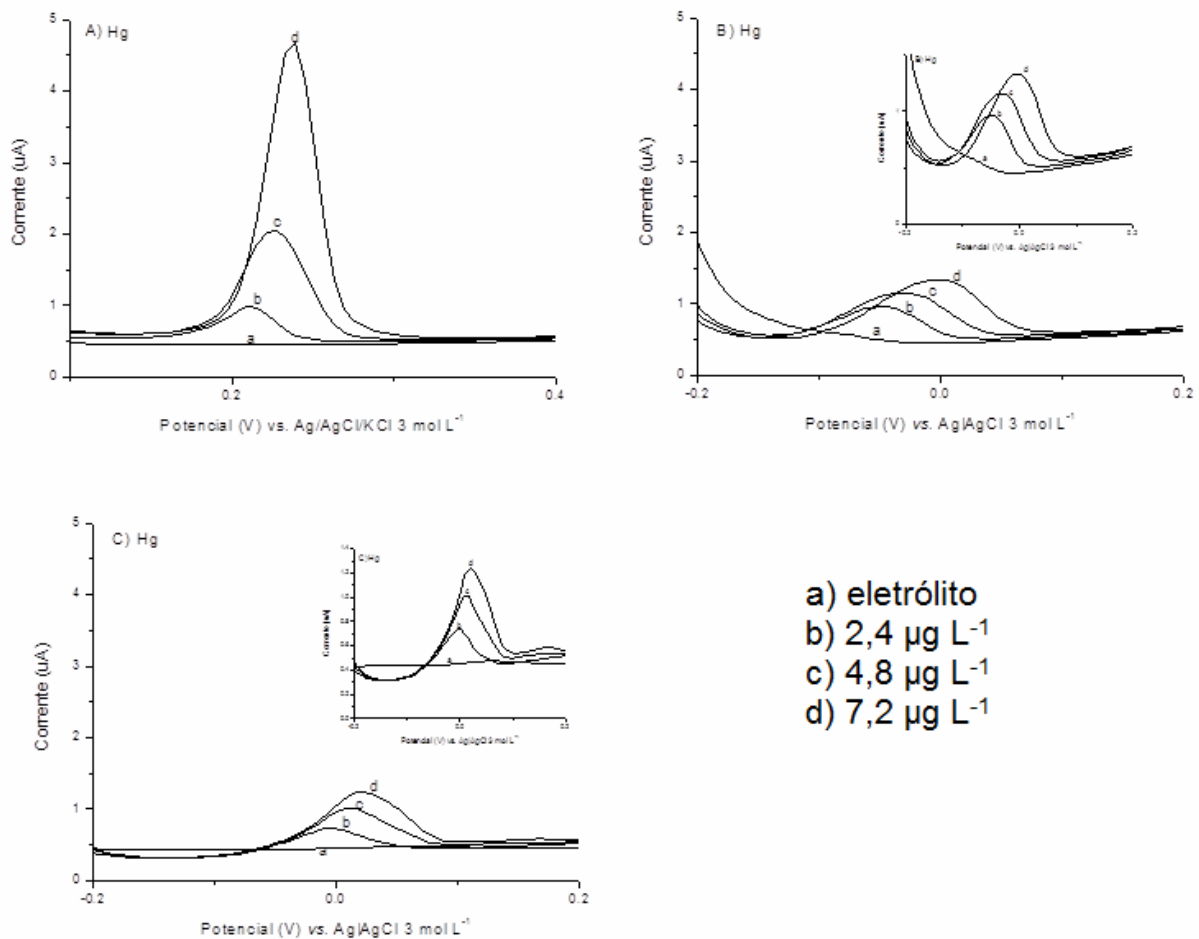
Após a escolha das melhores condições experimentais, a determinação de mercúrio foi realizada nas duas amostras de CPHD de lotes diferentes, utilizando o eletrodo de cisteína.

Não há relatos na literatura da utilização desse tipo de eletrodo (carbono vítreo + bismuto + cisteína), somente a utilização da cisteína como modificadora da superfície de eletrodos sólidos (HIBBERT, 2001; WANG, 2004).

A utilização deste eletrodo se mostrou eficiente para a análise de mercúrio, devido a afinidade da molécula de cisteína pelo metal. O novo método descrito nesse trabalho possui sensibilidade adequada para os limites máximos permitidos previstos anteriormente.

### 5.3.1 Voltamogramas Hg

A Figura 7 mostra os voltamogramas obtidos para a determinação de mercúrio em A) água Milli-Q, B) CPHD industrial LOTE: 090249012 VALIDADE: 03/02/2011 e C) CPHD industrial LOTE: 410259811 VALIDADE: 03/02/2012, onde cada adição do padrão (a-d) correspondem a  $2,4 \mu\text{g L}^{-1}$  de mercúrio.



**Figura 7** - Voltamograma das análises de mercúrio no eletrodo de cisteína em A) água Milli-Q, B) CPHD industrial LOTE: 090249012 VALIDADE: 03/02/2011 e C) CPHD industrial LOTE: 410259811 VALIDADE: 03/02/2012.

Comparando os voltamogramas obtidos nas amostras de CPHD industrial (B e C, Figura 7) com a água Milli-Q (A, Figura 7), observa-se que o sinal analítico do mercúrio no concentrado polieletrólítico é deslocado cerca de 200 mV mais negativo do que em relação à água pura. Esse comportamento pode ser explicado pela formação de  $\text{Hg}_2\text{Cl}_2$  na solução (RISO *et al.*, 2000).

A formação desse composto e o deslocamento do sinal a partir deste, pode ser explicada quando se compara a voltametria direta, onde não há a etapa de pré-concentração. Desse modo, quando há algum complexante na solução, o metal irá precisar de um potencial mais negativo para que ele consiga se desligar do ligante e se reduzir na superfície do eletrodo, o que acarretaria no deslocamento do sinal no sentido negativo dos potenciais, o que não acontece nesse caso. Isso não acontece, pois foi utilizada voltametria de redissolução, ou seja, acontece uma etapa de pré-concentração antes da varredura, que previamente reduz parte do metal na superfície do eletrodo. Quando acontece a varredura no sentido positivo dos potenciais, o mercúrio que está no estado  $\text{Hg}^0$  passará para  $\text{Hg}^+$ , e depois para  $\text{Hg}^{2+}$ . Nessa passagem para o estado mais oxidado, o composto poderá formar clocomplexos, devido a elevada concentração de cloreto na solução, fazendo com que seja necessário um potencial mais positivo para que o metal retorne à solução na sua forma original, deslocando assim, o sinal analítico no sentido positivo dos potenciais.

O deslocamento de sinal analítico entre as duas amostras (B e C, Figura 7) pode ser justificado pela diferença da força iônica entre as duas amostras de lotes diferentes.

Já o deslocamento do potencial de pico nas amostras entre as adições, é devido à formação de clorocomplexos com o mercúrio (ABOLLINO *et al.*, 2008).

## 5.4 Método II. Determinação de Prata

Após a escolha das melhores condições experimentais, a determinação de prata foi realizada nas duas amostras de CPHD de lotes diferentes, utilizando o eletrodo de carbono vítreo.

Como dito anteriormente (ver item 3.4.1), o valor de massa máxima existente na célula voltamétrica, que proporcione sensibilidade suficiente para a análise sequencial de Zn, Cd, Pb e Tl é de 2,268 µg de prata. Essa massa equivale à soma da massa adicionada para a curva de calibração com a massa já possivelmente pré-existente na amostra. Caso esse valor seja extrapolado, a medida sequencial é prejudicada e não possuirá sensibilidade suficiente. Neste caso, poderão ser realizados os seguintes passos:

- O valor da massa das adições poderá ser diminuído, pois o método desenvolvido nesse trabalho é bastante sensível a pequenas massas.
- Se ainda assim o valor for extrapolado, o método sequencial poderá ser realizado de forma separada, apenas com o polimento do eletrodo, a troca da célula voltametria e a aplicação do filme de bismuto.
- Se o valor extrapolar, mesmo com a diminuição da massa adicionada na curva de calibração, deve-se tomar cuidado, pois é muito provável que a massa pré-existente na amostra esteja elevada, e a amostra não esteja apta a utilização. Justifica-se isso, por esse valor máximo de prata ser próximo ao valor máximo estipulado nesse trabalho para as amostras de CPHD.

