

CARLOS EDUARDO OLIVEIRA ANDRADE

**ENCAPSULAMENTO DE LIGANTES E COMPLEXOS EM
MATRIZES POLIMÉRICAS VISANDO A LIBERAÇÃO
CONTROLADA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2016

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade Federal de Viçosa - Campus Viçosa

T

A553e
2016
Andrade, Carlos Eduardo Oliveira, 1981-
Encapsulamento de ligantes e complexos em matrizes poliméricas visando a liberação controlada / Carlos Eduardo Oliveira Andrade. - Viçosa, MG, 2016.
xxiii, 118f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: André Fernando de Oliveira.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.103-117.

1. Ferro. 2. Biopolímero. 3. Matrizes (Trabalho em metal).
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Química.
Programa de Pós-graduação em Agroquímica. II. Título.

CDD 22 ed. 669.1

CARLOS EDUARDO OLIVEIRA ANDRADE

**ENCAPSULAMENTO DE LIGANTES E COMPLEXOS EM
MATRIZES POLIMÉRICAS VISANDO A LIBERAÇÃO
CONTROLADA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 18 de novembro de 2016.

Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz
(Coorientadora)

Antônio Augusto Neves
(Coorientador)

Jane Selia dos Reis Coimbra

Pedro Orival Luccas

André Fernando de Oliveira
(Orientador)

A Deus.

Às minhas filhas Maria Clara e Mariana, eternas fontes de encanto, amor e inspiração.

A minha amada esposa Tatiana Andrade.

Aos meus queridos pais e irmãos.

*Pelo amor e apoio incondicional,
dedico este trabalho.*

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me proporcionado saúde e força de vontade para concluir esta tese de doutoramento e que sempre tem me abençoado, fortalecido e presenteado com dádivas e vitórias sucessivas.

À minha amada esposa Tatiana, que em todos os momentos difíceis esteve ao meu lado. Aqui não teria páginas suficientes e tempo para escrever meu agradecimento por tudo o que fez, principalmente em minha ausência por ter cuidado com muito amor e carinho de nossas filhas.

Às minhas amadas filhas Maria Clara e Mariana, que na simplicidade de uma criança, me tranquilizavam e me faziam esquecer todas as dificuldades e barreiras que este trabalho me apresentava e em segundos, as preocupações eram transformadas em brincadeiras e sorrisos.

Aos meus amados pais, Maria Augusta e Leonardo, pelo esforço, empenho, ensinamento, apoio e incentivo em tudo o que faço e ainda por ter sido o apoio incondicional de minha família em minhas ausências.

Aos meus irmãos Viviane e Emanuel, que me apoiaram e incentivaram.

Ao professor Fernando, pela dedicada orientação, ensinamento, incentivo, confiança, oportunidades e também pela amizade e paciência demonstrada ao longo do trabalho.

Aos Professores conselheiros Antônio Augusto Neves e Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz, pela força, ensinamento, dedicada orientação e sincera amizade.

Aos professores Alisson Borges e César Reis (exame de qualificação), Pedro Luccas e Jane Coimbra que se dispuseram a participar da banca.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Departamento de Química, por toda a infraestrutura concedida.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Ao CEFET-MG pela oportunidade de aperfeiçoamento.

Aos amigos do LAQUA, Luiz Manoel, Carlos, Raquel, Adley, Ronan, Anna Isabel, Flaviane, Fernanda, Renata, Isadora, Cristiane, Cyntia, Alessandra, Robson, Nelson, Marcos Rafael, Adriana, Ághata, Luiz Felipe, Laurence, Nívia, Fran, Gleissy, Thais e Camila, pela amizade sincera e pela agradável convivência que me proporcionaram.

Aos colegas do LaQuaM, pela agradável convivência.

E a todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho científico.

BIOGRAFIA

CARLOS EDUARDO OLIVEIRA ANDRADE, filho de Leonardo Soares de Andrade e Maria Augusta de Oliveira Andrade, nasceu em Coronel Fabriciano, Minas Gerais, em 15 de fevereiro de 1981. Casado com Tatiana de Fátima Vieira Pinto Andrade e pai da Maria Clara Andrade e de Mariana Andrade.

Em abril de 1999, iniciou o curso de Graduação em Química pela Universidade Federal de Viçosa, diplomando-se como licenciado em Química em setembro de 2002 e em março de 2003 como bacharel em Química. Em março deste mesmo ano, iniciou o curso de Pós-Graduação em Agroquímica, em nível de mestrado, submetendo-se à defesa de dissertação em fevereiro de 2005.

Em janeiro de 2009, após aprovação em concurso público, foi nomeado e empossado com professor do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Campus Timóteo-MG.

Em novembro de 2012 iniciou o curso de Pós- Graduação em Agroquímica, em nível de doutorado submetendo-se à defesa de tese em 18 novembro de 2016.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIACÕES.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xiii
LISTA DE TABELAS.....	xviii
RESUMO.....	xx
ABSTRACT.....	xxii
Capítulo 1: Revisão bibliográfica.....	1
1.1. Fitorremediação.....	1
1.2. Complexo de Ferro na Nutrição de Plantas.....	3
1.3. EDTA.....	4
1.4. Liberação Controlada.....	8
1.5. Biopolímeros em Liberação Controlada.....	10
1.5.1. Quitosana.....	10
1.5.2. Ágar-Ágar.....	13
1.6. Hidroponia.....	14
1.7. Modelos Cinéticos.....	15
1.8. Modelos de Isotermas de Adsorção.....	17
1.8.1. Modelo de Freundlich.....	17
1.8.2. Modelo de Langmuir.....	18
1.8.3. Modelo de Sips.....	18
1.9. Planejamento Experimental.....	19
1.9.1. Planejamento Fatorial.....	20
1.9.2. Matriz Dohelert.....	22
1.9.3. Seleção de Variáveis Baseadas no Procedimento Stepwise de Modelos de Regressão Múltipla.....	25
Capítulo 2- Liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA da matriz polimérica de ágar-ágar.....	26
2.1. Introdução.....	26
2.2. Objetivos.....	28
2.2.1. Objetivo Geral.....	28
2.2.2. Objetivos Específicos.....	28
2.3. Materiais e Métodos.....	29
2.3.1. Equipamentos.....	29
2.3.2. Reagentes e Soluções.....	29

2.3.3. Desenvolvimento de Método Espectrofotométrico Para a Determinação do Complexo Fe(III)-EDDHMA.....	30
2.3.3.1. Determinação do Comprimento de Onda de Máxima Absorção.....	30
2.3.3.2. Avaliação do pH Para a Quantificação do Complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA.....	30
2.3.4. Validação do Método Espectrofotométrico Para a Determinação do Complexo Fe(III)-EDDHMA.....	31
2.3.5- Obtenção do Polímero Ágar-Ágar/Fe(III)-o,o-EDDHMA.....	31
2.3.5.1- Polímero de Ágar-Ágar em Água.....	31
2.3.5.2- Polímero de Ágar-Ágar em Meio Tamponado..	31
2.3.6. Liberação Controlada do Complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA Adsorvido em Ágar-Ágar.....	32
2.3.7. Avaliação do Modelo Cinético de Liberação do Complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA em Ágar-Ágar.....	33
2.4. Resultados e Discussão.....	34
2.4.1. Determinação da Pureza do Fe(III)-o,o-EDDHMA.....	34
2.4.2. Validação do Método Espectrofotométrico para Fe(III)-o,o-EDDHMA.....	34
2.4.2.1. Influência do pH na Quantificação do Complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA.....	35
2.4.3. Avaliação do Modelo Cinético de Liberação do Complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA na Matriz Polimérica de Ágar.....	37
2.4.4. Condições de Estudo da Liberação Controlada.....	39
2.4.4.1. Teor de Ágar.....	39
2.4.4.2. Variação do pH da solução e da superfície de contato do gel de ágar-ágar na liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA.....	40
2.5. Conclusão.....	42
Capítulo 3- Adsorção e liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA da matriz de quitosana reticulada com glutaraldeído.....	43
3.1. Introdução.....	43
3.2. Objetivos.....	45
3.2.1. Objetivo Geral.....	45
3.2.2. Objetivos Específicos.....	45

3.3. Materiais e Métodos.....	46
3.3.1. Equipamentos.....	46
3.3.2. Reagentes e Soluções.....	46
3.3.3. Síntese das Esferas de Quitosana Reticulada (QTS-R) Para Estudo da Adsorção de Fe(III)-o,o-EDDHMA.....	46
3.3.4. Adsorção do Complexo de Fe(III)-o,o-EDDHMA na Esferas de QTS-R.....	47
3.3.4.1. Efeito da Concentração Inicial de Fe(III)-o,o-EDDHMA.....	47
3.3.4.2. Avaliação do Modelo Cinético de Adsorção do Complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA Pelas Esferas de QTS-R	48
3.3.4.3. Avaliação da Dosagem de QTS-R.....	48
3.3.4.4. Isotermas de Adsorção.....	49
3.3.5. Liberação Controlada do Complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA Adsorvido nas Esferas de QTS-R.....	49
3.3.5.1. Síntese das esferas de Quitosana Reticulada (QTS-R) para estudo da liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA.....	49
3.3.5.2. Influência do pH e da Reticulação das Esferas de Quitosana com Glutaraldeído na Adsorção do Complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA.....	49
3.3.5.3. Influência da Força Iônica na Desorção do Complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA das Esferas de QTS-R..	51
3.3.5.4- Planejamento Fatorial Fracionado 2^{4-1}	51
3.3.5.5. Comparação da Liberação do Complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA Pelas Determinações por Espectrofotometria De Absorção Atômica e de Absorção Molecular.....	53
3.3.5.6. Avaliação do Modelo Cinético de Liberação do Complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA Pelas Esferas de QTS-R..	53
3.3.5.7. Estudo da Absorção do Ferro Por Alface Usando a Hidroponia Como Meio Nutritivo.....	54
3.4. Resultados e Discussão.....	58
3.4.1. Adsorção do Complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA Pelas Esferas de QTS-R.....	58

3.4.1.1- Variação da Concentração Inicial de Fe(III)-o,o-EDDHMA.....	58
3.4.1.2. Variação da Dose de QTS-R.....	62
3.4.1.3. Estudo das Isotermas de Adsorção.....	64
3.4.1.4. Influência do pH e da Reticulação das Esferas de Quitosana Com Glutaraldeído na Adsorção do Complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA.....	66
3.4.1.5. Influência da Força Iônica na Desorção do Complexo das Esferas de QTS-R.....	68
3.4.1.6. Liberação Controlada do Complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA.....	68
3.4.1.7. Comportamento Cinético.....	71
3.4.1.8. Liberação Controlada do Complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA Adsorvido nas Esferas de QTS-R Para Nutrição de Alface Por Hidroponia.....	73
3.4. Conclusão.....	76
Capítulo 4 – Um novo método espectrofotométrico para determinação de EDTA em água usando o seu complexo com Mn (III) e o da liberação de EDTA de matrizes poliméricas.....	77
4.1. Introdução.....	77
4.2. Objetivos.....	79
4.2.1. Objetivo Geral.....	79
4.2.2. Objetivos Específicos.....	79
4.3. Materiais e Métodos.....	80
4.3.1. Equipamentos.....	80
4.3.2. Reagentes e Soluções.....	80
4.3.3. Método.....	81
4.3.4. Otimização do Método.....	81
4.3.5. Validação do Método Analítico.....	82
4.3.6. Aplicação do Método.....	82
4.3.7. Estudo da Liberação Controlada de EDTA.....	83
4.3.7.1. Obtenção do Polímero Agar-Agar/ H ₄ EDTA.....	83
4.3.7.1.1. Polímero de Ágar-Ágar em Diferentes Proporções de H ₄ EDTA.....	83
4.3.7.2. Obtenção do Polímero Gelatina Incolor/	

H ₄ EDTA.....	84
4.3.7.2.1. Preparo do Polímero de Gelatina Incolor em Água com H ₄ EDTA.....	84
4.3.7.2.2. Preparo do Polímero de Gelatina Incolor em Diferentes pHs.....	84
4.3.7.3. Monitoramento da Liberação de EDTA.....	84
4.3.7.4.- Avaliação do Modelo Cinético de Liberação do EDTA pelo Ágar-Ágar.....	85
4.3.8. Análise Estatística.....	85
4.4. Resultado e Discussão.....	86
4.4.1. Estudos Iniciais.....	86
4.4.2. Tempo de Reação.....	87
4.4.3. Otimização do Método.....	88
4.4.4. Validação do Método Analítico.....	90
4.4.5. Estudos dos Concomitantes.....	91
4.4.6. Aplicação do Método.....	92
4.4.7. Liberação Controlada de EDTA.....	93
4.5. Conclusão.....	101
Conclusão Geral.....	102
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	103
ANEXO I.....	118

LISTA DE ABREVIações

- 'a'**- velocidade inicial de adsorção do modelo de Elovick
- AA**- absorção atômica
- a_s**- expoente do modelo de Sips
- 'b'**- constante de desorção do modelo de Elovick.
- C**- concentrações da espécie dissolvida no tempo t
- C_s**- concentrações da espécie dissolvida no equilíbrio
- CONAMA**- conselho Nacional de Meio Ambiente
- D**- coeficiente de difusão da substância no modelo de Noyes-Whitney
- dC/dt**- taxa de variação da concentração com o tempo
- dq_t/dt**- taxa de aumento da concentração do adsorvato no sólido (q_t) com o tempo (t)
- dt**- taxa de variação do tempo
- DOE**- Planejamento de Experimentos (em inglês Design of Experiments)
- EDDHA**- ácido etilenodiamino di(o-hidroxifenil acético)
- EDDHMA**- ácido etilenodiamino-N, N-bis[2-hidroxi-4-metilfenilacético]
- EDDS**- ácido etilenodiaminodisuccínico
- EDDHSa**- ácido etilenodiamino-N,N'-di[(2-hidroxi-5-sulfofenil) acético]
- EDTA**- ácido etilenodiamino tetra-acético
- FMO**- forno de micro-ondas
- g**- unidade de massa (grama)
- h**- espessura da camada de difusão no modelo de Noyes-Whitney.
- INMETRO**- Instituto Nacional de Metrologia Qualidade e Tecnologia
- k_{Noyes-Whitney}** - constante cinética de Noyes-Whitney
- k₁**- constante de velocidade de adsorção da pseudo-primeira ordem.
- k₂**- constante de velocidade de adsorção da pseudo-segunda ordem.
- k_F**- constante de Freundlich
- k_L**- constante de Langmuir
- k_s**- constante de Sips
- LOD**- limite de detecção
- Log**- logarítimo na base dez
- LOQ**- Limite de quantificação
- mol**- quantidade de matéria, unidade
- n**- parâmetro adimensional de Freudlich

N9- número de noves

NTA- ácido nitrilotriacético

PTFE- Politetrafluoretileno

q- quantidades do analito adsorvidas no tempo t

q_e- quantidades do analito adsorvidas no equilíbrio.

q_m- capacidade de cobertura da monocamada no modelo de Langmuir.

QTS-R- quitosana reticulada com glutaraldeído

r- coeficiente de correlação

R² – coeficiente de determinação

RLM- regressão linear múltipla

rpm- Rotações por minuto

RSD- Desvio Padrão Relativo (do inglês “Relative Standard Deviation”)

s- desvio padrão da resposta

S- inclinação da curva analítica

SLC- sistema de liberação controlada

S_{res} – desvio padrão do resíduo

S_w- área da superfície exposta do sólido no modelo de Noyes-Whitney,

t- tempo

V- volume

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1: Revisão bibliográfica

Figura 1.1. Processos de fitorremediação do solo.....	01
Figura 1.2. Estrutura molecular dos ligantes de Fe(III) usados como fertilizantes.....	04
Figura 1.3. Estrutura química do EDTA na forma totalmente protonada (H_6EDTA^{2+}).....	05
Figura 1.4. Estrutura do complexo $[M-EDTA]^{n-4}$, considerando M, um metal com número de coordenação igual a seis.....	06
Figura 1.5. Diagrama de distribuição de espécies do H_6EDTA^{2+} (a), destacando a forma logarítmica da fração de equilíbrio (b). (■) α_0 , (●) α_1 , (▲) α_2 , (▼) α_3 , (◀) α_4 , (▶) α_5 , (◆) α_6	07
Figura 1.6. Mecanismo de liberação convencional e modificada. D1, D2 e D3 representam as doses de medicamentos administradas.....	09
Figura 1.7. Estrutura química da Quitina.....	10
Figura 1.8. Obtenção de quitosana por meio da desacetilação de quitina..	11
Figura 1.9. Reação de reticulação da quitosana com glutaraldeído.....	13
Figura 1.10: Matriz de Doehlert para duas variáveis.....	23
Figura 1.11. (a) Representação tridimensional da matriz de Doehlert de 3 variáveis e (b) sua projeção no plano xy. Cada ponto encontra-se na superfície de uma esfera (não apresentada).....	23
Figura 1.12. Planejamento Doehlert para duas variáveis: Hexágono (—) obtido pelo primeiro planejamento e hexágono (- - -) obtido utilizando pontos experimentais já explorados anteriormente.....	24

Capítulo 2- Liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA da matriz de ágar-ágar

Figura 2.1 – (A) Dispositivos “home-made” utilizados para o corte dos cubos de ágar-ágar, espaçamento de 2,0 cm e espaçamento de 1,0 cm. (B) Pellets obtidos após corte da matriz de ágar-ágar utilizando dispositivos “home-made”.....	32
--	----

Figura 2.2: (a) Espectro da solução 1% (m/m) de Fe(III)-o,o-EDDHMA em água. (b) Sensibilidade analítica da curva analítica no intervalo de 0,0 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Fe(III)-o,o-EDDHMA (curva ---) e N9 (curva ----) em função do comprimento de onda.....	35
Figura 2.3: Sensibilidade analítica da curva analítica no intervalo de 0,0 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Fe(III)-o,o-EDDHMA em diferentes pH, determinados em 486 nm (●) 285 nm (■).....	36
Figura 2.4: Sensibilidade analítica da solução do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA, no intervalo de 0,0 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Fe(III)-o,o-EDDHMA em água e na faixa de pH de 5,0 à 9,0 em função do comprimento de onda...	37
Figura 2.5: (a) Cinética de liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA à 1% (m/m) adsorvido em uma matriz de ágar-ágar à 2% (m/m) em água, (b) Resíduos dos modelos cinéticos avaliados na liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA. (Os pontos foram ligados para melhor visualização).....	38
Figura 2.6: Constante de proporcionalidade da equação de Noyes-Whitney em função do teor de ágar-ágar em cubos com aresta de 2 cm, totalizando área superficial de 24 cm^2	40
Figura 2.7: Influência da superfície total de gel de ágar e pH sobre a constante cinética da equação de Noyes-Whitney.....	41

Capítulo 3- Adsorção e liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA da matriz de quitosana reticulada com glutaraldeído

Figura 3.1: Foto do experimento de crescimento do alface com a solução nutritiva.....	55
Figura 3.2. Estudo da adsorção de 100 mL da solução aquosa do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA, por 200 mg de esferas de QTS-R em função do tempo a 25 °C.....	59
Figura 3.3. Resíduos dos modelos cinéticos de adsorção em diferentes concentração do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA em esferas de QTS-R, Os pontos foram unidos por linhas apenas para facilitar a visualização.....	60
Figura 3.4. Tempo para atingir 95% do equilíbrio em função da	

concentração inicial do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA.....	61
Figura 3.5. Constante cinética de adsorção de Noyes-Whitney em função da concentração inicial do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA.....	62
Figura 3.6. Quantidade do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA adsorvido por grama das esferas de QTS-R em função da dosagem das esferas de QTS-R, em diferentes concentrações iniciais do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA em solução.....	63
Figura 3.7. Resíduos do ajuste da quantidade do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA adsorvidos por grama das esferas de QTS-R (q_e), dos modelos de adsorção de Freundlich, Langmuir e Sips testados na adsorção do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA pelas esferas de QTS-R.....	65
Figura: 3.8. Superfície de resposta do Planejamento Fatorial 2^2 mostrando a quantidade do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA adsorvido, em função da concentração de reticulação de glutaraldeído e do pH da solução durante a adsorção.....	67
Figura 3.9. Influência da força iônica na desorção do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA adsorvido nas esferas de QTS-R.....	68
Figura 3.10 Liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA adsorvido nas esferas de QTS-R nos experimentos do planejamento fatorial 2^{4-1} . Os números apresentados na legenda são referentes aos números de cada experimento descrito no item 3.3.4.4.....	69
Figura 3.11: Diagrama de pareto do planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} , para os fatores pH de adsorção, pH de desorção, concentração de glutaraldeído (Reticulação) e adição de cloreto de sódio (Força Iônica) sobre a concentração, no equilíbrio, de complexo em solução após a liberação controlada.....	70
Figura 3.12 Comparação da concentração de complexo liberado.....	71
Figura 3.13 Resíduo dos modelos cinéticos ajustados para a liberação controlada de Fe-o-o-EDDHMA do planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} . O pH de adsorção e de liberação do complexo: 7,5; concentração de NaCl na liberação: 1,0 mol L ⁻¹ ; concentração de glutaraldeído na reticulação das esferas de quitosana: 0,0126 mol L ⁻¹	72
Figura 3.14. Diagrama de pareto do planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} , para os fatores pH de adsorção, pH de desorção, concentração de Glutaraldeído (Reticulação) e adição de cloreto de sódio (Força Iônica)	

utilizando-se como resposta a constante cinética no modelo de Noyes-Whitney.....	73
--	----

Capítulo 4 – Um novo método espectrofotométrico para determinação de EDTA em água usando o seu complexo com Mn (III) e o estudo da liberação de EDTA de matrizes poliméricas

Figura 4.1. (A) Dispositivos home-made utilizados para o corte dos cubos de ágar-ágar, espaçamento de 2,0 cm e espaçamento de 1,0 cm. (B) Pellets obtidos após corte da matriz de ágar-ágar utilizando dispositivos home-made.....	83
Figura 4.2. Espectros de absorção do complexo Mn(III)-EDTA a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (■) e de uma solução de EDTA a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (■).....	86
Figura 4.3. (■)Sensibilidade analítica da curva analítica no intervalo de 0,0 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e o (○) ‘número de noves’ do coeficiente de correlação ao quadrado (R^2) em função do tempo.....	88
Figura 4.4. Superfície de resposta da sensibilidade analítica em função do pH e da relação de concentração de Mn(II)/EDTA.....	90
Figura 4.5. Espectros de absorção do complexo Mn(III)-EDTA a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ na presença do concomitante Fe^{3+} em diferentes proporções, (a) sem filtração e (b) filtrado em filtro de 0,45 μm antes da leitura.....	92
Figura 4.6. Liberação controlada do H_4EDTA em diferentes concentrações no polímero de ágar-ágar a 2,0% (m/m).....	94
Figura 4.7. Liberação controlada em água do H_4EDTA adsorvido a (a) 29,9 μmol , (b) 57,7 μmol (c) 115,5 μmol no polímero de ágar-ágar a 2,0% (m/m), medidos por condutividade elétrica e por espectrofotometria de absorção molecular.....	95
Figura 4.8. Resíduos dos modelos cinéticos de liberação da quantidade de EDTA, em diferentes concentrações do H_4EDTA disperso em ágar-ágar à 2% (m/m): (a) 29,9 μmol , (b) 57,7 μmol (c) 115,5 μmol no polímero de ágar-ágar a 2,0% (m/m).....	96
Figura 4.9. Liberação controlada em água do H_4EDTA disperso em diferentes condições de pH na gelatina incolor a 10,0% (m/m), medidos por condutividade elétrica e por espectrofotometria de absorção molecular.....	98

Figura 4.10. Liberação controlada de EDTA disperso em gelatina incolor a 10,0% (m/m) que foi preparada em diferentes condições de pH.....	99
Figura 4.11. Diagrama de distribuição de espécies do H_6EDTA^{2+} (■) α_0 , (●) α_1 , (▲) α_2 , (▼) α_3 , (◀) α_4 , (▶) α_5 , (◆) α_6	99
Figura 4.12. Resíduos dos modelos cinéticos de liberação do H_4EDTA adsorvido em diferentes condições de pH na gelatina incolor a 10,0% (m/m).....	100

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2- Liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA da matriz de ágar-ágar

Tabela 2.1: Parâmetros obtidos para o ajuste de modelo quadrático $Qx^2 + Sx = k$, onde Q e S são os fatores quadrático e linear (inclinação) e s, a estimativa dos desvios padrão.....	41
---	----

Capítulo 3- Adsorção e liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA da matriz de quitosana reticulada com glutaraldeído

Tabela 3.1: Planejamento fatorial 2^2 para avaliação das variáveis: pH e reticulação das esferas de Quitosana pelo glutaraldeído na adsorção do complexos Fe(III)-o,o-EDDHMA.....	50
Tabela 3.2: Valores reais e codificados das variáveis experimentais analisadas para montagem do planejamento experimental via Planejamento Fatorial Fracionado 2^{4-1} , para avaliação da liberação do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA das esferas de QTS-R.....	52
Tabela 3.3: Diferentes formas de Ferro (III) na solução nutritiva, para o cultivo hidropônico do alface. $C(Fe(III)) = 21,4 \mu\text{mol L}^{-1}$	54
Tabela 3.4. Composição da solução nutritiva.....	56
Tabela 3.5. Parâmetros da equação 2.6 em relação a concentração inicial do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA em solução.....	64
Tabela 3.6. Parâmetros dos modelos de sorção Freundlich, Langmuir e Sips.....	65
Tabela 3.7: Teor de Fe(III)-o,o-EDDHMA adsorvido nas esferas de quitosana (QTS-R) em dois níveis de pH e em dois níveis de Glutaraldeído que foi usado para a reticulação das esferas.....	67
Tabela 3.8: Teor de Fe(III)-o,o-EDDHMA adsorvido e liberado nas esferas de quitosana (QTS-R) em dois níveis de pH e dois níveis de concentração de Glutaraldeído que foi usado para a reticulação das esferas.....	74
Tabela 3.9: Teor de Fe no material seco do alface.	75

Capítulo 4 – Um novo método espectrofotométrico para determinação de EDTA em água usando o seu complexo com Mn (III) e o estudo da liberação de EDTA de matrizes poliméricas

Tabela 4.1. Planejamento da Matriz de Doehlert para as variáveis pH (A) e Razão Mn/EDTA (B), com os valores reais e suas respectivas coordenadas.....	82
Tabela 4.2. Proporção da concentração mínima do concomitante que causam interferência em meio com concentração de manganês (II) igual a 3,6 mmol L ⁻¹ e EDTA de 50,0 μmol L ⁻¹	92
Tabela 4.3. Porcentagem de recuperação para as amostras de água fortificada.....	93
Tabela 4.4. Parâmetros do modelo cinético de Noyes-Whitney da liberação controlada do H ₄ EDTA adsorvido em diferentes concentrações no polímero de ágar-ágar a 2,0% (m/m).....	97

RESUMO

ANDRADE, Carlos Eduardo Oliveira, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, novembro de 2016. **Encapsulamento de ligantes e complexos em matrizes poliméricas visando a liberação controlada.** Orientador: André Fernando de Oliveira. Coorientadores: Antônio Augusto Neves e Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz.

O objetivo deste trabalho foi estudar o encapsulamento do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA e do ligante EDTA em matrizes poliméricas visando a liberação controlada. Neste caso, haverá um ganho ambiental devido à menor liberação do ligante ou complexo no ambiente que poderiam ser lixiviados ao ser adicionado ao solo. Para estes estudos foi necessário primeiramente desenvolver e validar métodos analíticos para a quantificação do Fe(III)-o,o-EDDHMA e do EDTA. No complexo de Fe(III)-o,o-EDDHMA o método otimizado apresentou uma resposta linear na faixa de 0,21 a 250,0 mmol L⁻¹, um coeficiente de determinação de 0,9997, e um limite de detecção de 0,063 mmol L⁻¹. Para a quantificação do EDTA foi proposto um método baseado na formação do complexo Mn(III)-EDTA após oxidação do Mn(II)-EDTA por PbO₂ imobilizadas em esferas de cianoacrilato. Um planejamento experimental (DOE), com base na matriz de Doehlert, foi usado para determinar as condições ótimas do método. A influência das variáveis foi avaliada utilizando um modelo de regressão linear múltipla (RLM). O método otimizado apresentou uma resposta linear na faixa de 0,77 a 100,0 μmol L⁻¹, com sensibilidade analítica de 7,7 × 10³ L mol⁻¹, um coeficiente de determinação de 0,999, e um limite de detecção de 0,23 mmol L⁻¹. Este método foi aplicado em amostras fortificadas em diferentes níveis de concentração e os valores das recuperações ficaram na faixa de 97,0 a 104,9%. O modelo cinético de Noyes-Whitney foi o que melhor se ajustou ao processo de liberação do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA da matriz polimérica de ágar-ágar e da quitosana resticulada com glutaraldeído (QTS-R). O mesmo ajuste foi observado na liberação do ligante EDTA a partir das matrizes poliméricas de ágar-ágar e gelatina. Estes resultados apontam que em todas as condições estudadas de liberação, o processo envolvido na liberação era o de difusão. Nos estudos com a matriz de ágar-ágar mostraram que o teor da matriz polimérica no intervalo de 1% a 7% não influencia a liberação do complexo e quanto maior a

superfície de contato, maior foi a velocidade de liberação. Em relação aos ensaios de adsorção do complexo em quitosana, este apresentou resultados semelhantes nos modelos estudados, apresentando melhor ajuste nos modelos de Sips e Freundlich. Pelo modelo de Sips observa-se que o parâmetro q_{ms} que indica a quantidade de saturação da esfera é de 8,7 mmol do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA por cada grama da esfera. As adsorções do complexo pelas esferas de QTS-R foram favorecidas em pH ácido, pois a quitosana fica mais protonada e desta forma absorvem maior quantidade do complexo por este apresentar carga negativa. Em concentrações inferiores de glutaraldeído também favorece adsorção do complexo, pois a quitosana terá um maior número de grupos aminos disponíveis. Para o estudo de liberação controlada do complexo da quitosana foi realizado um planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} , o qual verificou-se que a força iônica, assim como a o pH de adsorção e a concentração de glutaraldeído foram significativos ao nível de 95% de confiança ($p < 0,05$). Resalta-se que no pH de desorção do meio onde se encontrava as esferas de QTS-R não foi significativo.

ABSTRACT

ANDRADE, Carlos Eduardo Oliveira, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, November, 2016. **Encapsulating Ligands in Complex in Polymer Matrices Aimed at Controlled Release.** Adviser: André Fernando de Oliveira. Co-advisers: Antônio Augusto Neves and Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz.

The objective of this work was to study the encapsulation of the complex Fe(III)-o, o-EDDHMA and of the EDTA ligand in polymer matrices aiming the controlled release. In this case, there will be an environmental gain due to the lower release of a complex or complex no environment that has been leached at the same time added to the soil. For these studies it was first necessary to develop and validate analytical methods to quantify the Fe(III)-o,o-EDDHMA and EDTA. In the complex of Fe(III)-o,o-EDDHMA optimized method showed a linear response in the range from 0.021 to 250.0 mmol L⁻¹, a coefficient of determination of 0.9997 and a detection limit of 0.063 mmol L⁻¹. For the quantification of the EDTA, a method based on the formation of the complex Mn(III)-EDTA upon oxidation of the Mn(II)-EDTA by PbO₂ cyanoacrylate immobilized on beads. An experimental design (DOE), based on Doehlert matrix was used to determine the optimum conditions of the method. The influence of the variables was assessed using a multiple linear regression model (MLR). The optimized method showed a linear response in the range of 0.77 to 100.0 mmol L⁻¹ with analytical sensitivity of 7.7×10^3 L mol⁻¹, a determination coefficient of 0.999, and a detection threshold 0.23 mmol L⁻¹. This method was applied in fortified samples at different concentration levels and the recoveries values were in the range of 97.0 to 104.9%. The Noyes-Whitney kinetic model was the best fit for the complex release process. (III) -o, EDDHMA from the polymer matrix of agar and the glutaraldehyde-reshaped chitosan (QTS-R). The same adjustment was observed in the release of the binder. These results indicate that in all the studied conditions of release, the process involved is that of diffusion. Studies with agar showed that the matrix content in the range of 1% to 7% does not influence the release complex and the larger the contact surface, the greater the release rate. In relation to the adsorption assays of the complex in chitosan, this model presents results in the studied models, presenting better fit the Sips and Freundlich models. From the Sips model it is observed that the parameter qms indicating a saturation amount of the sphere is 8.7 mmol of the Fe(III)-o,o-DDHMA complex per gram of the

sphere. As the adsorptions of the complex by QTS-R beads were favored at acid pH, as chitosan is more protonated and thus absorbs more of the complex by this negative charge model. At lower concentrations of glutaraldehyde also favors the adsorption of the complex, since a chitosan has a greater number of amine groups available. For the controlled release study of the chitosan complex, a fractional factorial design was performed 2^{4-1} , which showed that the ionic strength, as well as the adsorption pH and the glutaraldehyde concentration were significant at the 95% confidence level ($p < 0.05$). It is emphasized that no desorption pH of the medium was found as QTS-R beads was not significant.

Capítulo 1: Revisão Bibliográfica

1.1. Fitorremediação

A fitorremediação consiste no uso da capacidade natural de algumas espécies de plantas em acumular altas quantidades de metais. Estas plantas são usadas para remover, transformar ou estabilizar contaminantes, incluindo poluentes orgânicos e metais tóxicos de águas, sedimentos ou solos. É o processo mais simples e barato para tornar os elementos do solo menos disponíveis [1,2]. Daí seu nome, união do termo 'fito', associado a planta e 'remediação', associado aos verbos remediar, corrigir, atenuar.

Segundo Salt *et al.* (1998)³ a fitorremediação pode ser dividida nas áreas (Figura 1.1): fitoextração, fitoestabilização, fitodegradação, fitovolatilização e rizofiltração. Plantas aptas à fitoextração possuem a habilidade de translocar o contaminante das raízes para a biomassa aérea; plantas fitoestabilizadoras possuem a capacidade de reduzir a biodisponibilidade do poluente no meio ambiente; plantas fitodegradadoras produzem substâncias orgânicas que estimulam o crescimento da biota do solo, a qual degrada compostos orgânicos perigosos; plantas volatilizadoras absorvem metais com esta característica e os volatilizam nas folhas; plantas rizofiltradoras absorvem grande quantidade de metais na raiz, principalmente de rios e efluentes [4,5].

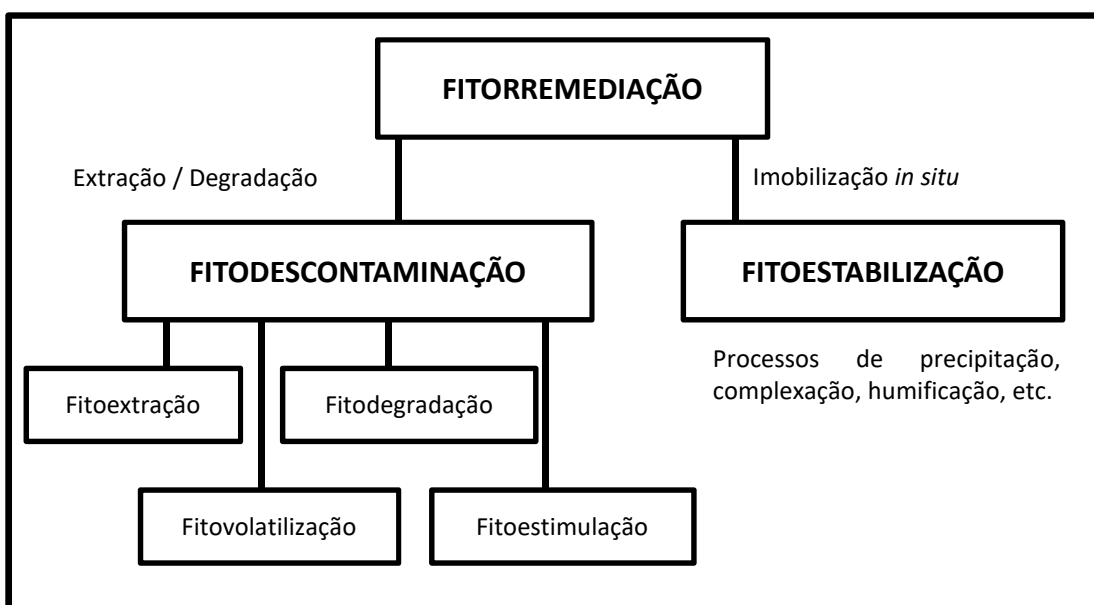


Figura 1.1. Processos de fitorremediação do solo. Fonte: Accioly e Siqueira, 2000⁶.

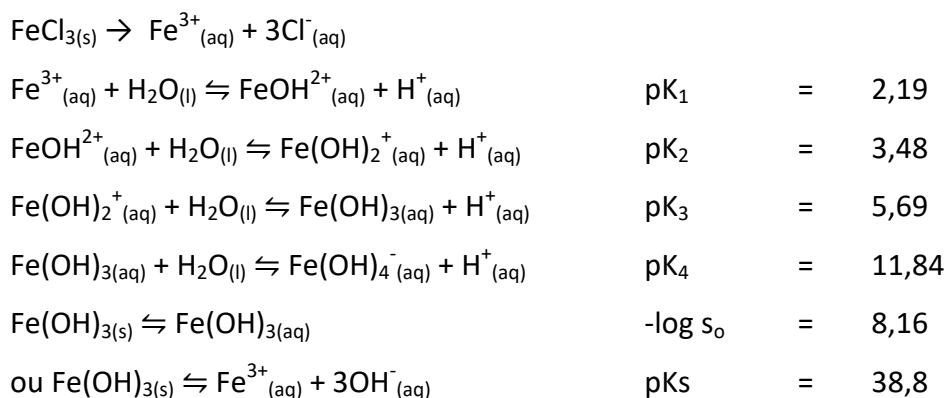
A fitorremediação tem como principal objetivo a remoção de grande quantidade de contaminante do solo ou do meio aquático e transferi-lo para o tecido da planta, o qual é eliminado após colheita. Para a remoção dos poluentes são usadas plantas hiperacumuladoras, que apresentam as seguintes características: acúmulo de quantidades elevadas do poluente no tecido da parte aérea, mesmo em baixa concentração do contaminante no ambiente a ser remediado; capacidade de acúmulo concomitante de diversos contaminantes; alta taxa de crescimento e produção de biomassa; resistência a pragas e doenças; capacidade de adsorção e concentração, bem como de tolerância ao contaminante [6,7]. Estas plantas apresentam crescimento lento, devido à deficiência de nutrientes e com isto necessitam de um longo período de tempo para a descontaminação [8].

Dependendo da concentração dos metais presentes no solo, estes podem ser tóxicos, nutrientes ou inertes para as plantas [8]. Isso por que, mesmo metais nutrientes, acima de uma concentração crítica, tornam-se tóxicos, levando a prejuízos ao desenvolvimento das plantas.

