

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

**DETERMINAÇÃO DE ALUMÍNIO E FERRO  
EM FLUIDOS PÓS-HEMODIÁLISE EMPREGANDO  
VOLTAMETRIA E DECOMPOSIÇÃO DE AMOSTRAS  
COM RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA**

**TESE DE DOUTORADO**

**Luciana Didonet Del-Fabro**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2007**

**DETERMINAÇÃO DE ALUMÍNIO E FERRO  
EM FLUIDOS PÓS-HEMODIÁLISE EMPREGANDO  
VOLTAMETRIA E DECOMPOSIÇÃO DE AMOSTRAS COM  
RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA**

**por**

**Luciana Didonet Del-Fabro**

Tese 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 **DOUTOR EM QUÍMICA**.

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

**Santa Maria, RS, Brasil 2007**

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

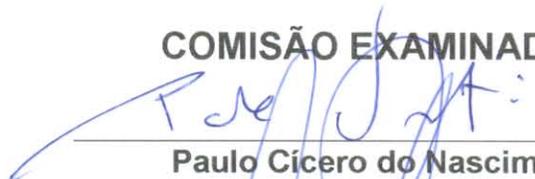
**A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
Aprova a Tese de Doutorado**

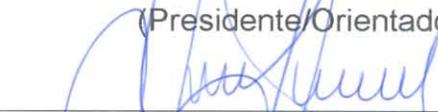
**DETERMINAÇÃO DE ALUMÍNIO E FERRO  
EM FLUIDOS PÓS-HEMODIÁLISE EMPREGANDO  
VOLTAMETRIA E DECOMPOSIÇÃO DE AMOSTRAS  
COM RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA**

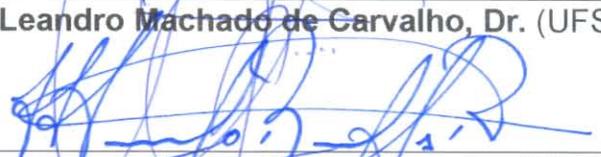
elaborada por  
**Luciana Didonet Del-Fabro**

como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Doutor em Química**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

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

  
\_\_\_\_\_  
**Leandro Machado de Carvalho, Dr. (UFSM)**

  
\_\_\_\_\_  
**Marcelo Barcellos da Rosa, Dr. (INPE)**

  
\_\_\_\_\_  
**Ana Lúcia Becker Rohlfs, Dra. (UNISC)**

  
\_\_\_\_\_  
**Denise Schermann Azambuja, Dra. (UFRGS)**

Santa Maria, 19 de outubro de 2007.

Dedico

“Ao meu namorado Celio, por me fazer tão feliz, ao meu irmão Marcos, pela nossa amizade e aos meus pais Dirceu e Terezinha, que me deram as condições de eu ser a pessoa que sou hoje.”

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo Cícero do Nascimento, pela oportunidade oferecida, pela orientação e principalmente pelo bom convívio nestes anos de trabalho.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Denise Bohrer do Nascimento, pelo esclarecimento de dúvidas.

Ao Prof. Leandro Machado de Carvalho, pela co-orientação e por ter me auxiliado em minhas dúvidas.

Aos membros da banca: Marcelo Barcellos da Rosa, Ana Lúcia Becker Rohlfes e Denise Schermann Azambuja pelas críticas e sugestões que proporcionaram o enriquecimento da minha tese.

Às minhas queridas amigas: Michele (Mi), Emilene (Emi), Claudia (Crau), Marieli (Leli) e Sabrina (Bina) por todos os momentos divertidos que passamos juntas e pela nossa amizade. Agradeço especialmente à Daniele (Dani) e à Daiane (Dai), por estarem comigo nos últimos dias.

Aos colegas e amigos Adrian, Joselito, Vânia, Jean, Eduardo, Sandra Zilda, Júlia, Carine e Juliane pelos conselhos, incentivo, apoio e pelos momentos alegres vividos durante o curso.

Aos amigos e familiares que não conviveram comigo durante esta etapa de minha vida, mas que sempre me apoiaram e acreditaram em mim.

Aos meus pais, Terezinha e Dirceu, pelo incentivo, conselhos e por sempre acreditarem em mim.

Ao meu irmão Marcos, por me apoiar sempre e pelas nossas conversas quase que diárias, me deram muita força.

Ao Celio, por tudo... pelo amor, incentivo, companheirismo, paciência e por contribuir de diversas formas para a realização desta tese.

À Deus...

À CNPQ, pelo suporte financeiro.

## RESUMO

TESE DE DOUTORADO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA

### DETERMINAÇÃO DE ALUMÍNIO E FERRO EM FLUIDOS PÓS-HEMODIÁLISE EMPREGANDO VOLTAMETRIA E DECOMPOSIÇÃO DE AMOSTRAS COM RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA

AUTORA: LUCIANA DIDONET DEL-FABRO

ORIENTADOR: PROF. DR. PAULO CÍCERO DO NASCIMENTO

A determinação simultânea de Al(III) e Fe(III) em fluidos pós-hemodialise foi investigada por voltametria adsortiva (AdSV) usando como agente complexante o violeta de solocromo RS (SVRS). Os analitos formam complexos eletroativos com o SVRS em pH 4.6. A adsorção dos complexos no eletrodo de mercúrio (HMDE) foi investigada através da voltametria de corrente alternada, na presença dos principais interferentes presentes nos fluidos pós-hemodialise: uréia, creatinina, ácido úrico e ácido oxálico. Para avaliar a possibilidade de formação de complexos entre os compostos orgânicos presentes no fluido pós-hemodiálise com o Al(III) e o Fe(III), investigou-se o perfil dos espectros de absorção molecular dos complexos Al(III)-SVRS e Fe(III)-SVRS na presença das espécies interferentes. O ordem de interferência das espécies orgânicas foi: ácido úrico > uréia = ácido oxálico > creatinina. A digestão das amostras por irradiação UV foi investigada para eliminar a interferência da matriz. A irradiação UV de amostras diluídas (1:1) durante 2 horas, com adição de HCl concentrado ( $2,4 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ ) e de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% ( $6,86 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) no início do processo, foi escolhida como a melhor condição para a digestão da amostra. O método proposto foi validado para amostras contendo ou não Desferal. Foram coletadas amostras de fluido pós-hemodiálise de 36 pacientes renais. Os limites de detecção de  $1,4 \mu\text{g L}^{-1}$ , para o Al(III) e  $1,8 \mu\text{g L}^{-1}$  para o Fe(III) foram calculados. As recuperações obtidas ficaram entre 88,1 e 106,7%.

#### **Palavras-chaves:**

voltametria adsortiva; fluidos pós-hemodiálise, alumínio, ferro, digestão UV

## ABSTRACT

### VOLTAMMETRIC DETERMINATION OF Al(III) AND Fe(III) AS SOLOCHROME VIOLET RS COMPLEXES IN POST-HEMODIALYSIS FLUIDS AFTER UV SAMPLE DIGESTION

AUTHOR: LUCIANA DIDONET DEL-FABRO

ADVISOR: PAULO CÍCERO DO NASCIMENTO

The simultaneous determination of Al(III) and Fe(III) in post-hemodialysis fluids was investigated by the Adsorptive stripping voltammetry (AdSV) of solochrome violet (SVRS) metal complexes. The analytes build electrochemically active complexes with SVRS reagent in acetate buffered medium at pH 4.6. The adsorption of the complexes on the mercury electrode (HMDE) was investigated by out of phase alternating current voltammetry in presence of the main matrix interfering species, urea, creatinine, glucose, uric and oxalic acids. The competitive action of the matrix relatively to Al(III) and Fe(III) SVRS complexes formation apart of the HMDE electrode was assessed by molecular spectrometry. The interference rank uric acid > urea = oxalic acid > creatinine was established. Sample digestion by UV irradiation was investigated to overcome the matrix interference on the electrodic reaction and competition toward the analytes as well. Two hours digestion time at 90 °C in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> acidic solution was enough to assay by AdSV Al(III) and Fe(III) as SVRS complexes in 1:1 diluted real post-hemodialysis samples. The proposed method was valid for samples containing or not Desferrioxamine B. It was tested to assay Al(III) and Fe(III) in 36 real post-hemodialysis samples obtained from the university hospital. Detection limits of 1.4 and 1.8 µg L<sup>-1</sup> were calculated for Al(III) and Fe(III), respectively. Recoveries ranging from 88.1 to 106.7% were obtained from spiking experiments.

#### Keywords

adsorptive voltammetry; post-hemodialysis fluids, aluminum, iron, UV digestion

## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1</b> – Estrutura das principais espécies orgânicas que constituem o fluido pós-hemodiálise .....   | 26 |
| <b>Figura 2</b> – Estrutura molecular do desferal.....  | 34 |
| <b>Figura 3</b> – Estrutura molecular do complexo Me-DFO .....  | 35 |
| <b>Figura 4</b> – Estrutura molecular do violeta de solocromo.....  | 36 |
| <b>Figura 5</b> – Espectro UV-Vis da lâmpada de mercúrio.....   | 45 |
| <b>Figura 6</b> – Classes de compostos que sofrem decomposição pela radiação UV .....   | 51 |
| <b>Figura 7</b> – Esquema do digestor utilizado para irradiação com luz UV .....  | 66 |
| <b>Figura 8</b> – Sinais voltamétricos do SVRS e dos complexos Al(III)-SRVS e Fe(III)-SVRS por AdCSV .....  | 70 |
| <b>Figura 9</b> – Dependência do sinal dos complexos com o SVRS a) Al(III) e b) Fe(III) com a concentração do SVRS em diferentes concentrações de metal.....        | 72 |
| <b>Figura 10</b> – Dependência do sinal dos complexos com o SVRS a) Al(III) e b) Fe(III) com a temperatura de aquecimento para a formação dos complexos .....       | 73 |
| <b>Figura 11</b> – Dependência do sinal dos complexos com o SVRS a) Al(III) e b) Fe(III) com o tempo de pré-concentração em diferentes concentrações de metal ..... | 74 |
| <b>Figura 12</b> – Sinais voltamétricos de Al(III) e Fe(III) como complexos do SVRS .....   | 75 |
| <b>Figura 13</b> – Voltamograma obtido para a água e para uma amostra real de fluido pós-hemodiálise .....  | 76 |
| <b>Figura 14</b> – Voltamograma obtido em uma amostra de solução de diálise .....   | 78 |
| <b>Figura 15</b> – Voltamogramas das principais espécies orgânicas que compõem o fluido pós-hemodiálise.....  | 80 |

|  |     |
|--|-----|
| <b>Figura 16</b> – Espectro de absorção molecular do SVRS e dos complexos Al(III)-SVRS e Fe(III)-SVRS.....                   | 82  |
| <b>Figura 17</b> – Voltamogramas AC do SVRS.....   | 85  |
| <b>Figura 18</b> – Voltamogramas AC do complexo Al(III)-SVRS.....  | 86  |
| <b>Figura 19</b> – Voltamogramas AC do complexo Fe(III)-SVRS.....  | 86  |
| <b>Figura 20</b> – Voltamogramas AC de uma amostra real de fluido pós-hemodiálise ....                                       | 87  |
| <b>Figura 21</b> – Voltamogramas AC de uma amostra artificial de fluido pós-hemodiálise .....                                | 87  |
| <b>Figura 22</b> – Voltamogramas AC do ácido úrico .....   | 88  |
| <b>Figura 23</b> – Voltamogramas AC do ácido oxálico.....  | 88  |
| <b>Figura 24</b> – Voltamogramas AC da creatinina.....   | 89  |
| <b>Figura 25</b> – Voltamogramas AC da uréia .....   | 89  |
| <b>Figura 26</b> – Espectro de absorção molecular de 7 amostras de fluido pós-hemodiálise .....                              | 91  |
| <b>Figura 27</b> – Voltamogramas AC do DFO.....  | 101 |
| <b>Figura 28</b> – Efeito do tempo de irradiação na determinação de Al(III) e Fe(III), considerando a influência do DFO..... | 102 |
| <b>Figura 29</b> – Correlação linear para Al(III) e Fe(III) .....  | 104 |

## LISTA DE TABELAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabela 1</b> – Contaminantes e seus níveis máximos de concentração em água de diálise .....   | 21 |
| <b>Tabela 2</b> – Valores das constantes de formação de alguns complexos a 25 °C.....  | 38 |
| <b>Tabela 3</b> – Reagentes utilizados no desenvolvimento do trabalho .....  | 60 |
| <b>Tabela 4</b> – Solução de diálise após diluição .....   | 61 |
| <b>Tabela 5</b> – Recuperação de Al(III) e Fe(III) em uma amostra real de fluido pré-hemodiálise .....   | 79 |
| <b>Tabela 6</b> – Absorvâncias normalizadas do SVRS na presença ou não de Al(III) e Fe(III) e de substâncias presentes no fluido pós-hemodiálise ..... | 83 |
| <b>Tabela 7</b> – Determinação de Al(III) e Fe(III) por AdCSV, após a digestão com irradiação UV (n = 3) .....   | 98 |

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIACOES

|               |   |
|---------------|---|
| <b>AC</b>     | Voltametria de corrente alternada                       |
| <b>AdCSV</b>  | Voltametria adsortiva de redissolução catódica          |
| <b>DFO</b>    | Desferal  |
| <b>GF-AAS</b> | Espectrometria de absorção atômica por forno de grafite |
| <b>HMDE</b>   | Eletrodo de mercúrio de gota pendente                   |
| <b>MAS</b>    | Espectrometria de absorção molecular                    |
| <b>SVRS</b>   | Violeta de solocromo                                    |
| <b>UV</b>     | Ultravioleta  |

# SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>   | <b>15</b> |
| <b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>   | <b>18</b> |
| <b>2.1 Insuficiência renal .....</b>  | <b>18</b> |
| <b>2.2 Hemodiálise .....</b>  | <b>18</b> |
| <b>2.3 Metabólitos presentes nos fluidos pós-hemodiálise .....</b>                                    | <b>22</b> |
| 2.3.1 Uréia.....  | 23        |
| 2.3.2 Creatinina .....  | 24        |
| 2.3.3 Ácido Úrico .....   | 24        |
| 2.3.4 Ácido Oxálico .....   | 25        |
| <b>2.4 Alumínio e ferro no organismo .....</b>  | <b>27</b> |
| <b>2.5 Determinações simultânea de Al(III) e Fe(III) através do uso de agentes complexantes .....</b> | <b>30</b> |
| <b>2.6 Complexos .....</b>  | <b>31</b> |
| 2.6.1 Reação de formação de complexos .....   | 31        |
| 2.6.2 Reações de coordenação.....   | 32        |
| <b>2.7 Desferal .....</b>   | <b>34</b> |
| <b>2.8 Violeta de solocromo .....</b>   | <b>36</b> |
| <b>2.9 Determinação de metais por voltametria .....</b>   | <b>38</b> |
| 2.9.1 Voltametria adsortiva de redissolução catódica .....  | 40        |
| 2.9.2 Voltametria de corrente alternada (AC).....   | 42        |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>2.10 Pré-tratamento</b> .....  | <b>43</b> |
| 2.10.1 Caracterização da radiação ultravioleta .....                                      | 44        |
| 2.10.1.1 Lâmpadas de baixa pressão .....  | 46        |
| 2.10.1.2 Lâmpadas de média e alta pressão.....  | 47        |
| 2.10.2 Digestão de amostras com radiação ultravioleta.....                                | 48        |
| 2.10.3 Peróxido de hidrogênio.....  | 49        |
| 2.10.4 Espécies reativas que podem ser formadas sob influência da radiação UV ..          | 49        |
| 2.10.4.1 Radicais hidroxila e peróxido.....   | 49        |
| 2.10.4.2 Oxigênio singlete .....  | 52        |
| 2.10.4.3 Radicais superóxidos e radicais alquilperóxidos .....                            | 53        |
| 2.10.4.4 Elétron hidratado .....  | 54        |
| 2.10.5 Aplicação da radiação UV na determinação de metais .....                           | 55        |
| 2.10.6 Irradiação com luz ultravioleta de amostras que contêm compostos nitrogenados..... | 57        |
| <b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....  | <b>58</b> |
| <b>3.1 Instrumentação</b> .....   | <b>58</b> |
| <b>3.2 Reagentes e soluções</b> .....   | <b>59</b> |
| <b>3.3 Controle da contaminação</b> .....   | <b>61</b> |
| <b>3.4 Medidas voltamétricas</b> .....  | <b>61</b> |
| 3.4.1 Formação dos complexos Al(III)- SVRS e Fe(III)-SVRS.....                            | 62        |
| 3.4.2 Método da adição do padrão.....   | 62        |
| 3.4.3 Determinação simultânea de Al(III) e Fe(III).....                                   | 63        |

|            |   |           |
|------------|---|-----------|
| <b>3.5</b> | <b>Formação de complexos Al(III)-Fe(III)/espécies orgânicas por espectrofotometria de absorção molecular .....</b>      | <b>63</b> |
| <b>3.6</b> | <b>Voltametria de corrente alternada .....</b>  | <b>64</b> |
| <b>3.7</b> | <b>Decomposição da amostra com radiação UV .....</b>  | <b>64</b> |
| 3.7.1      | Purificação do peróxido de hidrogênio .....   | 66        |
| <b>3.8</b> | <b>Aplicação em amostras de fluido pós-hemodiálise .....</b>  | <b>67</b> |
| <b>3.9</b> | <b>Métodos de comparação .....</b>  | <b>67</b> |
| <b>4.</b>  | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>   | <b>68</b> |
| <b>4.1</b> | <b>Medidas voltamétricas .....</b>  | <b>68</b> |
| 4.1.1      | Ensaio para a escolha das condições experimentais ideais para a formação dos complexos Al(III)-SVRS e Fe(III)-SVRS..... | 71        |
| 4.1.1.1    | Concentração do complexante SVRS .....  | 71        |
| 4.1.1.2    | Temperatura de aquecimento .....  | 72        |
| 4.1.1.3    | Tempo de pré-concentração .....   | 73        |
| 4.1.2      | Faixa linear e limite de detecção .....   | 75        |
| <b>4.2</b> | <b>Determinação simultânea de Al(III) e Fe(III) em fluidos pós-hemodiálise ....</b>                                     | <b>76</b> |
| 4.2.1      | Interferência das espécies inorgânicas .....  | 77        |
| <b>4.3</b> | <b>Interferência das espécies orgânicas.....</b>  | <b>79</b> |
| 4.3.1      | Investigação da interferência das espécies orgânicas por espectrofotometria.  | 81        |
| 4.3.2      | Investigação da interferência das espécies orgânicas por voltametria de corrente alternada .....                        | 84        |
| <b>4.4</b> | <b>Decomposição das amostras de fluido pós-hemodiálise utilizando a radiação UV.....</b>                                | <b>91</b> |

|  |            |
|--|------------|
| 4.4.1 Efeito do pH.....  | 92         |
| 4.4.2 Efeito da diluição do fluido pós-hemodiálise.....                    | 93         |
| 4.4.3 Efeito do tempo de irradiação UV.....                                | 93         |
| 4.4.4 Influência da adição de peróxido e ácidos.....                       | 94         |
| <b>4.5 Aplicação do método desenvolvido .....</b>                          | <b>96</b>  |
| <b>4.6 Determinação de Al(III) e Fe(III) na presença do desferal .....</b> | <b>99</b>  |
| <b>4.7 Método de comparação .....</b>                                      | <b>103</b> |
| <b>5 CONCLUSÕES .....</b>  | <b>105</b> |
| <b>6 REFERÊNCIAS.....</b>  | <b>107</b> |

# 1 INTRODUÇÃO

O número de pessoas que sofrem de insuficiência renal é muito grande e um dos tratamentos disponíveis para esta patologia é a hemodiálise.

A hemodiálise é um método de depuração extra-renal do sangue que permite manter vivos pacientes com insuficiência renal aguda ou crônica avançada, seja como método definitivo de tratamento ou temporário (BENNET, 2000 e CINGOLANI, 2004 apud MILHORANSA, 2005).

Antes de uma sessão de hemodiálise, a água de diálise e duas soluções de concentrados salinos são misturadas para obter-se a solução pré-hemodiálise utilizada para a manutenção do equilíbrio iônico do sangue dos pacientes durante a sessão. Após o término da sessão de hemodiálise, as soluções pré-hemodiálise, contendo os solutos tóxicos, são consideradas resíduos para serem posteriormente descartadas (DAUGIRDAS, 1994). Tais soluções são conhecidas como fluidos pós-hemodiálise.

Devido ao mau funcionamento dos rins, além da retenção de metabólitos, alguns elementos podem ser acumulados no organismo, como o alumínio (SCANCAR, 2003). O alumínio é considerado a espécie mais tóxica para pacientes com insuficiência renal. Estudos relacionam o acúmulo de Al(III) no organismo à doenças neurológicas e ao comprometimento da estrutura óssea dos pacientes (OTT, 1982; MCGONILE, 1985 e ALFREY, 1978), onde os órgãos mais afetados são os ossos, o fígado e o cérebro (MORENO, 1994).

A eritropoetina, que é um hormônio produzido pelos rins, na presença de ferro, gera a produção de células vermelhas. Em pacientes com insuficiência renal, devido o mau funcionamento dos rins, ocorre uma diminuição na formação da eritropoetina, assim como uma carência de ferro, devido má absorção deste elemento por renais crônicos, causando a anemia. (LEGRAIM, 1983).

Assim, a investigação da presença de Al(III) e Fe(III) em fluidos pós-hemodiálise é um parâmetro importante para o acompanhamento da insuficiência renal. A concentração dessas espécies deve ser monitorada em amostras de sangue dos pacientes. Uma alternativa não invasiva, ou seja, sem a coleta de amostras de sangue dos pacientes, é o monitoramento dos níveis de Al(III) e Fe(III)

diretamente em amostras de fluido pós-hemodiálise. A existência de métodos analíticos adequados ao controle de Al(III) e Fe(III) é de grande relevância para a área clínica e deve ser estudado de forma sistemática.

A espectrometria de absorção atômica por forno de grafite (GF-AAS) tem sido usada como técnica analítica corrente para a determinação de traços de metais no que diz respeito à hemodiálise (soluções de diálise e concentrados salinos) (FAGIOLI, 1987; WOOLFSON, 1987; KEIRSSE, 1988; HALLS, 1988 e SAVORY, 1992).

Para fluidos pós-hemodiálise, há uma carência de métodos analíticos devido principalmente à variabilidade destas amostras, o que depende de diversas variáveis associadas ao progresso da hemodiálise apresentado por cada paciente. O meio salino apresentado pelas amostras também causa sérias interferências de matriz, mesmo com o uso de sistemas de correção de *background* Zeeman (BERGER, 1986 e SLAVIN, 1980). Algumas alternativas associadas à medidas por GF-AAS incluem a pré-concentração seletiva dos analitos e a eliminação do meio salino (NASCIMENTO, 1993 e BOHRER, 1998).

A voltametria adsortiva de redissolução catódica (AdCSV) empregando o HMDE (eletrodo de mercúrio de gota pendente) como eletrodo de trabalho é um método que ocupa uma posição importante entre os métodos eletroanalíticos na investigação de metais, considerando aspectos como a possibilidade de se realizar determinações analíticas em matrizes complexas e os baixos limites de detecção alcançados (da ordem de  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) (WANG, 1985). Neste trabalho, utilizou-se a AdCSV para a determinação simultânea de Al(III) e Fe(III) em fluidos pós-hemodiálise na presença do ligante violeta de solocromo (SVRS).

Em amostras complexas, como é o caso dos fluidos pós-hemodiálise, as espécies metálicas a serem determinadas podem estar ligadas à matriz orgânica. Portanto, antes da determinação voltamétrica de Al(III) e Fe(III), uma etapa de pré-tratamento da amostra envolvendo a liberação da espécie se faz necessária. Um dos métodos mais eficientes empregado para liberação de metais ligados à matriz orgânica envolve a irradiação da amostra por um determinado tempo com irradiação ultravioleta (digestão UV).

Considerando que o método de GF-AAS apresenta-se inadequado para a determinação de Al(III) e Fe(III) em fluidos pós-hemodiálise e também a interferência da matriz da amostra, o presente trabalho tem como objetivo investigar a presença

de Al(III) e Fe(III) em fluidos pós-hemodiálise através da utilização da AdCSV, com a otimização de uma etapa de pré-tratamento das amostras empregando a radiação UV para a decomposição dos componentes orgânicos da matriz.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Insuficiência renal**

Os rins apresentam funções como: eliminar as substâncias tóxicas pela filtração sangüínea (uréia, ácido úrico, creatinina, fosfatos, sulfatos e o excesso de ácidos), manter a homeostasia (equilíbrio de líquidos), estimular a fabricação de hormônios (insulina, testosterona, vitamina D3 e eritropoetina) e regular a pressão sangüínea (BENNET, 2000 e CINGOLANI, 2004 apud MILHORANSA, 2005).

O número de pessoas que sofrem de doenças renais é muito grande. Estas doenças se manifestam de diversas formas e podem ser agrupadas em duas categorias principais: a insuficiência renal aguda e a insuficiência renal crônica.

Na insuficiência renal aguda, os rins param de funcionar abruptamente, por completo ou quase. As principais causas da insuficiência renal aguda são: suprimento sanguíneo diminuído ao rim, anormalidades do próprio rim e obstrução das vias urinárias. A insuficiência renal aguda corresponde a uma diminuição abrupta da filtração glomerular, resultando em retenção de produtos nitrogenados, distúrbios eletrolíticos e alteração do equilíbrio ácido-base.

A insuficiência renal crônica é a evolução da insuficiência renal aguda não tratada, caracterizando-se pela perda irreversível da função dos néfrons (GUYTON, 1997).

### **2.2 Hemodiálise**

A perda grave da função dos rins é uma ameaça à vida e requer a remoção dos produtos tóxicos do metabolismo e a restauração do volume e da composição dos líquidos corporais. Este processo pode ser realizado através da diálise com um rim artificial.

Nas sessões de diálise, ocorre a purificação do sangue, por processos de difusão através de membranas, onde devem ser eliminados metabólitos que o organismo produz e não é capaz de eliminar através dos rins.

Independentemente do tipo de processo – hemodiálise, diálise peritoneal ou hemofiltração (DAUGIRDAS,1994) – há necessidade do uso de soluções dialisadoras, que são preparadas pela dissolução de sais e outras substâncias em grandes volumes de água, que podem constituir uma fonte de contaminação se não forem adequadamente tratadas.

A solução dialisadora (solução de diálise, solução pré-diálise, fluido pré-diálise ou dialisato) é obtida a partir da mistura de água e concentrados salinos ácidos e básicos. Faz-se a mistura de 1 parte de solução ácida com 1,22 partes de solução básica e 32,78 partes de água para diálise. Esta solução contém os solutos que o sangue deve manter ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Cl}^-$ ), para que estes não sejam dialisados (DAUGIRDAS,1994).

A hemodiálise é um método de depuração extra-renal do sangue que permite manter vivos pacientes com insuficiência renal aguda ou crônica avançada, seja como método definitivo de tratamento ou temporário. O procedimento consiste em fazer circular o sangue através de uma membrana semipermeável que o separa de uma solução de diálise especialmente preparada, com o objetivo de corrigir as alterações metabólicas observadas na insuficiência renal. Os solutos tóxicos são removidos do sangue através de um gradiente de concentração por difusão ou ultra filtração. O sangue do paciente em tratamento percorre um circuito extra corpóreo, passando por um filtro artificial – o dialisador. O acesso venoso para o procedimento pode ser temporário,(cateteres artério–venosos ou mais usualmente, veno–venosos) ou permanente, (fístulas artério–venosas) (BENNET, 2000 e CINGOLANI, 2004 apud MILHORANSA, 2005).

Na diálise peritoneal, a solução de diálise é introduzida na cavidade peritoneal do paciente, de tal modo que, dentro do abdômen, o sangue é purificado por meio de trocas que ocorrem por difusão através da membrana peritoneal. A solução pré-diálise deve ser estéril.

Na hemofiltração, é utilizada uma solução de re-injeção estéril, de composição semelhante à solução de diálise. Também neste caso, há circulação extra corpórea do sangue que, submetido a uma forte pressão hidrostática, perde

tanto soluto quanto água através da membrana. O mesmo volume de água perdido pelo paciente é repostado pela solução de re-injeção, mas sem os solutos tóxicos.

A segurança do tratamento dialítico tem como um de seus determinantes a qualidade das soluções empregadas no processo de diálise. A contaminação das soluções pré-diálise pode ocorrer através da água utilizada no preparo das mesmas, através dos concentrados salinos ou ainda dos resíduos de agentes químicos usados na desinfecção dos equipamentos de diálise.

Um paciente renal crônico entra em contato com a solução pré-diálise em uma frequência de 3 vezes por semana, em sessões de hemodiálise, com duração de 4 horas cada. Em cada sessão, o fluxo de solução pré-hemodiálise é de 500 mL por minuto, perfazendo um total de 120 L nas 4 horas de tratamento. Desta forma, o paciente tem contato direto com 360 L de solução pré-hemodiálise por semana (GUYTON, 1997). Convém desta forma, que a água receba certos cuidados para que contaminantes químicos, bacteriológicos e tóxicos não sejam transferidos para os pacientes.

Devido à necessidade de redução dos riscos a que ficam expostos os pacientes que se submetem à diálise, a água tratada utilizada no preparo da solução pré-hemodiálise deve ser processada de modo que apresente um padrão (ANVISA, 2004). Este padrão está representado na tabela 1.

**Tabela 1 – Contaminantes e seus níveis máximos de concentração em água de diálise.**

| <b>Componentes</b>       | <b>Valor máximo permitido</b> | <b>Freqüência de análise</b> |
|--------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| Coliformes totais        | Ausência em 100 mL            | Mensal                       |
| Bactérias heterotróficas | 200 UFC mL <sup>-1</sup>      | Mensal                       |
| Endotoxinas              | 1 ng mL <sup>-1</sup>         | Mensal                       |
| Nitrato, Cálcio          | 2 mg L <sup>-1</sup>          | Semestral                    |
| Alumínio                 | 0,01 mg L <sup>-1</sup>       | Semestral                    |
| Cloramina                | 0,1 mg L <sup>-1</sup>        | Semestral                    |
| Cloro                    | 0,5 mg L <sup>-1</sup>        | Semestral                    |
| Fluoreto                 | 0,2 mg L <sup>-1</sup>        | Semestral                    |
| Sódio                    | 70 mg L <sup>-1</sup>         | Semestral                    |
| Magnésio                 | 4 mg L <sup>-1</sup>          | Semestral                    |
| Potássio                 | 8 mg L <sup>-1</sup>          | Semestral                    |
| Bário, Zinco e Cobre     | 0,1 mg L <sup>-1</sup>        | Semestral                    |
| Sulfato                  | 100 mg L <sup>-1</sup>        | Semestral                    |
| Arsênio, Chumbo e Prata  | 0,005 mg L <sup>-1</sup>      | Semestral                    |
| Cádmio                   | 0,001 mg L <sup>-1</sup>      | Semestral                    |
| Cromo                    | 0,014 mg L <sup>-1</sup>      | Semestral                    |
| Selênio                  | 0,09 mg L <sup>-1</sup>       | Semestral                    |
| Mercúrio                 | 0,0002 mg L <sup>-1</sup>     | Semestral                    |

Fonte: Resolução RDC (ANVISA) no. 154, de 15 de Junho de 2004. Diário Oficial da União: Poder Executivo, de 17 de Junho de 2004.

Um limite de 10 µg L<sup>-1</sup> para o alumínio é estabelecido para a água usada no preparo da solução pré-hemodiálise e de acordo com a Comissão de Toxicologia da IUPAC (BOHRER, 1997), as soluções pré-hemodiálise não devem conter mais do que 15 µg L<sup>-1</sup> de Al(III).

A osmose reversa é o método de purificação para obtenção da água de diálise, uma vez que gera água com baixa concentração de  $Al(III)$ , assim como uma baixa concentração de outros cátions e elimina contaminantes orgânicos que podem contribuir com problemas relacionados à hemodiálise. A deionização da água é outro método de tratamento escolhido, mas sabe-se que ele requer um monitoramento mais cuidadoso, pois a troca de  $Al(III)$  pela resina pode ser seguida de uma imprevisível eluição deste analito (SIMÕES, 2005).

Quando a água usada no dialisador é fluoretada o  $Al(III)$  pode atravessar facilmente a membrana. A presença de fluoreto em concentração equivalente à de  $Al(III)$  pode formar o mineral criolita ( $Na_3AlF_6$ ), de difícil remoção do sistema de tratamento (HARRISON, 2005).

É importante observar que as soluções pré-hemodiálise entram em contato muito próximo com o sangue dos pacientes, sendo separados apenas pela membrana semipermeável, que permite facilmente a transferência de íons (EASTERLING, 1981).

As substâncias tóxicas presentes no sangue que podem atravessar a membrana em direção a solução pré-hemodiálise são aquelas que apresentam médio e baixo peso molecular. Moléculas de alto peso molecular, como as proteínas, não atravessam a membrana, permanecendo no sangue.

Após o término da sessão de hemodiálise, as soluções pré-hemodiálise, contendo os solutos tóxicos, são consideradas resíduos para serem, posteriormente, descartadas. Tais soluções são conhecidas então como pós-dialisatos (RADOMSKA, 2004 e OLESBERG, 2004) ou fluidos pós-hemodiálise.

Dentre os principais metabólitos, que atravessam a membrana do hemodialisador, estão os ácidos úrico, oxálico, uréia e creatinina.

