Universidade Federal do Rio de Janeiro
Escola Politécnica & Escola de Química
Programa de Engenharia Ambiental

Emily Augusto da Conceição

ESTUDO DO COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DO COMPLEXO FERRO-TEA E A CONCENTRAÇÃO DE FERRO NA MACROALGA MARINHA *ULVA lACTUCA*

Rio de Janeiro
2020

UFRJ

Emily Augusto da Conceição

ESTUDO DO COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DO COMPLEXO FERRO-TEA E A CONCENTRAÇÃO DE FERRO NA MACROALGA MARINHA *ULVA lACTUCA*

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Engenharia Ambiental, Escola Politécnica & Escola de Química, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

ORIENTADORA: Cristina Aparecida Gomes Nassar
COORIENTADOR: Rodrigo de Siqueira Melo

Rio de Janeiro
2020

Conceição, Emily Augusto da.

Estudo do Comportamento Eletroquímico do Complexo Ferro-TEA e a Concentração de Ferro na Macroalga *Ulva lactuca* / Emily Augusto da Conceição . – 2020.
58 f.

Dissertação de Mestrado (Programa de Engenharia Ambiental) – Universidade Federal do Rio de Janeiro- UFRJ, Escola Politécnica e Escola de Química, 2020

Orientador: Drª Cristina Aparecida Gomes Nassar
Coorientador: Dr° Rodrigo de Siqueira Melo

1. Método Eletroanalítico. 2. Metais Pesados. 3. Ulva Lactuca. 4. Ferro II e Ferro III. I. Nassar,Cristina (Orientadora). II. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Escola Politécnica e Escola de Química. III. Estudo do Comportamento Eletroquímico do Minério de Ferro e sua Influência na Macroalga *Ulva Lactuca*.

UFRJ

ESTUDO DO COMPORTAMENTO ELETROQUÍMICO DO COMPLEXO FERRO-TEA E A CONCENTRAÇÃO DE FERRO NA MACROALGA MARINHA *ULVA LACTUCA*

Emily Augusto da Conceição

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Engenharia Ambiental, Escola Politécnica & Escola de Química, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

Aprovada pela Banca:

D. Sc. Cristina Aparecida Gomes Nassar
Universidade Federal do Rio de Janeiro (Orientadora)

D. Sc. Rodrigo de Siqueira Melo
Universidade Federal do Rio de Janeiro – (Coorientador)

D. Sc. Sérgio Luiz Costa Bonecker
Universidade Federal do Rio de Janeiro – (Membro Interno)

D. Sc. Jorge Amim Junior
Universidade Federal do Rio de Janeiro – (Membro Externo - Macaé)

D. Sc. Bárbara Santos Menezes
Universidade Federal do Rio de Janeiro – (Membro Interno)

Rio de Janeiro
2020

RESUMO

CONCEIÇÃO, Emily Augusto. Estudo do Comportamento Eletroquímico do Minério de Ferro e sua Concentração na Macroalga Marinha *Ulva lactuca*. Rio de Janeiro, 2020. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) Escola Politécnica e Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.

As macroalgas são importantes bioindicadoras da qualidade da água. A espécie de macroalga marinha *Ulva lactuca* é cosmopolita e muito abundante em regiões costeira. A Baía do Espírito Santo (BES) foi durante décadas o local de lançamento de efluentes de Usinas de pelotização de minério de ferro, o que acarretou no acúmulo desse minério no sedimento e nos organismo presentes na região. Estudos sobre complexo de $Fe^{(II/III)}$ tem sido de interesse de aplicações técnicas e monitoramento ambiental. O estudo teve com objetivo quantificar o ferro bioacumulado na alga *Ulva lactuca* da localidade BES, bem como determinar a concentração de ferro no complexo de trietanolamina (TEA) com **Ferro** utillizando técnicas eletroanalíticas para avaliar quantitativamente o ferro bioacumulado em uma espécie de macroalga na Baía do Espírito Santo. Foram analisadas 12 amostras de *U. lactuca* coletadas em seis pontos da Baia do Espírito Santo e arredores no inverno de 2009 e verão de 2010. As amostras foram secas a temperatura ambiente e armazenadas até o momento da análise. As análises eletroquímicas foram realizadas com eletrodo de carbono vítreo, com célula eletrolítica composta por 2 $mol.L^{-1}$ de NaOH e 0,8 $mol.L^{-1}$ de NaCl. Parâmetros de freqüência, amplitude e número de step foram estabelecidos para otimização das análises. Foi indentificado **ferro II** acima do limite Legislação em 10 amostras do total das 12 analisadas. O comportamento Eletroquímico do complexo $Fe^{(II/III)}$-TEA, avaliado por voltametria de onda quadrada, apresentou uma correlação linear de R^2=0,9946 e potencial de pico do Fe II = -1,07 V e TEA= Ep=+0,50V e +1,19V. Testes estatísticos do complexo Ferro- TEA indicando que esse método é preciso, pois foi quantificado com 0,151 $mg.L^{-1}$ e detectado com 0,045 $mg.L^{-1.}$

Palavras-chave:*Ulva lactuca;* Metais pesados; Ferro II; Ferro III, método eletroanalítico.

ABSTRACT

CONCEIÇÃO, Emily Augusto. Study of the Electrochemical Behavior of Iron Ore and its Concentration in Marine Macroalga *Ulva lactuca*. Rio de Janeiro, 2020. Dissertation (Master in Environmental Engineering).Polytechnic School and School of Chemistry, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.

Macroalgae are important bioindicators of water quality. The species of seaweed *Ulva lactuca* is cosmopolitan and very abundant in coastal regions.The Espírito Santo Bay (BES) was for decades the place where effluents were released from iron ore pelletizing plants, which resulted in the accumulation of this ore in the sediment and organisms present in the region.Studies about $Fe^{(II/III)}$complex have been of interest for technical applications and environmental monitoring. The study aimed to quantify the bioaccumulated iron in the Ulva lactuca algae from BES, as well as to determine the concentration of iron in the triethanolamine complex (TEA) with Iron using electroanalytical techniques to quantitatively assess bioaccumulates iron in a species of macroalgae in the Bay of Espírito Santo.

Twelve samples of *U. lactuca* collected at six points in Espírito Santo Bay and surroundings in the winter of 2009 and summer of 2010 were analyzed. The samples were dried at room temperature and stored until analysis.The electrochemical analyzes were performed with a glassy carbon electrode, with an electrolytic cell composed of por 2 $mol.L^{-1}$ de NaOH e 0,8 $mol.L^{-1}$ of NaCl. The parameters of frequency, amplitude and step number were established to optimize the analysis. Fe II was identified above the Legislation limit in 10 values out of the 12 analyzed. The Electrochemical behavior of the $Fe^{(II/III)}$-TEA complex, assessed by square wave voltammetry, showed a linear correlation of R^2=0,9946 and peak potential of Fe II =-1,07 V e TEA= Ep=+0,50V. Statistical tests of the Iron- TEA complex indicate that this method is accurate, as it was quantified with 0.151 mg.L-1 and detected with 0.045 mg.L-1.

Keywords: *Ulva lactuca*, Heavy metals, Fe II, Ferro III, electroanalytical method

LISTA DE FIGURAS

Pág.

Figura 1: Número de artigos revisados por pares entre 1952 e 2015 sobre o uso de macroalgas marinhas em águas costeiras de biomonitoramento passivo. Fonte: Seonane et al (2019).....18
Figura 2: Macroalga *Ulva lactuca.* Fonte:Ginneken & Vries(2018). 20
Figura 3: Esquema técnicas voltamétricas. Fonte: Autor.....22
Figura 4: Célula eletrolítica composta por eletrodo de trabalho (ET), eletrodo de referência(RE) e contra-eletrodo(CE). Fonte: Wang, 2006. Adaptado: Autor 23
Figura 5: (A) Tempo de potencial definido por Kalousek (B) Ciclo de potencial. Fonte: Mirceski e & Gulaboski, 2014.....26
Figura 6: Relação dos parâmetros da voltametria de onda quadrada 27
Figura 7: Mapa da Baía do Espírito Santo. Adaptado de Sá (2015).Estrelas em vermelho indicam os pontos de coleta. 30
Figura 8: Ponto de coleta das macroalgas (A- Ilha do Frade 1; B- Ilha do Frade 2; C- Ilha do Boi 1;D- Ilha do Boi 2; E- Praia de Carapebus; F- Camburi Pier 1. Fonte: Sá ,2015 31
Figura 9: Célula eletrolítica 34
Figura 10: Sistema eletroquímico para detecção das análises. Fonte: Adaptado de Resende et al, 2017.....35
Figura 11: Esquema complexo Fe- TEA.....38
Figura 12: Voltamograma obtido contendo 1,17 mol.L-1 NaOH; 1,37 mol.L-1 NaCl e 3,0 mmol.L^{-1} TEA. Ei:-1,5 V; Ef:1,5 V; f:60 Hz; Esw:75 mV; ΔE:5 mV. 39
Figura 13:Voltamograma TEA (3,0 mmol.L-1); Ei:-1,5 V; Ef:1,5 V; f:60 Hz; Esw:75 mV; ΔE:5 mV. 40
Figura 14: Variação da freqüência de 10 a 90 Hz, com *f:* 10-90 Hz; Esw: 75 mV; ΔE: 5 mV 41
Figura 15: Variação da amplitude de 10 a 200 mV do complexo $Fe^{(II/III)}$- TEA. f : 60 Hz; Esw: 10-200 mV ; ΔE: 5 mV. 41
Figura 16: Variação do potencial step, do complexo Fe $^{(II/III)}$- TEA. f: 60 Hz; Esw: 75 mV; ΔE: 1-10 mV. 42
Figura 17: Curva de Calibração do complexo Fe $^{(II/III)}$ – TEA. f: 60 Hz; Esw: 75 mV; ΔE: 10 mV 43
Figura 18: Complexo Fe $^{(II/III)}$- TEA.....44

LISTA DE TABELAS

Pág.

Tabela 1: Resultado das concentrações de metais de acordo com o máximo permitido pela Legislação.....15
Tabela 2: Lista dos 20 gêneros de algas marinhas mais usadas no biomonitoramento da poluição aquática. Os gêneros estão listados em ordem de frequência de uso. 17
Tabela 3: Técnicas para identificação de metais pesados.....20
Tabela 4: Composição química da solução suporte 38
Tabela 5: Parâmetros Voltamétricos de trabalho para análises da solução suporte.....39
Tabela 6: Resultados do desvio padrão e limites de quantificação e detecção 43
Tabela 7: Soluções de Fe II e Fe III saturadas em concentrações distintas de TEA e NaOH 45
Tabela 8: Quantificação de Ferro em amostras de *Ulva lactuca* coletadas na BES. 46
Tabela 9: Comparativo amostras de macroalga seca de 2020 e 2009/2010 47
Tabela 10: Valor médio de Ferro nas amostras da macroalga Ulva Lactuca na Baía do Espírito Santo 48

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AAS- Espectrometria de Absorção Atômica

BES- Baia do Espírito Santo

CE- Contra Eletrodo

CONAMA- Conselho Nacional do Meio Ambiente

E_{sw} – Potencial de Amplitude

ET- Eletrodo de Trabalho

f- frequência

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ICP-MS- Espectrometria de massa por plasma acoplado

LD- Limite de Detecção

LQ- Limite de Quantificação

MMA- Ministério do Meio Ambiente

PSA- Análise Potenciométrica de Redissolução

RE- Eletrodo de Referência

TEA- Trietanolamina

UV-VIS- Espectroscopia no ultravioleta visível

ΔEs- Diferença de Potencial de Step

OBS: coloquei simbolo junto

SUMÁRIO

Pág.

RESUMO 5
ABSTRACT 1
LISTA DE FIGURAS 2
LISTA DE TABELAS 3
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS 4
SUMÁRIO 5
AGRADECIMENTOS 7
1. INTRODUÇÃO 13
2. REFERENCIAL TEÓRICO 15
2.1 Poluição ambiental 15
2.2 Monitoramento Ambiental 16
2.3 Algas 18
2.4 Técnicas analíticas para análise de metais 20
2.5 Voltametria 22
2.5.1 Voltametria de redissolução anódica 25
2.5.2 Voltametria de onda quadrada 26
3 OBJETIVOS 28
3.1 Objetivo geral 28
3.2 Objetivo específico 28
4 MATERIAIS E MÉTODOS 30
4.2 Limpeza de vidrarias e eletrodo de trabalho 32
4.3 Digestão das amostras 32
4.4 Reagentes para análise eletroanalítica 33
4.4.1 Ferro II Heptahidratado 33
4.4.2 Solução eletrolítica 33
4.4.3 Agente quelante 33
4.4.4 Argônio 33
4.5 Célula Eletrolítica 34
4.6 Instrumentação analítica 35
4.6 Otimização dos parâmetros voltamétricos 36
4.7 Calibração analítica 36
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 38

5.1 Aminas 39
5.2 Otimização e parâmetros Fe $^{(II/III)}$- TEA 40
5.2.1 Frequência 40
5.2.2 Amplitude de pulso 41
5.2.3 Potencial step 42
5.3 Curva de calibração 42
5.4 Limite de detecção e quantificação 43
5.5 Complexo Fe $^{(II/III)}$- TEA 44
5.6 Análises das amostras por voltametria de onda quadrada 45
6. CONCLUSÃO 48
7. PERSPECTIVAS FUTURAS 50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 51

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo seu amor, proteção e cuidado para comigo.