Em muitos casos, a biodisponibilidade dos metais para fitorremediação é limitada. Assim, uma prática muito estudada e apropriada para reforçar a fitorremediação é a adição de agentes quelantes que visa ampliar o potencial de fitoextração de nutrientes pelas raízes das plantas [9-11]. Vários estudos têm relatado o uso do EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético), também dos compostos biodegradáveis EDDS (ácido etilenodiaminodisuccínico), ou NTA (ácido nitrilotriacético), EDDHA (ácido etilenodiamino di[o-hidroxifenil acético]), e outros ligantes poliaminocarboxilatos como agentes quelantes adequados para ampliar a extração de metais a partir de substratos contaminados ou absorção do metal por diferentes espécies de plantas [12]. Esses agentes aumentam a disponibilidade dos metais na solução do solo devido à complexação e assim, elevam a mobilização dos mesmos nas frações trocáveis [11]. O uso de agentes quelantes deve ser criterioso e é aconselhável a sua aplicação quando a planta apresenta uma alta taxa de crescimento, para evitar risco de lixiviação dos metais complexados e dos ligantes dissolvidos na solução do solo, que neste caso podem afetar o lençol freático, aquíferos, etc. [13].

1.2. Complexo de Ferro na nutrição de plantas

A deficiência de ferro é um problema comum para muitas plantas cultivadas em solos alcalinos e calcários, em que se usa o cloreto de ferro para tratar da deficiência deste íon [14, 15]. O problema está associado à baixa solubilidade do seu hidroxocomplexo neutro, conforme pode-se observar nas equações químicas dos sistemas ferro (III), sob a perspectiva de um sistema ácido-base de Brönsted [16, 17].



além de complexos polinucleares não apresentados.

Apenas abaixo de pH 3,0 há mais de 90% do aquocomplexo de ferro(III) em solução ($\text{Fe}^{3+}_{(aq)}$). Em valores de pH acima de 5,5, há menos de $1,0 \cdot 10^{-4}\%$ dessa espécie química.

Dessa maneira, no solo, o ferro(III) solúvel está presente na forma de complexos com sideróforos (ligantes polidentados produzidos por bactérias e fungos na rizosfera); fitosideróforos (poliaminocarboxilatos produzidos pelas plantas) e ácidos orgânicos de baixa massa molar presentes na solução do solo.

Para auxiliar no aumento da disponibilidade de íons ferro(III) para absorção por plantas, a introdução de outros complexos de ferro são amplamente utilizados em fertilização, devido à sua elevada estabilidade e solubilidade. Os complexos de Fe (III) com os ácidos poliamino-carboxílico com grupos fenólicos (ver Fig. 1.2), são os mais usados como fertilizantes, tais como EDDHA (ácido etilenodiamino di[o-hidrofenilacético]), o EDDHMA (ácido etilenodiamino-N, N-bis[2-hidroxi-4-metilfenilacético]) e o EDDHSA (ácido etilenodiamino-N,N'-di[(2-hidroxi-5-sulfofenil) acético]), por serem os mais eficazes [18].

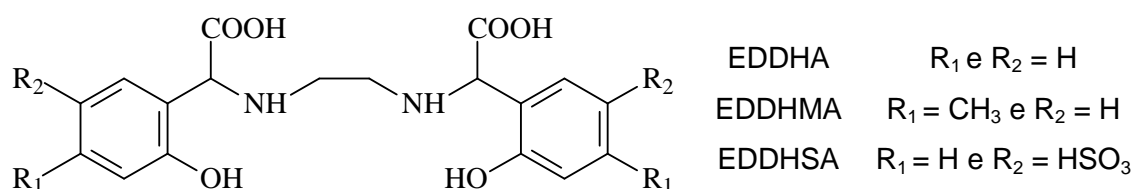


Figura 1.2: Estrutura molecular dos ligantes de Fe(III) usados como fertilizantes.

Estudo comparativo sobre a eficácia dos complexos Fe(III)-EDDHMA, Fe(III)-EDDHA, Fe(III)-EDTA, Fe(III)-DTPA e Fe(III)-HEDTA e sais de cloreto de ferro (III) e sulfato de ferro(II) na nutrição de plantas cítricas por fertirrigação, mostrou que o uso do complexo Fe(III)-EDDHMA deixou as plantas com menor deficiência de ferro em relação ao uso do sulfato de ferro(II). O uso deste complexo bem como o do Fe(III)-EDDHA favoreceram um maior crescimento das plantas em comparação com o uso dos outros complexos [19]. Esses resultados corroboram a explicação prévia para a solubilização do ferro (III) na forma de quelatos [20], comparado com ligantes fracos, tais como o cloreto ou sulfato.

Esses tipos de ligantes polidentados também têm sido utilizados em fertilizantes para evitar a deficiência de ferro em vegetais cultivados em solos calcáreos. Nestes solos, os fertilizantes férricos $Fe_2(SO_4)_3$ e Fe(III)-EDTA apresentam baixa eficiência de correção de deficiência [19]. No entanto, o custo de aplicação de quelatos mais estáveis como Fe-EDDHMA é elevado, o que justifica uma busca por fontes mais baratas de ferro em substratos com pH mais baixo (onde a fração no equilíbrio do aquocomplexo é maior) ou uso de sistemas que liberem de forma controlada o complexo.

1.3. EDTA

Ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), na forma totalmente desprotonada é um forte agente quelante que pode aumentar a solubilidade de metais (na forma de complexo 1:1), aumentando assim a mobilidade dos metais no ambiente. Dentre os ligantes polidentados, o $EDTA^{4-}$ é o mais conhecido e estudado, sendo um ligante hexadentado, com 2 grupos amínicos e 4 grupos carboxílicos (Figura 1.3).

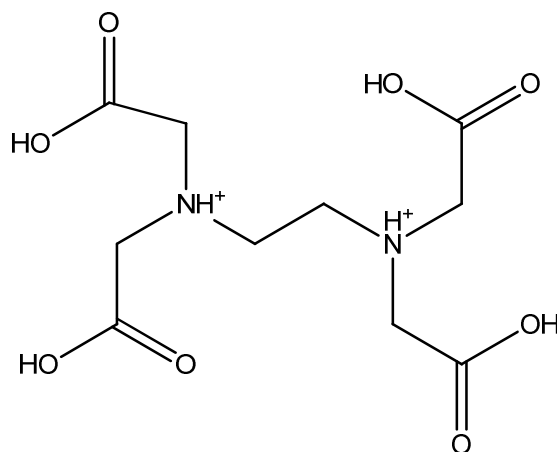
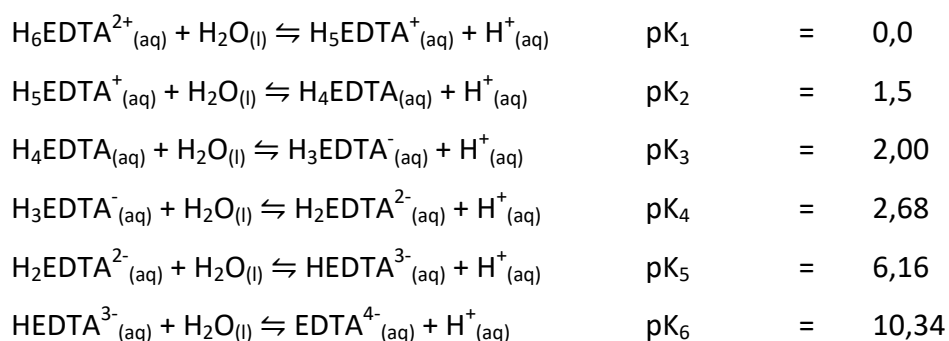


Figura 1.3. Estrutura química do EDTA na forma totalmente protonada (H_6EDTA^{2+}).

O EDTA apresenta comportamento ácido-base de Brønsted, sendo hexaprotonado e simbolizado por H_6EDTA^{2+} . A forma totalmente protonada é considerada um ácido forte ($pK_1 < 1$). Seu maior pK_a (pK_6) é igual a 10,34, conforme pode-se observar nas equações químicas abaixo.



Os primeiros quatro valores de pK correspondem aos prótons da carboxila, e os dois últimos correspondem aos prótons dos grupos amônio.

A estrutura espacial do complexo do EDTA com um metal com número de coordenação igual a seis é apresentada na Figura 1.4.

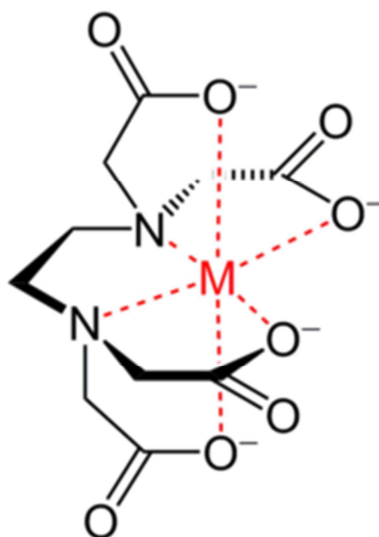


Figura 1.4. Estrutura do complexo $[M-EDTA]^{n-4}$, considerando M, um metal com número de coordenação igual a seis. (FONTE: Skoog, 2006)²¹

Na Figura 1.5 A é apresentado o diagrama de distribuição de espécies do $EDTA^{4-}$ e na Figura 1.5.B, o diagrama na forma logarítmica.

Pode-se observar que a fração de equilíbrio do $EDTA^{4-}$ (α_6) predomina em soluções, quando o pH está acima de 10,34 ($\alpha_6 > 0,5$). Entretanto, devido às elevadas constantes de estabilidade de complexos, mesmo quando sua fração de equilíbrio for baixa, a complexação ainda ocorre de maneira significativa, como é demonstrado pela constante condicional de estabilidade, que compensa o efeito do pH (Eq. 1.1). Assim, por exemplo, embora a constante de estabilidade do complexo Fe(III)-EDTA seja alta ($\log \beta = 25,1$; $\mu = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$), o valor da constante condicional entre o pH 5,5 e 7,0 ($\log \beta^{\text{cond}}$) varia entre 14,0 e 12,1, respectivamente, os quais são valores ainda bastante elevados.

$$\log \beta^{\text{cond}} = \log \beta + \log \alpha_o(\text{Metal}) + \log \alpha_6(\text{EDTA}) \quad (1.1)$$

É interessante ressaltar que embora alguns autores consideram que outras espécies protonadas desse ligante podem formar complexos bastante estáveis com diversos metais, essa afirmação não é suportada pelas constantes de equilíbrio determinadas experimentalmente [16].

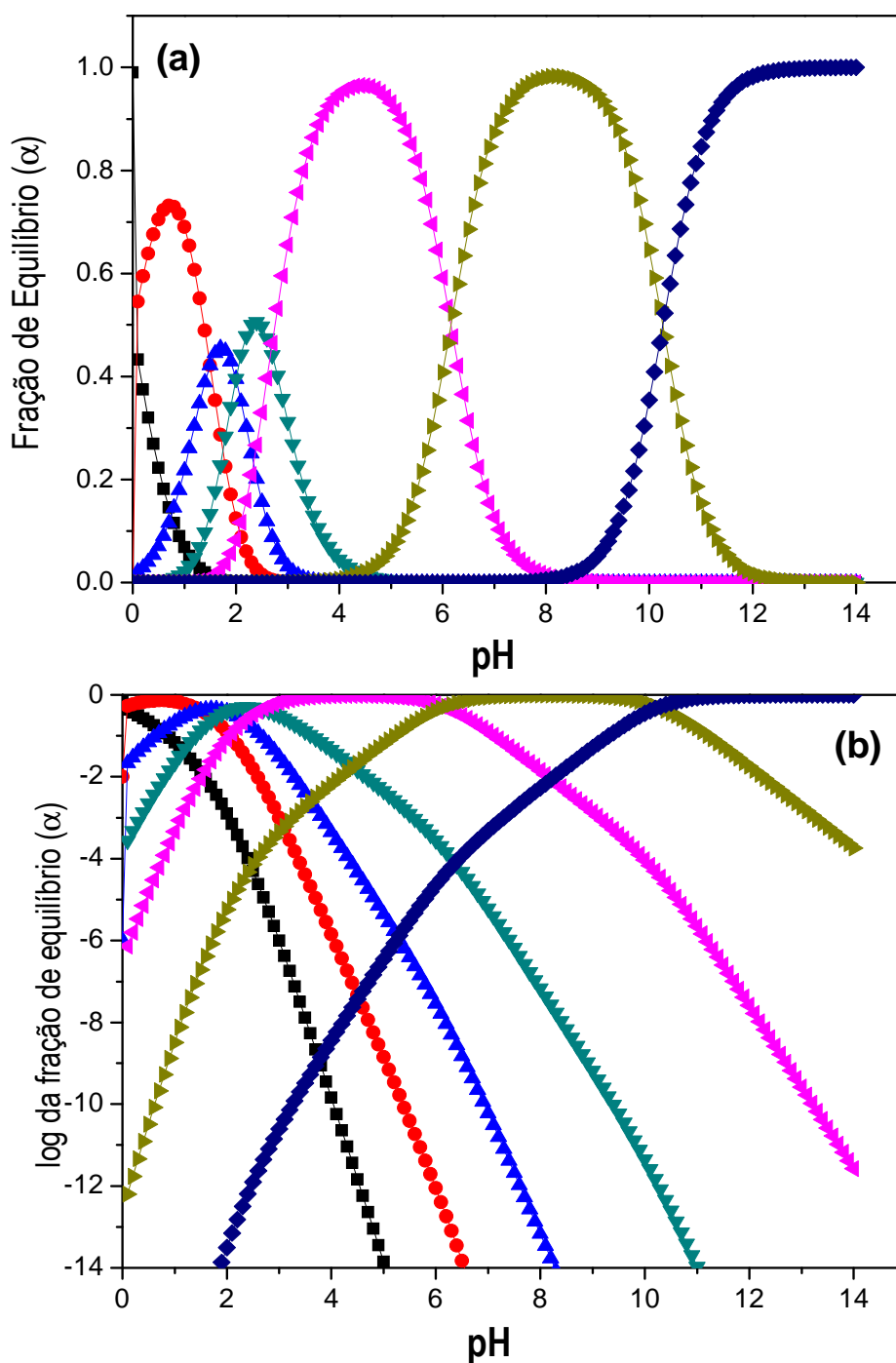


Figura 1.5. Diagrama de distribuição de espécies do $\text{H}_6\text{EDTA}^{2+}$ (a), destacando a forma logarítmica da fração de equilíbrio (b). (■) α_0 , (●) α_1 , (▲) α_2 , (▼) α_3 , (◄) α_4 , (►) α_5 , (◆) α_6 .

O EDTA é amplamente utilizado em diversos produtos comerciais, como por exemplo em shampoos, devido à sua capacidade de formar complexos estáveis e solúveis com íons metálicos [17,22 e 23]. Assim, grandes quantidades de EDTA são descartados no meio aquático acarretando fortes impactos ambientais, não só devido ao aumento da concentração dessa

substância que é recalcitrante e tóxica [24-26], como também em função do aumento da mobilização (dissolução) de metais do solo e de sedimentos. Em função disto, há um aumento da concentração de metais em águas e conseqüentemente um aumento da absorção desses pelas plantas [27].

1.4. Liberação Controlada

Os estudos de liberação controlada de insumos agrícolas ou fármacos têm como objetivo manter os compostos dentro de uma faixa de concentração eficaz. É desejado que a liberação alcance a faixa de concentração eficaz de forma rápida, que o processo não seja sensível, que não seja bloqueado por fatores ambientais, ou que utilize vários mecanismos [28,29]. Durante o processo de aplicação de fármacos, micronutrientes ou insumos agrícolas pode ocorrer perda do material de interesse. Em função disto tem-se estudado extensivamente diferentes propostas para diminuir as perdas com base, principalmente, em suportes para estes produtos químicos [30]

Por exemplo, a liberação controlada de fármacos implica na associação, química ou física, dos fármacos com materiais biocompatíveis em sistemas que, quando administrados *in vivo*, tenham a capacidade de controlar a taxa de liberação do fármaco a partir desse mesmo sistema, e/ou conduzir o fármaco até o sítio específico em que este deve atuar. Estes sistemas são designados assim por sistemas de liberação controlada (SLC) de fármacos [28]. Diversas técnicas têm sido estudadas com a finalidade de se obter uma barreira que seja eficaz para a liberação. Dentre elas, as que têm demonstrado serem promissoras são lipossomas, micelas, emulsões, nanoesferas e sistemas poliméricos [28,31].

Assim, uma vantagem na liberação controlada é cinética de disponibilização prolongada, em função da transferência regulada por permeação de um ingrediente ativo de um reservatório para uma superfície alvo. O nível de concentração pré-determinada durante um período especificado de tempo deve ser mantido, que levará a administrações menos frequentes do produto de interesse em relação às formas convencionais (Figura 1.6). É importante ressaltar que na administração de medicamentos, a cinética de liberação é controlada também pela cinética de absorção, degradação, e excreção, obtendo-se um estado estacionário.

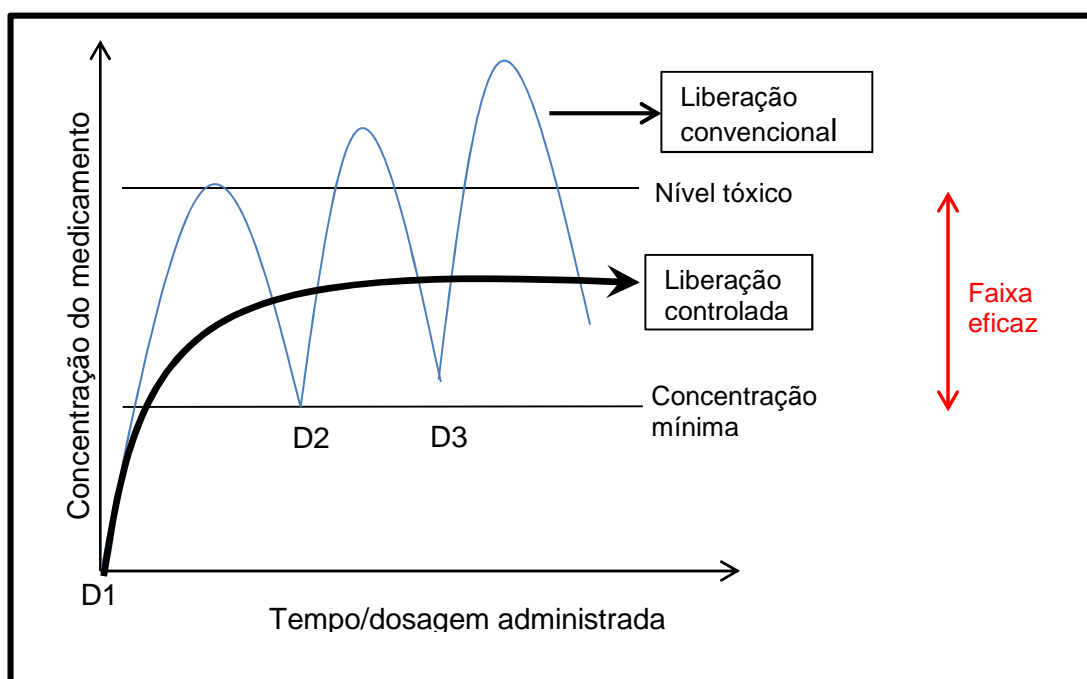


Figura 1.6. Mecanismo de liberação convencional e modificada. D1, D2 e D3 representam as doses de medicamentos administradas (Fonte: COSTA, 1999)³².

A liberação controlada de agrotóxicos também é um bom exemplo, uma vez que a aplicação dos agrotóxicos no meio ambiente é um grande problema ambiental. Resalta-se que apenas 0,1% dos produtos químicos utilizados na proteção das culturas alcançam a praga alvo, enquanto o restante entra no meio ambiente e pode causar riscos para outros organismos, incluindo os seres humanos [33].

Uma formulação de agrotóxicos ideal deve manter um nível do princípio ativo adequado para controle de pragas, e deixar o mínimo de resíduos no meio ambiente. O encapsulamento em uma matriz polimérica (que permite a liberação controlada) pode ajudar a prolongar a atividade [34,35], reduzir as perdas por evaporação, degradação [36] e lixiviação [37] e diminuir a toxicidade [38]. Quando um pesticida potente tem uma meia-vida curta no ambiente, estas formulações são especialmente vantajosas [39,40].

Os polímeros biodegradáveis utilizados incluem a quitosana [41,42], o alginato [43,44], a poliácridamida e o amido [45,46] e estes têm sido amplamente investigados para a construção de transportadores de agrotóxicos [47].

A liberação controlada também vem sendo estudada e aplicada na fertilização de plantas com o objetivo de reduzir os problemas associados com

o uso excessivo de fertilizantes e para isto é necessário reduzir a quantidade e a frequência da sua aplicação [48]. A liberação controlada é realizada utilizando uma barreira física para reduzir a taxa de dissolução dos fertilizantes. Suas características físicas do reservatório (ou sistema de matriz), juntamente com o mecanismo que regula a libertação de fertilizantes (difusão, inchaço ou degradação da matriz polimérica), pode modular o padrão de liberação dos nutrientes [49,50]. O que se busca com a nova tecnologia de encapsulamento de fertilizantes é que estes formem uma camada protetora contra os agentes causadores da perda de nutrientes e que esta proteção não interfira na disponibilização do nutriente para a planta.

1.5. Biopolímeros em Liberação controlada

1.5.1- Quitosana

A quitosana é obtida a partir da desacetilação da quitina. Esse polímero natural é muito abundante na natureza, fazendo parte de exoesqueleto (carapaça) de insetos, crustáceos e parede celular de fungos.

Ela é um polissacarídeo de elevada massa molecular, formado por longas cadeias de (1→4) 2-acetamido-2-desoxi-D-glicose (N-acetil-D-glicosamina), unidas entre si pelos seus carbonos 1 e 4 em ligações glicosídicas (Figura 1.7). Trata-se de um polímero insolúvel em água e em diversos solventes orgânicos, além de ser resistente, flexível, biodegradável e atóxico. Ocorre normalmente em 3 formas diferentes com relação à estrutura: α , β , γ -quitina. Industrialmente é obtida a partir de carapaça de crustáceos, oriundos de resíduos de indústrias de processamento de frutos do mar [51,52].

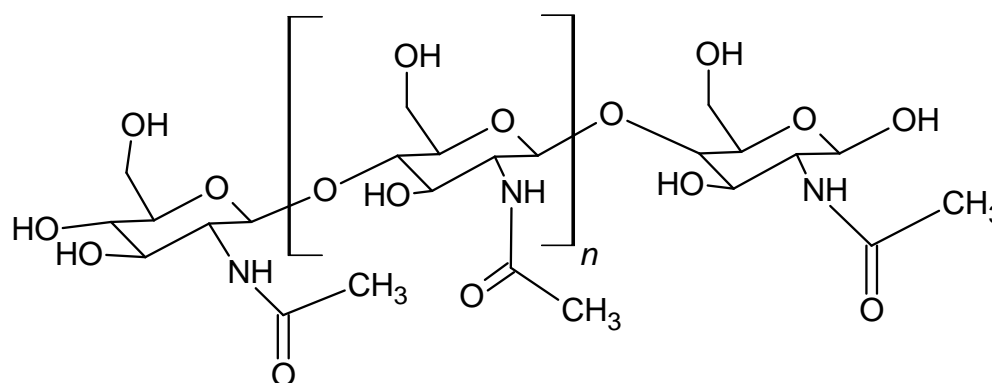


Figura 1.7: Estrutura química da Quitina. (Fonte: AZEVEDO, 2007)⁵¹

A vantagem da quitosana sobre a quitina (Figura 1.8), é que sua solubilidade aumenta consideravelmente com controle do pH, ou seja, é solúvel em ácidos orgânicos diluídos, tais como ácido acético, ácido fórmico, ácido láctico, etc. [53-55], possibilitando assim o seu uso em diversos setores. O grau de desacetilação é geralmente maior que 60%.

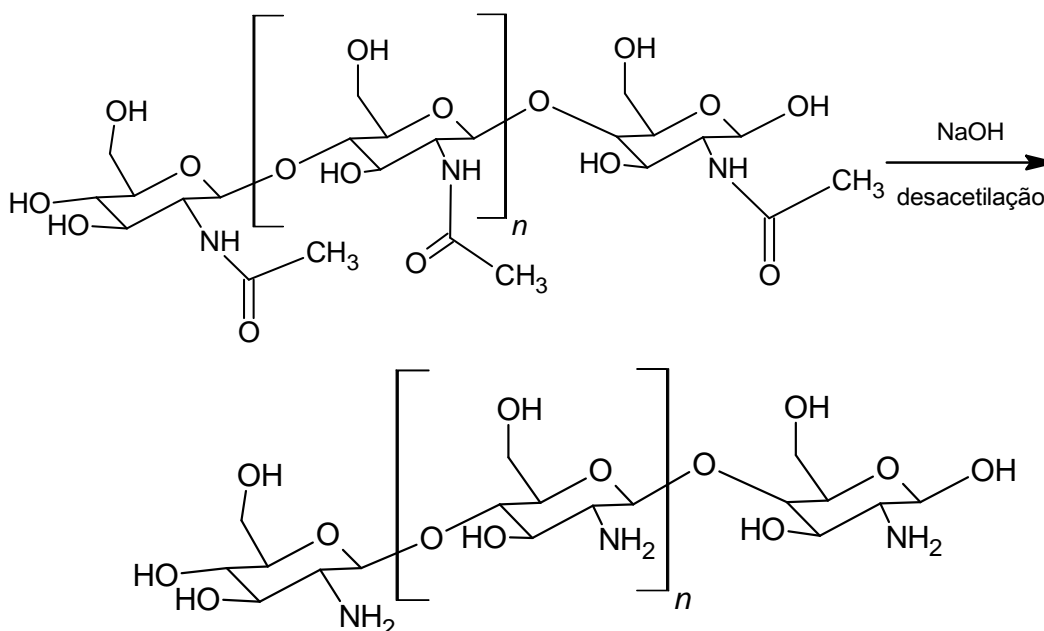


Figura 1.8: Obtenção de quitosana por meio da desacetilação de quitina. Fonte: (Nagireddi *et. al.*, 2016)⁵⁵

Sua reatividade está associada principalmente à presença de grupos amínicos. Devido ao comportamento ácido-base de Brønsted das aminas (com pKa médio próximo a 6,5), a forma química protonada é catiônica, e assim a quitosana é classificada como um polieletrólito catiônico, um tipo de polímero pouco encontrado nos polissacarídeos naturais [56]. A espécie catiônica pode atuar como trocador aniônico fraco ou como agente de coacervação. A espécie neutra, por sua vez, devido à presença dos grupos amínicos neutros, pode atuar como nucleófilo e como ligante, de maneira que podem complexar metais, ou mesmo participar de reações tais como acetilação, peptização, etc. [57]. Além disso, a quitosana pode ser facilmente modificada e preparada de diferentes formas físicas, tais como esferas, microesferas, microcápsulas, nanopartículas, membranas, gel, esponjas e fibras ou fibras ocas para aplicação em vários campos da ciência, como no tratamento de água, biomedicina, indústria têxtil, indústria de cosméticos, etc [58-65].

Para tornar a quitosana quimicamente mais inerte e resistente ao meio ácido, costuma-se bloquear parte dos grupos amínicos com um reagente para formação de ligações cruzadas (*crosslinking*, ou reticulação). Esta modificação irá prevenir a dissolução da quitosana, melhorando certas propriedades, como tamanho de poros, resistência mecânica, estabilidade química, hidrofílicidade e biocompatibilidade, bem como aumentando sua seletividade e capacidade de adsorção de vários íons metálicos [59].

Este procedimento é realizado com moléculas de massa molar muito menor que da cadeia principal da quitosana e que possuem, no mínimo, dois grupos funcionais reativos que possibilitam a formação das ligações cruzadas entre as cadeias [66,67].

A reticulação da quitosana pode envolver os grupos amínicos neutros com bialdeídos glutaraldeído (pentano-1,5-dial) [68] (Figura 1.9) e glioxal [69] formando bases de Schiff (dupla ligação entre o carbono e o nitrogênio, sem hidrogênio ligado). A reticulação pode ser considerada uma reação irreversível e resiste a extremos de pH e temperatura [70]. O citrato [71] pode ser usado na reticulação para formar ligações peptídicas (grupo amida), que são menos resistentes a condições agressivas. A reticulação também pode ser realizada a partir dos grupos hidroxilas com epícloridrina (1-cloro-2, 3 - epóxi - propano) [72] para formar éteres (tanto pela reação do grupo epóxido quanto pelo grupo cloreto) [73].

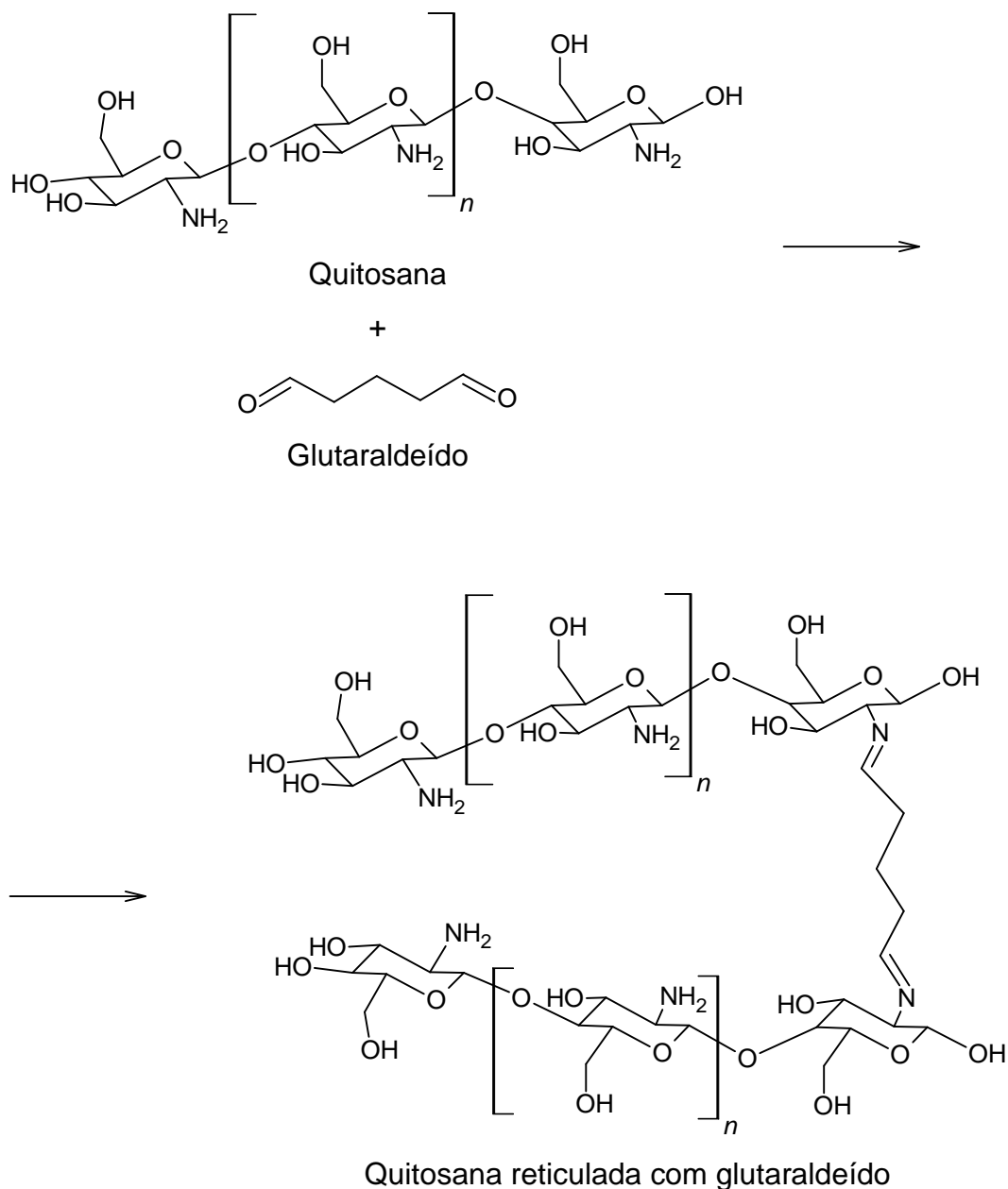


Figura 1.9: Reação de reticulação da quitosana com glutaraldeído. Fonte: (Nagireddi *et. al.*, 2016)⁵⁵

1.5.2. Ágar-Ágar

O ágar-ágar, também conhecido simplesmente como ágar ou agarose, é um hidrocolóide (polímeros de carboidratos, formado por mais de um tipo de monossacarídeo) extraído de diversos gêneros e espécies de algas marinhas vermelhas, da classe *Rodophyta*, principalmente das ordens Gelidiales (*Gelidium* spp., *Pterocladia* spp. e *Gelidiella* spp.) e Gracilariales (*Gracilaria* spp. e *Hydropuntia* spp.), onde ocorre como carboidrato estrutural na parede das células [74].

O ágar é usado como suporte de meio de cultura em microbiologia, na produção de alimentos, cosméticos e fármacos, dentre outras aplicações. É empregado em orquidários, onde os géis são utilizados como substrato para o desenvolvimento de plântulas (embrião vegetal já desenvolvido e ainda encerrado na semente ou também, planta recém-nascida) [75].

O ágar tem capacidade de gelificação em baixas concentrações, é estável em meio ácido, não apresentando reatividade com proteína. É insolúvel em água fria, porém expande-se consideravelmente e absorve uma quantidade de água de cerca de vinte vezes a sua própria massa, formando um gel não-absorvível no estômago não-fermentável e com a característica de ser atóxico. A dissolução em água quente é rápida e pode-se observar a formação de um gel firme a concentrações tão baixas quanto 0,5% (m/m). Além disso, tem um custo baixo quando comparado com outros materiais normalmente utilizados para a imobilização, como por exemplo, quitosana, polietileno e alginato de sódio [75].

O ágar vem sendo utilizado como agente de liberação controlada em comprimidos, géis, microesferas e formulações tópicas [76-78]. Ele já foi usado na liberação controlada de salbutamol, um medicamento utilizado para o tratamento da asma [79], e também na liberação controlada do metotexato, um medicamento usado no tratamento do câncer e doenças autoimunes [78].

1.6. Hidroponia

Segundo OSHE *et al.*, (2001) [80] o consumo de hortaliças tem aumentado não só pelo crescente aumento da população, mas também pela tendência de mudança no hábito alimentar do consumidor, tornando-se inevitável o aumento da produção. Por outro lado, o consumidor de hortaliças tem se tornado mais exigente, havendo necessidade de produzi-las em quantidade e qualidade, bem como manter o seu fornecimento o ano todo. Graças a essa exigência de mercado, o cultivo hidropônico em ambientes protegidos tem aumentado.

O cultivo hidropônico possui vantagens e desvantagens em relação ao cultivo tradicional a campo aberto e cultivo protegido em solo [81]. Como vantagens pode-se citar: o uso de pequenas áreas próximas aos centros urbanos, a obtenção de alta produtividade, possibilidade de disponibilizar um

produto de boa qualidade durante todo o ano, redução no uso de defensivos agrícolas, o uso eficiente e econômico da água e fertilizantes, menor risco de contaminação por patógenos, a dispensa da rotação de culturas e o controle de plantas daninhas. Como desvantagem pode-se mencionar o alto custo de implantação do sistema, acompanhamento permanente do sistema, dependência de energia elétrica, fácil disseminação de patógenos pelo sistema e pela própria solução nutritiva [82]. Além disso, o cultivo tradicional feito no solo exige, obviamente, disponibilidade de terras agricultáveis e o uso excessivo do solo pode causar desequilíbrios em sua microfauna, aumentando o nível de infestação de patógenos de solo, problema frequente em solos sob estufa. Assim, mesmo em países tropicais com abundância de terra como o Brasil, a hidroponia tem sido utilizada com bastante êxito [83].

1.7. Modelos cinéticos

O estudo da cinética de liberação ou adsorção de compostos é de fundamental importância para avaliação dos processos de liberação controlada ou de adsorção, de maneira a ser possível relacionar velocidade (taxa em função do tempo) de liberação ou adsorção com diversas variáveis, e otimizar esses processos para um fim específico.

Desta forma utilizam-se expressões empíricas que se ajustem aos dados experimentais para explicar o comportamento dos sistemas de liberação.

Devido à variedade de mecanismos tanto de adsorção quanto de liberação que podem ocorrer em um sistema, é usual o ajuste de modelos cinéticos pré-estabelecidos e a partir deles, inferir sobre os mecanismos ou, ao menos obter equações que descrevam o comportamento experimental do sistema. Dessa maneira, o uso de modelos teóricos, semi-empíricos e empíricos mostra-se uma estratégia interessante.

Modelos Cinéticos de Adsorção

Os modelos usualmente avaliados são: de pseudo primeira ordem [84], pseudo segunda ordem [85], difusão intrapartícula [86], Elovich [87] e Noyes-Whitney [88].

Um modelo cinético de pseudo-primeira ordem, ou seja, em que as concentrações de outros reagentes são altas o suficiente para serem consideradas constantes, é descrito pela equação cinética diferencial 1.2:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_1 c_t \quad (1.2)$$

em que a taxa de aumento da concentração do adsorvato no sólido (q_t) com o tempo (t), é diretamente proporcional à concentração (c_t) na solução. O k_1 é a constante de velocidade de adsorção de pseudo-primeira ordem.

A forma integrada e linearizada da equação 1.2 é:

$$\log(q_e - q) = \log(q_e) - k_1 \cdot \frac{t}{2,303} \quad (1.3)$$

onde q_e e q são as quantidades do analito adsorvidas no equilíbrio e no tempo t , respectivamente; k_1 é a constante de velocidade de adsorção de pseudo-primeira ordem. A constante k_1 pode ser calculada a partir da inclinação da reta do gráfico $\log(q_e - q)$ versus t .

A forma linearizada da equação da pseudo segunda ordem pode ser descrita pela Equação 1.4.

$$\frac{t}{q} = \frac{1}{k_2 \cdot q_e} + \frac{1}{q_e} \cdot t \quad (1.4)$$

onde, q_e e q são as quantidades adsorvidas no equilíbrio e no tempo t (minutos), respectivamente; k_2 é a constante de velocidade de pseudo-segunda ordem.

O modelo de difusão intrapartícula é descrito de acordo com a Equação 1.5.

$$q = kt^{0,5} \quad (1.5)$$

onde q é a quantidade adsorvida em mg g^{-1} no tempo t e k é a constante de transporte intrapartícula.

O modelo de Elovick é descrito de acordo com a Equação 1.6.

$$q = \frac{1}{a} \ln(1 + abt) \quad (1.6)$$

onde 'q' é a quantidade do analito adsorvida no tempo t, 'a' é a velocidade inicial e 'b', a constante de desorção do modelo de Elovick.

O modelo proposto por Noyes e Whitney (1897), Equação 1.7, é utilizado para explicar a cinética de dissolução de sólidos, onde a taxa de dissolução de um composto em solução é proporcional à diferença entre a concentração da solução num dado tempo e a concentração da solução no equilíbrio. Posteriormente, esse modelo foi explicado pelas 1ª e 2ª leis de Fick.

$$\frac{dC}{dt} = \frac{DS_w}{Vh} (C_s - C) \quad (1.7)$$

onde, C_s e C são as concentrações da espécie dissolvida no equilíbrio e no tempo t (minutos), respectivamente. D , o coeficiente de difusão da substância, S_w , área da superfície exposta do sólido, V , o volume da solução e a h , espessura da camada de difusão.

A forma integrada da equação 1.7 é:

$$q = q_e - (q_e - q_0)e^{-kt} \quad (1.8)$$

onde 'q' é a quantidade adsorvida do analito no tempo t, q_e e q_0 são as quantidades adsorvidas no equilíbrio e no início da operação, respectivamente; k é a constante cinética de Notes- Whitney.

1.8. Modelos de Isotermas de Adsorção

Vários modelos têm sido utilizados para explicar o equilíbrio da adsorção, relacionado a concentração no equilíbrio do adsorvato em solução e no sólido. Os principais são o modelo teórico de Langmuir e o modelo empírico de Freundlich. Os outros modelos usualmente baseam-se em um desses dois, ou mesmo em ambos, como por exemplo, o modelo de Sips.