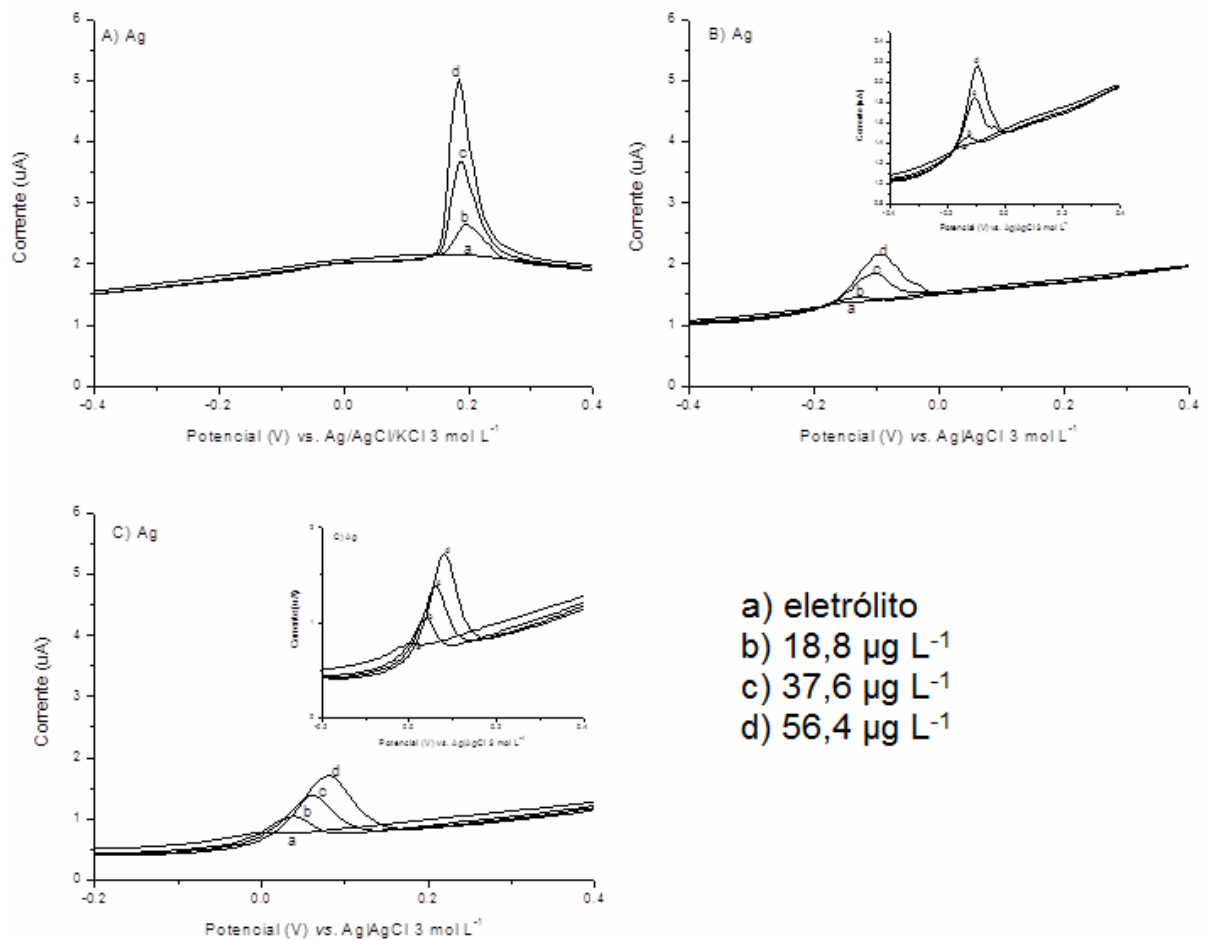
**Tabela 9** – Valores máximos para a prata

<b>Massa máxima da célula</b>	<b>Massa máx. estipulada para CPHD</b>
2,268 µg	2,4 µg



### 5.4.1 Voltamogramas Ag

A Figura 8 mostra o voltamograma obtido para a determinação de prata em A) água Milli-Q, B) CPHD industrial LOTE: 090249012 VALIDADE: 03/02/2011 e C) CPHD industrial LOTE: 410259811 VALIDADE: 03/02/2012, onde cada adição do padrão corresponde a  $18,8 \mu\text{g L}^{-1}$  de prata.



**Figura 8** - Voltamograma das análises de prata no eletrodo de carbono vítreo em A) água Milli-Q, B) CPHD industrial LOTE: 090249012 VALIDADE: 03/02/2011 e C) CPHD industrial LOTE: 410259811 VALIDADE: 03/02/2012.

O deslocamento do sinal analítico da prata, que é cerca de 100 mV mais negativo nas amostras de CPHD (B e C, Figura 8) do que na água Milli-Q (A, Figura 8), pode ser justificado pela formação de um complexo solúvel, que é formado pelo excesso de cloreto presente naturalmente na amostra (SCHILLER, 1969), descrito nas equações (6) e (7):



### 5.5 Método II. Determinação de Zinco, Cádmio, Chumbo e Tálcio

A determinação de Zn, Cd, Pb e Tl é realizada com a aplicação do filme de bismuto sobre o eletrodo de carbono vítreo. Esta análise é citada por WANG *et al.*, 2000, LUO, 2008 e NETO, 2007.

O filme de bismuto *in situ*, utilizado nesse trabalho, provoca simultaneamente a redução dos íons  $\text{Bi}^{3+}$  e dos analitos na superfície do eletrodo. Com isso, o filme é constituído não só por bismuto, mas também pelos metais a serem determinados.

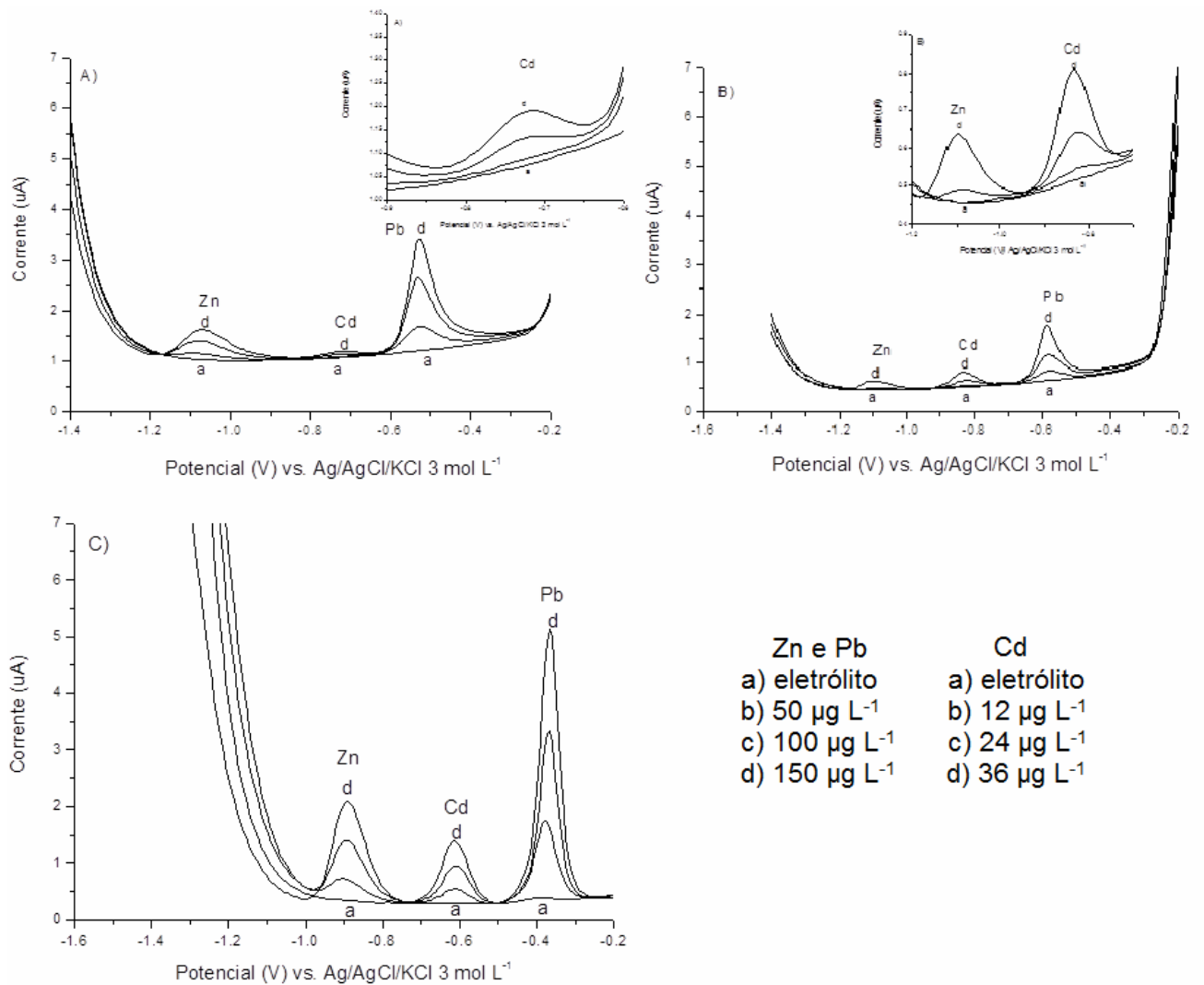
Durante a varredura no sentido positivo dos potenciais, são registrados os valores de corrente para os metais reduzidos no filme de bismuto e, em um potencial próximo a -200 mV obtêm-se a oxidação do bismuto indicando, assim, a redissolução do filme e o retorno à superfície original.