### **2.3 Metabólitos presentes nos fluidos pós-hemodiálise**

Os compostos presentes nos fluidos pós-hemodiálise, em geral, são produtos finais do metabolismo das proteínas e devem ser removidos do corpo para garantir a continuação do metabolismo protéico normal das células. O acúmulo das espécies nitrogenadas não protéicas (ácido úrico, uréia e creatinina) no sangue, no plasma ou

no soro gera a uremia (azotemia), que é a síndrome tóxica resultante de uma função renal anormal e ocorre simultaneamente com o aumento da quantidade dos constituintes urinários presentes no sangue. A uremia inclui as manifestações extra-renais da insuficiência renal.

A concentração destas espécies nitrogenadas, particularmente da uréia, pode subir até 10 vezes o normal durante uma a duas semanas de insuficiência renal aguda. Com a insuficiência renal crônica, as concentrações sobem aproximadamente em proporção ao grau de redução dos néfrons funcionais (GUYTON, 1997). Por esta razão, a medida das concentrações destas substâncias, especialmente da uréia e da creatinina, serve para avaliar o grau de insuficiência renal (GUYTON, 1997; VANHOLDER, 1999; RADOMSKA, 2004; TYMECKI, 2006 e HSU, 2006).

### 2.3.1 Uréia

A uréia é um produto de degradação do metabolismo das proteínas, formada no fígado a partir da amônia e de vários aminoácidos (HAKIM, 1992; KESHAVIAH, 1994; DEPNER, 1996 e apud RADOMSKA, 2004).

A concentração de uréia sangüínea é muito variável. Os valores normais no adulto estão compreendidos entre 3 e  $9 \cdot 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> (LEGRAIM, 1983). A concentração da uréia urinária é também extremamente variável. O débito de uréia diário é, em dieta estável, igual à quantidade de produtos nitrogenados da ingestão e do catabolismo endógeno. O organismo forma diariamente, em média, 25 a 30 g de uréia, que deve ser excretada na urina, pelos rins, caso contrário, irá se acumular nos líquidos corporais (GUYTON, 1997).

Os dois fatores principais que determinam a velocidade de excreção da uréia são a concentração plasmática de uréia e a intensidade da filtração glomerular. Por isso, possivelmente, a razão mais importante para a formação diária de grandes quantidades de filtrado glomerular pelos rins seja a excreção das quantidades necessárias de uréia. Muitos outros produtos de degradação que devem ser excretados pelos rins obedecem aos mesmos princípios de excreção da uréia, uma

vez que suas velocidades de excreção também dependem da quantidade de filtrado glomerular formado diariamente (GUYTON, 1997 e VANHOLDER, 1999).

### 2.3.2 Creatinina

A creatinina sérica provém do metabolismo muscular (fosforilação da creatina-fosfato no músculo), não sendo, portanto um produto da quebra de aminoácidos como a uréia (GUYTON, 1997).

Os níveis séricos de creatinina dependem da massa muscular corporal: quanto maior a massa muscular, mais elevado o nível de creatinina tanto no soro quanto na urina. Os valores de creatinina aumentam após as refeições, observando-se elevações maiores (20 - 50%) após a ingestão de carne. A excreção média é de 5 a  $10 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  (LEGRAIM, 1983).

A creatinina é essencialmente impermeante à membrana tubular. Por conseguinte, não há quase qualquer reabsorção da creatinina filtrada, de modo que praticamente toda a creatinina filtrada pelo glomérulo é excretada na urina (GUYTON, 1997 e SPENCER, 1986). Como a produção de creatinina é relativamente constante, aumentos na concentração sérica desta indicam redução na excreção renal (SPENCER, 1986; GUYTON, 1997 e HSU, 2006).

### 2.3.3 Ácido Úrico

O ácido úrico é o maior produto do catabolismo das purinas, sendo oriundo do catabolismo das proteínas da dieta e de fontes endógenas, concentrando-se principalmente no fígado. O ácido úrico é excretado principalmente por via renal. Apenas uma pequena parcela (1/3) é eliminada por via gastrointestinal. Não existe uma relação direta entre os valores séricos e os valores urinários. No adulto normal, a taxa de ácido úrico plasmático está compreendida entre 0,24 e  $0,36 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , enquanto que a taxa de ácido úrico na urina pode variar de 3 a  $5 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ .

Os níveis séricos do ácido úrico são determinados pela relação entre a dieta, a produção endógena e os mecanismos de reabsorção e de excreção. Os mecanismos de reabsorção e de excreção renais são complexos e podem ocorrer alterações na filtração glomerular, na reabsorção tubular proximal, na secreção tubular e na reabsorção após secreção. A hiperuricemia é a forma comum de se definir o aumento da concentração sérica de ácido úrico ultrapassando os valores de referência. Esta doença pode ocorrer através de diferentes mecanismos que estão associados com o aumento da produção ou com a diminuição da excreção renal de ácido úrico. O ácido úrico ocorre nas dietas ricas em carnes, especialmente vísceras (fígado e rim), vegetais leguminosos e trigo. Os níveis séricos do ácido úrico podem apresentar-se alterados em uma gama de situações clínicas, incluindo a gota. O excesso de ácido úrico no soro pode também ser considerado o fator determinante para o desenvolvimento de cálculo renal (WANG, 1998, GUYTON, 1997 e (LEGRAIM, 1983).

#### 2.3.4 Ácido Oxálico

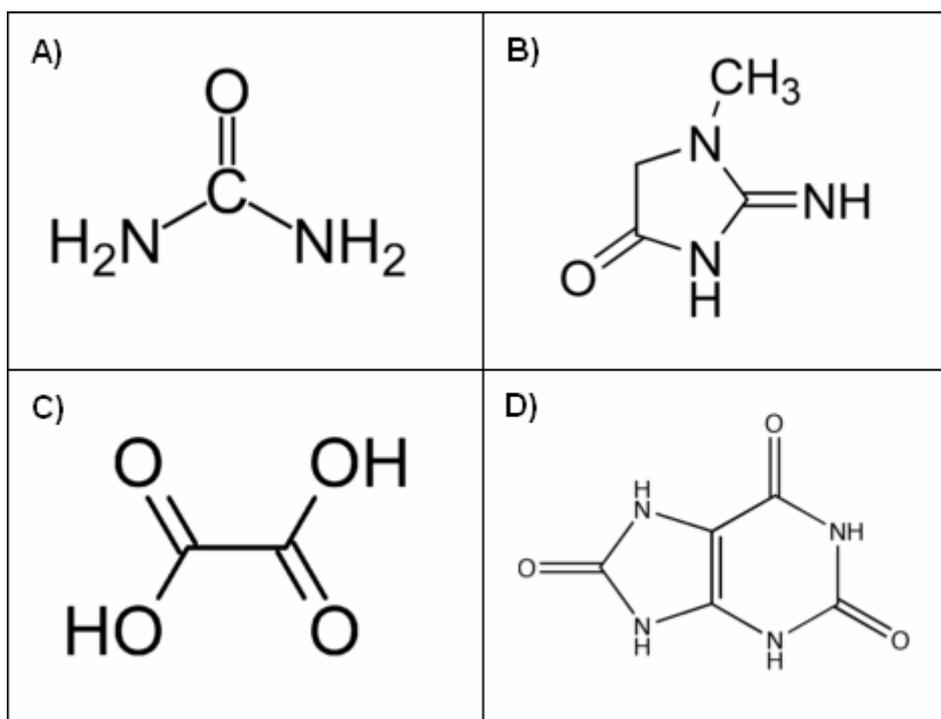
O ácido oxálico é formado nas plantas através da oxidação incompleta de carboidratos, por fungos (*aspergillus niger*) ou bactérias (*acetobacter*) e nos animais através do metabolismo de carboidratos via ciclo do ácido tricarboxílico. A urina humana contém uma pequena quantidade de oxalato de cálcio (normalmente o ácido oxálico apresenta-se na forma de sais) (AIROLDI, 1986).

O ácido oxálico é também considerado uma toxina urêmica (MYDLÍK, 2001) e o acúmulo de seu sal de cálcio pode gerar a hiperoxalúria. A biodisponibilidade aumentada do oxalato leva à supersaturação e precipitação sob forma de cristais principalmente nos rins, coração, retina, ossos, articulações e vasos sanguíneos (WATTS, 1990). Nos rins, ela é responsável pela formação de cálculos, nefrocalcinose e insuficiência renal crônica (IRC) (BRUNNER, 1990 e GARCIA, 1998).

Como o oxalato é excretado apenas pelos rins, na insuficiência renal aguda e crônica há um acúmulo do oxalato que pode propiciar a supersaturação e conseqüente precipitação dos cristais nos túbulos renais. O nível sérico de oxalato

nos doentes com insuficiência renal sobe cerca de 10 a 30 vezes o normal, o que comprova o acúmulo. A única via de excreção é renal, onde é eliminado sem metabolização por filtração e secreção tubular (SANDERS, 1997 e PETRALULO, 1994).

A figura 1 apresenta a estrutura molecular das principais espécies orgânicas constituintes dos fluidos pós-hemodiálise.



**Figura 1 – Estrutura das principais espécies orgânicas que constituem o fluido pós-hemodiálise. A) uréia, B) creatinina, C) ácido oxálico, D) ácido úrico.**

Devido ao mau funcionamento dos rins, além da retenção de metabólitos, alguns elementos podem ser acumulados no organismo, como o alumínio (SCANCAR, 2003). O alumínio é considerado a espécie mais tóxica para pacientes com insuficiência renal. (SCANCAR, 2003).

A eritropoetina, que é um hormônio produzido pelos rins, na presença de ferro, gera a produção de células vermelhas. Em pacientes com insuficiência renal, devido o mau funcionamento dos rins, ocorre uma diminuição na formação da eritropoetina, assim como uma carência de ferro, devido má absorção deste elemento por renais crônicos, causando a anemia. (LEGRAIM, 1983).

Assim é importante investigar a razão Al/Fe em renais crônicos, devido ao acúmulo de alumínio e a anemia normalmente apresentada por estes pacientes.

## 2.4 Alumínio e ferro no organismo

O alumínio pode ser considerado um elemento bastante comum, pois está presente em quase todas as esferas da atividade humana. As inúmeras aplicações em diversos setores da indústria e a freqüente presença no dia a dia (até em produtos farmacêuticos) ilustram bem a sua importância (CONSTANTINO, 2002).

Embora constitua apenas cerca de 1% da massa da Terra, é o primeiro metal e o terceiro elemento químico (O = 45,5%; Si = 25,7%; Al = 8,3%; Fe = 6,2%; Ca = 4,6%; outros = 9,7% em massa) mais abundante da crosta terrestre (CONSTANTINO, 2002 e ATWOOD, 2000).

No organismo dos seres humanos, os elementos traço podem ser divididos em essenciais e não-essenciais.

Os essenciais são fundamentais para o desenvolvimento e a manutenção da vida, devido à sua participação em diversos processos bioquímicos. Sua deficiência ou ausência na dieta ocasiona patologias carenciais. Por outro lado, o excesso destes elementos pode causar efeitos tóxicos ao organismo.

Os elementos não-essenciais são aqueles que não participam do metabolismo humano e podem gerar sérios danos à saúde. O alumínio é um elemento não essencial, porém, está presente no organismo humano.

A exposição a este elemento se dá, principalmente, via oral, através de alimentos e medicamentos, ou ainda, através de soluções de nutrição parenteral (GREGER, 1997). Por inalação, a absorção é praticamente insignificante, pois representa menos de 5%. Com a idade, o conteúdo do alumínio nos pulmões aumenta, por causa das partículas de pó que inalamos que contêm este metal. Estas partículas vão sendo retidas nos pulmões ocasionando um acúmulo do alumínio, assim como de outros metais, mas isto não atinge 5% do que entra no corpo. Existem algumas preocupações em relação à absorção cutânea, mas isto não é comprovado em seres humanos. Há modelos animais nos quais isto foi demonstrado, mas não existe evidência de uma absorção significativa do alumínio por via cutânea em seres humanos (ANANE, 1995).

A absorção do alumínio depende da presença do íon Al(III) livre, no fluido gastrointestinal. Dessa maneira, o critério de absorção do alumínio, bem como de outros metais, é a solubilidade do íon Al(III) no suco gastrintestinal. Devido ao pH e

a possibilidade de complexação, as espécies neutras que podem ser formadas atravessam por difusão a membrana intestinal. Além disso, há possibilidade de passagem pelo epitélio paracelular, por arraste de solvente, devido ao elevado grau de hidratação do íon Al(III) (BIRCH, 1995).

Em indivíduos saudáveis existe uma baixa capacidade do alumínio em ser absorvido. Os efeitos tóxicos do alumínio são mais evidentes em indivíduos com a função renal comprometida, onde o seu acúmulo está relacionado com doenças como: osteodistrofia, encefalopatia e anemia microcítica (OTT, 1982; MCGONILE, 1985 e ALFREY, 1978).

A síndrome característica destes pacientes foi primeiramente atribuída pela contaminação direta de alumínio, contido na água usada na diálise (ALFREY, 1984). Após a persistência dos sintomas, mesmo com a etapa de purificação da água de diálise, atribuiu-se aos aglutinantes fosfatados contendo alumínio administrados oralmente a todos os pacientes renais como a maior causa da intoxicação (ANDREOLI, 1984 e ALFREY, 1980). Extensivos trabalhos foram realizados para identificar todas as possíveis fontes de contaminação: preparações farmacêuticas (principalmente antiácidos contendo alumínio (KAEHNY, 1977 e CARMICHAEL, 1984), medicamentos intravenosos, nutrientes (SEDMAN, 1985; MCGRAW, 1986), produtos sanguíneos (FELL, 1986), vacinas (SHIRODKAR, 1990), leite formulado (MCGRAW, 1986 e BISHOP, 1989), comidas e bebidas (KOCH, 1988), incluindo outros aditivos ou contaminantes (LIONE, 1984 e DUGGAN, 1992).

O incentivo decisivo para o aumento da importância dada a toxicidade do alumínio, foi a sua possível relação com o mal de Alzheimer (PERL, 1986; LISS, 1986; MASON, 1993 e MUNOZ, 1994).

Outro ponto em questão é de que o depósito de alumínio em tecidos é menor em pacientes com função renal normal do que em pacientes com insuficiência renal crônica. Os órgãos mais frequentemente afetados e com maiores concentrações de alumínio são os ossos, o fígado e o cérebro (MORENO, 1994).

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), é recomendado que o Al(III) sérico dos pacientes em tratamento hemodialítico regular seja determinado anualmente. A quantificação do Al(III) sérico é um indicador útil do grau de contaminação do paciente, quando determinado em intervalos regulares (JOST, 2005).

O nível do Al(III) sérico em pacientes renais deve ficar abaixo de  $30 \mu\text{g L}^{-1}$ . Para pacientes cujo nível exceder este valor, é recomendado o tratamento com o agente quelante desferal ou desferroxamina (DFO) (MERIAN, 1991 e KRUCK, 1995). O DFO é a única droga amplamente aceita e usada para a remoção da sobrecarga de Al(III) no organismo. Pacientes intoxicados por Fe(III) também são tratados com DFO através de infusões intravenosa, intramuscular ou preferencialmente subcutânea. O DFO forma complexos estáveis com Al(III) e Fe(III), eliminados em sessões de diálise (De BROE, 1993).

O ferro é um elemento essencial à vida humana e participa em inúmeras reações bioquímicas, como catálise, síntese do DNA, transporte de oxigênio e transferência de elétrons (MERIAN, 1991).

O ferro que circula pelo corpo pode ser absorvido naturalmente através da alimentação ou de transfusões de sangue. No organismo humano, o ferro está disponível como elemento funcional ou reserva (de 3 a 5 g). A maior parte do elemento está envolvida em ciclos, na eritropoese e na homeostase. A segunda maior fração do elemento está na forma de ferritina e hemosiderina. No tecido humano, está presente na hemoglobina e em células enzimáticas. Apenas 4 mg estão ligados à transferrina no plasma sanguíneo, cuja função é o transporte de ferro e sua troca entre os tecidos (MERIAN, 1991).

A absorção do elemento no organismo humano pode ser explicada, de forma simples, como um processo de transposição do elemento no tecido intestinal. A absorção de ferro envolve a digestão de alimentos, interações entre suas formas livres e componentes de alimentos e a transferência de ferro da mucosa intestinal para o interior do organismo pela circulação sanguínea. Após ser absorvido pelo duodeno e pelo jejuno proximal, o ferro é rapidamente ligado a transferrina que o transporta para todas as células do corpo.

A ligação do ferro à eritropoetina, que é um hormônio produzido pelos rins, gera a produção de eritrócitos. O mau funcionamento dos rins diminui a formação desse hormônio, causando anemia. Para que os eritrócitos sejam formados alguns elementos, tais como a vitamina B, o ácido fólico e principalmente o ferro, devem estar presentes em quantidades corretas. A diminuição da produção da eritropoetina e do ferro é a principal responsável pela anemia presente em pacientes com insuficiência renal (LEGRAIM, 1983).

O acúmulo do ferro se dá em indivíduos com extremamente elevadas taxas de eritropoese (pacientes com talassemia), assim como em portadores da desordem genética hemocromatose. Nestas condições, quantidades elevadas de ferro são acumuladas pelo intestino, de forma anormal. Na hemocromatose, o acúmulo de ferro pode ser tratado com flebotomia, pela qual se pode remover cerca de 20 g de ferro por ano (MERIAN, 1991).

O ferro é excretado pela urina, fezes e pele, de forma lenta, na ordem de 0,5 mg por dia. A deficiência do elemento é mais comum em crianças e mulheres grávidas, que dele necessitam com mais intensidade. Os efeitos da deficiência são decorrentes da anemia e do esgotamento de enzimas essenciais para os tecidos. Na deficiência de ferro, a absorção de metais pesados pode se intensificar e os indivíduos ficam particularmente vulneráveis ao cádmio e ao chumbo. Assim, doses terapêuticas de Fe(III) são administradas como tratamento até a normalização do seu nível.

O ferro é um elemento de baixa toxicidade. Concentrações acima de 200 mg por dia são consideradas tóxicas para seres humanos. O nível de ferro aceitável em água potável varia de 100 a 300 mg L<sup>-1</sup> (MERIAN, 1991). A droga DFO pode ser administrada em casos de intoxicação aguda de ferro por ingestão acidental de medicamentos (CAO, 1992).

O nível de Fe(III) em água de diálise e soluções de concentrados salinos ainda não é regulamentado por órgãos de controle.

## **2.5 Determinações simultânea de Al(III) e Fe(III) através do uso de agentes complexantes**

Diversos agentes complexantes têm sido usados para a determinação simultânea de Al(III) e Fe(III) em diversas matrizes.

Cromazurol S (CAS) e Ácido etilenoglicoldiaminitetracético (EGTA) foram usados como agente complexantes para a determinação espectrofotométrica de Al(III) e Fe(III) em amostras de ligas metálicas (MALEKI, 2004) e amostras de rochas, vidros e cimento (EL-SAYED, 1996), respectivamente.

Eriocromo cianina R (ECR) e laranja de xilenol foram usados como agentes cromogênicos para determinar Al(III) e Fe(III) simultaneamente por espectrofotometria em amostras de ligas metálicas (SAFAVI, 2003) e de plantas (COSCIONE, 2000), respectivamente.

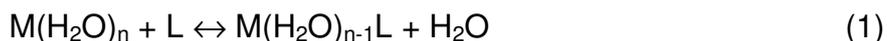
Na literatura, existem poucos relatos que utilizam agentes complexantes para a determinação simultânea de Al(III) e Fe(III) por voltametria. Locatelli (2003) usou o complexante violeta de solocromo (SVRS) para a determinação simultânea de Al(III) e Fe(III) em concentrados salinos utilizados na hemodiálise por voltametria adsortiva de redissolução catódica.

Existe uma carência de métodos que envolvam a determinação de espécies químicas em fluidos pós-hemodiálise. Recentemente, a determinação simultânea de Al(III) e Fe(III) usando a espectrofotometria molecular com a calibração multivariada em fluidos pós-hemodiálise foi descrita por Nascimento (2006). Nesse trabalho utilizou-se o agente cromogênico violeta de pirocatecol (VPC). A carência de métodos para acessar espécies químicas em fluidos pós-hemodiálise pode estar relacionada à complexidade e variabilidade das amostras e, em parte, devido ao fato de que tais amostras são simplesmente consideradas resíduo e descartadas após o término da sessão de hemodiálise.

## 2.6 Complexos

### 2.6.1 Reação de formação de complexos

Apesar da amplitude do conceito de compostos complexos, se considera normalmente uma reação de formação de complexos aquela na qual uma ou várias moléculas do solvente são deslocadas por outras espécies químicas. Estas espécies químicas unidas ao íon central são denominadas ligantes (L) e o número máximo de átomos doadores dos ligantes (n), número de coordenação do íon central. A equação 1 mostra a reação de formação de complexos:



O ligante pode ser monodentado, bidentado, tridentado..., dependendo do número de sítios de ligação envolvidos na formação do complexo (MARTI, 1994). Quelante é o ligante com no mínimo dois grupos funcionais participando da formação do complexo quelato, apresentando maior estabilidade do que complexos monodentados (YOKEL, 2002).

A formação do complexo é o resultado de uma interação ácido-base de Lewis, na qual o átomo central com um orbital vago atrai um par de elétrons de um átomo doador do ligante. Para isto, o íon central deve dispor de orbitais simetricamente adequados, estericamente disponíveis e de baixa energia. O ligante deve ter átomos (N, O, S, etc.) com pares eletrônicos não compartilhados (MARTI, 1994).

### 2.6.2 Reações de coordenação

De forma geral, em todas as reações químicas as moléculas e os íons tendem a aumentar a estabilidade de seus elétrons de valência. Em reações de coordenação, como por exemplo, reações envolvendo ácidos e bases de Lewis, os pares de elétrons são doados pelas bases (bases de Lewis – doadores) e recebidos por orbitais ligantes dos ácidos (ácidos de Lewis – receptores), de acordo com a equação (2):



A formação de complexos metal-ligantes (M-L) em solução pode ser exemplificada pela equação (3), o que também constitui uma reação ácido/base, onde M é o ácido e L é a base de Lewis:



A estabilidade resultante do complexo ML, assim como seu comportamento cinético, são conseqüências das interações fortes ou fracas dos orbitais *d* dos metais de transição com os orbitais ligantes.

Os metais são classificados em ácidos duros e moles (MERIAN, 1991). Esta classificação se baseia no número de elétrons disponíveis na esfera de coordenação. Os cátions metálicos do Tipo A possuem a configuração eletrônica dos gases inertes ( $d^0$ ) e, por isso, correspondem aos cátions de “esfera dura”. Estes íons podem ser visualizados como esferas simétricas, que não são deformadas por outros íons (pouco polarizáveis). Os metais do Tipo B são altamente influenciados por outros íons, ou seja, são altamente polarizáveis e são classificados como “esferas moles”.

Há duas regras básicas para as reações ácido/base de Lewis:

1) Equilíbrio – ácidos duros se associam, preferencialmente, a bases duras e ácidos moles, a bases moles.

2) Cinética – ácidos duros reagem facilmente com bases duras e, ácidos moles, com bases moles.

Qualquer átomo deficiente em elétrons pode agir como um ácido de Lewis. Muitos compostos dos elementos do Grupo IIIA, como B e Al, são ácidos de Lewis, pois estes átomos só têm um sexteto de elétrons na camada externa. Muitos outros compostos que têm átomos com orbitais vacantes também agem como ácidos de Lewis, como os haletos de Zn(II) e Fe(III) usados em reações orgânicas (MERIAN, 1991).

O Al(III) e o Fe(III) são ácidos duros que apresentam raios iônicos similares (54 and 64 pm). Geralmente os quelantes que formam complexos com o Fe(III) são os mesmos que formam complexos com o Al(III) (YOKEL, 2002).

Os dois metais formam complexos preferencialmente com bases duras, ou seja, com fluoretos e ligantes que possuem oxigênio como átomo doador (MARTELL, 1996, p.1).

Os complexos formados com o Fe(III) são mais estáveis do que àqueles formados com o Al(III), devido a habilidade do Fe(III) preencher os orbitais 3d durante a formação do complexo hexadentado (YOKEL, 2002).

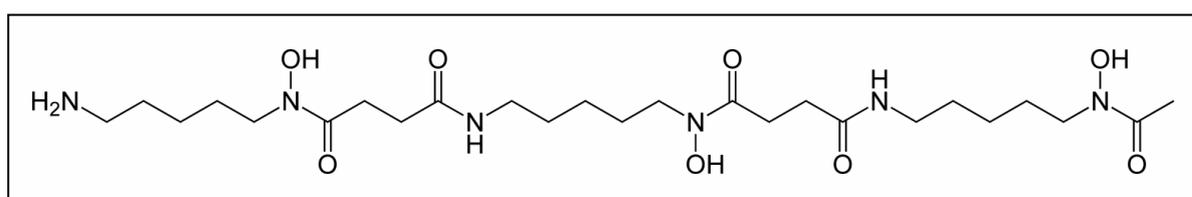
Agentes quelantes contendo apenas nitrogênio ou enxofre como átomos doadores não formam complexos de estabilidade apreciável com Al(III) e Fe(III), pois não complexam adequadamente metais do Tipo A (MERIAN, 1991).

Neste trabalho, o agente complexante utilizado para a determinação de Al(III) e Fe(III) por voltametria foi o violeta de solocromo (SVRS). Investigou-se também o comportamento dos analitos na presença do ligante desferal (DFO).

## 2.7 Desferal

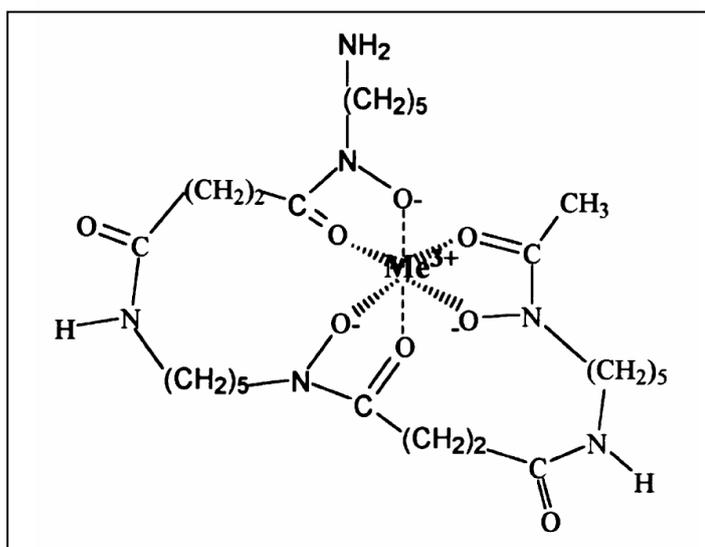
O desferal ou desferroxamina é a droga mais utilizada em pacientes intoxicados por Fe(III) desde 1960 e vem sendo usada, desde 1980 (ACKRILL, 1980) no tratamento de sobrecarga de Al(III) em pacientes portadores de insuficiência renal terminal.

O DFO um ácido trihidroxâmico, derivado da ferrioxamina, um composto ferro-sideróforo que foi isolado em 1960 do *Streptomyces pilosus* (BICKEL, 1960 apud KRAEMER, 1998). Em pH fisiológico, a desferroxamina ocorre como forma protonada com a ausência do metal e possui a estrutura molecular apresentada na figura 2 (KISS, 1998 e YOKEL, 2002):



**Figura 2 – Estrutura molecular do desferal.**

Este composto é um efetivo agente quelante capaz de complexar o Al(III) e o Fe(III) e formar complexos hexadentados muito estáveis na proporção 1:1 com ambos os metais: a aluminoxamina: Al(III)-DFO e a ferrioxamina: Fe(III)-DFO (em pH 7,0) que apresentam constantes de estabilidade  $10^{22}$  (SNOW, 1969) e  $10^{31}$  (KEBERLE, 1964), respectivamente. A figura 3 mostra a estrutura do complexo metálico formado com o DFO.



**Figura 3 – Estrutura molecular do complexo Me-DFO. Me = metal.**

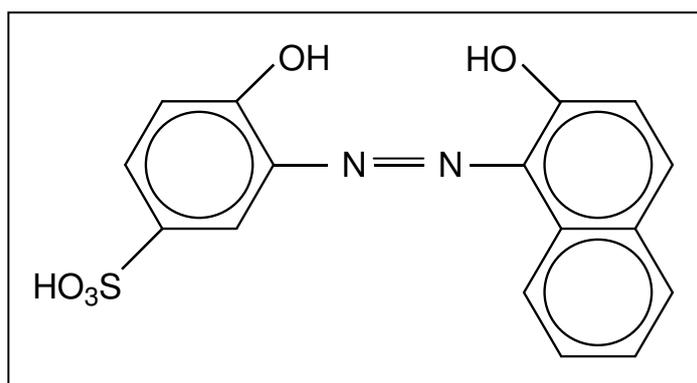
Nota-se na figura 3 que o complexo (aluminoxamina ou ferroxamina) apresenta uma estrutura octaédrica com seis átomos de oxigênio doadores, formando um complexo bastante estável. Como o Al(III) é um íon metálico duro, ele tem uma alta afinidade por ânions duros, como o íon hidróxido. Desta forma, seus complexos de maior estabilidade são formados por ligantes multidentados com oxigênio doador (MARTELL, 1996).

O desferal forma complexos estáveis com o Al(III) e com o Fe(III) preferencialmente em pH 7,0 (DAY, 1993) os quais absorvem nas regiões do ultravioleta (UV) (LEUNG, 1985) e do visível (Vis) (BANNER, 2004), respectivamente.

A afinidade do DFO por íons divalentes tais como Fe(II), Cu(II), Zn(II), Ca(II) é substancialmente menor do que por íons trivalentes como o Al(III) e o Fe(III). Este fato pode ser observado através das constantes de formação dos complexos formados entre o DFO e os íons divalentes, que são próximas a  $10^{14}$  (KEBERLE, 1964).

## 2.8 Violeta de solocromo

O violeta de solocromo é encontrado usualmente na forma de ácido livre. É um sólido cristalino de coloração vermelha e facilmente solúvel em água, dando uma solução também vermelha em  $\text{pH} < 7$ , o qual possui a estrutura molecular apresentada na figura 4:



**Figura 4 – Estrutura molecular do violeta de solocromo.**

Este composto é conhecido também como: ácido violeta de alizarina N (AAVN), violeta de eriocromo B, violeta escuro de ômega cromo D, violeta intenso de cromo B, violeta de pontacromo SW, violeta de palatincromo e mordente violeta 5.

O SVRS é um azo-composto que apresenta dois anéis aromáticos que estão ligados pelo grupo cromofóro azo  $-\text{N}=\text{N}-$  e na posição orto a este grupo azo estão os substituintes auxocrômicos  $-\text{OH}$ . Os azo-compostos oferecem sítios doadores em condições de formar quelatos com anéis de 5 ou 6 membros, para que os produtos finais sejam suficientemente estáveis.

A coordenação do metal ao SVRS envolve um grupo auxocrômico, assim o espectro de absorção é modificado com a formação do complexo, resultando uma mudança acentuada na cor especialmente se o metal estiver ligado também ao grupo azo (DANTAS, 1997). Este quelante apresenta bandas de absorção na região do visível, com máximos em 500 nm, 510 nm e 555 nm.

O SVRS foi bastante usado em técnicas voltamétricas para a determinação de  $\text{Al(III)}$  (HOLLECK, 1969; WANG, 2001, SUN, 2002 e LOCATELLI, 2003) e  $\text{Fe(III)}$  (WANG, 1987; MANNINO, 1992, NAUMANN, 1994 e LOCATELLI, 2003). O primeiro a sugerir a utilização deste ligante foi Willard (1950), referindo que o complexo

Al(III)–SVRS, em pH 4,7, necessita de 5 horas para se formar a temperatura ambiente, 5 minutos a 50 °C e 2 minutos a 60 °C.

Embora dados potenciométricos indiquem que os complexos do Al(III)-SVRS sejam 1:1 e 1:2 (COATES, 1961), Perkins (1958) sugeriu a existência de dois complexos distintos: em pH entre 4,2 a 5 a relação Al(III)-SVRS é de 1:2 e em pH 6 a razão é de 1:3, ambos voltametricamente redutíveis, embora os próprios autores questionem esta estequiometria de 1:3 uma vez que ela exigiria do Al(III) um improvável número de coordenação 9.

O Fe (III) forma um complexo marrom com o SVRS na proporção 1:1 (WANG, 1987) em pH de 4 a 5,3 e não há indicação da formação de onda para o Fe(II), o que não significa necessariamente a não formação do complexo (COATES, 1962). A reação de formação do complexo Fe(III)-SVRS ocorre a temperatura ambiente (HUA, 1988; MANNINO, 1992; NAUMANN , 1994 e LOCATELLI, 2003).

Neste trabalho, utilizou-se o SVRS como agente complexante do Al(III) e do Fe(III) para posterior determinação destes metais por voltametria. De acordo com a literatura, além de Al(III) e Fe(III), o violeta de solocromo complexa outros cátions metálicos como Ti(IV), V(III), V(V), Mo(III), Cd(II), Ga(III), Y, Zr, Tl(I), Mg(II), Ca(II), Sr(II), Ba(II) (KHALIFA, 1961; WANG, 1985; WILLIE, 1987; JAGNER, 1993; PLINECANU, 1975 apud DANTAS, 1999 WANG, 2005 e FARIAS, 2005), que baseado na constante de formação de cada complexo pode ou não interferir na determinação de Al(III) e Fe(III). Na tabela 2 podem ser observados alguns valores das constantes de formação de complexos formados com o SVRS (GARMATZ, 2007).