1.8.1- Modelo de Freundlich

O modelo de isoterma Freundlich (Eq. 1.9) prevê a distribuição

exponencial de vários sítios com energias diferentes. O modelo descreve a sorção do adsorbato em multicamadas na superfície heterogênea do adsorbente [89-91].

$$Q_e = K_F \cdot C_e^{\frac{1}{n}} \quad (1.9)$$

onde K_F é a constante de Freundlich que é relativo à a capacidade sortiva do adsorbente, Q_e é a concentração de analito adsorvido, C_e é concentração de equilíbrio do analito no tempo t e $1/n$ é um parâmetro empírico que varia com o grau de heterogeneidade da superfície do adsorbente e indicam uma relação entre a concentração do analito na solução e a sua adsorção.

1.8.2. Modelo de Langmuir

O modelo isotérmico de adsorção de Langmuir (eq. 1.10) representa o equilíbrio na distribuição do adsorbato entre as fases líquida e sólida. O modelo assume que a adsorção ocorre em monocamada e em um número finito e homogêneo de sítios, onde a relação é de um adsorbato ocupando um sítio, e a energia de adsorção é constante e independe da ocupação dos sítios do adsorbente [89-91].

$$Q_e = \frac{q_m \cdot K_L \cdot C_e}{1 + K_L \cdot C_e} \quad (1.10)$$

onde q_m é a capacidade máxima de adsorção e K_L é a constante de Langmuir.

1.8.3. Modelo de Sips

O modelo de Sips (eq. 1.11) é a combinação dos modelos de Freundlich e Langmuir, e assume que em baixas concentrações segue-se o comportamento do modelo de Freundlich, considerando uma adsorção heterogênea, enquanto que em altas concentrações segue o modelo de Langmuir, considerando a existência de um ponto de saturação [91-93].

$$Q_e = \frac{q_{mS} \cdot K_S \cdot C_e^{a_S}}{1 + K_S \cdot C_e^{a_S}} \quad (1.11)$$

onde q_{mS} expressa a capacidade máxima de adsorção, K_S é a constante de Sips, e a_S é o expoente do modelo de Sips, cujo valor pode variar de 0 a 1.

1.9. Planejamento Experimental

Um dos problemas mais comuns que o químico analítico pode enfrentar é a determinação da influência de uma ou mais variáveis sobre outra variável de interesse. O primeiro passo é determinar quais são os fatores e as respostas de interesse para o sistema de estudo, e então avaliar a influência teórica dessas variáveis (ou fatores) sobre a resposta, assim avaliar como quais faixas de valores levarão a variações significativas da resposta.

As variáveis podem ser tanto qualitativas (como o tipo de catalisador, tipo de agitação) como quantitativas (como a temperatura, o pH e a concentração). Dependendo do problema, pode haver mais de uma resposta de interesse. Eventualmente essas respostas também podem ser qualitativas [95].

O Planejamento de Experimentos (em inglês *Design of Experiments*, DOE), em química, é um nome usualmente atribuído às técnicas que permitem determinar simultaneamente os efeitos individuais e das interações de muitas variáveis (ou fatores) que podem influenciar uma resposta em um certo estudo. Ou seja, que definem quais variáveis, em que quantidade e em que condições devem ser coletadas durante o estudo, buscando, basicamente, satisfazer três grandes objetivos: a maior precisão estatística possível na resposta, menor tempo para obtenção do resultado e o menor custo. É, portanto, uma técnica de extrema importância para a indústria, pois seu emprego permite resultados mais confiáveis economizando dinheiro e tempo [85]. Entretanto, para trabalhos científicos, os dois últimos objetivos são desejáveis, mas não podem comprometer o primeiro.

Com esse objetivo, o planejamento experimental pode ser definido de uma maneira mais adequada, como o uso de técnicas experimentais univariáveis (uma variável é alterada por vez) e multivariáveis (ou multivariada, termo inadequado, mas muito utilizado) de maneira a obter a maior

compreensão da importância das variáveis sobre a resposta, buscando o menor número de experimentos e menor custo.

Assim, o planejamento experimental multivariáveis é uma ferramenta eficaz para maximizar a quantidade de informações obtidas a partir de um estudo, minimizando a quantidade de dados a serem coletados, investigar os efeitos de muitos fatores diferentes, variando-as simultaneamente em vez de mudar apenas um fator de cada vez. O efeito entre os fatores ocorre quando há alteração na resposta, em função de um fator que altera de um nível baixo para o nível alto, dependendo também do nível de um outro fator. Em outras palavras, quando uma interação está presente entre dois fatores, o efeito combinado entre eles sobre a variável resposta não pode ser previsto a partir da análise dos efeitos separados. O efeito dos dois fatores que atuam combinados pode ser maior (sinergia) ou menor (antagonismo) do que seria esperado a partir da análise separada de cada um deles [94]. Geralmente, em um planejamento experimental, os ensaios são executados em todas as combinações dos níveis dos fatores, normalmente dois ou três [94,95].

Dentre os planejamentos de experimentos utilizados em química, os principais são o planejamento fatorial e o planejamento baseado na matriz de Doehlert.

1.9.1. Planejamento Fatorial

O planejamento fatorial, como técnica de otimização, é classificado como método do tipo simultâneo e geralmente é utilizado para selecionar as variáveis que realmente apresentam influências significativas na resposta. Também permite saber se uma variável apresenta um efeito positivo ou negativo na resposta quando a mesma passa de um nível para outro e se as variáveis são independentes ou apresentam interações. Além disso, o planejamento fatorial, em alguns casos favoráveis pode ser usado não só para localizar o ótimo, como também para obter a superfície de resposta para o sistema estudado [94].

Nos experimentos fatoriais, as variáveis são alteradas de forma simultânea, onde são investigadas todas as combinações possíveis dos níveis de cada variável. O planejamento fatorial pode ser representado de uma maneira geral por b^a , que também representa o número de experimentos

mínimos, onde a é o número de variáveis estudadas e b é o número de níveis escolhidos. Podem-se ter, também, variáveis com valores de b diferentes para cada variável (fatorial $2^1 \times 3^1 \times 5^1$, isto é, 2, 3 e 5 são níveis para as variáveis). Os fatoriais do tipo 2^a são os mais comuns de serem estudados em química analítica. Dependendo do número de variáveis pode-se fazer um planejamento fatorial completo ou fracionado [94].

Uma grande desvantagem desse planejamento com dois níveis é a avaliação de variáveis com comportamento não-monótono, ou seja, o valor da resposta não aumenta (ou diminui) continuamente com a variação do fator. Outra desvantagem é que o uso de mais níveis leva a um aumento muito desfavorável do número de experimentos.

1.9.1.1. Planejamentos fatoriais completos

Para realizar um planejamento fatorial, escolhe-se um número de níveis para cada uma das variáveis e efetuam-se experimentos em todas as combinações possíveis destes níveis selecionados, onde são investigadas as influências de todas as variáveis experimentais de interesse e os efeitos das interações na resposta. Cada um desses experimentos, em que o sistema é submetido a um conjunto de níveis definido, é um ensaio experimental. Como o número mínimo de experimentos é dado também por b^a , quando um número muito grande de variáveis será investigado aumenta-se consideravelmente o número de ensaios do planejamento.

Entretanto, tem sido observado que há uma probabilidade muito pequena da existência de interações entre mais de duas variáveis. Desta maneira, com um número menor de experimentos, é possível obter informações dos efeitos mais importantes e retirar, na maioria das vezes, as mesmas conclusões caso fosse realizado um planejamento fatorial completo. Para isso é utilizado o planejamento fatorial fracionário.

1.9.1.2. Planejamentos Fatoriais Fracionários

A maior aplicação prática deste tipo de planejamento fatorial é na seleção de variáveis. Nesta aplicação, um grande número de variáveis que podem influenciar no sistema é considerada. Neste caso, o experimento fatorial

é fracionado a fim de identificar quais variáveis influenciam no processo e, posteriormente, realizar um experimento mais detalhado, somente com as variáveis que o influenciam.

Neste tipo de planejamento temos 2^{k-b} , em que k é o número de variáveis e b é o tamanho da fração. O tamanho da fração influenciará no número de efeitos a ser estimado e, conseqüentemente, no número de experimentos necessários [96].

1.9.2. Matriz Dohelert

O planejamento experimental baseado na Matriz Doehlert é uma alternativa bastante útil em química, comparado aos planejamentos experimentais fatoriais e mesmo aqueles de segunda ordem. Isso porque ele permite o uso de diferentes níveis para cada variável, melhorando a compreensão das variáveis, sem aumentar excessivamente o número de experimentos e permitindo também a construção de superfícies de respostas.

Em um planejamento de duas variáveis, por exemplo, uma variável é estudada em cinco níveis, enquanto a outra é estudada em apenas três níveis. Como regra geral, é preferível escolher a variável com o efeito mais significativo ou mesmo não-monótona, como o fator com cinco níveis, a fim de se obter mais informações do sistema [97,98].

Do ponto de vista matemático, este planejamento descreve um domínio experimental esférico e com uniformidade no preenchimento do espaço [94].

Para duas variáveis, a Matriz Doehlert consiste de um ponto central e seis pontos que formam um hexágono regular, e, portanto situadas no perímetro de um círculo (Figura 1.10).

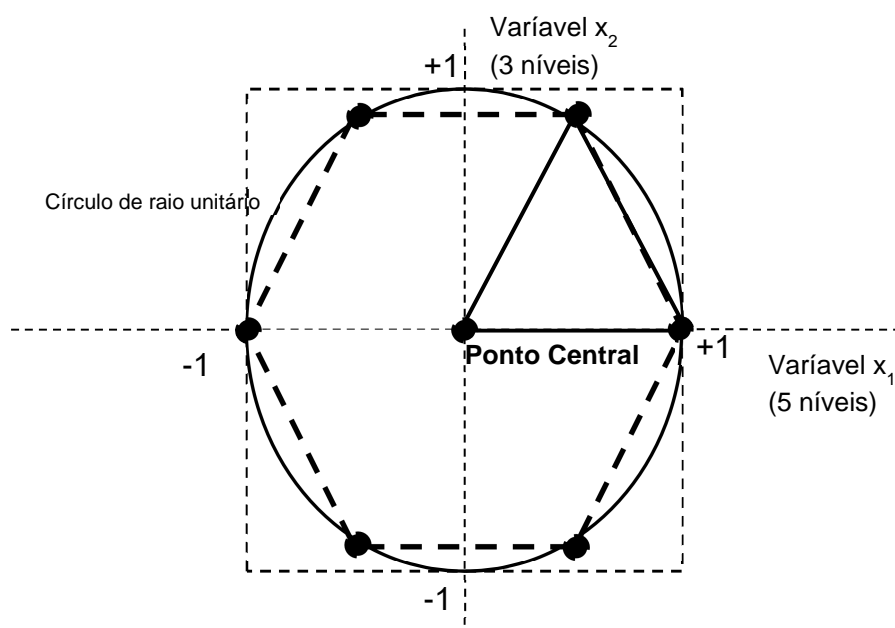


Figura 1.10: Matriz de Doehlert para duas variáveis.

Outra vantagem da Matriz de Doehlert é a utilização de um menor número de experimentos em relação ao planejamentos de segunda ordem, como o composto central. Por exemplo, para planejamentos com duas variáveis se tem um total de 7 experimentos e para três variáveis são 13 experimentos (Figura 1.11). A distribuição espacial destes experimentos estão localizados nos vértices de um hexágono (2 variáveis) ou de um cuboctaedro (3 variáveis) e uma característica em comum destes planejamentos é a presença de um ponto central [98].

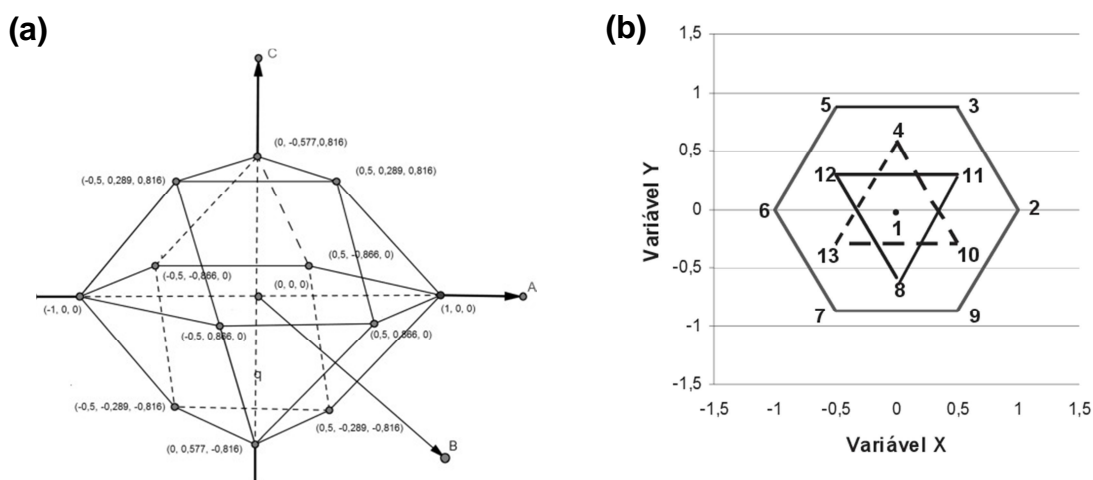


Figura 1.11. (a) Representação tridimensional da matriz de Doehlert de 3 variáveis e (b) sua projeção no plano xy. Cada ponto encontra-se na superfície de uma esfera (não apresentada). (FONTE: Escaleira, 2005)⁹⁹

Conforme é apresentado na figura 1.12, a matriz de Doehlert devido ao seu formato geométrico possibilita a expansão do seu domínio experimental utilizando poucos pontos experimentais a mais. Por exemplo, com o acréscimo de três pontos experimentais é possível formar um novo hexágono, já que o próximo hexágono utiliza pontos experimentais já explorados pelo hexágono anterior. Isto permite melhorar os resultados sem elevar muito o número de experimento, quando comparado como outras técnicas de planejamento experimental [97,100].

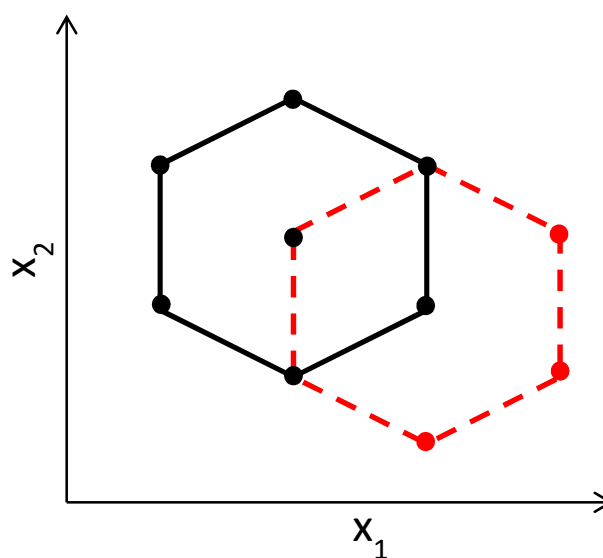


Figura 1.12. Planejamento Doehlert para duas variáveis: Hexágono (—) obtido pelo primeiro planejamento e hexágono (- - -) obtido utilizando pontos experimentais já explorados anteriormente. (FONTE: Teófilo, 2006)⁹⁷

A Matriz de Doehlert foi ignorada por alguns livros de referência bem conhecidos [94,101-104], apesar de na última década ter ocorrido um aumento nas publicações sobre as aplicações dessa Matriz (comparáveis com os modelos mais tradicionais, tipo os planejamentos fatoriais) [98]. Somente recentemente os projetos envolvendo Matriz de Doehlert foram reconhecidos em alguns livros clássicos [105-108].

Recentemente artigos científicos vêm utilizando a Matriz de Doehlert, como por exemplo, na otimização das condições: para degradação do Verde de Metileno por técnicas eletroquímicas com eletrodo de diamante dopado com boro [109], na determinação de neomicina [110], na fabricação de um tecido têxtil emissor de luz com fibra óptica de plástico [111] e na degradação do ácido de bromoamina [112], entre outros.

1.9.3. Seleção de variáveis baseadas no procedimento *stepwise* de Modelos de Regressão Múltipla

O procedimento de seleção de variáveis do tipo *stepwise* [113] é um modelo baseado na inclusão e exclusão de variáveis através de uma regra de decisão. Como muitos dos termos de uma dada regressão linear múltipla, podem não auxiliar na explicação da resposta, utiliza-se o procedimento tipo *stepwise* para obter um modelo mais simples e que explique a influência das variáveis sobre a resposta estudada. Os termos que não diferem significativamente de zero, avaliado pelo teste t – Student a 95% de confiança são eliminados do modelo e desta forma uma nova regressão linear múltipla é obtida (e assim a variância do sistema é redistribuída entre os termos de acordo com o método dos quadrados mínimos), até que apenas termos significativamente diferentes de zero estejam presentes no modelo [113-116].

Capítulo 2- Liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA da matriz polimérica de ágar-ágar

2.1. INTRODUÇÃO

O ferro é um micronutriente essencial para o crescimento das plantas. A deficiência de ferro é um problema comum a muitas plantas, quando cultivadas em solos alcalinos e calcários, pois causa o sintoma conhecido como clorose de ferro [14,15]. A eficiência das fontes de ferro usadas para corrigir este problema depende do tipo de solo onde esta sendo aplicado, das propriedades químicas e da pureza do produto.

O uso de ligantes polidentados (também chamados de quelatos) é reconhecido como a forma mais eficaz de prevenir e corrigir a maioria das carências de micronutrientes em uma ampla variedade de culturas. Esses ligantes formam complexos estáveis com metais, mantendo-os em solução e apresentando cargas elétricas favoráveis à absorção. Entretanto o uso dos ligantes sintéticos têm sido criticado devido às suas baixas biodegradabilidades e possibilidade de solubilizar metais pesados na solução do solo, que podem permear através do solo atingindo os lençóis freáticos ou aquíferos e contaminando-os [11,13].

Quelatos de FeEDDHMA, FeEDDHSA e FeEDDHA têm sido utilizados com sucesso como fontes de ferro para remediação de clorose em solos alcalinos e calcários. O problema é que estes quelatos são caros. Além disto, o real teor destes complexos nos produtos comerciais é duvidoso. Vários estudos têm revelado que apenas cerca da metade do ferro está presente como FeEDDHA [117]. A composição e especiação do resto do ferro em grande parte do produto comercializado é desconhecida, mas tem sido atribuída possivelmente à isômeros de posição do FeEDDHA [18].

A utilização de biopolímeros para o encapsulamento de micronutrientes vem sendo sugerida devido à facilidade de sua produção, custo mais baixo e boa capacidade de separação. Além disto, estes materiais oferecem uma nova estratégia "verde" para o projeto de absorventes com propriedades de sorção ajustáveis.

Os biopolímeros apresentam potencial de uso em razão das possibilidades lucrativas para usos industriais, tanto nacional, quanto

internacional [118]. A capacidade de ligação com a água faz dos carboidratos os materiais mais utilizados para encapsulação [119]. Microencapsulação pode ser definida como um processo de empacotamento de materiais sólidos, líquidos ou gasosos em cápsulas, as quais podem liberar o conteúdo de forma controlada e sob condições específicas [120].

Na forma encapsulada, o micronutriente apresenta proteção contra condições adversas do ambiente como baixos valores de pH, temperatura, umidade e presença de oxigênio. Vários mecanismos podem ser utilizados para desencadear a liberação controlada do agente ativo, como a mudança de pH, estresse mecânico, temperatura, atividade enzimática, entre outros [121].

Assim, uma grande vantagem na liberação controlada é a cinética de disponibilização prolongada em função da transferência regulada. A permeação de um ingrediente ativo de um reservatório para uma superfície alvo, mantém um nível de concentração pré-determinada durante um período especificado de tempo. Com isso administrações menos frequentes do produto de interesse em relação às formas convencionais [30].

Entre os diferentes métodos de imobilização, o uso de géis pode ser uma das melhores escolhas, uma vez que é um processo fácil de ser feito e além disto não são tóxicos.

O ágar-ágar, também conhecido simplesmente como ágar ou agarose, é um hidrocolóide (polímeros de carboidratos, formado por mais de um tipo monossacarídeo) extraído de diversos gêneros e espécies de algas marinhas vermelhas, da classe *Rhodophyta*, principalmente das ordens Gelidiales (*Gelidium* spp., *Pterocladia* spp. e *Gelidiella* spp.) e Gracilariales (*Gracilaria* spp. e *Hydropuntia* spp.), ocorre como carboidrato estrutural na parede das células [74]. Ele tem forte capacidade de gelificação. É estável em meio ácido e não apresenta qualquer reatividade. Além disso, o seu custo é baixo quando comparado com outros materiais normalmente utilizados para a imobilização [75], com quitosana, alginato e a poli(acrilamida).

No presente estudo, o complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA foi imobilizado em gel de ágar-ágar, e os parâmetros pH, superfície de contato e teores de ágar-ágar foram estudados em função dos parâmetros do modelo cinético que melhor se ajustou ao processo de liberação do complexo.

2.2. OBJETIVOS

2.2.1. Objetivo geral

- Avaliar a liberação controlada do complexo de Fe(III)-o,o-EDDHMA disperso na matriz polimérica de ágar-ágar.

2.2.2. Objetivos específicos

- Desenvolver um método para a quantificação de Fe(III)-o,o-EDDHMA;
- Avaliar o encapsulamento do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA na matriz polimérica (ágar-ágar).
- Analisar a cinética de liberação do complexo imobilizado em matriz de ágar-ágar avaliando-se os parâmetros tais como, pH, superfície de contato e teor de ágar-ágar.

2.3. MATERIAIS E MÉTODOS

2.3.1. Equipamentos

Para a determinação do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA foi utilizado um espectrofotômetro com arranjo linear de diodos (*diode-array*, Agilent 8453A), utilizando uma cubeta de quartzo de 10 mm de caminho óptico. Um forno de micro-ondas Ethos Plus (Milestone) foi utilizado nos processos de digestão.

2.3.2. Reagentes e Soluções

Todas as soluções foram preparadas com os reagentes de grau analítico e de elevada pureza, em água tipo 1, obtida com um sistema Milli-Q[®] (Millipore, Bedford, MA, EUA).

Soluções tampão foram preparadas em diferentes valores de pH na concentração de 1,0 mmol L⁻¹ pela dissolução/diluição de quantidade apropriada de seus reagentes em água e o valor de pH foi ajustado utilizando-se soluções de NaOH 1,0 mol L⁻¹ e HCl 1,0 mol L⁻¹ e o volume completado em balão volumétrico. A solução tampão de pH 3,0 e 7,0 foram preparadas a partir do ácido fosfórico (Vetec). A solução tampão em pH 5,0 foi preparada a partir de ácido acético glacial (Vetec) e em pH 9,0 utilizou-se o ácido bórico (Vetec). Para o estudo do pH 2,0 foi feita a uma diluição adequada de uma solução de ácido clorídrico concentrado (Vetec).

Neste estudo foi utilizado o reagente comercial do Fe(III)-o,o-EDDHMA (Ferrilene). A determinação da pureza do complexo foi realizada pela mineralização, em forno de micro-ondas Ethos Plus (Milestone) e determinação do teor de ferro total. A mineralização do complexo foi realizada com 100 mg de amostra e 5 mL de ácido nítrico concentrado (Vetec) em vasos de PTFE de 100 mL. Estes vasos foram colocados em forno de micro-ondas e aquecidas em duas etapas diferentes, sendo a primeira delas com uma rampa de aquecimento de 5 minutos até 180 °C e a segunda fixada nesta mesma temperatura por 15 minutos. Em ambas as etapas, a potência fixada foi de 1000 watts.

Em seguida filtrou-se a solução, em papel de filtro Whatman 42, recolhendo o filtrado em balão volumétrico de 25,0 mL completando-se o

volume com água destilada. O teor de complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA na amostra comercial foi relacionado com a concentração de ferro, a qual foi determinada em um espectrofotômetro de absorção atômica (VARIAN, modelo SpectrAA-200).

2.3.3. Desenvolvimento de método espectrofotométrico para a determinação do complexo Fe(III)-EDDHMA

2.3.3.1. Determinação do comprimento de onda de máxima absorção

Os espectros de absorção foram obtidos entre 190 a 1100 nm em um espectrofotômetro com arranjo linear de diodos (*diode-array*, Agilent 8453A), utilizando uma cubeta de quartzo de 10 mm de caminho ótico. Estes foram usados para a determinação do comprimento de onda de máxima absorção da solução do complexo de Fe(III)-o,o-EDDHMA a 1% (m/m) (6,0 mmol/L).

No intervalo 190 a 1100 nm, realizou-se a leitura da curva analítica de 0,0 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA, sendo está feita em cada unidade de comprimento de onda. Com os dados apresenta-se a sensibilidade analítica do complexo em toda a região do espectro. Além disto será possível avaliar a qualidade dos resultados, ajustando o modelo de regressão linear em função do 'número de noves' (N9) (Equação 2.1) [114].

$$N9 = -\log(1 - R^2) \quad (2.1)$$

onde R é o coeficiente de determinação.

2.3.3.2. Avaliação do pH para a quantificação do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA

Para avaliar o efeito do pH na determinação do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA, foram preparadas curvas analíticas do complexo em diferentes valores de pH. As curvas analíticas do complexo foram preparadas no intervalo de 10 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e foi utilizado como resposta a sensibilidade analítica da equação de regressão nos pH 2,0, 3,0, 5,0, 7,0 e 9,0.

2.3.4. Validação do método espectrofotométrico para a determinação do complexo Fe(III)-EDDHMA

As figuras de mérito avaliadas neste estudo para validação do método de determinação de Fe(III)-o,o-EDDHMA por espectrofotometria de absorção molecular foram seletividade, linearidade do método, limites de detecção e quantificação. Os procedimentos realizados na validação do método analítico proposto foram baseados nas orientações do Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial [122].

2.3.5- Obtenção do polímero Ágar-Ágar/Fe(III)-o,o-EDDHMA

2.3.5.1- Polímero de ágar-ágar em água

Para o preparo do polímero de ágar-ágar (Kanten) a 1,0% (m/m), 0,200 g de ágar-ágar e 0,050 g de complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA foram medidas em uma balança analítica (Sartorius BP 2215) e transferidos para um béquer de 50 mL. Foram adicionados de 2,0 mL em 2,0 mL água destilada à mistura, deixando-a pastosa até se obter 20,0 g da suspensão, sempre homogeneizando com um bastão de vidro. A suspensão foi aquecida a 80 °C em banho-maria. Após o aquecimento, a mistura foi transferida para formas (copo plástico pequeno de 30 mL) e mantidas na geladeira (4 °C) até o momento do uso.

O mesmo procedimento foi realizado para obtenção dos polímeros em 0,8%, 2,0%, 5,0% de ágar-ágar em água.

2.3.5.2- Polímero de ágar-ágar em meio tamponado

Foram preparados polímeros de ágar-ágar em diferentes valores de pH, mas todos na concentração de 2,0 % (m/m) de ágar-ágar. Para o preparo destes polímeros foi realizado o mesmo procedimento do item 2.3.5.1, mas usando soluções tampão para a dissolução do ágar-ágar e do complexo.

Para o preparo destes polímeros, foram usadas soluções tampão em pH 5,0; 7,0 e 9,0.

2.3.6. Liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA adsorvido em ágar

Os géis de ágar-ágar/Fe(III)-o,o-EDDHMA foram cortados na forma de cubos de diferentes tamanhos (0,5; 1,0 e 2,0 cm) utilizando dispositivos *home-made*, construídos a partir de lâminas de estilete colados com resina epóxi sobre uma superfície plástica, conforme apresentado na Figura 2.1 (A). Os cubos obtidos (Figura 2.1 (B)) foram armazenados em geladeira (4 °C) até o momento do uso.



Figura 2.1 – (A) Dispositivos “home-made” utilizados para o corte dos cubos de ágar-ágar, espaçamento de 2,0 cm e espaçamento de 1,0 cm. (B) Pellets obtidos após corte da matriz de ágar-ágar utilizando dispositivos “home-made”.

O estudo da liberação do complexo em solução ocorreu em um frasco plástico de 100 mL contendo 50 mL de solução (água ou solução tampão de acetato, tris ou fosfato), sob agitação mecânica em mesa agitadora (Tecnal TE 420). Em todos os frascos foram adicionados a mesma massa dos cubos da matriz polimérica, sendo que estes foram colocados em frascos que continham a mesma solução que foi usada para o preparo do polímero de ágar-ágar. No estudo da superfície de contato, em cada frasco foram adicionados cubos nas dimensões de 2 cm (1 cubo), 1 cm (8 cubos) e 0,5 cm (64 cubos), com um área superficial de 24, 48 e 96 cm², respectivamente.

O tempo foi marcado (com auxílio de um cronômetro) a partir do momento da colocação do pellet na solução. Alíquotas de 2,0 mL foram retiradas em cada tempo com auxílio de uma micropipeta e o espectro de absorção molecular das soluções foram obtidos. Após a obtenção dos espectros as alíquotas eram retornadas para o mesmo frasco.

2.3.7. Avaliação do modelo cinético da liberação do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA em ágar

Com os dados obtidos da liberação controlada do complexo, aplicaram-se os modelos de regressão não-linear: difusão intrapartícula, pseudo 1ª ordem, pseudo 2ª ordem, Elovick e Noyes-Whitney a fim de verificar o modelo que melhor se ajustaria ao comportamento cinético de liberação do complexo da matriz polimérica para o meio em estudo.

2.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1. Determinação da pureza do Fe(III)-o,o-EDDHMA

O teor de ferro obtido por espectrofotometria de absorção atômica foi igual a $(3,35 \pm 0,27)$ % (m/m), sendo que no rótulo do produto comercial indicava um teor de 3,5 %.(m/m). A pureza do complexo no material comercial é de 26,65% (m/m).

2.4.2. Validação do Método Espectrofotométrico para Fe(III)-o,o-EDDHMA

Na Figura 2.2(a) é apresentado o espectro da solução de Fe(III)-o,o-EDDHMA, tendo o comprimento de onda de maior absorvidade molar em 285 nm. Estes resultados estão de acordo com a Figura 2.2(b), onde está apresentada a sensibilidade analítica do complexo em toda a região do espectro. Foi possível avaliar a qualidade dos resultados, ajustando o modelo de regressão linear em função do 'número de noves' (N9) [114].

O 'número de noves' (Equação 2.2), foi uma função proposta para facilitar a comparação de diferentes modelos de regressão linear de curvas analíticas, onde os valores de coeficiente de determinação são usualmente maiores que 0,99. Essa função expressa o número de noves existentes no coeficiente de determinação e portanto seu aumento significa melhor ajuste do modelo.

$$N9 = - \log (1 - R^2) \quad (2.2)$$

Para a determinação direta do complexo (sem derivatização), o melhor ajuste e a melhor sensibilidade analítica ocorreram na mesma região do espectro e por este motivo foi escolhido o comprimento de onda de 285 nm para a realização da validação do método.

Usualmente comprimentos de onda na região do visível são selecionados para a determinação espectrofotométrica, para diminuir a probabilidade de interferências de espécies químicas que absorvam em comprimentos de onda mais energéticos. Tendo em vista a maior sensibilidade e o uso do método em soluções controladas que não apresentam absorção nessa faixa de comprimento, o comprimento de onda na região do ultravioleta

foi escolhido em detrimento àquele na região do visível do espectro eletromagnético.

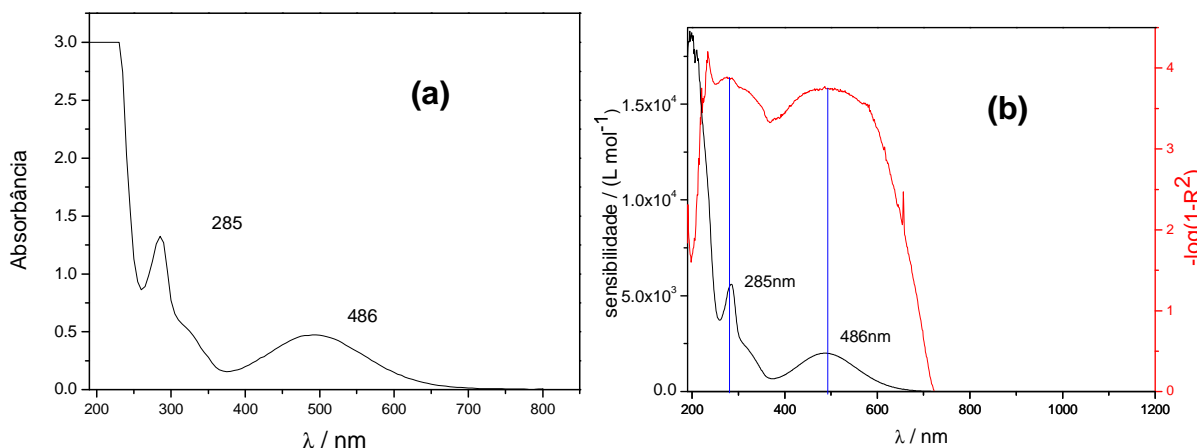


Figura 2.2: (a) Espectro da solução 1% (m/m) de Fe(III)-o,o-EDDHMA em água. (b) Sensibilidade analítica da curva analítica no intervalo de 0,0 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Fe(III)-o,o-EDDHMA (curva ---) e N9 (curva ----) em função do comprimento de onda.

O modelo linear da curva analítica é apresentado na Equação 2.3. A qualidade do ajuste apresentou um coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,9997 e o desvio padrão dos resíduos igual a 0,00076 UA (unidades de absorbância), indicando um ótimo ajuste do modelo. A faixa analítica obtida para o Fe(III)-o,o-EDDHMA foi de 0,21 a 250,0 mmol L^{-1} em 255nm.

$$\hat{A} = (5,600 \times 10^{-3} \pm 0,021 \times 10^{-3}) c(\text{Fe(III)-o,o-EDDHMA}) / (\text{mmol L}^{-1}) - (0,0048 \pm 0,0027) \quad (2.3)$$

O limite de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foram, respectivamente, de 0,063 e 0,21 mmol L^{-1} . Estes parâmetros foram calculados multiplicando-se o desvio padrão do branco da curva analítica por 3 (no caso do LOD) e por 10 (no caso do LOQ) e dividindo-se pela sensibilidade analítica.

2.4.2.1. Influência do pH na quantificação do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA

Na Figura 2.3 é apresentada a sensibilidade analítica do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA nos dois comprimentos de onda com máximo de absorção. A sensibilidade analítica diminui em valores de pH inferiores a 5,0,

ficando constante até o pH 9,0.

O comportamento similar da sensibilidade analítica em ambos comprimentos de onda é explicado pelo fato da absorção ser devido à uma mesma espécie química. O comportamento da sensibilidade analítica em função do pH é influenciado tanto pela desprotonação do o,o-H₄EDDHMA, quanto na formação dos hidroxocomplexos de Fe(III). Assim, o aumento do pH favorece a desprotonação do o,o-HEDDHMA em meio mais básico enquanto o íon ferro III estará disponível em valores de pH abaixo de 3,0 [16].

Escolheu-se trabalhar em pH 7,0 pois é mais adequado para a imobilização na matriz polimérica de ágar-ágar.

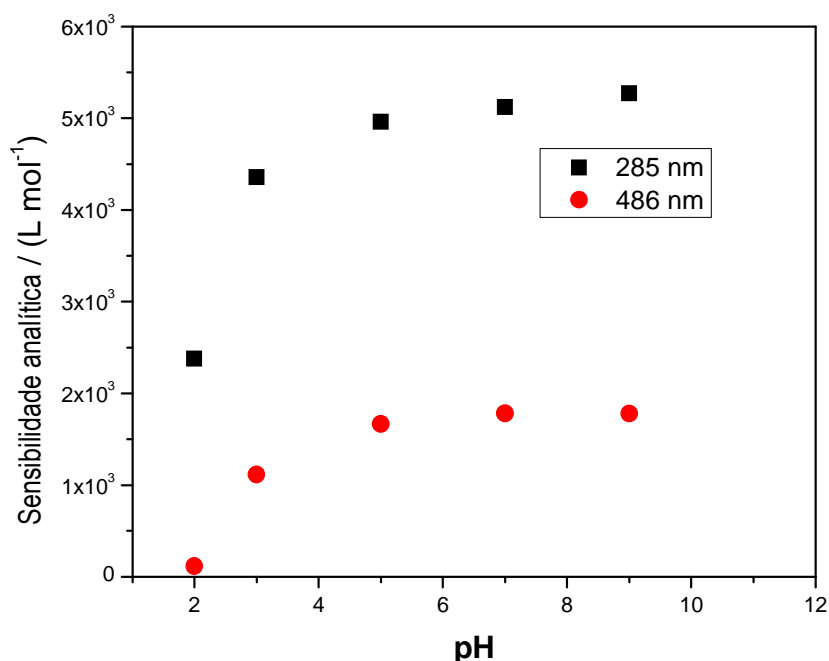


Figura 2.3: Sensibilidade analítica da curva analítica no intervalo de 0,0 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Fe(III)-o,o-EDDHMA em diferentes valores de pH, determinados em 486 nm (●) 285 nm (■).

Na Figura 2.4 é apresentado graficamente a variação da sensibilidade analítica das soluções de Fe(III)-o,o-EDDHMA de 0,0 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$, em função do comprimento de onda para as soluções em diferentes pH. A sensibilidade analítica do complexo foi obtido em cada unidade do comprimento de onda na região do espectro de 190 a 800 nm. Não houve diferença significativa na sensibilidade analítica em toda região espectral

analisada, tanto em água, como nos meios tamponados de pH 5,0 a 9,0. Estes resultados estão de acordo com o apresentado na Figura 2.3, em que a sensibilidade analítica diminui somente em valores de pH inferior a 5,0

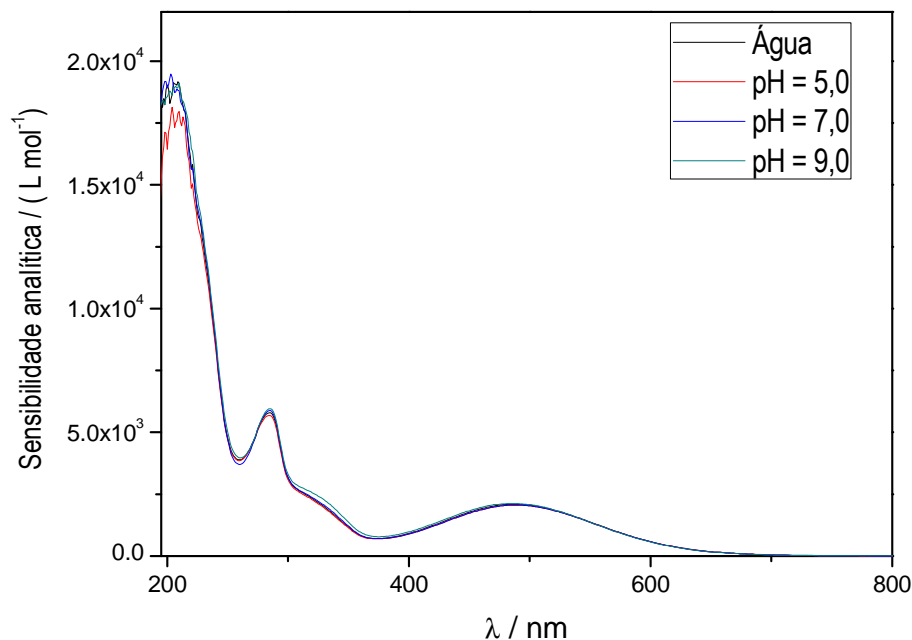


Figura 2.4: Sensibilidade analítica da solução do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA, no intervalo de 0,0 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Fe(III)-o,o-EDDHMA em água e na faixa de pH de 5,0 à 9,0 em função do comprimento de onda.