Nas atividades experimentais e, bem como em relatos descritos por OGOREVC *et al.*, 2002 nota-se claramente que a deposição do bismuto sobre o eletrodo de carbono vítreo, juntamente com o acúmulo do metal sobre o filme, está fortemente ligada à força iônica do meio. Em meios com elevada força iônica, no caso semelhante à amostra, o filme de bismuto mostrou-se reproduzível, estável e sensível aos analitos nas suas devidas concentrações sugeridas nesse trabalho.

Isso pode sugerir que, o aumento da força iônica até certo limite, proporciona menor resistência ao meio e conduz de forma mais eficaz o analito até a superfície do eletrodo para que ocorra a troca de elétrons.

### 5.5.1 Voltamogramas Zn, Cd e Pb

A Figura 9 mostra os voltamogramas obtidos para a determinação de zinco, cádmio e chumbo em A) água Milli-Q, B) CPHD industrial LOTE: 090249012 VALIDADE: 03/02/2011 e C) CPHD industrial LOTE: 410259811 VALIDADE: 03/02/2012, com adições de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  de zinco, chumbo e  $12 \mu\text{g L}^{-1}$  de cádmio.

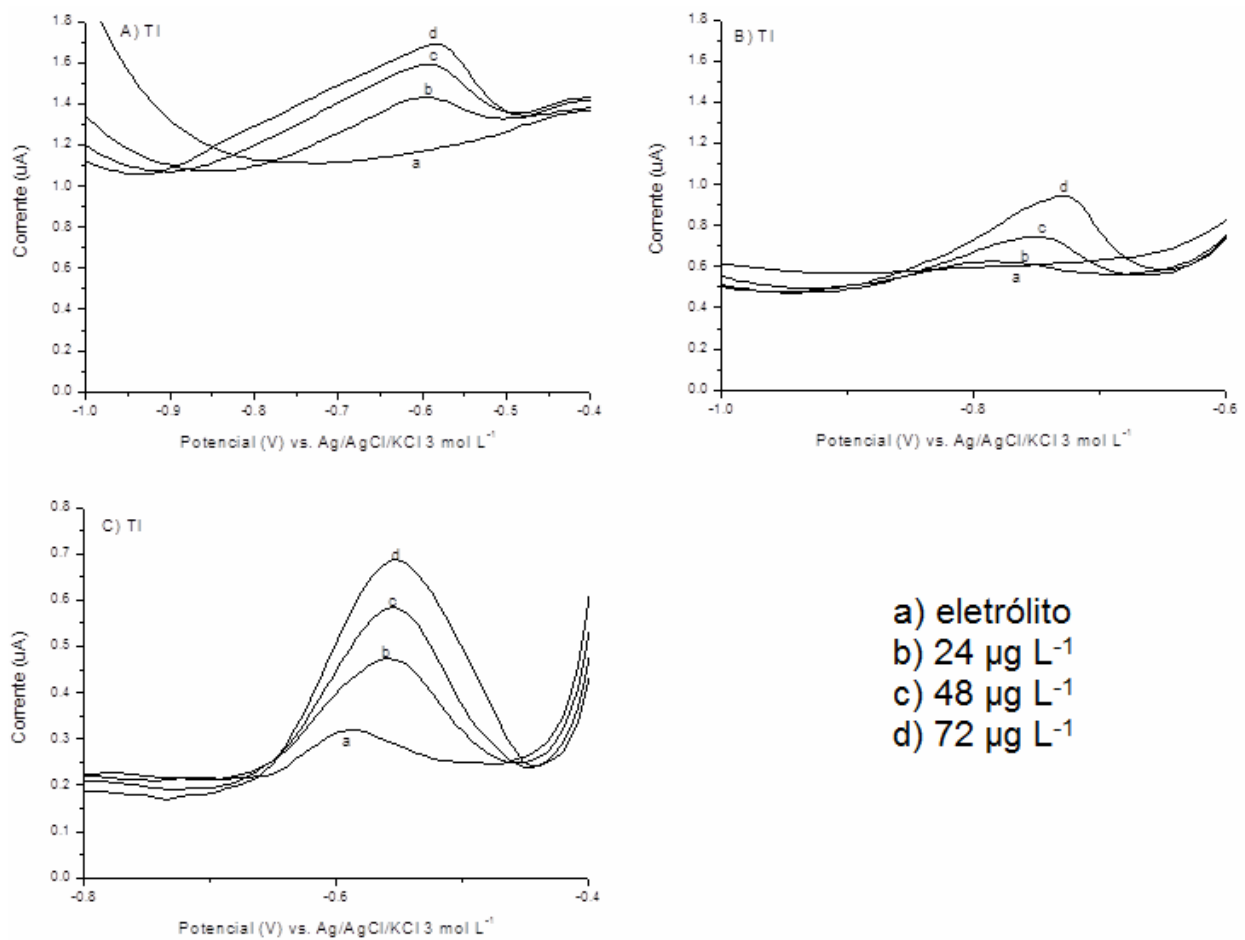


**Figura 9** - Voltamograma das análises de Zn, Cd e Pb no eletrodo de bismuto em A) água Milli-Q, B) CPHD industrial LOTE: 090249012 VALIDADE: 03/02/2011 e C) CPHD industrial LOTE: 410259811 VALIDADE: 03/02/2012.

Os sinais analíticos de Zn, Cd e Pb possuem melhor resolução nas amostras de CPHD (B e C, Figura 9) em relação à água Milli-Q (A, Figura 9), o que se pode justificar pela mudança da força iônica da amostra. A sensibilidade dos analitos é diminuída ou melhorada pela qualidade da formação do filme de bismuto. Esta pode ser melhorada pela presença de íons cloreto na solução. Porém, na amostra há um excesso desses íons, o que pode levar a má formação do filme. Isso varia com a quantidade de cloretos na solução, superfície do eletrodo, qualidade da formação do filme, pH. Como se pode observar, ocorre uma variação na corrente de pico para cada analito, tanto quanto ao compararem-se as amostras com a água Milli-Q, quanto entre as amostras. Isso pode ser justificado pela diferença de superfície do eletrodo a cada medida.

### 5.5.2 Voltamogramas TI

A Figura 10 mostra os voltamogramas obtidos para a determinação de tálio em A) água Milli-Q, B) CPHD industrial LOTE: 090249012 VALIDADE: 03/02/2011 e C) CPHD industrial LOTE: 410259811 VALIDADE: 03/02/2012, com adições de  $24 \mu\text{g L}^{-1}$  de tálio.



**Figura 10** - Voltamograma das análises de tálio no eletrodo de bismuto em A) água Milli-Q, B) CPHD industrial LOTE: 090249012 VALIDADE: 03/02/2011 e C) CPHD industrial LOTE: 410259811 VALIDADE: 03/02/2012.

O sinal analítico do tálio nas amostras de CPHD é deslocado no sentido positivo dos potenciais, quando comparado a água Milli-Q em consequência da formação de clorocomplexos de tálio ( $\log k_f = 0,52$ ) (LURIE, 1978). A melhora na sensibilidade e resolução em relação à água Milli-Q, pode ser justificada pela formação desses compostos.

Como se pode notar na Figura 10 C), encontrou-se o valor de  $20,8 \mu\text{g L}^{-1}$  de tálio na amostra B. No entanto este valor ainda está abaixo do valor estipulado para o CPHD ( $64 \mu\text{g L}^{-1}$ ), podendo ser utilizada com segurança pelos pacientes de hemodiálise.

## 5.6 Aplicação em amostras reais e possíveis interferentes

Os métodos descritos acima foram aplicados a 2 amostras diferentes, que são elas:

**Amostra 1.** CPHD industrial LOTE: 090249012 VALIDADE: 03/02/2011

**Amostra 2.** CPHD industrial LOTE: 410259811 VALIDADE: 03/02/2012

As amostras de concentrado polieletrólítico industrial foram obtidas no setor de nefrologia do Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), no campus da Universidade Federal de Santa Maria, cidade de Santa Maria – RS.