**Tabela 2 – Valores das constantes de formação de alguns complexos a 25 °C.**

| <b>β (constantes de formação)</b> |              |
|-----------------------------------|--------------|
| <b>Espécie metálica</b>           | <b>SVRS</b>  |
| Al(III)                           | $10^{12,78}$ |
| Fe(III)                           | –            |
| Zn(II)                            | $10^{-7,18}$ |
| Cd(II)                            | $10^{10,5}$  |
| Pb(II)                            | $10^{-8,12}$ |
| Cu(II)                            | $10^{1,1}$   |
| Ni(II)                            | $10^{-4,8}$  |

## 2.9 Determinação de metais por voltametria

A voltametria estuda as relações entre a voltagem, a corrente e o tempo, durante a eletrólise numa célula. Normalmente o procedimento envolve o uso de uma célula com três eletrodos: 1) um eletrodo de trabalho no qual ocorre a eletrólise que se está investigando; 2) um eletrodo de referência que é usado para medir o potencial do eletrodo de trabalho e 3) um eletrodo auxiliar que, juntamente com o eletrodo de trabalho, permite a passagem da corrente da eletrólise (VOGEL, 1992). Assim, nessa técnica, as informações sobre o analito são obtidas por meio da medição da magnitude da corrente elétrica que surge no eletrodo de trabalho ao se aplicar um potencial entre um eletrodo de trabalho e um eletrodo auxiliar. O parâmetro ajustado é o potencial (E) e o parâmetro medido é a corrente resultante (i). O registro da corrente em função do potencial é denominado voltamograma e a magnitude da corrente obtida pela transferência de elétrons durante um processo de oxidação (reação 4) pode ser relacionada com a quantidade de analito presente na interface do eletrodo/solução e conseqüentemente, na célula eletroquímica (WANG, 1985 e HENZE, 2001).



Sendo Ox a forma oxidada do analito e Red a forma reduzida.

O uso do HMDE, como eletrodo de trabalho, apresenta como vantagem o fato de que cada nova gota pode ser facilmente formada e este processo de renovação remove problemas que possam ser causados por contaminação de uma análise prévia.

A voltametria ocupa uma importante posição entre os métodos eletroquímicos para a investigação de compostos orgânicos (CARVALHO, 2003). Muitos grupos funcionais podem ser oxidados ou reduzidos no eletrodo de trabalho, o que torna possível a determinação de uma grande variedade de compostos (SKOOG, 1992). A voltametria oferece potencialidades para investigar e estudar a especiação de metais pesados dissolvidos em águas naturais (BAREK, 1991). Por outro lado, certas espécies de metais, os quais formam complexos orgânicos estáveis, são inacessíveis para a determinação voltamétrica. Neste caso, faz-se necessário um pré-tratamento para eliminar a matéria orgânica e transformar todo o conteúdo desses metais acessíveis de se determinar por voltametria.

Existem diversas técnicas voltamétricas: voltametria de pulso normal (NPV), voltametria de pulso diferencial (DPV), voltametria de pulso reverso (RPV), voltametria de onda quadrada (SWV) e voltametria de corrente alternada (AC). A escolha de uma delas depende do analito e da concentração do mesmo, entre outros fatores.

O curto tempo de análise e a seletividade combinada com alta confiabilidade, devido a boa exatidão nas medidas, tem feito da voltametria uma boa alternativa para análise de traços de metais em diversas matrizes. Associado a isto, tem-se ainda o baixo custo analítico, rapidez de detecção, alto potencial de automatização e possibilidade de determinação simultânea de diversos metais (NÜRNBERG, 1980).

### 2.9.1 Voltametria adsortiva de redissolução catódica

A determinação de metais por voltametria de redissolução é extremamente sensível e está fundamentada na literatura (NÜRNBERG, 1983; FLORENCE; 1986 HENZE, 2001 e THOMAS, 2001).

A voltametria adsortiva de redissolução catódica empregando o HMDE como eletrodo de trabalho é uma técnica amplamente empregada na determinação de Al(III) e Fe(III). A AdCSV é formada por duas etapas: a etapa de pré-concentração e a etapa de redissolução.

A etapa de pré-concentração é feita pela adsorção da espécie eletroativa na superfície do eletrodo e pode ocorrer de três formas, que estão demonstradas nas reações 5 a 10:

1) O analito forma um complexo com o ligante na solução e é adsorvido:



2) O ligante é adsorvido no eletrodo e a complexação ocorre na superfície:



3) O analito é reduzido ou oxidado e complexa com o ligante em solução ou na superfície:



Dessa maneira a etapa de deposição não depende da solubilidade do metal no mercúrio, como no caso da voltametria de redissolução convencional, mas sim da

adsorção do complexo formado, possibilitando a determinação de espécies pouco solúveis no mercúrio.

A pré-concentração é feita eletroliticamente aplicando-se o potencial de pré-concentração ( $E_d$ ) durante um determinado tempo e com agitação da solução. O tempo de pré-concentração ( $t_d$ ) é escolhido em função da espécie eletroativa durante o qual a espécie de interesse será adsorvida sobre a superfície do eletrodo. A agitação faz com que o transporte de massa por convecção mantenha a concentração da espécie eletroativa junto à superfície do eletrodo igual a do seio da solução. Essa agitação deve ser feita à velocidade constante e controlada com precisão. (WANG, 1985).

Após o término da etapa de pré-concentração, procede-se a redissolução, fazendo-se a varredura usualmente na direção catódica de potenciais. Na AdCSV há a possibilidade de tanto o ligante quanto o complexo adsorvido sofrer redução no processo de redissolução, se o ligante usado for uma espécie eletroativa. (HENZE, 2001). A reação eletródica pode ser representada por:



A deposição adsortiva de uma espécie no eletrodo de mercúrio é uma alternativa valiosa ao processo de eletrólise convencional, por possibilitar a determinação de espécies que, devido a grande irreversibilidade da reação ou a não formação de amálgama no eletrodo de mercúrio, não podem ser determinadas por voltametria. Dentro desta classe de espécies consideradas de difícil determinação voltamétrica estão inseridos o alumínio e ferro, assim, a complexação prévia destes metais com ligantes orgânicos viabiliza a sua determinação voltamétrica. Quando complexados com um ligante orgânico como o SVRS, o alumínio e ferro podem ser depositados por adsorção no eletrodo de mercúrio e determinados por voltametria de redissolução durante a varredura catódica do potencial (LOCATELLI, 2003 e WANG, 1985). Além de possibilitar a sua determinação seletiva, limites de detecção extremamente baixos para alumínio e ferro ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) podem ser alcançados pela AdCSV.

### 2.9.2 Voltametria de corrente alternada (AC)

Esta técnica voltamétrica aplica pulsos de potencial de corrente alternada de pequena amplitude (alguns mV) e onda senoidal constante superposta à varredura linear do potencial DC na forma de degraus. Mede-se o potencial DC na forma habitual e os resultados são acoplados às medidas com a AC.

Devido à corrente residual muito grande, o limite de sensibilidade da AC ( $10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>) não é muito diferente do limite de sensibilidade da DC ( $10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>). A elevada corrente residual é uma conseqüência da corrente capacitiva, que é muito grande em relação a corrente de difusão (VOGEL, 1992).

Existem processos AC que envolvem transferência de elétrons (faradaicos) e processos de adsorção-desorção, sem transferência de elétrons (não faradaicos). Os processos não faradaicos ocorrem em potenciais positivos ou negativos, onde uma espécie adsorvida é deslocada do eletrodo por virtude de um aumento da afinidade do eletrólito suporte (BOND, 1980).

A eletro-sorção dos compostos orgânicos é resultado da adsorção competitiva entre compostos orgânicos e os íons do eletrólito suporte. O grau de adsorção na superfície do eletrodo é determinado por várias interações entre três componentes: metal, eletrólito e compostos orgânicos. Como resultado da adsorção das moléculas orgânicas ocorre uma diminuição da capacitância da dupla camada. A extensão desta mudança depende da concentração do composto orgânico na superfície do eletrodo que devido à dependência linear, provoca uma diminuição na corrente capacitiva. Esta diminuição é geralmente mais próxima ao potencial máximo de adsorção ( $E_m$ ). Além da diminuição da corrente capacitiva os voltamogramas AC mostram também correntes de pico em ambos os lados do  $E_m$ , que definem os limites dos potenciais positivos e negativos da região de adsorção (SANDER, 1995). Se a faixa de potenciais de adsorção dos interferentes orgânicos é conhecida, pode ser possível minimizar estas interferências, trabalhando fora da faixa de potenciais de adsorção.

As correntes capacitiva e faradaica obtidas dependem da otimização de três fatores: freqüência, ângulo de fase e amplitude. Em geral se utilizam os ângulos de 90° e 45° fora de fase com o potencial aplicado, quando se quer uma maior sensibilidade das correntes capacitiva e faradaica, respectivamente (BOND, 1980).

Nas determinações voltamétricas, a matéria orgânica pode interferir de diversas formas:

1) pela formação de fortes complexos com metais, os quais não são detectados durante a análise, levando à quantificação apenas da fração eletroquimicamente lábil;

2) competindo com o metal pela superfície do eletrodo, diminuindo assim a intensidade do sinal do analito ou provocando o aparecimento de sinais interferentes;

3) a própria matéria orgânica pode sofrer redução ou oxidação eletroquímica, aumentando a corrente residual ao ponto de impedir a execução da análise (VAN DEN BERG, 1988).

A escolha de um procedimento adequado de pré-tratamento da amostra deve levar em consideração o tempo necessário para a sua realização, simplicidade, a quantidade de reagentes envolvidos, aplicação à diversos tipos de matrizes, possibilidade de medida de vários analitos e produção de resultados acurados e precisos.

## **2.10 Pré-tratamento**

A expressão pré-tratamento de amostra indica o conjunto dos procedimentos necessários para converter física e quimicamente uma amostra em uma forma que permita efetuar, dentre as limitações impostas pela natureza e a morfologia da mesma, a determinação do(s) analito(s) e realizar sua quantificação o quanto mais precisa e exata (GUTZ, 2003).

O objetivo da etapa de pré-tratamento das amostras é i) dissolver a amostra; ii) destruir os interferentes da matriz e iii) separar o analito dos componentes da matriz (DUNEMANN, 1992) A preparação de amostras deve contemplar a obtenção do melhor resultado, no menor tempo, com mínima contaminação, baixo consumo

de reagentes e geração de poucos resíduos e efluentes. O conveniente seria o uso da amostra sem pré-tratamento, porém apenas algumas técnicas analíticas permitem esta possibilidade, quais sejam: raios X, técnicas nucleares, termo-análise e espectrométricas com fontes de arco e centelha e ablação com laser. As demais técnicas disponíveis para análise: métodos clássicos, espectrométricos, eletroanalíticos e cromatográficos, necessitam de solubilização completa da amostra ou separação dos analitos de interesse da matriz e, em alguns casos, também pré-concentração (CAVICCHIOLI, 2003).

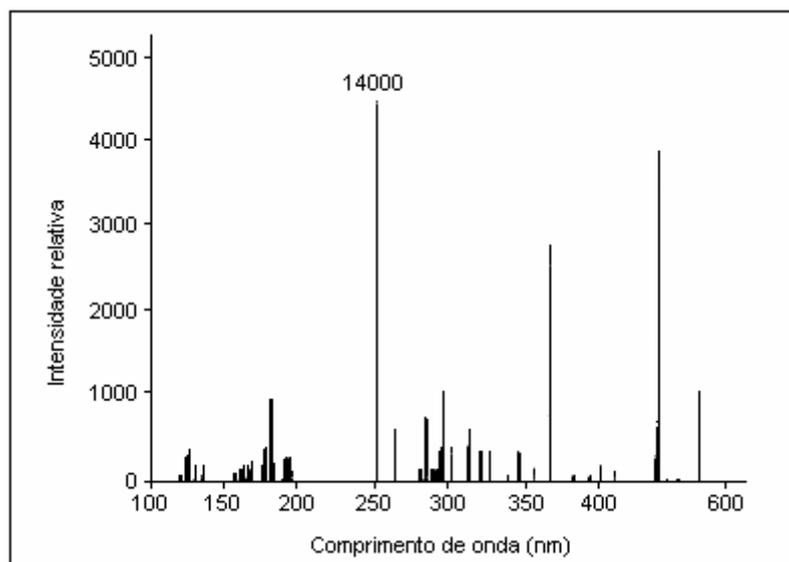
Os métodos de digestão úmida que empregam aquecimento e adição de reagentes, como ácidos oxidantes ou peróxido, são bastante utilizados, mas apresentam a desvantagem de oferecer um alto risco de contaminação e requerem um grande consumo de reagente e tempo.

Um dos métodos mais eficientes empregado para a liberação dos metais ligados à matriz orgânica, envolve a irradiação da amostras com radiação ultravioleta (digestão UV) por um determinado tempo. Comparativamente a outros métodos de decomposição de amostras, a irradiação UV consiste em um método extremamente eficiente e que reduz a um mínimo a possibilidade de contaminação da amostra, devido ao baixo consumo de reagentes. Dependendo da potência da fonte de radiação UV empregada no processo, o uso de agentes oxidantes convencionais e de meios agressivos contendo misturas ácidas pode ser completamente suprimido (VAN DEN BERG, 1994 e ACHTERBERG, 1994).

### 2.10.1 Caracterização da radiação ultravioleta

A radiação UV é um tipo de radiação eletromagnética com comprimentos de onda na faixa de 100 a 380 nm. O sol é uma fonte natural de radiação, as fontes artificiais mais freqüentemente utilizadas são as lâmpadas de mercúrio (Hg).

Como pode ser observado na figura 5, o espectro do mercúrio é rico em linhas na faixa de comprimentos de onda do ultravioleta (GOLIMOWSKI, 1996).

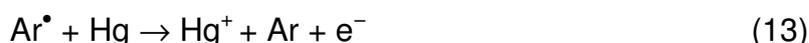


**Figura 5 – Espectro UV-Vis da lâmpada de mercúrio.**

Na lâmpada de mercúrio, este elemento é relativamente inerte, não reage com o material eletrodo e nem com o material do bulbo.

Além de vapores de Hg, as lâmpadas de mercúrio contêm gás nobre, geralmente argônio (Ar). Embora esse não participe diretamente na geração do fóton ele contribui para o aumento do número de correntes transportadoras de elétrons e íons. Numa colisão elástica entre um elétron e um átomo uma parte da energia do elétron é transmitida para o átomo causando sua excitação e iniciando os processos ocorridos na lâmpada. Este pode ser descrito através das seguintes equações:

- durante a ignição na lâmpada:



- durante o funcionamento da lâmpada:



Quando os elétrons não transferem energia suficiente para a reação ocorrer num único passo, o processo de ionização acontece num passo discreto.

- nas lâmpadas com maior pressão de vapor:



Um parâmetro característico das lâmpadas de mercúrio e freqüentemente utilizado para dividi-las é a pressão de vapor do Hg. Portanto, lâmpadas de mercúrio são divididas em: lâmpadas de baixa pressão (pressão de Hg 0,1-1 Pa ( $10^{-3}$  –  $10^{-2}$  Torr)), lâmpadas de média pressão (pressão de Hg aproximadamente 0,1 MPa (1 atm)) e lâmpadas de alta pressão (cerca de 10 MPa).

#### 2.10.1.1 Lâmpadas de baixa pressão

Este tipo de lâmpada de Hg tem a forma de um longo tubo feito de vidro. No final de cada lâmpada há um eletrodo de tungstênio (W) embutido. O gás armazenado no bulbo da lâmpada contém uma mistura de vapores de Hg (0,1-1 Pa) e um gás nobre (Ar sob pressão de 100 Pa). Uma gota de Hg é introduzida na lâmpada e a maior parte permanece líquida durante a operação da lâmpada. Os vapores de Hg formados permanecem em equilíbrio com o líquido.

O espectro da lâmpada de baixa pressão consiste basicamente de 2 linhas: a linha de transição a 253,7 nm da transição  $6^3P_1 \rightarrow 6^1S_0$  e a linha 184,9 nm correspondendo à transição  $6^1P_1 \rightarrow 6^1S_0$ .

As lâmpadas de baixa pressão têm um tempo de operação longo de 5000-10000 h, embora, o uso freqüente da lâmpada o torna menor. Sua potência máxima é de 60 W. A eficiência de uma lâmpada de baixa pressão em transformar energia elétrica em irradiação por ressonância depende da: temperatura, pressão do gás nobre, geometria da lâmpada, intensidade e freqüência de uso. A eficiência de lâmpadas de baixa pressão fica na faixa UV C de radiação, equivalente a 40%. Este tipo de lâmpada tem ação germicida sendo usada amplamente na esterilização de material e em blocos cirúrgicos. Devido a sua atividade sobre microorganismos, é muito utilizada também em investigação fotobiológica.

### 2.10.1.2 Lâmpadas de média e alta pressão

O espectro da lâmpada de média pressão é mais rico que o espectro da lâmpada de baixa pressão. Além das linhas de emissão única, também contém uma emissão contínua, especialmente na faixa UV C. A relação entre a energia consumida pela lâmpada e suas contribuições para cada faixa UV são as seguintes:

- UV C (180-280 nm) 16%;
- UV B (280-315 nm) 7%;
- UV A (315-400 nm) 7%.

A soma destas frações se dá somente em 30% da potência da lâmpada. 15% são convertidos em radiação visível e 35% em radiação térmica (IR e radiação das paredes da lâmpada). O restante (20%) é perdido no processo de condução de calor nos eletrodos. O tempo de operação deste tipo de lâmpada é cerca de 2000 h.

Estudos mais recentes demonstram progressos nas aplicações das lâmpadas de mercúrio de alta pressão principalmente na área industrial. Um estudo realizado por Morimoto (2004) mostrou alguns tipos de lâmpadas normalmente usadas na demanda industrial como, a lâmpada de super-alta pressão que possui um curto arco de Hg e é utilizada nas indústrias para fornecer energia principalmente no UV-visível. O tamanho pequeno do arco da lâmpada tem a vantagem de ser adaptado em sistemas de micro equipamentos ópticos e na fabricação destes equipamentos. As lâmpadas de super-alta pressão são úteis e usadas em processo de fotolitografia e em semicondutores utilizados em processos industriais (GOLIMOWSKI, 1996).

## 2.10.2 Digestão de amostras com radiação ultravioleta

A decomposição da matéria orgânica pela radiação UV é bem conhecida. Água e ar são comumente desinfetados usando lâmpadas de mercúrio. (MILL, 1980 e KLÖPFFER, 1991).

O mecanismo de decomposição da matéria orgânica por radiação UV tem sido descrito para muitos compostos orgânicos, por exemplo: DDT (1,1(4,4-diclorofenil) 2,2,2-tricloroetano), HCB (hexaclorobenzeno), PCP (pentaclorofenol) e outros que se decompõem depois da absorção da radiação de 180-250 nm.

Processos de fotooxidação UV, similares aos que ocorrem na natureza, também são usados na decomposição industrial de substâncias tóxicas, em tratamentos de águas residuais urbanas e industriais e na produção de água ultra pura para análise de traços.

Cerca de 40 a 80% da matéria orgânica presente em amostras de águas naturais é formada por compostos húmicos, que são macromoléculas de estrutura complexa e composição elementar variável. Grupos cromóforos com ácidos carboxílicos e estruturas aromáticas são abundantes nos compostos húmicos, que absorvem fortemente a radiação ultravioleta e podem atuar como fotossensibilizadores (AGUER, 1999). Os fotossensibilizadores são moléculas que quando excitadas transferem sua energia de excitação para outras moléculas presentes em solução, podendo formar espécies altamente reativas como o radical hidroxila ( $\text{HO}^\bullet$ ), peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ), íon superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), elétron hidratado ( $e^-_{\text{hid}}$ ) e radicais alquilperóxido. Estas novas espécies podem fotooxidar os próprios fotossensibilizadores, como também outros compostos orgânicos presentes na solução. Portanto, na presença de uma fonte contínua e intensa de radiação ultravioleta a fotodegradação da matéria orgânica pode ser bastante rápida e eficiente (GOLIMOWSKI, 1996 e ACHTERBERG, 1994).

Para melhorar a eficiência da radiação UV podem ser adicionadas substâncias que facilitam o processo de oxidação da matéria orgânica como:  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{O}_3$ ,  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ,  $\text{HNO}_3$  entre outros (GOLIMOWSKI, 1996).

A adição de  $\text{H}_2\text{O}_2$  em solução pode funcionar como uma fonte de oxigênio molecular e de radicais hidroxila, que são produzidos a partir da decomposição fotoquímica do  $\text{H}_2\text{O}_2$  (SONA, 2006 e SCULLY, 1996).

### 2.10.3 Peróxido de hidrogênio

O  $\text{H}_2\text{O}_2$  é o mais simples dos peróxidos, sendo um importante precursor em síntese química (H2O2.COM, 2007). É também um componente fundamental de diversas tecnologias de oxidação química incluindo Fenton, foto-Fenton (RODRIGUEZ, 2003) e radiação UV baseada em oxidação química. Além disso, é composto apenas de átomos de hidrogênio e oxigênio e, sob condições apropriadas, pode produzir compostos desejáveis ambientalmente, tais como água.

A influência da adição de  $\text{H}_2\text{O}_2$  sobre a eficiência da mineralização UV tem sido estudada para muitos compostos em solução (FRIMMEL, 1992; SODRÉ, 2004 e KOLB, 1992).

Um método de decomposição freqüentemente usado consiste em acidificar (pH 2) amostras mineralizadas contendo  $\text{H}_2\text{O}_2$  e a posterior fotooxidação. Inicialmente, este método foi usado para a determinação de carbono orgânico dissolvido, onde o  $\text{CO}_2$  formado foi medido por Espectroscopia de Infravermelho (IR). O resultado demonstrou que a decomposição de substâncias orgânicas é quantitativa. Um efeito adicional da acidificação é a dissociação de complexos de compostos organometálicos lábeis.

Além disso, efeitos benéficos da adição de  $\text{H}_2\text{O}_2$  foram registrados no tratamento fotocatalítico de matéria orgânica dissolvida (DOM) em efluente de celulose e indústria de papel, diversos pesticidas e outros contaminantes orgânicos (MACHADO, 2003).

### 2.10.4 Espécies reativas que podem ser formadas sob influência da radiação UV

#### 2.10.4.1 Radicais hidroxila e peróxido

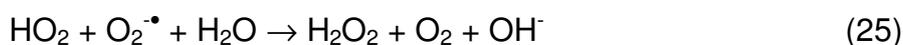
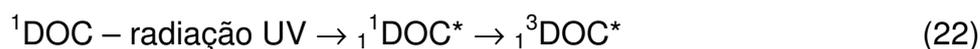
A formação do radical hidroxila ( $\text{HO}^\bullet$ ) e sua subsequente reação com a matéria orgânica é uma das formas naturais de biodegradação de compostos. Os

processos de mineralização usados em laboratórios têm feito uso de um método direto para geração de HO• de alta reatividade através da fotoclivagem do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por meio de irradiação UV.

O processo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV forma HO• durante a irradiação UV pela adição de H<sub>2</sub>O e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à solução da amostra, podendo levar a degradação completa e a conversão a CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O e sais inorgânicos a maioria dos compostos orgânicos (CALVOSA, 1991; SONA, 2006 e ARAÚJO, 2006). Assim, a fotólise do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e da H<sub>2</sub>O pela radiação UV gera os radicais hidroxilas (reação 18 e 19) que agem degradando a matéria orgânica e formando compostos minerais mais simples (reação 20) como possíveis produtos finais de degradação (CALVOSA, 1991; ACHTERBERG, 1994 e ACHTERBERG, 2001). Quando o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> está em excesso pode ocorrer uma reação paralela, que diminui a razão de degradação da matéria orgânica (reação 21) formando o radical menos reativo hidroperoxil (HO<sub>2</sub>•). Isso ocorre porque o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em excesso age capturando radicais hidroxilas (KLÖPFER, 1991 e ARAÚJO, 2006).



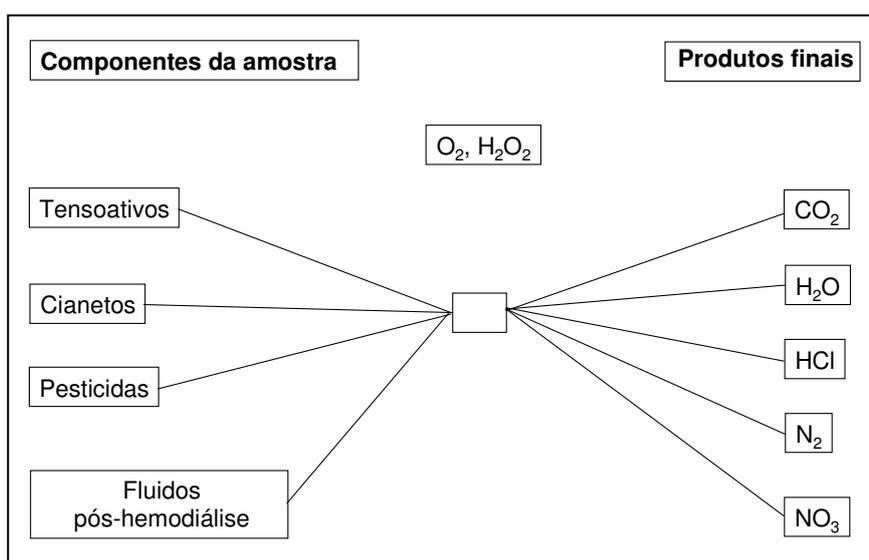
A formação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pode acontecer em sistema aquático através da interação da radiação ultravioleta do sol e de carbono orgânico dissolvido (DOC) neste sistema. Quando a radiação UV é absorvida por DOC, forma um superóxido que reage com si mesmo e produz H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (SCULLY, 1996). Cooper (1994) sugeriu uma forma simplificada e teórica para o possível mecanismo de formação do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:



Um estado inicial de DOC (<sup>1</sup>DOC) é excitado por radiação UV a um estado singlete (<sub>1</sub><sup>1</sup>DOC\*) e posteriormente é transformado ao estado triplete (<sub>1</sub><sup>3</sup>DOC\*)

(equação 22). Este estado triplete pode reagir com oxigênio molecular formando superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) ou seu ácido conjugado  $HO_2$  (equação 23) que reage com ele mesmo formando  $H_2O_2$  e  $O_2$  (equação 24). Por último, a interação de  $HO_2$  e  $O_2^{\bullet-}$  resulta na formação do  $OH^-$  e ainda  $H_2O_2$  e  $O_2$  (equação 25) (SCULLY, 1996 e COOPER, 1994).

Os radicais hidroxila formados possuem um alto potencial de oxidação (+ 2,8 V) e podem, com isso, provocar a oxidação de um grande número de moléculas orgânicas (KLÖPFER, 1991 e ARAÚJO, 2006). A figura 6 ilustra algumas classes que podem ser decompostas pela ação da luz UV/  $H_2O_2$  e seus produtos de decomposição finais em solução (SANDER, 1995).

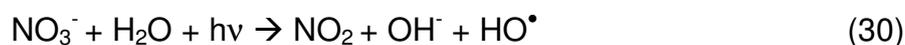
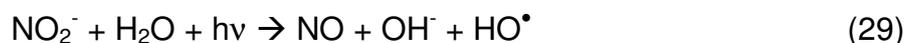


**Figura 6 – Classes de compostos que sofrem decomposição pela radiação UV.**

O radical hidroxila pode reagir através de três mecanismos distintos: abstração de hidrogênio (reação 26), transferência de elétrons (reação 27) e adição radicalar (reação 28). Os radicais secundários formados durante estas reações podem novamente reagir com outros compostos (CALVOSA, 1991).



Nitratos e nitritos ocorrem em águas naturais e podem também ser fonte de HO<sup>•</sup>:



Kotzias (1992) investigou a velocidade de decomposição de vários compostos orgânicos dissolvidos em água e irradiados. Foram comparadas as velocidades constantes de reações de fotooxidação em água pura e em água contendo nitratos e nitritos. A decomposição de 4-nitrofenol foi 13 vezes maior na presença de nitritos e 5 vezes maior na presença de nitratos. Assim, a presença de íons nitrato reduz o tempo necessário para uma decomposição de compostos orgânicos contidos na solução examinada.

#### 2.10.4.2 Oxigênio singlete

A ação da radiação UV sobre moléculas de oxigênio muda seu estado de energia do estado fundamental O<sub>2</sub> (triplete) para o estado excitado <sup>1</sup>O<sub>2</sub> (singlete). Este processo ocorre na presença de fotossensibilizadores.

Kutsky (1981) foi o primeiro a propor um mecanismo de oxidação no ambiente natural. A energia da luz solar absorvida pelos fotossensibilizadores é transferida para as moléculas de O<sub>2</sub> e estas mudam seu estado de energia para <sup>1</sup>O<sub>2</sub>. Os átomos de <sup>1</sup>O<sub>2</sub> formados reagem com a água e as substâncias orgânicas presentes, formando peróxidos e radicais. Haag (1996) propôs a seguinte descrição química dos possíveis processos que ocorrem durante a absorção de energia UV:



S e S\* são fotossensibilizadores no estado fundamental e excitado, respectivamente, e A é o composto aceptor de energia. A reação (31) mostra como os fotossensibilizadores participam no processo. A reação (32) mostra a extinção física de moléculas de oxigênio no estado excitado pela água. A reação (33) mostra e extinção física de moléculas oxigênio no estado excitado por um aceptor orgânico. A reação (34) mostra a reação química com A.

O  $^1\text{O}_2$  é altamente reativo; seu tempo de meia vida é de cerca de 2  $\mu\text{s}$  e seu estado regular de concentração [ $^1\text{O}_2$ ] é cerca de  $10^{-12}$  mol L $^{-1}$ . Merkel e Kearns (1972) mostraram que há uma relação linear entre esta concentração e a concentração de carbono orgânico dissolvido (COD), confirmando o mecanismo proposto para a formação de  $^1\text{O}_2$ .

#### 2.10.4.3 Radicais superóxidos e radicais alquilperóxidos

O primeiro produto da redução de uma molécula de  $\text{O}_2$  é um íon superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), que é instável em soluções aquosas e rapidamente se decompõe a  $\text{H}_2\text{O}_2$  e  $\text{O}_2$  (BAXTER, 1983). Alguns autores sugerem um possível mecanismo para a formação deste íon. É conhecido que ácidos húmicos contêm quinonas e semi-quinonas, que se tornam excitadas quando absorvem radiação UV. Estas então reagem com moléculas de  $\text{O}_2$  formando íons  $\text{O}_2^{\bullet-}$ . Estes íons podem participar na decomposição de alguns poluentes, por exemplo, na decloração fotoquímica do metóxi-cloro.

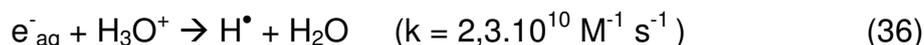
O radical alquilperóxido ( $\text{RO}_2^{\bullet}$ ) representa um tipo de radical formado em solução aquosa contendo matéria orgânica durante a irradiação ultravioleta. A fotooxidação do isopropilbenzeno (cumeno) e piridina em soluções aquosas, por exemplo, fornece produtos característicos de reações com radicais  $\text{RO}_2^{\bullet}$  e  $\text{HO}^{\bullet}$ . A concentração  $\text{RO}_2^{\bullet}$  e  $\text{HO}^{\bullet}$  formados pode ser estimada em média de  $10^{-9}$  e  $10^{-17}$  mol L $^{-1}$ , respectivamente. Esta concentração de  $\text{RO}_2^{\bullet}$  é suficiente para que o processo de oxidação continue em outras classes de substâncias químicas reativas presentes no meio (MILL, 1980).

#### 2.10.4.4 Elétron hidratado

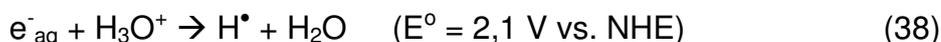
Em meio aquoso, os elétrons ficam hidratados em  $10^{-12}$  s, os quais, posteriormente, se tornarão bases, agentes nucleofílicos e redutores (SAWYER, 1995).



O ácido conjugado do elétron hidratado é o átomo de hidrogênio ( $H^{\bullet}$ ), que é um efetivo redutor em condições ácidas ( $T = 25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

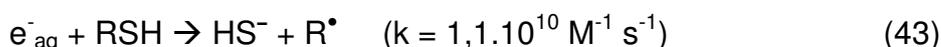
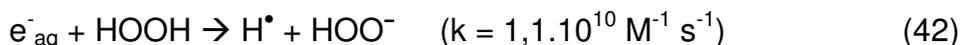


Os respectivos potenciais padrão de redução em água são:



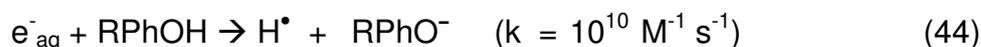
Na presença do íon hidrogênio, todas as reações eletroquímicas são afetadas pelo pH da solução no qual ocorrem e a variação do pH é controlada através da equação de Nernst da reação para variar o potencial do eletrodo.

Os elétrons hidratados são também altamente reativos com diversos componentes que podem estar presentes em matrizes biológicas.