2.4.3. Avaliação do modelo cinético de liberação do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA na matriz polimérica de ágar-ágar

Foi estudada a cinética de liberação do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA em água monitorando o teor do complexo liberado (Figura 2.5a). Um cubo de ágar-ágar a 2% (m/m) com 1% (m/m) de Fe(III)-o,o-EDDHMA adsorvido foi adicionado em 50,0 mL de água, onde o teor de complexo liberado foi monitorado por espectrofotometria de absorção molecular.

Na Figura 2.5b estão apresentados os resíduos dos modelos de regressão não-linear relacionados aos modelos cinéticos de liberação controlada. Considerou-se, pelo princípio da Parcimônia, que o modelo mais adequado é aquele que apresenta os resíduos mais próximos de zero ao longo de todo tempo considerado. Dessa maneira, pode-se observar que o modelo que melhor se ajustou na liberação do complexo da matriz de ágar-ágar foi de

Noyes-Whitney. Esse ajuste sugere que a liberação ocorre por processos de difusão, corroborando com os resultados encontrados por Grillo *et al.* (2011) [123], que descreve o mecanismo de liberação da ametrina.

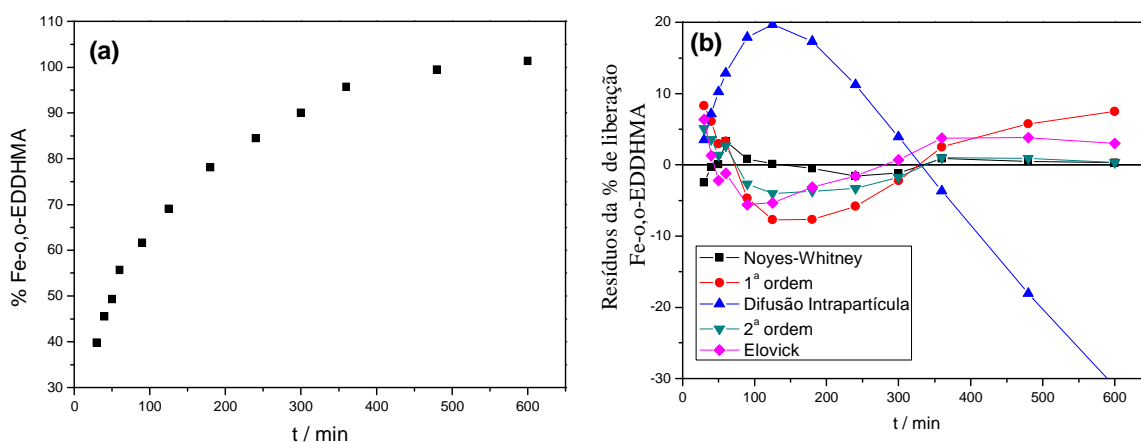


Figura 2.5: (a) Cinética de liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA à 1% (m/m) adsorvido em uma matriz de ágar-ágar a 2% (m/m) em água, (b) Resíduos dos modelos cinéticos avaliados na liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA. (Os pontos foram ligados para melhor visualização)

O modelo de regressão não-linear SWeibull1 (Equação 2.4) presente no software Origin 8.0, (OriginLab) foi utilizado para o ajuste do modelo de dissolução de Noyes-Whitney, considerando-se os fatores de ajuste t_0 e d constantes e iguais a zero e um, respectivamente. Assim, foram calculadas as constantes cinéticas de Noyes-Whitney e quantidade de complexo liberado até o sistema atingir o equilíbrio (R_∞) para cada condição experimental. A condição de equilíbrio, ou seja, aquela em que não há mais alteração macroscópica das concentrações das espécies no meio foi considerada a partir do tempo $t_{95\%}$, ou seja, aquele necessário para que 95% da concentração máxima liberada fosse atingida (Eq. 2.5).

$$\hat{R} = R_\infty(1 - e^{(k(t-t_0)^d)}) \quad (2.4)$$

$$t_{95\%} = \frac{-\ln(0,05)^{\frac{1}{d}} - t_0}{k} \quad (2.5)$$

2.4.4. Condições de estudo da Liberação controlada

Para avaliar os parâmetros necessários para estudar a liberação controlada do complexo, consideraram-se os fatores que poderiam influenciar o controle da taxa de liberação do complexo: i) a permeabilidade da cápsula; ii) a área de superfície em contato com o meio aquoso e iii) a concentração do agente diluído dentro da cápsula [124]. Essas variáveis poderiam explicar parte dos fenômenos ocorridos durante os experimentos neste trabalho. Segundo Nascimento *et al.* (2011) [125] para que ocorra a difusão do material encapsulado, o polímero deve se intumescer (por exemplo, com água), o que leva ao abaixamento da temperatura de transição vítrea, tornando o material mais plástico e desse modo o núcleo pode se difundir para o meio externo.

2.4.4.1. Teor de Ágar

Todos os estudos da influência do teor de ágar-ágar na liberação controlada do complexo de Fe(III)-o,o-EDDHMA, foram realizados utilizando-se o modelo cinético de Noyes-Whitney para explicar o comportamento cinético observado (Figura 2.6).

Em teores de ágar-ágar inferiores a 0,8% e superiores a 7% não houve formação de um gel consistente, por este motivo foi feito o estudo somente na faixa de 0,8% (m/m) até 7% (m/m). Esses resultados estão de acordo com os experimentos realizados por Bilal e colaboradores (2016) [126], que também fizeram os seus estudos na mesma faixa de concentração de ágar-ágar.

A variação no teor de ágar-ágar na matriz polimérica foi relacionada com a constante cinética de Noyes-Whitney e observa-se pela Figura 2.6 que a quantidade ágar não influenciou na liberação do complexo de Fe(III)-o,o-EDDHMA, com exceção da matriz com teor de 0,8% (m/m). Testes mostraram instabilidade do gel em baixa concentração, ocorrendo dissolução de parte do material devido a baixa consistência do gel, mostrando-se também um grande desvio padrão nesta concentração.

Como os valores da constante de proporcionalidade foram estatisticamente iguais na faixa de 1% até 7% de ágar-ágar, escolheu-se trabalhar com o teor de 2% devido a uma consistência maior do gel em relação

aos teores de ágar-ágar inferiores a este valor e também por apresentar o menor desvio padrão.

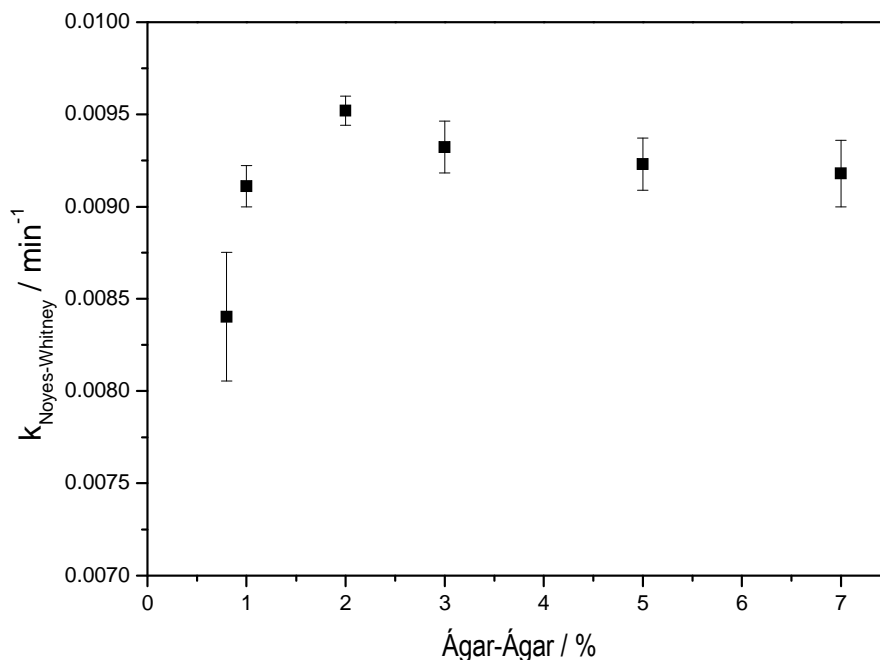


Figura 2.6: Constante de proporcionalidade da equação de Noyes-Whitney em função do teor de ágar-ágar em cubos com aresta de 2 cm, totalizando área superficial de 24 cm².

2.4.4.2. Variação do pH da solução e da superfície de contato do gel de ágar-ágar na liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA

Foi avaliado a influência da superfície total de contato do ágar-ágar com a solução na liberação do complexo de Fe(III)-o,o-EDDHMA, considerando a constante cinética obtida no modelo Noyes-Whitney (Figura 2.7). Assim, considerando a massa total de gel de ágar-ágar constante em todos os experimentos, observou-se que quanto maior a superfície de contato, maior foi a liberação do complexo para o meio. Um modelo empírico quadrático ajustou-se bem aos dados experimentais com um r superior a 0,998 (Tabela 2.1). O termo constante do modelo não foi significativo, de maneira que o modelo foi obtido sem esse termo.

Observa-se, portanto, uma dependência da área total na cinética de liberação. Qualitativamente, essa dependência é explicada pela taxa de difusão

constante em relação à área, como previsto pelas leis de Fick. Entretanto, não é observada uma grande diferença no comportamento da constante em relação ao pH do meio tamponado. O pH dentro da faixa estudada também não influencia a estabilidade do complexo, uma vez que não foi observada nenhuma alteração do espectro de sensibilidade analítica do complexo (Figura 2.4).

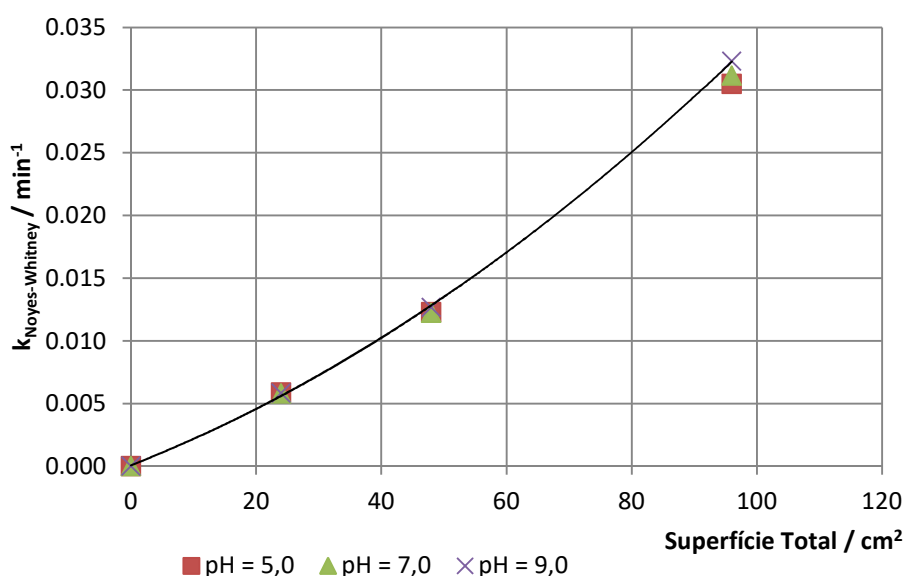


Figura 2.7: Influência da superfície total de gel de ágar e pH sobre a constante cinética da equação de Noyes-Whitney.

Tabela 2.1: Parâmetros obtidos para o ajuste de modelo quadrático $Qx^2 + Sx = k$, onde Q e S são os fatores quadrático e linear (inclinação) e s, a estimativa dos desvios padrão.

pH	5	7	9	Água*
Q	1,18E-06	1,33E-06	1,43E-06	2,44E-06
s(Q)	1,05E-07	1,16E-07	8,35E-08	3,71E-07
S	2,04E-04	1,96E-04	1,99E-04	1,51E-04
s(l)	9,09E-06	1,01E-05	7,23E-06	3,21E-05
r	0,99987	0,99985	0,99993	0,99888
s(resíduos)	0,00027	0,00029	0,00021	0,00094

*sem ajuste do pH

2.5. CONCLUSÃO

O método espectrofotométrico mostrou-se adequado para a análise do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA, com limites de quantificação que atenderam aos ensaios de liberação controlada. O método proposto neste trabalho do 'número de noves' auxiliou na confirmação de que a região do UV que apresentava a maior absorvidade molar tinha o melhor ajuste.

O Fe(III)-o,o-EDDHMA disperso em matriz de ágar-ágar possibilitou o estudo de um sistema de liberação controlada que melhor se ajustou ao modelo de Noyes, constatando que a liberação ocorre por processos de difusão, sem interação com a matriz polimérica.

Na liberação do complexo da matriz de ágar-ágar, observou-se uma dependência da área total na cinética de liberação. Entretanto, não houve uma grande diferença no comportamento cinético em relação ao pH do meio tamponado de 5,0 à 9,0. O pH dentro da faixa estudada também não influencia a estabilidade do complexo, bem como o teor de ágar na faixa de 1% até 7% não influenciou na liberação do complexo.

Capítulo 3- Adsorção e liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA da matriz de quitosana reticulada com glutaraldeído

3.1. INTRODUÇÃO

Complexos de FeEDDHMA, FeEDDHSA e FeEDDHA têm sido utilizados com fontes de ferro para aplicação em solos com baixa disponibilidade deste micronutriente. O problema é que estes quelatos são caros. Além disto, o real teor destes complexos nos produtos comerciais é duvidoso. Vários estudos têm revelado que apenas cerca da metade do ferro está presente como FeEDDHA [117]. A composição e especiação do resto do ferro em grande parte do produto comercializado é desconhecida, mas tem sido atribuída possivelmente à isômeros de posição do FeEDDHA [18].

Para diminuir a quantidade do complexo FeEDDHMA a ser aplicada no solo e conseqüentemente diminuir os gastos, pode-se adsorver o complexo por um biopolímero e posteriormente fazer a sua liberação controlada [28,29], sendo este procedimento largamente utilizado para compostos farmacêuticos. A ideia principal envolvida neste procedimento é o controle da quantidade de composto liberada e o prolongamento do tempo em que essa concentração é mantida no meio.

A utilização de biopolímeros vem sendo sugerida devido à facilidade de produção, custo mais baixo e boa capacidade de separação. Além disso, estes materiais oferecem uma nova estratégia "verde" para o projeto de absorventes com propriedades de sorção ajustáveis. A quitosana é um adsorvente de destaque entre os biopolímeros e tem várias características positivas, incluindo abundância no meio ambiente, maior área superficial, boas características de adsorção de metais devido à presença de grupos amina funcionais, baixo custo, não-toxicidade ao meio ambiente etc. Devido a esses recursos, estudos de adsorção de vários metais têm sido relatados na literatura [127].

A quitosana foi descoberta em 1859 por Rouget [128] e é raramente encontrada na natureza, podendo ser obtida a partir da hidrólise de quitina. A cada ano, cerca de 20 milhões de toneladas de resíduos de camarão, lagosta e carapaças de caranguejo são descartados [51,52]. Os copolímeros de

quitosana modificados sinteticamente representam uma plataforma versátil para aplicações em processos de adsorção e desorção de metais, devido à sua disponibilidade e receptividade para modificação química, desta forma podendo ser sintetizado de acordo com sua aplicação. O pKa da quitosana varia entre 5,5 e 6,5, dependendo do grau de desacetilação.

Devido à natureza semi-cristalina da quitosana e de sua área superficial relativamente baixa [56], é geralmente um adsorvente fraco na forma não modificada. Por isto, o uso de agentes de ligação cruzada para modificar a sua estrutura química, pois assim suas propriedades são alteradas pela ligação com as aminas ou as hidroxilas da cadeia da quitosana. A ligação cruzada entre quitosana e glutaraldeído, proporciona materiais com uma rede porosa e com melhores propriedades de adsorção [68,129]. Desta maneira, a quitosana pode ser estruturalmente modificada através da formação de copolímeros com morfologia variável (isto é, esferas, grânulos, pós, filmes e membranas). Esses materiais têm diversas aplicações; como membranas à base de biopolímeros para separações químicas [130], remoção de chumbo e de corantes de águas residuais [131,132], e sistemas de liberação de drogas [133-135].

Portanto, o objetivo deste trabalho foi investigar o efeito do pH, força iônica e o teor do agente de ligação cruzada sobre a capacidade de adsorção e liberação do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA da quitosana reticulada com glutaraldeído (QTS-R). As variáveis estudadas foram otimizadas com auxílio de um planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} .

3.2. OBJETIVOS

3.2.1. Objetivo geral

- Avaliar a adsorção e a liberação controlada do complexo de ferro(III)-o,o-EDDHMA empregando a matriz polimérica de quitosana.

3.2.2. Objetivos específicos

- Otimizar o encapsulamento e/ou adsorção do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA a partir da matriz polimérica de quitosana, avaliando-se os parâmetros pH de adsorção e reticulação com glutaraldeído;
- Otimizar com o auxílio do planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} a liberação do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA pela matriz polimérica de quitosana, avaliando-se os parâmetros pH de adsorção, pH de desorção, força iônica e reticulação com Glutaraldeído;
- Identificar as variáveis que influenciam os processos de adsorção e liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA da matriz polimérica de quitosana;
- Avaliar a absorção do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA encapsulada por esferas de quitosana reticuladas com glutaraldeído, por alface *Latua sativa* em meio hidropônico.

3.3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.3.1. Equipamentos

Para a determinação do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA foi utilizado um espectrofotômetro com arranjo linear de diodos (*diode-array*, Agilent 8453A), utilizando uma cubeta de quartzo de 10 mm de caminho óptico. Um forno de micro-ondas Ethos Plus (Milestone) utilizado nos processos de digestão. Para a determinação das concentrações de Ferro foi utilizado um espectrofotômetro de Absorção Atômica (VARIAN, modelo SpectrAA-200).

3.3.2. Reagentes e Soluções

Todas as soluções foram preparadas com os reagentes de grau analítico e de elevada pureza, em água tipo 1, obtida com um sistema Milli-Q[®] (Millipore, Bedford, MA, EUA).

As soluções de ácido acético 5 % (v/v), HCl (1,0 mol L⁻¹) e NaOH (1,0 e 2,0 mol L⁻¹) foram preparadas por dissolução, respectivamente, de quantidades apropriadas de ácido acético glacial (Vetec), ácido clorídrico concentrado (Vetec) e hidróxido de sódio (Vetec).

Soluções tampão foram preparadas em diferentes valores de pH na concentração de 1,0 mmol L⁻¹ pela dissolução/diluição de quantidade apropriada de seus reagentes em água e o valor de pH foi ajustado utilizando-se soluções de NaOH 1,0 mol L⁻¹ e HCl 1,0 mol L⁻¹ e o volume completado em balão volumétrico. A solução tampão em pH 4,0 foi preparada a partir de ácido acético glacial (Vetec) e em pH 7,5 utilizou-se Tris-hidroximetilamino metano (Synth).

Neste estudo foi utilizado o reagente comercial do Fe(III)-o,o-EDDHMA (Ferrilene). A determinação da pureza do complexo foi realizada conforme item 2.3.2.

3.3.3. Síntese das esferas de Quitosana Reticulada (QTS-R) para estudo da Adsorção de Fe(III)-o,o-EDDHMA

As esferas foram preparadas a partir da dissolução de 4,0 g de

quitosana (Sigma Aldrich[®]) em 100 mL de ácido acético 5 % (v/v). O gel formado ficou sob agitação mecânica em mesa agitadora (Tecnal TE 420) por 180 rpm e por 24 horas até a completa solubilização; após este período a mistura foi gotejada em uma solução de NaOH 2,0 mol L⁻¹ através de uma bomba peristáltica (Ismatec[®] IPC-8), para formação das esferas.

As esferas de quitosana formadas permaneceram em contato com a solução de NaOH após o gotejamento por 30 minutos. Decorrido este tempo as esferas foram lavadas com água e colocadas em um recipiente de 1 L com água sob agitação mecânica por 10 minutos em mesa agitadora (Tecnal TE 420). Este procedimento foi repetido até que o pH dessa água de lavagem ficasse próximo a 7,0. Posteriormente as esferas foram colocadas em uma solução de glutaraldeído (pentanodial, Vetec[®]) 0,25 mol L⁻¹, numa proporção de 1,0 g de esferas úmidas para 1,5 mL de solução por 24 h para reticulação. As esferas foram retiradas da solução de reticulação por filtração com filtro simples de tela de plástico (malhas com cerca de 5 mm) e secas em estufa (Medicate, MD 1.0) a 50 °C por 18 h. Após esse período, as esferas foram guardadas em um frasco plástico.

3.3.4. Adsorção do complexo de Fe(III)-o,o-EDDHMA na esferas de QTS-R

3.3.4.1. Efeito da concentração inicial de Fe(III)-oo-EDDHMA

Realizou-se este estudo em 5 níveis de concentração do complexo de Fe(III)-o,o-EDDHMA, de 20 a 200 µmol L⁻¹.

A adsorção do complexo ocorreu em um frasco plástico contendo 50 mL da solução de Fe(III)-o,o-EDDHMA adicionando-se 100 mg das esferas de quitosana reticulada (QTS-R). O sistema foi mantido sob agitação mecânica de 180 rpm em mesa agitadora (Tecnal TE 420) e alíquotas de 2,0 mL foram retiradas de tempos em tempos para obtenção de espectros de absorção na região do ultravioleta e do visível. Após leitura, as alíquotas eram retornadas para o mesmo frasco de onde foram retiradas.

O tempo de contato foi determinado (com auxílio de um cronômetro) a partir do momento da colocação das esferas na solução. A quantidade de complexo adsorvido foi determinada pela diferença da quantidade inicial pela quantidade remanescente do complexo em cada determinação (eq. 3.1).

$$\begin{aligned}
 q_{ads} &= \frac{n_{ads}(analito)}{m(adsorvente)} = \frac{n_0(analito) - n_{sol}(analito)}{m(adsorvente)} \\
 &= \frac{V(c_o(analito) - c_{sol}(analito))}{m(adsorvente)}
 \end{aligned}
 \tag{3.1}$$

onde q_{ads} expressa a quantidade de complexo adsorvido, n_{ads} é o número de mols do complexo adsorvido, n_0 é o número total de mols do complexo, n_{sol} é o número de mols do complexo em solução que não foram adsorvidos, V é o volume da solução, C_0 é a concentração total do complexo, C_{sol} é a concentração do complexo em solução que não foi adsorvido e m é a massa da esfera de QTS-R.

As determinações do complexo de Fe(III)-o,o-EDDHMA foram feitas a partir da curva analítica no comprimento de onda de 285 nm obtida na faixa de concentrações de 0 a 100,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

3.3.4.2. Avaliação do modelo cinético de adsorção do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA pelas esferas de QTS-R

Com os dados obtidos da adsorção do complexo, aplicaram-se os modelos de regressão: difusão intrapartícula, pseudo 1ª ordem, pseudo 2ª ordem, Elovick e Noyes-Whitney para definir o modelo que melhor explica o comportamento cinético da adsorção do complexo na matriz polimérica de QTS-R para o meio em estudo.

3.3.4.3. Avaliação da dosagem de QTS-R.

O estudo da dosagem das esferas de QTS-R foi realizado em 4 níveis de concentração do complexo de Fe(III)-o,o-EDDHMA, entre 50 e 270 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

A adsorção do complexo ocorreu em diferentes frascos de plástico de 250 mL contendo em cada um 100 mL da solução de Fe(III)-o,o-EDDHMA nas diferentes concentrações a serem estudadas. Em cada nível de concentração do complexo foram adicionadas massas de esferas de QTS-R, entre 10 e 100 mg e o sistema foi deixado sob agitação mecânica de 180 rpm por 48 h em

mesa agitadora (Tecnal TE 420). A quantidade adsorvida em cada tempo foi obtida similarmente ao item 3.3.4.1.

3.3.4.4. Isotermas de adsorção

Os ensaios de adsorção foram realizados em cinco níveis de concentrações do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA (20 a 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e tempo de agitação de 24 horas em mesa agitadora (Tecnal TE 420).

Os modelos de isotermas de adsorção de Freundlich, Langmuir e Sips foram ajustados aos dados experimentais.

3.3.5. Liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA adsorvido nas esferas de QTS-R

3.3.5.1. Síntese das esferas de Quitosana Reticulada (QTS-R) para estudo da liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA

As esferas de quitosana reticuladas foram preparadas de forma similar ao item 3.3.3. Diferenciando no processo de reticulação das esferas com o glutaraldeído. Nesta etapa, o polímero em forma de esferas permaneceu em contato com a solução de glutaraldeído em dois níveis de concentração (0,63 mol L^{-1} e 0,0126 mol L^{-1}) mantendo uma proporção de 1,0 g de esferas úmidas para 1,5 mL de solução por 24 horas. Após a reticulação, as esferas, foram secas em estufa a 50 °C.

3.3.5.2. Influência do pH e da reticulação das esferas de quitosana com glutaraldeído na adsorção do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA

Antes de estudar a liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA, foi realizado um planejamento fatorial 2^2 (Tabela 3.1) para analisar a influência da reticulação das esferas de quitosana e do pH do meio na adsorção do complexo de Fe(III)-o,o-EDDHMA. Os componentes do planejamento fatorial foram: pH da solução de Fe(III)-o,o-EDDHMA em dois níveis, 4,0 e 7,5 e a concentração da solução de glutaraldeído em dois níveis, 0,0126 mol L^{-1} e 0,63 mol L^{-1} . Este estudo foi realizado em duplicata.

Tabela 3.1: Planejamento fatorial 2^2 para avaliação das variáveis: pH e reticulação das esferas de Quitosana pelo glutaraldeído na adsorção do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA.

Ensaio	Variáveis codificadas		Componentes originais	
	x_1	x_2	pH	Glutaraldeído
				mol L^{-1}
1	1	1	7,5	0,63
2	-1	1	4,0	0,63
3	1	-1	7,5	0,0126
4	-1	-1	4,0	0,0126

$x_1 = \text{pH}$ $x_2 = \text{Glutaraldeído}$

No preparo da solução tampão de pH 4,0 usou-se o ácido acético e a solução tampão de pH 7,5 foi preparada com o Tris-hidroximetilamino metano, todas as soluções tampão estavam na concentração analítica de $1,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ e na presença do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA na concentração de $2,16 \text{ mmol L}^{-1}$. No ajuste de pH de cada solução tampão foram usadas soluções de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

As esferas de QTS-R permaneceram em contato com as soluções tampão mantendo uma proporção de 100 mg de esferas de QTS-R para 100,0 mL de solução por 48 horas e sobre agitação de 180 rpm em mesa agitadora (Tecnal TE 420). Após este período as esferas QTS-R foram retiradas da solução, lavadas com água destilada e secas em estufa a $50 \text{ }^\circ\text{C}$.

Para a determinação da quantidade de complexo adsorvido nas esferas de QTS-R, as mesmas foram digeridas em forno de micro-ondas conforme procedimento descrito abaixo e posteriormente a quantidade de ferro foi determinada por espectrofotometria de absorção atômica.

A mineralização da matriz foi realizada com 100 mg das esferas de quitosana contendo o complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA adsorvido e 10 mL de ácido nítrico concentrado em vaso de PTFE de 100 mL colocados em forno de micro-ondas Ethos Plus (Milestone) em duas etapas diferentes, sendo a primeira delas com uma rampa de aquecimento de 5 minutos até $180 \text{ }^\circ\text{C}$ e a segunda fixada nesta mesma temperatura por 15 minutos. Em ambas as etapas, a potência fixada foi de 1000 watts.

Após a mineralização, filtrou-se a solução em papel de filtro Whatman 42 e transferiu-se para balão volumétrico de 50,00 mL, completando-se o volume com água destilada. A solução foi posteriormente transferida para um frasco de polipropileno.

Por espectrofotometria de absorção atômica foram determinadas as concentrações de ferro em cada frasco, determinando também a quantidade de complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA adsorvido.

3.3.5.3. Influência da força iônica na desorção do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA das esferas de QTS-R

Foram preparadas 50,0 mL de soluções de NaCl nas concentrações de 0,1, 0,5 e 1,0 mol L⁻¹. Cada uma destas soluções foi colocada em um frasco plástico de 100 mL e em um outro frasco foi adicionado a mesma quantidade de água destilada, sendo esta utilizada como branco. Em todos os frascos foram adicionados 100 mg das esferas de QTS-R saturadas com o complexo de Fe(III)-o,o-EDDHMA e as soluções ficaram sobre agitação mecânica de 180 rpm por 48 h, em mesa agitadora (Tecnal TE 420). Alíquotas de 2,0 mL foram retiradas de tempos em tempos e as soluções analisadas em 285 nm por espectrofotometria na região do UV/Vis.

3.3.5.4- Planejamento Fatorial Fracionado 2⁴⁻¹

Para estudar a liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA foi realizado um planejamento fatorial 2⁴⁻¹, onde as variáveis do planejamento foram: pH da solução de Fe(III)-o,o-EDDHMA durante a adsorção, pH da solução tampão durante a liberação, força iônica e a concentração da solução de glutaraldeído para a reticulação das esferas de quitosana. Este planejamento foi montado para avaliar a influência de primeira e de segunda ordem destas variáveis na liberação do complexo. Para diminuir o número de ensaios em relação ao planejamento fatorial completo foi proposto o planejamento fatorial fracionado.

Foram preparadas as mesmas soluções tampão do item 3.3.5.2, mas sem a presença do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA e com a adição de NaCl na concentração de 1,0 mol L⁻¹, para o estudo da força iônica.

A Tabela 3.2 mostra as variáveis codificadas e as variáveis originais de cada reagente do planejamento fatorial fracionado elaborado para o estudo da liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA.

Tabela 3.2: Valores reais e codificados das variáveis experimentais analisadas para montagem do planejamento experimental via Planejamento Fatorial Fracionado 2^{4-1} , para avaliação da liberação do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA das esferas de QTS-R.

Ensaio	Variáveis codificadas				Componentes originais			
	X_1	X_2	X_3	X_4	pH adsorção	pH desorção	NaCl / mol L ⁻¹	Glutaraldeído / mol L ⁻¹
1	-1	-1	-1	-1	4,0	4,0	0,0	0,0126
2	1	-1	-1	1	7,5	4,0	0,0	0,630
3	-1	1	-1	1	4,0	7,5	0,0	0,630
4	1	1	-1	-1	7,5	7,5	0,0	0,0126
5	-1	-1	1	-1	4,0	4,0	1,0	0,0126
6	1	-1	1	1	7,5	4,0	1,0	0,630
7	-1	1	1	1	4,0	7,5	1,0	0,630
8	1	1	1	-1	7,5	7,5	1,0	0,0126

X_1 = pH adsorção X_2 = pH desorção X_3 = NaCl (Força Iônica) X_4 = Glutaraldeído

Foi empregado um frasco plástico de 100 mL, contendo 50 mL de solução tampão, de acordo com cada ensaio de liberação do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA da Tabela 3.2, o qual foi mantido sob agitação mecânica. Em todos os frascos foram adicionados a mesma massa de QTS-R com o complexo de Fe(III)-o,o-EDDHMA adsorvido, sendo que estes foram preparados de acordo com o procedimento do item 3.3.3. Alíquotas de 2,0 mL foram retiradas de tempos em tempos e destas foram obtidos o espectro por espectrofotometria molecular. Após as leituras as alíquotas foram retornadas para o mesmo frasco de onde foram retiradas. O tempo foi marcado (com auxílio de um cronômetro) a partir do momento da colocação das esferas na solução. Os ensaios do planejamento fatorial foram feitos em duplicata, perfazendo um total de 16 medidas.

As determinações do complexo de Fe(III)-o,o-EDDHMA foram feitas por espectrofotometria de absorção molecular (Agilent 8453A) em uma cubeta de quartzo de 10 mm de caminho óptico no comprimento de onda de 285 nm,

utilizando uma curva analítica, nas concentrações de 10,0 a 100,0 mmol L⁻¹ do complexo.

3.3.5.5. Comparação da liberação do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA pelas determinações por espectrofotometria de absorção atômica e de absorção molecular

Foi verificado se durante o processo de liberação do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA das esferas de QTS-R se este não era degradado. Para este estudo foi realizada a comparação da quantidade de complexo liberado, por dois métodos analíticos, foi realizado a determinação do complexo por espectrofotometria de absorção atômica, onde é determinado o teor de ferro e também foi analisado por espectrofotometria de absorção molecular.

Para a análise por espectrofotometria de absorção atômica foram retirados 100 mg das esferas de QTS-R saturada com o complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA. De todos os ensaio do planejamento fatorial 2⁴⁻¹ (Tabela 3.2). As esferas foram recolhidos antes e depois de realizado o estudo de liberação. Todas as esferas de QTS-R foram digeridas em forno de microondas conforme descrito no item 3.3.5.2 e o teor de ferro foi determinado por espectrofotometria de absorção atômica. A quantidade de ferro liberada no equilíbrio foi calculada pela diferença entre o teor de ferro obtido antes e depois da liberação controlada. Os resultados obtidos na espectrofotometria de absorção atômica foram comparados com os resultados determinados por espectrofotometria de absorção molecular (item 3.3.5.4).

3.3.5.6. Avaliação do modelo cinético de liberação do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA pelas esferas de QTS-R

Com os dados resultantes da liberação controlada do complexo das esferas de QTS-R do planejamento fatorial fracionado 2⁴⁻¹, aplicaram-se os modelos de regressão não-linear: difusão intrapartícula, pseudo 1^a ordem, pseudo 2^a ordem, e Noyes-Whitney a fim de definir o modelo que melhor explica o comportamento cinético da adsorção do complexo na matriz polimérica de QTS-R para o meio em estudo.

3.3.5.7. Estudo da absorção do ferro por alface usando a hidroponia como meio nutritivo

As mudas de alface foram cultivadas em potes plásticos com 100 mL de solução nutritiva na concentração dos nutrientes indicada por *Furlani et al.* [136]. Os potes plásticos foram cobertos com papel alumínio para os nutrientes não se oxidarem pelo efeito da luz ambiente e na tampa foi realizado um furo para inserir a muda de alface que estava presa em um copo plástico com furo em sua parte inferior, desta forma somente a raiz manteve-se em contato com a solução nutritiva (Figura 3.1).

A solução nutritiva foi preparada em 5 diferentes condições, para o estudo d absorção do ferro pelo alface, conforme mostrado na tabela 3.3.

Tabela 3.3: Diferentes formas de Ferro (III) na solução nutritiva, para o cultivo hidropônico do alface. $C(\text{Fe(III)}) = 21,4 \mu\text{mol L}^{-1}$

Ensaio	Forma do Fe^{3+}	Glutaraldeído / $(\text{mol L}^{-1})^1$	pH adsorção ²
1	Adsorvido QTS-R	0,0126	4,0
2	Adsorvido QTS-R	0,663	4,0
3	$\text{Fe(III)-o,o-EDDHMA}$	-	-
4	Fe^{3+}	-	-
5	-	-	-

¹Concentração de Glutaraldeído utilizado na reticulação das esferas de quitosana

²pH de adsorção do complexo $\text{Fe(III)-o,o-EDDHMA}$ pelas esferas de QTS-R

A quantidade de esferas de QTS-R adicionadas nos ensaios 1 e 2 foi determinada pelo teor de ferro absorvido ($21,4 \mu\text{mol L}^{-1}$ de Fe^{3+}) conforme a solução nutritiva usada por *Furlani et al.* [136] (Tabela 3.4). Para cada ensaio foram realizados 5 repetições, totalizando 25 experimentos.

As mudas de alface ficaram em contato com a solução nutritiva por 21 dias e após este período foram retiradas cuidadosamente e armazenadas em sacos de papel previamente identificados. O material foi descontaminado pela lavagem, tendo a seguinte sequência: água corrente destilada; solução detergente (0,1%); solução de ácido clorídrico (0,3%); água deionizada [137]. Em seguida, separou-se a raiz das folhas e as amostras foram picadas com auxílio de uma tesoura em partículas com cerca de 20 mm. Posteriormente

estas foram secas em forno de micro-ondas (FMO) (ELETROLUX, modelo MEF41, 31L, 1600W), conforme *Lacerda et al.* (2009) [138]. Assim, cada amostra foi submetida a secagem por 3 ciclos de 5 minutos, 1 ciclo de 3 minutos, 1 ciclo de 2 minutos e 1 ciclo de 1 minuto (até atingir massa constante). No interior do FMO, foi colocado um béquer com 150 mL de água a fim de manter a umidade do ar no interior da cavidade do forno elevada para evitar a queima das amostras, assim como para absorver o excesso de radiação micro-ondas evitando o retorno ao magnetron e consequentes danos no aparelho.

Após obtenção da matéria seca, as amostras foram moídas em moinho tipo Willey e acondicionadas em sacos de papel Kraft, para posterior determinação do teor de ferro.

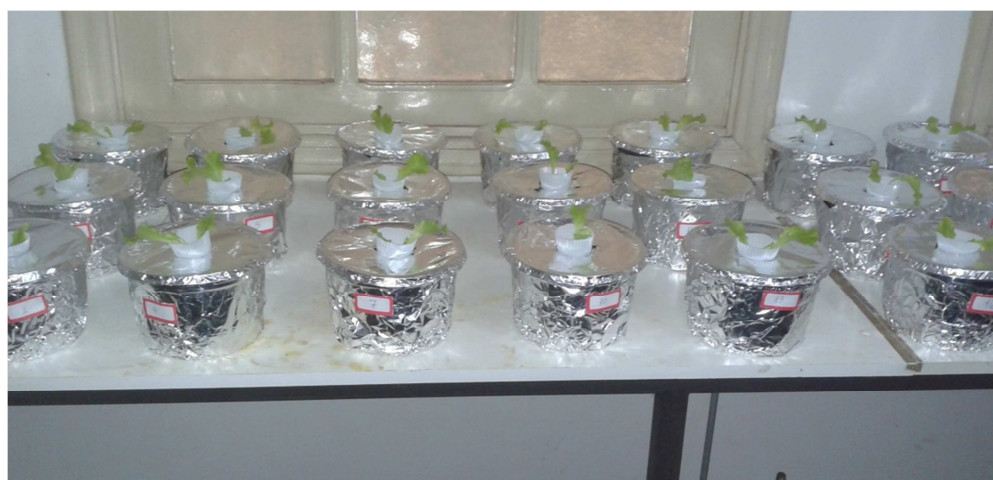


Figura 3.1: Foto do experimento de crescimento do alface com a solução nutritiva.