Estas, supostamente, não devem possuir os contaminantes metálicos aqui estudados e nenhum outro descrito pela legislação para água de hemodiálise. Porém, se a produção do CPHD utilizar água e/ou sais de baixa qualidade, contaminantes podem estar presentes nas amostras e interferir nas análises. Os seguintes interferentes são relatados na literatura:

- A determinação de Zn é prejudicada pela presença de cobre. Esta interferência é solucionada com a adição de gálio na solução. Este estudo será realizado posteriormente (KOROLCZUK, 2007).

- A determinação de Hg pode ser afetada pela presença de ferro, que possui potencial de pico muito próximo ao do mercúrio. Sua interferência pode ser sanada com a adição de fosfato ou fluoreto (HÁTLE, 1987).

Na Tabela 10, seguem os resultados obtidos para cada uma das amostras nos dois métodos propostos nesse trabalho, juntamente com o ensaio de recuperação para todos os analitos.

**Tabela 10** - Resultados e recuperações para as duas amostras de CPHD

Analito	Amostra		Concentração		%
	1 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	2 ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	adicionada ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	encontrada ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	
Hg	< LD	< LD	Amostra	Amostra	
			1) 1,2	1) 1,26	104,9
			2) 1,8	2) 1,83	101,6
Ag	< LD	< LD	1) 18,8	1) 18,7	99,4
			2) 9,4	2) 8,8	93,6
Zn	< LD	< LD	1) 7,5	1) 7,9	106,3
			2) 6	2) 6,21	103,5
Cd	< LD	< LD	1) 18	1) 18,1	100,2
			2) 12	2) 11,34	94,5
Pb	< LD	< LD	1) 25	1) 23,5	94,0
			2) 50	2) 42,9	95,2
Tl	< LD	20,8	1) 24	1) 23,3	97,0
			2) 19,2	2) 19,7	102,7

## 5.7 Características analíticas

Uma forma de assegurar a aplicabilidade e o alcance de um método é estabelecendo os limites destes parâmetros por meio da estimativa das características analíticas. Estas são, portanto, indicadores quantitativos do bom desempenho de uma determinada técnica.

No Brasil, os dois órgãos que regulamentam a validação de métodos analíticos são a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Instrumental (INMETRO).

Neste trabalho os parâmetros avaliados para a obtenção das características analíticas para a determinação dos metais Hg, Ag, Zn, Cd, Pb e Tl foram de acordo com a ANVISA: faixa linear, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).

### 5.7.1 Linearidade

De acordo com a resolução nº 899, de 29 de maio de 2003 da ANVISA, a linearidade é definida como a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado.

Neste trabalho, a curva analítica foi feita através da adição do padrão com três pontos, obtendo-se um coeficiente acima de 0,99 para todos os metais.

A faixa linear obtida neste trabalho para o mercúrio é de 0,10 a 500  $\mu\text{g L}^{-1}$ , prata é de 0,47 a 400  $\mu\text{g L}^{-1}$ , zinco é de 0,31 a 650  $\mu\text{g L}^{-1}$ , cádmio é de 1,15 a 1000  $\mu\text{g L}^{-1}$ , chumbo é de 0,10 a 3000  $\mu\text{g L}^{-1}$ , tálio é de 0,96 a 100  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

A faixa de trabalho varia para cada metal estudado, e é mostrado nas figuras a seguir.



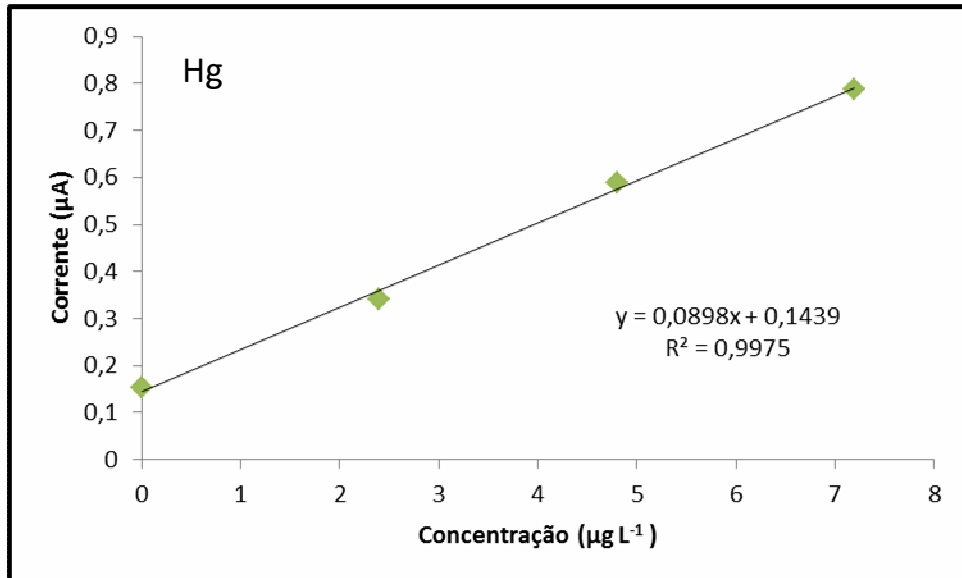


Figura 11 – Adição do padrão de mercúrio com adições de 2,4 µg L<sup>-1</sup>.

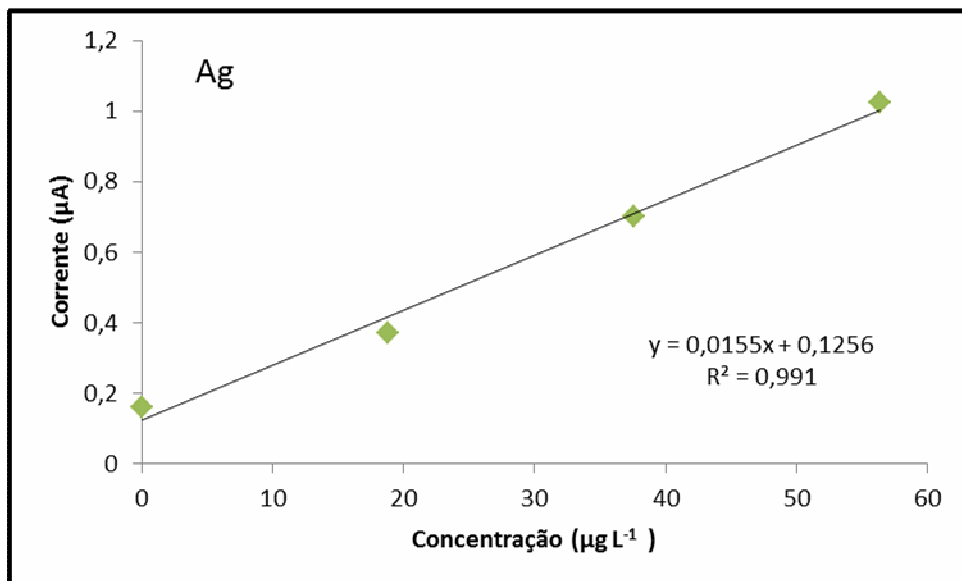


Figura 12 – Adição do padrão de prata com adições de 18,8 µg L<sup>-1</sup>.

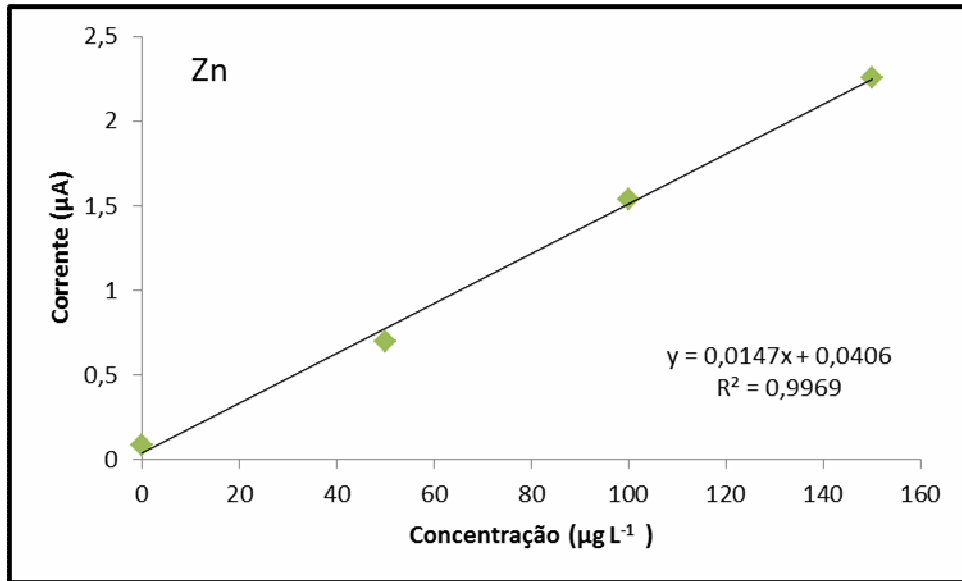


Figura 13 – Adição do padrão de zinco com adições de 50 µg L<sup>-1</sup>.