Aos familiares pelo apoio incondicional e pelos incentivos para realização dos meus sonhos;

Aos meus sobrinhos João Pedro, Benício e Rafael pelo amor e carinho;

Ao meu esposo Frank pela paciência, cuidado e por ser meu suporte em todos os momentos da minha vida;

À Profª D.Sc Cristina Aparecida Gomes Nassar por ter aceito meu convite em ser minha orientadora, por todo tempo dedicado, apoio e sinceridade, que me auxiliou imensamente na dissertação;

Ao coorientador Prof. D.Sc Rodrigo de Siqueira Melo por todo aprendizado durante esses anos e pelo auxílio desde a faculdade até ao mestrado. Seu conselho e apoio vou levar para sempre;

Ao Prof. D.Sc Maurício Mussi Molissani e Roberto pela ajuda na digestão das algas;

Ao grupo de Bioletronalítica e Materiais Avançados (UFRJ- Campus Macaé) por todo apoio durante meus experimentos de eletroanalítica;

Ao Programa de Engenharia Ambiental (PEA- UFRJ) pelo conhecimento oferecido durante a realização do Mestrado;

Por fim a minha mãe Eliane, que mesmo não estando entre nós será sempre minha fonte de inspiração.

A todos vocês, muito obrigada!

1. INTRODUÇÃO

Devido ao crescimento demográfico, tecnológico e industrial as águas de ambientes costeiros têm sido modificadas por atividades antrópicas.Esta contaminação é resultante de lançamentos de efluentes industriais e sanitários sem tratamento, águas contaminadas de drenagem urbana, rejeitos industriais e derramamento de produtos tóxicos. Segundo Lee & Wang (2001) os organismos presentes nessas regiões são, com frequência, expostos a contaminação por metais pesados.

Segundo dados do IBGE (2010), a população da Cidade de Vitória era de,aproximadamente, 327 801 mil habitantes. Cerca de 9 anos depois, foi registrado um incremento de 34 mil habitantes (IBGE 2019). Junto com a população as indústrias no Espírito Santo também tem crescido e o aumento populacional na região tende a gerar um aumento de impactos sobre o meio ambiente.

Entre as décadas de 60 e 80 uma usina de pelotização de minério de ferro (sistema de produção de pequenas esferas) operava e lançava os rejeitos na Praia de Camburi, localizada na Baia do Espírito Santo, na Cidade de Vitória (ES). O minério de ferro não é tóxico quando presente na água do mar, porém afeta a absorção de calor, fotossíntese, crescimento das macroalgas (Nassar & Yoneshigue-Valentin.,2005;2006) e o comportamento de animais (Mac Lachlan., 1977; Erasmus & De Villiers., 1982). As macroalgas marinhas são boas indicadoras de contaminação da água por metal pesado, devido sua capacidade de bioacumulação. Em altas concentrações os metais pesados apresentam toxicidade às algas. (Nassar e Sá 2015; Lobban& Harrison 1997). Esses organismos são utilizados no monitoramento ambiental (Klumpp et al., 2002) uma vez que seu crescimento pode ser inibido quando em contato com partículas de minério de ferro.******

Os metais pesados em ambientes aquáticos podem ter origem em diversos tipos de indústrias, tais como papel, têxtil, plástico, fabricação de cerâmica e cimento, mineração e revestimento de eletrônicos. Métodos de tratamento como floculação, adsorção e processos eletroquímicos têm sido aplicados para remoção de metais tóxicos da água, porém muitas dessas técnicas podem ter alto valor aquisitivo devido aos custos operacionais (Zhao et al., 2011).

As técnicas eletroanalíticas estão relacionadas com as medições de quantidades elétricas, como corrente ou potencial e sua relação com parâmetros químicos. Esta técnica consiste em um conjunto de métodos analíticos qualitativos e quantitativos relacionado com propriedades elétricas de uma solução que contêm um analito de

interesse. As principais vantagens destas técnicas é o baixo custo, curto tempo para realização das análises, sensibilidade e facilidade na manutenção das amostras. Além dessas características, essa técnica oferece informações sobre o comportamento redox do sistema, bem como o número de elétrons envolvidos na transferência eletrônica, presença de adsorção de produtos ou reagentes (Wang., 2006; Cabral *et al*., 2003).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Poluição ambiental

A poluição ambiental por metais pesados é um problema atual e global. Alguns metais pesados são fundamentais para os organimos vivos, porém níveis excessivos desses metais podem causar danos ao meio ambiente. (Borrill et al 2019). Diversas atividades levaram a um aumento em sua abundância no ambiente como em corpos de água e sedimentos . Os metais não são biodegradáveis, logo sua acumulação gera toxidade aos organismos (Bard & Zoski, 2002).

Na tabela 1 é comparado os teores máximos de metal pesados de acordo com o Conselho Nacional do Meio Ambiente CONAMA (Resolução 357).

Tabela 1: Resultado das concentrações de metais de acordo com o máximo permitido pela Legislação.

Metais	Limite Máximo pela Legislação Brasileira ($mg.L^{-1}$)
Zn	0,18
Pb	0,01
P	0,020
Mn	0,1
Hg	0,0002
Fe	0,3
Cu	0,009
Cd	0,001
Ca	*
Mg	*

* Não regulamentado pela Legislação. Fonte: CONAMA

O ferro é o mais usado de todos os metais, respondendo por 95% de toda a tonelada de metal produzida no mundo. Por apresentar combinação de baixo custo e alta resistência, é indispensável, em especial, para a siderurgia. O ferro elementar raramente é encontrado na natureza, pois o ferro Fe^{2+} e Fe^{3+} se combinam facilmente com compostos contendo oxigênio e enxofre para formar óxidos, hidróxidos, carbonatos e sulfetos , porém é mais comumente encontrado na natureza na forma de seus óxidos (Knepper., 1981;Elinder *et al*., 1986).

As atividades de mineração de minério de ferro têm grandes impactos na qualidade dos recursos ambientais e causa danos irreversíveis ao ecossistema, como distúrbios gerais do sistema de água subterrâneo, poluição das águas superficiais, ocasionando o suprimento inadequado de água ou a não disponibilidade de água potável para as pessoas que vivem na área (Ifatimehin & Hassan, 2016). Zagatto & Bertolleti (2008) alertam para a necessidade de análises químicas para detecção, quantificação e monitoramento deste minério em ambientes marinhos.

2.2 Monitoramento Ambiental

De acordo com o Ministério do Meio Ambiente (MMA), a zona costeira Brasileira possui extensão superior a 8.500 km abrangendo 17 estados e aproximadamente 400 municípios distribuídos do norte equatorial ao sul temperado do Brasil. Com os crescentes impactos ambientais ocasionados pelas atividades antrópicas, o biomonitoramento tem sido uma importante ferramenta para a proteção ambiental.(Li *et al*, 2010).

Com as atividades antropogênicas localizadas na zona costeira, os ambientes aquáticos têm sido fortemente impactados. Alguns contaminantes estão presentes nesses ambientes e os organismos acabam sendo afetados por metais pesados, hidrocarbonetos de indústrias de petróleo, mineração e indústrias têxteis, o que pode acarretar em diminuição das taxas fotossintéticas deorganismos marinhos (Zeng et al,2015).

A zona costeira também é afetada por impactos ambientais como lançamento de efluentes industriais e derramamento de produtos tóxicos. Esses impactos geram consequentemente acumulação nos organismos bentônicos. O monitoramento ambiental da zona costeira pode ser realizada atraves de organismos marinhos como as macroalgas. (Sá & Nassar, 2015)

Diversos estudos têm analisado metais pesados em algas, sendo que a macroalga mais estudada em biomonitoramento costeiro são de espécies pertencentes ao Filo Chlorophyta, especificamente, espécies do gênero Ulva (*U. lactuca, U. intestinalis, U. rigida, U. compressa* e *U. linza*) (Tabela 2). Uma das vantagens em utilizar essas algas é sua abundância, facilidade de coleta e identificação. (Seoane *et al*, 2017).

Ibrahim (2011) realizou um estudo de adsorção de metais pesados por algas, visto que é um tratamento eficiente e ambientavelmente eficaz para água contaminada. O estudo demonstrou que as macroalgas absorvem a maioria dos metais pesados em um curto período de tempo. A biocumulação ocorre quando a taxa de absorção de uma substância por um organismo é maior que sua perda para o ambiente, sendo que diversas dessas

substâncias podem afetar organismos vivos e impactar a biota marinha (Conti, 2002).

Tabela 2: Lista dos 20 gêneros de algas marinhas mais usadas no biomonitoramento da poluição aquática. Os gêneros estão listados em ordem de frequência de uso.

Gênero	Filo	Espécies
Ulva/Enteromorpha	Chlorophyta	*U. lactuca, U. rigida, U. prolifera, U. Linza*
Fucus	Ochrophyta	*F. vesiculosus, F. spiralis, F. serratus, F. Ceranoides*
Padina	Ochrophyta	*P. pavonica, P. gymnospora, P. boryana, P. Tetrastromatica*
Sargassum	Ochrophyta	*S. vulgare, S. tenerrimum, S. binderi, S. Polycystum*
Gracilaria	Rhodophyta	*G. verrucosa, G. corticata, G. tikvahiae, G. Gracilis*
Cladophora	Chlorophyta	*C. glomerata, C. sericea, C. Coelothrix*
Cystoseira	Ochrophyta	*C. barbata, C. myrica, C. indica, C. Crinita*
Codium	Chlorophyta	*C. fragile, C. tomentosum, C. bursa, C. Cuneatum*
Caulerpa	Chlorophyta	*C. racemosa, C. sertularioides, C. prolifera, C. Serrulata*
Hypnea	Rhodophyta	*H. musciformis, H.cornuta, H. pannosa, H. Spinella*
Laurencia	Rhodophyta	*L. papillosa, L. Obtusa, L. poiteaui, L. Glandulifera*
Ascophyllum	Ochrophyta	*P.nodosum*
Dictyota	Ochrophyta	*D. dichotoma, D. cervicornis, D. aAcutiloba, D. Bartyresiana*
Chaetomorpha	Chlorophyta	*C. antennina, C. linum, C. gracilis, C.crassa*
Porphyra	Rhodophyta	*P. umbilicaris, P. cColumbina, P. leucosticta, P. Yezoensis*
Corallina	Rhodophyta	*C. officinalis, C. mediterranea,C. granifera, C. Pilulifera*
Ceramium	Rhodophyta	*C. rubrum, C. ciliatum, C. boydenii, C. Diaphanum*
Jania	Rhodophyta	*J. rubens, J. longifurca, J. sagittata, J. Verrucosa*
Acanthophora	Rhodophyta	*A. spicifera, A. delilei, A. Najadiformis*
Phyllophora	Rhodophyta	*P.nervosa, P. brodiei, P. pseudoceranoides, P. Membranifolia*

Fonte: Seone et al. (2017).

A figura 1 mostra que desde o início do uso da técnica de biomonitoramento, o mesmo vem crescendo no decorrer dos anos. Entre 1952 e 2017, o número de estudos foram elevados, sendo que a maioria desses artigos foram de monitoramento da poluição.

As colunas brancas representam o número de artigos referente a aspectos metodológicos, e as barras cinzas o númerp em que a técnica é usada para monitorar a contaminação (Seoane *et al* 2018).

.

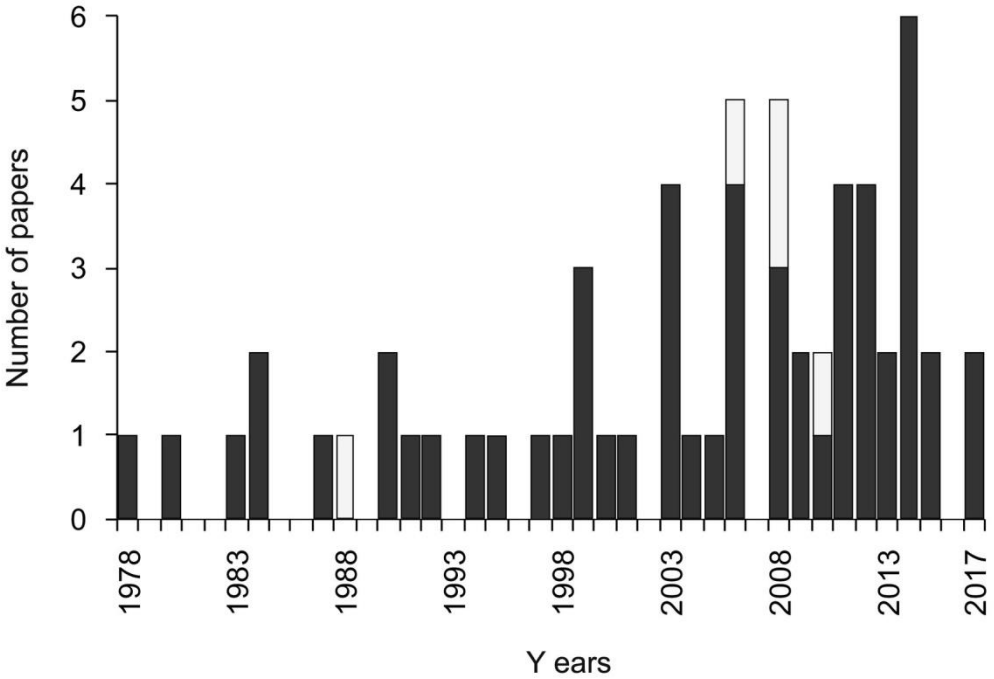

Figura 1: Número de artigos revisados por pares entre 1952 e 2017 sobre o uso de macroalgas marinhas em águas costeiras de biomonitoramento passivo. Fonte: Seonane et al (2019)

Os interesses dos estudos se concentraram na remediação e biomonitoramento de metais pesados em ecossistemas aquáticos e usos de plantas aquáticas submersas na avaliação da qualidade da água, visto que as plantas aquáticas são eficientes na eliminação de metais pesados em ambientes marinhos, como às zonas entre as marés. (Seoane *et al* ,2017; Santos & Cocentino, 2004)

Entre os anos de 2018 a 2020 monitoramento de biomonitoramento em macroalgas tem sido altamente estudados. Leite & Miranda (2018) analisaram as macroalgas como bioindicador utilizando-as como ferramenta para avaliação do impacto urbano no estado da Paraíba. Araújo *et al (* 2019) realizam um levantamento de macroalgas em comparação com a qualidade da água em São Paulo.