Tabela 3.4. Composição da solução nutritiva*

Compostos	Conc.	N-NO ₃ ⁻	N-NH ₄ ⁺	P-H ₂ PO ₄ ⁻	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	S-SO ₄ ²⁻	Cu ²⁺	Zn ²⁺	B-BO ₃ ³⁻	Mo-MoO ₄ ²⁻	Mn ²⁺
	/ (mmol L ⁻¹)												
Ca(NO ₃) ₂	4,57	9,14				4,57							
KNO ₃	4,95	4,95			4,95								
NH ₄ (H ₂ PO ₄)	1,30		1,30	1,30									
MgSO ₄	3,32						3,32	3,32					
CuSO ₄	9,4x10 ⁻⁴							9,4x10 ⁻⁴	9,4x10 ⁻⁴				
ZnSO ₄	9,3 x10 ⁻³							9,3 x10 ⁻³		9,3 x10 ⁻³			
H ₃ BO ₃	2,4 x10 ⁻²										2,4 x10 ⁻²		
(NH ₄) ₂ MoO ₄	7,7 x10 ⁻⁴		1,5 x10 ⁻³									7,7 x10 ⁻⁴	
MnSO ₄	9,9 x10 ⁻³							9,9 x10 ⁻³					9,9 x10 ⁻³
Conc. Analítica		14,09	1,30	1,30	4,95	4,57	3,32	3,34	9,4x10 ⁻⁴	9,3 x10 ⁻³	2,4x10 ⁻²	7,7 x10 ⁻⁴	9,9 x10 ⁻³

* proposta por Furlani *et al.* (1999) [136]

Para a determinação da quantidade de ferro presente no material vegetal seco, foi realizado o procedimento similar àquele para determinação de ferro no complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA comercial (item 2.3.2). Para a mineralização das amostras foi utilizado 100 mg de material vegetal seco e triturado em almofariz cerâmico com 5 mL de ácido nítrico concentrado.

3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.4.1. Adsorção do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA pelas esferas de QTS-R

Para avaliar o comportamento de liberação controlada do complexo a partir das esferas de quitosana reticuladas, foi realizado previamente o estudo da adsorção desse composto sobre a QTS-R.

A adsorção é influenciada pelo comportamento de inchamento das microesferas de quitosana em meio aquoso, pois aumenta os poros, facilitando assim incorporação dos complexos de Fe(III)-o,o-EDDHMA por difusão [139]. Outro fator importante no processo de adsorção é a reticulação da quitosana, pois este procedimento evita a dissolução da quitosana em soluções ácidas e também melhora as propriedades de sorção do metal [59]. Além disto, a reticulação aumenta a área superficial da quitosana devido a presença das ligações cruzadas, mas diminui a adsorção dos metais, pois bloqueia os grupos aminos da quitosana [140].

3.4.1.1- Variação da concentração inicial de Fe(III)-o,o-EDDHMA

A Fig. 3.2 mostra o efeito da concentração inicial do Fe(III)-o,o-EDDHMA sobre as curvas cinéticas de adsorção, sendo esta estudada na faixa de 20-200 $\mu\text{mol L}^{-1}$, mantendo os outros parâmetros constantes. A adsorção rápida no início é devido à disponibilidade de sítios mais ativos que se tornam posteriormente saturados. Kausar (2013) observou a mesma tendência durante os seus estudos [141]. Para todas as concentrações iniciais do complexo, curvas cinéticas típicas foram encontradas. Verificou-se que um aumento na concentração inicial do complexo, de 20 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ causou um aumento de cerca de três vezes na capacidade de adsorção. Isto pode ser atribuído ao gradiente de concentração elevada entre a solução e a superfície das esferas de QTS-R, que ocorre em concentração mais elevada. Além disso, a maior concentração inicial, favorece a adsorção do complexo na superfície das esferas pelos sítios ativos presentes na quitosana. Tendência semelhante foi observada por Nadavala et al, [142] com fenol adsorvido em grânulos de alginato de cálcio misturados com quitosana.

A maioria dos sistemas estudados alcançaram o equilíbrio em

aproximadamente 11 h (observação visual). No sistema em que concentração inicial do complexo foi igual a $200 \mu\text{mol L}^{-1}$, o tempo de equilíbrio foi superior a 16 h.

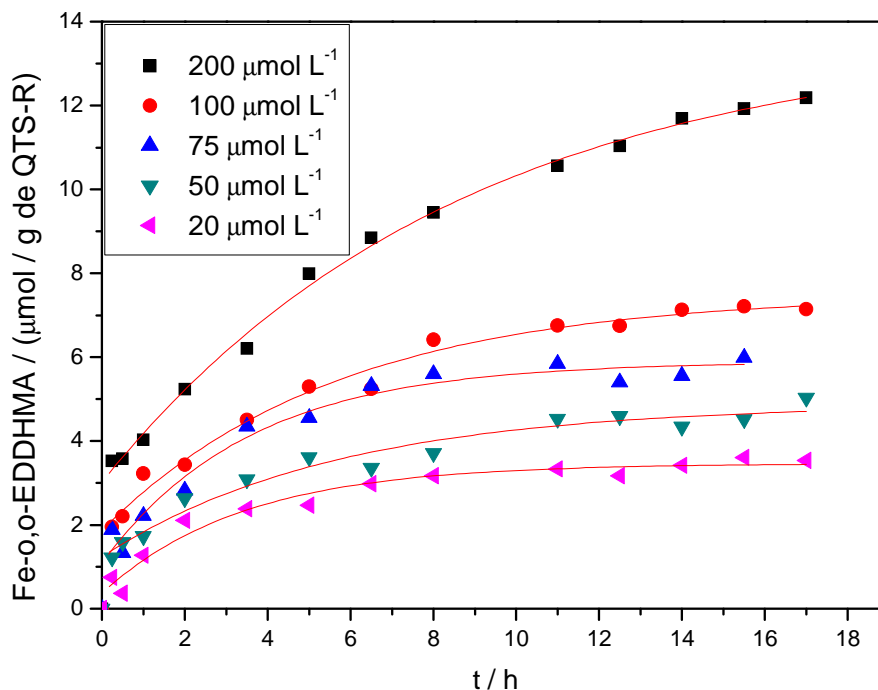


Figura 3.2. Estudo da adsorção de 100 mL da solução aquosa do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA, por 200 mg de esferas de QTS-R em função do tempo a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

Para explicar o comportamento cinético observado foram utilizados vários modelos: pseudo primeira ordem [84], pseudo segunda ordem [85], difusão intrapartícula [86], Elovich [87] e Noyes-Whitney [88]. O processo de seleção foi o mesmo utilizado para a escolha do modelo cinético de liberação controlada. Na Figura 3.3 são apresentados os gráficos de resíduos para os diferentes modelos em diferentes concentrações iniciais do complexo.

Em todos os casos, observa-se que tanto o modelo de pseudo 1ª ordem quanto o modelo de difusão intrapartículas não explicam adequadamente os dados experimentais. Entretanto, os padrões observados de desvio-padrão dos resíduos para os outros modelos apresentam alguma similaridade, mas o modelo de Noyes-Whitney apresentou a melhor distribuição dos resíduos e um menor desvio padrão dos resíduos ($0,69 \mu\text{mol g}^{-1}$).

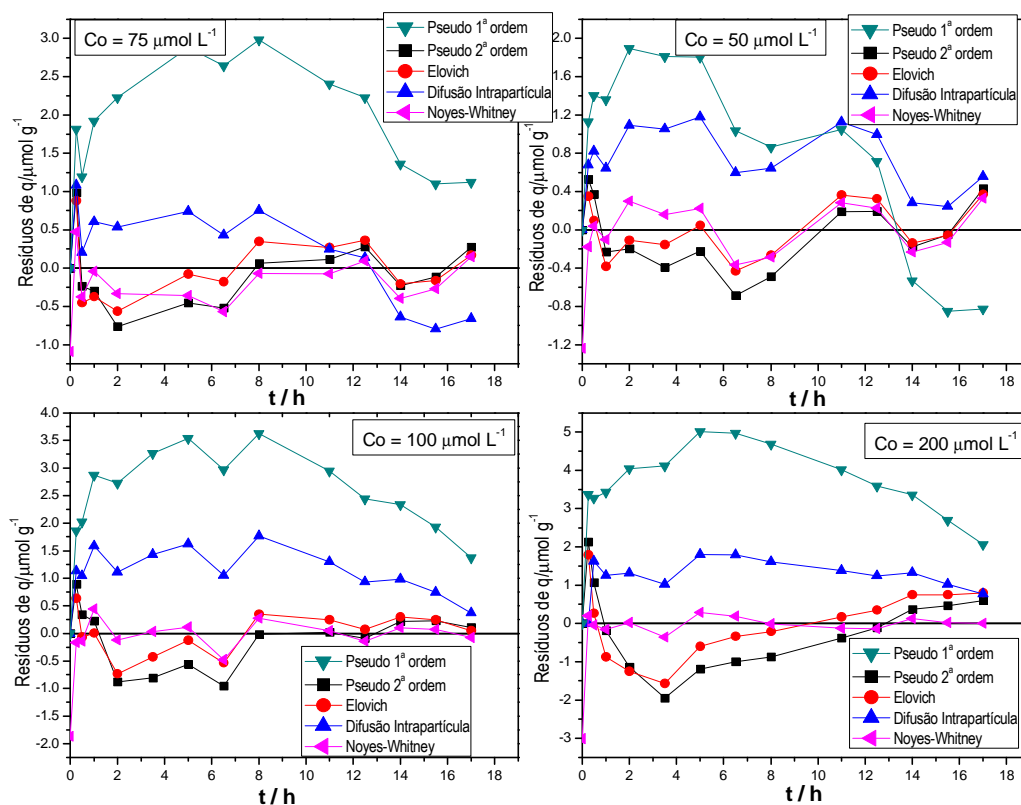


Figura 3.3. Resíduos dos modelos cinéticos de adsorção em diferentes concentração do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA em esferas de QTS-R, Os pontos foram unidos por linhas apenas para facilitar a visualização.

A partir desse modelo, o tempo para atingir 95% do equilíbrio foi calculado para cada condição com concentração inicial diferente e este comportamento é mostrado na Figura 3.4. Observa-se que em concentrações iniciais menores o tempo de 95% do equilíbrio é estatisticamente constante aumentando o tempo somente em maior concentração do complexo.

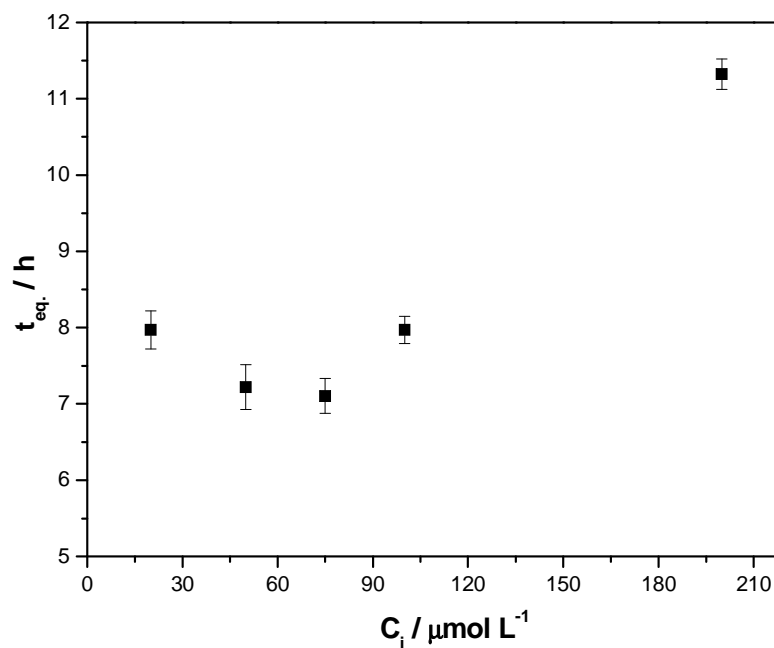


Figura 3.4. Tempo para atingir 95% do equilíbrio em função da concentração inicial do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA.

A variação nas propriedades de adsorção são relacionados com a superfície de contato e a massa molecular relativa da quitosana [143]. Posto que estes parâmetros não variaram neste estudo, o comportamento da constante cinética de adsorção de Noyes-Whitney foi estudado em relação à concentração inicial de Fe(III)-o,o-EDDHMA. Não foi observada uma correlação entre as variáveis, com valores da constante cinética de Noyes-Whitney oscilando entre 0,12 e 0,29 h^{-1} (Figura 3.5). Esse resultado sugere uma cinética de primeira ordem.

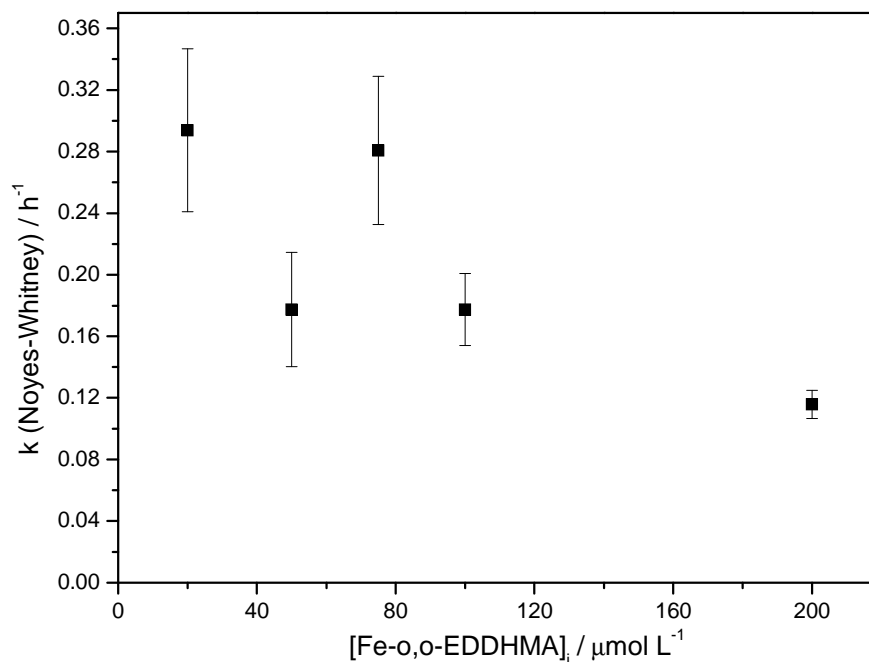


Figura 3.5. Constante cinética de adsorção de Noyes-Whitney em função da concentração inicial do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA.

3.4.1.2. Variação da dose de QTS-R

A influência da massa de QTS-R e a concentração inicial de complexo sobre o teor de complexo adsorvido no equilíbrio, para um mesmo volume total de solução foi estudada. Observa-se a diminuição do teor de complexo adsorvido com o aumento da massa. Qualitativamente, isto se justifica pelo fato que quanto maior a massa de QTS-R, maior o número de sítios de adsorção disponíveis, desta forma haverá no equilíbrio uma quantidade menor de complexo adsorvido por área de quitosana, pois ele ficará mais disperso na esfera, fazendo com que diminua assim a proporção dele adsorvido por massa de quitosana.

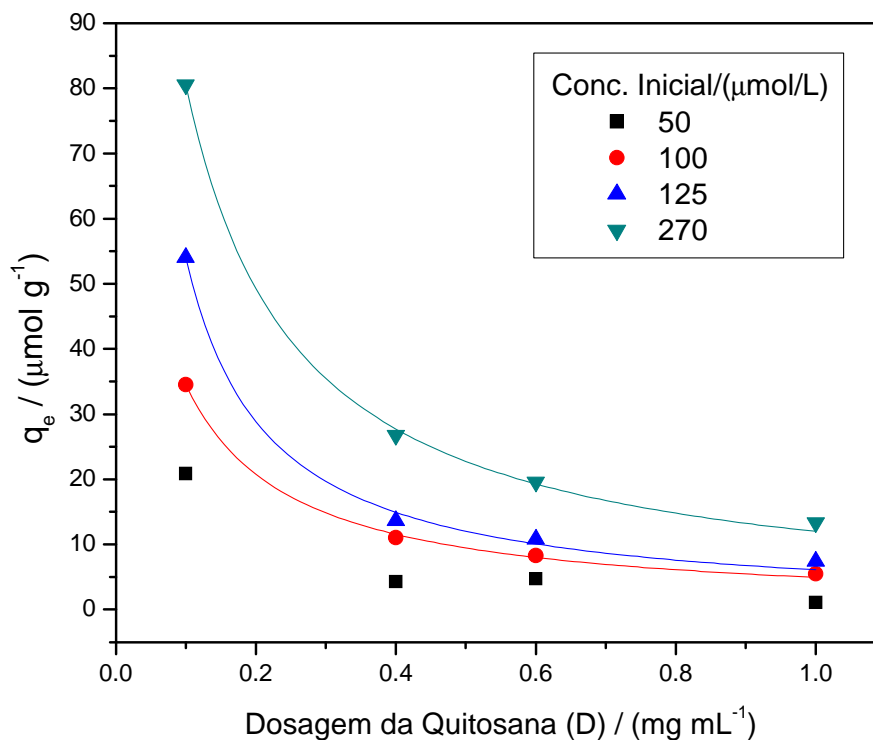


Figura 3.6. Quantidade do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA adsorvido por grama das esferas de QTS-R em função da dosagem das esferas de QTS-R, em diferentes concentrações iniciais do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA em solução.

Os dados da Figura 3.6 foram ajustados conforme a Equação 2.6, [144,145]. Estes ajustes apresentaram um bom coeficiente de determinação (R^2), com exceção para os ensaios realizados na concentração inicial de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Este resultado pode ser justificado pela baixa concentração inicial do complexo, que levou o equilíbrio mais rápido, aumentando assim a possibilidade de erro no experimento (Tabela 3.5).

$$q_e = \frac{1}{(a + b * D)} \quad (2.6)$$

em que q_e , é o teor de Fe(III)-o,o-EDDHMA adsorvido na esfera de QTS-R, D é a massa de esferas QTS-R por volume de solução, b é a constante de equilíbrio do modelo e a é o ajuste do modelo.

Tabela 3.5. Parâmetros da equação 2.6 em relação a concentração inicial do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA em solução.

$C_{\text{inicial}} /$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	50	100	125	270
R^2	-	0,9983	0,9960	0,9984
a	-	$(9,8 \pm 1,1) \times 10^3$	$(2,4 \pm 1,6) \times 10^3$	$(4,54 \pm 0,45) \times 10^3$
b	-	$(1,9 \pm 0,1) \times 10^5$	$(1,6 \pm 0,15) \times 10^5$	$(0,79 \pm 0,038) \times 10^5$

3.4.1.3. Estudo das Isotermas de Adsorção

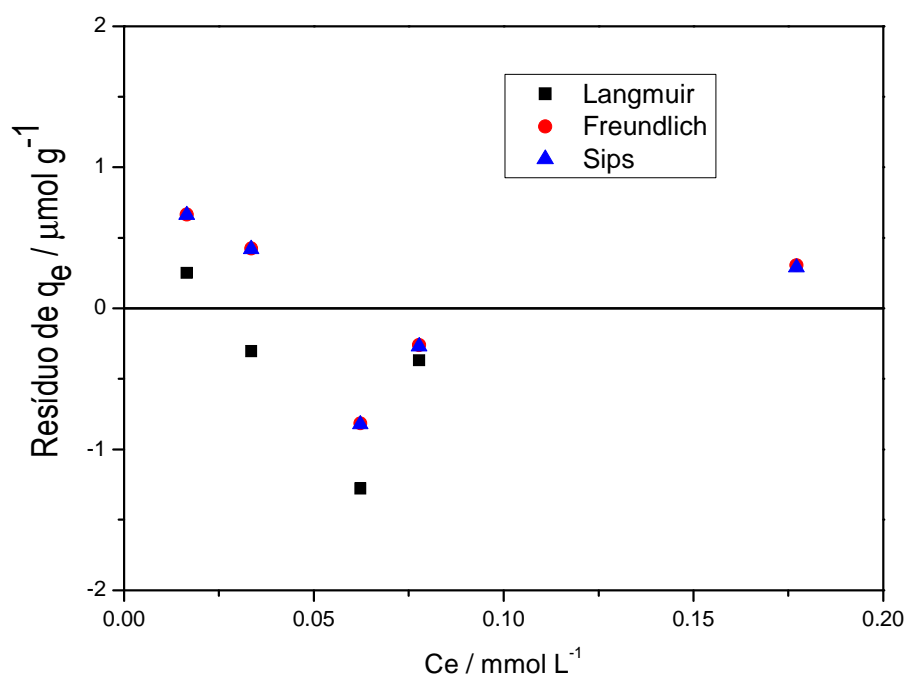
O estudo das isotermas de adsorção foi realizado considerando as concentrações no equilíbrio obtidas a partir da concentração inicial do complexo de 20 a 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Foram estudados os modelos de Freundlich, Langmuir e de Sips, cujos parâmetros estão apresentados na Tabela 3.6. Considerou-se tanto o coeficiente de determinação (R^2) quanto os gráficos de resíduos.

Os três modelos apresentaram coeficientes de determinação próximos, entre 0,92 (para o modelo de Langmuir) e 0,97 (modelo de Freundlich). O gráfico de resíduos (Fig. 3.7) permitiu observar o ajuste dos modelos estudados. A distribuição dos resíduos foram semelhantes nos modelos estudados, sendo um pouco melhor nos modelos de Sips e Freundlich. Pelo modelo de Sips observa-se pelo parâmetro q_{ms} , que a quantidade de saturação da esfera é de 8,7 mmol do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA por cada grama da esfera.

O termo $1/n$ do modelo de Freundlich foi inferior a 1, indicando a presença de sítios altamente energéticos e que o processo de adsorção do complexo é favorável. A qual o processo de adsorção do complexo pelas esferas de QTS-R ocorra mais rápido que o processo de liberação.

Tabela 3.6. Parâmetros dos modelos de sorção Freundlich, Langmuir e Sips.

Modelo de Adsorção	Parâmetros	Unidade	Valores
Freundlich	R^2		0,9695
	K_F	$\text{mol (g de QTS-R)}^{-1} (\text{L mol}^{-1})^{1/n}$	0,004
	$1/n$		0,660
Langmuir	R^2		0,9193
	K_L	L mol^{-1}	$1,98 \times 10^{-4}$
	q_m	$\text{mol (g de QTS-R)}^{-1}$	$1,30 \times 10^{-5}$
Sips	R^2		0,9541
	K_S	$(\text{L mol}^{-1})^{a_s}$	0,4655
	q_{ms}	$\text{mol (g de QTS-R)}^{-1}$	0,0087
	a_s		0,6612

**Figura 3.7.** Resíduos do ajuste da quantidade do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA adsorvidos por grama das esferas de QTS-R (q_e), dos modelos de adsorção de Freundlich, Langmuir e Sips testados na adsorção do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA pelas esferas de QTS-R.

3.4.1.4. Influência do pH e da Reticulação das esferas de quitosana com glutaraldeído na Adsorção do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA

Os resultados do estudo da influência do pH e da reticulação das esferas de quitosana foi realizado com um planejamento fatorial 2^2 , e estes são apresentados na Tabela 3.7. Este planejamento foi escolhido por ser mais adequado para o estudo de poucas variáveis, pois são realizados poucos experimentos. Desta forma foi possível saber a influência destas duas variáveis estudadas, na adsorção do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA pelas esferas de quitosana.

Após a mineralização das esferas de quitosana, foi determinada por absorção atômica a quantidade de ferro adsorvido nas esferas de QTS-R. Posteriormente o ferro foi convertido a uma resposta em relação à quantidade do complexo. Pelo gráfico da superfície de resposta (Figura 3.8) pode-se observar a influência negativa do pH.

Considerando que os grupos amínicos residuais nas esferas de quitosana apresentam valores de pKa ao redor de 6,5, em valores de pH mais baixos, esses grupos ficam mais protonados, havendo, desta maneira, uma maior adsorção (por troca-iônica) do complexo, que é aniônico. A adsorção também é favorecida em concentrações inferiores de glutaraldeído, pois nestas condições as esferas de quitosana irão ter um maior número de grupos aminos disponíveis, devido ao menor número de ligações cruzadas entre os grupos aldeído do glutaraldeído e os grupos aminos da quitosana (bases de Schiff) [140].

Tabela 3.7: Teor de Fe(III)-o,o-EDDHMA adsorvido nas esferas de quitosana (QTS-R) em dois níveis de pH e em dois níveis de glutaraldeído que foi usado para a reticulação das esferas.

Experimentos	pH adsorção	Glutaraldeído / mol L ⁻¹	Fe(III)-o,o-EDDHMA mg/g de QTS-R ¹
1	4,0	0,0126	105,27 ± 0,93 ^a
2	4,0	0,630	73,71 ± 0,68 ^b
3	7,5	0,0126	57,67 ± 0,91 ^c
4	7,5	0,630	40,25 ± 1,03 ^d

⁽¹⁾Médias do Teor de Fe(III)-o,o-EDDHMA adsorvido nas esferas de quitosana (QTS-R) com mesma letra não diferem significativamente pelo Teste de ANOVA-Tuckey a nível de 95% de confiança.

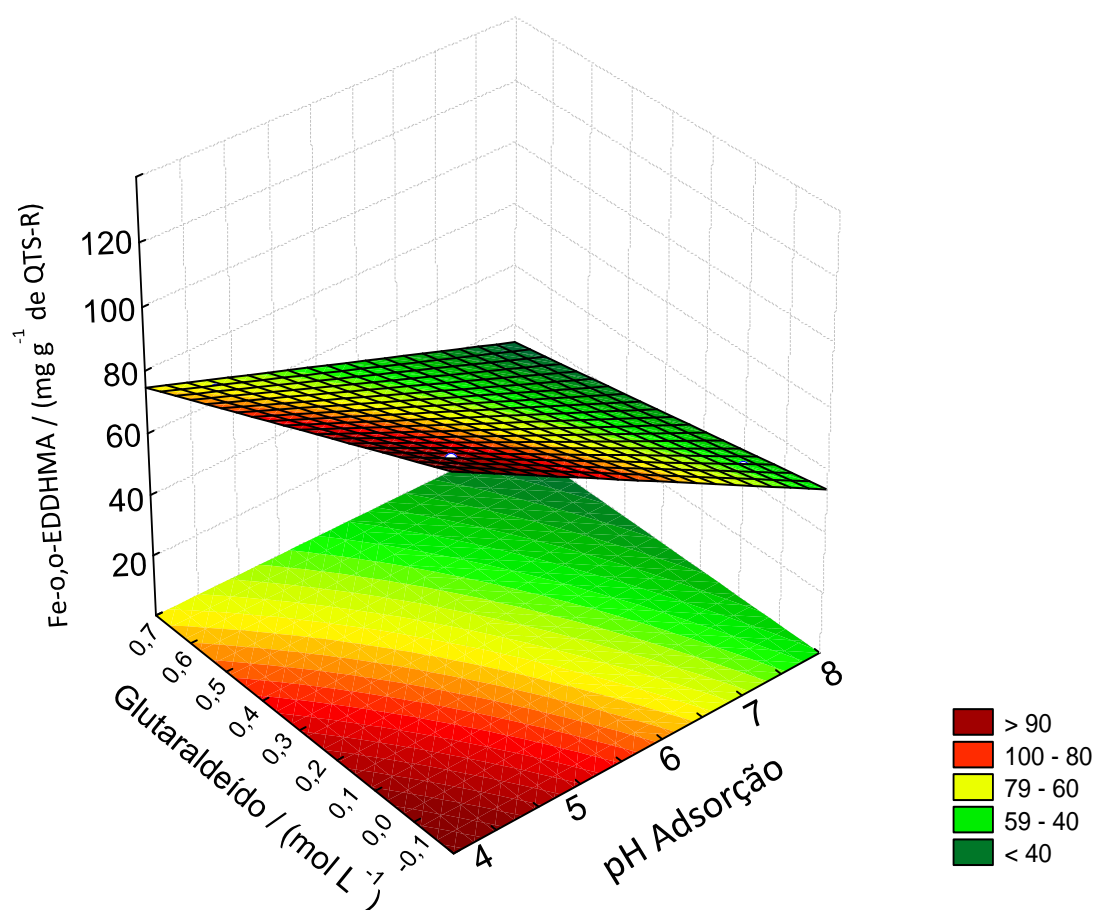


Figura: 3.8. Superfície de resposta do Planejamento Fatorial 2² mostrando a quantidade do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA adsorvido, em função da concentração de reticulação de glutaraldeído e do pH da solução durante a adsorção.

3.4.1.5. Influência da força iônica na desorção do complexo das esferas de QTR-S

Afim de estudar a liberação do complexo das esferas de QTS-R, primeiramente foi avaliado a influência da força iônica sobre a desorção do complexo, devido o mesmo apresenta carga.

A Figura 3.9 mostra o efeito da força iônica na liberação do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA das esferas de QTS-R. Observa-se que as esferas de quitosana são trocadores aniônicos muito fraco, pois com o aumento da concentração de NaCl aumenta-se a liberação do complexo das esferas de QTS-R [144].

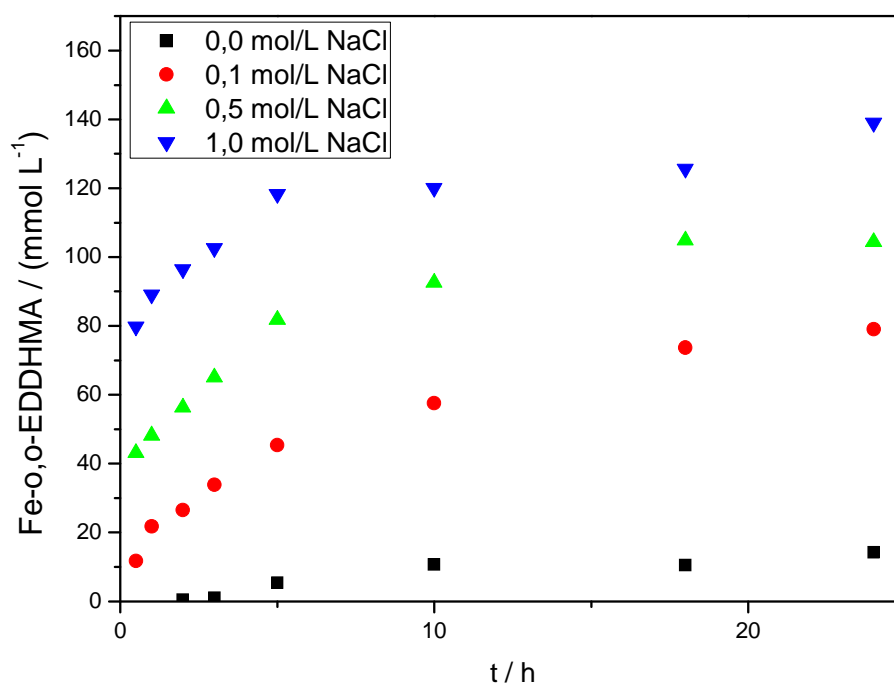


Figura 3.9. Influência da força iônica na desorção do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA adsorvido nas esferas de QTS-R.

3.4.1.6. Liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA

O planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} em duplicata foi utilizado para avaliação do pH de adsorção, pH de liberação, concentração de cloreto na liberação do complexo e a reticulação das esferas de quitosana com

glutaraldeído, tendo como resposta a concentração do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA liberado da esfera de QTS-R.

Os dados obtidos estão apresentados na Figura 3.10, e pode-se observar que, independente da condição do ensaio, todos os experimentos alcançaram o equilíbrio em aproximadamente 24 h. Além disso, em todas as condições, a liberação ocorreu de maneira mais lenta do que o apresentado durante o processo de adsorção, que alcançou o equilíbrio aproximadamente na metade desse tempo.

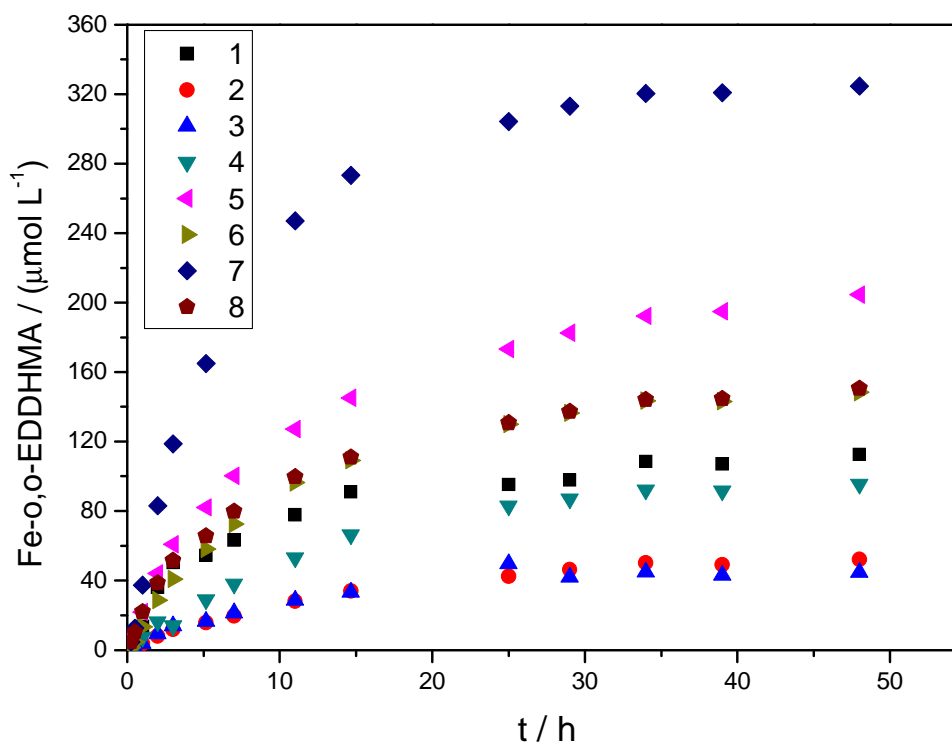


Figura 3.10 Liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA adsorvido nas esferas de QTS-R nos experimentos do planejamento fatorial 2^{4-1} . Os números apresentados na legenda são referentes aos números de cada experimento descrito na tabela 3.2.

Na Figura 3.11 é apresentado o diagrama de pareto para os efeitos da liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA. Verificou-se que os efeitos principais da concentração de cloreto (força iônica), do pH de adsorção e a concentração de glutaraldeído na etapa de reticulação foram significativos ao nível de 95% de confiança ($p < 0,05$). Foi observado também o efeito secundário sinérgico do pH de adsorção com a concentração de glutaraldeído mas antagônico com a concentração de cloreto. Por outro lado, o pH de dessorção, ou seja, do meio onde se encontravam as esferas de QTS-R não foi

significativo. Esses efeitos podem ser compreendidos considerando que, o aumento da concentração de cloreto no meio leva a uma maior liberação do complexo, devido ao processo de adsorção ser por interação eletrostática, aliado ao fato do pH de adsorção controlar o número de sítios positivos na QTS-R durante a adsorção e a concentração de glutaraldeído controlar o número de grupos amínicos livres. A diminuição tanto do pH quanto da concentração de glutaraldeído favorece o processo (sinergicamente), enquanto que o aumento da concentração de cloreto aumenta a liberação, antagonicamente com a diminuição do pH.

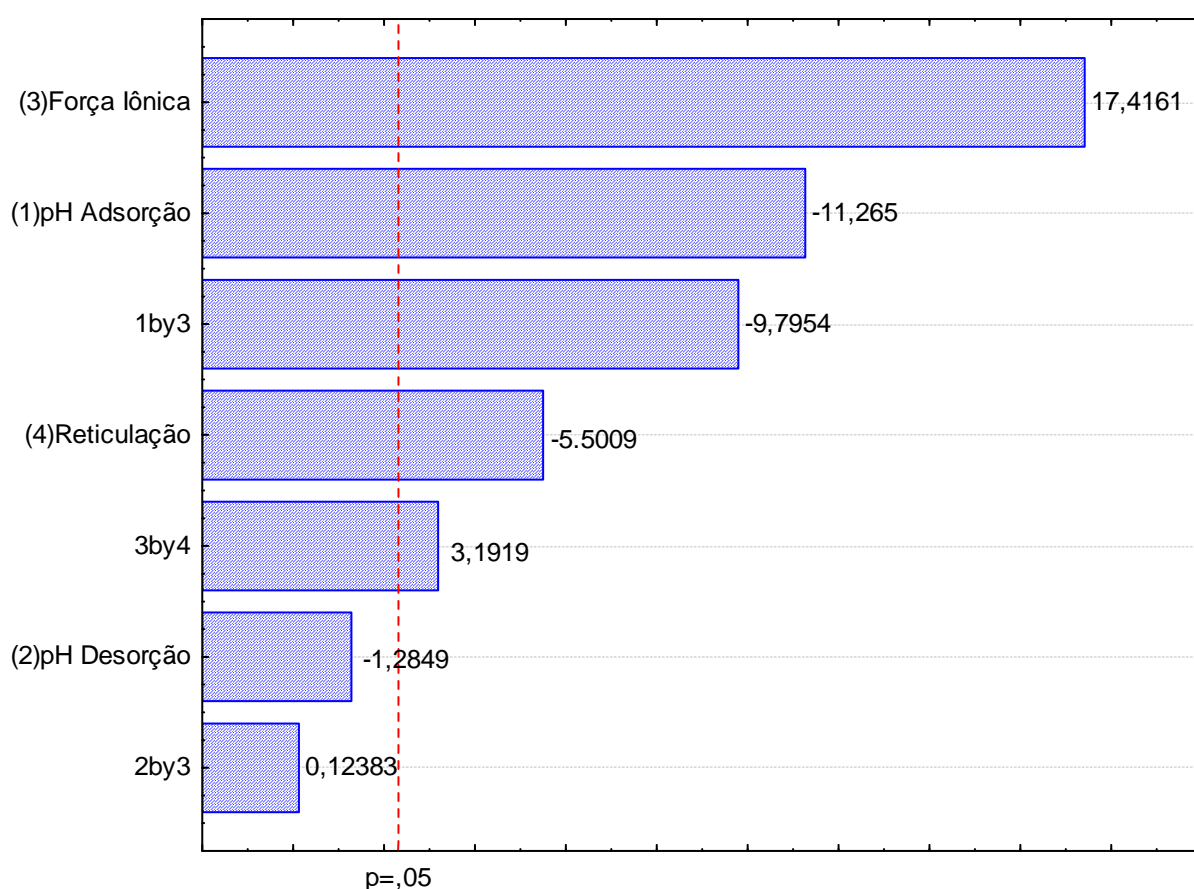


Figura 3.11: Diagrama de Pareto do planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} , para os fatores pH de adsorção, pH de dessorção, concentração de glutaraldeído (Reticulação) e adição de cloreto de sódio (Força Iônica) sobre a concentração, no equilíbrio, de complexo em solução após a liberação controlada.

A fim de garantir que durante o processo de dessorção não houve a destruição do complexo, foi também determinada a concentração de ferro total na solução final, através da espectrofotometria de absorção atômica. Na Figura

3.12 observa-se uma boa correlação entre a concentração do complexo (determinado por espectrofotometria de absorção molecular) e a concentração de ferro total, com coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,9972. Com a inclinação da reta de regressão muito próximo de 1, (Equação 2.7), pode-se considerar que o processo de liberação não causou alteração na forma química predominante do ferro(III) em solução.

$$C_{\text{Lib(M)}} = (0,914 \pm 0,018) \cdot C_{\text{Lib(A)}} + (2,536 \pm 0,765) \quad R^2 = 0,9972 \quad (2.7)$$

onde $C_{\text{Lib(M)}}$ é a concentração de Fe(III)-o,o-EDDHMA liberado em mg/g de esfera de QTS-R determinado por espectrofotometria de absorção molecular e $C_{\text{Lib(A)}}$ é a concentração de Fe(III)-o,o-EDDHMA liberado (mg/g) de esfera de QTS-R determinado por espectrofotometria de absorção atômica.