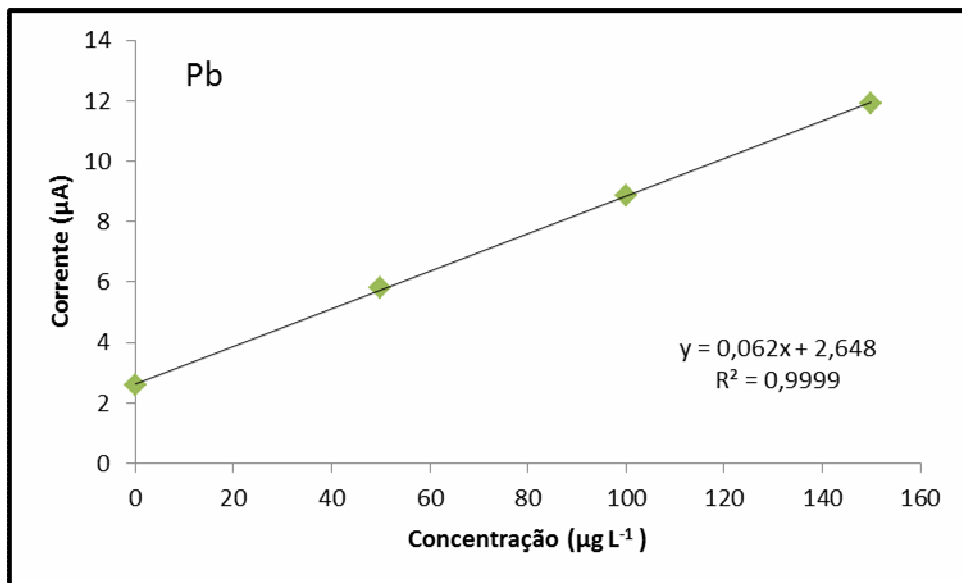


Figura 14 – Adição do padrão de chumbo com adições de 50 µg L<sup>-1</sup>.

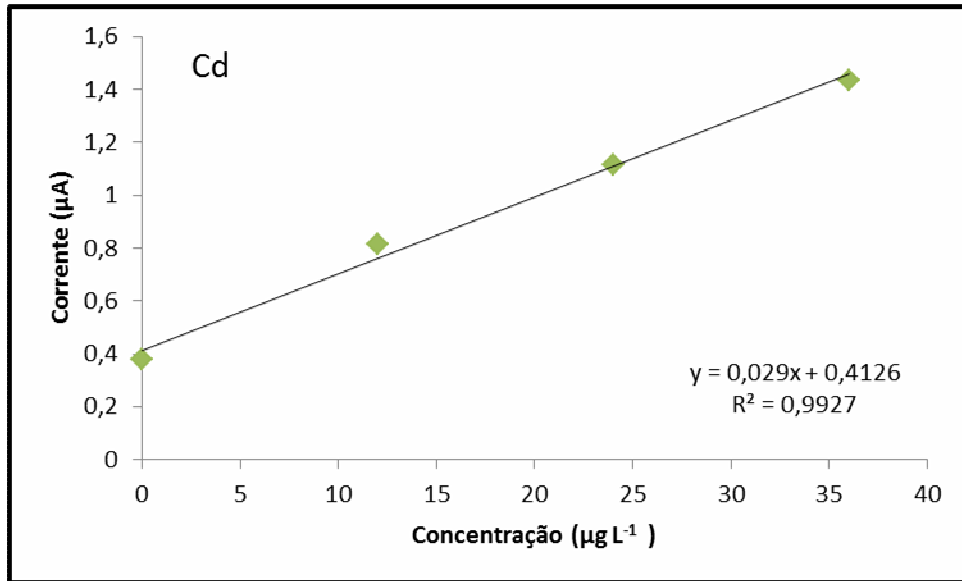


Figura 15 – Adição do padrão de cádmio com adições de  $12 \mu\text{g L}^{-1}$ .

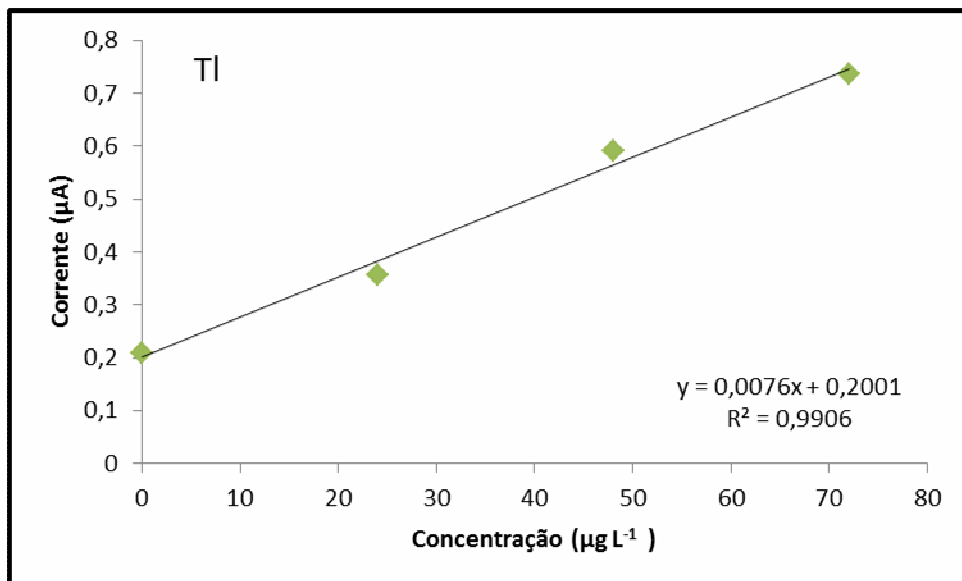


Figura 16 – Adição do padrão de tálcio com adições de  $24 \mu\text{g L}^{-1}$ .

### 5.7.2 Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

A resolução RE nº 899, de 29/05/2003 da ANVISA diz que sob as condições experimentais, o limite de detecção (LD) é a menor quantidade de analito que pode ser detectado, porém sem ser necessariamente, quantificado. No caso de métodos instrumentais, o limite de detecção é feito com base na fórmula abaixo, onde o desvio padrão da intersecção da curva de calibração é representado (S), e o coeficiente angular da curva analítica por (b).

$$LD = \frac{3 \times S}{b}$$

O limite de quantificação, também definido pela ANVISA, representa a menor concentração do analito em análise que pode ser determinada com um nível de incerteza aceitável. O desvio padrão da intersecção da curva de calibração é representado por (S) e o coeficiente angular da curva analítica por (b).

$$LQ = \frac{10 \times S}{b}$$

Os limites de detecção e quantificação obtidos para cada metal se encontram na Tabela 11.

**Tabela 11** - Limites de detecção e quantificação dos metais estudados

Metais	LD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Hg	0,03	0,10
Ag	0,14	0,47
Zn	0,09	0,31
Cd	0,35	1,15
Pb	0,03	0,10
Tl	0,29	0,96

Pode-se destacar os menores limites de detecção e quantificação, que correspondem aos do mercúrio e chumbo. Todos os valores estariam abaixo do limite máximo estipulado nesse trabalho para cada metal, como mostrado na Tabela 3. Esses valores foram calculados a partir de medidas experimentais na própria solução de CPHD, uma vez que as respostas voltamétricas dos analitos nesta matriz e no branco são diferentes.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As amostras de CPHD se tornam inconvenientes em outras técnicas analíticas devido a elevada concentração de cloretos presentes nestas, não permitindo a determinação direta de metais com baixos limites de detecção descritos pela legislação, como mercúrio, prata, zinco, cádmio, chumbo e tálio. A determinação direta da amostra, ou seja, sem a necessidade de diluição ou outro pré-tratamento da amostra diminui os riscos de perda do analito ou contaminação externa e possibilita determinações sensíveis dos analitos nesse tipo de matriz.

Métodos voltamétricos mostram-se como alternativa eficaz em amostras salinas, permitindo análise simultâneas e/ou sequenciais com excelente sensibilidade. Além disso, a utilização de eletrodos sólidos atende a atual necessidade ambiental de se utilizar eletrodos que não sejam agressivos ao meio ambiente e que gerem resíduos de fácil tratamento.

De acordo com a proposta deste trabalho, a determinação voltamétrica de Hg, Ag, Zn, Cd, Pb e Tl utilizando eletrodos sólidos foi realizada, aplicando diferentes modificações na superfície do eletrodo de carbono vítreo, a fim de se realizar a análise desses metais com sensibilidade suficiente para atender a legislação que rege esse tipo de amostra.