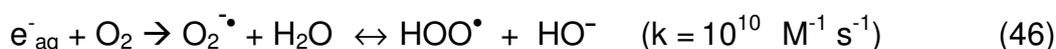


A energia de formação para  $HO - H$  é 464 kJ, enquanto que para  $O - H$  é aproximadamente 301 kJ. Esta diferença mostra o aumento na reatividade do  $e^{-}_{aq}$  na

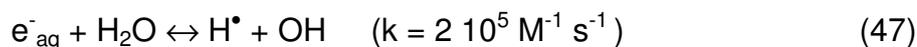
presença do íon  $\text{H}_3\text{O}^+$ . Assim, quando elétrons solvatados reagem com fenóis e com ácido carbônico, por exemplo, as constantes de equilíbrio apresentarão valores elevados.



Quando o  $\text{O}_2$  reage com elétrons hidratados em meio aquoso, o produto ( $\text{O}_2 \cdot^-$ ) reage com água produzindo  $\text{HOO}^\bullet$ .



Em meio aquoso, o elétron hidratado, reage com a água, produzindo o hidrogênio e o íon hidróxido.



#### 2.10.5 Aplicação da radiação UV na determinação de metais

A determinação de metais requer amostras homogêneas, a irradiação UV como uma etapa preliminar na análise de metais pode satisfazer esta exigência. As condições de digestão UV dependem de qual elemento se quer determinar, o método de determinação que vai ser utilizado e o tipo de amostra (GUTZ, 2003 e GOLIMOWSKI, 1996).

Muitos metais são determinados em diversas matrizes. A Voltametria e a Espectrometria de Absorção Atômica (AAS) são amplamente utilizadas como técnicas de determinação de metais. Para ambos os métodos de determinação, a amostra deverá ser homogênea (GOLIMOWSKI, 1996).

A decomposição de amostras por irradiação UV está associada às técnicas voltamétricas principalmente no que diz respeito ao pré-tratamento de amostras de

água. Porém, cada vez mais, se utiliza a irradiação com luz UV como método de pré-tratamento para diversos tipos amostras (GUTZ, 2003).

Numerosos estudos relataram o uso da digestão UV como pré-tratamento em várias amostras antes da determinação voltamétrica direta de metais: zinco, cádmio, chumbo, cobre, cobalto e níquel foram determinados em amostras de águas de origem ambiental, bem como em efluentes de indústria galvânica (KOLB, 1992). Zinco, cádmio, chumbo e cobre foram determinados em amostras de água e sangue (BATLEY, 1978).

Outros exemplos que utilizaram a digestão UV como método de pré-tratamento para a determinação de metais também foram relatados: determinação de cobalto em amostra de vitamina B<sub>12</sub> por eletroforese capilar e AdSV (voltametria adsortiva de redissolução) (SMYTH, 1996), determinação de cobre em amostras de água usando injeção em fluxo com detecção por quimiluminescência (WORSFOLD, 2001) e determinação de paládio, platina, irídio e ouro em amostras de sangue utilizando ICP-MS (DUNEMANN, 1997).

Bebidas (sucos, vinhos e outros) e fluidos corporais (sangue e urina) também foram fotooxidados para a determinação de cádmio, chumbo, níquel, cobalto, platina (GOLIMOWSKI, 1996) e mercúrio (SIPOS, 1979).

Fluidos corporais, especialmente o sangue, são difíceis de analisar. No processo de digestão UV, Na<sub>2</sub>EDTA deve ser adicionado para prevenir a coagulação, além disso, a formação de espuma, causada pelas proteínas, limita o volume da amostra; apenas amostras diluídas podem ser digeridas por este processo (GOLIMOWSKI, 1996).

Fluidos pós-hemodiálise são amostras complexas que contêm compostos nitrogenados como: ácido úrico, creatinina e uréia. A escolha das condições ideais para a decomposição deste tipo de amostra depende principalmente da natureza de cada espécie nitrogenada e dos demais constituintes da amostra.

### 2.10.6 Irradiação com luz ultravioleta de amostras que contêm compostos nitrogenados

Compostos orgânicos que contêm nitrogênio sob ação da radiação UV e na presença de oxigênio são oxidados a nitratos. Posteriormente, são lentamente, reduzidos a nitritos. A quantidade total de nitrogênio em uma amostra é convertida a nitratos e nitritos após a sua decomposição (ARMSTRONG, 1966).

A natureza do composto nitrogenado influencia na escolha das condições ideais utilizadas durante a irradiação UV (ARMSTRONG, 1966; HENRIKSEN, 1970; MANNY, 1971 e GUSTAFSSON, 1984).

Estudos realizados em soluções artificiais indicaram que o valor de pH da amostra é um fator decisivo que influencia na eficiência do processo de decomposição da amostra. Muitos compostos nitrogenados são decompostos em pH de 7 a 9 e a uréia em pH de 4 a 6.

Vários fatores que podem influenciar a eficiência na decomposição deste tipo de amostra foram investigados: pH, tempo de irradiação, concentrações de persulfato e nitrogênio total da amostra (HENRIKSEN, 1970; MANNY, 1971 e KROON, 1993).

Alguns autores utilizaram duas etapas na decomposição da amostra. Na primeira etapa as amostras foram irradiadas usando pH ácido (2 a 4) e na segunda etapa usando pH alcalino (8,5 a 9). Os resultados obtidos mostraram que com o uso de duas etapas, obtém-se uma melhor eficiência no processo de oxidação de compostos orgânicos nitrogenados (para a uréia = 36% cafeína = 35% e proteínas = 10% ca) (GUSTAFSSON, 1984).

Adicionalmente, deve-se levar em consideração a presença dos demais constituintes da amostra (substâncias orgânicas, sais, CO<sub>2</sub> e oxigênio), os quais podem interferir na formação de nitritos e nitratos (GUSTAFSSON, 1984).

## 3 MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 Instrumentação

Todas as medidas voltamétricas foram realizadas no Polarógrafo 693 VA Processor (Metrohm, Heriseau, Suíça) em combinação com um 694 VA Stand (Metrohm, Heriseau, Suíça) e também no Polarógrafo 646 VA Processor (Metrohm, Heriseau, Suíça) em combinação com um 675 VA Stand (Metrohm, Heriseau, Suíça), ambos empregando uma célula convencional de três eletrodos: o HMDE como eletrodo de trabalho e os eletrodos de Ag/AgCl ( $\text{KCl } 3 \text{ mol L}^{-1}$ ) e de platina (Pt) como eletrodos de referência e auxiliar, respectivamente.

Os espectros de absorção molecular foram medidos em um Espectrofotômetro UV–Visível com arranjo de diodos HP 8453 (Hewlett Packard, Waldbronn, Alemanha), utilizando uma cubeta de quartzo de 1 mm de caminho óptico. O *Software* utilizado nas medidas espectrofotométricas foi: HP UV-Visible ChemStations (Hewlett Packard).

As medidas por Espectrometria de Absorção Atômica foram realizadas utilizando o Espectrômetro de Absorção Atômica Zeenit 600, Analytikjena (Jena, Alemanha).

O sistema de irradiação UV utilizado foi o Digestor UV (Metrohm, Heriseau, Suíça), modelo UV 705, com lâmpada de mercúrio de alta pressão (500 W) com tubos de quartzo.

As medidas de pH foram realizadas no pHmetro digital (Digimed – DM20, São Paulo, Brasil) usando um eletrodo de vidro combinado.

Os reagentes sólidos foram pesados em uma balança analítica (Sartorius, Goettingen, Alemanha) com quatro casas de precisão.

A água, primeiramente destilada e deionizada, foi purificada em um sistema de purificação de água Milli–Q Millipore (resistividade  $18,2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}^{-1}$ ).

- Outros: - Banho ultra-som Bandelin Sonorex RK 510 (Berlim, Alemanha);  
- Banho termostaticado (Colora).

### 3.2 Reagentes e soluções

A solução padrão estoque de Fe(III)  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  foi preparada a partir da dissolução de ferro em pó em uma mistura de 2 mL de ácido clorídrico e 5 mL de ácido nítrico concentrados e o volume foi completado com água em balão volumétrico de 100 mL. As soluções de trabalho de 100 e  $10 \text{ mg L}^{-1}$  foram preparadas a partir de alíquotas retiradas desta solução estoque de Fe(III).

As soluções de trabalho de Al(III) 10 e  $100 \text{ mg L}^{-1}$ , foram preparadas a partir da diluição da solução padrão de Al(III)  $1000 \text{ mg L}^{-1}$ .

As soluções estoque do agente complexante violeta de solocromo nas concentrações de  $10 \cdot 10^{-3}$  e  $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  foram preparadas pela dissolução apropriada do reagente em água.

A solução do tampão acetato em pH 4,6 foi preparada pela mistura de ácido acético  $2 \text{ mol L}^{-1}$  e hidróxido de amônio  $1 \text{ mol L}^{-1}$ .

A solução estoque do complexo Al-SVRS ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ -  $4 \cdot 10^{-3} \text{ mol}$ ) foi preparada pela mistura de 5,5 mL de água ultrapura, 0,1 mL da solução padrão de Al  $1000 \text{ mg L}^{-1}$ , 0,5 mL de tampão acetato pH 4,6 e 4 mL de SVRS  $10 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ . Esta solução foi aquecida a  $90 \text{ }^\circ\text{C}$  por 10 min para a formação do complexo, o qual era preparado diariamente.

As soluções estoque ácido oxálico, uréia e creatinina  $10 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  foram preparadas pela diluição dos reagentes em água.

A solução de ácido úrico  $10 \cdot 10^{-3} \text{ L}^{-1} \text{ mol}$  foi preparada pela sua diluição adequada em água sob aquecimento a  $50 \text{ }^\circ\text{C}$ .

A solução  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  de desferal foi preparada pela diluição do reagente em água.

Todos os reagentes empregados no presente trabalho foram produtos de grau analítico, suas especificações e respectivos fabricantes estão descritos na tabela 3.

**Tabela 3 – Reagentes utilizados no desenvolvimento do trabalho.**

| <b>Reagentes</b>                      | <b>Fabricantes</b> |
|---------------------------------------|--------------------|
| Ferro metálico                        | Merck              |
| Solução padrão de Al(III) 1000 mg L-1 | Merck              |
| Violeta de solocromo                  | ACROS              |
| Ácido acético glacial 99,8 %          | Quimex             |
| Hidróxido de Amônio 25 %              | Vetec              |
| Ácido clorídrico 65 %                 | Merck              |
| Ácido sulfúrico 95 - 97 %             | Merck              |
| Uréia                                 | Merck              |
| Creatinina                            | ACROS              |
| Ácido oxálico                         | Nuclear            |
| Ácido úrico                           | ACROS              |
| resina Dowex 50 x 4 (50–100 mesh)     | Fluka              |
| Cloreto de sódio                      | Merck              |
| Desferal                              | Ciba               |

A composição da solução de diálise utilizada no presente trabalho está descrita na tabela 4.

**Tabela 4 – Solução de diálise após diluição.**

| <b>Constituintes químicos</b> | <b>Composição eletrolítica * (<math>10^{-3}</math> mol)</b> |
|-------------------------------|---|
| Sódio                         | 140,0   |
| Potássio                      | 0,8   |
| Cálcio                        | 1,5   |
| Magnésio                      | 0,8   |
| Cloretos                      | 111,0   |
| Bicarbonato                   | 111,0   |
| Glicose                       | 25,0  |
| Acetato                       | 5,0   |

\* Composição eletrolítica após diluição proporcional da solução ácida e básica

Volume = 120 L

### **3.3 Controle da contaminação**

Para garantir uma superfície livre de contaminação por Al(III), apenas materiais plásticos foram empregados nas análises. Todos os materiais foram deixados por, pelo menos, 48 h em solução 10% de HNO<sub>3</sub> em etanol (v/v) e lavados abundantemente com água purificada imediatamente antes do uso.

### **3.4 Medidas voltamétricas**

Para a investigação dos parâmetros descritos a seguir, empregou-se a voltametria de pulso diferencial (DPV), utilizando-se as condições descritas no anexo A.

### 3.4.1 Formação dos complexos Al(III)- SVRS e Fe(III)-SVRS

Alguns parâmetros experimentais foram avaliados para investigar as condições ideais de formação dos complexos com o SVRS: concentração do complexante SVRS, temperatura de formação dos complexos e tempo de pré-concentração.

Para a verificação da concentração ideal do SVRS na formação de seus complexos foram utilizadas as concentrações de 5, 10 e  $20 \cdot 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de SVRS, para diferentes concentrações dos analitos: 20, 40, 80 e 160 µg L<sup>-1</sup>.

Para a escolha da temperatura ideal de formação dos complexos Al(III)- SVRS e Fe(III)-SVRS utilizou-se a concentração de  $5 \cdot 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> do ligante SVRS e 20, 40, 80 e 160 µg L<sup>-1</sup> de Al(III) e Fe(III). Foram investigadas as temperaturas de: 40, 50, 60, 70, 80 e 90 °C.

Para estudar o efeito do tempo de pré-concentração na determinação de Al(III) e Fe(III) foram investigados os tempos de pré-concentração de 5, 10, 30 e 60 s, utilizando-se como potencial de pré-concentração - 0,1 V e concentrações de 10, 20, 40 e 80 µg L<sup>-1</sup> de ambos os metais.

### 3.4.2 Método da adição do padrão

No presente trabalho, o complexo entre o reagente SVRS e o Al(III) foi formado separadamente numa solução estoque utilizada para a adição do padrão à célula voltamétrica.

A cinética de formação do complexo Al(III)-SVRS é lenta (WILLARD, 1950), assim a solução era previamente aquecida a 90 °C e resfriada a temperatura ambiente antes das medidas voltamétricas.

Desta forma, a adição do padrão Al(III)-SVRS pôde ser realizada diretamente na célula voltamétrica.

### 3.4.3 Determinação simultânea de Al(III) e Fe(III)

Para a determinação simultânea de Al(III) e Fe(III) adotou-se o procedimento que consistiu em adicionar 10 mL de água, do fluido pré-hemodiálise ou do fluido pós-hemodiálise (diluído 1:1, após a irradiação UV) para dentro de tubos de quartzo, adicionando para cada tubo 0,5 mL do tampão acetato pH 4,6 e o ligante SVRS na concentração final de  $5 \cdot 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>. Os tubos foram inseridos em um banho termostatizado e as amostras foram aquecidas a 90 °C por 10 minutos antes de cada determinação. Depois de resfriadas a temperatura ambiente, cada solução foi transferida para uma célula voltamétrica e, em seguida desaerada por 5 minutos com N<sub>2</sub>. As determinações de Al(III) e Fe(III) foram realizadas por AdCSV.

Os voltamogramas, para concentrações de 10 a 200 µg L<sup>-1</sup> de Al(III) e Fe(III), foram obtidos utilizando-se potencial de pré-concentração de - 0,1 V (vs. Ag/AgCl) e tempo de pré-concentração de 5 s. Na etapa de redissolução, utilizou-se o intervalo de potenciais de - 0,1 a - 0,8 V.

### **3.5 Formação de complexos Al(III)-Fe(III)/espécies orgânicas por espectrofotometria de absorção molecular**

Com o objetivo de verificar a formação de complexos entre os analitos e as espécies orgânicas constituintes do fluido pós-hemodiálise, foram realizadas medidas espectrofotométricas. No preparo destas soluções foram usados tubos de vidro, onde todas as soluções foram adicionadas de tampão acetato pH 4,6 e SVRS na concentração final de  $10 \cdot 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> e posteriormente aquecidas a 90 °C por 10 minutos antes de cada determinação. As concentrações dos metais e dos compostos orgânicos utilizadas foram de  $0,1 \cdot 10^{-3}$  e  $10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>, respectivamente. As medidas de absorvância foram realizadas na faixa de comprimentos de onda de 400 a 800 nm com resolução espectral de 1 nm e 1 cm de percurso ótico em cubetas de quartzo.

### 3.6 Voltametria de corrente alternada

Com o objetivo de verificar a ocorrência da adsorção de espécies orgânicas no eletrodo de mercúrio, foram realizadas medidas por voltametria de corrente alternada. As espécies investigadas foram: o SVRS, os complexos (Al(III)-SVRS e Fe(III)-SVRS), os compostos orgânicos presentes no fluido pós-hemodiálise (ácidos úrico e oxálico, creatinina e uréia) e o DFO.

A faixa de potencial utilizada foi de -0,1 a -0,8 V com o ângulo  $90^\circ$  fora de fase com o potencial aplicado (os demais parâmetros estão descritos no apêndice A). As medidas foram realizadas em tampão acetato pH 4,6.

### 3.7 Decomposição da amostra com radiação UV

A eficiência da radiação UV para decompor as amostras de fluido pós-hemodiálise foi investigada usando diferentes condições experimentais. Os seguintes parâmetros experimentais foram avaliados na etapa de otimização: radiação UV, pH, fator de diluição da amostra, tempo de irradiação UV, tipo de ácido mineral e quantidade de  $H_2O_2$  empregado.

Todas as condições investigadas foram para um volume final de 10 mL da amostra e a temperatura das amostras foi mantida a  $90 \pm 3$  °C durante o processo de irradiação.

Para investigar o efeito da radiação UV direta na eficiência da foto-decomposição da amostra, diferentes tempos de irradiação foram investigados: 1, 2, 4, 6 e 8 horas. Este estudo foi realizado com os seguintes valores de diluição da amostra: 1:1; 1:5; 1:10 e 1:100.

Para investigar o efeito do pH na eficiência da foto-decomposição da amostra, diferentes pH foram investigados: 2, 4, 6 e 9. Outros fatores foram testados juntamente com o pH: fator de diluição da amostra, tempo de irradiação UV e adição de  $H_2O_2$ .

Para investigar o efeito da concentração da amostra na eficiência do pré-tratamento, as amostras de fluido pós-hemodiálise foram diluídas em água nas proporções 1:1; 1:5; 1:10 e 1:100. Outros fatores foram testados juntamente com o fator de diluição da amostra: tempo de irradiação UV e adição de ácidos e /ou H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

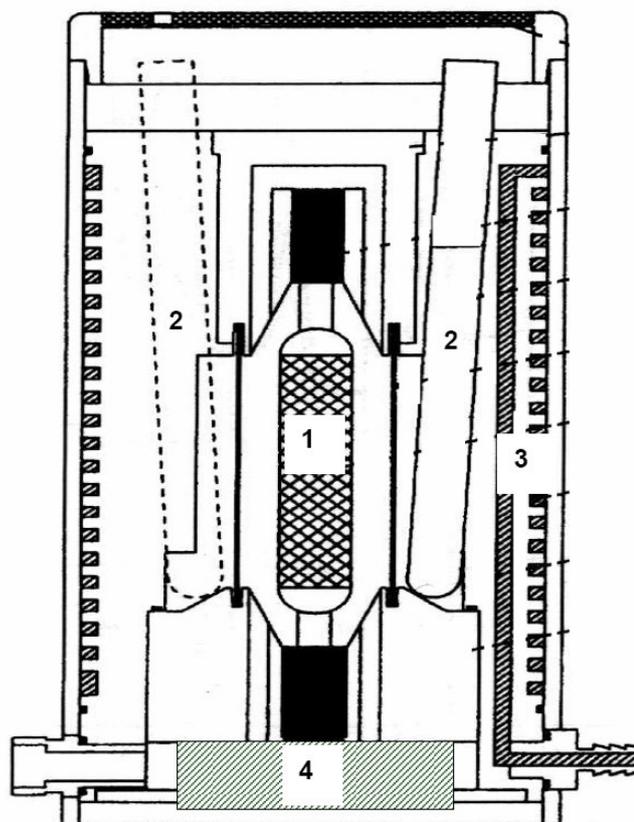
Para investigar o efeito do tempo na eficiência da foto-decomposição da amostra, diferentes tempos de irradiação foram investigados: 1, 2, 4, 6 e 8 horas. Outros fatores foram testados juntamente com o tempo de irradiação: fator de diluição da amostra e adição de ácidos e /ou H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

A influência da concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi investigada pela adição de 50 µL (6,86.10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>) e 100 µL (13,72.10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>) de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% (v/v) na amostra, antes do início da irradiação (para o tempo de irradiação de 2 horas). Testaram-se ainda adições subseqüentes de 50 µL e 100 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a cada 30 minutos de irradiação (para tempos de irradiação maiores que 2 horas).

Para a escolha do tipo de ácido ideal testou-se a adição de 20 µL de HCl (2,4.10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup>), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (3,6.10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup>) e HNO<sub>3</sub> (3,4.10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup>), individualmente às amostras antes do início da irradiação.

A influência da adição de ácidos, na digestão final juntamente com a adição de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> também foi investigada para os diferentes fatores de diluição e tempos de irradiação UV.

Observa-se na figura 7, um esquema do digestor UV utilizado neste trabalho. O sistema de refrigeração é composto por um ventilador situado na parte inferior e um sistema de resfriamento a base de circulação de água através das paredes do bloco de alumínio que envolve o sistema.



**Figura 7 – Esquema do digester utilizado para irradiação com luz UV; (1) Lâmpada de mercúrio de alta pressão (500 W); (2) Tubos de quartzo com capacidade para 12 mL de amostra; (3) Paredes por onde circula a água para a refrigeração do sistema; (4) Ventilador.**

### 3.7.1 Purificação do peróxido de hidrogênio

O  $\text{H}_2\text{O}_2$  p.a. apresenta uma elevada contaminação de diversos metais, principalmente de ferro. Assim, fez-se necessária a purificação do mesmo empregando-se uma resina catiônica na forma  $\text{Na}^+$ .

Para a purificação do  $\text{H}_2\text{O}_2$ , pesou-se 5 g da resina Dowex 50 x 4 (50–100 mesh), a qual foi acondicionada em uma coluna de vidro, com 300 mL de solução de cloreto de sódio  $1 \text{ mol L}^{-1}$ , numa vazão de  $2 \text{ mL min}^{-1}$ , com a finalidade de substituir os íons  $\text{H}^+$  da resina por  $\text{Na}^+$ . O pH do eluato em torno de 5,5 indicou o término da troca iônica.

Após, eluiu-se 200 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  pela resina, com a finalidade de substituir os íons dos metais contaminantes pelos íons  $\text{Na}^+$ . O peróxido foi armazenado em frasco âmbar.

### **3.8 Aplicação em amostras de fluido pós-hemodiálise**

As amostras reais de fluido pós-hemodiálise utilizadas neste trabalho foram coletadas no setor de nefrologia do Hospital de Caridade em Santa Maria/RS.

O método proposto foi aplicado à determinação simultânea dos analitos em 36 amostras de fluido pós-hemodiálise coletadas de 36 pacientes renais.

As amostras foram coletadas no final de cada sessão de hemodiálise e permaneceram armazenadas sob refrigeração ( $4\text{ }^\circ\text{C}$ ) em frascos de polietileno por um período máximo de 3 meses.

### **3.9 Métodos de comparação**

Após a irradiação das amostras de fluido pós-hemodiálise coletadas de acordo com o item 3.8, foram utilizados métodos comparativos em relação à AdCSV.

Medidas por GF-AAS (Espectrofotometria de Absorção Atômica por Forno de Grafite) foram usadas como método comparativo para a determinação do  $\text{Al(III)}$ . Os parâmetros utilizados estão descritos no anexo B.

Medidas por MAS (Espectrofotometria de Absorção Molecular) foram usadas como método comparativo para a determinação do  $\text{Fe(III)}$ , através da complexação de  $\text{Fe(II)}$  ao 1,10-fenantrolina 0,25%. O  $\text{Fe(III)}$  foi reduzido pela adição de cloridrato de hidroxilamina 5%. As medidas de absorvância foram realizadas na faixa de comprimentos de onda de 400 a 800 nm com resolução espectral de 1 nm e 1 cm de percurso ótico em cubetas de quartzo.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Medidas voltamétricas

Neste trabalho, antes da avaliação do método de pré-tratamento de fluidos pós-hemodiálise, foram realizados ensaios voltamétricos a fim de obter a condição ideal para a determinação de Al(III) e Fe(III).

A quantificação direta de Al(III) por voltametria é problemática em virtude de seu alto potencial de redução, assim a sua complexação prévia formando uma espécie eletroativa com potencial de redução mais favorável é desejável (WANG, 1985 apud CARVALHO, 2005).

Adicionalmente, o potencial de redução do Fe(III) em solução aquosa é + 0,55 V (vs Ag/Ag/Cl), não sendo possível, também, determinar Fe(III) na ausência de agentes complexantes (VAN DEN BERG, 1984).

Sendo assim, neste trabalho utilizou-se a AdCSV para a determinação simultânea de Al(III) e Fe(III) em fluidos pós-hemodiálise. Esta técnica envolve a complexação prévia de metais com ligantes orgânicos, viabilizando sua determinação voltamétrica.

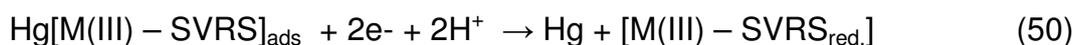
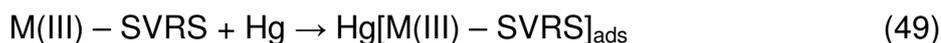
Em estudos realizados anteriormente, os reagentes SVRS (LOCATELLI, 2003), calmagita (STRYJEWSKA, 1991) e vermelho de alizarina S (DASA) (CARVALHO, 2005) foram investigados de acordo com suas capacidades de formar complexos com Al(III) para posterior determinação por AdCSV. O catecol (VAN DEN BERG, 1984) foi utilizado como complexante do Fe(III).

Somente com o reagente SVRS foi possível realizar a determinação simultânea destes metais em matrizes de alta concentração salina (LOCATELLI, 2003). Sendo, deste modo, escolhido no presente trabalho como complexante para Al(III) e Fe(III).

A AdCSV é formada por duas etapas: a etapa de pré-concentração e a etapa de redissolução.

Na etapa de pré-concentração, ocorre a adsorção do reagente SVRS e dos complexos Al(III)-SVRS e Fe(III)-SVRS no HMDE num potencial de - 0,1 mV. Na

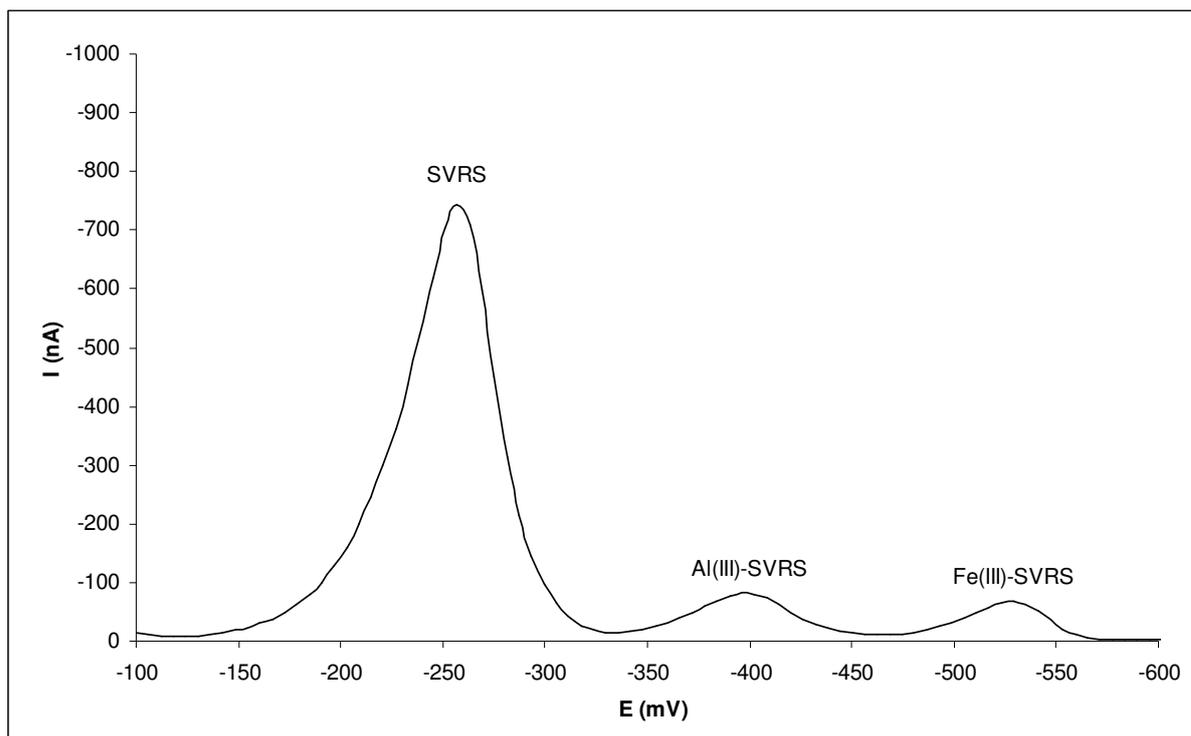
etapa posterior de redissolução, ocorre a redução do SVRS e dos complexos formados durante a varredura catódica de potenciais. O processo está representado nas equações a seguir:



De acordo com as equações, observa-se que o complexo adsorvido na superfície do eletrodo é reduzido envolvendo um processo de transferência de dois elétrons (FLORENCE, 1962).

Com base nas condições experimentais investigadas por Locatelli (2003) para a determinação de Al(III) e Fe(III), foram preparadas soluções dos analitos com o SVRS .

A figura 8 ilustra o voltamograma obtido na determinação simultânea de Al(III) e Fe(III), por AdCSV em 10 mL de água contendo tampão acetato pH 4,6 e o complexante SVRS na concentração de  $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ . A temperatura de aquecimento ( $T_{aquec}$ ), o tempo de aquecimento ( $t_{aquec}$ ), o potencial de pré-concentração ( $E_d$ ), o tempo de pré-concentração ( $t_d$ ), utilizados foram de 90 °C, 10 min, - 0,1 V e 5 s, respectivamente.



**Figura 8 – Sinais voltamétricos do SVRS e dos complexos Al(III)-SRVS e Fe(III)-SVRS por AdCSV: concentração dos metais =  $300 \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $t_d = 5 \text{ s}$ ,  $E_d = -0,1 \text{ V}$ ,  $T_{\text{aquec.}} = 90^\circ\text{C}$ ,  $t_{\text{aquec.}} = 10 \text{ min}$ . Solução de medida: 10 mL de água + 0,5 mL de tampão acetato + 0,25 mL de SVRS  $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $\text{pH} = 4,6$ .**

O pico visualizado em  $-250 \text{ mV}$  refere-se a presença de um excesso do ligante livre, devido a sua redução no HMDE. Os picos visualizados nos potenciais em  $-390$  e  $-530 \text{ mV}$  são devido a redução dos complexos Al(III)-SVRS e Fe(III)-SVRS e são proporcionais as concentrações de Al(III) e Fe(III), respectivamente.

É muito difícil estimar a quantidade de Al(III) e Fe(III) existente em amostras de fluidos pós-hemodiálise, uma vez que a concentração destas espécies vai depender de cada paciente, levando-se em consideração seu metabolismo, bem como os hábitos nutricionais.

Algumas condições experimentais já estabelecidas anteriormente (LOCATELLI, 2003) foram investigadas novamente em soluções aquosas contendo somente o tampão acetato.

#### 4.1.1 Ensaios para a escolha das condições experimentais ideais para a formação dos complexos Al(III)-SVRS e Fe(III)-SVRS

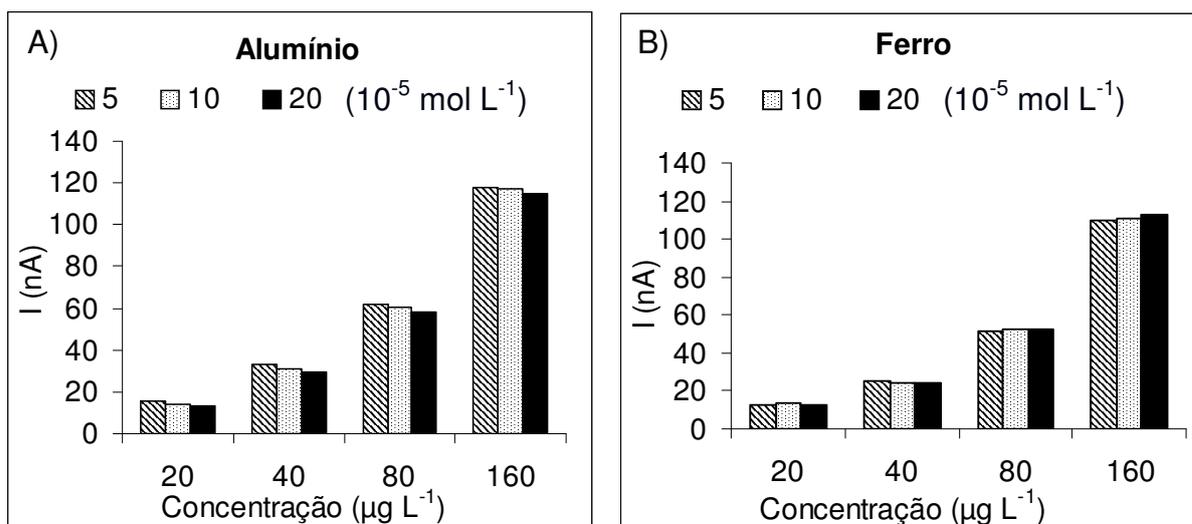
##### 4.1.1.1 Concentração do complexante SVRS

Levando-se em consideração a relação molar dos complexos de Al(III)-SVRS, 1:1 ou 1:2 (COATES, 1962) e Fe(III)-SVRS, 1:1 em meio aquoso (WANG, 1987), as concentrações de 5, 10 e  $20 \cdot 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de SVRS foram investigados para uma faixa de 20 a 160 µg L<sup>-1</sup> de Al(III) e Fe(III). As concentrações molares investigadas foram 7,4; 14,8; 29,6 e  $59,2 \cdot 10^{-7}$  de Al(III) e 3,57; 7,14; 14,28 e  $28,56 \cdot 10^{-7}$  de Fe(III).