No biomonitoramento de metais pesados, diversas técnicas podem ser utilizadas como a determinação de metais pesados em organismos (Conti, 2003), e biomonitoramento em macroalgas marinhas, visto que se trata de uma ferramenta útil para gestão ambiental. (Seoane et al, 2017).

2.3 Algas

As algas marinhas são organismos fotossintéticos que sintetiza substâncias orgânicas (Bicudo & Menezes, 2010).

As macroalgas representam um grupo funcional essencial dentre as comunidades de recifes de corais e desempenham funções ecológicas vitais como estabilização da estrutura dos recifes, produção de areias tropicais, retenção e reciclagem de nutrientes, produtividade

primária e suporte trófico. (Seoane, 2017). A diversidade das comunidades de macroalgas podem refletir a qualidade da água, em função da presença/ausência das espécies e sua abundância. As macroalgas marinhas são divididas em 3 grupos: algas verdes (*Chlorophyta*), pardas (Ochrophyta) e vermelhas (*Rhodophyta*). (Zhou et al., 2008; Vasconcelos e Gonçalves, 2013)

As macroalgas são utilizadas para fim de biomonitoramento desde a década de 1950, mas ainda são amplamente utilizadas para avaliação do meio ambiente; são produtores primários nos ambientes costeiros e desta forma são os principais acumuladores de poluentes,como metais. As macroalgas são altamente eficazes como bioindicadores ambientais, pois são bentônicas, fáceis para coletar, podem acumular metais diluídos na água e transferi-los para os níveis tróficos mais altos.(Seoane *et al* ., 2017; Conti., 2002; Torres *et al*., 2008)

Segundo Leston e colaboradores (2014), as macroalgas possuem alta produção de biomassa e representam um elo importante nas redes tróficas, contribuindo para bioacumulação de contaminantes. Essas características também são responsáveis pela *Ulva lactuca* que tende a uma elevada área de superfície, alta taxa de crescimento, se adapta a altas salinidades e temperaturas em ambientes transitórios.

Variados estudos mostram a efetividade das macroalgas como biomonitoramento devido ao seu tamanho, a sua ampla distribuição, indicadora de áreas eutrofizadas. (Araújo *et al,* 2019)Calado (2004) avalia a concentração de metais pesados como o ferro, em macroalgas como forma de determinação do grau de impacto do Norte de Pernambuco.

A *Ulva lactuca* gênero de algas verdes (família Ulvaceae), (Figura 2), geralmente encontrada em margens rochosas de mares e oceanos em todo o mundo; também conhecida como alface-do-mar, tem aspecto plano em forma de folha, com morfologia simples que consiste em duas camadas de células (Tan *et al*, 1999). É uma alga verde comum em todo o mundo e é capaz de crescer tanto em substrato consolidado, com rochas, ou livres. Neste estudo foi utilizado a macroalga Ulva lactuca devido a sua alta capacidade de indicar e acumular metais pesados nas zonas costeiras (Lee & Wang., 2001; Sá., 2011) .

Segundo Nassar e Valentin (2005), acredita-se que o minério de ferro fica retido nas dobras da fronde da macroalga e não em um ponto específico do talo.

Figura 2: Macroalga *Ulva lactuca.* Fonte:Ginneken & Vries(2018).

2.4 Técnicas analíticas para análise de metais

Com os perigos relacionados aos metais em variadas fontes, entende-se a necessidade de métodos analíticos para quantificar a concentração dos metais e com isso realizar esse monitoramento de forma eficaz e rápida. As técnicas analíticas utilizadas para análises de metais dependem do custo, limite de detecção e disponibilidade de equipamentos. A Tabela 3 apresenta algumas das técnicas estabelecidas para detecção de íons de metais pesados. (Draghici *et al*, 2010)

Tabela 3: Técnicas para identificação de metais pesados

Métodos e Técnicas	Tipo de Análise
Espectrometria de absorção molecular (UV-Vis)	Técnica de elemento único
Espectrometria de absorção Atômica (AAS)	Técnica de elemento único e análise de multi-elementos (entre 2 e 6 elementos
Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS)	Análise simultânea de elementos
Métodos Eletroanalíticos	Análise simultânea e consecutiva de elementos e moléculas eletroativas

Fon te: Draghici *et al,* 2010

Na técnica Espectrometria de absorção molecular (UV-Vis) é medida a intensidade de um feixe de luz e depois é refletido a partir da superfície da amostra. A amostra é injetada no equipamento e ela entra em contato com a chama. As medições de absorção podem ser coletadas em um único comprimento de onda ou em uma faixa espectral estendida. Para análise da solução do analito, a sua concentração é identificada a partir da medição da absorbância do comprimento de onda. A UV-Vis abrange uma faixa de 400 a 750 nm. Quanto maior a temperatura dessa técnica, maior a sua sensibilidade (Hameed *et al*, 2018).

Sua aplicação pode ser realizada em análise de especiação. Esta técnica requer separação prévia do elemento determinado (Draghici *et al*, 2010).

A Espectrometria de Absorção Atômica (AAS) é baseada no princÍpio em que sua amostra é convertida em forma atômica por meio de vapor. O elemento a ser analisado passa por um feixe de radiação, essa radiação é produzida pela lâmpada chamada de Lampada de catodo oco. Quando a luz do comprimento de onda correto é fornecida, a quantidade de luz absorvida é medida e uma leitura da concentração pode ser obtida (Levinson, 2000).

A AAS é uma das ferramentas mais utilizadas na química analítica, por sua sensibilidade, seletividade, livre de interferências e utilizado para uma ampla variedade de aplicações (Hill & Fisher, 2017).

Na Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP- MS) é necessário que a amostra seja vaporizada e sua ionização deve estar completa antes de entrar no espectrômetro de massa, pois gotículas maiores que 10 µm são eliminadas pela câmara de pulverização. O plasma é produzido por gás argônio, energizando a fluxo de gás para geral aerossol até uma chama elétrica. Esse material é dessolvatado, excitado e ionizada (Vanhaecke *et al*, 2003).

O ICP- MS é um tipo de espectometria de massa que é altamente sensível para analisar uma variedade de metais e capaz de distinguir especiação isotópica para íons de escolha. É uma abordagem ideal para analisar a quantidade de enriquecimento de ferro em várias formas de amostras naturais e de laboratório, além de ser um método amplamente utilizado para determinação de concentrações de metais em amostras biológicas e orgânicas (Yan & Kiley., 2009; Godfrey & Glass., 2011).

As técnicas eletroanalíticas medem propriedades eletroquímicas como potencial, corrente, condutividade e resistência em solução. Ela tem as vantagens de baixo custo, simplicidade, alta sensibilidade, facilidade de operação e análise rápida, além de detectar

metais pesados e possuir um nível de detecção de até 10 $^{-10}$ mmol.L^{-1}. As técnicas eletroanalíticas têm sido cada vez mais utilizadas em estudos, principalmente para análises de metais (Akram *et al*, 2015).

2.5 Voltametria

As técnicas eletroanalíticas consistem nas medições de variáveis tais como corrente, potencial e sua relação com as concentrações dos analitos. Essas técnicas podem ser utilizadas em variadas aplicações, como monitoramento de metais pesados no ambiente, controle da qualidade da água, entre outros.

Tonietto e colaboradores (2012),avaliaram a especiação de cobre e zinco pela técnica voltamétrica de redissolução anódica com pulso diferencial; e Lima (2014) analisa quantidades de manganês em etanol utilizando voltametria. Nestes trabalhos foram identificados que a técnica eletroanalítica como uma técnica sensível, reprodutível, simples e de baixo custo.

Na voltametria, para obter uma resposta relacionada a concentração do analito, é necessário a transferência de elétrons durante o processo redox com um potencial controlado. As técnicas voltamétricas realizam análises de um processo redox através de uma faixa de potencial específica, onde a minha espécie (sp) em contato com a superfície do eletrodo de trabalho pode perder ou receber elétrons, reduzindo ou oxidando, gerando uma corrente e um potencial específico do meu analito. (Figura 3)

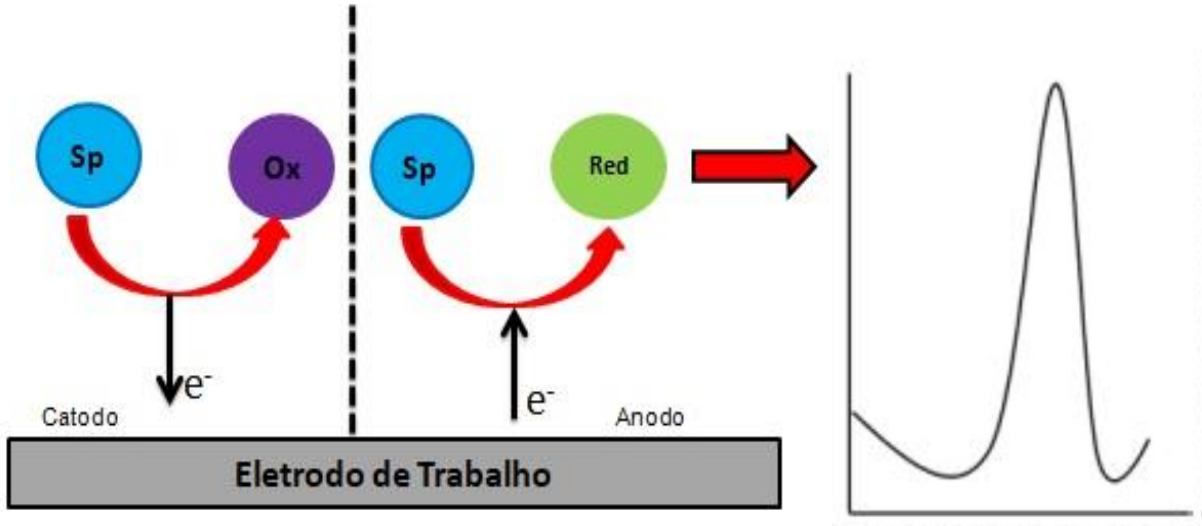

Figura 3: Esquema técnicas voltamétricas. Fonte: Autor

A técnica de polarografia é um tipo de voltametria que utiliza mercúrio gotejante no eletrodo de trabalho. Ele possui sua superfície renovável e uma faixa alta de potencial catódico. Muitos estudos têm sido realizados com técnicas voltamétricas por identificar análises com alto grau de sensibilidade. Wang, 2006 discute em um dos seus estudos, sobre as técnicas de potencial controlado, que tem como base a medição de resposta atual sob um potencial aplicado. A voltametria cíclica, voltametria de pulso diferencial, voltametria adortiva de redissolução, voltametria de redissolução, polarografia de pulso Diferencial são bastante utilizadas. A voltametria de onda quadrada, utilizada neste trabalho pode ser aplicada em medições eletrocinéticas e analíticas.

O sistema eletroquímico para análise voltamétrica é constituído de uma célula entre 5 e 50 mL de volume e por um conjunto de 3 eletrodos, sendo estes, eletrodo de trabalho (ET), de referência (RE) e o contra eletrodo (CE) que são submersos nas amostras (Figura 4). O eletrodo de trabalho é responsável pela reação de interesse onde as moléculas são oxidadas ou reduzidas; o eletrodo de referência é responsável pelo potencial estável e reproduzível; já o contra eletrodo verifica a corrente elétrica que circula através da célula eletroquímica.

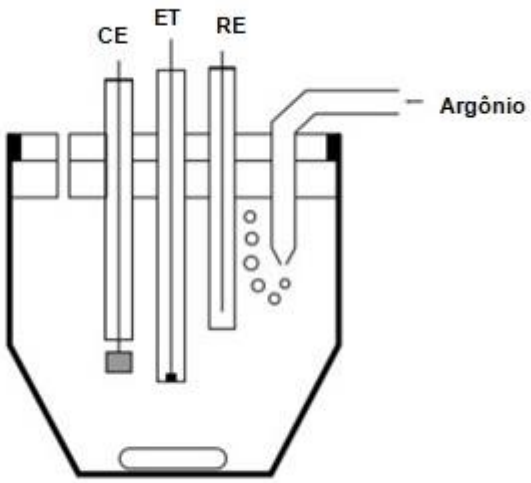

Figura 4: Célula eletrolítica composta por eletrodo de trabalho (ET), eletrodo de referência(RE) e contra-eletrodo(CE). Fonte: Wang, 2006. Adaptado: Autor

O eletrodo de trabalho utilizado para análise do Ferro(Fe^{2+}/Fe^{3+}) e outros metais para muitos estudos é o carbono vítreo. Sua estrutura envolve fitas finas emaranhadas de folhas reticuladas semelhantes a grafite (Wang, 2006).

O carbono vítreo possui uma ampla faixa de potencial, baixo custo, fácil modificação de sua superfície, notável propriedades mecânica e elétricas, ótima detecção. A utilização do carbono vítreo tem sido constante neste tipo de estudo devido a sua baixa corrente residual,

sensibilidade e sua utilização em solventes (orgânicos e inorgânicos). (Geremedhin et al; 2013; McCreery2008; Oiye et al, 2009)

Michael Faraday (1834), estabeleu leis que regem princípios dos processos voltamétricos, onde a corrente resultante de um processo de oxidação/ redução é chamada de Lei de Faraday , a reação de 1 mol= n (número de eletrons envolvidos) x 9648 C. Para sistemas controlado pelas leis da termodinâmica, o potencial do eletrodo pode ser usado para estabelecer a concentração das espécies eletroativas na superfície segundo a equação 1 de Nernst abaixo (Bhattacharyya, 2015):

$$E = E^{o} + \frac{2{,}3\ RT}{nF} \log \frac{C_O}{C_R} \qquad (1)$$

Onde:

E^o = Potencial padrão da reação redox;
R = Constante universal dos gases (8,314 $K^{-1}.mol^{-1}$);
T = Temperatura (Kelvin);
n = número de elétrons;
F = Constante de Faraday (96487 $C.mol^{-1}$);
C_O = Concentração da espécie oxidada;
C_R = Concentração da espécie reduzida.