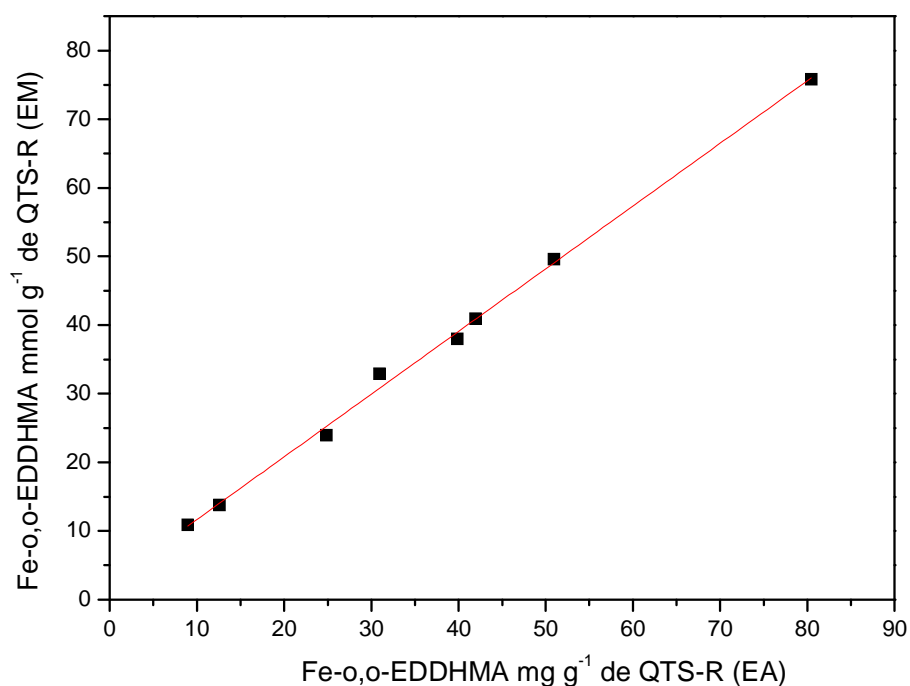


Figura 3.12 Comparação da concentração de complexo liberado.

3.4.1.7. Comportamento cinético

O modelo cinético de Noyes-Whitney foi o que melhor se ajustou ao processo de liberação do complexo de Fe(III)-o,o-EDDHMA pelas esferas

saturadas de QTS-R nas condições do planejamento fatorial utilizado. Conforme apresentado na Figura 3.13, este modelo é o que apresenta a menor variação no resíduo em todas os ensaios do planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} . Este modelo também foi o que melhor se ajustou ao processo cinético de adsorção do complexo pelas esferas de QTS-R.

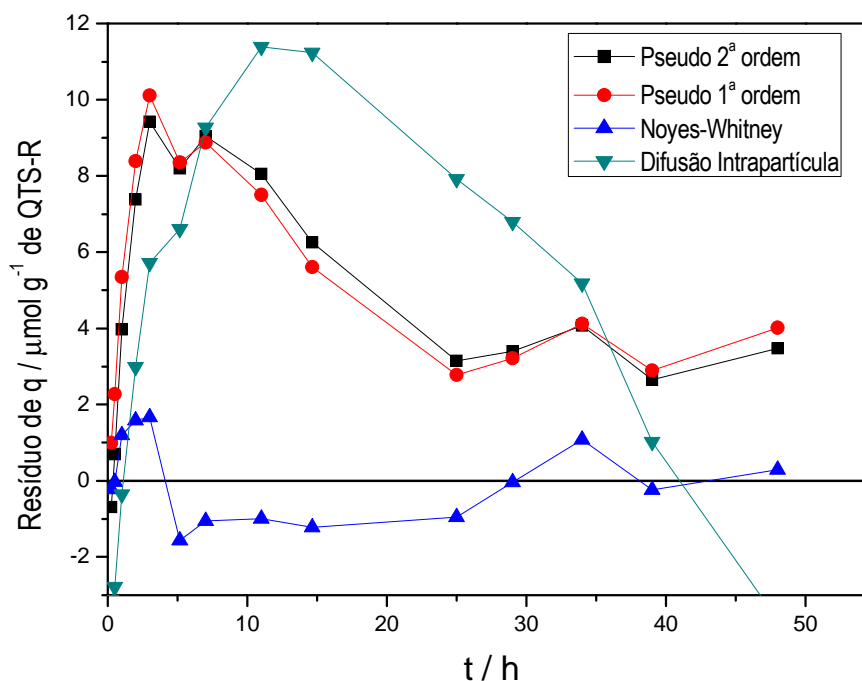


Figura 3.13 Resíduo dos modelos cinéticos ajustados para a liberação controlada de Fe-o-o-EDDHMA do planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} . O pH de adsorção e de liberação do complexo: 7,5; concentração de NaCl na liberação: $1,0 \text{ mol L}^{-1}$; concentração de glutaraldeído na reticulação das esferas de quitosana: $0,0126 \text{ mol L}^{-1}$.

A avaliação do pH de adsorção, pH de liberação, força iônica na liberação do complexo e a reticulação das esferas de quitosana com glutaraldeído, tendo como resposta a constante cinética do modelo de Noyes-Whitney, foi realizada de acordo com planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} em duplicata. Na Figura 3.14 é apresentado o gráfico de Pareto para os efeitos da liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA. Verificou-se que, a força iônica, o pH de adsorção, o pH de desorção, a interação dos fatores força iônica com a reticulação das esferas de quitosana e a interação do pH de desorção com a força iônica foram significativos ao nível de 95% de confiança

($p < 0,05$). Neste estudo a concentração de glutaraldeído na etapa de reticulação não foi significativo. Estes resultados estão de acordo com o comportamento apresentando na Figura 2.18, para o qual a força iônica foi o fator mais significativo. Nota-se que neste estudo foi utilizado como resposta a quantidade de complexo liberado quando o sistema alcançou o equilíbrio.

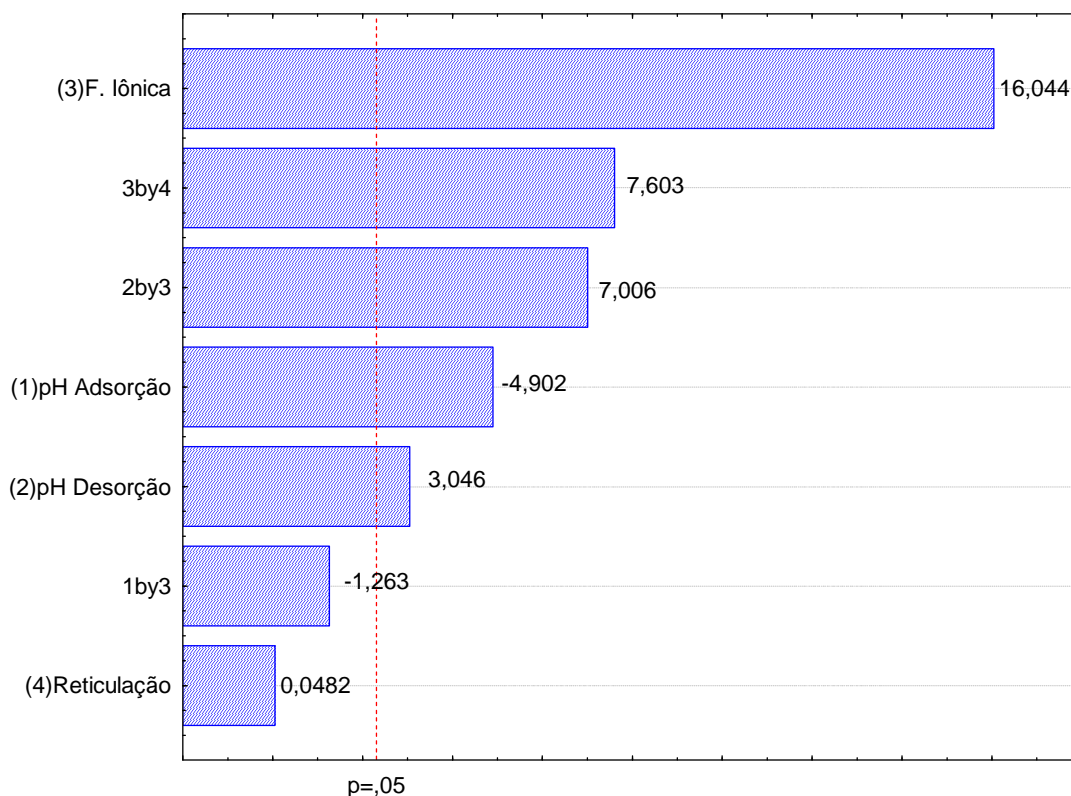


Figura 3.14. Diagrama de Pareto do planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} , para os fatores pH de adsorção, pH de desorção, concentração de glutaraldeído (Reticulação) e adição de cloreto de sódio (Força Iônica) utilizando-se como resposta a constante cinética no modelo de Noyes-Whitney.

3.4.1.8. Liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA adsorvido nas esferas de QTS-R para nutrição de alface por hidroponia

O estudo da adsorção do ferro pelo alface em meio hidropônico foi realizado com o complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA adsorvido em esferas de quitosana. Com base nos resultados obtidos do planejamento fatorial 2^2 (Tabela 3.7) e o teor de complexo que foi liberado em cada ensaio deste estudo, escolheu-se trabalhar com as esferas de QTS-R que adsorveram maior quantidade de complexo. Dentre estas foram escolhidos dois ensaios, o

primeiro em que o complexo foi liberado em grande quantidade e o outro em que o complexo foi liberado em baixa quantidade. Desta forma foram escolhidas as esferas do ensaios A (Alto teor de liberação) e C (baixo teor de liberação) da Tabela 3.8.

Tabela 3.8: Teor de Fe(III)-o,o-EDDHMA adsorvido e liberado nas esferas de quitosana (QTS-R) em dois níveis de pH e dois níveis de concentração de glutaraldeído que foi usado para a reticulação das esferas.

Ensaio	pH	Glutaraldeído	Adsorvido	Retido	% liberado
		mol L ⁻¹	mg de Fe(III)-o,o-EDDHMA / g de QTS no equilíbrio		
A	4,0	0,0126	105,27	46,51	55,82
B	7,5	0,6300	40,25	29,03	27,88
C	4,0	0,6300	73,70	58,74	20,30
D	7,5	0,0126	57,67	34,28	40,56

O estudo da adsorção de ferro pelo alface no cultivo por hidroponia foi realizado nas condições: 1) com o complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA adsorvido em esferas de quitosana, complexo livre em solução; 2) com o ferro(III) livre, usando como branco uma solução hidropônica sem ferro. Em todos os casos a quantidade de ferro adicionado na solução hidropônica foi a mesma utilizada no preparo da solução nutritiva indicada por *Furlani et al.* [136]. A Tabela 3.8 foi usada para estabelecer as condições de trabalho da esfera de QTS-R, ou seja, na condição em que absorvesse maior quantidade de complexo e na que tivesse uma maior liberação do complexo (ensaio A) e em outro com uma menor liberação (ensaio C).

Na Tabela 3.9 observa-se que houve diferença significativa na quantidade de ferro presente no material vegetal, em relação aos dois ensaios que usaram as esferas de QTS-R para a liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA. Comprovando assim que a esfera usada no ensaio 1 liberou maior quantidade de complexo para adsorção da planta, estando assim de acordo com o resultado apresentado na Tabela 3.8.

A raiz não apresentou diferença significativa na quantidade de ferro presente nos estudos do ensaio 1 em comparação com as do ensaio 4, portanto não mostrando diferença significativa do uso do complexo livre para a

do complexo adsorvido na esferas de QTS-R. Uma das vantagens de se trabalhar com as esferas é o seu manuseio em relação a uma solução do complexo. É possível otimizar a quantidade de esfera a ser adicionada à solução nutritiva da hidroponia não havendo necessidade neste caso do preparo de solução.

No caso da folha observou-se que não houve diferença significativa do uso na solução nutritiva do íon Fe(III) para o complexo Fe-o,oEDDHMA e que o uso do complexo livre (ensaio 3) apresentou uma quantidade de ferro maior na folha do que a do ensaio 1, apesar da esfera de QTS-R usada no ensaio 1 liberar muita quantidade do complexo, mas nem todo o complexo da esfera é liberado para a solução.

Tabela 3.9: Teor de Fe no material seco do alface.

Ensaio	Forma do Fe ³⁺	Glutaraldeído (mol L ⁻¹) ¹	pH adsorção ²	Folha ³	Raiz ³
				mg g ⁻¹	
1	Adsorvido QTS-R	0,0126	4,0	0,666 ± 0,071 ^a	3,234 ± 0,178 ^e
2	Adsorvido QTS-R	0,663	4,0	0,485 ± 0,020 ^b	2,091 ± 0,110 ^f
3	Fe(III)-o,o- EDDHMA	-	-	0,765 ± 0,042 ^c	4,528 ± 0,767 ^g
4	Fe ³⁺	-	-	0,608 ± 0,077 ^{ac}	3,073 ± 0,158 ^e
5	-	-	-	0,351 ± 0,035 ^e	1,113 ± 0,183 ^h

¹Concentração de Glutaraldeído utilizado na reticulação das esferas de quitosana

²pH de adsorção do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA pelas esferas de QTS-R

³Médias com mesma letra não diferem significativamente pelo Teste de ANOVA-Tuckey a nível de 95% de confiança.

3.5. CONCLUSÃO

As concentrações de Fe(III)-o,o-EDDHMA nas esferas de quitosana reticulada com glutaraldeído (QTS-R) atingiram o equilíbrio após 11 horas de adsorção e não foi observada uma correlação muito forte entre as concentrações iniciais de adsorção do complexo com as constantes cinéticas. No estudo das isotermas de adsorção, os modelos apresentaram ajustes semelhantes, sendo um pouco melhor nos modelos de Sips e Freundlich. O pH mais baixo favoreceu a adsorção do complexo, bem como uma menor reticulação da quitosana com o glutaraldeído.

Com o auxílio de um planejamento fatorial fracionado 2^{4-1} estudou-se a liberação do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA das esferas de QTS-R e verificou-se que os efeitos principais da concentração de cloreto (força iônica), do pH de adsorção e da concentração de glutaraldeído na etapa de reticulação, foram significativos ao nível de 95% de confiança ($p < 0,05$), além dos efeitos secundários sinérgicos do pH de adsorção com a concentração de cloreto e da concentração de glutaraldeído com a concentração de cloreto. Por outro lado, o pH de dessorção, ou seja, do meio onde se encontrava as esferas de QTS-R não foi significativo.

A liberação controlada do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA das esferas de QTS-R em todas condições estudadas apresentaram um melhor ajuste ao modelo de Noyes, constatando que a liberação ocorre por processos de difusão, sem interação com a matriz polimérica.

Na aplicação das esferas de QTS-R adsorvidas com o complexo para a nutrição de alface com o ferro por hidroponia, observou-se que não ocorreu deficiência deste nutriente na planta e ainda comprovou-se que a planta absorveu maior teor de ferro da esfera de QTS-R que liberou maior quantidade.

Capítulo 4 – Um novo método espectrofotométrico para determinação de EDTA em água usando o seu complexo com Mn (III) e o estudo da liberação de EDTA de matrizes poliméricas

4.1- INTRODUÇÃO

Ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) é um agente quelante amplamente utilizado em diversos produtos comerciais, como por exemplo em shampoos, devido à sua capacidade de formar complexos estáveis e solúveis com íons metálicos [23]. Assim, grandes quantidades de EDTA são descartados no meio aquático acarretando fortes impactos ambientais, não só devido ao aumento da concentração dessa substância que é recalcitrante e tóxica [24-26], como também em função do aumento da mobilização (dissolução) de metais do solo e de sedimentos. Em função disto, há um aumento da concentração de metais em águas e conseqüentemente um aumento da absorção desses pelas plantas [27]. Além disso é necessário desenvolver métodos analíticos para a quantificação do EDTA nesses meios.

Vários métodos foram desenvolvidos para este fim, empregando, cromatografia gasosa [146,147], quimioluminescência [148,149], fluorescência [150], cromatografia iônica [151], cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) [152-160] e espectrofotometria molecular [161-163].

A espectrofotometria molecular é um processo rápido, de operação fácil, de baixo custo e com elevada sensibilidade e precisão, embora raramente usada para a quantificação de EDTA [161-163]. No trabalho de Hamano e colaboradores (1993) [162] o EDTA foi quantificado de forma indireta, onde se usou o ácido 4,7-difenil-1,10-fenantrolinadissulfônico para deslocar o EDTA do complexo Fe(III)-EDTA, formando assim um complexo colorido que absorve em 535 nm. No trabalho de Wang e *et. al.* (2013) [163] o método usado para a quantificação indireta do EDTA foi a redução do excesso de íon Fe^{3+} que não se complexou com o EDTA a Fe^{2+} e este formando um complexo colorido com o ligante 1-10 fenatrolina.

Neste trabalho também foi estudado a quantificação direta do EDTA com a formação do complexo colorido contendo o íon Mn(III). Este complexo sofre

influência do pH, devido a desprotonação do EDTA e também pela formação dos hidroxocomplexos de Mn(II) e Mn(III). Assim, para a otimização das condições experimentais, utilizou-se a Matriz de Doehlert. Este é um planejamento experimental de segunda ordem e permite estudar em maior número de níveis a variável mais significativa, que neste estudo foi o pH. Esta otimização multivariável apresentaria também a vantagem do acréscimo de pequeno número de experimentos para a expansão da região em estudo caso seja necessário [98,164].

A formação do complexo de Mn(III)-EDTA tem sido usada para determinação de Mn(II) em solução [165-167]. No trabalho de Silva et. al. (2011) [167] foi utilizado PbO₂ imobilizado em uma resina polimérica formada pela mistura de acetato de celulose dissolvido em formaldeído e acetona, sendo esta resina usada para a oxidação do manganês(II) complexado e a absorbância medida no máximo de absorção na região do visível (488 nm).

Neste trabalho foi desenvolvido um método espectrofométrico para determinação de EDTA a partir da formação do complexo Mn(III)-EDTA pela oxidação do Mn(II) por PbO₂ imobilizado em cianoacrilato. O método foi otimizado com auxílio de uma Matriz Doehlert de 2 variáveis utilizando modelo de regressão múltipla com seleção tipo *stepwise*.

4.2. OBJETIVOS

4.2.1. Objetivos gerais

- Desenvolver um método espectrofométrico para determinação de EDTA a partir da formação do complexo Mn(III)-EDTA pela oxidação do Mn(II) por PbO₂ imobilizado em cianoacrilato.

4.2.2. Objetivos específicos

- Validar o método espectrofométrico para determinação de EDTA, determinando as figuras de mérito: seletividade, limite de detecção, limite de quantificação, linearidade e o estudo dos concomitantes.
- Otimizar o método espectrofotométrico, avaliando-se o pH do meio e a razão Mn(II)/EDTA.
- Otimizar o método espectrofotométrico com auxílio de uma Matriz Doehlert de 2 variáveis utilizando modelo de regressão múltipla com seleção tipo *stepwise*.
- Aplicar o método otimizado e validado para determinação de EDTA em amostras de água bruta.
- Utilizar o método desenvolvido nas curvas de liberação controlada da matriz polimérica.

4.3. MATERIAIS E MÉTODOS

4.3.1. Equipamentos

Para a determinação do complexo Mn(III)-EDTA foi utilizado um espectrofotômetro com arranjo linear de diodos (*diode-array*, Agilent 8453A), utilizando uma cubeta de quartzo de 10 mm de caminho óptico.

4.3.2. Reagentes e Soluções

Todas as soluções foram preparadas com os reagentes de grau analítico e de elevada pureza, em água tipo 1, obtida com um sistema Milli-Q[®] (Millipore, Bedford, MA, EUA).

As soluções estoque de EDTA ($1,0 \text{ mmol L}^{-1}$) e de Mn^{2+} ($18,2 \text{ mmol L}^{-1}$), foram preparadas a partir de sal dissódico de EDTA (Vetec) e do cloreto de manganês(II) (Vetec). Para a avaliação de possíveis cátions interferentes utilizou-se soluções estoque (500 mmol L^{-1}) de Ca^{2+} , Mg^{2+} , Al^{3+} , Cr^{3+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Pb^{2+} e Cu^{2+} preparadas por dissolução, respectivamente, de quantidades apropriadas de cloreto de cálcio (Vetec), cloreto de magnésio hexahidratado (Vetec), cloreto de alumínio (Vetec), cloreto de cromo (III) hexahidratado (Vetec), sulfato de zinco (Vetec), cloreto de ferro (II) tetra hidratado (Merck), sulfato de ferro (III) e amônio hexahidratado (Vetec); nitrato de chumbo (II) (Reagen) e sulfato de cobre (II) dihidratado (Vetec).

Soluções tampão foram preparadas em diferentes valores de pH na concentração de 10 mmol L^{-1} pela dissolução/diluição de quantidade apropriada de seus reagentes em água. O valor de pH foi ajustado utilizando-se soluções de NaOH $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ e HCl $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. A solução tampão em pH 4,5 foi preparada a partir de ácido acético glacial (Vetec); em pH 6,0 a partir de fosfato de sódio dibásico anidro (Vetec); em pH 7,5, Tris-hidroximetilamino metano (Synth) e em pH 9,0 utilizou-se o ácido bórico (Vetec). Para o estudo do pH 3,0 foi feito a uma diluição adequada de uma solução de ácido clorídrico concentrado (Vetec).

As esferas de PbO_2 foram obtidas pelo gotejamento de cianoacrilato (Superbonder[®]) sobre o pó de dióxido de chumbo (II) (Merck), sob agitação manual. Após formação as esferas de PbO_2 foram retiradas e lavadas com

água. Cinco esferas de PbO_2 foram utilizadas em cada ensaio, sendo que cada esfera tinha aproximadamente 100 mg.

4.3.3. Método

O método otimizado para determinação do EDTA consistiu em adicionar a 1,0 mL da amostra, 2,0 mL da solução tampão de acetato 10 mmol L^{-1} em pH 4,5 e 300 μL de solução de Mn^{2+} a 18 mmol L^{-1} , com o volume sendo elevado até 10 mL com água Milli-Q[®]. Nesta etapa ocorre a formação do complexo $\text{Mn}^{\text{II}}\text{EDTA}^{2-}$. A este sistema são adicionados 5 esferas de PbO_2 imobilizados na superfície de cianoacrilato para a oxidação do complexo para a formação do $\text{Mn}(\text{III})\text{-EDTA}$. As amostras são agitadas em mesa agitadora orbital (Tecnal TE-420, Brasil) a 180 rpm por 120 minutos, em mesa agitadora (Tecnal TE 420) e posteriormente as absorvâncias foram medidas em 242 nm.

Para garantir eventuais erros devido à elevação da linha de base nas leituras, utilizou-se a absorvância em 750 nm como referência.

4.3.4. Otimização do método

Utilizou-se um planejamento de experimentos (DOE) baseado na Matriz Doehlert²⁵ com 2 variáveis para otimizar: (A) pH (em 5 níveis na faixa de 3,0 até 9,0); (B) razão entre a concentração de Mn (II) e o EDTA (Razão Mn/EDTA iguais a 12, 24 e 36 vezes). A sensibilidade analítica foi utilizada como resposta no planejamento experimental, de maneira que, para cada condição experimental, foi obtida uma curva analítica na faixa de 1,0 à 100,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A Tabela 4.1 apresenta as condições experimentais definidas pelo planejamento da Matriz Doehlert.

Tabela 4.1. Planejamento da Matriz de Doehlert para as variáveis pH (A) e Razão Mn/EDTA (B), com os valores reais e suas respectivas coordenadas.

Ensaio	Valores Codificados		Valores reais	
	A	B	pH	Razão Mn/EDTA
1	-1,0	0,000	3,0	24
2	-0,5	-0,866	4,5	12
3	-0,5	0,866	4,5	36
4	0,5	-0,866	7,5	12
5	0,5	0,866	7,5	36
6	1,0	0,000	9,0	24
7 ^a	0,0	0,000	6,0	24

^a ponto central realizado em triplicata.

4.3.5. Validação do método analítico

Foram avaliadas as figuras de mérito do método na condição ótima: qualidade do ajuste; faixa analítica; limite de detecção (LOD); limite de quantificação (LOQ) e estudo de concomitantes.

4.3.6. Aplicação do Método

O método otimizado e validado para a determinação de EDTA foi aplicado na análise de amostras de água do abastecimento público da Cidade de Viçosa-MG, coletada diretamente da torneira (Amostra 1) e de água do Rio Doce (Amostra 2), sendo esta coletada próximo ao km 565 da rodovia BR120, em Rio Doce (Minas Gerais/Brasil). As amostras de água foram fortificadas em três níveis de concentração (30,0; 60,0 e 100,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$).

4.3.7. Estudo da Liberação Controlada de EDTA

4.3.7.1. Obtenção do polímero Agar-Agar/ H₄EDTA

4.3.7.1.1. Polímero de ágar-ágar em diferentes proporções de H₄EDTA

Para o preparo do polímero de ágar-ágar (Kanten) a 2,0% (m/m), em um béquer de 50 mL, foram pesados 0,200 g de ágar-ágar juntamente com o H₄EDTA em diferentes massas (0,05, 0,10 e 0,20 g). Adicionou-se água destilada de 2,0 mL em 2,0 mL à mistura, deixando-a pastosa até 20,0 g de solução, sempre homogeneizando com um bastão de vidro. A mistura foi levada a banho-maria em uma chapa aquecedora. Após o aquecimento, a mistura foi transferida para formas (copo plástico pequeno de 30 mL) e mantidas na geladeira (4°C) até o momento do uso.

Os géis foram cortados na forma de cubos de 2,0 cm de diâmetro utilizando dispositivos home-made, construídos a partir de lâminas de estilete colados com resina epóxi sobre uma superfície plástica, conforme apresentado na Figura 4.1. Os pellets obtidos foram armazenados em geladeira até a utilização.

Os cubos de ágar-ágar com 2 cm de aresta ficaram com H₄EDTA em diferentes proporções (29,9, 57,7 e 115,5 μmol).



Figura 4.1. (A) Dispositivos home-made utilizados para o corte dos cubos de ágar-ágar, espaçamento de 2,0 cm e espaçamento de 1,0 cm. (B) Pellets obtidos após corte da matriz de ágar-ágar utilizando dispositivos home-made.

4.3.7.2. Obtenção do polímero Gelatina Incolor/ H₄EDTA

4.3.7.2.1. Preparo do polímero de gelatina incolor em água com H₄EDTA

A gelatina Incolor foi preparada na concentração de 10,0% (m/m), onde foi colocado em um béquer de 50 mL, 1,00 g da gelatina incolor e 0,10 g de H₄EDTA. Adicionou-se água destilada de 2,0 mL em 2,0 mL à mistura, deixando-a pastosa até 20,0 g de solução. A mistura foi levada a banho-maria em uma chapa aquecedora. Após o aquecimento, a mistura foi transferida para formas (copo plástico pequeno de 30 mL) e mantidas na geladeira (4°C) até o momento do uso.

Os géis foram cortados na forma de cubo de 2,0 cm de diâmetro utilizando dispositivos home-made (Figura 4.1A). Os pellets obtidos foram armazenados em geladeira até a utilização.

4.3.7.2.2. Preparo do polímero de gelatina incolor em diferentes pHs

Para avaliar o efeito do pH na liberação do H₄EDTA, a gelatina incolor foi preparada em diferentes pH, o seu preparo foi realizado conforme o item 2.3.1, mas substituindo a água destilada por soluções de HCl em pH 2,0 ou também por soluções tampão em pH 3,0 e 4,5.

Os géis foram preparadas em diferentes pHs, em pH 2,0 utilizou-se a solução de HCl 0,01 mol L⁻¹. No preparo da solução tampão de pH 3,0 usou-se o ácido fosfórico e a solução tampão de pH 4,5 foi preparada com o ácido acético, todas as soluções tampão estavam na concentração analítica de 1,0 x 10⁻³ mol L⁻¹. No ajuste de pH de cada solução tampão foi usado soluções de NaOH 0,1 mol L⁻¹ e HCl 0,1 mol L⁻¹.

4.3.7.3. Monitoramento da liberação de EDTA

A liberação do H₄EDTA ocorreu em vários frascos plásticos de 100 mL, em cada um havia 50 mL de água destilada, os mesmos encontravam sob agitação mecânica de 180 rpm em mesa agitadora (Tecnal TE 420). Em cada frasco foi adicionado um *pellet* de 2 cm de diâmetro de cada matriz polimérica preparada nos itens 4.3.7.1.1, 4.3.7.2.1 e 4.3.7.2.2 O tempo foi marcado (com

auxílio de um cronômetro) a partir do momento da colocação do pellet no frasco. A liberação do H₄EDTA foi estudada monitorando-se a condutividade elétrica com um condutivímetro (AZ modelo 86503), contendo uma célula de condutividade com constante de célula igual a 0,1 cm⁻¹, calibrado com soluções padrão de cloreto de potássio [168].

Para comparar os resultados da condutividade elétrica, foram recolhidas alíquotas de 0,5 mL em tempos definidos até que a liberação do H₄EDTA atingisse o equilíbrio. As alíquotas foram quantificadas pelo método otimizado para determinação do EDTA, que consiste em adicionar 0,5 mL da alíquota, 1,0 mL da solução tampão de acetato 10 mmol L⁻¹ em pH 4,5 e 150 µL de solução de Mn²⁺ a 18 mmol L⁻¹, com o volume sendo elevado até 5 mL com água Milli-Q[®], nesta etapa ocorre a formação do complexo Mn^{II}EDTA²⁻. A este sistema são adicionados 5 esferas de PbO₂ imobilizados na superfície de cianoacrilato para a oxidação do complexo para a formação do Mn^{III}EDTA. As misturas são agitadas em mesa agitadora orbital (Tecnal TE-420, Brasil) a 180 rpm por 120 minutos, em mesa agitadora (Tecnal TE 420) e posteriormente as absorvâncias são medidas em 242 nm no espectrofotômetro molecular (Agilent 8453A) em uma cubeta de quartzo de 10 mm de caminho óptico.

Para garantir eventuais erros devido à elevação da linha de base nas leituras, utilizou-se a absorvância em 750 nm como referência.

4.3.7.4.- Avaliação do modelo cinético de liberação do EDTA pelo ágar-ágar

Com os dados obtidos da adsorção do complexo, aplicou-se os modelos de regressão não-linear: difusão intrapartícula, pseudo 1^a ordem, pseudo 2^a ordem e Noyes-Whitney a fim de verificar o modelo que melhor explique o comportamento cinético da liberação do H₄EDTA da matriz polimérica de ágar-ágar.

4.3.8. Análise Estatística

Os dados obtidos foram comparados através da ANOVA com Post-Hoc teste Tukey ao nível de 95% de confiança utilizando software Statistica[®] 8.

4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.4.1. Estudos Iniciais

Os espectros das soluções aquosa do complexo $\text{Mn}^{\text{III}}\text{EDTA}^-$ e do EDTA ambos a $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ foram obtidos (Figura 4.2). Verifica-se um máximo de absorção do complexo $\text{Mn}^{\text{III}}\text{EDTA}^-$ no comprimento de onda, 242 nm com um coeficiente de absorvidade molar igual a $7762 \text{ L}/(\text{mol}\cdot\text{cm})$. Nessa concentração não é possível observar a banda de absorção com máximo em 490 nm, devido ao seu baixo coeficiente de absorvidade molar igual a $247 \text{ L}/(\text{mol}\cdot\text{cm})$. É interessante ressaltar que esse segundo comprimento de onda é usado nos trabalhos envolvendo esse complexo para a determinação de manganês (II) [164-166]. Assim, foi avaliada a relação linear entre as absorvâncias desse complexo nos comprimentos de onda de 242 nm e 490nm para garantindo que está sendo utilizado uma banda diretamente relacionada ao complexo. Obteve-se um coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,998 e com o desvio padrão dos resíduos igual a 0,024. A sensibilidade analítica no comprimento de onda de 242 nm foi 31,4 vezes maior que aquela obtida em 490 nm. Desta maneira, esse comprimento de onda foi escolhido para o desenvolvimento do método. O espectro do EDTA não apresentou bandas de absorção nessa região de estudo.

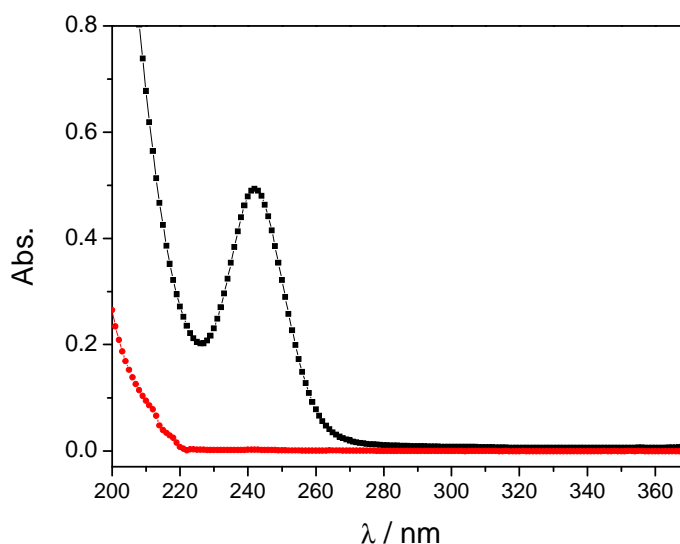


Figura 4.2. Espectros de absorção do complexo $\text{Mn}(\text{III})\text{-EDTA}$ a $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ (■) e de uma solução de EDTA a $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ (■).

Embora o complexo Mn(III)-EDTA ($\log \beta_1 = 24,85$) mostra boa estabilidade, o íon Mn (III) não é estável em solução aquosa ($pK_a \sim 0,4$), por este motivo a oxidação do complexo menos estável formado pelo íon Mn (II) e o analito ($\log \beta_1 = 13,8$) [166,169].

Foram, então, estudados os agentes oxidantes: solução de peróxido de hidrogênio 1 mmol L^{-1} , solução de persulfato 1 mmol L^{-1} , PbO_2 em pó e PbO_2 aderido a superfície de uma esfera de cianoacrilato. Apenas o PbO_2 foi efetivo na oxidação o Mn(II) a Mn(III), tanto na forma dispersa quanto aderido à superfície de cianoacrilato. O PbO_2 disperso na solução apresentou inconvenientes tanto relacionados a efeitos de turbidez nas medidas de absorvância e a necessidade de filtração dos mesmos. Esses inconvenientes não foram observados para o PbO_2 imobilizado na superfície de uma esfera de cianoacrilato. Além disso, a obtenção das esferas com PbO_2 imobilizado foi muito prática e rápida, em relação aos materiais que foram usado por Zhang e Tang (2005) [170], SILVA *et al.* (2011) [167] e Van Staden e Kluever (1997) [166]. As esferas foram utilizadas até 3 vezes sem perda da eficiência.

3.4.2. Tempo de reação

Foi realizado o estudo cinético de formação do complexo Mn(III)-EDTA construindo-se curvas analíticas em cada tempo estudado. Avaliou-se a dependência da sensibilidade analítica e da qualidade ajuste do modelo de regressão linear. Para a avaliação da qualidade de ajuste do modelo de regressão linear foi utilizada a função “número de noves”, $-\log(1 - R^2)$, que expressa o número de noves existentes no coeficiente de determinação e portanto, seu aumento significa melhor ajuste do modelo (Figura 4.3) [114].

O complexo é totalmente formado em duas horas e se mantém estável por cerca de 12 horas. Nesse tempo também é observado um maior coeficiente de determinação, igual a 0,9979 (números de noves igual a 2,7). Esse aumento está relacionado com o aumento da linearidade dentro da faixa de concentração estudada e equilíbrio estar sendo atingido pelas soluções com diferentes concentrações de EDTA. Após 12 horas ocorre diminuição na sensibilidade analítica, devido à oxidação do Mn (III) ao íon permanganato [166].

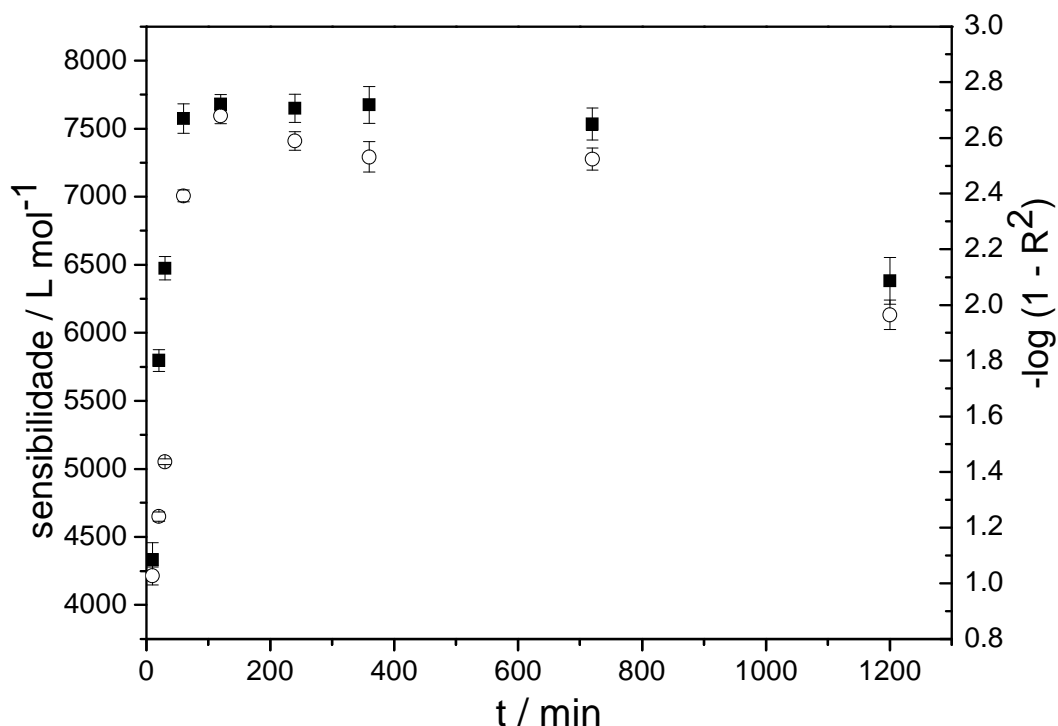


Figura 4.3. (■) Sensibilidade analítica da curva analítica no intervalo de 0,0 a 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e o (○) 'número de nozes' do coeficiente de correlação ao quadrado (R^2) em função do tempo.

4.4.3. Otimização do método

A otimização do método foi realizada com auxílio da Matriz Doehlert de duas variáveis, obtendo-se curvas analíticas em cada um dos 6 pontos do hexágono e das triplicatas do ponto central.

O modelo de segunda ordem apresentado na Equação 4.1 foi utilizado para explicar o comportamento da inclinação da curva analítica em função das variáveis pH (Variável A) e a razão mínima entre as concentrações de manganês(II) e EDTA (razão Mn(II)/EDTA, Variável B).

$$S = a + bA + cB + dA^2 + eB^2 + fAB \quad (4.1)$$

onde S é a inclinação da curva analítica, a é um termo constante, b e c são os coeficientes dos termos lineares, d e e são os coeficientes dos termos quadráticos e f é o coeficiente da interação dos dois fatores.

$$S = (2950 \pm 93) + (-3070 \pm 93) A + (1490 \pm 147) A^2 + (2200 \pm 147) B^2 \quad (4.2)$$

Os valores dos coeficientes da Equação 4.2 e suas estimativas do desvio padrão foram obtidos por regressão linear múltipla. Foi utilizado o procedimento de seleção de variáveis do tipo *stepwise* [113], onde nova regressão linear múltipla foi obtida sem os termos que não diferem significativamente de zero, avaliada pelo teste t – Student a 95% de confiança [171].

Pode-se ver que o termo linear da razão Mn/EDTA e o de interação entre as variáveis não são significativos, simplificando o modelo da superfície de resposta.