Observa-se na figura 9 que a concentração de  $5 \cdot 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> é suficiente para a formação dos complexos de Al(III) e Fe(III). Para o Fe(III) não há uma diferença significativa entre os valores de corrente encontrados em relação as concentrações do ligante investigadas: 5, 10 e  $20 \cdot 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>. Porém, para o Al(III), observa-se um pequeno decréscimo nos valores de corrente à medida que a concentração do SVRS aumenta. De acordo com Wang (1985), se uma alta concentração do complexante SVRS é usada, ocorre uma diminuição na altura do sinal do complexo formado, isto porque o ligante livre começa a competir com o complexo pela superfície do eletrodo.

Além disso, como pode ser visualizado na figura 9, com a concentração de  $5 \cdot 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de SVRS há uma resposta linear para os valores de corrente e concentrações utilizados.

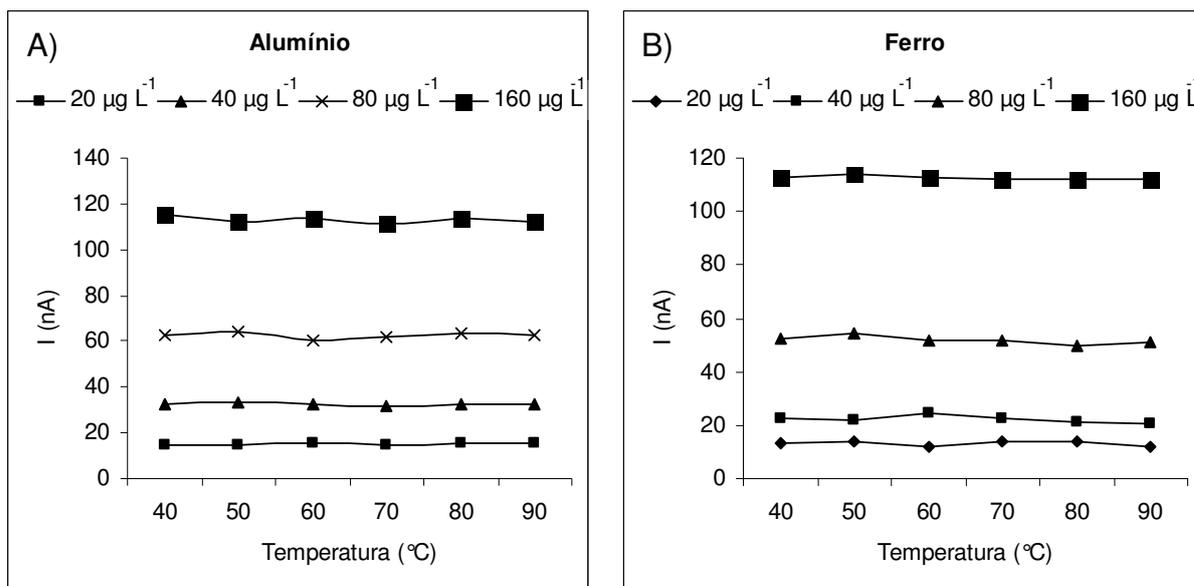
Assim, a concentração de  $5 \cdot 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> de SVRS foi utilizada nos próximos ensaios.



**Figura 9 – Dependência do sinal dos complexos com o SVRS a) Al(III) e b) Fe(III) com a concentração do SVRS em diferentes concentrações de metal: 20, 40, 80 e 160 µg L<sup>-1</sup> em tampão acetato pH 4,6 ( $E_d = -0,1$  V  $t_d = 5$ s,  $T_{aquec} = 90$  °C,  $t_{aquec} = 10$  min).**

#### 4.1.1.2 Temperatura de aquecimento

De acordo com Willard e Dean (1950) o complexo Al(III)-SVRS, em pH 4,7 necessita 5 horas para se formar a temperatura ambiente; 5 minutos a 50 °C e 2 minutos a 60 °C. Desta forma, temperaturas de 40 a 90 °C foram investigadas para avaliar o equilíbrio de formação dos complexos Al(III)-SVRS e Fe(III)-SVRS utilizando-se o tempo de reação de 10 minutos. A figura 10 mostra a influência das temperaturas de aquecimento no sinal dos complexos metálicos em diferentes concentrações de Al(III) e Fe(III) (20, 40, 80 e 160 µg L<sup>-1</sup>).



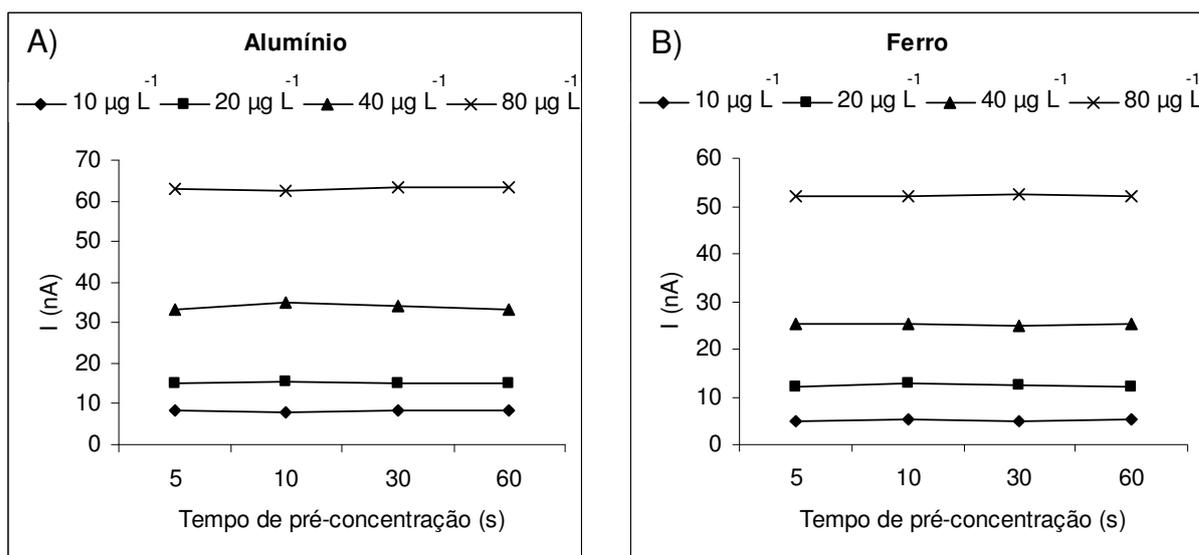
**Figura 10 – Dependência do sinal dos complexos com o SVRS a) Al(III) e b) Fe(III) com a temperatura de aquecimento para a formação dos complexos em tampão acetato pH 4,6 ( $E_d = -0,1$  V,  $t_d = 5$ s,  $t_{aquec} = 10$  min).**

Observa-se na figura 10, para os dois metais, que a corrente, em todas as concentrações utilizadas, independe das temperaturas investigadas. Quando se utilizou a temperatura de 90 °C, os voltamogramas apresentaram sinais mais definidos para ambos complexos, em relação aos sinais obtidos com as demais temperaturas investigadas. Possivelmente, em temperaturas inferiores a 90 °C é necessário utilizar tempos superiores a 10 minutos para a formação do complexo. Assim, optou-se por utilizar a temperatura de 90 °C nos demais ensaios.

#### 4.1.1.3 Tempo de pré-concentração

O tempo de pré-concentração é um importante fator que influencia na sensibilidade das medidas por voltametria adsortiva de redissolução. Um tempo de pré-concentração longo leva a uma grande quantidade de analito disponível no eletrodo durante a etapa de redissolução. Geralmente, para concentrações de  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$  e  $10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> de metal em solução, os tempos de pré-concentração de 10 a 2 minutos, respectivamente, são suficientes quando se utiliza a voltametria de redissolução (WANG, 1985).

Neste trabalho, diferentes tempos de pré-concentração (5, 10, 30 e 60 s) foram escolhidos para avaliar sua influência no sinal dos metais em várias concentrações (10, 20, 40 e 80  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). A figura 11 mostra os sinais de Al(III) e Fe(III), utilizando a faixa de concentração de 10 a 80  $\mu\text{g L}^{-1}$ , em função do tempo de pré-concentração.



**Figura 11 – Dependência do sinal dos complexos com o SVRS a) Al(III) e b) Fe(III) com o tempo de pré-concentração em diferentes concentrações de metal em tampão acetato pH 4,6 ( $E_d = -0,1\text{ V}$ ,  $T_{\text{aquec}} = 90\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $t_{\text{aquec}} = 10\text{ min}$ ).**

Como se pode observar na figura 11, para os dois metais, a corrente, em todas as concentrações utilizadas, independe dos tempos de pré-concentração investigados. Possivelmente, a corrente resultante ( $i_r$ ), além da contribuição da corrente devido às espécies adsorvidas na superfície do eletrodo ( $i_{\text{ads}}$ ), possui uma contribuição da corrente devido às espécies que sofrem difusão para a superfície do eletrodo ( $i_{\text{dif}}$ ). Ou seja,  $i_r = i_{\text{ads}} + i_{\text{dif}}$  (CARVALHO, 2007). A corrente de difusão independe do tempo de pré-concentração utilizado na voltametria adsortiva, pois as espécies presentes no seio da solução migram até a superfície do eletrodo através do gradiente de concentração existente entre o seio da solução e a superfície do eletrodo.

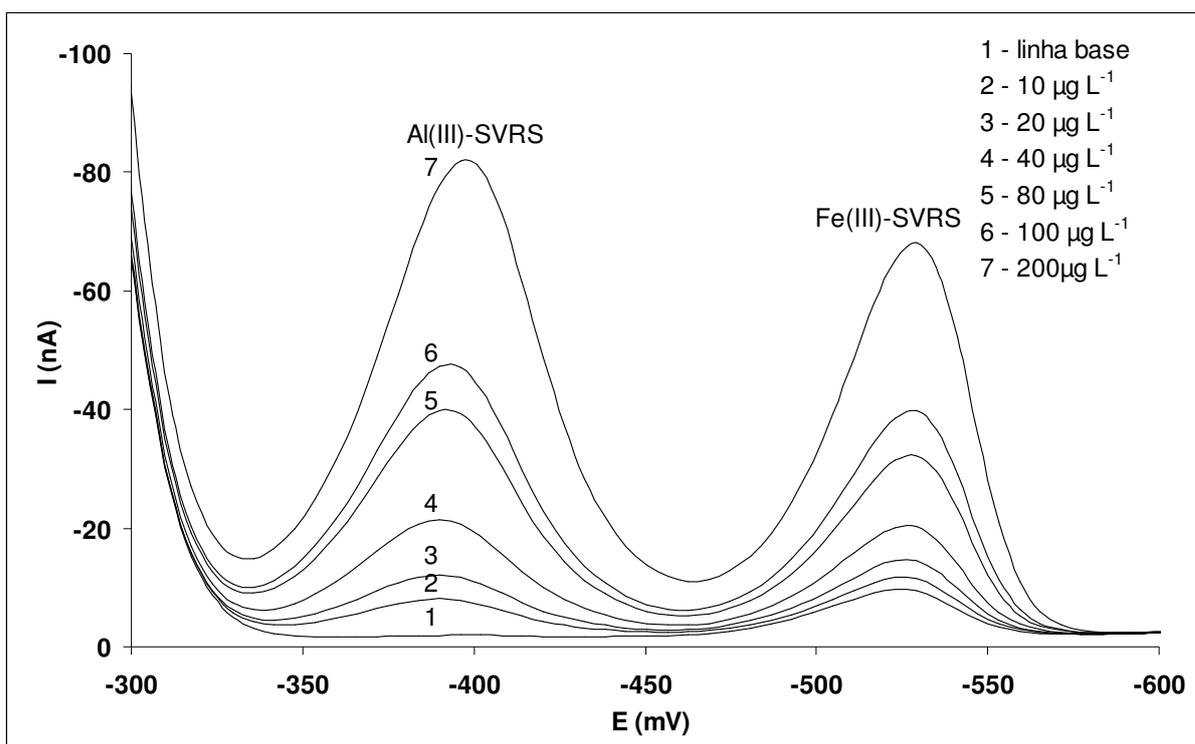
Portanto, é provável que o aumento inexpressivo da corrente deve-se à difusão dos complexos com o SVRS para a superfície do eletrodo ou a saturação da superfície do eletrodo na presença destas espécies.

Optou-se então por utilizar o menor tempo de pré-concentração investigado 5 s.

#### 4.1.2 Faixa linear e limite de detecção

Com base nos resultados apresentados em 4.1.1, foram obtidas curvas analíticas para verificar a linearidade do método.

As curvas analíticas apresentaram bons coeficientes de correlação linear para a faixa de concentração de 10 a 200  $\mu\text{g L}^{-1}$  ( $n = 5$ ):  $r = 0,999$  e  $r = 0,998$ , para Al(III) e Fe(III), respectivamente. A figura 12 mostra o voltamograma com concentrações crescentes dos analitos adicionados à célula voltamétrica na faixa de 10 a 200  $\mu\text{g L}^{-1}$ .



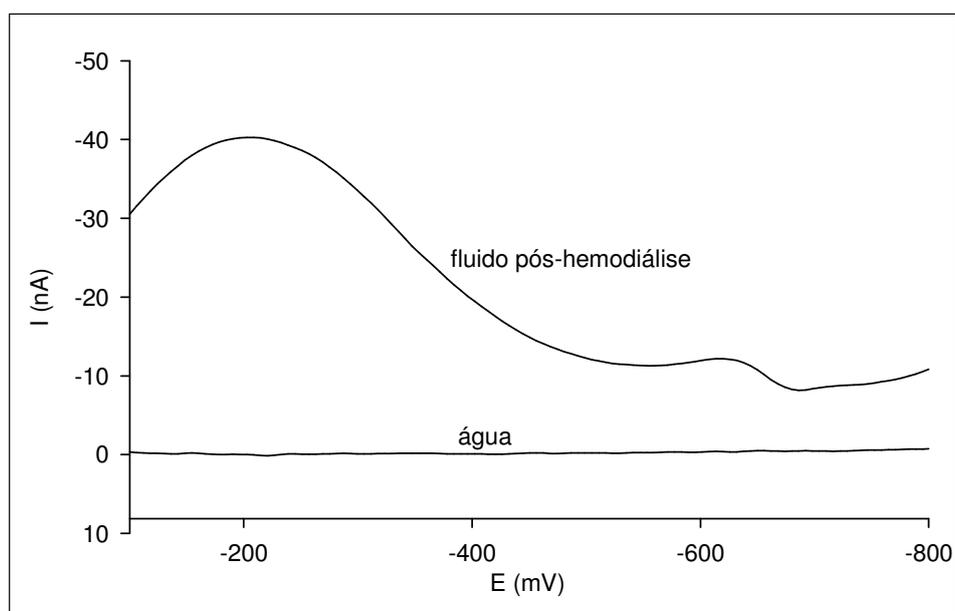
**Figura 12 – Sinais voltamétricos de Al(III) e Fe(III) como complexos do SVRS. Adições de Al(III) e Fe(III) 10-200  $\mu\text{g L}^{-1}$ ,  $t_d = 5$  s,  $E_d = -0,1$  V,  $T_{\text{aquec}} = 90$  °C e  $t_{\text{aquec}} = 10$  min. Solução de medida: 10 mL de água + 0,5 mL de tampão acetato + 0,25 mL de SVRS  $2 \cdot 10^{-3}$  mol  $\text{L}^{-1}$ , pH = 4,6.**

Um desvio padrão relativo de 1,4 % para o Al(III) e 0,4 % foram calculados para cinco medidas de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  de ambos os metais. Os limites de detecção de  $1,1 \mu\text{g L}^{-1}$ , para o Al(III) e  $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$  para o Fe(III) foram calculados de acordo com  $(B + 3\sigma_B)$ , onde B é a média da corrente da linha base ( $n = 3$ ) e  $\sigma_{B1}$  é o desvio padrão dessas medidas. Os limites de quantificação de  $1,9 \mu\text{g L}^{-1}$ , para o Al(III) e  $2,4 \mu\text{g L}^{-1}$  para o Fe(III) foram calculados de acordo com  $(B + 10\sigma_B)$ .

#### 4.2 Determinação simultânea de Al(III) e Fe(III) em fluidos pós-hemodiálise

Os fluidos pós-hemodiálise são amostras complexas que, além de apresentarem alta concentração salina (força iônica ca.  $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ ) (JOST, 2005), contêm uma série de compostos orgânicos excretados pelos pacientes.

No presente trabalho, não foi possível realizar a determinação voltamétrica direta (sem pré-tratamento) de Al(III) e Fe(III) nestas amostras. A figura 13 mostra a linha base obtida em água e em uma amostra real de fluido pós-hemodiálise na região onde os complexos com o SVRS se reduzem.



**Figura 13 – Voltamograma obtido para a água e para uma amostra real de fluido pós-hemodiálise. Solução de medida: 10 mL da amostra (água ou fluido pós-hemodiálise) + 0,5 mL de tampão acetato, pH = 4,6.**

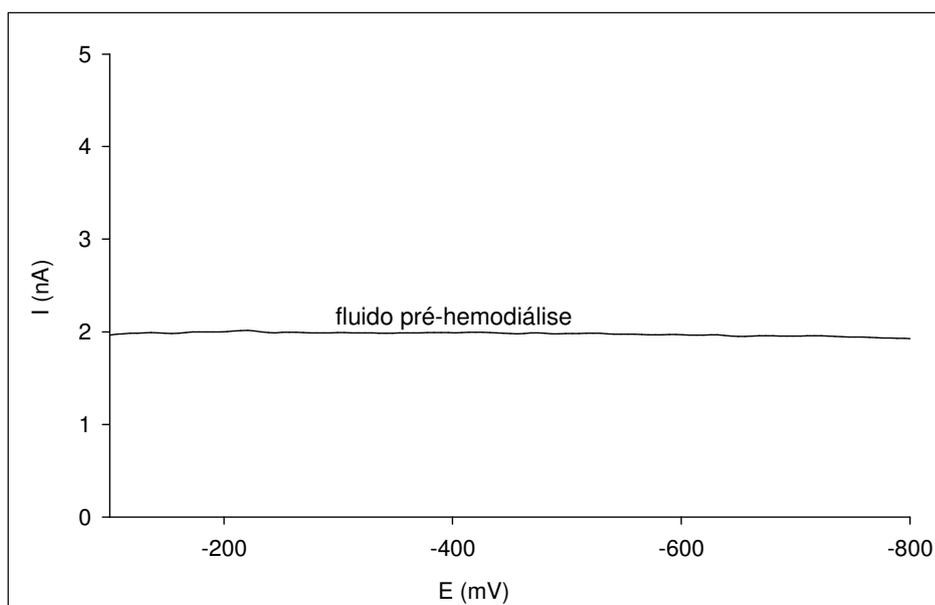
Como se observa na figura 13, na medida voltamétrica direta do fluido pós-hemodiálise, a corrente resultante fica em torno de 30 nA, diferindo do valor da corrente obtida em água (0 nA). Esta corrente deve-se possivelmente à adsorção das espécies orgânicas presentes nos fluidos pós-hemodiálise na superfície do eletrodo e pode impedir a determinação direta dos analitos.

Adicionalmente, foram realizados ensaios de recuperação em amostras reais fortificadas com  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  de cada metal e não foi possível detectar a presença dos dois metais.

Desta forma, investigou-se a influência das espécies inorgânicas e orgânicas presentes nos fluidos pós-hemodiálise na determinação de Al(III) e Fe(III) por AdCSV.

#### 4.2.1 Interferência das espécies inorgânicas

Primeiramente o método foi investigado em fluidos pré-hemodiálise ou soluções de diálise que correspondem idealmente ao fluido pós-hemodiálise sem as espécies orgânicas adquiridas durante a hemodiálise. A composição da solução de diálise está descrita na tabela 4 (vide item 3.2). A figura 14 mostra a linha base obtida em uma amostra de fluido pré- hemodiálise contendo somente o tampão acetato.



**Figura 14 – Voltamograma obtido em uma amostra de solução de diálise. Solução de medida: 10 mL da amostra + 0,5 mL de tampão acetato, pH = 4,6.**

Como se observa na figura 14, na medida voltamétrica direta do fluido pré-hemodiálise, a corrente resultante é bastante baixa, ficando em torno de 2 nA, sendo muito próximo ao valor de corrente obtida em água. Além disso, ensaios de recuperação para o Al(III) e para o Fe(III) foram realizados em amostras artificiais de fluido pré-hemodiálise.

Na tabela 5 estão representados os resultados obtidos na aplicação do método para a determinação simultânea de Al(III) e Fe(III) em fluidos pré-hemodiálise. Para a realização deste ensaio, as amostras de fluido pré-hemodiálise foram fortificadas com diferentes concentrações de Al(III) e Fe(III) e submetidas às medidas voltamétricas através da AdCSV.

**Tabela 5 – Recuperação de Al(III) e Fe(III) em uma amostra real de fluido pré-hemodiálise.**

| Metal adicionado<br>( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |         | Metal determinado <sup>a</sup><br>( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) |         | Recuperação<br>(%) |         |
|--|---------|--|---------|--------------------|---------|
| Al(III)                                      | Fe(III) | Al(III)  | Fe(III) | Al(III)            | Fe(III) |
| 20   | 20      | 21,43  | 21,84   | 107,2              | 109,2   |
| 20   | 40      | 21,5   | 43,83   | 107,5              | 109,6   |
| 40   | 20      | 39,96  | 19,85   | 99,9               | 99,3    |
| 40   | 40      | 38,68  | 38,37   | 96,7               | 95,9    |
| 60   | 60      | 64,66  | 59,52   | 104,4              | 99,4    |

<sup>a</sup> RSD (n = 3): 2-10%

Os dados apresentados na tabela 5 ilustram a possibilidade de determinar Al(III) e Fe(III) em fluidos pré-hemodiálise por AdCSV. Apesar dos analitos não terem sido detectados nas amostras investigadas, as recuperações para as amostras fortificadas artificialmente situaram-se entre 95,9 e 109,6%, confirmando a aplicabilidade do método nos fluidos pré-hemodiálise.

### 4.3 Interferência das espécies orgânicas

Espécies orgânicas como ácidos úrico, oxálico, creatinina e uréia podem ser encontradas como espécies dialisadas nos fluidos pós-hemodiálise. É muito difícil estimar as concentrações destas espécies nos fluidos pós-hemodiálise, uma vez que as concentrações dependem de cada paciente e de seu metabolismo.

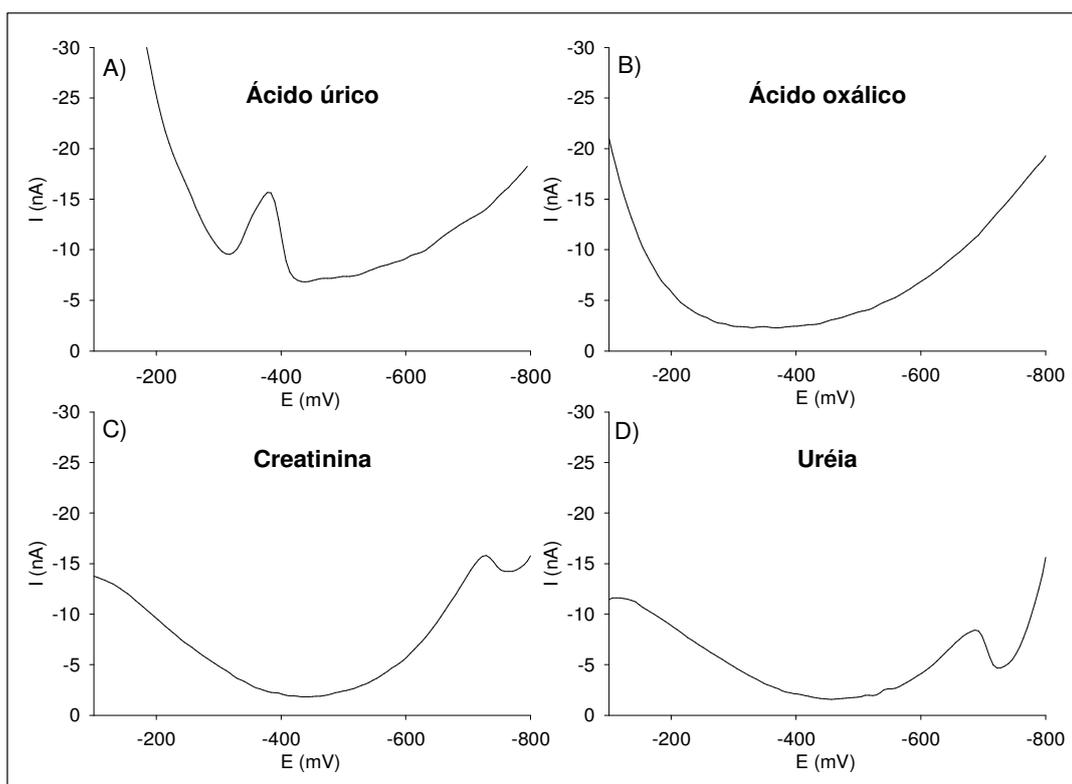
A urina apresenta uma composição química bastante semelhante a dos fluidos pós-hemodiálise: uréia, cloreto de sódio, alguns traços de amônia, ácido úrico e outras substâncias juntamente eliminadas ( KIRCHMANN, 2005).

De acordo com Prasad (1997), o valor da concentração total de espécies orgânicas presentes em amostras de urina é de  $3,27 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ . Nos fluidos pós-

hemodiálise, estas espécies poderão ou não apresentar um valor de concentração maior, dependendo do grau de comprometimento da função renal (GUYTON, 1997).

Escolheu-se a concentração total de  $4 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  das espécies orgânicas para a realização das medidas por AdCSV.

A figura 15 mostra os voltamogramas obtidos para soluções artificiais contendo  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de cada composto orgânico presente nos fluidos pós-hemodiálise: ácidos úrico e oxálico, creatinina e uréia.



**Figura 15 – Voltamogramas das principais espécies orgânicas que compõem o fluido pós-hemodiálise ( $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) em tampão acetato pH 4,6: A) ácido úrico, B) ácido oxálico, C) creatinina e D) uréia.**

Pode-se notar, na figura 15, que para todas as espécies, a corrente resultante apresenta um valor maior que o valor de corrente obtido em água (próxima a 0 nA). Esta corrente deve-se à adsorção das espécies investigadas na superfície do eletrodo e, pelo aumento da corrente podem impedir a determinação voltamétrica de Al(III) e Fe(III). Nota-se, também, que o sinal obtido para o ácido úrico apresenta alguma semelhança em relação ao sinal obtido para a amostra de fluido pós-

hemodiálise. Possivelmente o ácido úrico é a espécie que tem maior contribuição na interferência para a determinação de Al(III) e Fe(III) por AdCSV.

O método voltamétrico usado para determinação de Al(III) e Fe(III) depende da reação entre o ligante SVRS e os analitos e também da adsorção dos complexos Al(III)-SVRS e Fe(III)-SVRS no HMDE. Assim as espécies orgânicas poderão interferir na reação de formação dos complexos Al(III)-SVRS e Fe(III)-SVRS pela formação de complexos com os analitos, impedindo que o Al(III) e o Fe(III) estejam disponíveis para reagir com o SVRS.

Deve-se levar em consideração também que compostos orgânicos, particularmente as substâncias que apresentam atração pela superfície do eletrodo de mercúrio, têm a tendência de se adsorver no eletrodo de mercúrio, competindo com o complexo formado pela superfície do eletrodo (ACEBAL, 1983).

Com o objetivo de verificar a formação de complexos entre os analitos e as espécies orgânicas foram realizadas medidas espectrofotométricas.

Para investigar a ocorrência ou não da adsorção das espécies orgânicas no HMDE, assim como a adsorção do SVRS e de seus complexos foram realizadas medidas por voltametria de corrente alternada.

#### 4.3.1 Investigação da interferência das espécies orgânicas por espectrofotometria

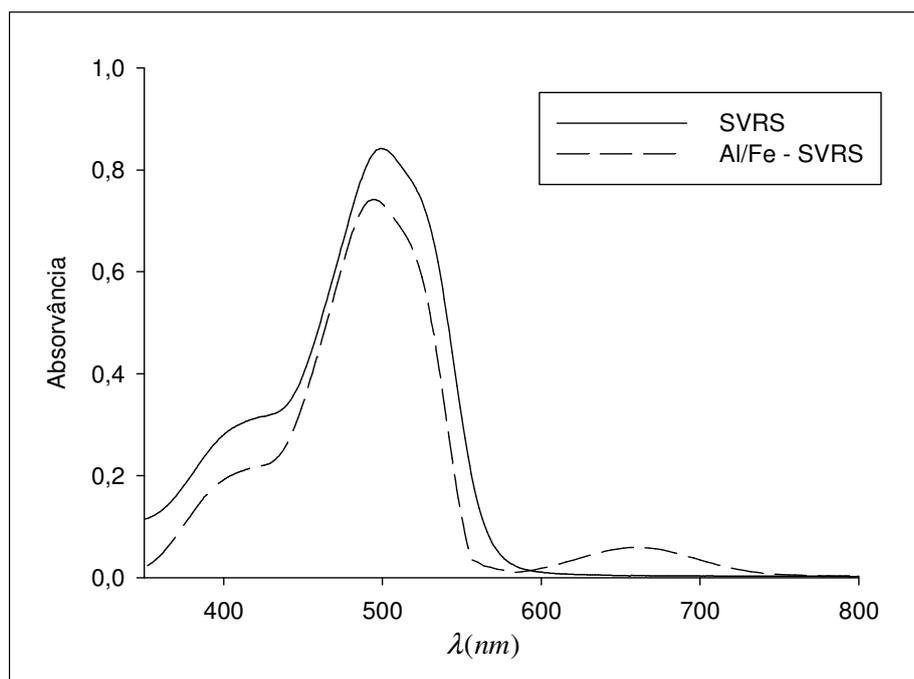
Para avaliar a possibilidade de formação de complexos entre os compostos orgânicos presentes no fluido pós-hemodiálise com o Al(III) e o Fe(III), investigou-se o perfil dos espectros de absorção molecular dos complexos Al(III)-SVRS e Fe(III)-SVRS na presença dos ácidos úrico, oxálico, creatinina e uréia.

Em estudo publicado anteriormente (JOHNSON, 1993) o reagente SVRS foi investigado de acordo com sua capacidade de formar complexos com o Al(III) em pH alcalino para posterior determinação utilizando a espectrofotometria, porém não há relatos sobre a identificação de formação do complexo Fe(III)-SVRS por espectrofotometria.

Com base nas condições investigadas por Johnson (1993) para a determinação de Al(III), foram preparadas soluções dos analitos com o SVRS. Somente foi possível realizar a determinação do Al(III), não sendo possível medir o

Fe(III). A evidência experimental deste fato foi a formação de um precipitado marron quando o pH do meio foi ajustado (pH 8), devido a formação de hidróxido. Investigou-se, então, a formação dos complexos Al(III)- SVRS e Fe(III)-SVRS em pH 4,6 .

O espectro de absorção molecular do reagente SVRS e seus complexos está ilustrado na figura 16.



**Figura 16 – Espectro de absorção molecular do SVRS e dos complexos Al(III)-SVRS e Fe(III)-SVRS em tampão acetato pH 4,6: concentrações SVRS =  $5 \cdot 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>, Al(III) e Fe(III) = 50 µg L<sup>-1</sup>, (T<sub>aquec</sub> = 90 ° C, t<sub>aquec</sub> = 10 min).**

Observa-se na figura 16 que o SVRS atinge um máximo de absorvância em 500 nm (comprimento de onda máximo =  $\lambda_{max}$ ) contra um branco em tampão acetato pH 4,6. A medida que os complexos do SVRS com o Al(III) e Fe(III) são formados, o sinal de absorvância do SVRS diminui e há o surgimento de uma banda na faixa de comprimentos de onda de 600 a 700 nm que não é proporcional às concentrações de Al(III) e Fe(III), não sendo adequada, portanto, para a quantificação dos complexos Al(III)- SVRS e Fe(III)-SVRS.

Alternativamente, a medida que os complexos Al(III)- SVRS e Fe(III)-SVRS são formados, ocorre uma diminuição no sinal de absorvância do SVRS. Na ausência de espécies orgânicas que podem formar complexos com o Al(III) e Fe(III), a diminuição no sinal de absorvância do SVRS é proporcional ao aumento das

concentrações de Al(III) e Fe(III) e este parâmetro pode ser utilizado para avaliar a formação dos complexos com o SVRS.

Desta forma, a variação na leitura do sinal de absorvância do SVRS foi utilizado como critério para verificar a interferência das espécies orgânicas na formação dos complexos com o SVRS.

Foram preparadas soluções contendo Al(III) e Fe(III), ácidos úrico, oxálico, creatinina e uréia na proporção 1:10 (analitos:espécies orgânicas) e um excesso do SVRS ( $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ ).

Na tabela 6 estão representados os valores de absorvâncias normalizadas em relação ao reagente SVRS em 500 nm na presença ou não dos analitos e das espécies orgânicas.