Empregaram-se o filme de bismuto e cisteína como modificadores da superfície do carbono vítreo. Otimizaram-se parâmetros analíticos objetivando-se a melhor resposta concentração vs. corrente de pico para cada analito e o melhor potencial de deposição de cada filme, visando a cobertura superficial eficiente do eletrodo de carbono vítreo.

Observaram-se repostas lineares de corrente para os metais em uma ampla faixa de concentração, além de ótimos limites de quantificação, que atendem a legislação vigente para CPHD. Além disso, as novas metodologias otimizadas se mostraram eficientes nas amostras investigadas, e confirmou-se a exatidão dos métodos pela recuperação, variando entre 93,6 e 106,3%.

Descreveu-se a aplicação dos dois novos métodos voltamétricos em amostras reais de CPHD, comparando-se esses resultados com um meio não salino. Avaliou-se o efeito da força iônica, que por se tratar de uma matriz com alta concentração de

cloretos, resultou em deslocamentos apreciáveis dos potenciais de pico, em comparação com meios não salinos ou com teor salino menor.

As vantagens principais dos dois novos métodos são: medidas diretas sem necessidade de pré-tratamento da amostra, baixos e apropriados limites de quantificação, baixo custo e a utilização de eletrodos ambientalmente corretos. A sensibilidade do método permite a quantificação de valores menores para a água de hemodiálise que aqueles regulamentados pela resolução ANSI/AAMI RD 52 e 62 e ANVISA/RDC N.º 154 de 15/06/2004.

## 7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Estudar a possibilidade de inserção de mais analitos nos métodos, como o Cu ou outros analitos;
- Diminuir do tempo de pré-concentração de análise do mercúrio, através do estudo de diferentes eletrólitos e/ou diferentes modificações;
- Utilizar de outros eletrodos sólidos, como a Ag, Pt ou diamante dopado com boro;
- Automatizar o sistema: possibilidade do método ser realizado em fluxo.



## 8 REFERÊNCIAS

ABOLLINO, O. et al., Parameters affecting the determination of mercury by anodic stripping voltammetry using a gold electrode. **Talanta**, n. 75, p. 266–273, 2008.

AGGETT, P. J.; HARRIES, J. T. Current status of zinc in health and disease states. **Arch. Dis. Child.**, n. 54, p. 909-917, 1979.

ANGUIANO, D. I. et. al. Electrochemical Detection of Iron in a Lixiviant Solution of Polluted Soil Using a Modified Glassy Carbon Electrode. **Intern. J. Electrochem.**, v. 2012, p. 1-7, 2011.

ARRIGAN, D. W. M.; BIHAN, L. L. A study of L-cysteine adsorption on gold *via* electrochemical desorption and copper(II) ion complexation. **The Analyst**, v. 124, n. 11, p. 1645-1649, 1999.

Association for the advancement of medical instrumentation, AAMI. **American national standart for hemodialysis systems**, ANSI/AAMI n<sup>o</sup>. RD 52 62, 2004.

BERKOBEN, M.; SCHWAB, S. Dialysis or Transplantation: Fitting the Treatment to the patient. **Annu. Rev. Med.**, v. 50, p. 193-205, 1999.

BOBROWSKI, A.; KRÓLICKA, A. Bismuth film electrode for adsorptive stripping voltammetry – electrochemical and microscopic study. **Electrochem. Commun.**, v. 6, n. 2, p. 99-104, 2004.

BOHRER, D. et. al. Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of lead, cadmium, copper and zinc in high-salt content samples after simultaneous separation on polyethylene powder impregnated with 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol: application to the analysis of hemodialysis fluids. **The Analyst**, v. 124, p. 1345–1350, 1999.

BRASIL. Resolução RDC (ANVISA) nº. 8, de 2 de janeiro de 2001. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 16 abril 1999.

BRASIL. Resolução RDC (ANVISA) nº. 899, de 29 de maio de 2003. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 31 março 2003.

BRASIL. Resolução RDC (ANVISA) nº. 154, de 15 de junho de 2005. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 17 jun. 2004.

BRETT, C. M.; BRETT, A. M. O. **Electroquímica**: Princípios, Métodos e Aplicações. Editora Almedina, 1ª edição, p. 143-144, 1996.

CARUSO, F. et al. Characterization of Polyelectrolyte-Protein Multilayer Films by Atomic Force Microscopy, Scanning Electron Microscopy, and Fourier Transform Infrared Reflection-Absorption Spectroscopy. **Langmuir**, n. 14, p. 4559-4565, 1998.

CARVALHO, L. M. et al. Simultaneous Determination of Cadmium, Lead, Copper, and Thallium in Highly Saline Samples by Anodic Stripping Voltammetry (ASV) Using Mercury-Film and Bismuth-Film Electrodes. **Electroanalysis**, v. 19, n. 16, p. 1719-1726, 2007.

CHANG, A. L. S.; KHOSRAVI, V.; EGBERT, B.; A case of argyria after colloidal silver ingestion. **J. Cutan. Pathol.**, n. 33, p. 809–811, 2006.

CHEN, B. et al. Glassy carbon electrode modified with organic–inorganic pillared montmorillonites for voltammetric detection of mercury. **Microchim. Acta**, n. 172, p. 335-341, 2011.

CLARKSON, T. W.; MAGOS, L.; MYERS, G. J. The Toxicology of Mercury — Current Exposures and Clinical Manifestations. **N. Eng. J. Med.**, n. 349, p. 1731-1737, 2003.

COMPTON, R. G. et al. Anodic stripping voltammetry of copper at insonated glassy carbon-based electrodes: application to the determination of copper in beer. **The Analyst**, v. 124, n. 7, p. 1053-1057, 1999.

COMPTON, R. G., et al. Electroanalytical Determination of Cadmium(II) and Lead(II) Using an *in-situ* Bismuth Film Modified Edge Plane Pyrolytic Graphite Electrode. **Analytical Science**, v. 23, n. 3, p. 283-289, 2007.

COX, J. A.; KULESZA, P. J. Electrocatalytic Oxidation and determination of Arsenic (III) on a Glassy Carbon Electrode Modified with a Thin Film of Mixed-Valent Ruthenium(III,II) Cyanide. **Anal. Chem.**, n. 56, p. 1021-1025, 1984.

CROUCH, A. M. et al. Comparative study of cyclic voltammetry with potentiometric analysis for determining formation constants for polyaminocarboxylate–metal ion complexes. **Anal. Chim. Acta**, n. 448, p. 231-237, 2001.

CVJETKO, P.; CVJETKO, I.; PAVLICA, M. Thallium Toxicity In Humans. **Arh. Hig. Rada Toksikol.**, n. 61, p. 111-119, 2010.

D'HAESE, P. C. D.; BROE, M. E. Adequacy of dialysis: trace elements in dialysis fluids. **Nephrol. Dial. Transplant.**, v. 11, p. 92-97, 1996.

D'HAESE, P. C. et al. Aluminum, Iron, Lead, Cadmium, Copper, Zinc, Chromium, Magnesium, Strontium, and Calcium Content in Bone of End-Stage Renal Failure Patients. **Clin. Chem.**, n. 45, p. 1548-1556, 1999.

DRAKE, P. M.; HAZELWOOD, K. J.; Exposure-Related Health Effects of Silver and Silver Compounds: A Review. **Ann. Occup. Hyg.**, v. 49, n. 7, p. 575–585, 2005.

ECONOMOU, A.; CHARALAMBOUS, A. A study on the utility of bismuth-film electrodes for the determination of In(III) in the presence of Pb(II) and Cd(II) by square wave anodic stripping voltammetry. **Anal. Chim. Acta**, v. 547, n. 1, p. 53-58, 2005.

ECONOMOU, A.; KEFALA, G.; SOFONIOU, M. Determination of trace aluminium by adsorptive stripping voltammetry on a preplated bismuth-film electrode in the presence of cupferron. **Talanta**, v. 68, n. 3, p. 1013-1019, 2006.

ECONOMOU, A. et al. Novel disposable bismuth-sputtered electrodes for the determination of trace metals by stripping voltammetry. **Electrochem. Commun.**, v. 9, n. 12, p 2795-2800, 2007.

ELÇI, L.; SAHIN, U.; OZTAS, S. Determination of trace amounts of some metals in samples with high salt content by atomic absorption spectrometry after cobalt-diethyldithiocarbamate coprecipitation. **Talanta**, v. 44, n. 6, p. 1017-1023, 1997.

EL-MALLI, N. A. et al. Use of adsorptive stripping voltammetry at the glassy carbon electrode for the simultaneous determination of magnesium(II) and aluminium(III): Application to some industrial samples. **Anal. Chim. Acta**, v. 417, n. 1, p. 67-75, 2000.