A mais adequada forma para determinar a concentração de amostras é medir as correntes faradaicas que é gerado quando oxidado ou reduzido nos eletrodos. A corrente faradaica é uma medida direta da taxa da reação redox. O voltamograma que é definido pelo resultado gráfico de potencial de corrente, é uma exibição da corrente (eixo vertical) versus o potencial de excitação (eixo horizontal). A corrente total é o somatório das correntes faradaicas da amostra e das soluções em branco, bem como a corrente de fundo de carregamento não-faradaica (Wang, 2006).

Na cronoamperograma, em um processo redox por exemplo, a corrente varia proporcionalmente com a raiz do tempo de aplicação do potencial (Equação 2).

$$i_f = \frac{nFACD^{1/2}}{\pi^{1/2}\ t^{1/2}} \qquad (2)$$

Onde:

i_f = corrente faradaica;
n = Número de elétrons;
F = Constante de Faraday (96487 $C.mol^{-1}$);
A = Área do eletrodo;
C = Concentração do analito;
D = Coeficiente de difusão da solução;
t = Tempo de aplicação do potencial.

2.5.1 Voltametria de redissolução anódica

A fim de melhorar a quantificação e detecção para limites menores da técnica voltamamétrica, Barker e Jenkis utlizaram o eletrodo gotejante de mercúrio para análises de pré-concentração. Para análises de metais, quando adicionado o analito ele reage com o mercúrio, formando uma espécie de amálgama. Esta é uma técnica de alta sensibilidade e muito utilizada para detecção de baixas concentrações,como amostras ambientais, tornando a polarografia uma técnica bastante utilizada e de grande eficiência. (Wang *et al*, 1999)

A técnica de Análise Potenciométrica de Redissolução (PSA) foi desenvolvida por Jagner e Granéli para análises de metais pesados. Esta é uma técnica que mede a variação potencial durante o processo de redissolução, que pode ser aplicado uma corrente constante, além disso é uma técnica de baixo custo, rápida, além de não sofrer grande interferência por parte de outras substâncias redox ou de atividade superficial (Nobre & Mazo, 1997).

As técnicas de PSA são menos suscetíveis a compostos orgânicos geralmente presentes em solução do que as voltamétricas, o que pode ser extremamente importante para a análise de amostras complexas, como fluidos biológicos, com tratamento mínimo de amostra (diluição simples da amostra).

No estudo proposto foi realizado análise por voltametria de redissolução anódica para detecção do complexo ferro- trietanolamina (TEA), onde é adicionado o analito junto ao agente quelante. Neste processo ocorre complexação entre eles onde um potencial catódico é aplicado e o complexo é concentrado em torno do eletrodo de trabalho (eletrodo de carbono vítreo). Outra parte do processo ocorre quando uma faixa potencial é aplicado na direção anódica, fazendo com que o complexo ferro-trietanolamina seja dissolvido novamente para a solução (Bonfil *et al*, 2002).

2.5.2 Voltametria de onda quadrada

A voltametria de onda quadrada é uma técnica de grande amplitude, alta velocidade e sua sensibilidade é maior que outras técnicas como a técnica de pulso diferencial. Ela se inicia a partir de Kalousek e da polarografia de onda quadrada de Barker (Ruzi, 1972).

Esses polarogramas foram registrados por sobreposição uma onda quadrada com amplitude de 20 a 50 mV pico a pico na tensão da rampa de polarografia convencional (Mirceski *et al*, 2007).

Na figura 5 A mostra a modulação de potencial compreendido de uma rampa de potencial de escada combinada com pulsos de potencial em forma de quadrado. Na figura 7 B mostra, os principais parâmetros de um ciclo de potencial composto por dois pulsos vizinhos que são a altura dos pulsos (denominada amplitude SW, Esw) e a frequência SW (f), definida como f = 1 / τ, em que τ é a duração de um ciclo potencial. A taxa de varredura do experimento voltamétrico pode ser definida como v = f. ∆E, onde ∆E é o degrau da rampa da escada. (Mirceski & Gulaboski, 2014)

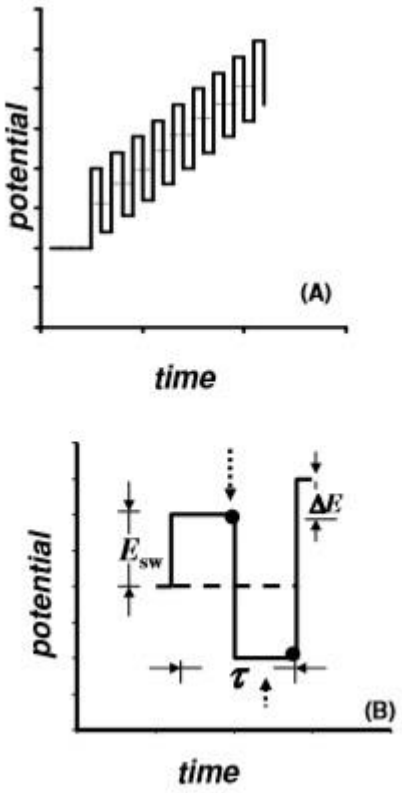

Figura 5: (A) Tempo de potencial definido por Kalousek (B) Ciclo de potencial. Fonte: Mirceski e & Gulaboski, 2014

Na voltametria de onda quadrada, um potencial na forma de impulsos quadrados simétricos é aplicada ao eletrodo e a corrente é registrada em dois pontos - um no final do pulso (causa um alto valor de oxidação da corrente)e uma no final do pulso (responsável

pelo salto na corrente de redução). O voltamograma resultante é em forma de sino e sua intensidade é proporcional à concentração doanalito.(Wang, 2006)

Na voltametria, três parâmetros são variados para otimização na resposta da corrente do voltamograma (Figura 8).

- Frequência (f): Influencia o comprimento de onda., (f = 1/τ) e na velocidade da varredura.
- Step (ΔEs) Influencia a magnitude do potencial. Ele varia no término de cada onda quadrada.
- Amplitude (Esw): que influencia na magnitude do potencial do pulso direto e inverso.

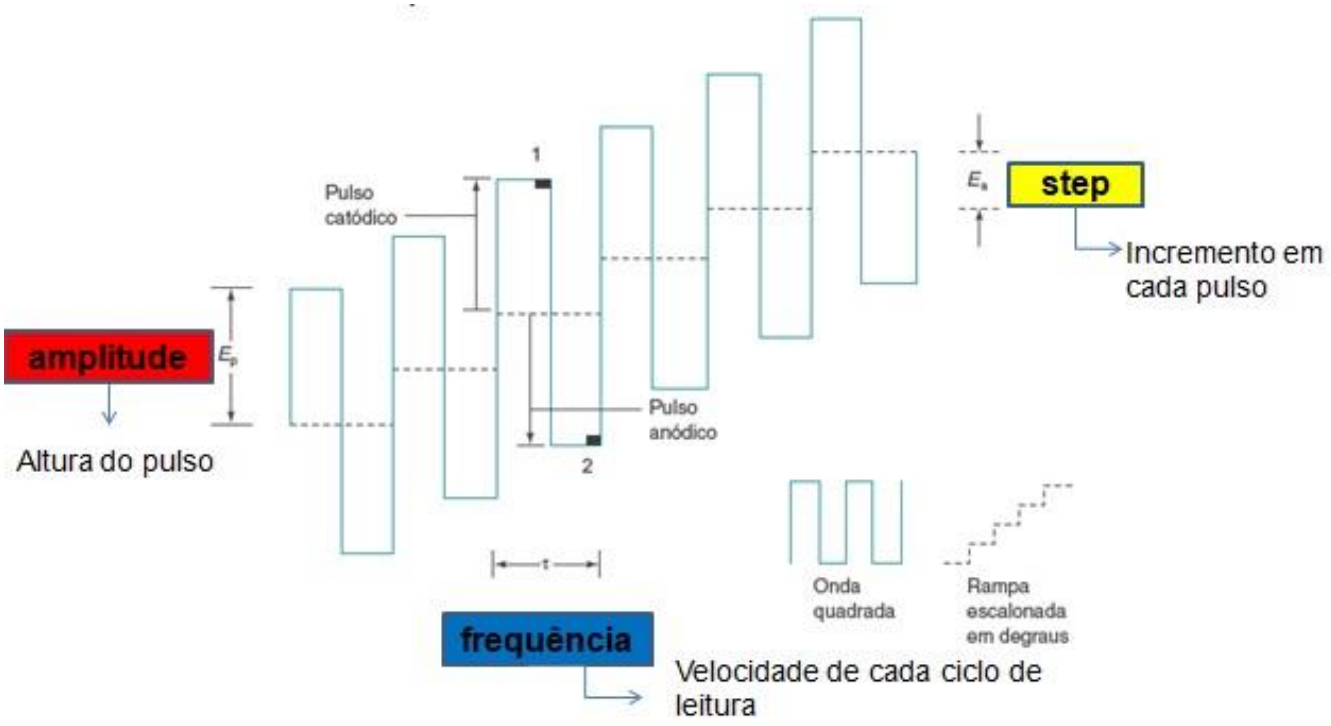

Figura 6: Relação dos parâmetros da voltametria de onda quadrada

A voltametria de onda quadrada é uma das técnicas mais sensíveis, visto que no final da aplicação do pulso a corrente medida é apenas a corrente faradaica, diferente das outras técnicas que medem também a corrente capacitiva (corrente interferente).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Quantificar o ferro bioacumulado na alga *Ulva lactuca* da localidade BES (Baía do Espírito Santo).

3.2 Objetivo específico

- Determinar a concentração de ferro no complexo de trietanolamina utilizando técnicas eletroanalíticas para avaliar quantitativamente o ferro.

- Comparar a concentração do ferro na Macroalga *Ulva lactuca* com estudos anteriores.

- Realizar otimização analítica dos parâmetros voltamétricos de onda quadrada para quantificação do ferro.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Área de estudo

Neste trabalho foi utilizado a macroalga *Ulva lactuca* presente na região litorânea do Estado do Espírito Santo nas praias Ilha do Boi, Ilha do Frade, Camburi Pier e Carapebus, entre os municípios de Vila Velha, Vitória e Serra entre as longitudes de 20º 20' 2,1'' e 20º 14' 40,9'' S. (Figura 7).

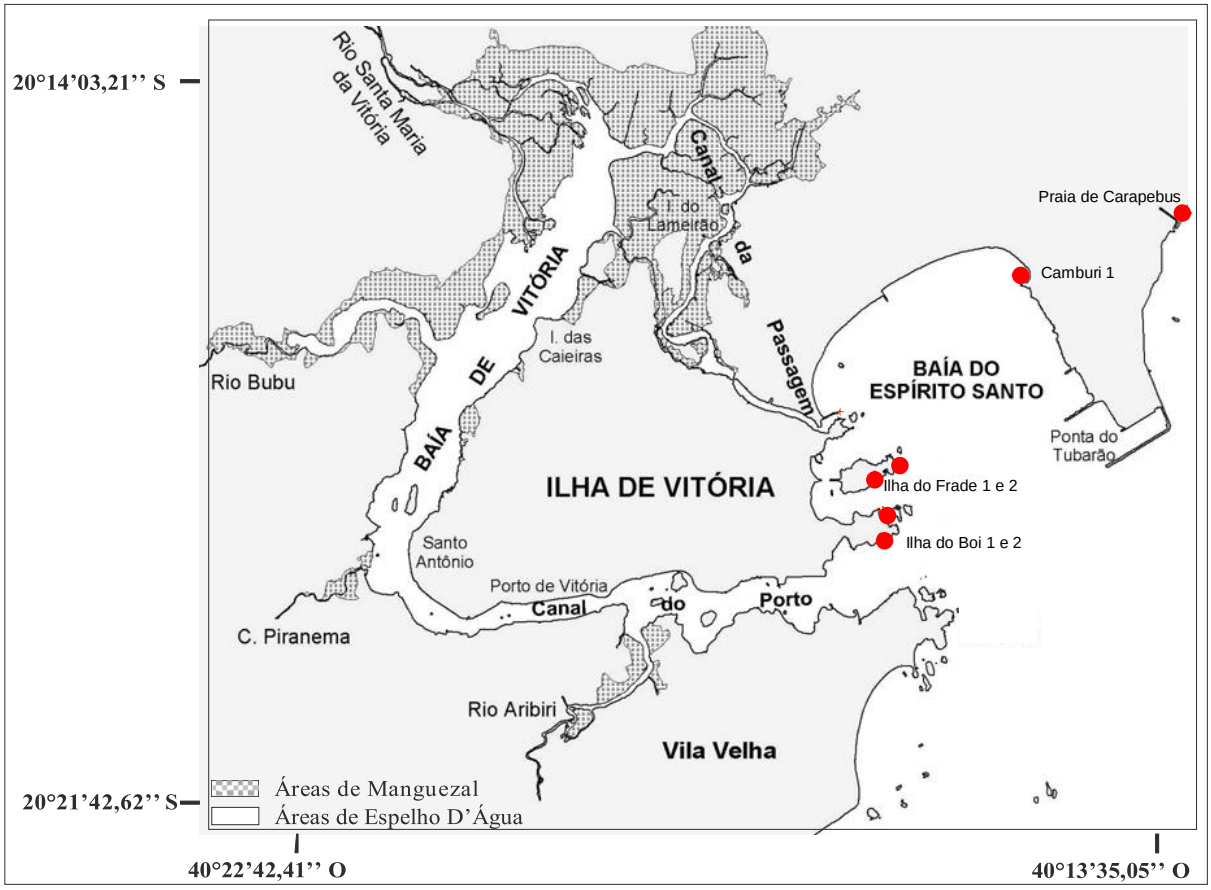

Figura 7: Mapa da Baía do Espírito Santo. Estrelas em vermelho indicam os pontos de coleta . Adaptado de Sá, 2011

A Baía do Espírito Santo (BES) está localizada no litoral próxima à portos e indústrias. Os pontos de coletas na Ilha do Boi, do Frade e Carapebus possuem costões rochosos naturais formados por gnaisse, diferente da praia de Camburi que apresenta superfície descontínua e irregular, com a presença predominante de rochas lateríticas, típicas da Formação Barreiras (Figura 8). Com a exceção de Carapebus, os demais pontos possuem influência do minério de ferro, abundante na BES (Sá, 2011). As coletas foram realizadas

em entre marés e as amostras foram coletadas no inverno de 2009 e verão de 2010.