A região ótima encontrada no planejamento foi em pH igual a 3,0 e a razão Mn/EDTA igual a 36 vezes (Figura 4.4). A utilização de uma elevada concentração de Mn (II) ajudou a reduzir interferências devido à competição de outros metais durante a formação do complexo. Como o ferro (III) pode ser um interferente, devido à sua formação de complexos estáveis com o EDTA ($\log \beta = 24,85$) [166], assim como a adsorção de ferro (III), na região do UV [172]. Decidiu-se validar o método em pH 4,5, a fim de reduzir a disponibilidade de ferro (III) na solução ($pK_1 \sim 2$) [173]. Além disto, a pH 3,0, houve uma diminuição na sensibilidade de análise de aproximadamente 20%, em relação ao pH 4,5. A um pH superior a 5,0, o complexo Mn(III)/EDTA se decompõe mais rapidamente, devido à inibição da oxidação do Mn (III) a Mn (VII) [174].

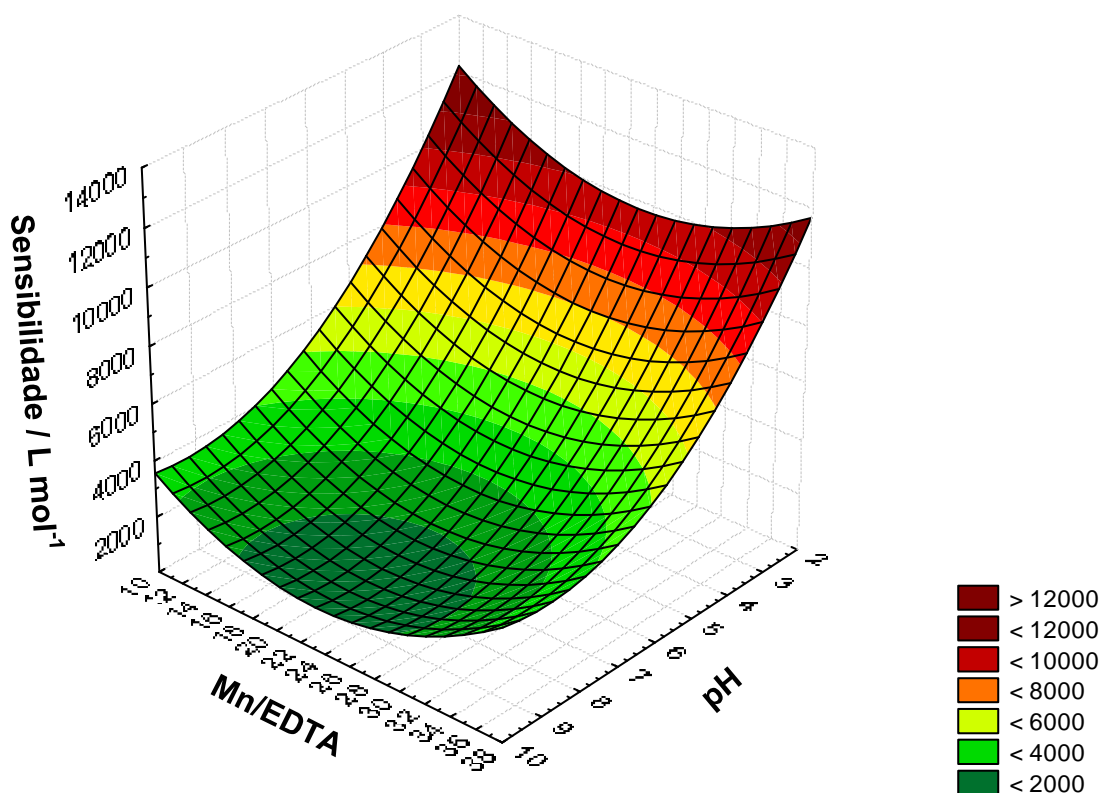


Figura 4.4. Superfície de resposta da sensibilidade analítica em função do pH e da relação de concentração de Mn(II)/EDTA.

A escolha do planejamento experimental baseado na matriz de Doehlert foi muito adequado, comparado com outros planejamentos experimentais, além de empregar menor número de experimentos. Como o pH influencia tanto na desprotonação do EDTA⁴⁻, quanto na formação dos hidroxocomplexos de Mn(II) e Mn(III), de maneira que seu comportamento não deve ser linear, justificando, portanto, um número maior de níveis para esta variável. Por outro lado a razão entre as concentrações de EDTA e Mn(II) é importante para garantir a formação do complexo de acordo com um relação linear com a concentração do analito, esperando-se uma influência monótona no seu comportamento e portanto, pode-se usar um número menor de níveis. Além disso, a sensibilidade analítica, ou seja, a inclinação da curva analítica variou entre 2266 e 7762 $L \cdot mol^{-1}$, demonstrando a importância da otimização e adequação das faixas de valores estudadas para as variáveis.

4.4.4. Validação do método analítico

O modelo da curva analítica do método otimizado é apresentado na Equação 3.3. A qualidade do ajuste apresentou um R^2 de 0,9993 e o desvio padrão dos resíduos igual a 0,0090 $L \cdot mol^{-1}$, indicando um ótimo ajuste da curva

analítica. A faixa analítica obtida para o EDTA foi de 0,77 a 100,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

$$\hat{A} = (0,0078 \pm 0,0001) c(\text{EDTA})/(\mu\text{mol L}^{-1}) + (0,0122 \pm 0,0006) \quad (3.3)$$

O limite de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foram, respectivamente, de 0,23 e 0,77 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Estes parâmetros foram calculados multiplicando-se o desvio padrão do branco da curva analítica por 3 (no caso do LOD) e por 10 (no caso do LOQ) e dividindo-se pela sensibilidade analítica [103]. Wang e colaboradores (2013) obtiveram limites de quantificação de 1,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para determinação espectrofotometria de EDTA em amostras de água [163], enquanto Chiumiento e colaboradores (2015) [159] e Cagnasso e colaboradores (2007) [160], utilizando HPLC, obtiveram respectivamente, limites de quantificação de 85,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e 6,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

4.4.5. Estudos dos concomitantes

A interferência de um concomitante foi considerada importante quando sua presença determinou uma variação do sinal superior a 5% [167], comparado com aquele obtido para uma solução de 50,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de EDTA. Não foi observada interferência para maioria dos cátions até uma razão de 100:1 (íon: EDTA) (Tabela 4.2) com exceção apenas para os íons Fe (III) e Pb (II), com razão até 10:1 e Cu (II), com razão até 25:1. As interferências maiores para o Fe (III), Cu (II) e Pb (II) são esperadas devido às suas elevadas constantes de formação condicionais com EDTA comparadas com o complexo $\text{Mn}^{\text{III}}\text{EDTA}^-$ e do $\text{Mn}^{\text{II}}\text{EDTA}^{2-}$ ($\log \beta$ igual a 13,71), apenas íons com constante de estabilidade condicional elevada em pH 4,5 tenderiam a interferir. Entretanto a interferência dos íons Fe(III) e Pb(II) ocorreu apenas em concentrações superiores a 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de cada íon, que são muito superiores aos valores usualmente encontrados em águas naturais brasileiras [175,176] e aos limiares estabelecidos pelo CONAMA [177].

O ferro é um potencial interferente na derminação do complexo Mn(III)-EDTA devido a sua grande abundância na natureza e por formar complexo estável com o EDTA [178]. Conforme é apresetado na Figura 4.5(a) a presença do íon ferro III acarreta um alargamento na banda na região de leitura e isto é devido à precipitação dos hidróxidos de ferro, sendo que este fica disperso no meio. Este problema foi resolvido com a filtração das amostras em filtro 0,45

μm , conforme pode ser observado na Figura 4.5(b) com a diminuição do alargamento das bandas na região de leitura no espectro.

O uso do branco formado pela amostra e reagentes, após retirada das partículas de PbO_2 permitiu a eliminação de eventuais interferências por espécies químicas que pudessem absorver em 242 nm.

Tabela 4.2. Proporção da concentração mínima do concomitante que causam interferência em meio com concentração de manganês (II) igual a $3,6 \text{ mmol L}^{-1}$ e EDTA de $50,0 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$.

ÍONS METÁLICOS	íon: EDTA ^a
Mg^{2+}	100:1
Ca^{2+}	100:1
Fe^{2+}	100:1
Al^{3+}	100:1
Zn^{2+}	100:1
Cu^{2+}	25:1
Pb^{2+}	10:1
Fe^{3+}	10:1

^aProporção da concentração mínima que causa interferência de 5% do sinal analítico

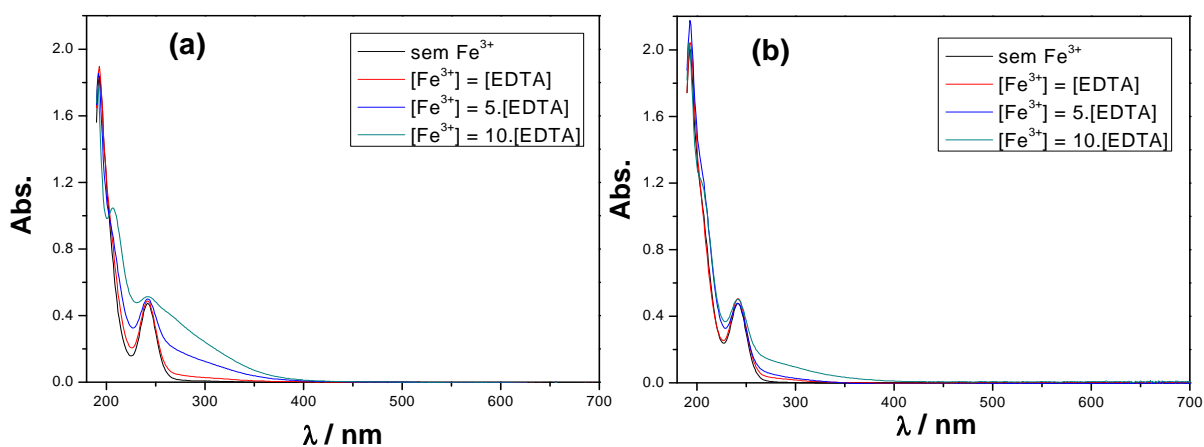


Figura 4.5. Espectros de absorção do complexo Mn(III)-EDTA a $50 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ na presença do concomitante Fe^{3+} em diferentes proporções, (a) sem filtração e (b) filtrado em filtro de $0,45 \text{ }\mu\text{m}$ antes da leitura.

4.4.6. Aplicação do método

Para avaliar a exatidão do método empregado, testes de adição e recuperação de EDTA foram realizados em amostras de água fortificadas e os resultados obtidos foram satisfatórios. De acordo com Tabela 4.3, pode-se verificar uma faixa de recuperação que varia de 97,7 a 104,9%.

Tabela 4.3. Porcentagem de recuperação para as amostras de água fortificada.

Amostra	Concentração Adicionada	% Recuperação (% rec^a.±RSD^b)
1	Sem a adição	-
1	30,0 µmol L ⁻¹	97,7 ± 0,79
1	60,0 µmol L ⁻¹	102,3 ± 1,01
1	100,0 µmol L ⁻¹	104,9 ± 2,41
2	Sem a adição	-
2	30,0 µmol L ⁻¹	102,5 ± 1,61
2	60,0 µmol L ⁻¹	97,0 ± 1,83
2	100,0 µmol L ⁻¹	104,7 ± 1,57

^a % rec. (porcentagem de recuperação relativa) ^bRSD (desvio padrão relativo); (n=3)

4.4.7. Liberação Controlada de EDTA

A Fig. 4.6 mostra o efeito da concentração de EDTA adsorvidos na matriz de ágar-ágar sobre as curvas cinéticas de liberação, sendo esta estudada em três níveis de concentração e mantendo os outros parâmetros constantes. No início a concentração do EDTA na parte externa do ágar-ágar é muito baixa e a partir da liberação a concentração do EDTA aumenta rapidamente, devido a sua difusão para o meio externo. A velocidade de liberação vai decaindo com o tempo devido à saturação do meio externo e após 22h do início do processo o equilíbrio é alcançado.

Para todas as concentrações iniciais de EDTA, curvas cinéticas típicas foram encontradas. Os sistemas liberaram aproximadamente 50% do EDTA disperso na matrix de ágar-ágar.

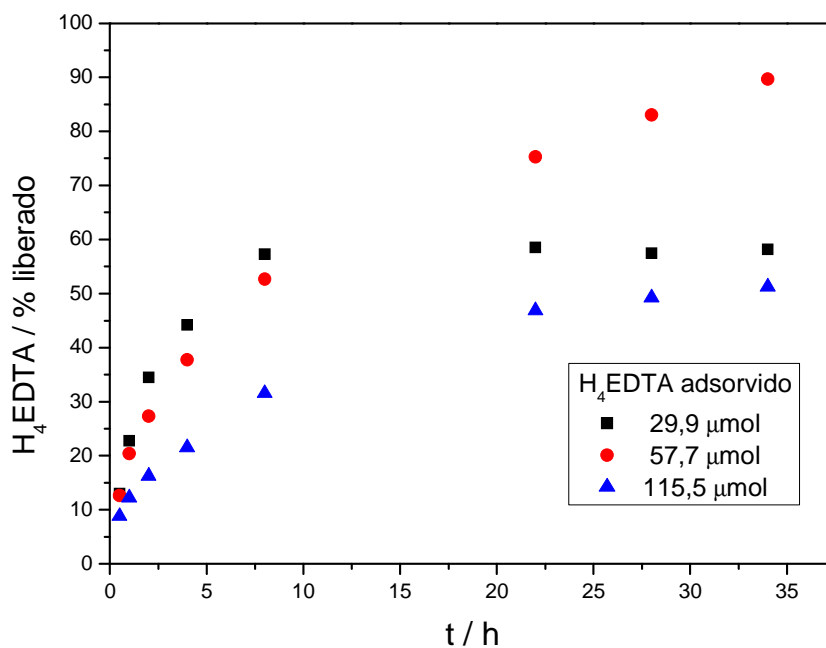


Figura 4.6. Liberação controlada do H₄EDTA em diferentes concentrações no polímero de ágar-ágar a 2,0% (m/m).

Na Fig. 4.7 mostra uma boa correlação dos dados de liberação controlada de EDTA, em que é comparada as repostas medidas pelo método espectrofotométrico validado para a quantificação de EDTA com medidas de condutimétricas. A comparação foram similares nas três concentrações de EDTA disperso na matriz de ágar-ágar à 2% (m/m).

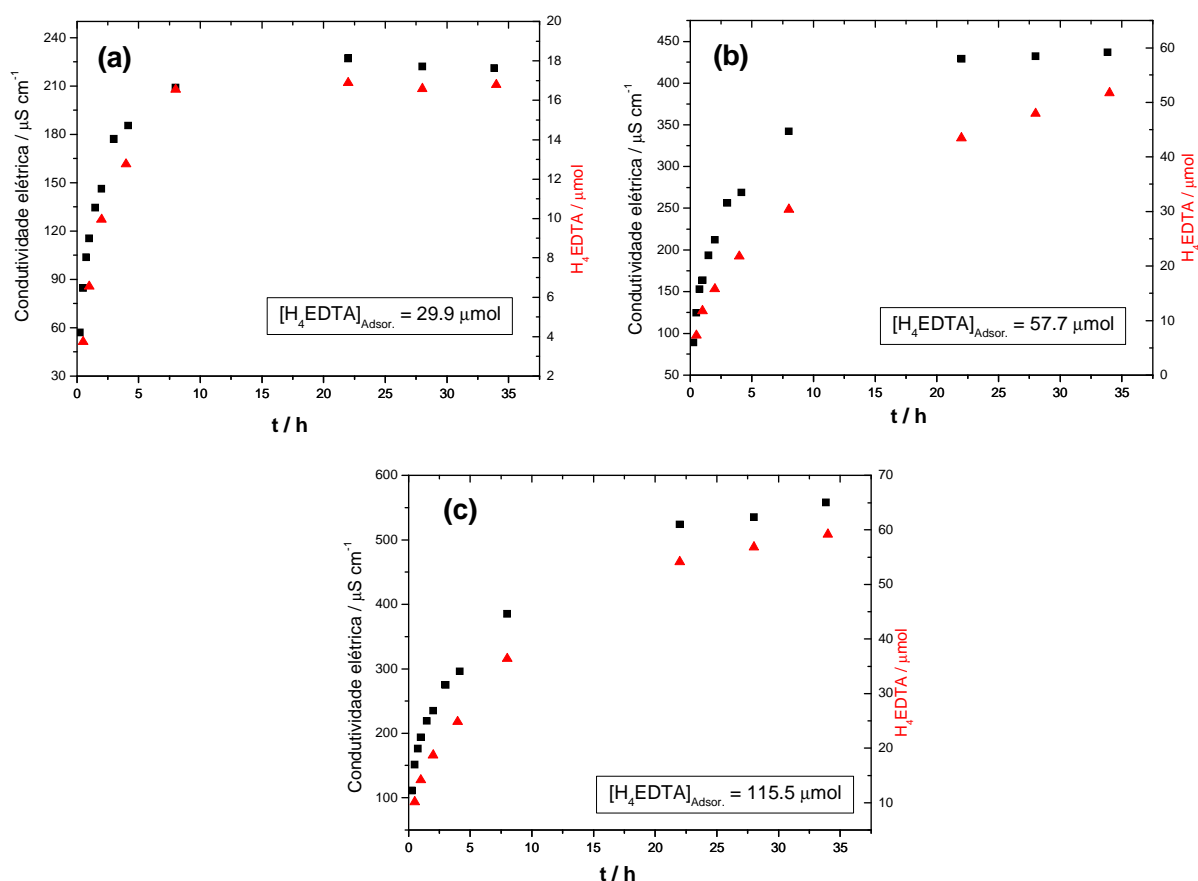


Figura 4.7. Liberação controlada em água do H₄EDTA adsorvido a (a) 29,9 μmol , (b) 57,7 μmol (c) 115,5 μmol no polímero de ágar-ágar a 2,0% (m/m), medidos por condutividade elétrica e por espectrofotometria de absorção molecular.

O modelo cinético de Noyes-Whitney foi o que melhor se ajustou ao processo de liberação do EDTA da matriz de ágar-ágar à 2% (m/m), conforme é apresentado na Figura 4.8, pois este modelo mostra uma excelente correlação entre os dados experimentais e o modelo proposto, em função de apresentar a menor variação no resíduo em todas as concentrações iniciais de EDTA estudada. A análise de resíduo apresenta mais informação sobre ajuste do modelo que o coeficiente de determinação, pois pode ser analisado o modelo que apresenta menor variação dos resultados em relação aos do modelo. Este modelo mostra que o processo de liberação de EDTA da matriz de ágar-ágar é somente por processo de difusão.

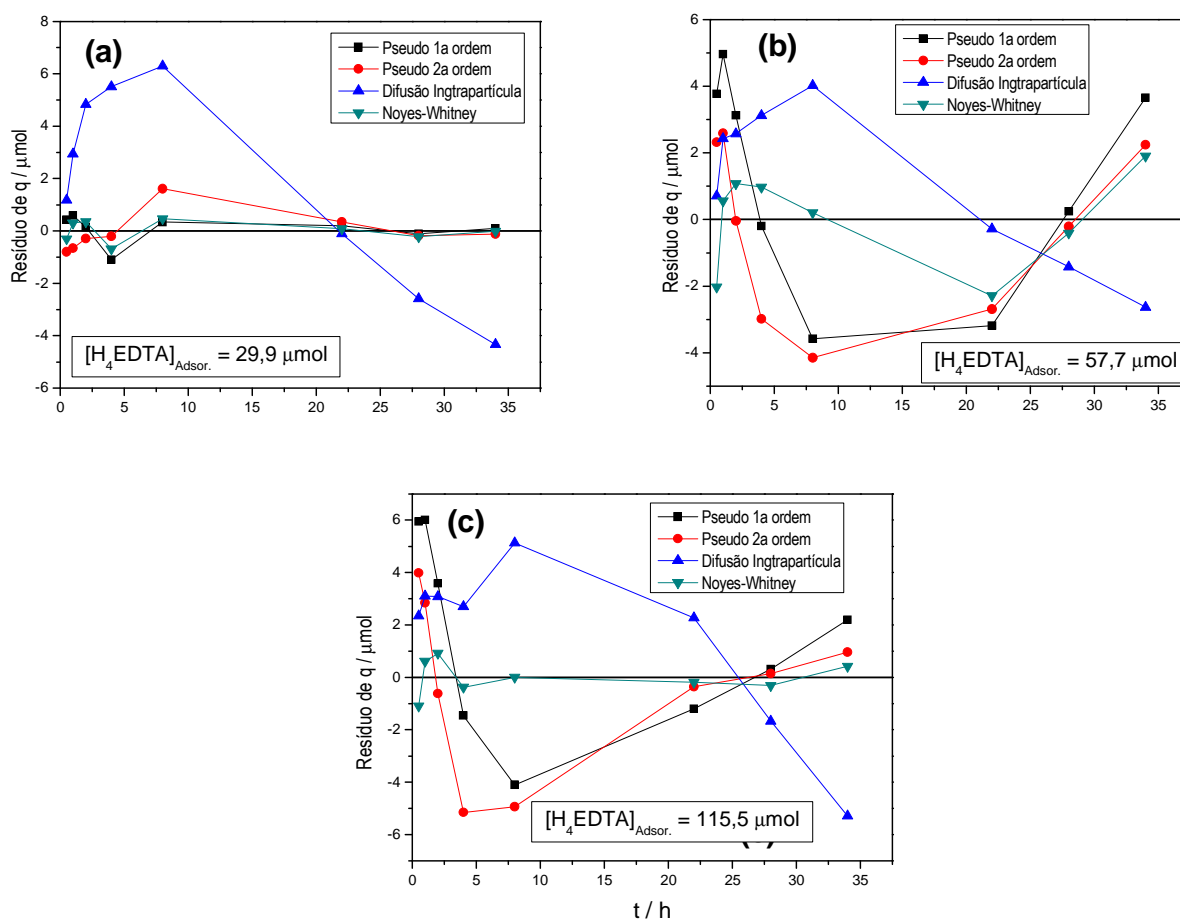


Figura 4.8. Resíduos dos modelos cinéticos de liberação da quantidade de EDTA, em diferentes concentrações do H₄EDTA disperso em ágar-ágar à 2% (m/m): (a) 29,9 μmol, (b) 57,7 μmol (c) 115,5 μmol no polímero de ágar-ágar a 2,0% (m/m).

A Tabela 4.4 apresenta os resultados obtidos a partir do modelo cinético de Noyes-Whitney e o coeficiente de correlação (R^2). Os resultados obtidos para o Coeficiente de Correlação (R^2) foram responsáveis por verificar a acuracidade do modelo cinético com relação aos dados experimentais. Com ele pode-se ver que, de uma forma geral, o modelo correlaciona bem os dados experimentais por apresentar valores de R^2 superior a 0,98 e estando de acordo com os resultados obtidos pela análise de resíduos.

Tabela 4.4. Parâmetros do modelo cinético de Noyes-Whitney da liberação controlada do H₄EDTA adsorvido em diferentes concentrações no polímero de ágar-ágar a 2,0% (m/m).

	29,9	57,7	115,5
	μmol		
R²	0.9922	0.9895	0.9986
K_{Noyes} / h⁻¹	0.3809	0.08959	0.0942

Na Fig. 4.9 mostra o efeito da liberação do EDTA adsorvido na matriz de gelatina preparado em diferentes condições de pH. O comportamento cinético é parecido como o do uso da matriz de ágar-ágar. No uso da gelatina também no início a liberação do EDTA ocorre de forma mais rápida e a velocidade de liberação vai decaindo com o tempo devido à saturação do meio externo e após 22h do início do processo o equilíbrio é alcançado.

A Fig. 4.9 também mostra também uma boa correlação das respostas da liberação controlada com as medidas condutimétricas e do método espectrofotométrico validado para a quantificação de EDTA. A comparação foi mais similar nas medidas em que a gelatina foi prepara em água, nas outras três condições de pH, as medidas condutimétricas eram inteerferidas não somente pela liberação do EDTA, mas também dos íons que foram usados para o preparo das soluções tampão.

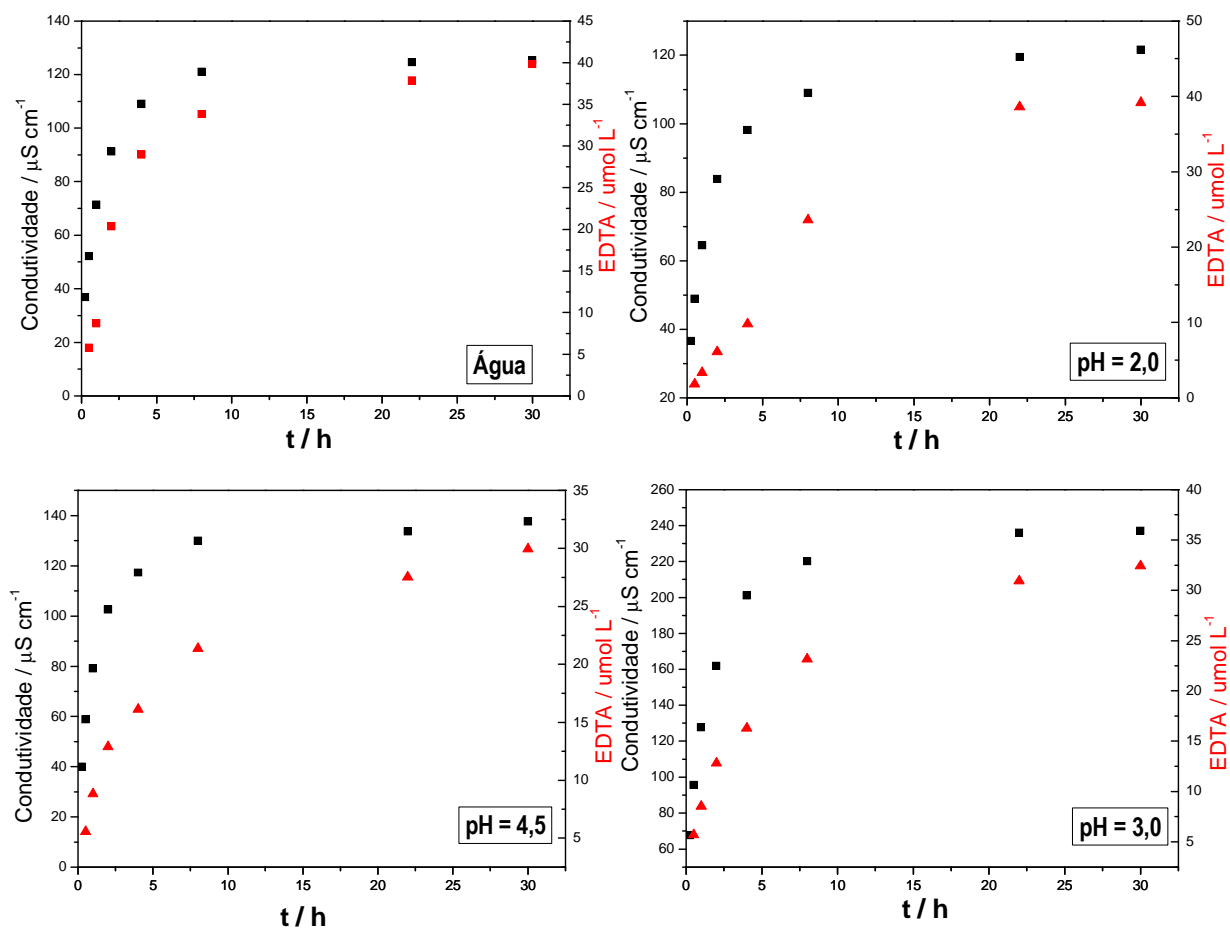


Figura 4.9. Liberação controlada em água do H_4EDTA disperso em diferentes condições de pH na gelatina incolor a 10,0% (m/m), medidos por condutividade elétrica e por espectrofotometria de absorção molecular.

As condições de pH em que foram preparadas a gelatina incolor não influenciaram na liberação do EDTA, conforme é apresentado nos resultados da Figura 4.10. No diagrama de distribuição de espécies do $\text{H}_6\text{EDTA}^{2+}$ apresentado na Figura 4.11 mostra que o pH influencia na protonação do EDTA e com isto dependendo do pH o EDTA será liberado em forma diferentes, mas como na quantificação do EDTA utilizando o método validado trabalha-se em meio tamponado, desta forma sempre será quantificado o EDTA em proporções fixas de cada uma de suas espécies e como a gelatina incolor não tem carga desta forma não haverá interação eletrostática com o EDTA e com isto a carga não influenciará na liberação.

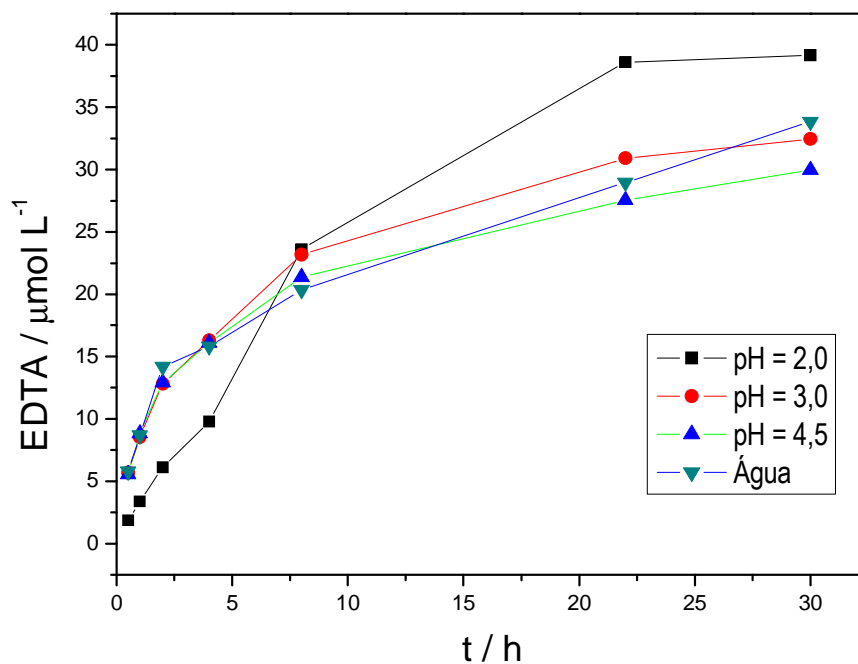


Figura 4.10. Liberação controlada de H₄EDTA disperso em gelatina incolor a 10,0% (m/m) que foi preparada em diferentes condições de pH.

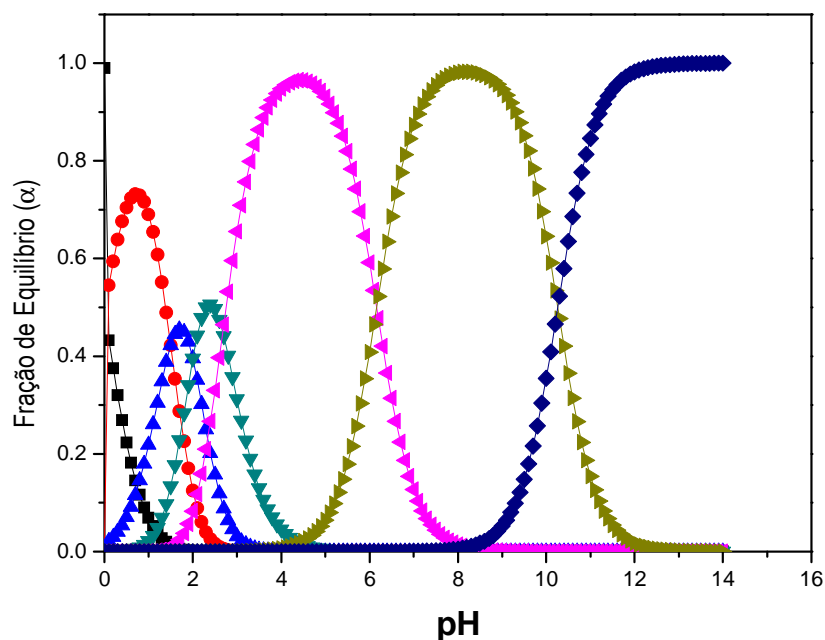


Figura 4.11. Diagrama de distribuição de espécies do H₆EDTA²⁺ (■)α₀, (●)α₁, (▲)α₂, (▼)α₃, (◀)α₄, (▶)α₅, (◆)α₆.

O modelo cinético de Noyes-Whitney foi o que melhor se ajustou ao processo de liberação do EDTA da matriz de gelatina incolor à 10% (m/m),

conforme é apresentado na Figura 4.12 dos resíduos dos modelos cinéticos estudados, estes resultados estão de acordo com o que foi obtido nos estudos do ágar-ágar.

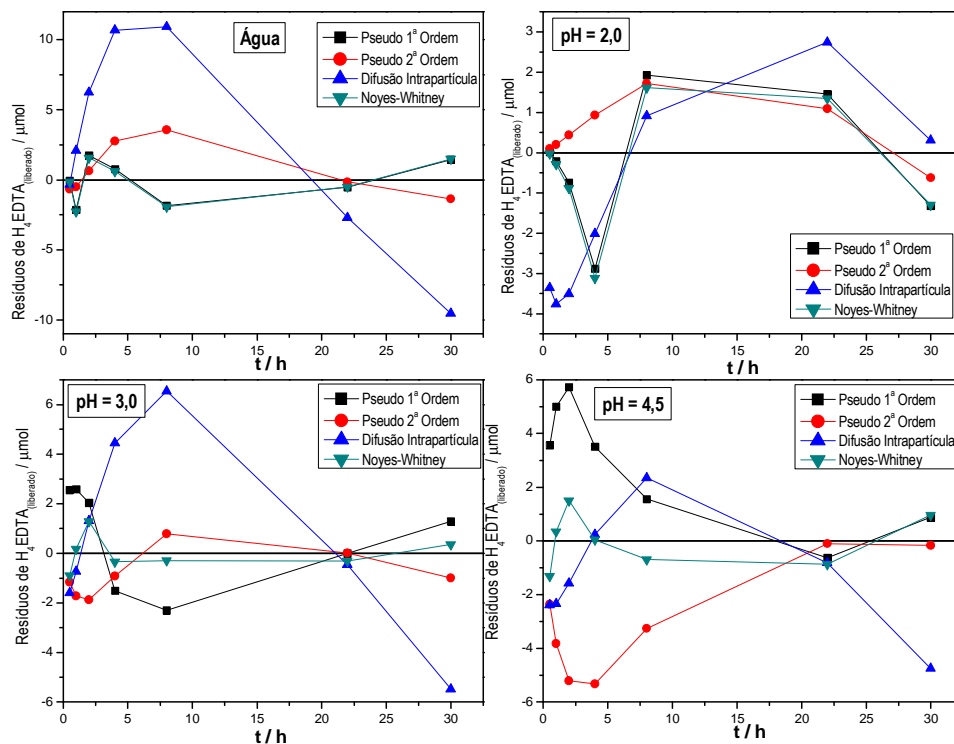


Figura 4.12. Resíduos dos modelos cinéticos de liberação do H₄EDTA adsorvido em diferentes condições de pH na gelatina incolor a 10,0% (m/m).

4.5- CONCLUSÃO

O método desenvolvido para a quantificação do EDTA apresentou bom desempenho analítico, boa linearidade, com elevada sensibilidade analítica e menores limites de detecção e quantificação em relação à trabalhos descritos na literatura.

A matriz de Doehlert foi um planejamento bastante adequado para a otimização do método, comparado a outros planejamentos experimentais, além de empregar menor número de experimentos. O pH mais ácido influenciou na quantificação, bem como a razão entre as concentrações de EDTA e Mn(II), que nesta, a maior proporção garantiu uma maior formação do complexo.

Na obtenção de um modelo mais simples, foi utilizado o procedimento de seleção de variáveis do tipo *stepwise*, onde uma nova regressão linear múltipla foi obtida sem os termos que não foram significativos.

Além disso, o método validado é simples e rápido, sendo que no estudo dos concomitantes, estes somente interferiam em quantidades inferiores aos valores usualmente encontrados em águas naturais brasileiras e aos limiares estabelecidos pelo CONAMA.

Amostras de água bruta coletadas no Rio Doce e também água do abastecimento público do município de Viçosa-MG, foram fortificadas e submetidas ao método proposto, obtendo resultados satisfatórios.

A aplicação do método desenvolvido na liberação de EDTA em ágar e gelatina mostrou-se satisfatória e ainda apresentou boa correlação do método com a determinação condutimétrica do EDTA.

O EDTA adsorvido em matriz de ágar-ágar possibilitou o estudo de um sistema de liberação controlada e na caracterização do mecanismo de liberação, o modelo de Noyes foi o que apresentou o melhor ajuste em todos os estudos, constatando assim, que a liberação ocorre por processos de difusão, sem interação com a matriz polimérica. No estudo com a gelatina, esta não apresentou uma boa consistência física durante o processo de liberação.

CONCLUSÃO GERAL

Neste trabalho, foi desenvolvido um método espectrofotométrico para determinação de Fe(III)-o,o-EDDHMA e outro para a quantificação do EDTA, sendo esses métodos aplicados nos estudos de adsorção e liberação controlada do complexo e do ligante em matrizes poliméricas.

Os estudos de adsorção e liberação do complexo Fe(III)-o,o-EDDHMA em quitosana e também de sua liberação em ágar, juntamente com os estudos de liberação do EDTA em ágar e gelatina, apresentaram um melhor ajuste no modelo de Noyes. As liberações nas matrizes de ágar-ágar e gelatina ocorreram por processos de difusão, sem interação com a matriz polimérica e no caso da quitosana, as liberações do complexo ocorreram por difusão e também por troca iônica.

No estudo das isotermas de adsorção do complexo nas esferas de QTS-R, os modelos estudados apresentaram ajustes semelhantes, sendo um pouco melhor nos modelos de Sips e Freundlich. Com a avaliação do processo de liberação do complexo das esferas de QTS-R foi pertinente o uso de um planejamento fatorial fracionado, pois assim foi possível avaliar um maior número de variáveis com uma quantidade menor de experimentos.