**Tabela 6 – Absorvâncias normalizadas do SVRS na presença ou não de Al(III) e Fe(III) e de substâncias presentes no fluido pós-hemodiálise.**

|         |         | Concentração [ $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ] |       |           |             | SVRS [Abs]                                |
|---------|---------|---|-------|-----------|-------------|---|
| Al(III) | Fe(III) | creatinina                                    | uréia | ac. úrico | ac. oxálico | ( $\lambda_{\text{max}} = 500\text{nm}$ ) |
| 0,0     | 0,0     | 0   | 0     | 0         | 0           | 1,00                                      |
| 0,1     | 0,1     | 0   | 0     | 0         | 0           | 0,59                                      |
| 0,1     | 0,1     | 1,0   | 0     | 0         | 0           | 0,78                                      |
| 0,1     | 0,1     | 0   | 1,0   | 0         | 0           | 0,83                                      |
| 0,1     | 0,1     | 0   | 0     | 1,0       | 0           | 0,86                                      |
| 0,1     | 0,1     | 0   | 0     | 0         | 1,0         | 0,83                                      |

RSD (n = 3): 2,3-12%

Observa-se na tabela 6 que o maior valor de absorvância ocorre quando o ligante SVRS está livre e observa-se também que o menor valor de absorvância do SVRS ocorre na presença de Al(III) e Fe(III) devido a formação de seus complexos na ausência das espécies orgânicas.

Na presença dos ácidos úrico, oxálico, creatinina e uréia ocorre um aumento no valor de absorvância do SVRS, possivelmente, devido à competição entre as espécies orgânicas e o SVRS pelos analitos. Devido à formação dos complexos

(Al(III)-Fe(III)/compostos orgânicos) ocorre a diminuição na concentração dos metais disponíveis para formar os complexos Al(III)-SVRS e Fe(III)-SVRS e conseqüentemente o aumento no sinal do SVRS.

Não foram encontrados trabalhos sobre a cinética da reação e constantes de estabilidades dos complexos Al(III)-Fe(III)/compostos orgânicos que utilizem as mesmas condições deste trabalho, porém há relatos que demonstram a formação de complexos entre algumas destas espécies com os analitos (THOMAS, 1991; PUGIA, 2000; MA, 2001; MOAWAD, 2002; MONA, 2002 e QIU, 2004).

Deste modo, conclui-se que as espécies orgânicas presentes nos fluidos pós-hemodiálise interferem na determinação de Al(III) e Fe(III) pela formação de complexos com os analitos, impedindo que estes metais estejam disponíveis para serem complexados pelo SVRS.

#### 4.3.2 Investigação da interferência das espécies orgânicas por voltametria de corrente alternada

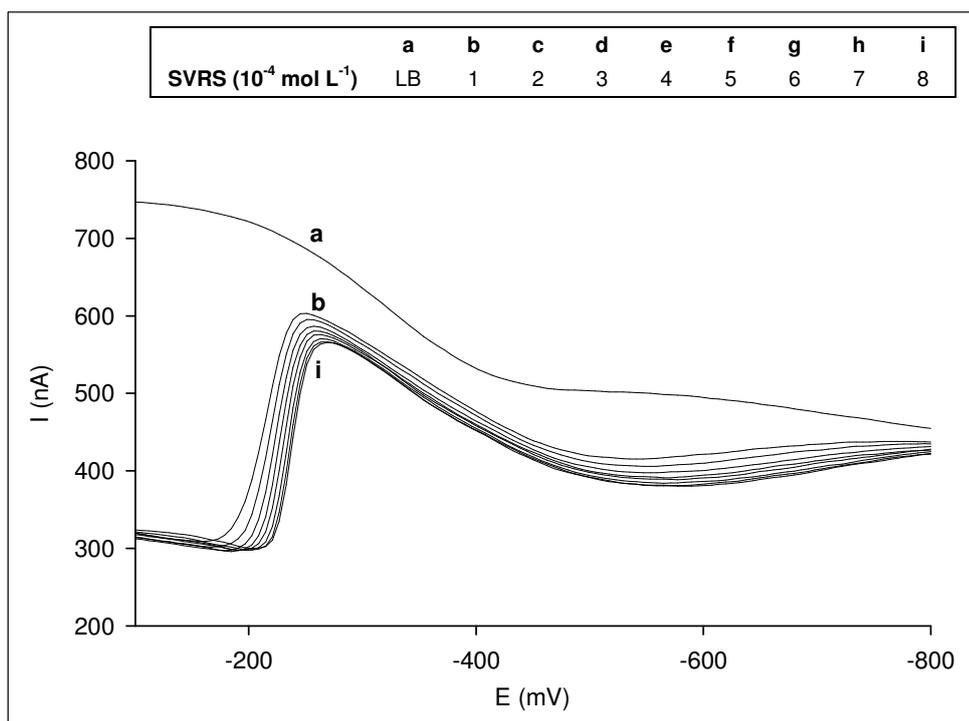
As medidas por voltametria de corrente alternada fornecem informações sobre a adsorção de espécies orgânicas no eletrodo de mercúrio, os quais podem competir pela superfície no eletrodo ou desestabilizar complexos formados entre os analitos e o complexante.

A corrente capacitiva tem origem na formação da dupla camada elétrica que surge devido a adsorção do solvente na superfície do eletrodo. A composição da solução pode influenciar a corrente capacitiva pela adsorção de espécies no HMDE. À medida que as espécies orgânicas adsorvem-se no eletrodo ocorre uma diminuição da capacitância, ou seja, uma diminuição da corrente capacitiva, pois estas espécies ocupam o lugar do solvente, fazendo com que ocorra um decréscimo da linha base.

Neste trabalho, todas as medidas AC foram realizadas com ângulo fora de fase  $90^\circ$  com o potencial aplicado, onde se tem uma maior sensibilidade da corrente capacitiva e relação a corrente faradaica. A faixa de potencial utilizada foi onde ocorre a redução dos complexos Al(III)-SVRS e Fe(III)-SVRS (- 0,1 a - 0,8 V), (os

demais parâmetros estão descritos no anexo A). As medidas foram realizadas em tampão acetato pH 4,6.

Os voltamogramas AC ilustrados nas figuras 17 a 25 mostram o comportamento do SVRS, de seus complexos com Al(III) e Fe(III), de uma amostra artificial contendo as principais espécies orgânicas presentes no fluido pós-hemodiálise, de uma amostra real de fluido pós-hemodiálise, dos ácido úrico, oxálico, creatinina e uréia, respectivamente.



**Figura 17 – Voltamogramas AC do SVRS em tampão acetato pH 4,6, ( $E_d = -0,1V$ ,  $t_d = 5 \text{ s}$ ,  $f = 60 \text{ Hz}$ ,  $\phi = 90^\circ$ ), LB = Linha base.**

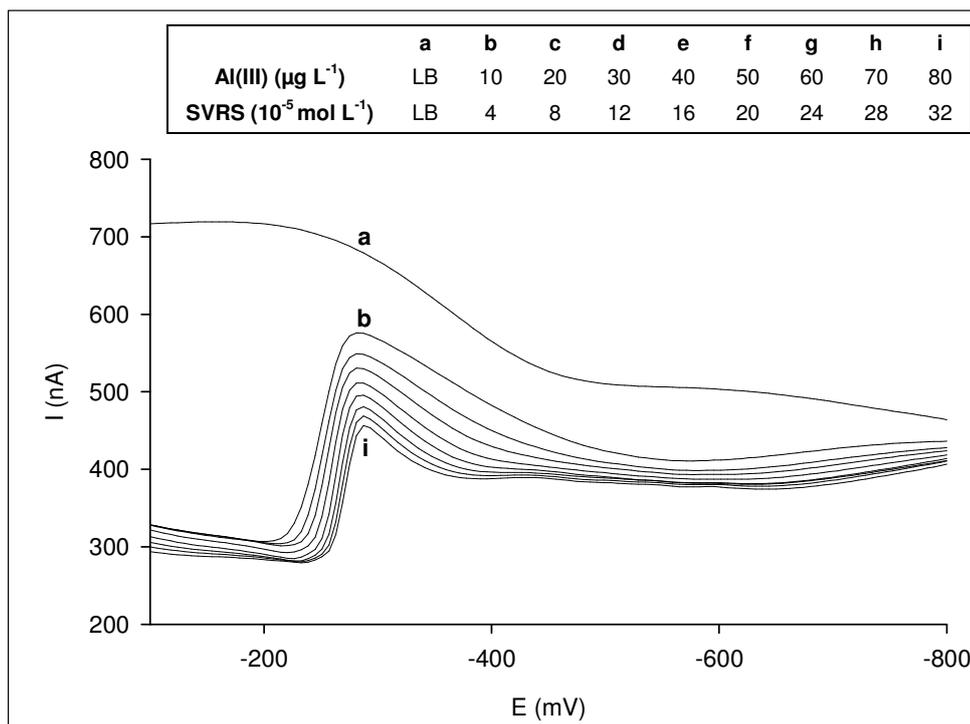


Figura 18 – Voltamogramas AC do complexo Al(III)-SVRS em tampão acetato pH 4,6, ( $E_d = -0,1 \text{ V}$ ,  $t_d = 5 \text{ s}$ ,  $T_{\text{aquec}} = 90^\circ\text{C}$ ,  $t_{\text{aquec}} = 10 \text{ min}$ ,  $f = 60 \text{ Hz}$ ,  $\phi = 90^\circ$ ).

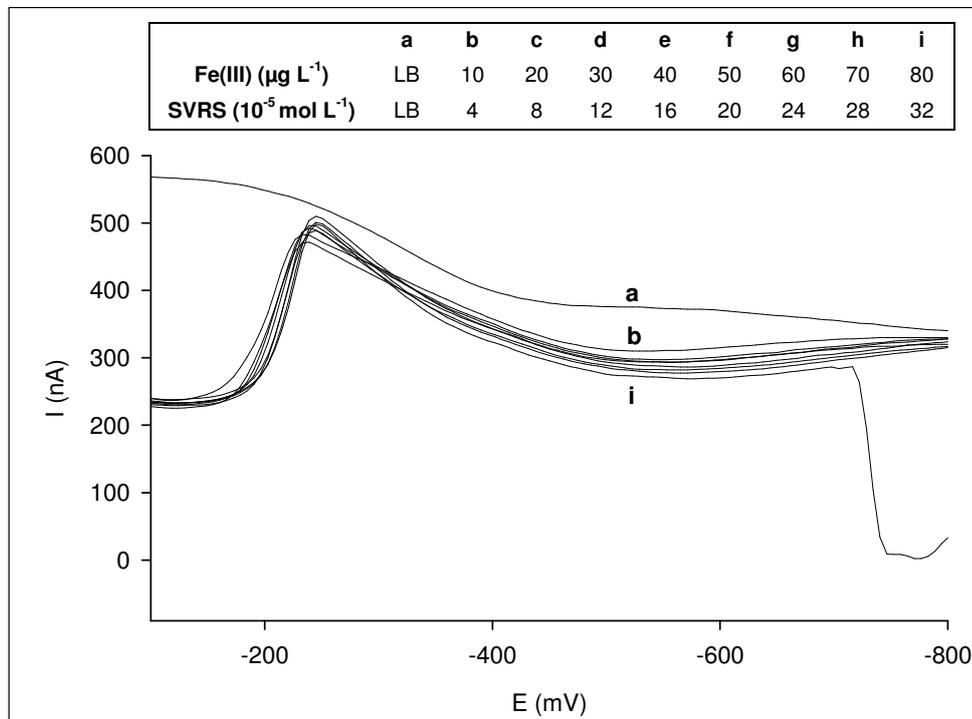


Figura 19 – Voltamogramas AC do complexo Fe(III)-SVRS em tampão acetato pH 4,6, ( $E_d = -0,1 \text{ V}$ ,  $t_d = 5 \text{ s}$ ,  $T_{\text{aquec}} = 90^\circ\text{C}$ ,  $t_{\text{aquec}} = 10 \text{ min}$ ,  $f = 60 \text{ Hz}$ ,  $\phi = 90^\circ$ ).

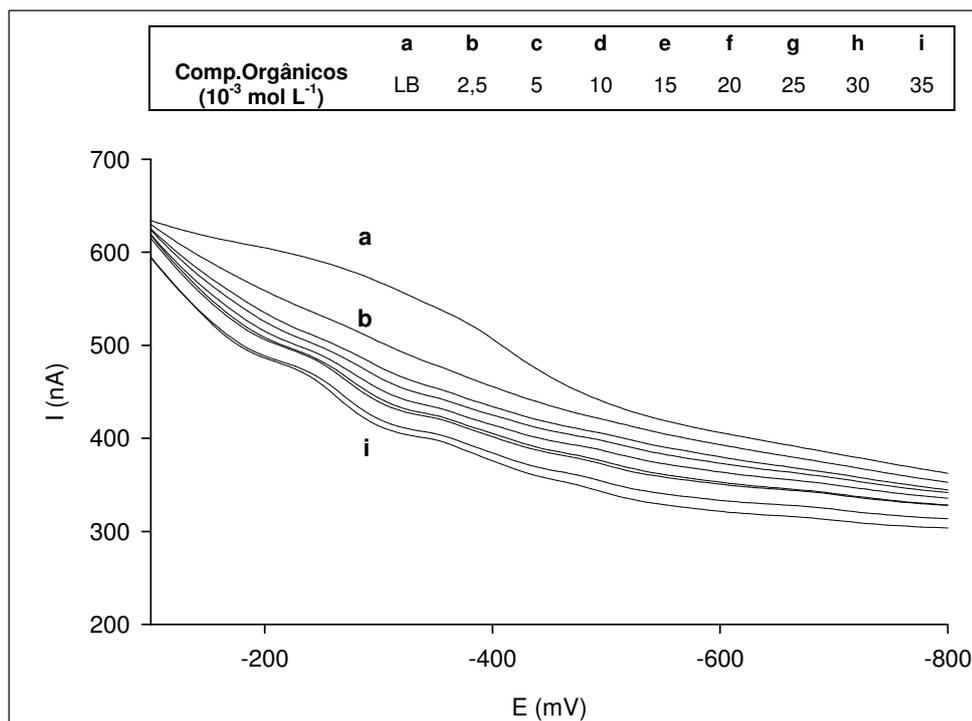


Figura 20 – Voltamogramas AC de uma amostra artificial de fluido pós-hemodiálise contendo ácidos úrico, oxálico, creatinina e uréia em tampão acetato pH 4,6, ( $E_d = -0,1$  V,  $t_d = 5$  s,  $f = 60$  Hz,  $\phi = 90^\circ$ ).

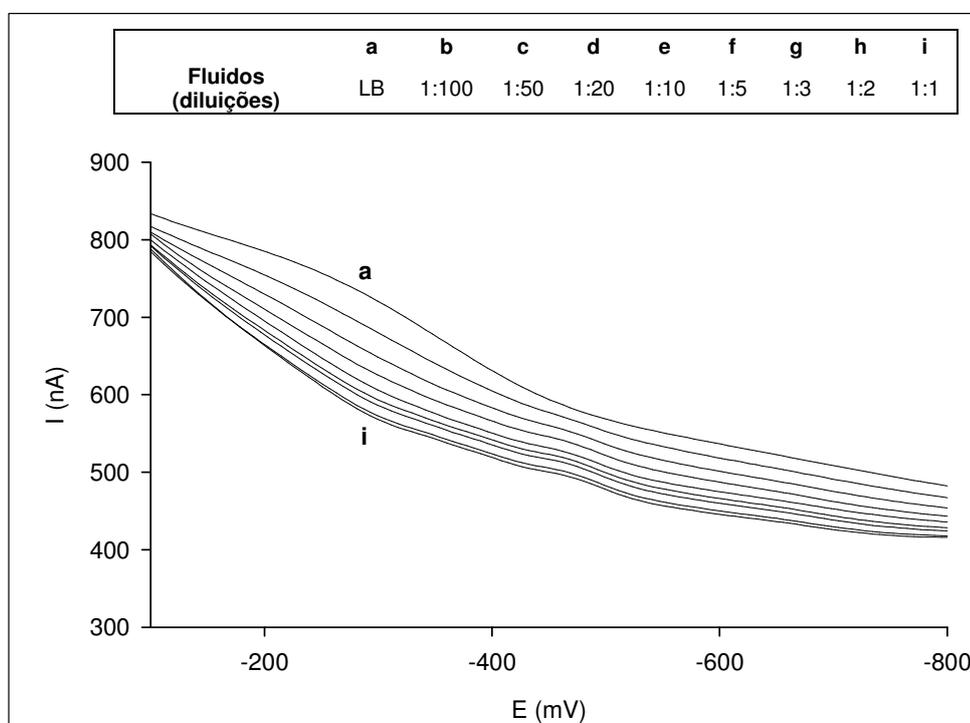


Figura 21 – Voltamogramas AC de uma amostra real de fluido pós-hemodiálise em tampão acetato pH 4,6, ( $E_d = -0,1$  V,  $t_d = 5$  s,  $f = 60$  Hz,  $\phi = 90^\circ$ ).

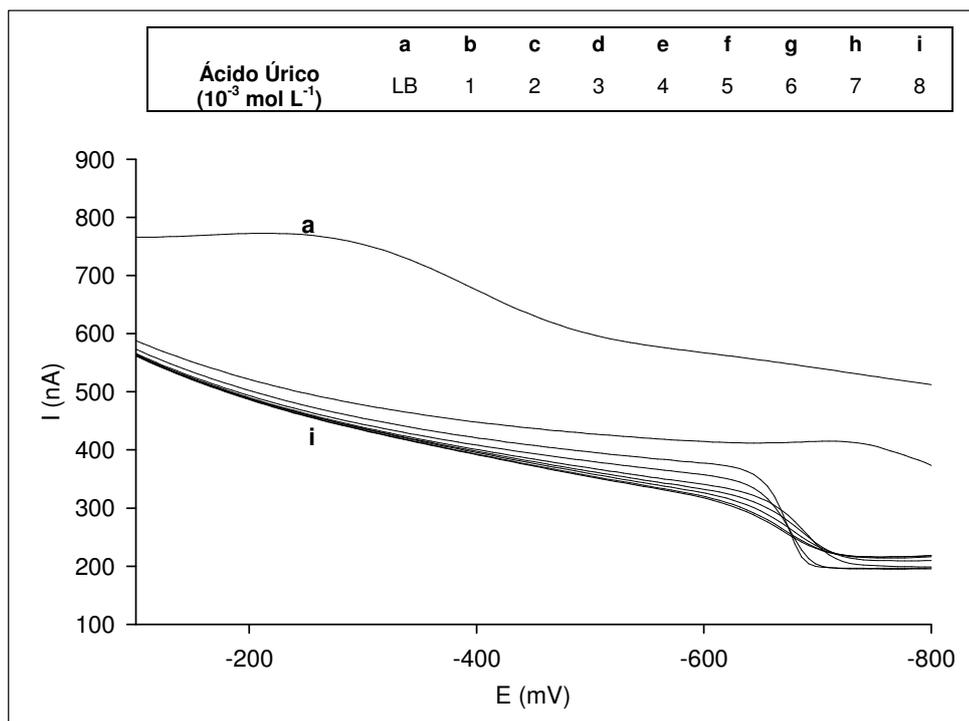


Figura 22 – Voltamogramas AC do ácido úrico em tampão acetato pH 4,6, ( $E_d = -0,1$  V,  $t_d = 5$  s,  $f = 60$  Hz,  $\varphi = 90^\circ$ ).

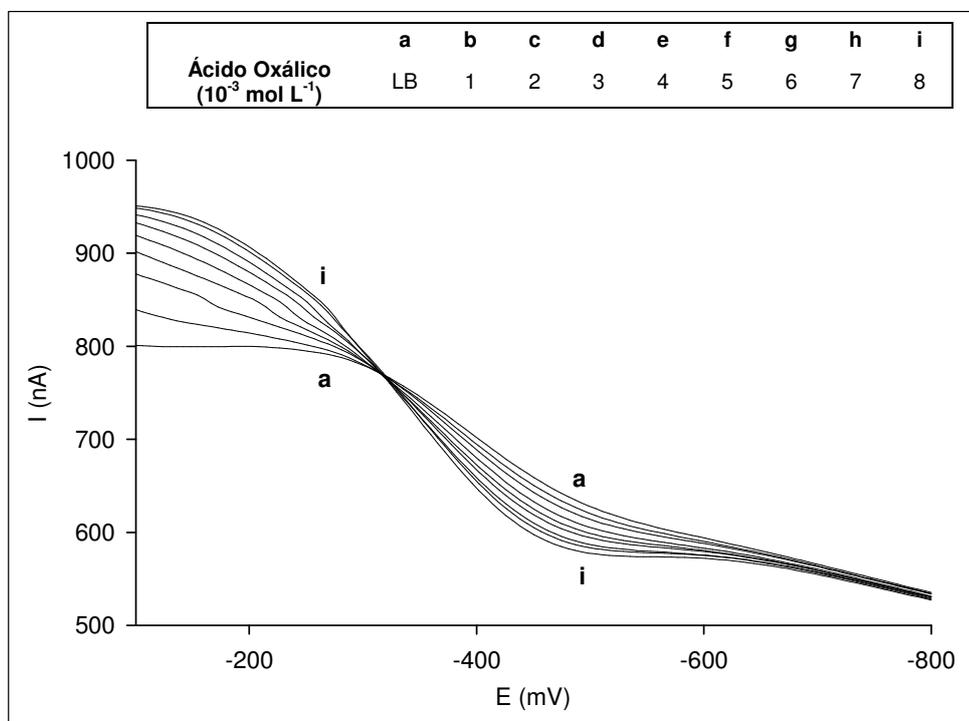


Figura 23 – Voltamogramas AC do ácido oxálico em tampão acetato pH 4,6, ( $E_d = -0,1$  V,  $t_d = 5$  s,  $f = 60$  Hz,  $\varphi = 90^\circ$ ).

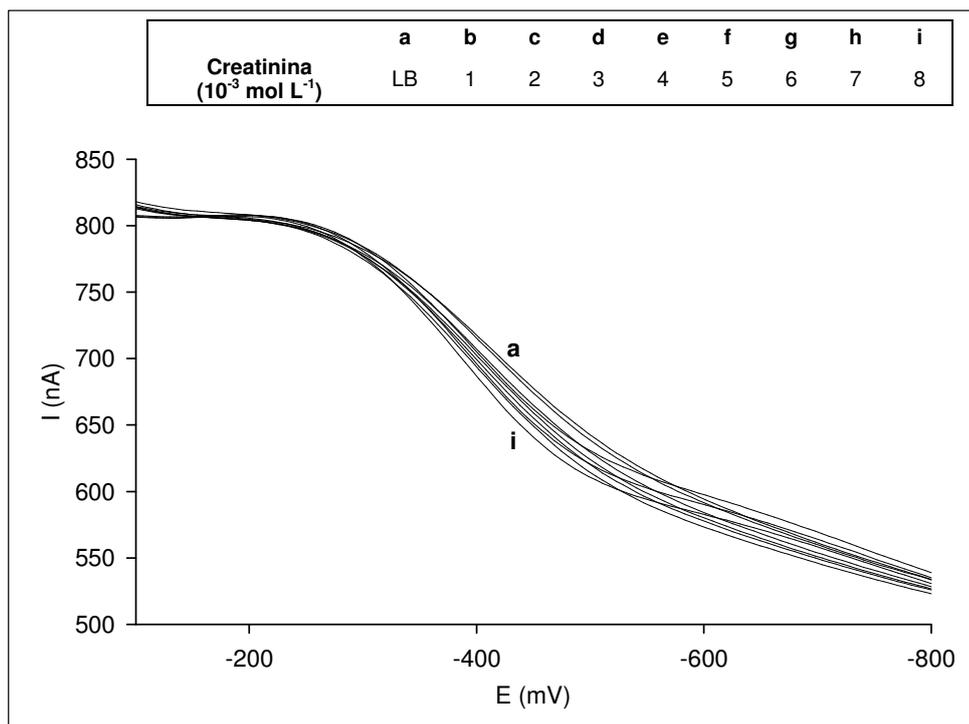


Figura 24 – Voltamogramas AC da creatinina em tampão acetato pH 4,6, ( $E_d = -0,1$  V,  $t_d = 5$  s,  $f = 60$  Hz,  $\varphi = 90^\circ$ ).

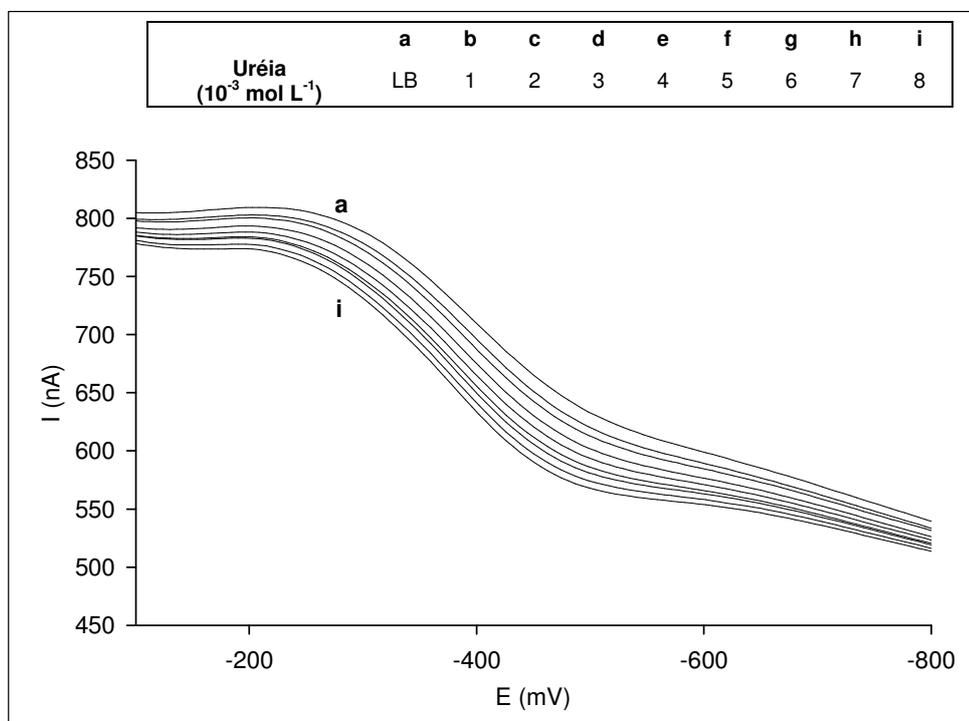


Figura 25 – Voltamogramas AC da uréia em tampão acetato pH 4,6, ( $E_d = -0,1$  V,  $t_d = 5$  s,  $f = 60$  Hz,  $\varphi = 90^\circ$ ).

Os voltamogramas AC das figuras 17 a 19 mostram que tanto o ligante SVRS quanto seus complexos Al(III)-SVRS e Fe(III)-SVRS adsorvem-se na superfície do eletrodo de mercúrio. Este efeito foi observado em toda a faixa de potencial utilizada, pela diminuição da corrente basal com o aumento da concentração das espécies investigadas.

Os voltamogramas AC das figuras 20 e 21 mostram que tanto amostras artificiais de fluido pós-hemodiálise contendo misturas de ácidos oxálico, úrico, creatinina e uréia quanto amostras reais de fluido pós-hemodiálise adsorvem-se na superfície do eletrodo de mercúrio. Este efeito foi observado em toda a faixa de potenciais utilizada pela diminuição da corrente basal com o aumento da concentração das espécies investigadas. Assim a redução dos complexos Al(III)-SVRS e Fe(III)-SVRS na presença destas espécies fica comprometida.

A análise dos voltamogramas AC das figuras 22, 24 e 25 mostra que as espécies orgânicas: ácido úrico, creatinina e uréia também se adsorvem na superfície do eletrodo de mercúrio na faixa de potencial investigada. Este efeito foi observado pela diminuição da corrente basal com o aumento da concentração destas espécies.

Porém, na figura 23, pode-se observar que a adsorção do ácido oxálico na superfície do eletrodo ocorre somente após o potencial de redução do SVRS (- 0,25 V) não interferindo na reação deste com o eletrodo. Na faixa de potencial de - 0,1 a - 0,3 V o ácido oxálico não se adsorve na superfície do eletrodo, permanecendo em solução. Observa-se que na medida em que a concentração do ácido oxálico aumenta, ocorre um aumento da corrente basal. A adsorção começa a ocorrer a partir de - 0,3 V estendendo-se até - 0,8 V, assim a adsorção do ácido oxálico também interfere na redissolução dos complexos Al(III)-SVRS e Fe(III)-SVRS.

As medidas AC foram demonstraram que ocorre uma competição entre as espécies orgânicas presentes no fluido e os complexos formados pela superfície do eletrodo, impedindo a determinação direta de Al(III) e Fe(III) em fluidos pós-hemodiálise por AdCSV.

Analisando estes resultados, juntamente com aqueles apresentados em 4.3.1 conclui-se que é necessário realizar uma etapa de pré-tratamento das amostras de fluido pós-hemodiálise antes da determinação voltamétrica direta de Al(III) e Fe(III).

#### 4.4 Decomposição das amostras de fluido pós-hemodiálise utilizando a radiação UV

As condições utilizadas no processo de foto-decomposição UV dependem do metal que será determinado, da matriz e da técnica de detecção.

Neste trabalho, a eficiência da radiação UV na decomposição de amostras de fluido pós-hemodiálise foi testada a partir de ensaios de recuperação em amostras artificiais fortificadas com diferentes concentrações de cada metal ( $20$  a  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ ). A amostra artificial de fluido pós-hemodiálise contém ácido úrico, oxálico, creatinina e uréia numa concentração total de  $4 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ .

Além disso, comparou-se o perfil dos voltamogramas obtidos em amostras reais de fluido pós-hemodiálise com o perfil do voltamograma obtido em água para a verificação da eliminação ou não dos interferentes presentes nas amostras investigadas.

Primeiramente, investigou-se a ação direta da radiação UV sobre as amostras reais de fluido pós-hemodiálise. A ação direta da radiação UV sobre o fluido é bastante provável, o que é demonstrado pela comparação dos espectros de amostras reais com o da lâmpada de mercúrio (figura 26).

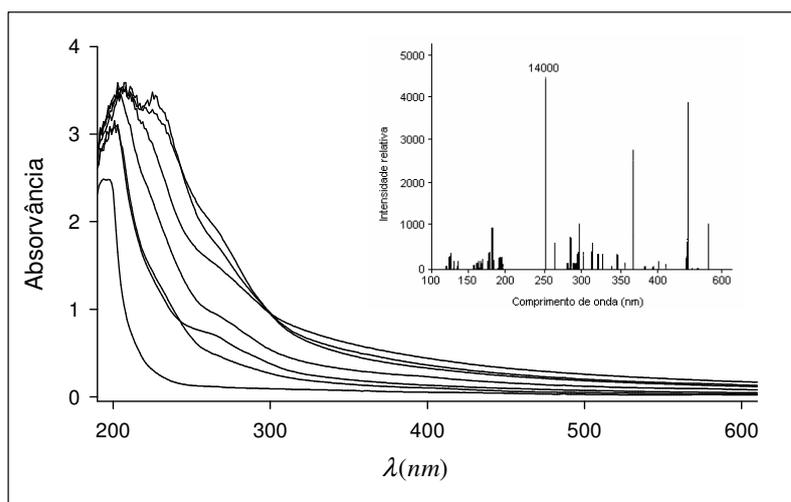


Figura 26 – Espectro de absorção molecular de 7 amostras de fluido pós-hemodiálise.

Observa-se, na figura 26, que as amostras de fluido pós-hemodiálise absorvem na mesma região da emissão da lâmpada de mercúrio.

Porém, a irradiação com luz UV por 1, 2, 4, 6 e 8 horas na ausência de oxidantes não foi o suficiente para decompor totalmente as amostras de fluido pós-hemodiálise. Os resultados evidenciaram a digestão incompleta das amostras ou a provável presença de subprodutos que interferiram nas medidas voltamétricas.

Com base nestes resultados, foram avaliados parâmetros que podem aumentar ou acelerar a eficiência da radiação UV tais como pH, diluição da amostra, tempo de irradiação UV e adição de ácidos minerais e  $H_2O_2$ . Todas as amostras foram irradiadas a  $90\text{ }^\circ\text{C}$  ( $\pm 3\text{ }^\circ\text{C}$ ).

#### 4.4.1 Efeito do pH

Ácido úrico, uréia, creatinina são compostos orgânicos que apresentam nitrogênio. Investigações realizadas em amostras artificiais que contêm nitrogênio indicaram que o pH do meio foi o fator decisivo na eficiência da irradiação UV. Muitos destes compostos foram decompostos em solução com pH de 7 a 9, enquanto que a uréia foi decomposta em uma faixa de pH de 4 a 6 (GUSTAFSSON, 1984).

No presente trabalho, a digestão com radiação UV em amostras de fluido pós-hemodiálise utilizando uma faixa de pH de 4 a 9 não foi atingida, mesmo com a adição  $H_2O_2$ , a diluição de 1:10 da amostra e o tempo de irradiação de 8 horas. Não foi possível detectar os analitos nas amostras artificiais e o valor de corrente de linha base nas amostras reais de fluido pós-hemodiálise ficou muito alto, em torno de 45 nA. Neste caso, deve-se levar em consideração a presença das outras espécies orgânicas constituintes dos fluidos pós-hemodiálise (por exemplo, o ácido oxálico) que podem interferir no processo de formação de nitratos e nitritos durante a fotodecomposição da amostra.