Figura 8: Ponto de coleta das macroalgas (A- Ilha do Frade 1; B- Ilha do Frade 2; C- Ilha do Boi 1;D- Ilha do Boi 2; E- Praia de Carapebus; F- Camburi Pier 1. Fonte: Sá ,2015

Foram coletadas aproximadamente 500 g de macroalga Ulva Lactuca sp, posteriormente retiradas impurezas com a água do mar local e secas em temperatura ambiente realizados cortes histológicos para identificação da espécie (classificadas como *Ulva* sp), posteriormente foram dispostos em sacos plásticos,secas em estufa até peso constante e armazenadas. (Sá, 2011)

4.2 Limpeza de vidrarias e eletrodo de trabalho

Para não contaminar as amostras, as vidrarias utilizadas foram lavadas com detergente neutro, esponja e água, posteriormente lavadas com água destilada e imersas em solução de 3,0 mol.L^{-1} de HCl (Merck®). Após esse processo as vidrarias foram submetidas a banho ultrassônico(Q335D- QUIMIS, Brasil) na frequência de 25 kHz e potência de 120W durante quinze minutos, enxaguadas com água destilada e acopladas em potes de plástico com tampa até sua utilização.

O eletrodo de trabalho utilizado de carbono vítrio foi submetido a uma limpeza com solução de Alumina (Al_2O_3 ; 1,0 µ; Arotec), com movimento circulares sobre um pano de polimento. Após cada etapa de polimento os eletrodos foram lavados com água destilada, submetidos ao banho de Ultrassom por 5 minutos para retirada de resíduos e retornado para a célula.

A limpeza do eletrodo de trabalho foi realizado antes e após cada experimento.

4.3 Digestão das amostras

O procedimento de digestão assistida deu-se em microondas da Provecto Analítica DGT 100 plus. Foram pesadas 1 grama da alga secas e digeridas em microondas com 3,0 ml de ácido nítrico (HNO_3- 65%m/m) e 1,0 ml de peróxido de hidrogênio (H_2O_2- 30% v/v).As amostras foram acondionadas em tubo de tefllon inertes fechados.

Posteriormente, foi realizado um programa de aquecimento: 250 W durante 1 min, 0 W durante 2 min, 250 W durante 5 min, 400 W durante 5 min, e 600 W durante 5 min. (Costa, 2015)

Após a digestão as soluções foram dispostas em temperatura ambiente, transferidas para balões volumétricos de 25 ml e completo com água destilada. Posterior a esse processo, as amostras foram acondicionadas em frascos de polipropileno estéreis. Foram separadas um total de 12 amostras de macroalga seca após a sua digestão para análise. A digestão das amostras foi realizada no laboratório da NUPEM- UFRJ (Núcleo em Ecologia e Desenvolvimento Sócio- Ambiental de Macaé).

4.4 Reagentes para análise eletroanalítica

4.4.1 Ferro II Heptahidratado

Para determinação do perfil eletroquímico (curva de calibração e testes voltamétricos) foi utilizado solução padrão de Ferro II, preparada a partir do sal sulfato de ferro II heptahidratado, (FeSO4 .7 H2O), com 0,25g do sal, 500 µL de ácido nítrico (HNO_3 ; P.A.; 65%; Merck ®). O balão volumétrico foi preenchido com água deionizada a um volume final de 50 mL.

4.4.2 Solução eletrolítica

A solução eletrolítica tem como objetivo auxiliar a corrente pelo sistema eletroquímico. A solução eletrolítica composta por NaOH (NaOH; Merck ®) e NaCl (NaCl; Merck ®) foram preparadas a partir de 2,0 mol.L e 0,8 mol.L respectivamente e adicionadas em 50 mL de água deionizada cada.

4.4.3 Agente quelante

A molécula orgânica Trietanolamina (Sigma-Aldrich®) foi preparada a partir da diluição de 20 mL da solução orgânica concentrada em um balão volumétrico de 100 mL e seu volume foi completado com água deionizada.

4.4.4 Argônio

Os procedimentos eletroanalíticos são geralmente submetidos a interferências de oxigênio. As equações 3 e 4 mostram a redução eletroquímica do oxigênio ocorre pela formação de peróxido de hidrogênio e a redução do peróxido, que forma hidroxila ocasionando a precipitação dos íons metálicos. (Wotter, 2010)

$$O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O_2 \quad (3)$$

$$H_2O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow 2\ H_2O_2 \quad (4)$$

Para eliminação do Oxigênio na solução analisada é necessário a utilização de gás inerte. Esse método ocorre devido ao borbulhamento desse gás . Geralmente utiliza-se um gás inerte entre 4 a 8 minutos antes da execução do programa eletroanalítico para remoção do oxigênio**.**

Carriel & Pillis., 2014 relatam em seu estudo de técnicas voltamétricas a utilização da remoção de oxigênio da célula com argônio.

4.5 Célula Eletrolítica

A solução eletroanalítica utilizada de 2,0 mol.L^{-1} de NaOH e 0,8 mol.L^{-1} de NaCl com pH de 13,7 foi adicionada na célula eletrolítica (Figura 9) e desaerada por 5 minutos com Argônio.

Figura 9: Célula eletrolítica

4.6 Instrumentação analítica

As análises foram realizadas com o auxílio de um Potenciostato Galvanostato Autolab (Metrohn Autolab,PGSTAT128N, Holanda) com utilização do programa NOVA vinculado a um computador (Figura 10).

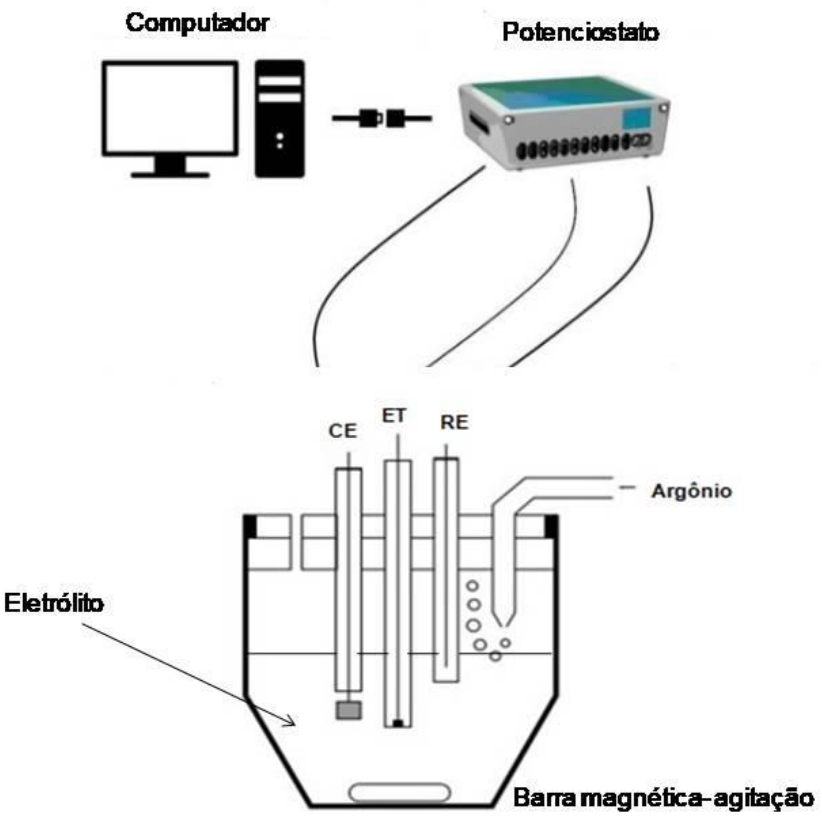

Figura 10: Sistema eletroquímico para detecção das análises. Fonte: Adaptado de Resende et al, 2017.

Os experimentos foram realizados em uma célula eletroquímica coberta com uma tampa com entrada para Argônio, eletrodo de trabalho de carbono vítreo, eletrodo de referência de calomelano e contra- eletrodo de platina. O eletrodo de trabalho utilizado para determinação do complexo Fe $^{(II)}$-amina foi o carbono vítreo com 2 mm de diâmetro que é um material inerte e condutor.

O eletrodo de referência utilizado foi o eletrodo de prata cloreto de prata Ag/AgCl saturado em uma solução de KCl 3,0 molL.O eletrodo auxiliar utilizado foi o eletrodo de platina, com área ativa de 1,0 cm^2.

4.6 Otimização dos parâmetros voltamétricos

Para definir as melhores condições de detecção de análises, é necessário definir ideais parâmetros voltamétricos. Os estudos de voltametria de onda quadrada foram realizados com variação de parâmetros de potencial de deposição, tempo de deposição, frequência (f), amplitude de pulso aplicado(E_{sw}) e step (ΔE).

Logo, neste estudo foi utilizado essas 3 variações de parâmetros testados individualmente, em triplicata e na técnica de voltametria de onda quadrada. A faixa de variação dos parâmetros voltamétricos utilizados foram :

- Frequência (Hz) – faixa de 10 a 90
- Potencial de amplitude (mV)- faixa de 10 a 200
- Potencial de step (mV)- faixa de 1 a 10

A célula eletrolítica foi composta de:

- 10 mL solução eletrolítica
- 200 uL de solução de Fe(II) (1000 $mg.L^{-1}$)
- 200 uL da amina – trietanolamina
- 200 ul da amostra de macroalga

4.7 Calibração analítica

O processo de calibração é um estágio essencial de muitas análises químicas que envolvem a previsão de uma concentração de análise a partir de uma única resposta instrumental (Prichard & Barwick, 2003).

A calibração estabelece uma relação entre o valor de um padrão (valor de referência) e a quantidade de saída (resposta do instrumento). A curva de calibração tem o objetivo de prever um valor a partir da resposta de um instrumento (Cuadros *et al*, 2001).

Para a elaboração da curva de calibração utiliza-se a equação 5 abaixo: (Brito *et al*, 2003)

$$Y = a + bx \quad (5)$$

Onde: “a” é onde ocorre a interceptação no eixo y e “b” a inclinação da reta.

A curva de calibração também indica a sensibilidade da técnica, que é identificado pelo coeficiente angular “S” do gráfico analítico, que pode ser expresso pela fórmula 5, :

$$S = \frac{dy}{dx} \quad (5)$$

Para garantir procedimentos analíticos confiáveis que sejam utilizados em condições definidas, a validação do método é de extrema importância.

Limite de detecção (LD) e limite de quantificação(LQ) são dois elementos fundamentais da validação de método que definem as limitações de um método analítico. O LD indica a menor concentração do analito a ser identificada. Para realizar o calculo do limite de detecção (Equação 6) é necessário realizar o cálculo da calibração analítica (Equação 6), O LQ indica a menor concentração do analito que pode ser quantificada na amostra. Ele pode ser identificado pela equação 7. (Shribastava, 2011)

$$LD = \frac{3.s}{S} \quad (6)$$

onde s= desvio padrão da resposta

S= coeficiente angular da curva de calibração

$$LQ = \frac{10.s}{S} \quad (7)$$

onde s= desvio padrão do sinal analítico (resposta)

S= coeficiente angular da curva de calibração

A maioria dos procedimentos analíticos envolvem regressão linear no modo de curva de calibração ou no modo de adição padrão. Esses parâmetros são de grande importância na otimização de um procedimento analítico em relação à exatidão e precisão. O método de "adição padrão" tem o objetivo de comparar a curva do analito de referência

em um solvente com a curva do mesmo analito nas amostras que deve ser quantificado. (Resta *et al*., 2012)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo os eletrólitos de suporte utilizados foram hidróxido de sódio (NaOH) e cloreto de sódio (NaCl), devido ao seu pH alcalino , pois a amina (TEA) foi trabalhada nesse pH manter-se desprotonada durante toda a quantificação e assim deixar o oxigênio livre para efetuar complexação com centros metálicos. (Figura 11). Para definição da solução suporte foi realizado estudos para identificação de efeitos eletroquímicos e ruídos. A composição das soluções suportes e seu pH estão representados na tabela 4. Estudos como o de Wen *et al* (2006) relatavam essa mesma relação entre o pH e a efetividade na complexação das aminas.

Figura 11: Esquema complexo Fe- TEA

Tabela 4: Composição química da solução suporte

Composição das soluções	**pH**
NaCl	9,5
NaOH	13,5
NaCl + NaOH	13,5

Para verificação de interferências e ruídos referente a solução suporte foi utilizado os parâmetros voltamétricos abaixo (tabela 5). Como comparação foi utilizado os parâmetros pré-fixados da Methrom.