EI-SHERBENY, S. S. A.; ALLAH, A. M. A.; MASSOUD, W. Copper, Zinc, Selenium, Cadmium and Lead Levels in plasma of Hemodialysis Patients. **Egypt. J. Hosp. Med.**, v. 24, p. 556 – 563, 2006.

FISSEL, W. H.; ROYT, S. The Implantable Artificial kidney. **Seminars in Dialysis**, v. 22, n. 6, p. 665-670, 2009.

GHONEIM, M. M.; RADI, A.; BELTAGI, A. M. Determination of Norfloxacin by square-wave adsorptive voltammetry on a glassy carbon electrode. **J. Pharmaceut. Biomed. Anal.**, n. 25, p. 205–210, 2001.

GOYAL, R. N.; SINGH, S. P. Voltammetric determination of paracetamol at C60-modified glassy carbon electrode. **Electrochim. Acta**, N. 51, P. 3008-3012, 2006.

GULABOSKI, R. et al. Protein film voltammetry: electrochemical enzymatic spectroscopy. A review on recent progress. **J. Solid. State Electrochem.**, v. 15, 2011.

HART, J. P. et al. Voltammetric behavior and trace determination of copper at a mercury-free screen-printed carbon electrode. **Talanta**, v. 57, p. 565-574, 2002.

HÁTLE, M. Determination of mercury by differential-pulse anodic-stripping voltammetry with various working electrodes: Application to the analysis of natural water sediments. **Talanta**, v. 34, p. 1001-1007, 1987.

HE, X. et. al. Square wave anodic stripping voltammetric determination of lead(II) using a glassy carbon electrode modified with a lead ionophore and multiwalled carbon nanotubes. **Microchim. Acta**, n. 176, p. 81-89, 2012.

HENZE, G.; THOMAS, F. G. **Introduction to Voltammetric Analysis: Theory and Practice**. Collingwood/Victoria: CSIRO Publishing, 2001.

HERNANDEZ, L.; HERNANDEZ, P. Self-Assembled Monolayer of L-cysteine on a gold electrode as a Support for Fatty Acid. Application to the Electroanalytical Determination of unsaturated Fatty Acid. **Electroanalysis**, v. 15, n. 20, p. 1625-1631, 2002.

HEYROVSKY, M. et al. The anodic reactions at mercury electrodes due to cysteine. **J. Electroanal. Chem.**, n. 430, p. 103-117, 1997.

HIBBERT, D. B.; YANG, W.; GOODING, J. Characterisation of gold electrodes modified with self-assembled monolayers of L-cysteine for the adsorptive stripping analysis of copper. **J. Electroanal. Chem.**, n. 516, p. 10-16, 2001.

HOENICH, N. A.; RONCO, C.; LEVIN, R. The Importance of Water Quality and Haemodilysis Fluid Composition. **Blood Purification**, v. 24, n. 1, 2006.

HOUSTON, M. C. Role of Mercury Toxicity in Hypertension, Cardiovascular Disease, and Stroke. **J. Am. Soc. Hypertens.**, v. 13, n. 8, p. 621-628, 2011.

HU, X. et al. Simultaneous electrochemical determination of dopamine, ascorbic acid and uric acid using poly(acid chrome blue K) modified glassy carbon electrode. **Sensors and Actuators B**, n. 138, p. 174-181, 2009.

HUTTON, E. A.; ELTEREN, J. T.; OGOREVC, B.; SMYTH, M. R., Validation of bismuth film electrode for determination of cobalt and cadmium in soil extracts using ICP-MS. **Talanta**, v. 63, p. 849–855, 2004.

HWANG, G. H. et al. An electrochemical sensor based on the reduction of screen-printed bismuth oxide for the determination of trace lead and cadmium. **Sensor Actuator B Chem.**, n. 135, p. 309–316, 2008.

INMETRO - DOQ-CGCRE - 008 - Orientações sobre validação de métodos e ensaios químicos. Março 2003.

JALILEHVAND, F. et al. Mercury(II) Cysteine Complexes in Alkaline Aqueous Solution. **Inorg. Chem.**, n. 45, p. 66–73, 2006.

JOVANOVIĆ, V. M. et al. Glassy carbon electrodes I. Characterization and electrochemical activation. **Carbon**, v. 39, n. 8, p. 1195-1205, 2001.

JUBERG, D. R.; KLEIMAN, C. F.; KWON, S. C. Position paper of the American Council on Science and Health: Lead and Human Health. **Ecotox. Environm. Safety**, n. 38, p. 162-180, 1997.

KAZANTZIZ, G. Thallium in The Environment And Health Effects. **Environ. Geochem. Health.**, n. 22, p. 275-280, 2000.

KAPOOR, R. C.; AGGARWAL, B. S. **Principles of Polarography**. John Wiley & Sons, 1ª edição, p. 23-29, 1991.

KAZANTZIS, G. Mercury exposure and early effects: an overview. **Med. Lav.**, n. 3, p. 139-147, 2002.

KENNETH, H. B.; WUEHLER, S. E. **Zinc and Human Health: Results of recent trials and Implications for program intervention and Research**. 1ª ed, Canada: IDRC Books, p. 1, 2000.

KIRCHHOFF, F.; HOLENDER, J. M.; GILLAN, M. J. Complex ion formation in liquid Ag-Se alloy. **Europhys.**, n. 33, p. 605-610, 1996.

KOROLCZUK, M.; GRABARCZYK, M; TYSZCZUK, K. Application of gallium film electrode for elimination of copper interference in anodic stripping voltammetry of zinc. **Talanta**, n. 71, p. 2098-2101, 2007.

LAU, O. W.; KUK, S. F.; CHEUNG, Y. M. Simultaneous Determination of Ascorbic Acid, Caffeine Paracetamol in Drug Formulations by Differential-pulse Using a Glassy Carbon Electrode. **Analyst**, v. 114, p. 1047-1051, 1989.

LEE, M. K.; et al. Effect of phase stability degradation of bismuth on sensor characteristics of nano-bismuth fixed electrode. **Talanta**, n. 83, p. 682-686, 2010.

LIN, L. et al. Adsorptive stripping voltammetric measurements of trace uranium at the bismuth film electrode. **Anal. Chim. Acta**, n. 535, p. 9-13, 2005.

LIN, J. L. et. al. Blood lead levels associated with 18-month all-cause mortality in patients with chronic peritoneal dialysis. **Nephrol. Dial. Transplant.**, n. 25, p. 1627-1633, 2010.

LU, K. C. et. al. Decreased blood lead levels after calcitriol treatment in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. **Bone**, n. 49, p. 1306-1310, 2011.

LUO, H. Q.; LI, N. B.; WU, Y. Simultaneous measurement of Pb, Cd and Zc using differential pulse anodic stripping voltammetry at a bismuth/poly(p-aminobenzene sulfonic acid) film electrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, n. 133, p. 677-681, 2008.

LURIE, J. **Handbook of Analytical Chemistry**, Mir Publishers, Moscow, Russia, 1978.

MAKKUNI, A. et al. Aqueous nad vapor phase mercury sorption by inorganic oxide materials functionalized with thiols and poly-thiols. **Clean Techn. Environ. Polyce**, n. 7, p. 87-96, 2005.

MIKKELSEN, O. et al. Evaluations of solid electrodes for use in voltammetric monitoring of heavy metals in samples from metallurgical nickel industry. **Anal. Bioanal. Chem.**, n. 377, p. 322-326, 2003.

MURRAY, R. W. Chemically Modified Electrodes. **Acc. Chem. Res.**, n. 13, p. 135-141, 1980.

NASCIMENTO, P. C. et al. Sequential Voltammetric Determination of Chromium, Thallium, Cadmium, lead, Copper and Antimony in Saline Hemodialysis Concentrates using Electrolyte pH Gradient. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 22, n. 5, p. 820-827, 2011.

NETO, M. M. M.; JORGE, E. O.; ROCHA, M. M. A Mercury-free electrochemical sensor for the determination of thallium(I) based on the rotating-disc bismuth film electrode. **Talanta**, v. 72, p. 1392-1399, 2007.

NIES, D. H. Microbial heavy-metal resistance. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, n. 51, p 730-750, 1999.



NORDBERG, G. F. Historical perspectives on cadmium toxicology. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, n. 238, p. 192–200, 2009.

NUTTAL, K. L.; Review: Interpreting Mercury in Blood and Urine of Individual Patients. **Ann. Clin. Lab. Sci.**, n. 3, p. 235-250, 2004.

OGOREVC, B. et al. A study on Operational Parameters for advanced use of Bismuth Film Electrode in Anodic Stripping Voltammetry. **Electroanal.**, v. 14, n. 24, p. 1707-1712, 2002.