O uso do planejamento experimental baseado na Matriz Doehlert para a validação do método espectrofotométrico visando a determinação de EDTA foi uma alternativa bastante útil, pois permitiu estudar a variável pH em um maior número de níveis, sem aumentar excessivamente o número de experimentos, permitindo também a construção de uma superfície de resposta. Objetivando-se ainda obter um modelo mais simples, foi utilizado o procedimento de seleção de variáveis do tipo *stepwise*, onde foram omitidos os termos que não foram significativos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Cherian, S.; Oliveira, M. M. Transgenic plants in phytoremediation: recente advances and new possibilities, *Environ. Sci. Technol.* 39 (2005) 9377–9390, 2005.
- [2] Saifullah, E.; Meers, M.; Qadir, P.; de Caritat, F. M.; Tack, G. ;Du Laing, M.; Zia, H. EDTA-assisted Pb phytoextraction, *Chemosphere* 74, 1279–1291, 2009.
- [3] Salt, D. E.; Smith, R. D.; Raskin, I. Phytoremediation, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, Palo Alto, v 49, p. 643-668, 1998.
- [4] Pilon-Smits, E. Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology*, Palo Alto, 56: 15-39, 2005.
- [5] Sarma, H. Metal hiperaccumulation in plants: A review focusing on phytoremediation technology. *Journal Environmental Science and Technology*, 4 (2): 118 – 138, 2011.
- [6] Accioly, A. M. A.; Siqueira, J. O. Contaminação do Solo. In.: Novais, R. F.; Alvarez V.; V. H.; Schaefer, C. E. (Ed.) *Tópicos em Ciência do Solo*. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, V. 1, p. 299-352 2000.
- [7] Watanabe, M. E. Pytoremediation on the brink of commercialization. *Environmental Science & Technology*, Musfreesboro, v. 31, p. 182A-186A, 1997.
- [8] Surriya, O.; Saleem, S. S.; Waqar, K.; Kazi, A. G. Chapter 1 - Phytoremediation of Soils: Prospects and Challenges, *Soil Remediation and Plants*, 1-36, 2015.
- [9] Lambrechts, T.; Gustol, Q.; Couder, E.; Houben, D.; Iserentant, A.; Lutts, S. Comparison of EDTA-enhanced phytoextraction and phytostabilisation strategies with *lolium perenne* on a heavy metal contaminated soil. *Chemosphere*.v. 85, p.1290–1298, 2011.
- [10] Bennerdsen, L. R.; Hrichner, M.; Jorgensen, T.H.; Sogaard, E.G. Mobilization of metals during treatment of contaminated soils by modified fenton's reagent using different chelating agents. *Journal of Hazardous Materials*.v.199-200, p.128-134,2012.
- [11] Gheju, M.; Stelescu, I. Chelant-assisted phytoextraction and accumulation of Zn by *Zea mays*. *Journal of Environmental Management* 128, 631-636, 2013.
- [12] Komarek, M.; Vanek, A.; Szakova, J.; Balik, J.; Chrastny, V. Interactions of

- EDDS with Fe- and Al-(hydr)oxides. *Chemosphere* 77, 87-93, 2009.
- [13] Li, H.; Wang, Q.; Cui, Y.; Dong, Y.; Christie, P. Slow release chelate enhancement of lead phytoextraction by, corn (*Zea mays* L.) from contaminated soil – a preliminary study. *Sci. Total Environ.* 339, 179-187, 2005.
- [14] Marschner, H. Functions of mineral nutrients: micronutrients. Iron. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press, Cambridge, pp. 314–324, 1995.
- [15] Mengel, K.; Kirkby, E.A.; Kosegarten, H.; Appel, T. Iron. In: *Principles of Plant Nutrition*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 553–571, 2001.
- [16] Oliveira, A. F. Equilíbrios em solução aquosa: orientados à aplicação: sistemas ácido-base de Bronsted e outros equilíbrios. Campinas, SP: Editora Átomo, 2009.
- [17] Alleoni, F. Melo, V. F. Química e Mineralogia do Solo, SBCS, Viçosa, 2009.
- [18] Cantera, R.G.; Zamarreño, A.M.; García-Mina, J.M. Characterization of commercial iron chelates and their behavior in alkaline and calcareous soil. *Agric. Food Chem.* 50 (26), 7609–7615, 2002.
- [19] Ferrarezi, R. S. Fontes de Ferro no Desenvolvimento de Porta-Enxertos Cítricos Produzidos em Substratos. Dissertação de Mestrado, Instituto Agrônomo de Campinas, Brasil, 102p, 2006.
- [20] Álvarez-Fernández, A.; Gárate, A.; Juárez, M.; Lucena, J. J. Tomato acquisition of iron from chelates in calcareous Sandy substrate. *Journal of Plant Nutrition*, v. 19, n. 8 & 9, p. 1279-1293, 1996.
- [21] Natt, C. Effect of slow release iron fertilizers on chlorosis in grape. *Journal of Plant Nutrition*, v. 15, n. 10, p. 1891-1912, 1992.
- [22] Skoog, D. A, West, D. M., Holler, F. J., Crouch, S. R. *Fundamentos de Química Analítica*, Editora Thomson, tradução da 8ª edição, 2006.
- [23] Nowack, B.; VanBriesen, J.M. *Biogeochemistry of Chelating Agents*, American Chemical Society, Washington, DC, pp. 1–18, 2005.
- [24] Nortemann, B. Biodegradation of EDTA. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 51, 751–759, 1999.
- [25] Witschel, M. B.; Egli, T. Environmental fate and microbial degradation of aminopolycarboxylic acids. *FEMS Microbiol. Rev.* 25, 69–106, 2001.
- [26] Sykora, V.; Pitter, P.; Bittnerova, I.; and Lederer, T. biodegradability of ethylenediamine-based complexing agents, *Wat. Res.* Vol. 35, No. 8, pp. 2010–2016, 2001.

- [27] Nowack, B. Environmental Chemistry of Aminopolycarboxylate Chelating Agents Environ. Sci. Technol., 36 (19), pp 4009–4016, 2002.
- [28] Lyra, M.A.M.; Sobrinho, J.L.S.; Brasileiro, M. T.; Roca, M.F. de.; Barraza, J.A.; Viana, O. S.; Rolim-neto, P. J. Sistemas Matriciais Hidrofílicos e Mucoadesivos para Liberação Controlada de Fármacos. Latin American Journal of Pharmacy.v.26,p.784-93, 2007.
- [29] Collett, J.; Moretin, C. Formas farmacêuticas perorais de liberação modificada. In: AULTON, Michael E. *Delineamento de formas farmacêuticas*. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 298-313, 2005.
- [30] Agnihotri, S. A.; Mallikarjuna, N. N.; Aminabhavi, T. M. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. Journal of Controlled Release 100, 5–28, 2004.
- [31] Freiberg, S.; Zhu, X. X. Polymer microspheres for controlled drug release. Int.J.Pharm. v.282, pag.1, 2004.
- [32] Costa, P.; Lobo, J. M. S. Formas farmacêuticas de liberação modificada. Rev. Port. Farma., v. 49, n.4, p. 181-190, 1999.
- [33] Varma, J.; Dubey, N. K. Perspective of botanical and microbial products as pesticides of tomorrow. Current Science, 76: 172-179, 1999.
- [34] Shaviv, A. ADVANCES IN CONTROLLED RELEASE FERTILIZERS 71, 1, 2000.
- [35] Rudzinski, W. E.; Dave, A. M.; Vaishnav, U. H.; Kumbar, S. G.; Kulkarni, A. R.; Aminabhavi, T. M. Designing Monomers and Polymer, 5, 39, 2002.
- [36] Lee, Y. H.; Kim, J. S.; Kim, H. D. A Study of Biodegradable Superabsorbent Materials Based on Acrylonitrile Grafted Sodium Alginate Key Engineering Materials.volume: 277, 450-454, 2005.
- [37] Garratt, J.; Kennedy, A. Use of models to assess the reduction in contamination of water bodies by agricultural pesticides through the implementation of policy instruments: A case study of the Voluntary Initiative in the UK. Pest Management Science. 62, 1138, 2006.
- [38] Dasgupta, R.; Banthia, A. K.; Tibarewala, D. N. Study of Diffusion Characteristics of Salicylic Acid through Cellulose Acetate Membrane and Extracted Mouse Skin by Iontophoresis. Trends Biomater. Artif. Organs 21, 73, 2008.
- [39] Mohanraj, V. J.; Chen, Y. Nanoparticles – a review. Tropical journal of pharmaceutical research, 5, 561, 2006.

- [40] Bajpai, J.; Mishra, S.; Baipai, A. K. Dynamics of controlled release of potassium nitrate from a highly swelling binary polymeric blend of alginate and carboxymethyl cellulose *Journal of Applied Polymer Science*. 106, 961, 2007.
- [41] Sun, C. X.; Shu, K.; Wang, W.; Ye, Z.; Liu, T.; Gao, Y. X.; Zheng, H.; He, G. H.; Yin, Y. H. Encapsulation and controlled release of hydrophilic pesticide in shell cross-linked nanocapsules containing aqueous core. *International Journal of Pharmaceutics*, 463(1):108-114, 2014.
- [42] He, S.; Zhang, W. B.; Li, D. G.; Li, P. L.; Zhu, Y. C.; Ao, M. M.; Li, J. Q.; Cao, Y. S. Preparation and characterization of double-shelled avermectin microcapsules based on copolymer matrix of silica–glutaraldehyde–chitosan *Journal of Materials Chemistry B*, 1, 1270–1278, 2013.
- [43] Kumar, S.; Bhanjana, G.; Sharma, A.; Sidhu, M. C.; Dilbaghi, N. Synthesis characterization and on field evaluation of pesticide loaded sodium alginate nanoparticles. *Carbohydrate Polymers* 101, 1061–1067, 2014.
- [44] Singh, B.; Sharma, D. K.; Kumar, R.; Gupta, A. Controlled release of thiram from neem-alginate-clay based delivery systems to manage environmental and health hazards. *Applied Clay Science* 47, 384–391, 2014.
- [45] Cao, Y. S.; Huang, L.; Chen, J. X.; Liang, J.; Long, J. X.; Lu, Y. T. Development of a controlled release formulation based on a starch matrix system. *International Journal of Pharmaceutics* 298, 108–116, 2005.
- [46] Li, D.; Liu, B.; Yang, F.; Wang, X.; Shen, H.; Wu, D. Preparation of uniform starch microcapsules by premix membrane emulsion for controlled release of avermectin. *Carbohydrate Polymers*, 136, 341–349, 2016.
- [47] Roy, A.; Singh, S. K.; Bajpai, J.; Bajpai, A. K. Controlled pesticide release from biodegradable polymers. *Central European Journal of Chemistry*, 12, 453–469, 2014.
- [48] Chien, S. H.; Prochnow, L. I.; Cantarella, H. Recent developments of fertilizer production and use to improve nutrient efficiency and minimize environmental impacts. *Advances in Agronomy*, 102, 267–322, 2009.
- [49] Rashidzadeh, A.; Olad, A.; Salari, D.; Reyhanitabar, A. On the preparation and swelling properties of hydrogel nanocomposite based on Sodium alginate-g-poly(acrylic acid-co-acrylamide)/Clinoptilolite and its application as slow release fertilizer. *Journal of Polymer Research*, 21 (2), 1–15, 2014.
- [50] Zhong, K.; Lin, Z.; Zheng, X.; Jiang, G.; Fang, Y.; Mao, X. Starch derivative-based superabsorbent with integration of water-retaining and

- controlled-release fertilizers. *Carbohydrate Polymers*, 92 (2), 1367–137, 2013.
- [51] Azevedo, V. V. C.; Chaves, S. A.; Bezerra, D. C.; Fook, M. V. L.; Costa, A. C. F. M. Quitina e quitosana: aplicações como biomateriais. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, v. 2.3, n.1, 27-34, 2007.
- [52] Santos, J. E. Preparação, caracterização e estudos termoanalíticos de bases de shiff biopoliméricas e seus complexos de cobre. Tese (Doutorado em Ciências – Área Química Analítica) - Departamento de Química, Universidade federal de São Carlos, São Carlos, 2004.
- [53] Spinelli, V. A.; Laranjeira, M. C. M.; Fávere, V. T. Cinética e Equilíbrio de Adsorção dos Oxiânions Cr (VI), Mo (VI) e Se (VI) pelo Sal de Amônio Quaternário de Quitosana. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v.15, n.3, p.218-223, 2005.
- [54] Marques Neto, J. O.; BELLATO, C. R.; MILAGRES, J. L.; PESSOA, K. D.; ALVARENGA, E. S. Preparation and evaluation of chitosan beads immobilized with Iron(III) for the removal of As(III) and As(V) from water. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.24, p.121-132, 2013.
- [55] Nagireddi, S.; Katiyar, V.; Uppaluri, R. Pd(II) adsorption characteristics of glutaraldehyde cross-linked chitosan copolymer resin. *International Journal of Biological Macromolecules*, available online 27 de setembro, 2016.
- [56] Rinaudo, M. Chitin and chitosan: properties and applications. *Progress in Polymer Science*, v.31, p.603–32, 2006.
- [57] Wang, J; Chen, C. Chitosan-based biosorbents: Modification and application for biosorption of heavy metals and radionuclides. *Bioresource Technology*, v.60, p. 129-141, 2014.
- [58] Vijayaraghavan, K.; Yun, Y.-S. Bacterial biosorbents and biosorption. *Biotechnology Advances*, 26, 266–291, 2008.
- [59] Guibal, E. Interactions of metal ions chitosan-based sorbents: a review. *Separation and Purification Technology*, 38, 43-74. 2004.
- [60] Guibal, E.; Sweeney, N. V. O.; Vincent, T.; Tobin, J. M. Sulfur derivatives of chitosan for palladium sorption. *Reactive and Functional Polymers*, 50, pp. 149–163, 2002.
- [61] Janciauskaite, U.; Rakutyte, V.; Miskinis, J.; Makuska, R. Synthesis and properties of chitosan-*N*-dextran graft copolymers. *Reactive and Functional Polymers*, 68, 787–796, 2008.
- [62] Peirano, F.; Vincent, T.; Quignard, F.; Robitzer, M.; Guibal, E. Palladium

supported on chitosan hollow fiber for nitrotoluene hydrogenation. *J. Membr. Sci.*, 329, 30–45, 2009.

[63] Zhou, Z.; Lin, S.; Yue, T.; Lee., T.-C. Adsorption of food dyes from aqueous solution by glutaraldehyde cross-linked magnetic chitosan nanoparticles. *Journal of Food Engineering*, 126, 133–141, 2014.

[64] Juang, R.-S.; Shao, H.-J. A simplified equilibrium model for sorption of heavy metal ions from aqueous solutions on chitosan. *Water Res.*, 36, 2999–3008, 2002.

[65] Rhazi, M.; Desbrières, J.; Tolaimate, A.; Rinaudo, M.; Vottero, P.; Alagui, A.; Contribution to the study of the complexation of copper by chitosan and oligomers. *Polymer*, 43, 1267–1276, 2002.

[66] Klug, M.; Sanches, M. N. M.; Laranjeira, M. C. M.; Fávere, V. T. Análise das isotermas de adsorção de Cu(II), Cd(II), Ni(II) E Zn(II) pela n-(3,4-dihidroxibenzil) quitosana empregando o método da regressão não linear. *Química nova*, v. 21, n.4, 1998.

[67] Wu, X.; Huang, S.; Zhang, J.; Zhuo, R. Preparation and characterization of novel physically crosslinked hydrogels composed of poly (ring alcohol) and amine-terminated polyamidoamine dendrimer macromol. *Bio. Sci.*, v.4, p. 71-75, 2004.

[68] Poon, L.; Wilson, L. D.; Headley, J. V. Chitosan-glutaraldehyde copolymers and their sorption properties. *Carbohydrate Polymers* 109, 92–101, 2014.

[69] Yang, Q.; Dou, F.; Lianga, B.; Shen, Q. Studies of cross-linking reaction on chitosan fiber with glyoxal. *Carbohydrate Polymers*, v.59, p.205–210, 2005.

[70] Gonsalves, A. A.; Araújo, C. R. M.; Soares, N. A.; Goulart, M. O. F.; Abreu, F. C. Diferentes estratégias para a reticulação de quitosana. *Quim. Nova*, v.34, n.7, p.1215-1223, 2011.

[71] Mi, F.-L.; Wu, S.-J.; Chen, Y.-C. Combination of carboxymethyl chitosan-coated magnetic nanoparticles and chitosan-citrate complex gel beads as a novel magnetic adsorbent. *Carbohydrate Polymers* 131, 255–263, 2015.

[72] Torres, M. A.; Vieira, R.S.; Beppu, M. M.; Santana, C. C. Produção e Caracterização de Microesferas de Quitosana Modificadas Quimicamente Polímeros: Ciência e Tecnologia, v.15, n.4, 306-312, 2005.

[73] Oliveira, I. R. W. Z.; Vieira, I. C. Construção e Aplicação de Biossensores Usando Diferentes Procedimentos de Imobilização da Peroxidase de Vegetal em Matriz de Quitosana. *Química Nova*, v.29, n.5, p.932-939, 2006.

- [74] Meneguim, R. G. Análises Reológicas de géis ágar/galactomana visando aplicação em meio de micropropagação vegetal. Curitiba: Universidade Federal do Paraná – UFPR. Curitiba – PR, 2009.
- [75] Prakash, O.; Jaiswal, N. Immobilization of a thermostable α -amylase on agarose and agar matrices and its application in starch stain removal. *World Applied Sciences Journal* 13 (3): 572-577, 2011.
- [76] Bhardwaj T. R.; Kanwar, M.; Lal, R.; Gupta, A. Natural gums and modified natural gums as sustained release carriers. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2, 26 : 1025–38, 2000.
- [77] Nakano, M.; Nakamura, Y.; Takikawa, K.; Kouketsu, M.; Arita, T. Sustained release of sulfamethoxazole from agar beads. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 31: 869–872, 1979.
- [78] Sadrearhami, Z.; Morshed, M.; Varshosaz, J. Production and evaluation of polyblend of agar and polyacrylonitrile nanofibers for in vitro release of methotrexate in cancer therapy. *Fibers and Polymers*. 16, 2, pp 254-262, 2015.
- [79] Saxena, A.; Tahir, A.; Kaloti, M.; Ali, M.; Bohidar, H. B. Effect of agar—gelatin compositions on the release of salbutamol tablets. *Int J Pharm Investig*. Apr-Jun; 1(2): 93–98, 2011.
- [80] Ohse, S.; Dourado-Neto, D.; Manfron, P. A.; Santos, O. S. Qualidade de cultivares de alface produzidos em hidroponia. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 58, n. 1, p. 181-185, 2001.
- [81] Geisenhoff, L. O.; Pereira, G. M.; Coll Faria, L; Lima Júnior, J. A.; Costa, G. G.; Gatto, R. F. Viabilidade econômica da produção de alface hidropônica em Lavras – MG. *Agrarian*, v.2, n.6, p.61-69, out./dez. 2009.
- [82] Furlani, P. R. Instruções para o cultivo de hortaliças de folhas pela técnica hidropônica – NFT. Campinas: Instituto Agronômico, 30p. (Boletim técnico 168) 1998.
- [83] Tavares, H. L.; Junquiera, A. M. R. Produção hidropônica de alface cv. Verônica em diferentes substratos. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 17, n. 3, p.240-243, 1999.
- [84] Lagergren, S. About the theory of so-called adsorption of soluble substances, K. Sven. Vetenskapskad. Handl. 24, 1–39, 1898.
- [85] Ho, Y. S.; Mckay, G. Pseudo-second order model for sorption processes. *Process. Biochem*. 34, 451, 1999.
- [86] Walter J. Weber, W. J.; Morris, J. C. Kinetics of adsorption on carbon from

- solution. Journal of the Sanitary Engineering Division, 89, Issue 2, 31-60, 1963.
- [87] Low, M. J. D. Kinetics of Chemisorption of Gases on Solids. Chem. Rev., 60, p. 267, 1960.
- [88] Antonel, P. S.; Hoijemberg, P. A.; Maiante, L. M.; Lagorio, M. G. The Kinetics of Dissolution Revisited. Journal of Chemical Education, 80, N° 9, 1042, 2003.
- [89] Foo, K.Y., Hameed, B.H. Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. Chemical Engineering Journal 156, 2–10, 2010.
- [90] Pavlović, D.M., Ćurković, L., Blažek, D., Župan, J. The sorption of sulfamethazine on soil samples: isotherms and error analysis. Science of the total environment 497-498, 543–552, 2014.
- [91] Rangabhashiyam, S., Anu, N., Giri Nandagopal, M.S., Selvaraju, N. Relevance of isotherm models in biosorption of pollutants by agricultural byproducts. Journal of Environmental Chemical Engineering 2, 398–414, 2014.
- [92] Debrassi, A., Largura, M.C.T., Rodrigues, C.A. Adsorption of congo red dye by hydrophobic O-carboxymethyl chitosan derivatives. Química Nova 34, 764–770, 2011.
- [93] Jeppu, G.P., Clement, T.P. A modified Langmuir-Freundlich isotherm model for simulating pH-dependent adsorption effects. Journal of contaminant hydrology 129-130, 46–53, 2012.
- [94] Neto, B. B.; Scarminio, I. S., Bruns, R. E. Como Fazer Experimentos, Aplicações na Ciência e na Indústria. 4ª ed., Bookman, Campinas; 2010.
- [95] Montgomery, D. C.; Runger, G. C. *Applied Statistics and Probability for Engineers*. 3rd ed.; John Wiley & Sons Inc: New York, p 703, 2003.
- [96] Box, G. E. P.; Hunter, W. G.; Hunter, J. S. *Statistic for Experimenters: Na Introduction to Design, Data Analysis and Model Building*. 1 ed.; John Wiley & Sons Inc: New York, 1978.
- [96] Myers, R. H.; Montgomery, D. C.; Response surface methodology, Wiley: New York, 2002.
- [97] Teófilo, F. R.; Ferreira, M. M.; Quimiometria II: Planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos Experimentais, um tutorial. Química Nova, v. 29, n. 2, p.338-350, 2006.
- [98] Araújo, P., Janagap, S. Doehlert uniform shell designs and chromatography. Journal of Chromatography B.v.910, pag-14-21, 2012.
- [99] Escaleira, L. A. Extração e Pré-Concentração no Ponto Nuvem Para a

Determinação de Metais em Águas Salinas Por Espectrofotometria de Emissão Ótica Com Fonte de Plasma Indutivamente Acoplado. Dissertação de Mestrado, Geociência, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, Brasil, 2005.

[100] Morgan, E.; Burton, K. W.; Church, P. A. Practical Exploratory Experimental Designs. *Chemometrics Intell. Lab. Syst.* 1989, 5, 283-302. [101]

Brereton, R. *Chemometrics Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant*. John Wiley & Sons Ltd., West Sussex, England, 2003.

[102] Otto, M. *Chemometrics: Statistics and Computer Application in Analytical Chemistry* Wiley-Vch, Weinheim, Germany, 1999.

[103] Miller, J. N.; Miller, J. C. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry* (4th ed.) Pearson Educational Limited, Essex, England, 2000.

[104] Deming, S. N.; Morgan, S. L. *Experimental Design: A Chemometric Approach* (2nd revised and expanded ed.) Elsevier, New York, 1993.

[105] Brown, S. D.; Tauler, R.; Walczak, B. *Comprehensive Chemometrics: Chemical and Biochemical Data Analysis* (1st ed.), Elsevier B.V, Amsterdam, The Netherlands, 2009.

[106] Hanrahan, G.; Gomez, F.A. (Eds.), *Chemometric Methods in Capillary Electrophoresis*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, 2010.

[107] Bruns, R. E.; Scarminio, I. S.; Neto, B. D. B. *Statistical Design—Chemometrics* Elsevier B.V, Amsterdam, The Netherlands, 2006.

[108] Ryan, T. P. *Modern Experimental Design*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, 2007.

[109] He, Z.; Ding, W.; Wanyue Xiao, W.; Jingyu Wu, J.; Chunyong Zhang, C.; Fu, D. Doehlert experimental design applied to electrochemical incineration of methyl green using boron-doped diamond anode. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 56, 160–166, 2015.

[110] Frugeri, P. M., Marchioni, C., Gonzaga, R. G., Lago, A. C., Wisniewski, C., Lucas, P.O. An application of Doehlert matrix optimization on developing of flow injection analysis of neomycin in pharmaceutical samples. *J. Flow. Injection Anal.* v. 31, n.2, pag.107-110, 2014.

[111] Oguz, Y.; Cochrane, C.; Koncar, V.; Mordon, S. R. Doehlert experimental design applied to optimization of light emitting textile structures. *Optical Fiber Technology*, 30, 38–47, 2016.

[112] Liu, L.; Li, B.; He, Z.; Zhang, C.; Fu, D. Degradation of bromoamine acid

by BDD technology – Use of Doehlert design for optimizing the reaction conditions. *Separation and Purification Technology*, 146, 15–23, 2015.

[113] Draper, N. R.; Smith, H. *Applied Regression Analysis* (Wiley Series in Probability and Mathematical Statistics, 1966.

[114] Andrade, C. E. O.; Oliveira, A. F.; Neves, A. A.; Queiroz, M. E. L, R. A new spectrophotometric method for determination of EDTA in water using its complex with Mn(III). *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 168, 253–25, 2016.

[115] Rocha, C. C. *Degradação Do Brometo De Etídio Em Solução Aquosa Via Ozonização*. Dissertação de Mestrado, Agroquímica, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil, 2014.

[116] Almeida, C. A. *Desenvolvimento De Método Espectrofotométrico Inverso Para Determinação De Citrato E Aplicação Em Sistema De Liberação Controlada*. Dissertação de Mestrado, Agroquímica, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil, 2015.

[117] Hernández-Apaolaza, L.; Barak, P.; Lucena, J. Chromatographic determination of commercial Fe(III) chelates of ethylenediaminetetraacetic acid, ethylenediamine(*o*-hydroxyphenylacetic) acid and ethylenediaminedi(*o*-hydroxy-*p*-methylphenylacetic) acid. *J. Chromatogr. A*, 789, 453-460, 1997.

[118] Okojie, V. U.; Osuide, M. O.; Aigbokhian, A. A Study of Some Physico-chemical Characteristics of Cashew Tree Exudate *Anacardium Occidentale*. *Advances in Natural and Applied Sciences Research*, Ekpoma, v. 8, p. 259-263, 2010.

[119] Dziezak, J. D. *Microencapsulation and encapsulated ingredients*. Food Technology, Chicago, v. 42, n. 4, p. 136-151, 1988.

[120] Favaro-Trindade, C. S.; Pinho, S. C.; Rocha, G. A. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. *Brazilian Journal of Food Technology*, Campinas, v. 11, n. 2, p. 103-112, 2008.

[121] Laurenti, E.; Garcia, S. Influência do pH na Liberação de Células Probióticas Encapsuladas em Ágar-Ágar. *B. CEPPA*, v. 32, n. 2, p. 191-200, 2014.

[122] INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. *Orientação sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos*, 2007.

[123] Grillo, R.; Pereira, A.E.S.; De Melo, N.F.S.; Porto, R.M.; Feitosa, L.O.; Tonello, P.S.; Filho, N.L.D.; Rosa, A.H.; Lima, R.; Fraceto, L.F. Controlled

release system for ametryn using polymer microspheres: Preparation, characterization and release kinetics in water. *Journal of Hazardous Materials*, v. 186, p. 1645-1651, 2011.

[124] Correa, R. M. Preparo e caracterização de microcápsulas obtidas por polimerização iônica para alimentação de larvas de peixe. 2003. 178 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

[125] Nascimento, R. L.; Queiroz, A. A. A.; Ribela, M. T. C.; Camillo, M. A. P. Sistemas de liberação controlada de crotoxina a partir de matriz polimérica: uma alternativa para o tratamento de câncer. *R. Ciênc. Saúde*, v.1, n. 2, p. 42-47, 2011.

[126] Bilal, M.; Asgher, M.; Shahid, M.; Bhatti, H. N. Characteristic features and dye degrading capability of agar–agar gelimmobilized manganese peroxidase. *International Journal of Biological Macromolecules*, 86, 728p, 2016.

[127] Sewvandi, G. A.; Adikary, S. U. Removal of heavy metals from waste water using chitosan, *Soc. Soc. Manag. Syst. Int. J.* 66 12–60, 2011.

[128] Muzzarelli R. A. A. Chitin. New York: Pergamon; 1977.

[129] Nagireddi, S.; Katiyar, V.; Uppaluri, R. Pd(II) adsorption characteristics of glutaraldehyde cross-linked chitosan copolymer resin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016.

[130] Chen, X.; Zheng, L.; Wang, Z.; Lee, C.; Park, H. Molecular affinity and perme-ability of different molecular weight chitosan membranes. *Journal of Agriculturaland Food Chemistry*, 50, 5915–5918, 2002.

[131] Chiou, M.; Chuang, G. Competitive adsorption of dye metanil yellow andRB15 in acid solutions on chemically cross-linked chitosan beads. *Chemosphere*, 62, 731–740, 2006.

[132] Xu, D.; Hein, S.; Loo, S.; Wang, K. The fixed-bed study of dye removalon chitosan beads at high pH. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 47,8796–8800, 2008.

[133] Jafarinejad, S.; Gilani, K.; Moazeni, E.; Ghazi-Khansari, M.; Najafabadi, A.; Mohajel, N. Development of chitosan-based nanoparticles for pulmonary deliveryof itraconazole as dry powder formulation. *Powder Technology*, 222, 65–70, 2012.

[134] Lv, P. P.; Ma, Y. F.; Yu, R.; Yue, H.; Ni, D. Z.; Wei, W.; Ma, G. H. Targeted delivery of insoluble cargo (paclitaxel) by PEGylated chitosan

nanoparticles grafted with Arg-Gly-Asp (RGD). *Molecular Pharmaceutics*, 9, 1736–1747, 2012.

[135] Ma, G.; Qian, B.; Yang, J.; Hu, C.; Nie, J. Synthesis and properties of photo-sensitive chitosan derivatives. *International Journal of Biological Macromolecules*, 46, 558–561, 2010.

[136] Furlani, P. R.; Silveira, L. C. P.; Bolonhezi, D.; Faquim V. Cultivo hidropônico de plantas. Campinas: Instituto Agrônomo, Boletim Técnico nº 180, 52p, 1999.

[137] Prado, R. M. *Nutrição de Plantas*. Editora UNESP, São Paulo, Brasil. 407p, 2008.

[138] Lacerda, M. J. R.; Freitas, K. R.; Silva, J. W. Determinação da massa seca de forrageiras pelos métodos de microondas e convencional. *Bioscience Journal* 25: 185-190, 2009.

[139] Varma, S.; Sadasivan, C. A long acting biodegradable controlled delivery of chitosan microspheres loaded with tetanus toxoide as model antigen. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 68, 225–230, 2014.

[140] Webster, A.; Halling, M. D.; Grant, D. M. Metal complexation of chitosan and its glutaraldehyde cross-linked derivative. *Carbohydrate Research* 342, 1189–1201, 2007.

[141] Kausar, A.; Bhatti, H. N.; Mackinnon, G. Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies on the removal of U(VI) by low cost agricultural waste. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 111, 124–133, 2013.

[142] Nadavala, S. K.; Swayampakula, K.; Boddu, V. M.; Abburi, K. Biosorption of phenol and o-chlorophenol from aqueous solutions on to chitosan calcium alginate blended beads, *J. Hazard. Mater.* 162, 482–489, 2009.

[143] Pratt, D. Y.; Wilson, L. D.; Kozinski, J. A. Preparation and sorption studies of glutaraldehyde cross-linked chitosan copolymers. *Journal of Colloid and Interface Science* 395, 205–211, 2013.

[144] Rosario, R. H. ; Bellato, C. R. ; Oliveira, A. F. . Avaliação de um modelo simples da influência da dosagem de adsorvente sobre a capacidade de absorção. In: IX Latin American Symposium Environmental and Sanitary Analytical Chemistry, 2011, Salvador/BA - Brasil. IX Latin American Symposium Environmental and Sanitary Analytical Chemistry, v. 1. p. 1-1, 2011.

[145] Santos, M. S. R.; Andrade, J. F.; Queiroz, M. E. L. R.; Neves, A. A.; Bellato, C. R. ; Oliveira, A. F. Estudo de adsorção de Fe-EDDHMA em matriz

de quitosana reticulada. In: 5^o Congresso Iberoamericano de Química Analítica, 2012, Montevideo. 5^o Congresso Iberoamericano de Química Analítica. Montevideo, v. 1. p. 1-1, 2012.

[146] Kari, F. G.; Giger, W. Speciation and fate of ethylenediaminetetraacetate (EDTA) in municipal wastewater treatment. *Water Res.* 30, 122–134, 1996.

[147] Lee, H. B.; Peart, T. E.; Kaiser, K. L. E. Determination of nitrilotriacetic, ethylenediaminetetraacetic and diethylenetriaminepentaacetic acids in sewage treatment plant and paper mill effluents. *J. Chromatogr. A* 738, 91–99, 1996.

[148] Pérez-Ruiz, T.; Martínez-Lozano, C.; García-Martínez, M. D. Chemiluminescent determination of EDTA and related compounds using tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(III) photogenerated on-line. *Anal. Bioanal. Chem.* 391, 1451–1457, 2008.

[149] Zarouila, Y. T.; Miron, M. D.; Capitan-Vallvey, L. F. Disposable chemiluminometric sensor for rapid determination of EDTA. *Microchim. Acta* 157, 63–71, 2007.

[150] Lee, Y. C. Fluorometric determination of EDTA and EGTA using terbiumsalicylate complex. *Anal. Biochem.* 293, 120–123, 2001.

[151] Krokidis, A. A.; Megoulas, N. C.; Koupparis, M. A. EDTA determination in pharmaceutical formulations and canned foods based on ion chromatography with suppressed conductimetric detection. *Anal. Chim. Acta* 535, 57–63, 2005.

[152] Kemmei, T.; Kodama, S.; Muramoto, T.; Fujishima, H.; Yamamoto, A.; Inoue, Y.; Hayakawa, K. Study of solid-phase extraction for the determination of sequestering agents in river water by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 1216, 1109–1114, 2009.

[153] Bedsworth, W. W.; Sedlak, D. L. Determination of metal complexes of ethylenediaminetetraacetate in the presence of organic matter by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 905, 157-162, 2001.

[154] Kemmei, T.; Kodama, S.; Fujishima, H.; Yamamoto, A.; Inoue, Y.; Hayakawa, K. Determination of ethylenediaminetetraacetic acid in sea water by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography, *Anal. Chim. Acta* 709, 54–58, 2012.

[155] Kemmei, T.; Kodama, S.; Yamamoto, A.; Inoue, Y.; Hayakawa, K. Determination of ethylenediaminetetraacetic acid in foods by reversed-phase high-performance liquid chromatography, *Food Chem.* 138, 866–869, 2013.

[156] Zhou, T. ;Lim, T. T.; Lu, X. H.; Li, Y. Z.; Wong, F. S. Simultaneous

- degradation of 4CP and EDTA in a heterogeneous ultrasound/Fenton like system at ambient circumstance. *Sep. Purif. Technol.* 68, 367–374, 2009.
- [157] Maleki, R.; Nezhad, N. M.; Samadi, N.; Farhadi, K. Trace determination of EDTA from water samples using dispersive liquid–liquid microextraction coupled with HPLC-DAD. *Microchim. Acta* 165, 97–101, 2009.
- [158] Kemmei, T.; Kodama, S.; Fujishima, H.; Yamamoto, A.; Inoue, Y.; Hayakawa, K. Determination of ethylenediaminetetraacetic acid in sea water by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. *Anal. Chim. Acta* 709, 54–58, 2012.
- [159] Chiumiento, F.; Aloise, A.; Marchegiani, F.; Melai, V. Determination of EDTA in feed and premix formulations by HPLC-DAD. *Food Chem.* 175, 452–456, 2015.
- [160] Cagnasso, C. E.; López, L. B.; Rodríguez, V. G.; Valencia, M. E. Development and validation of a method for the determination of EDTA in non-alcoholic drinks by HPLC. *J. Food Comp. Anal.* 20, 248–251, 2007.
- [161] Itabashi, H.; Umetsu, K.; Teshima, N.; Satoh, K.; Kawashima, T. Indirect spectrophotometric determination of complexing agents by flow-injection analysis based on redox reaction of copper(II) with iron(II). *Anal. Chim. Acta* 261, 213–218, 1992.
- [162] Hamano, T.; Mitsuhashi, Y.; Kojima, N.; Aoki, N.; Shibata, M.; Ito, Y.; Oji, Y. Sensitive spectrophotometric method for the determination of ethylenediaminetetraacetic acid in foods. *Analyst* 118, 909–912, 1993.
- [163] Wang, J.; Yu, J.; Kong, X. Z.; Hou, L. Spectrophotometric determination of EDTA in aqueous solution through ferriin formation using sodium sulfite as the reducer. *Chemosphere* 91, 351–357, 2013..
- [164] Ferreira, S. L. C.; Santos, W. N. L.; Quintella, C. M.; Neto, B. B.; Sendra, J. M. B. Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry - review. *Talanta* 63, 1061-1067, 2004.
- [165] Yoshino, Y.; Ouchi, A.; Tsunada, Y.; Kujima, M. Manganese (III) complexes with EDTA. *Can. J. Chem.* 40, 775–783, 1962.
- [166] Van Staden, J. F.; Kluever, L. G. Determination of manganese in natural water and effluent streams using a solid-phase lead(IV) dioxide reactor in a flow-injection system. *Anal. Chim. Acta*, 350, 15–20, 1997.
- [167] Silva, S. G.; Nóbrega, J. A.; Rocha, F. R. P. Exploiting Mn(III)/EDTA complex in a flow system with solenoid micro-pumps coupled to long pathlength

- spectrophotometry for fast manganese determination. *Microchem. J.* 98, 109–114, 2011.
- [168] Clesceri, L. S.; Greengerg, A. E.; Eaton, A. D. *Standard Methods of the Examination of Water and Wastewater*. 20. ed. Washington: American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), Water Environmental Federation (WEF), 1998.
- [169]. Hamm, R. E.; Suwyn, M. A. Preparation and characterization of some aminopolycarboxylate complexes of manganese(III). *Inorg. Chem.* 6 (1967) 139–142, 1967.
- [170] Zhang, Z. Q.; Tang, Y. Solid-phase reactor flow-injection on-line oxidizing spectrofluorimetry for determination and dissolution studies of folic acid. *Anal. Bioanal. Chem.* 381, 932–936, 2005.
- [171] Meier, P. C.; Zund, R. E. *Statistical Methods in Analytical Chemistry*, 2nd ed., 1993.
- [172] Baes, C.F.; Mesmer, R.E. *The Hydrolysis of Cations*. New York: Wiley, 1976.
- [173] De Luca, A.; Dantas, R. F.; Esplugas, S. Assessment of iron chelates efficiency for photo-Fenton at neutral pH. *Water Res.* 61, 232–242, 2014.
- [174] Klewick, J. K.; Morgan, J. J. Kinetic behavior of Mn(III) complexes of pyrophosphate, EDTA, and citrate. *Environ. Sci. Technol.* 32, 2916–2922, 1998.
- [175] Alves, R. I. S.; Sampaio, C. F.; Nadal, M. Schuhmacher, M., Domingos, J. L., Segura-Muñoz, S.I., Metal concentrations in surface water and sediments from Pardo River, Brazil: human health risks. *Environ Res.* 133, 149–155, 2014.
- [176] Weber, P.; Behr, E. R.; Knorr, C. L.; Vendruscolo, D. S.; Flores, E. M. M.; Dressler, V. L.; Baldisserotto, B. Metals in the water, sediment, and tissues of two fish species from different trophic levels in a subtropical Brazilian river. *Microchem. J.* 106, 61–66, 2013.
- [177] CONAMA, Conselho Nacional do Meio Ambiente, Resolution n° 357/2005: Diretrizes Ambientais para Recursos Hídricos e Padrões para o lançamento de efluentes, 2005.
- [178] Biyun Fang, B.; Liang, Y.; Wu, T.; Chang, L.; Zhou, Q.; Chen, F. Determination of ethylenediaminetetraacetic acid base on the reversion of fluorescence quenching of 2-pyridinecarbaldehyde-*p*-phenyldihydrazone by ferric iron. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 116, 440–445, 2013.

ANEXO I

Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy 168 (2016) 253–257



Contents lists available at ScienceDirect

Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular
Spectroscopy

journal homepage: www.elsevier.com/locate/saa



A new spectrophotometric method for determination of EDTA in water
using its complex with Mn(III)



Carlos Eduardo O. Andrade ^{a,b}, André F. Oliveira ^{a,*}, Antônio A. Neves ^a, Maria Eliana L.R. Queiroz ^a

^a Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brazil

^b Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais (CEFET-MG), campus Timóteo, Timóteo, MG, Brazil