Tabela 5: Parâmetros Voltamétricos de trabalho para análises da solução suporte

Parâmetros Voltamétricos	
Potencial Inicial (V)	-1,5
Potencial Final (V)	+1,5
Amplitude de Pulso (mV)	60
Frequência (Hz)	75
Número Step (mV)	5
Tempo de Purga (s)	300

Sabendo que a faixa de pico do Fe II é em -1,1 V , que qualquer solução de Fe II pode ser utilizada, visto que nesta faixa de trabalho não apresenta picos redox . O voltamograma da Figura 12 mostra os voltamogramas obtidos para cada solução suporte, utilizando a voltametria de redissolução anódica com pulso de onda quadrada.

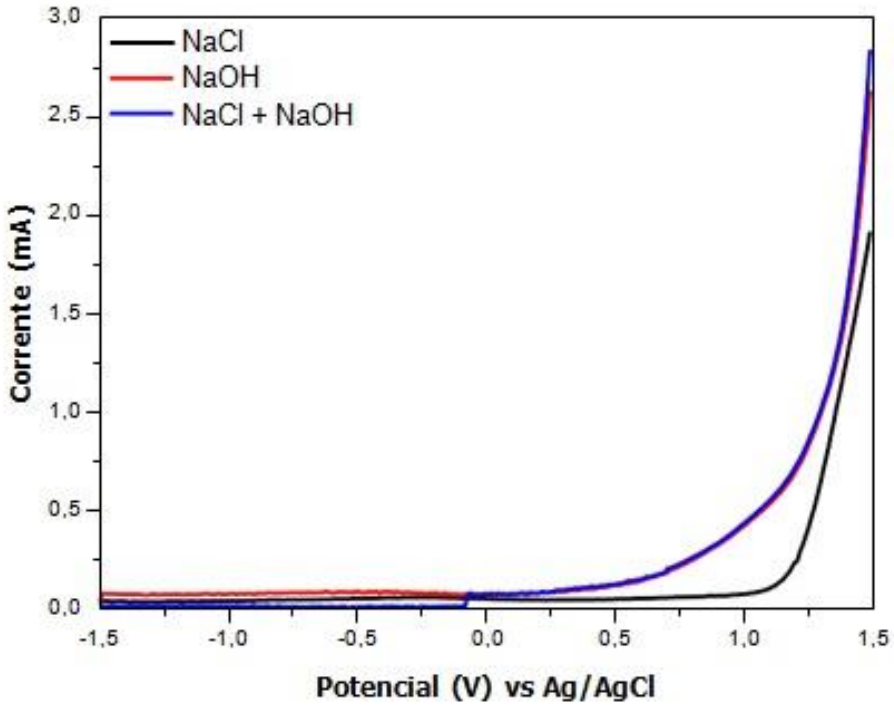

Figura 12: Voltamograma obtido contendo 1,17 mol.L-1 NaOH; 1,37 mol.L-1 NaCl e 3,0 mmol.L^{-1} TEA. Ei:-1,5 V; Ef:1,5 V; f:60 Hz; Esw:75 mV; ΔE:5 mV.

5.1 Aminas

A solubilidade do complexo Ferro $^{(II)}$ - TEA depende das concentrações de TEA e NaOH (Wen *et al* 2006). O voltamograma da Figura 13, apresenta o pico de oxidação do TEA com Ep= +0,50 V e +1,19 V. A trietanolamina apresenta um pico de oxi-redução na faixa positiva, o que explica a aplicação do complexo onde as regiões negativas não podem ser analisadas.

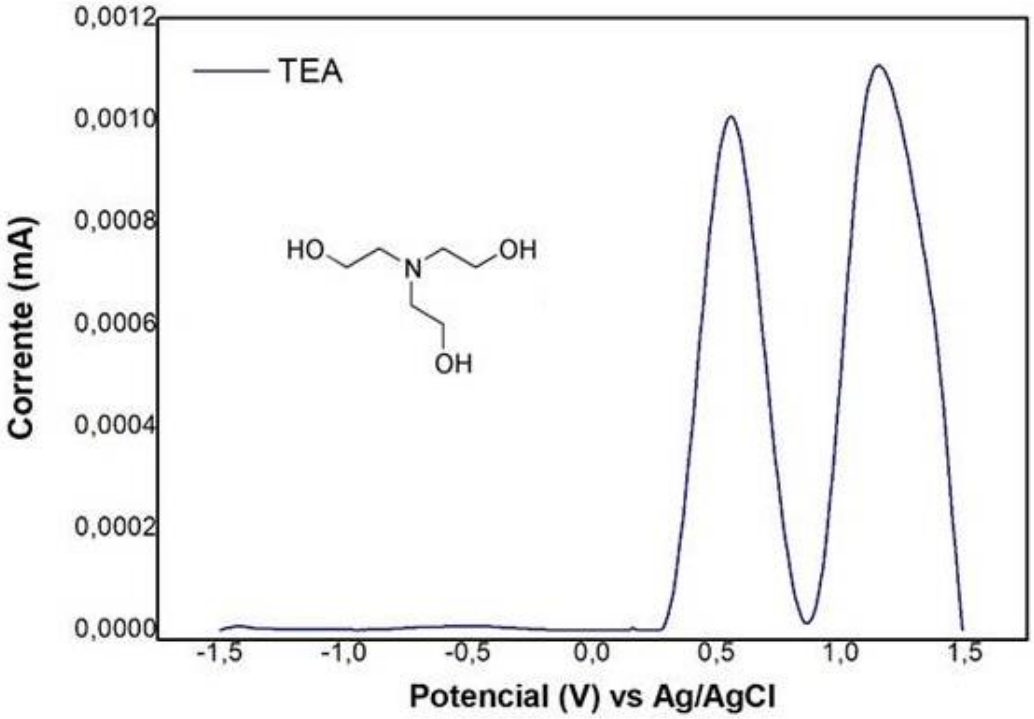

Figura 13:Voltamograma TEA (3,0 mmol.L-1); Ei:-1,5 V; Ef:1,5 V; f:60 Hz; Esw:75 mV; ΔE:5 mV.

5.2 Otimização e parâmetros Fe $^{(II/III)}$- TEA

5.2.1 Frequência

Para definição da freqüência ideal, foi analisado freqüências de 10 a 90 Hz. A freqüência analisada no complexo Fe$^{(II/III)}$-TEA de melhor resposta foi de 60 Hz, de acordo com a Figura 14 que mostrou maior corrente de pico e menor sinal de ruídos.

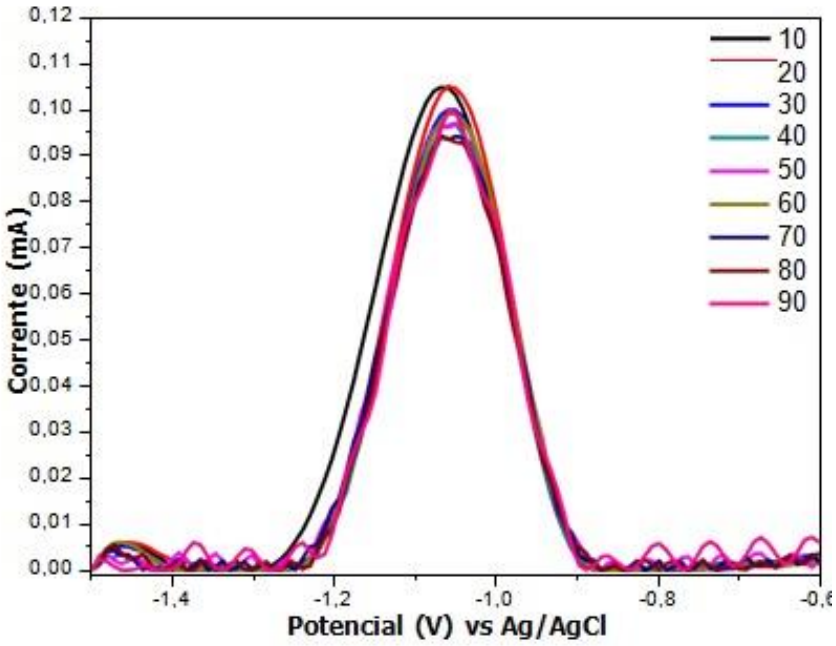

Figura 14: Variação da freqüência com *f:* 10-90 Hz; Esw: 75 mV; ΔE: 5 mV

5.2.2 Amplitude de pulso

A amplitude de 75 mV foi adotado como a mais eficiente, pois sua corrente aumentou consideravelmente (Figura 15).

De acordo com o aumento da amplitude de pulso é notável a relação com o aumento da corrente de pico (mV) .

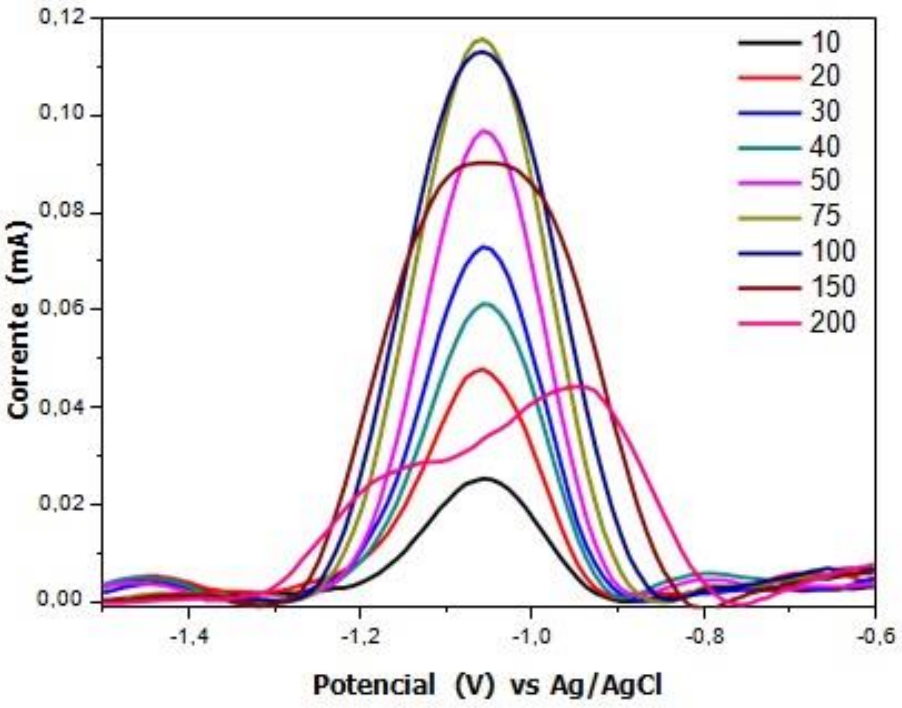

Figura 15: Variação da amplitude do complexo $Fe^{(II/III)}$- TEA. f : 60 Hz; Esw: 10-200 mV ; ΔE: 5 mV.

5.2.3 Potencial step

De acordo com a Figura 16, quanto maior o valor do step (mV), maior a corrente em todos os picos.

A variação do potencial step ocorreu de 1 a 10 mV.O valor de step escolhido para esse trabalho foi de 10 mV, por obter maior corrente de pico.

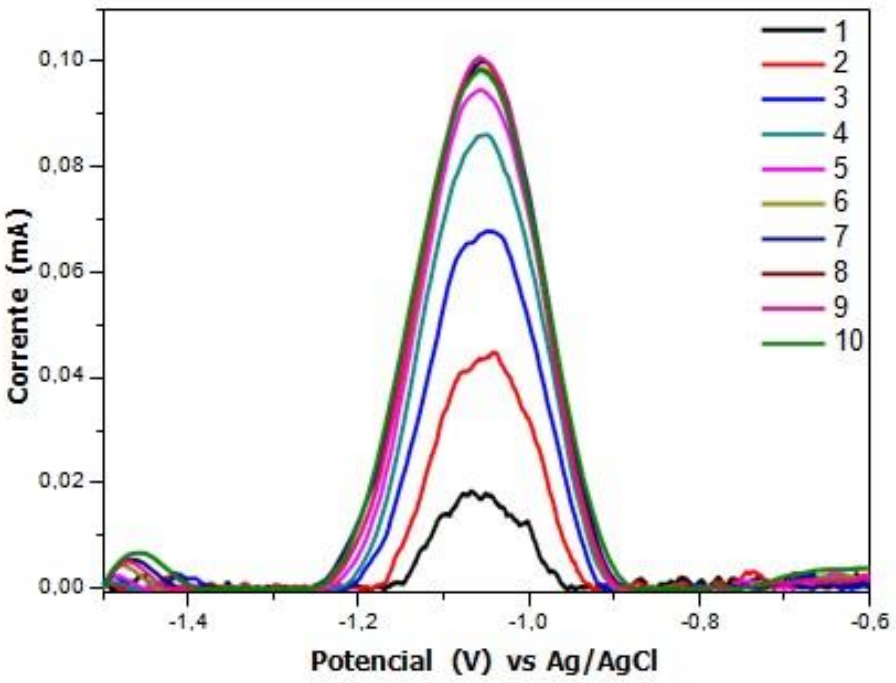

Figura 16: Variação do potencial step, do complexo Fe $^{(II/III)}$- TEA. f: 60 Hz; Esw: 75 mV; ΔE: 1-10 mV.

5.3 Curva de calibração

A curva de calibração foi construída com dez adições sucessivas de 50 µL padrão de Fe (II) (1000 mg.L^{-1}) juntamente com a solução eletrolítica e 200 uL de TEA.

A Figura 19 mostra os voltamogramas onda quadrada para o complexo Fe- TEA após adição da solução padrão na faixa de concentração 0,018 mmol.L-1 ate 1,042 mmol.L-1 .

O pico é observado na faixa de -1,1 V ; sendo que ele aumenta de forma proporcional com o aumento da solução de Fe II, ou seja a corrente de pico aumenta em função da concentração do analito acrescentado.