PAN, T. L. et. al. Skin toxicology of lead species evaluated by their permeability and proteomic profiles: A comparison of organic and inorganic lead. **Toxicol. Lett.**, n. 197, p. 19-28, 2010.

PANYALA, N. R.; PEÑA-MÉNDEZ, E. M.; HAVEL, J. Silver or silver nanoparticles: a hazardous threat to the environment and human health? **J. Appl. Biomed.**, n. 6, p. 117-129, 2008.

PEARSON, R. G. Hard and Soft Acids and Bases. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 85, n. 22, 1963.

PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. S.; KUBOTA, L. T. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 1012-1021, 2002.

PETER, A. L. J.; VIRARAGHAVAN, T. Thallium: a review of public health and environmental concerns. **Environ. Intern.**, n. 31, p. 493-501, 2005.

PLUM, L. M.; RINK, L.; HAASE, H. The Essential Toxin: Impact of Zinc on Human Health. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, n. 7, p. 1342-1365, 2010.

PRIOR, C.; WALKER, S. The Use of the Bismuth Film electrode for the Anodic Stripping Voltammetric determination of Tin. **Electroanalysis**, v. 18, n. 8, p. 823-829, 2006.

RIBANI, M. et al. Validação Em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RISO, R. D. et al. Measurements of trace concentrations of mercury in sea water by stripping chronopotentiometry with gold disk electrode: influence of copper. **Anal. Chim. Acta**, n. 410, p. 97-105, 2000.

ROBARDS, K.; WORSFOLD, P. Cadmium: Toxicology and Analysis. **Analyst**, v. 116, p. 549-568, 1991.

ROMANENKO, S. V.; LARINA, L. N. A choice of optimal surface modifier of carbon electrodes for mercury determination by stripping voltammetry. **J. Electroanal. Chem.**, n. 583, p. 155-161, 2005.

RUCKER, D.; THADHANI, R.; TONELLI, M.; Trace Element Status in Hemodialysis Patients. **Seminars in Dialysis**, v. 23, n. 4, 2010.

SAGARA, J. I.; MIURA, K.; BANNAI, S.; Cystine Uptake and Glutathione Level in Fetal Brain Cells in Primary Culture and in Suspension. **J. Neurochem.**, v. 61, n. 5, p.1667-1671, 1993.

SCHILLER, R.; EBERT, M. Pulse Radiolysis Study Of Silver Chloride Formation And Precipitation. **Int. J. Radiat. Phys. Chem.**, v. 1, P. 111-118, 1969.

SABBIONI, E. et al. Salts as source of metals in dialysis fluids: an assessment study by means of neutron activation analysis. **Sci. Tot. Environ.**, v. 84, p. 13-23, 1989.

SCHOLZ, F. **Electroanalytical Methods** – Guide to experiments and Applications. 1<sup>st</sup> ed, Berlin: Springer, p. 52, 2002.

SHARMA, S. K. Structural Transformation in thin Films of Binary Alloys. **Journal of Materials Science**, n. 4, p. 189-194, 1969.

SHEW, S. B. et al. Assessment of cysteine synthesis in very low–birth weight neonates using a [ $^{13}\text{C}_6$ ] glucose tracer. **J. Pediatr. Surg.**, n. 40, p. 52-56, 2005.

SHI, K.; SHIU, K. K. Determination of Uric Acid at Electrochemically Activated Glassy Carbon Electrode. **Electroanalysis**, v. 13, n. 16, p. 1319-1325, 2001.

SHIU, K; SHI, K. Preconcentration and Electroanalysis of Copper Species at Electrochemically Activated Glassy Carbon Electrodes. **Electroanal.**, n. 14, p. 959-964, 1998.

SOLAK, A. O.; USTUNDAG, Z. EDTA modified glassy carbono electrode: Preparation and characterization. **Electrochem. Acta**, n. 54, p. 6426-6432, 2009.

SOTIROPOULOS, S. et al. The Determination of cysteine at Bi-powder carbon paste electrode by cathodic stripping voltammetry. **Electrochem. Commun.**, n. 10, p. 918-921, 2008.

SOUZA, M. F.; BERTAZZOLI, R. Preconcentration and Voltammetric Determination of Mercury(II) at a Chemically Modified Glassy Carbon Electrode. **Anal. Chem.**, n. 68, p. 1258-1261, 1996.

SOUZA, M. F. B. Eletrodos Quimicamente Modificados Aplicados À Eletroanálise: Uma Breve Abordagem. **Quimica Nova**, n. 20, p. 191-195, 1997.

SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A.; voltametria de onda quadrada. primeira parte: aspectos teóricos. **Quimica Nova**, n. 1, p. 81-89, 2003.

STADEN, J. F.; MATOETOE, M. C. Simultaneous determination of copper, lead, cadmium and zinc using differential pulse anodic stripping voltammetry in a flow system. **Anal. Chim. Acta**, n. 411, p. 201-207, 2000.

SUE, Y. et. al. Generalized Argyria in Two Chronic Hemodialysis Patients. **Am. J. Kidney Dis.**, v. 137, n. 5, p. 1048-1051, 2001.

SKOOG, D. A. et. al. **Princípios de Análise Instrumental**. 8<sup>a</sup> ed, São Paulo: Thomson, p. 655, 2006.

THOR, E. A. et. al. Hypogeusia and zinc depletion in chronic dialysis patients. **Am. J. Clin. Nutr.**, n. 31, p. 1948-1951, 1978.

TONELLI, M. et al. Trace elements in hemodialysis patients: a systematic review and meta-analysis. **BMC medicine**, n. 7, p.1-12, 2009.

VALENTINE, W. N. et al Lead poisoning. Association with hemolytic anemia, basophilic stippling, erythrocyte pyrimidine 5`-nucleotidase deficiency, and intraerythrocytic accumulation of pyrimidines. **J. Clin. Invest.**, v. 58, p. 926-932, 1976.

WANG, J. et al. Bismuth-Coated Carbon Electrodes for Anodic Stripping Voltammetry. **Anal. Chem.**, n. 72, p. 3218-3222, 2000.

WANG, J. et. al. Direct Electrochemistry of Cytochrome c at a Glassy Carbon Electrode Modified with Single-Wall Carbon Nanotubes. **Anal. Chem.**, n. 74, p. 1993-1997, 2002.

WANG, S.; DU, D. Differential pulse voltammetry determination of ascorbic acid with ferrocene-l-cysteine self-assembled supramolecular film modified electrode. **Sensor Actuat B-Chem**, v. 97, p. 373–378, 2004.

WANG, J. Stripping Analysis at Bismuth electrodes: A Review. **Electroanalysis**, v. 17, n. 15-16, p. 1341-1346, 2005.

WANG, C. et al. Covalent Modification of Glassy Carbon Electrode with L-Cysteine for the determination of acetaminophen. **Microchim. Acta**, v. 155, p. 365-371, 2006.

VOGEL, A. I. Química Analítica Qualitativa. 5<sup>a</sup> ed., São Paulo:Editora Mestre Jou, p. 665, 1981.

XU, L.; WANG, Y. pH-dependent displacement of [Bi(citrate)]<sup>-</sup> with cysteine: Synthesis, spectroscopic and X-ray crystallographic characterization of Bi(Cysteine)<sub>3</sub>. **J. Inorg. Biochem.**, v. 102, p. 988-991, 2008.

YUAN, R. et al. Investigation of the electrochemical and electrocatalytic behavior of positively charged gold nanoparticle and L-cysteine film on an Au electrode. **Anal. Chim. Acta**, n. 596, p. 99-105, 2007.

YUSOF, N. A.; DAUD, N.; TEE, T. W. Development of Electrochemical Sensor for Detection of Mercury by Exploiting His-Phe-His-Ala-His-Phe-Ala-Phe Modified Electrode. **Int. J. Electrochem. Sci.**, n. 6, p. 2798-2807, 2011.

ZHAO, H. et al. Poly(2-amino-4-thiazoleacetic acid)/multiwalled carbon nanotubes modified glassy carbon electrodes for the electrochemical detection of copper(II). **Electrochim. Acta**, n. 55, p. 2518, 2521, 2010.

ZI, Y. et al. A study of nanostructured gold modified glassy carbon electrode for the determination of trace Cr(VI). **J. Chem. Sci.**, v. 120, n. 5, p. 493-498, 2008.

ZITTEL, H. E.; MILLER, F. J. A glassy-carbon Electrode for Voltammetry. **Anal. Chem.**, v. 37, n. 2, p. 200-203, 1965.

ZUTSHI, K. **Polarography and Allied Techniques**. New Age International Publishers, 2<sup>nd</sup> ed., p. 23-28, 2006.