Somente foi possível detectar Al(III) e Fe(III) em amostras que foram decompostas em pH 2, diluídas 1:1, adicionadas de ácido HCl e  $H_2O_2$ .

#### 4.4.2 Efeito da diluição do fluido pós-hemodiálise

A concentração da amostra pode influenciar a eficiência do pré-tratamento, ou seja, concentrações diferentes da mesma amostra submetidas as mesmas condições, podem não apresentar a mesma eficiência (GOLIMOWSKI, 1994). No caso de amostras de fluido pós-hemodiálise, por exemplo, espera-se que em amostras diluídas a digestão seja mais eficiente porque o conteúdo orgânico é menor.

A digestão com radiação UV em amostras de fluido pós-hemodiálise sem diluição não foi atingida, mesmo com a adição de ácidos e/ou  $H_2O_2$  e o uso de tempos de irradiação de até 8 horas. Os voltamogramas obtidos, após a etapa de irradiação UV, forneceram correntes bem maiores (próximas a 20 nA) do que àquelas obtidas em água (0 nA). Além disso, não foi possível detectar a presença dos analitos nas amostras fortificadas. Possivelmente, a presença de compostos orgânicos em concentração elevada levou a digestão parcial ou formação de subprodutos que se adsorveram na superfície do eletrodo de mercúrio, elevando a linha base, e impedindo a determinação voltamétrica de Al(III) e Fe(III).

Assim, foram investigadas diferentes proporções de diluição da amostra em água (1:1, 1:5, 1:10 e 1:100). Observou-se que com uma diluição de 1:1, após a adição de ácidos e  $H_2O_2$ , foi possível detectar Al(III) e Fe(III) nas amostras investigadas e os valores de recuperação encontrados mantiveram-se em torno de 85 a 115%. Também se pôde observar que os valores de corrente de linha base obtidos aproximaram-se aos valores de corrente obtidos em água.

#### 4.4.3 Efeito do tempo de irradiação UV

O tempo de irradiação da amostra pode influenciar a eficiência da digestão, pois dependendo da matriz da amostra, esta requer tempos maiores de irradiação para sua completa degradação (GOLIMOWSKI, 1994 e KOLB, 1992).

A irradiação com luz UV foi investigada por 1, 2, 4, 6, e 8 horas em amostras artificiais e reais de fluido pós-hemodiálise. Os tempos utilizados foram avaliados na presença e na ausência de ácidos e  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

Verificou-se que mesmo utilizando 8 horas de irradiação UV (na ausência de ácidos e/ ou  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e a diluição 1:10, não foi possível decompor totalmente as amostras de fluido pós-hemodiálise. Os valores de recuperação obtidos ficaram próximos a 70%, possivelmente devido à formação de produtos de decomposição da amostra.

Porém, a irradiação com luz UV por 2 horas, juntamente com a adição de HCl ( $2,4 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ ) e de  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $6,86 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) foi suficiente para eliminar a interferência matricial nas amostras artificiais contaminadas com os analitos, pois os valores de recuperação mantiveram-se em torno de 100% tanto para o Al(III) quanto para o Fe(III).

Além disso, quando amostras reais de fluido pós-hemodiálise foram irradiadas por 2 horas, utilizando as mesmas condições anteriores, os valores de corrente de linha base aproximaram-se aos valores de corrente obtidos em água.

Para tempos de 2 e 4 horas de irradiação, houve pouca variação em relação aos valores de recuperação obtidos para os dois metais, que mantiveram-se em torno de 100%. Porém, para tempos maiores que 4 horas, os valores de recuperação encontrados ficaram próximos a 60%, possivelmente devido a formação de produtos de decomposição dos compostos orgânicos, os quais podem interferir, também, na determinação voltamétrica. Isto sugere que uma digestão parcial da amostra foi alcançada devido à presença destas espécies.

Com estes resultados, constatou-se que pouco resolve aumentar somente o tempo de irradiação. Outros fatores devem ser investigados paralelamente, como adição de oxidantes.

#### 4.4.4 Influência da adição de peróxido e ácidos

A adição de  $\text{H}_2\text{O}_2$  aumenta a eficiência da foto-decomposição por radiação UV devido à formação de radicais  $\text{HO}\cdot$  em maior concentração e sua subsequente reação de degradação com a matéria orgânica. Além disso, a degradação indireta

de substâncias orgânicas por um mecanismo radicalar é muito acelerada se o processo é realizado a 90 °C (KOLB, 1992). Apenas nestas temperaturas forma-se uma concentração suficientemente alta de radicais HO• no meio. Aliado a isso, a acidificação (pH 2) de amostras contendo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> também melhora a eficiência, pois dissocia os complexos orgânicos lábeis de metais (KOLB, 1992; ACHTERBERG, 1994 e SAUER, 1992).

Assim, testou-se a adição de 50 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (6,86.10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>) no início da irradiação sem a adição de ácidos para a obtenção de uma melhor eficiência na digestão UV. Para tempos maiores que 2 horas de irradiação foram realizadas sucessivas adições de 50 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a cada 30 min.

Não foi possível detectar Al(III) e Fe(III) em amostras artificiais de fluido pós-hemodiálise somente com a adição de 50 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (sem a irradiação UV). Além disso, em amostras reais, os valores de corrente de linha base sempre foram superiores aos do eletrólito suporte.

Assim, para aumentar o poder oxidante do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, foram realizadas adições de 100 µL (13,72.10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>) no início da irradiação e, para tempos maiores que 2 horas de irradiação foram realizadas sucessivas adições de 100 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a cada 30 min. Pôde-se observar que, mesmo com o aumento da concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e uma diluição de 1:10, não houve uma diferença significativa nos valores de recuperação obtidos. Segundo Golimowiski (1996) o aumento na concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> não melhorou a eficiência da digestão com irradiação UV em amostras de água.

Além disso, deve-se tomar o cuidado para que o excesso de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> não provoque uma significativa diminuição no desempenho do processo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV, devido à competição do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que age “capturando” radicais reativos hidroxila para formar um radical menos reativo, o HO<sub>2</sub>• (ARAÚJO, 2006). A reação (51) mostra a reação paralela que pode ocorrer quando o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> encontra-se em excesso:



Os resultados encontrados demonstraram a ineficiência da fotodecomposição das amostras com o uso de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sem a adição de ácidos.

Assim, a eficiência da digestão foi investigada na presença de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 20 µL de cada ácido investigado (HCl, HNO<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

Quando as amostras reais foram acidificadas com  $\text{HNO}_3$ , os voltamogramas apresentaram valores de corrente da linha base superiores ao valor de corrente obtido em água. Mesmo após a adição de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (50 e 100  $\mu\text{L}$ ), uma diluição de 1:10 e um tempo de irradiação de 8 horas; o que evidenciou uma digestão incompleta das amostras por radiação UV. Além disso, em amostras artificiais de fluido pós-hemodiálise, não foi possível detectar os analitos. Apesar do  $\text{HNO}_3$  fornecer radicais  $\text{HO}\cdot$  que melhoram a eficiência da radiação UV (GOLIMOWSKI, 1996), altas concentrações de nitrato são parcialmente convertidas a nitrito, devido a ação da irradiação UV. Esta espécie é voltametricamente ativa e pode, em excesso, mascarar os sinais de  $\text{Al(III)}$  e  $\text{Fe(III)}$  (COATES, 1962; DIN-NORM, 1990 e ISO-NORM 5667/3, 1985 apud KOLB, 1992).

Quando as amostras reais foram acidificadas com  $\text{HCl}$  ou  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , após a adição de 50  $\mu\text{L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $6,86 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ), uma diluição de 1:1 e um tempo de irradiação de 2 horas, os voltamogramas obtidos, forneceram correntes muito semelhantes àsquelas obtidas em água, indicando a eliminação matricial após a aplicação da radiação UV na amostra.

Nas amostras artificiais acidificadas com  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , os valores de recuperação obtidos para os metais ficaram em torno de 80%. Quando estas amostras foram acidificadas com  $\text{HCl}$  os valores de recuperação variaram de 89 a 110%, assim o ácido escolhido para os próximos ensaios foi o  $\text{HCl}$ .

#### **4.5 Aplicação do método desenvolvido**

A investigação sobre o efeito dos fatores descritos acima no pré-tratamento com irradiação UV, possibilitou a determinação das condições ótimas para a digestão de amostras de fluido pós-hemodiálise. Destes resultados, a irradiação UV de amostras diluídas (1:1) durante 2 horas, com adição de  $\text{HCl}$  ( $2,4 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ ) concentrado e de  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $6,86 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) no início do processo, foi escolhida como a melhor condição para a decomposição da amostra.

Assim, amostras reais de fluido pós-hemodiálise de 36 pacientes renais foram coletadas conforme descrito no item 3.8 e submetidas à digestão UV utilizando as condições descritas acima.

Após a realização do pré-tratamento das amostras, as concentrações de Al(III) e Fe(III) foram simultaneamente determinadas por AdCSV, onde os resultados apresentaram boa reprodutibilidade com desvios (% RSD) entre 0,2 e 10,8%. Os limites de detecção de  $1,4 \mu\text{g L}^{-1}$ , para o Al(III) e  $1,8 \mu\text{g L}^{-1}$  para o Fe(III) foram calculados de acordo com  $(B + 3\sigma_B)$ . Pode-se observar que estes valores estão próximos daqueles apresentados em 4.1.2, os quais são os limite de detecção para o Al(III):  $1,1 \mu\text{g L}^{-1}$  e para o Fe(III)  $1,5 \mu\text{g L}^{-1}$  obtidos em água, confirmando a aplicabilidade do método.

Para avaliar a eficiência do pré-tratamento com irradiação UV, as amostras de fluido pós-hemodiálise foram fortificadas com Al(III) e Fe(III). A tabela 7 mostra a determinação dos metais por AdCSV após a irradiação das amostras aplicando a digestão UV otimizada.

**Tabela 7 – Determinação de Al(III) e Fe(III) por AdCSV, após a digestão com irradiação UV (n = 3).**

| Amostra | Conc. encontrada [ $\mu\text{g L}^{-1}$ ] |         | Conc. adicionada [ $\mu\text{g L}^{-1}$ ] |         | Recuperação (%) |         |
|---------|---|---------|---|---------|-----------------|---------|
|         | Al(III)                                   | Fe(III) | Al(III)                                   | Fe(III) | Al(III)         | Fe(III) |
| 1       | 2,6                                       | 11,3    | 20,0                                      | 5,0     | 92,2            | 96,0    |
| 2       | 9,7                                       | 3,2     | 10,0                                      | 20,0    | 103,7           | 99,8    |
| 3       | 14,7                                      | 20,3    | 10,0                                      | 5,0     | 100,2           | 94,6    |
| 4       | 31,1                                      | 7,4     | 5,0                                       | 10,0    | 97,3            | 106,3   |
| 5       | 36,2                                      | 12,6    | 5,0                                       | 10,0    | 102,7           | 99,8    |
| 6       | 2,5                                       | 17,9    | 20,0                                      | 5,0     | 88,1            | 95,5    |
| 7       | < 1,4                                     | 15,9    | 20,0                                      | 5,0     | 89,4            | 102,9   |
| 8       | 1,4                                       | 16,5    | 20,0                                      | 5,0     | 88,8            | 90,2    |
| 9       | < 1,4                                     | 15,3    | 20,0                                      | 5,0     | 95,5            | 91,3    |
| 10      | < 1,4                                     | 15,4    | 20,0                                      | 5,0     | 95,6            | 89,4    |
| 11      | < 1,4                                     | 12,6    | 20,0                                      | 20,0    | 104,2           | 105,9   |
| 12      | 36,0                                      | < 1,8   | 5,0                                       | 20,0    | 98,3            | 100,8   |
| 13      | 3,5                                       | < 1,8   | 20,0                                      | 20,0    | 96,6            | 104,7   |
| 14      | < 1,4                                     | < 1,8   | 20,0                                      | 20,0    | 88,3            | 89,4    |
| 15      | < 1,4                                     | < 1,8   | 20,0                                      | 20,0    | 100,8           | 88,8    |
| 16      | < 1,4                                     | < 1,8   | 20,0                                      | 20,0    | 102,9           | 99,2    |
| 17      | < 1,4                                     | < 1,8   | 20,0                                      | 20,0    | 95,0            | 90,9    |
| 18      | < 1,4                                     | < 1,8   | 20,0                                      | 20,0    | 96,9            | 91,0    |
| 19      | < 1,4                                     | < 1,8   | 20,0                                      | 20,0    | 106,7           | 89,7    |
| 20      | < 1,4                                     | < 1,8   | 20,0                                      | 20,0    | 103,0           | 105,6   |
| 21      | < 1,4                                     | < 1,8   | 20,0                                      | 20,0    | 103,0           | 103,1   |
| 22      | < 1,4                                     | < 1,8   | 20,0                                      | 20,0    | 102,9           | 91,9    |
| 23      | < 1,4                                     | < 1,8   | 20,0                                      | 20,0    | 93,9            | 88,5    |
| 24      | 17,6                                      | < 1,8   | 5,0                                       | 20,0    | 96,3            | 104,7   |
| 25      | 5,5                                       | 37,2    | 20,0                                      | 5,0     | 102,3           | 95,3    |
| 26      | 9,8                                       | 46,8    | 10,0                                      | 5,0     | 100,2           | 103,2   |
| 27      | < 1,4                                     | 23,0    | 20,0                                      | 5,0     | 99,5            | 97,7    |
| 28      | 3,7                                       | 6,8     | 20,0                                      | 10,0    | 90,7            | 97,0    |
| 29      | < 1,4                                     | 8,4     | 20,0                                      | 10,0    | 91,6            | 94,7    |
| 30      | 2,4                                       | 7,1     | 20,0                                      | 10,0    | 105,4           | 101,0   |
| 31      | 2,8                                       | 4,8     | 20,0                                      | 10,0    | 100,8           | 102,8   |
| 32      | 3,8                                       | 14,7    | 20,0                                      | 5,0     | 96,4            | 95,1    |
| 33      | 5,9                                       | 8,1     | 20,0                                      | 10,0    | 97,7            | 95,0    |
| 34      | 6,6                                       | 9,3     | 5,0                                       | 5,0     | 95,3            | 104,6   |
| 35      | 1,6                                       | 3,5     | 20,0                                      | 20,0    | 96,5            | 100,0   |
| 36      | 88,3                                      | 51,9    | 5,0                                       | 5,0     | 105,3           | 103,5   |

Observa-se, na tabela 7, que os valores de concentração de Al(III) e Fe(III) encontrados variam de uma amostra para outra, aos quais podem estar relacionados a diversos fatores:

1) A presença de Al(III) e Fe(III) nos fluidos pós-hemodiálise deve-se a passagem destas espécies pela membrana do dialisador no processo da hemodiálise. A quantidade encontrada destas espécies pode estar relacionada à

contaminação das amostras pelo contato com as partes metálicas do sistema de osmose reversa, assim como podem ter sido, em parte, excretados durante a sessão de hemodiálise, resultado de fontes externas de contaminação aos pacientes renais (JOST, 2005).

2) Medicamentos (veículos e excipientes), a ingestão de erva mate, sucos artificiais, refrigerantes e verduras folhosas colaboram como maior fonte de contaminação por Al(III) aos pacientes renais (BERTAGNOLLI, 2004).

3) Observando a composição das amostras de fluido pós-hemodiálise, verifica-se que a concentração de ácido úrico, oxálico, creatinina e uréia, variam consideravelmente de uma amostra para outra. Este fato, associado aos inúmeros equilíbrios existentes no meio e os diversos fatores que afetam estes, torna as amostras bastante complexas, assim outros componentes dos fluidos pós-hemodiálise podem interagir em alguma extensão com o Al(III) e o Fe(III).

As recuperações exibidas na tabela 7 para os metais adicionados mostram a eficiência da digestão UV para eliminar a interferência da matriz assim como liberar os analitos para a determinação por AdCSV.

#### **4.6 Determinação de Al(III) e Fe(III) na presença do desferal**

A desferroxamina é uma droga amplamente utilizada em pacientes intoxicados por Fe(III), desde 1960 e vem sendo usada, desde 1980 (ACKRILL, 1980) no tratamento de sobrecarga de Al(III) em pacientes portadores de insuficiência renal terminal.

Como os complexos formados (Al(III)-DFO e Fe(III)-DFO) são dialisáveis, e poderão estar presentes em fluidos pós-hemodiálise, é importante investigar o método proposto na presença da desferroxamina.

Na intoxicação por Fe(III), o DFO deve ser administrado em doses de até 60 mg kg<sup>-1</sup> por dia (CAO, 1992 apud NOVARTIS, 1998), dependendo do grau de sobrecarga de Fe(III). Em pacientes com insuficiência renal intoxicados por Al(III), a

dose do medicamento administrada deve ser de  $5 \text{ mg kg}^{-1}$  nos últimos 60 minutos de uma sessão de hemodiálise, uma vez por semana (De BROE, 1993).

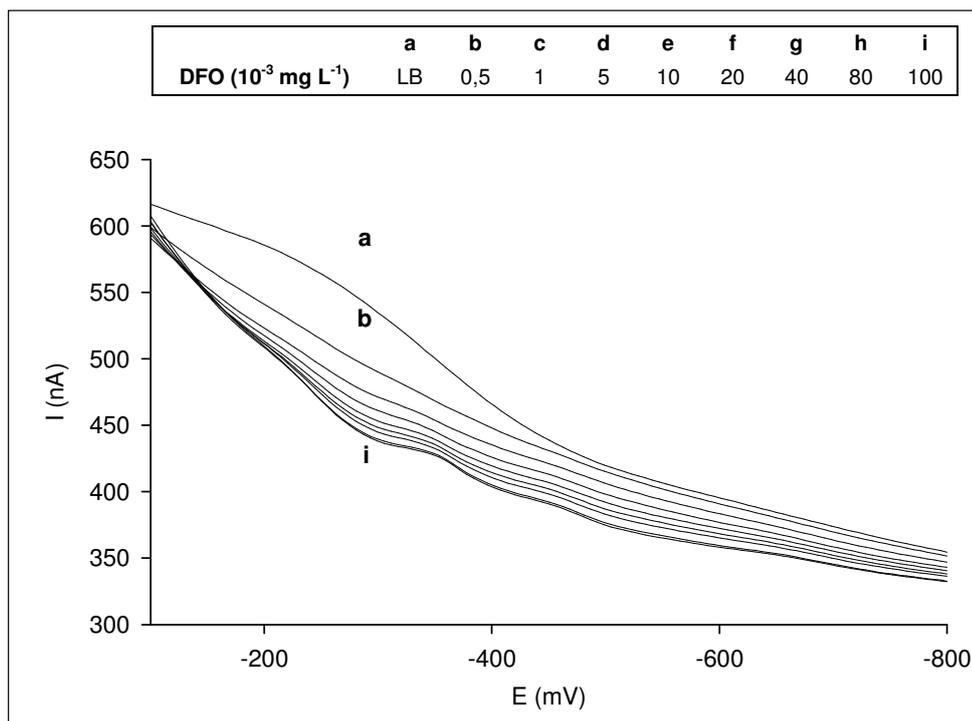
Além de serem encontrados nos fluidos pós-hemodiálise, o DFO e seus complexos com o Al(III) e Fe(III) são excretados na urina e nas fezes (MCCARTHY, 1987). Assim a concentração destas espécies pode variar bastante nestas matrizes.

Na realização dos próximos ensaios, utilizou-se a concentração de  $100 \text{ mg L}^{-1}$  de DFO, para garantir um excesso molar do agente quelante em relação as concentrações dos dois metais ( $30 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  de cada espécie).

Primeiramente, foram realizados ensaios de recuperação de Al(III) e Fe(III) em soluções aquosas na presença do DFO e notou-se que não foi possível a determinação voltamétrica dos analitos utilizando o método proposto, pois não houve o aparecimento do sinal de seus complexos com o SVRS. Os complexos entre os analitos com o DFO são muito mais estáveis do que seus complexos com o SVRS, assim não ocorre a formação dos complexos Al(III)-SVRS e Fe(III)-SVRS.

O DFO pode também interferir na determinação dos analitos pela sua adsorção no eletrodo de mercúrio, inibindo a deposição dos complexos formados ou o processo de redissolução. Assim, foram feitas medidas tensamétricas para investigar o comportamento adsorptivo do DFO no HMDE.

As medidas tensamétricas foram realizadas de acordo com os parâmetros descritos em 3.6 Os voltamogramas AC ilustrados na figura 27 mostram o comportamento do DFO.



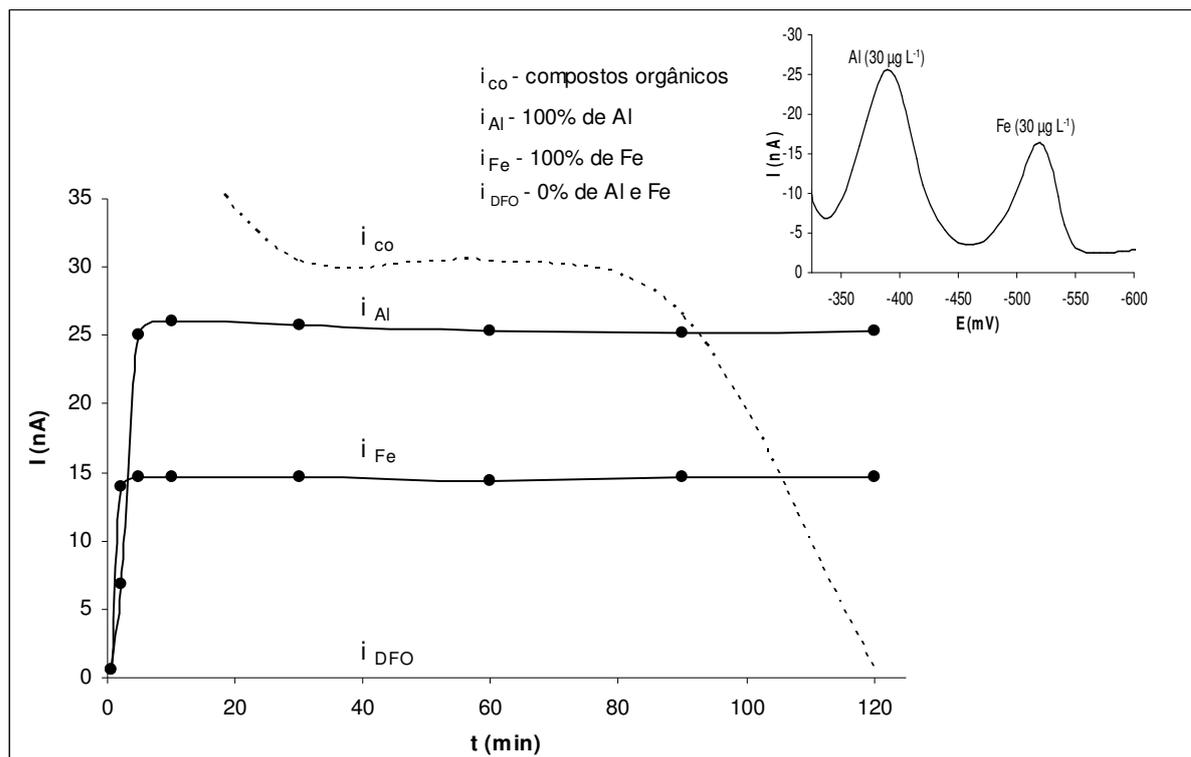
**Figura 27 – Voltamogramas AC do DFO em tampão acetato pH 4,6, ( $E_d = -0,1 \text{ V}$ ,  $t_d = 5 \text{ s}$ ,  $f = 60 \text{ Hz}$ ,  $\varphi = 90^\circ$ ).**

Os voltamogramas AC da figura 27 mostram que o DFO adsorve-se na superfície do eletrodo de mercúrio. Este efeito foi observado em toda a faixa de potenciais utilizada, pela diminuição da corrente com o aumento da concentração das espécies investigadas.

De acordo com os resultados obtidos, investigou-se o uso da irradiação UV para tentar destruir os complexos formados com o DFO e deixar, desta forma, o analitos disponíveis para a formação de seus complexos com o SVRS.

O uso da radiação UV foi investigado considerando a influência da desferroxamina em soluções aquosas e em amostras artificiais de fluido pós-hemodiálise previamente contaminadas com os analitos. Tais amostras foram irradiadas em diferentes tempos, utilizando os parâmetros descritos em 3.7.

O tempo de irradiação necessário para libertar o Al(III) e o Fe(III) de seus complexos com o DFO pode ser observado através do gráfico mostrado na figura 28, que ilustra os valores de recuperação dos analitos em água e em amostras artificiais de fluido pós-hemodiálise na presença do DFO.



**Figura 28 – Efeito do tempo de irradiação na determinação de Al(III) e Fe(III), considerando a influência do DFO, na ausência e na presença de interferentes orgânicos (DFO = 100 mg L<sup>-1</sup>; SVRS = 5 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup>; Al(III) e Fe(III) = 30 µg L<sup>-1</sup>).**

Observa-se, na figura 28, que os valores de corrente de pico para os complexos de Al(III) e Fe(III) com o SVRS, na ausência de espécies interferentes, são de 25 e 15 nA, respectivamente, os quais correspondem a 100% de recuperação dos analitos.

Na presença do DFO não há o aparecimento dos picos correspondentes aos complexos e na presença dos fluidos pós-hemodiálise há um valor de corrente de linha base muito alto (maior que 30 nA), o que impede a determinação direta dos metais.

Quando as amostras são irradiadas, 5 minutos são suficientes para liberar o Al(III) e o Fe(III) de seus complexos com o DFO, apesar das altas constantes de estabilidade destes complexos, evitando assim a interferência do DFO na formação dos complexos dos analitos com o SVRS. Porém, para a eliminação dos compostos orgânicos presentes nos fluidos pós-hemodiálise são necessárias 2 horas de irradiação.

A partir destes resultados, escolheu-se o tempo de 2 horas de irradiação para a determinação de Al(III) e Fe(III) por AdCSV em fluidos pós-hemodiálise de pacientes submetidos ou não ao tratamento com o desferal.

#### 4.7 Método de comparação

Como não há material de referência para a determinação de Al(III) e Fe(III) em fluidos pós-hemodiálise, o método proposto neste trabalho foi comparado frente aos métodos de espectrometria de absorção atômica (AAS) e espectrofotometria de absorção molecular (MAS), para a determinação de Al(III) e Fe(III), respectivamente.

Não foi possível detectar o Fe(III) nas amostras analisadas por AAS, mesmo após o pré-tratamento com irradiação UV. A impossibilidade de medir o Fe(III), ocorreu, possivelmente, devido à presença das espécies inorgânicas que compõem os fluidos pós-hemodiálise, pois a radiação UV destrói somente os componentes orgânicos da matriz. As espécies inorgânicas causam interferências que estão associadas ao espalhamento da luz e ao background de absorção molecular (WELZ, 1985).

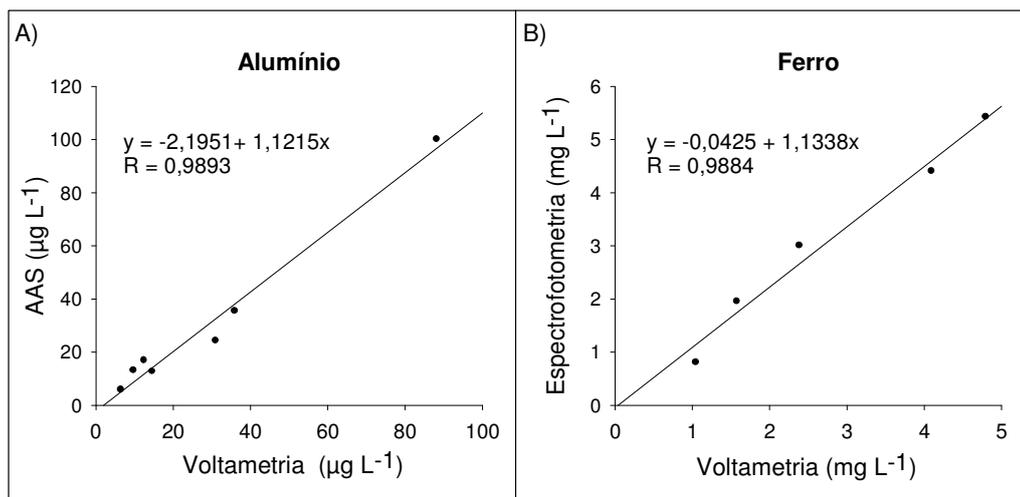
Desta forma, optou-se por utilizar o método de EAM para analisar o Fe(III) nas amostras de fluido pós-hemodiálise.

Todas as amostras foram conforme descrito no item 3.8.

Quando a presença do Al(III) foi investigada, as amostras foram analisadas comparativamente por AdCSV e AAS.

Quando investigou-se a presença do Fe(III), as amostras foram analisadas comparativamente por AdCSV e MAS, porém a adição dos analitos foi necessária, uma vez que, para as medidas por MAS todas as amostras apresentaram concentrações de Fe(III) inferiores ao limite de detecção do método.

A figura 29 mostra os parâmetros de regressão, assim como os coeficientes angulares e lineares relativos a cada analito. Observa-se, que, tanto para a determinação de Al(III), quanto de Fe(III), os métodos apresentaram resultados similares.



**Figura 29 – A) Correlação linear para Al(III) determinada com o método proposto e AAS em amostras de fluido pós-hemodiálise (n = 3). B) Correlação linear para Fe(III) determinada com o método proposto e MAS em amostras de fluido pós-hemodiálise (n = 3).**

Com estes resultados, os objetivos principais foram alcançados: verificar a presença de Al(III) e Fe(III) em fluidos pós-hemodiálise e investigar a utilização de um pré-tratamento da amostra que, posteriormente, permitisse a aplicação da voltametria na determinação destes metais.

## 5 CONCLUSÕES

Numa primeira etapa deste trabalho, investigou-se a possibilidade de determinar Al(III) e Fe(III) diretamente em amostras de fluidos pós-hemodiálise por AdCSV. Verificou-se que as espécies inorgânicas presentes no fluido pós-hemodiálise não interferem na determinação de Al(III) e Fe(III). Este fato pôde ser observado através de ensaios de recuperação realizados em soluções de diálise fortificadas artificialmente com os analitos, onde os percentuais de recuperação situaram-se entre 95 a 110%.

Porém, as principais espécies orgânicas constituintes dos fluidos pós-hemodiálise (ácidos úrico e oxálico, uréia e creatinina) impediram a determinação dos analitos por AdCSV na presença do ligante SVRS. Nesta etapa do trabalho, através de medidas espectrofotométricas, pôde-se verificar a formação de complexos entre as espécies orgânicas com o Al(III) e com o Fe(III). Além disso, medidas realizadas por AC, mostraram que estas espécies também interferiram na determinação de Al(III) e Fe(III) através de sua adsorção na superfície do eletrodo.

Verificou-se também, que o desferal interfere na determinação de Al(III) e Fe(III) por AdCSV, tanto pela formação de complexos com os analitos, quanto pela sua adsorção na superfície do HMDE.

Foi necessário utilizar um pré-tratamento para eliminar estas interferências. Utilizou-se a irradiação UV para decompor os componentes orgânicos, permitindo assim a determinação simultânea de Al(III) e Fe(III) por voltametria em fluidos pós-hemodiálise. A melhor condição para a decomposição da amostra foi obtida por irradiação UV de amostras diluídas (1:1) durante 2 horas, com adição de 20  $\mu\text{L}$  de HCl concentrado e 50  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% (v/v) no início do processo.

O uso da irradiação UV, em relação a outros métodos de pré-tratamento, faz com que se tenha uma redução dos reagentes, proporcionando benefícios como diminuição da geração de resíduos e redução do custo de análise.

As amostras analisadas apresentaram contaminação pelos analitos na faixa de 1,6 a 88,3  $\mu\text{g L}^{-1}$  para o Al(III) e de 3,2 a 51,9  $\mu\text{g L}^{-1}$  para o Fe(III). Os ensaios realizados mostraram que e os percentuais de recuperação em amostras contaminadas ficaram próximos a 100%. Ademais, os limites de detecção calculados

de  $1,4 \mu\text{g L}^{-1}$  para o Al(III) e  $1,8 \mu\text{g L}^{-1}$  para o Fe(III) em fluidos pós-hemodiálise demonstram a aplicabilidade do método para determinação dos analitos nesta matriz.

O acompanhamento dos níveis de alumínio e ferro nos pacientes com insuficiência renal permite avaliar a intoxicação por alumínio e, também a anemia, comumente diagnosticada nestes pacientes. O método apresentado pode ser uma alternativa para o monitoramento de Al(III) e Fe(III). O acompanhamento periódico pode ser feito diretamente nas amostras de fluido pós-hemodiálise, sem que sejam necessárias coletas de amostra de sangue do paciente.

## 6 REFERÊNCIAS

ACEBAL, S.A.; REBELLO, A. L. Studies on the voltammetric behavior of lead in estuarine waters. **Anal. Chim. Acta**, v. 148, p. 71, 1983.

ACHERBERG, E. P.; BRAUNGARDT, C. B.; SANDFORD, R. C.; WORSFOLD, P. J. UV digestion of seawater samples prior to the determination of copper using flow injection with chemiluminescence detection. *Anal. Chim. Acta*, v. 440, p. 27, 2001.

ACHERBERG, E. P.; VAN DEN BERG, C. M. G. In-line UV-digestion of natural water samples for trace metal determination using an automated voltammetric system. **Anal. Chim. Acta**, v. 291, p. 213, 1994.