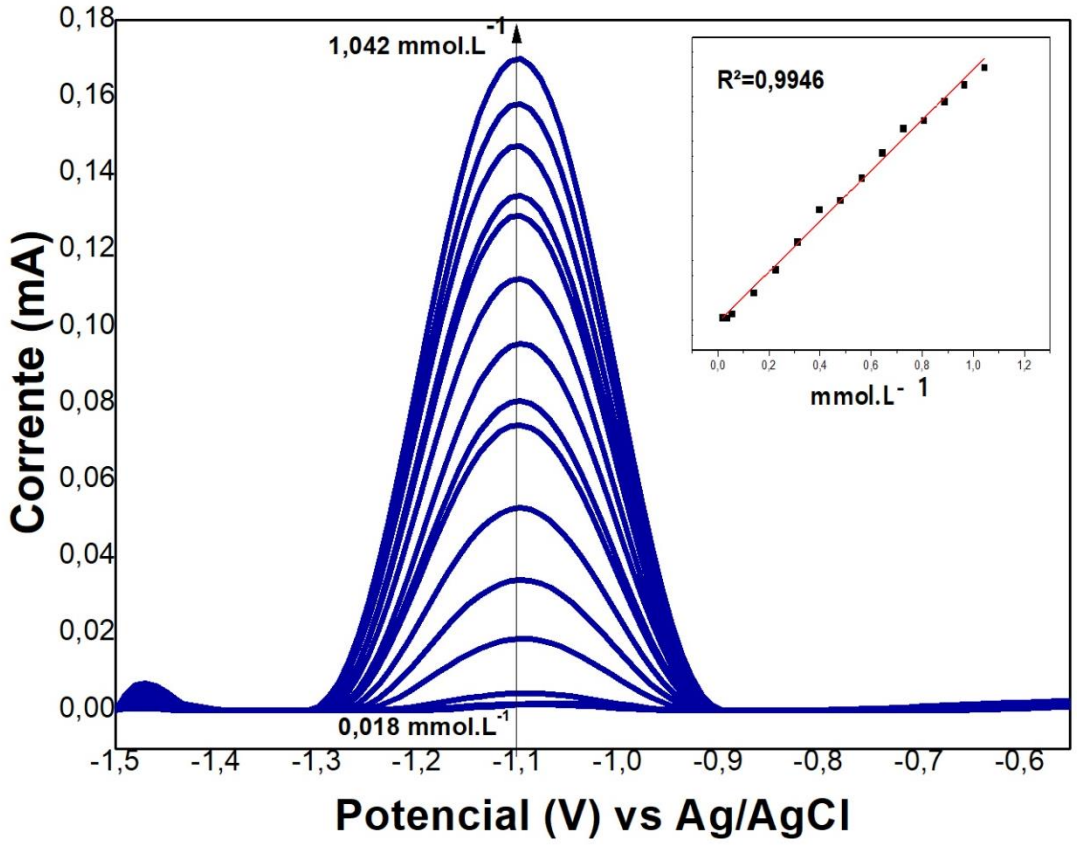

Figura 17: Curva de Calibração do complexo Fe $^{(II/III)}$ – TEA. f: 60 Hz; Esw: 75 mV; ΔE: 10 mV

Na Figura 17 é identificado linearidade no voltamograma do complexo Fe $^{(II/III)}$ – TEA, com R^2= 0,9946 tornando o pico viável para análises quantitativas. A equação 8 apresenta a equação linear de acordo com a curva de calibração:

$$\boldsymbol{Y} = 1{,}7\ x10^{-4}\mathrm{X} - \ 1{,}4\mathrm{x}\ 10^{-8} \qquad (8)$$

Onde:

5.4 Limite de detecção e quantificação

O trabalho foi realizado em triplicata com erro de até 5%. O limite de detecção e limite de quantificação (tabela 6) foram calculados de acordo com a equação (6 e 7).

Tabela 6: Resultados do desvio padrão e limites de quantificação e detecção

LQ	0,151 mmol.L^{-1}
LD	0,045 mmol. L^{-1}

5.5 Complexo Fe $^{(II/III)}$- TEA

Visto que tanto a solução suporte quanto a amina não apresentam picos redox na região de predominância do ferro, realizou-se a adição de uma alíquota de 200 μL de ferro padrão a fim de verificar o perfil voltamétrico do sistema completo. O complexo Fe $^{(II/III)}$- TEA apresentou picos em duas regiões, na negativa com -1,06 V e na positiva com 1,20 V. Entende-se que a amina TEA possui alta intensidade de corrente (Figura 18).

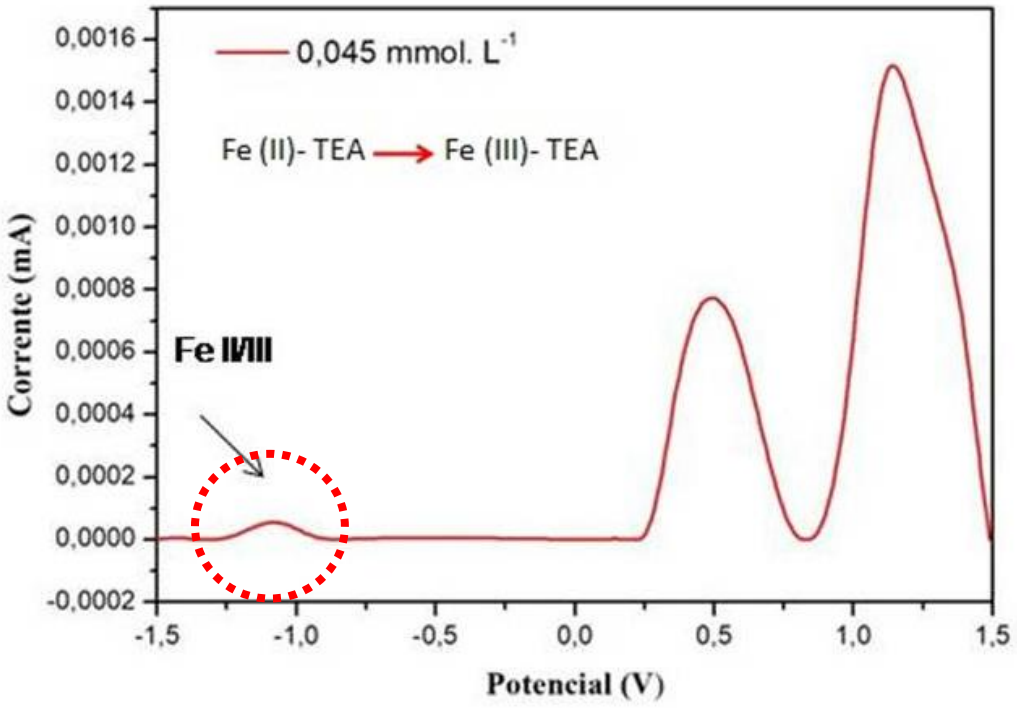

Figura 18: Complexo Fe $^{(II/III)}$- TEA

O complexo Fe II- TEA apresenta um pico de oxi-redução na faixa negativa. Segundo Wen *et al* (2006), as concentrações de saturação de complexos FeII e Fe III com TEA foram determinadas em concentração da amina que varia de 0,1M a 2 M com variadas concentrações de NaOH para ajustar o pH da solução (Tabela 7). Para este estudo foi utilizado concentração de 2,0 mol.L^{-1} de NaOH com pH de 13,5 e obtendo concentração final de ferro (II) em solução de 19,2 mg.L^{-1}.

Tabela 7: Soluções de Fe II e Fe III saturadas em concentrações distintas de TEA e NaOH .

TEA (mol/L)	NaOH (mol/L)	Fe (II)-TEA (mol/L)	NaOH(mol/L)	Fe (II)- TEA (mol/L)
0,1	-	<0,1	1	0,1
0,3	2	0,1	2	0,2
0,6	3	0,15	3	0,35
0,8	3	0,20	3	0,5
1,0	3	0,25	3	0,55
1,4	3	0,3	3	0,6
2,0	3	0,4	3	0,5

Fonte: Wen *et al* (2006)

5.6 Análises das amostras por voltametria de onda quadrada

Para análise de Ferro das amostras, foi utilizado o método de adição padrão. Para identificação dos resultados de ferro nas amostras foi utilizado a Equação 7 e substituído a corrente de pico da amostra.

Segundo o CONAMA , Resolução 357 (alterada pela resolução CONAMA n° 274/2000 E REVOGADA PELA RESOLUÇÃO CONAMA N° 357/2005) a quantidade máxima permitida para lançamento de efluentes é de 0,0054 mmol.L^{-1} . Uma vez que a Resolução do CONAMA n°20, de 18 de Junho de 1986- classificação e enquadramento de corpos d'água segundo critérios e análises químicas; no Art 8° item **j** o teor máximo de ferro é 0,0054 mmol.L^{-1}. (As concentrações de ferro (Tabela 8) foram maiores na Ilha do Boi 1, do que na Ilha do Boi 2, sendo que nas amostras do verão a quantidade de ferro nesse local possui maior concentração. Segundo Sá(2015) a salinidade da água na Ilha do Boi 1 se mantém a mesma de 35 ppm, já na ilha do Boi 2 no verão a salidade chega a 38 ppm. No trabalho de Sá(2015) o acúmulo de ferro foi maior quando a salinidade era mais baixa, embora não deve ser analisado apenas a salinidade como medida de parâmetro.

Tabela 8: Quantificação de Ferro em amostras de *Ulva lactuca* coletadas na BES.

LOCAIS	INVERNO	VERÃO
ILHA DO BOI 1	0,8278 mmol.L^{-1}	4,8635 mmol.L^{-1}
ILHA DO BOI 2	0,7514 mmol.L^{-1}	3,95 mmol.L^{-1}
ILHA DO FRADE 1	79,17 mmol.L^{-1}	0,11 mmol.L^{-1}
ILHA DO FRADE 2	< LD	1,6785 mmol.L^{-1}
CAMBURI PIER 1	0,3212 mmol.L^{-1}	6,79 mmol.L^{-1}
CARAPEBUS	< LD	1,75 mmol.L^{-1}

Fonte: Autor

Segundo Nassar e Yoneshigue-Valentin (2005) na BES, parte do fundo do mar é coberto uma camada de minério de ferro que pode ser suspensa por atividades naturais como movimento das marés, tempestades entre outros, o que pode afetar os organismos bentônicos existentes, sendo que as algas podem absorver grandes quantidades ferro, mesmo depois de algumas horas suspensas na água.

A maior concentração de ferro foi observada na Ilha do Frade 1 na coleta do inverno com 79 mmol.L^{-1}, um valor relativamente alto; porém no ponto da Ilha do Frade 2 não foi identificado minério de ferro.Camburi Pier 1 teve uma quantidade de ferro significativa no verão. A estimativa é que em Camburi a quantidade ferro seria mais elevada em comparação a outros pontos de coleta, já que são expostos a presença de minério de ferro no fundo da BES, bem como efluentes industriais localizado no Norte da Praia de Camburi. O minério acumulado no fundo da BES, ocupa também boa parte desta baía. Na praia de Carapebus apenas no verão houve a detecção de ferro, no inverno não foi detectado presença de ferro na amostra.

Em todas as amostras realizadas no verão foram detectadas ferro. A sequência de concentrações de ferro no período do VERAO : Ilha do Boi 1> Ilha do Boi 2 > Frade 2> Ilha do Frade 1>Carapebus. A sequência de concentrações de ferro no período do INVERNO: Ilha do Frade 1>Carapebus> Ilha do Boi 1> Ilha do Boi 2> Camburi > Frade 2 .

Na (Tabela 9) foi realizado um comparativo das concentrações de ferro das mesmas algas com análises em 2009/2010 e em 2020.

Tabela 9: Comparativo amostras de macroalga seca de 2020 e 2009/2010

Local	2009/2010	2020
ILHA DO BOI (inverno)	✓	
ILHA DO BOI 2 (verão)		✓
ILHA DO FRADE 1		✓
ILHA DO FRADE 1	✓	
CAMBURI PIER 1 (inverno)	✓	
CAMBURI PIER 1 (verão)		✓
CARAPEBUS (inverno)	✓	
CARAPEBUS (verão)		✓

~~A amostra da Ilha do Frade no inverno foi identificado quantidade de minério de ferro presente maior que o máximo permitido~~. Foi observado que a maioria das macroalgas que tiveram concentrações acima da Legislação eram influenciadas por indústrias e efluentes urbanos.

A contaminação dos ambientes marinhos com minério de ferro também tem relação com influências de outras áreas, como crescimento de plantas aquáticas e escoamento superficial. Segundo Nassar *et al* (2003**),** as partículas de minério de ferro reduzem o crescimento de macroalgas marinhas. Houve diferença entre a concentração do Fe II das coletas inverno e verão. Segundo Chakraborty *et al* (2014), existem vários fatores que podem afetar o acúmulo de metais nas espécies, entre eles a vida útil, superfície de contato, taxa de crescimento e afinidade específica para metais seletivos por espécie.

A técnica para análise de concentração de ferro utilizada por Sá (2015), foi o método de absorção atômica de chama com acetileno-ar. As concentrações de ferro apresentaram-se maiores em Camburi Pier 1 no inverno com 36,39 $mmol.L^{-1}$ (Tabela 10), valor maior que encontrado nesse estudo com 0,3212 $mmol.L^{-1}$. Entende-se que na praia de Camburi o despejo realizado pelas indústrias de mineração podem ter contribuido para absorção de ferro nas macroalgas, local com influência de zonas industriais. Na Ilha do Frade 1 foi detectado ferro acima do máximo permitido pela Legislação no inverno e verão com concentrações de 0,378 $mmol.L^{-1}$ e 2,69 $mmol.L^{-1}$ respectivamente; e concentração do

inverno menor que encontrado nesse estudo com valor de 79,17 mmol.L-1. Valor maior que o encontrado por Storelli *et al* (2001) na zona costeira do mar Adriático do Sul (Itália), de 7,29 mmol.L^{-1}.