ACKRILL, P.; et al. Successful removal of aluminum from patient with dialysis encephalopathy. **Lancet**, v. 2, p. 692, 1980.

AGUER, J. P.; RICHARD, C.; ANDREUX, F. Effect of light on humic substances: production of reactive species. **Analysis**, v. 27, p. 387, 1999.

AIROLDI, C.; GUSHIKEM, Y.; ESPÍNOLA, J. G. P. Adsorption of divalent cations on the silica gel surface modified with N-2-aminoethyl-3-aminopropyl groups. **Colloids Surf.**, v. 15, p. 317, 1986.

ALFREY, A. C. Aluminium intoxication. **N. Engl. J. Med.**, v. 310, p.1113, 1984.

ALFREY, A. C. Dialysis encephalopathy syndrome. **Annu. Rev. Med.**, v. 29, p. 93, 1978.

ALFREY, A. C.; HEGG, A.; CRASWELL, P. Metabolism and toxicity of aluminum in renal failure. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 33, p.1509, 1980.

ANANE, R.; et. al. Bioaccumulation of water soluble aluminium chloride in the hippocampus after transdermal uptake in mice. **Arch. Toxicol.**, v. 69, .568, 1995.

ANDREOLI, S. P.; BERGSTEIN, J. M.; SHERRARD, D. J. Aluminum intoxication from aluminum-containing phosphate binders in children with azotemia not undergoing dialysis. **N. Engl. J. Med.**, v. 310, p.1079, 1984.

ANVISA, Resolução RDC nº. 154, de 15 de Junho de 2004. Diário Oficial da União: Poder Executivo, de 17 de Junho de 2004.

ARAÚJO, F. V. F.; YOKOYAMA, L. Remoção de cor em soluções de corantes reativos por oxidação com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV. **Química Nova**, v. 29, p.11, 2006.

ARMSTRONG, F. A. J.; WILLIAMS, P. M.; STRICKLAND, J. D. H. Photo-oxidation of Organic Matter in Sea Water by Ultra-violet Radiation, Analytical and Other Applications. **Nature**, v. 211, p. 481, 1966.

ATWOOD, D. A.; YEARWOOD, B. C. The future of aluminum chemistry. **J. Organometallic Chem.**, v. 600, p. 186, 2000.

BAREK, J. et al. Polarography and voltammetry at mercury electrodes. **Crit. Rev. Anal. Chem.**, v. 31, p. 291, 2001.

BANNER Jr., W.; WOOLF, A. D. **Deferoxamine: antidotes for poisonin by metals and metalloids**. Edited by Nicola Bates MSc, MA: National Poisons Information Service (London Centre), UK, 2004.

BATLEY, G.E., FARRAR, Y. J.; Irradiation techniques for the release of bound heavy metals in natural waters and blood, **Anal Chim Acta**, v. 99, p. 283, 1978.

BAXTER, R. M., CAREY, J. H. Evidence for photochemical generation of superoxide ion in humic waters **Nature**, v. 306, p. 575, 1983.

BERGER, H., MEYEBERG, F., DANNECKER, W. Effects of some typical environmentally relevant matrixes on the trace element analysis by graphite-tube furnace AAS. **Forritte in der Atomspektrometrischen Spurenanalytik**, v. 2, p. 607, 1986.

BERTAGNOLLI, D. Avaliação da intoxicação por alumínio na dieta alimentar e medicamentos de pacientes com insuficiência renal crônica. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, Santa Maria, 2004.

BIRCH, N.; BERTHON, G. **Bioinorganic Chemistry Handbook of Metal-Ligand Interactions in Biological Fluids**. New York : Marcel Dekker, v. 2, p. 773, 1995.

BISHOP, N.; MCGRAW, W. M.; WARD, N. Aluminium in infant formulas. **Lancet**, v.1, p. 140, 1989.

BOHRER, D. Alumínio em diálise – Uma visão analítica. **J. Bras. Nefrol.**, v. 19, p. 426, 1997.

BOHRER, D. et al., P.C. On-line and spectrophotometric determination of low levels of aluminum in high-salt content samples: application to analysis of hemodialysis fluids. **Anal. Chim. Acta**, v. 362, p. 163, 1998.

BOND, A. M. **Modern Polarographic Methods in Analytical Chemistry**, Marcel Dekker: New York, 1980.

BRUNNER, F. P. Kidney transplantation in Primary Oxalosis: data from EDTA. **Registry. Nephrol Dial Transplant.**, v. 5, p. 332, 1990.

CALVOSA, L., MONTEVERDI, A., RINDOME, B., RIVA, G.; Ozone oxidation of compounds resistant to biological degradation, **Wat. Res.**, v. 25, p. 985, 1991.

CARMICHAEL, K. A. Osteomalacia and osteitis fibrosa in a man ingesting aluminum hydroxide antacid. **Am. J. Med.**, v. 76, p. 1137, 1984.

CARVALHO, L. M. et al. Determination of aluminum as contaminant in dialysis concentrates by adsorptive cathodic stripping voltammetry. **Anal. Chim. Acta**, v. 546 p. 79, 2005.

CARVALHO, L. M. et al. Determination of ethylenethiourea (ETU) at traces levels in water Samples by cathodic stripping voltammetry. **Electroanalysis.**, v.16, p. 1508, 2003.

CARVALHO, L. M. et al. Voltammetric Behavior of Amfepramone (Diethylpropion) at the Hanging Mercury Drop Electrode and its Analytical Determination in Pharmaceutical Formulations. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 18, p. 789, 2007.

CAVICCHIOLI, A.; GUTZ, I. G. R. O uso de radiação ultravioleta para o pré-tratamento de amostras em análise inorgânica. **Química Nova**, v. 26, p. 913, 2003.

COATES, E.; RIGG, B. Complex formation—data for Solochrome Violet R. Part 1. Ionization constants. **Trans. Faraday Soc.**, v. 57, p. 1088, 1961.

COATES, E.; RIGG, B. Complex formation Solochrome Violet R. Part 4. Some metal-dye stability constants. **Trans. Faraday Soc.**, v. 58, p. 2058, 1962.

COOPER, W.J. et al. Factors affecting the distribution of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in surface waters. **Adv. Chem. Ser.**, v. 237, p. 391, 1994.

COSCIONE, A. R. Multivariate calibration applied to a highly interfering chemical system. The simultaneous spectrophotometric determination of aluminium and iron in plants using xylenol orange and partial least-squares regression. **Anal. Chim. Acta**, v. 423, p. 31, 2000.

CONSTANTINO, V. R. L.; et. Al. Preparação de compostos de alumínio a partir da bauxita: considerações sobre alguns aspectos envolvidos em um experimento didático. **Química Nova**, v. 25, p. 490, 2002.

DANTAS, A. F. Uso do ácido violeta de alizarina N como reagente espectrofotométrico na determinação de alumínio e cobalto. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal da Bahia, Bahia, 1997.

DANTAS, A. F.; COSTA, A. C. S.; FERREIRA, S. L. C. Uso do violeta de alizarina N (AVN) como reagente espectrofotométrico na determinação de alumínio. **Química Nova**, v. 23, p. 155, 1999.

DAUGIRDAS, J., ING, T.; **Handbook of Dialysis**, 2 ed., Little Brown & Company, Boston, EUA, 1994.

DAY, J. P.; ACKRILL, P. The chemistry of desferrioxamine chelation for aluminum overload in renal patients. **The Drug Monit.**, v. 15, p. 598, 1993.

De BROE, M. E.; DRUEKE, T. B.; RITZ, E. Diagnoses and treatment of aluminium overload in end-stage renal failure patients. **Nephrol. Dial. Transplant**, v. 8, p. 1, 1993.

DUGGAN, J. M.; et al. Aluminium beverage cans as dietary source of aluminium. **Med. J. Aust.**, v. 156, p. 604, 1992.

DUNEMANN, L.; MEINERLING, M.; Comparison of different microwave-based digestion techniques in view of their application to fat-rich foods. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 342, p. 714, 1992.

DUNEMANN, L.; TURFELD, M.; BEGEROW, J. Determination of physiological palladium, platinum, iridium and gold levels in human blood using ICP-MS, **J. Anal. Atom. Spectrom.**, v. 12, p. 1095, 1997.

EL-SAYED, A.Y. Simultaneous determination of aluminium and iron in glasses, phosphate rocks and cement using first and second derivative spectrophotometry. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 355, p. 29, 1996.

EASTERLING, R., SEKERS, K., **American National Standard for Hemodialysis Systems**, AAMI, 1981.

FAGIOLI, F., LOCATELLI, C., GILLI, P. Determination of aluminum in serum by atomic absorption spectrometry with the L'vov platform at different resonance lines **Analyst**, v. 112, p. 1229, 1987.

FARIAS, P. A. M.; TAKASE, I. Cathodic stripping voltammetry of vanadium based on adsorptive accumulation of its solochrome violet RS complex at the static mercury drop electrode. **Electroanalysis**, v. 4, p. 823, 2005.

FELL, G. S.; SHENKIN, A.; HALLS, D. J. Aluminum contamination of intra-venous pharmaceuticals, nutrients, and blood products. **Lancet**, v. 1, p. 380, 1986.

FLORENCE, T. M.; AYLWARD, G. H. Electrochemical studies on eriochrome violet B and its lanthanide complexes. **Aust. J. Chem.**, v. 15, p. 416, 1962.

FLORENCE, T. M., Electrochemical approaches to trace element speciation in waters. **Analyst**, v. 111, p. 489, 1986.

FRIMMEL, F. H. et al. Anwendung der Adsorptionsanalyse auf natürliche organische Wasserinhaltsstoffe. **Vom Wasser**, v. 79, p. 237, 1992.

GARMATZ, J. C. Determinação de metais como contaminantes em formulações de eritropoetina empregando métodos voltamétricos. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, Santa Maria, 2007.

GARCIA, A. Capillary electrophoresis for rapid profiling of organic acidurias, **Clin. Chem.** v. 44, p. 1905, 1998.

GOLIMOWSKI, J.; GOLIMOWSKA, K. UV-photooxidation as pretreatment step in inorganic analysis of environmental samples. **Anal. Chim. Acta**, v. 325, p. 111, 1996.

GOLIMOWSKI, J., TYKARSKA, A.; Voltammetric methods for the determination of heavy metals in domestic waste and compost produced from it. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 349, p. 620, 1994.

GREGER, J.L., SUTHERLAND, J.E.; Aluminum exposure and metabolism. **Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.**, v. 34, p. 439, 1997.

GUSTAFSSON, L. Interferences in the determination of total nitrogen in natural waters by photo-oxidation to nitrate-nitrite mixture. **Talanta.**, v. 31, p. 979, 1984.

GUTZ, I. G. R.; CAVICCHIOLI, A. O uso de radiação ultravioleta para o pré-tratamento de amostras em análise inorgânica, **Química Nova**, v. 26, p. 913, 2003.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1997.

HAAG, W. R.; HOLGNE, J.; Singlet oxygen in surface waters .3. photochemical formation and steady-state concentrations in various types of waters, **Environ. Sci. Technol.**, v. 20, p. 341, 1986.

HALLS, D.J. Faster analysis of biological samples by electrothermal atomization atomic absorption spectrometry. **Anal. Proc.**, v. 25, p. 232, 1988.

HARRIS, D.C. **Química Analítica Quantitativa**, Rio de Janeiro: LTC Editora, 2001.

HARRISON, P. Fluoride in water: a UK perspective. **J. Fluorine Chem.**, v. 126, p. 1448, 2005.

HENRIKSEN, A. Determination of total nitrogen, phosphorus and iron in fresh water by photo-oxidation with ultraviolet radiation. **Analyst**, v. 95 p. 601, 1970.

HENZE, G. **Polarographie und voltammetrie: Grundlagen und analytische Praxis**, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, 2001.

HOLLECK, L.; ABD EL KADER, J. M.; SHAMS EL DIN, A. M. Die polarographische Reduktion von Solochrome Violet RS und der Mechanismus der Komplexbildung mit Aluminium in methanolischer. **J. Electroanal. Chem.**, v. 20, p. 287, 1969.

HSU, C. T. Profiling clinically important metabolites in human urine by an electrochemical system containing disposable electrodes. **Sensor Actuat. B-Chem.**, v. 113, p. 22, 2006.

HUA, C.; JAGNER, D.; RENMAN, L. Constant-current stripping analysis for iron(III) by adsorptive accumulation of its solochrome violet RS complex on a carbon-fibre electrode. **Talanta**, v. 35, p. 597, 1988.

JAGNER, D.; RENMAN, L.; STEFANSDOTTIR, S. H. Determination of iron(III) and titanium(IV) as their solochrome violet RS complexes by constant-current stripping potentiometry. Part 1. Automated single-point calibration method for iron(III). **Anal. Chim. Acta**, v. 281, p. 305, 1993.

JOHNSON, K. E., TREBLE, R. G. Determination of aluminum in human cerebrospinal fluid through the electrochemical and spectroscopic properties of its complex formed with Solochrome Violet RS., **Can. J. Chem.**, v. 71 p. 824, 1993.

JOST, C. L. Determinação simultânea de Al(III) e Fe(III) em fluidos pós-hemodialise empregando espectrofotometria e métodos de calibração multivariada. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, Santa Maria, 2005.

KHALIFA, H.; BISHARA, S. W. Solochrome violet R.S. as a new colorimetric reagent. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 178, p. 345, 1961.

KAEHNY, W. D.; HEGG, A. P.; ALFREY, A. C. Gastrointestinal absorption of aluminum from aluminum -containing antacids. **N. Eng. J. Med.**, v. 296, p.1389, 1977.

KEBERLE, H. The biochemistry of desferrioxamine and its relation to iron metabolism **Ann. N.Y. Sci.**, v. 119, p. 758, 1964.

KEIRSSE, H., SMEYERS-VERBEKE, J., VERBEELEN, D., MASSART, D.; Critical study of the speciation of aluminum in biological fluids by size-exclusion chromatography and electrothermal atomic absorption. **Anal. Chem.**, v. 60, p. 380, 1988.

KIRCHMANN, H.; PETTERSSON S. Human urine - Chemical composition and fertilizer use efficiency. **Nutr. Cycl. Agroecosys.**, v. 40, p. 149, 2005.

KISS, T.; FARKAS, E. Metal-binding ability of Desferrioxamine B. **J. Inclusion Phenom.**, v. 32, p. 385, 1998.

KLÖPPFER, W.; KOHL, E. G. Bimolecular OH rate constants of organic compounds in solution – Measurements in water using hydrogen peroxide as an OH source. **Ecotox. Environ. Safe.**, v. 22, p. 67, 1991.

KOCH, K. R.; et al. Increased urinary excretion of Al after drinking tea. **Nature**, v. 33, p.311, 1988.

KOLB, M. et al.; Investigations of oxidative UV photolysis, **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 342, p. 341, 1992.

KOTZIAS, D.; PARALAR, H.; KORTE, F. Photoreaktivität organischer Chemikalien in wäßrigen Systemen in Gegenwart von Nitraten und Nitriten. **Natur. Wissenschaften**, v. 69, p. 444, 1982.

KRAEMER, H.; BREITHAUPT, H. Quantification of desferrioxamine, ferrioxamine and aluminoxamine by post-column derivatization high-performance liquid chromatography Non-linear calibration resulting from second-order reaction kinetics. **J. Chromatogr. B**, v. 710, p. 191, 1998.

KROON, H. Determination of nitrogen in water: comparison of a continuous-flow method with on-line UV digestion with the original Kjeldahl method. **Anal. Chim. Acta**, v. 276, p. 287, 1993.

KRUCK, T. P. A.; KALOW, W.; MCLACHLAN, C. Determination of Desferrioxamine and a major metabolite by high-performance liquid chromatography: application to the treatment of aluminum-related disorders. **J. Chromatogr.**, v. 341, p. 123, 1985.

LEGRAIM, M.; et al. **Nefrologia**, 2d., Tradução: Glaucia Dunley Corbineou, 1983.

LEUNG, F. Y. Ultrafiltration studies in vitro of serum aluminum in dialysis patients after deferoxamine chelation therapy. **Clin. Chem.**, v. 31, p. 20, 1985.

LIONE, A.; ALLEN, P. V.; SMITH, J. C. Aluminium coffee percolators as a source of dietary aluminium. **Food Chem. Toxicol.**, v. 22, p. 265, 1984.

LISS, L.; THORNTON, D. J. The rationale for aluminum absorption control in early stages of alzheimer disease. **Neurobiol. Aging**, v. 7, p. 552, 1986.

LOCATELLI, C. Simultaneous determination of aluminum and iron in high salt content matrices by adsorptive stripping voltammetry. application to dialysis fluids. **Electroanalysis**, v.15, p. 1397, 2003.

MA, J. F.; RYAN P. R.; E. DELHAIZE, E. Aluminium tolerance in plants and the complexing role of organic acids. **Trends Plant. Sci.**, v. 6, p. 273, 2001.

MACHADO, A. E. H. et al. Destruction of the organic matter present in effluent from a cellulose and paper industry using photocatalysis. **Photochem. Photobiol. A: Chem.**, v. 155, p. 231, 2003.

MALEKI, N.; SAFAVI, A.; SEDAGHATPOUR, F. Single-step calibration, prediction and real samples data acquisition for artificial neural network using a CCD camera. **Talanta**, v. 64, p. 830, 2004.

MANNINO, S.; BRAMBILLA, M. Determination of iron (III) and total current potentiometric stripping analysis. **Ital. J. Food Sci.**, v. 1, p. 47, 1992.

MANNY, B. A.; MILLER, M. C.; WETZEL, R. G. Ultraviolet Combustion of Dissolved Organic Nitrogen Compounds in Lake Waters. **Limnol. Oceanogr.**, v. 16, p 71, 1971.

MORIMOTO, Y. et al. **Recent progress on UV lamps for industries**. R&D Center, Lamp company Ushio Inc., p. 1008, 2004.

MARTELL, A. E.; et al. Coordination of Al(III) in the environment and in biological systems **Coord. Chem. Rev.**, v. 149, p. 1, 1996.

MARTI, F.B.; JIMENO, S.A.; CONDE F.L.; MENDEZ, J.H. **Química Analítica Qualitativa**, Espanha: Paraninfo, 1994.

MASON, R. P.; BESDINE R. W. Aluminum in Alzheimer's disease. **JAMA**, v. 270, p. 1868, 1993.

MCCARTHY, J.T; KURTZ, S. T; Mussman GV. Deferoxamine-enhanced fecal losses of aluminum and iron in a patient undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis. **Am. J. Med.**, v. 82, p. 367, 1987.

MCGONILE, R. J. S.; PARSONS, V. Aluminium induced anaemia in haemodialysis patients. **Nephron**, v. 39, p. 1, 1985.

MCGRAW, M.; et al. Aluminium content of milk formulae and intravenous fluids used in infants. **Lancet**, v.1/ 8473, p.157, 1986.

MERKEL, P. B., KEARNS, D. R. Radiationless decay of singlet molecular-oxygen in solution- experimental and theoretical study of electronic- to- vibrational energy-transfer, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 94, p. 7244, 1972.

MERIAN, E. **Metals and Their Compounds in the Environment**, Ed. VCH, Weinheim, Alemanha, 1991.

MILHORANSA, P.; BERTHOLO, L. C.; COMERLATO L. Importância da uréia na adequação de diálise. **RBAC**, v. 37, p.87, 2005.

MILL, T.; HENDRY, D. G.; RICHARDSON, H. Free-radical oxidants in natural-waters. **Science**, v. 207, p. 886, 1980.

MOAWAD, M. M. Complexation and thermal studies of uric acid with some divalent and trivalent metal ions of biological Interest in the solid state. **J. Coord. Chem.**, v. 55, p. 61, 2002.

MORENO, A.; DOMINGUEZ, C.; BALLABRIGA, A. Aluminum in the neonate related to parenteral. nutrition. **Acta Paediatr.**, v. 83, p. 25, 1994.

MUNOZ, D. G. Aluminum and Alzheimer's disease. **Can. Med. Assoc. J.**, v. 151, p.268, 1994.

MYDLÍK, M.; DERZSIOVÁ, K. Impact of Dialysis Therapies on Uremic Toxins. **Kidney Int.**, v. 59, p. 304, 2001.

NASCIMENTO, P. C. et al. Simultaneous determination of Al(III) and Fe(III) in post-hemodialysis fluids by spectrophotometry and multivariate calibration. **Talanta**, v. 70 p. 540, 2006.

NASCIMENTO, P. C.; SCHWEDT G. Off-line and on-line preconcentration of trace levels of beryllium using complexing agents with atomic spectrometric and fluorimetric detection. **Anal. Chim. Acta**, v. 283, p. 755, 1993.

NAUMANN, R.; SCHIMIDT, W.; HÖHL, G. Determination of iron in high purity materials by adsorptive stripping voltammetry with solochrome violet. **Anal. Chem.**, v. 349, p. 643, 1994.

NOVARTIS: Desferal Basic Prescribing Information. Novartis Pharma AG. **Basel**, Switzerland, 1998.

NÜRNBERG, H. W. Investigations on heavy metal speciation in natural waters by voltammetric procedures. **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 316, p. 557, 1983.

NÜRNBERG, H. W. et al. The reliable determination of mercury traces in sea water by subtractive differential pulse voltammetry at the twin gold electrode. **Anal. Chim. Acta**, v. 115, p. 25, 1980.

OLESBURG, J. T.; MARK, A. A.; FLANIGAN, M. J. Online measurement of urea concentration in spent dialysate during hemodialysis **Anal. Chem.**, v. 50, p. 175, 2004.

OTT, S. M. et al. The prevalence of bone aluminum desposition in renal osteodystrophy and its relation to the response to calcitriol therapy. **N. Engl. J. Med.**, v. 307, p. 709, 1982.

PERKINS, M.; REYNOLDS, G. F. **Anal. Chim. Acta**, v. 19, p. 54, 1958.

PERL, D. P. The aluminum hypothesis of Alzheimer's disease: A personal view based on microprobe analysis **Neurobiol. Aging**, v. 7, p. 550, 1986.

PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO. Disponível em: <<http://www.h2o2.com>>. Acesso em: 20 setembro 2007.

PETRALULO, M.; et al. Assay of plasma oxalate with soluble oxidase. **Clin. Chem.**, v. 40, p. 2030, 1994.

PRASAD, M. V. R. Electrolytic destruction of organic matter in urine. **J. Radioanal. Nucl. Chem.**, v. 226, p. 175, 1997.

PUGIA, M. J. et al Assay of creatinine using the peroxidase activity of copper creatinine complexes. **Clin. Biochem.**, v. 33, p. 63, 2000.

QIU, Y.; GAO, L. Metal-Urea Complex - A Precursor to Metal Nitrides **J. Am. Ceram. Soc.**, v.87, p. 352, 2004.

RADOMSKA, A.; GLAB, S.; KONCHI, R. Spectrophotometric bioanalytical flow-injection system for control of hemodialysis treatment. **Anal. Chim. Acta**, v. 523, p. 193, 2004.

RODRIGUEZ, M. Fenton and UV-vis based advanced oxidation processes in wastewater treatment: Degradation, mineralization and biodegradability enhancement. Programa de Doctorado de Ingeniería Química Ambiental – Universitat de Barcelona, Facultat de Química, Barcelona, 2003.

SAFAVI, A.; MIRZAEI, M.; ABDOLLAHI, H.. Simultaneous spectrophotometric determination of iron, titanium and aluminum by partial least squares calibration method in micellar medium. **Anal. Lett.**, v. 36, p. 699, 2003.

SANDER, S., WAGNER, W., HENZE, G.; Direct determination of uranium traces by adsorptive stripping voltammetry **Anal. Chim. Acta**, v. 305, p. 154, 1995.

SANDERS, H.; PACHECO, A.; FILHO, S. Revisão/Atualização em Transplante Renal: Oxalato de cálcio em transplante renal. **J. Bras. Nefrol.**, ;v. 19, p. 447, 1997.

SAUER, D. **Sample Preparation Techniques in Voltammetric Analysis**, Bruttel, P. A.; Schäfer, J, eds.; Metrom: Herisau, p. 5, 1992.

SAVORY, J., WILLS, M.R.; Trace Metals: essential nutrients or toxins. **Clin. Chem.**, v. 38, p. 1565, 1992.

Nome: Electrochemistry for Chemists

SAWYER, D. T.; SOBKOWIAK; A, ROBERTS J. L., **Electrochemistry for Chemists**, 2<sup>a</sup> ed., New York, USA, 1995.

SCANCAR, J. Total metal concentrations in serum of dialysis patients and fractionation of Cu, Rb, al Fe and Zn in spent continuous aambulatory peritoneal dialysis fluids. **Talanta**, v. 59, p. 355, 2003.

SCULLY, N. M. et al. Hydrogen peroxide formation: The interaction of ultraviolet radiation and dissolved organic carbon in lake waters along a 43-75 °N gradient. **Limmol. Oceanogr.**, v. 41, p. 540, 1996.

SEDMAN, A. B.; et al. Evidence of aluminum loading in infants receiving intravenous therapy. **N. Eng. J. Med.**, v. 312, p. 1337, 1985.

SHIRODKAR, S.; et al. Aluminum compounds used as adjuvants in vaccines. **Pharmaceut. Res.**, v. 7, p. 1282, 1990.

SIMÕES, M.; CHIARINI, P. F. T.; PIRES M. F. C. Água de diálise: Parâmetros Físico Químicos na avaliação do desempenho das membranas de osmose reversa. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 64, p. 173, 2005.

SIPOS, L. J.; et al. New Voltammetric Procedure for the Simultaneous Determination of Copper and Mercury in Environmental Samples. **Fresenius Z. Anal. Chem.**, v. 298 p. 1, 1979.

SKOOG, D. A.; LEARY, J. J. **Principles of instrumental analysis**. 4<sup>a</sup> ed., Saunders College Publishing, 1992.

SLAVIN, W. The determination of trace metals in seawater. **Atom. Spectrosc.**, v. 1, p. 66, 1980.

SMYTH, W. F., OXSPRING, D.A., MAXWELL, T.J.; UV-visible spectrophotometric, AdSV and CE study of PADAP and its chelates with selected metal ions: application to the determination of Co(III) in vitamin B<sub>12</sub>, , **Anal Chim Acta**, v.323, p. 97, 1996.

SNOW, G. A. Metal complexes of mycobactin P and of desferrisideramines. **J. Biochem.**, v. 115, p. 199, 1969.

SODRÉ, F. F.; PERALTA-ZAMORA, P. G.; GRASSI, M. T. Digestão fotoquímica, assistida por microondas, de águas naturais: aplicação em estudos de partição e especiação do cobre. **Química Nova**, v. 27, p. 695, 2004.

SONA, M.; BAUS, C.; BRAUCH, H.J. UV irradiation versus combined UV/hydrogen peroxide and UV/ozone treatment for the removal of persistent organic pollutants from water. *Internacional Conference Ozone and UV*, 2006.

SPENCER, K. Analytical reviews in clinical biochemistry: the estimation of creatinine **Anal. Clin. Biochem.**, v. 23, p. 1, 1986.

STRYJEWSKA, E.; RUBEL, S. Adsorptive-stripping voltammetry for determination of trace amounts of aluminium with calmagite. **Electroanalysis**, v. 3, p. 995, 1991.

SUN, W.; JIAO, K. Linear sweep voltammetric determination of protein based on its interaction with alizarin red s. **Talanta**, v. 56, p. 1073, 2002.

THOMAS, F.; et al. Aluminum (III) speciation with acetate and oxalate. A potentiometric and Al NMR study. **Environ. Sci. Technol.**, v. 25, p. 1553, 1991.

THOMAS, F. G.; HENZE, G. **Introduction to Voltammetric Analysis – Theory and Practice**. Csiro Publishing Collingwood VIC, Austrália, 2001.

TYMECKI, L.; KONCKI, R. Thick-film potentiometric biosensor for bloodless monitoring of hemodialysis. **Sensor Actuat. B-Chem.**, v. 113, p. 782, 2006.

VAN DEN BERG, C. M. G. **In chemical Oceanography**. Riley, J. P., Ed. Academic Press; London, 1988.

VAN DEN BERG, C. M. G. Determination of iron in seawater using cathodic stripping voltammetry preceded by adsorptive collection with the hanging mercury drop electrode. **J. Electroanal. Chem.**, v. 177, p. 269, 1984.

VAN DEN BERG, C.M.G., ACHTERBERG, E.P. In-line ultraviolet-digestion of natural water samples for trace metal determination using an automated voltammetric system. **Anal. Chim. Acta**. v. 291, p. 213, 1994.

VANHOLDER, R.; SMET, R. Pathophysiologic Effects of uremic retention solutes J. Am. Soc. Nephrol. V. 10, p.1815, 1999.

VOGEL, A. **Análise química quantitativa**. 5<sup>a</sup> ed, Rio de Janeiro: LTC, 1992.

WANG, X. et al.; Determination of the speciation of aluminum(III) in natural waters by adsorption stripping voltammetry and complexation with AlIII-solochrome violet RS. **Anal. Chim. Acta**, v. 449, p. 35, 2001.

WANG, J. **Stripping Analysis: Principles, Instrumentation and Applications**. VHC, 1985.

WANG, J.; FARIAS, P. A. M.; MAHMOUD, J. S. stripping voltammetry of aluminum based on adsorptive accumulation of its solochrome violet rs complex at the static mercury drop electrode. **Anal. Chim. Acta**, v. 172, p. 57, 1985.

WANG, J.; FARIAS, P. A. M.; MAHMOUD, J. S. Trace measurements of calcium, magnesium, strontium and barium, base don stripping voltammetry adsorptive accumulation. **J. Electroanal. Chem.**, v. 195, p. 165, 1985.

WANG, J.; MAHMOUD J. Chelate adsorption for trace volatammetric measurements of iron (III), **Fresenius J. Anal. Chem.**, v. 327, p. 789, 1987.

WANG, J.; MAHMOUD, J.; ZADEII, J. Simultaneous measurements of trace metals by adsorptive stripping voltammetry. **Electroanalysis**, v. 1, p. 229, 2005.

WANG, Z.; KÖNIGSBERGER, E.; Solubility equilibria in the acid-sodium urate-water system. **Thermochim. Acta**. V. 310, p. 237, 1998.

WATTS, R. W. E. Treatment of renal failure in the Primary Hyperoxalurias. **Nephron.**, v. 56, p. 1, 1990.

WELZ, B. SPERLING, M. **Atomic Absorption Spectrometry**, 3rd ed., Wiley-VCH, Weinheim, 1999.

WILLIE, S. S.; The voltammetric determination of Mo in seawater after adsorptive accumulation of the Eriochrome Blue Black R complex. **Can. J. Chem.**, v. 65, p. 957, 1987.

WILLARD, H. H.; DEAN, J. A. Polarographic Determination of Aluminum. **Anal. Chem.**, v. 22, p. 1264, 1950.

WOOLFSON, A.D., GRACEY, G.M. Matrix effects in the determination of aluminum in dialysis fluids by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Analyst**, v. 112, p. 1387, 1987.

WORSFOLD, P.J. et al.; UV digestion of seawater samples prior to the determination of copper using flow injection with chemiluminescence detection, **Anal Chim Acta**, v. 440, p. 27, 2001.

YOKEL, R. A. Aluminum chelation principles and recent advances. **Coordin. Chem. Rev.**, v. 228, p. 97, 2002.

## ANEXO A – Parâmetros experimentais das medidas voltamétricas

### – Voltametria de pulso diferencial:

Volume na célula voltamétrica: 10,5 mL (0,5 mL de eletrólito, 10 mL de água ou amostra)

Eletrodo de trabalho: HMDE

Tamanho da gota: 9

Modo de medida: pulso diferencial

Amplitude de pulso: -0,05 V

Potencial de pré-concentração: -0,1 V

Tempo de pré-concentração na gota: 5 s

Faixa de varredura de potenciais: -0,1 a -0,8 V

Velocidade de varredura: 0,02 V s<sup>-1</sup>

### – Voltametria de corrente alternada –

Volume na célula voltamétrica: 10 mL (0,5 mL de eletrólito, 10 mL de água)

Eletrodo de trabalho: HMDE

Tempo de pré-concentração na gota: 5 s

Tamanho da gota: 9

Amplitude de pulso: 0,02 V

Ângulo de fase: 90°

Potencial de pré-concentração: -0,1 V

Faixa de varredura de potenciais: -0,1 a -0,8 V

Freqüência: 60 Hz

Velocidade de varredura: 0,02 V s<sup>-1</sup>

**ANEXO B – Condições utilizadas na Espectrometria de Absorção Atômica – Forno de Grafite**

Elemento – Al

Comprimento de onda – 309,3 nm

Fenda – 0,8 nm

Corrente da lâmpada – 6,0 mA

Gás inerte –

Correção de fundo – BG on

| <b>T(oC)</b> | <b>Tempo(s)</b> | <b>Fluxo de gás (L/min)</b> | <b>Comentários</b> |
|--------------|-----------------|-----------------------------|--------------------|
| Secagem      | 90              | 34                          | 2,5                |
| Secagem      | 105             | 25                          | 2,5                |
| Secagem      | 110             | 12,5                        | 2,5                |
| Pirólise     | 1300            | 14,8                        | 2,5                |
| AZ*          | 1300            | 4,0                         | 0                  |
| Atomização   | 2450            | 4,0                         | 0                  |
| Limpeza      | 2550            | 4,2                         | 2,5                |