Ilha do Boi 2 apresentou uma concentração acima do permitido pela Legislação tanto no inverno quanto no verão, sendo que a quantidade de ferro do verão foi menor em relação a esse estudo. No trabalho de Sá (2015), na praia de Carapebus a concentração de ferro foi detectado nas duas sazonalidades com diferenças não significativas, já neste estudo somento no verão foi detectado ferro com concentração de 1,75 mmol.L^{-1}. (Tabela 9)

Tabela 10: Valor médio de Ferro nas amostras da macroalga Ulva Lactuca na Baía do Espírito Santo

Ulva Lactuca	**Inverno**	**Verão**
ILHA DO BOI 2	3,08 mmol.L^{-1}	0,804 mmol.L^{-1}
ILHA DO FRADE 1	0,378 mmol.L^{-1}	2,69 mmol.L^{-1}
CAMBURI PIER 1	36,39 mmol.L^{-1}	4,662 mmol.L^{-1}
CARAPEBUS	1,25 mmol.L^{-1}	0,752 mmol.L^{-1}

Fonte: Sá, 2015. Adaptado:Autor

A técnica de absorção atômica com chama comparada com as técnicas voltamétricas , é uma técnica menos sensível, visto que nas técnicas eletroanalíticas existe uma baixa influência de interferentes.

6. CONCLUSÃO

No presente estudo foi possível concluir que:

- O método voltamétrico de onda quadrada é eficaz junto com o complexo Fe II- TEA, com limite de detecção de 0,045 mg. L^{-1} e de quantificação de 0,151 mg.L^{-1}, mostrando ser uma técnica simples, de baixo custo, rápido e seletivo para análises de metais pesados. Ela pode ser relevante para outros tipos de metais pesados;

- É possível determinar as concentrações de Fe (II) por voltametria através de parâmetros definidos de step, amplitude e frequência;

- As coletas realizadas em diferentes condições ambientais detectou concentração de ferro na macroalgas *Ulva sp*, mostrando que a *Ulva lactuca* é eficaz como indicadora de metais pesados, o que indica que pode ser utilizada como biomonitoramento ambiental.

- As áreas sem influência de minério de ferro também apresentaram concentrações do ferro na BES. É possivel que este impacto possa estar relacionado a lançamento de efluentes industriais, escoamento superficial, erosão.

7. PERSPECTIVAS FUTURAS

Com os limites de quantificação e detecção relativamente baixos nesse estudo, visto que a voltametria é uma técnica sensível, a perspectiva futura para esse trabalho é avaliar o comportamento eletroquímico do minério de ferro e outros metais em diferentes localidades e avaliar o crescimento de macroalgas marinhas sob a influência do minério de ferro por adsorção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

AKRAM, S., NAJAM, R., RIZWANI, G., ABBAS, S., (2015). Determination of heavy metal contents by atomic absorption spectroscopy (AAS) in some medicinal plants from Pakistani and Malaysian origin. Pakistan journal of pharmaceutical sciences.v 28. p.1781-1787.

ARAÚJO, D.C.; AYRES, A.L.G.; GIORDANO, F;. FACCINI, A.L. (2019).Levantamento de Macroalgas em comparação com a qualidade da água na Baía de Santos- São Paulo. v. 8, p. 311-325.

BARD, A. J.; ZOSKI, C. G. (2002), , v. 72, n. 364A.

BICUDO, C.E.M., MENEZES, M. As algas do Brasil. INSTITUTO DE PESQUISAS JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. Catálogo de plantas e fungos do Brasil [online]. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio: Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. p. 49-60. Vol. 1

BHATTACHARYYA, B., (2015). Chapter 2 - Electrochemical Machining: Macro to Micro. p. 25-52

BONFIL, Y.; KIROWA-EISNER, E. (2002). Determination of nanomolar concentrations of lead and cadmium by anodic-stripping voltammetry at the silver electrode. Analytica chimica acta, v. 457, n. 2, p. 285-296

BRITO, N.M.; AMARANTE JUNIOR, O.P.; POLESE, L.; RIBEIRO, M.L. Validação de métodos analíticos: Estratégia e discussão . Curitiba, v.13, p.129-146,

CABRAL, M., DE SOUZA A., MACHADO,C., MACHADO, S.A.. (2003). Estudo do comportamento eletroquímico do herbicida ametrina utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada. Eclética Química. vol.28, n.2, pp.41-47

CALADO, S.C.S. (2004). Níveis de Concentrações de Metais Pesados em Macroalgas e em Sedimentos Marinhos do Estado de Pernambuco- Brasil. Tese de Doutorado

CARRIEL, R.C, Pillis, M.F., (2014). Comportamento Voltamétrico de filmes finos de TiO_2 depositados sobre Silício. 21º CBECIMAT - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais.

CHAKRABORTY, P., RAGHUNADH.B, PEDDINTI, V., Vvss, S. (2014). A study of lead and cadmium speciation in some estuarine and coastal sediments. Chemical Geology. v 294–295.p 217–225.

CONAMA, Resolução n° 357 , de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente- CONAMA. “Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamentos de efluentes , e dá outras províncias. “, publicada no Diário Oficial da União em 18 de marõ de 2005 – REVOGADA PARA N° 430 DE 13/05/2011

CONTI, M.E. (2002) Il monitoraggio Biologico Della Qualità Ambientale, SEAM, Roma, p. 180

CONTI, M. E. (2003). A biomonitoring study: trace metals in algae and molluscs from Tyrrhenian coastal areas. Environmental Research. v.93. p. 99-112.

CUADROS- RODRIGUEZ,L., GÁMIZ-GRACIA, L., ALMANSA-LÓPEZ, E., BOSQUE-SENDRA, J. (2001). Calibration in chemical measurement processes. II. A methodological approach. TrAC Trends in Analytical Chemistry.v 20. p. 620-636.

DRAGHICI, C., COMAN, G., JELESCU, C., DIMA, C. & CHIRILA , E. (2010). Heavy metals determination in environmental and biological samples. pp.145-158

ELINDER, C. G.; FRIBERG, L., COBALT I. Cobalt.., NORDBERG, G.; VOUK, (1986) V. B. . Handbook on the toxicology of metals. 2. ed. Amsterdam: Elsevier,. cap. 9, p. 68-78

ERASMUS, T.,DE VILLIERS, A. F. (1982). Ore dust pollution and body temperature of intertidal animals. Mar. Pollut. Bull., v.13(1):30-32.

GEREMEDHIN, W., AMARE, M., ADMASSIE, S. (2013). Electrochemically pretreated glassy carbon electrode for electrochemical detection of fenitrothion in tap water and human urine. v. 87. p. 749-755.

GINEKEN, V.V, DE VRIES, E., (2018). Seaweeds as Biomonitoring System for Heavy Metal (HM) Accumulation and Contamination of Our Oceans. American Journal of Plant Sciences. v. 09. p. 1514- 1530

GODFREY, L.V., GLASS J.B., (2011). Chapter twenty-two - The Geochemical Record of the Ancient Nitrogen Cycle, Nitrogen Isotopes, and Metal Cofactors. V. 486, p. 583-506

GOYAL,

HAMEED, B.S., BHATT, C.S., NAGARAJ, B., SURESH, A.K. (2018). Chapter 19 - Chromatography as an Efficient Technique for the Separation of Diversified Nanoparticles. p. 503-518.

HILL, S.J., FISHER, A.S., 2017. Atomic Absorption, Methods and Instrumentation, Third Ediction.p. 37-43

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2010. Censo 2010 - Disponível em http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm? e Censo 2000 - Disponível em http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2000/universo.php?tipo =31o/tabela13_1.shtm&paginaatual=1&uf=32&letra=V. Acesso em 5 de janeiro de 2020.

IBRAHIM, W.M., 2011. Biosorptionof heavy metal íons from aqueous solution by red macroalgae**.** J. Hazard Mater., 192 (2011), pp. 1827-1835

IFATIMEHIN, O.O & HASSAN, A. (2016). Environmental Impacts of iron ore mining on quality of surface water and its health implication on the inhabitants of itakpe . International Journal of Current Multidisciplinary Studies.v 2. 318-321.

KLUMPP, A., ANSEL, W., KLUMPP, G., BELUZZO, N., CALATAYU, V., CHAPLIN, N., GARREC, J.P., GUTSCHE, H.-J., HAYES, M., HENTZE, H.-W., KAMBEZIDIS, H., LAURENT, O., RASMUSSEN, S., RIBAS, A., RO-POULSEN, H., ROSSI, S., SANZ, M.J., SHANG, H., SIFAKIS, N., VERGNE, P., (2002). EuroBionet: a pan-European biomonitoring network for urban air quality assessment. Environmental Science and Pollution Research 9, 199–203.

KNEPPER. W. A., (1981). Iron in : Kirk-Othmerencyclopedia of Chemical Technology. Wiley Interscience, New York, NY, Vol. 13 735-753pp

LEE, W.Y.; WANG, W.X., 2001. Metal accumulation in the green macroalga Ulva fasciata: effects of nitrate, ammonium and phosphate. The Science of the Total Environment, v. 278, p. 11-22.

LEITE, D.S.L.; MIRANDA, G.E.C. (2018). Avaliação e proposta de monitoramento do estado de conservação de ambiente recifal costeiro do Estado da Paraíba, Brasil: contribuições para gestão ambiental. v.5, p. 949-967.

LIMA, F.F.(2014). Determinação de Manganês em etanol combustível por voltametria de redissolução. Dissertação

LESTON,S., NUNES, M., VIEGAS, I., NEBOT, C., CEPEDA, A., PARDAL, M.A., RAMOS, F.(2013). The influence of sulfathiazole on the macroalgae Ulva Lactuca. Chemosphere. v. 100, p 105-110

LI,L., ZHENG, B., LIU, L. (2010) Biomonitoring and Bioindicators Used for River Ecosystems: Definitions, Approaches and Trends. v. 2. p. 1510-1524

LOBBAN, C.S.; HARRISON, P.J., (1997). Seaweed Ecology and Physiology. 2ªed. Cambridge University Press: Cambridge, 366p.

LEVINSON, R..(2000) Atomic Absorption Spectrometry. The Royal Society of Chemistry: London, UK.

MAC LACHLAN, A. 1977. Effects of ore dust pollution on the physical and chemical features, and on the meio fauna and microfauna, of a sandy beach. Zool. Afr., 12:73-88.

MCCREERY, R.. (2008). ChemInform Abstract: Advanced Carbon Electrode Materials for Molecular Electrochemistry. v 108, p. 2646–2687

MIRCESKI ,V., GULABOSKI, R.(2014). Recent achievements in square-wave voltammetry a

review. Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering. 33. 1-12.

MIRCESKI ,V., KOMORSKY-LOVRIC, S., LOVRIC, M.. (2007). Square Wave Voltammetry. Theory and Application. V. Springer.

MMA - Ministério do Meio Ambiente, 2009. Biomas brasileiros. Disponível em https://www.mma.gov.br/gestao-territorial/gerenciamento-costeiro/zona-costeira-e-seus-m%C3%BAltiplos-usos/caracteristicas-da-zona-costeira.html Acesso em 12 de fevereiro de 2020.

NASSAR, C.A.G.; SALGADO, L.T.; YONESHIGUE-VALENTIN, Y.; AMADO FILHO, G.M., 2003. The effect of iron-ore particles on the metal content of the brown alga Padina gymnospora (Espírito Santo Bay, Brazil). Environmental Pollution, v. 123, p. 301-305.

NASSAR, C.A.G.; YONESHIGUE-VALENTIN, Y., 2005. Retenção de minério de ferro particulado e suas influência na fotossíntese líquida das macroalgas. In: Reunião Brasileira de Ficologia, (2004). Salvador. Formação de Ficólogos: um compromisso com a sustentabilidade dos recursos aquáticos. Anais, Rio de Janeiro: Museu Nacional. Sociedade Brasileira de Ficologia (Série Livros, 10). p. 411-421.

NASSAR, C.A.G.; YONESHIGUE-VALENTIN, Y., (2006). Iron ore particles on four seaweed species from Camburi beach (Espírito Santo State, Brazil). Brazilian Journal of Oceanography, v. 54, n. 2/3, p. 155-159.

NOBRE, A., MAZO, L. (1997). Análise potenciométrica de redissolução com ultramicroeletrodos: fundamentos e aplicações na determinação de metais traços. Quimica Nova - QUIM NOVA. v. 20. p.10.

OIYE, E N; FIGUEIREDO, N B; ANDRADE, J F; TRISTAO H M; OLIVEIRA, M F. (2009) Voltammetric determination of cocaine in confiscated samples using a cobalto hexacyanoferrate film-modified electrode. Forensic Science International, v. 192, p. 94-97.

PRICHARD, L., BARWICK, V. (2003). Preparation of Calibration Curves A Guide to Best Practice. A guide to Best Practice.

RESENDE, C., DINIZ, A., MARTELLI, P.,BUENO, A.H (2017). Corrosion Inhibitor Efficiency Rating to Concrete in Environments Contaminated with CO2 and Chloride Ions. Revista

Virtual de Química. 9. 699-716.

RESTA, D., BRAMBILLA, F., ARNOLDI, A. (2012). HPLC-Chip-Multiple Reaction Monitoring (MRM) method for the label-free absolute quantification of γ-conglutin in lupin: Proteotypic peptides and standard addition method. v.131, p 126-133.

ROCHA, C.H.S (2015). Determinação do teor de metais pesados na água consumida no município de Chapafinha-MG. Trabalho de Conclusão de Curso

RUZI, I. (1972). J Eletroanal Chem 39:111

SÁ, A.;(2011). Macroalgas Bentônicas da Baía do Espírito Santo e Adjacências: Distribuição, concentração de metais pesados e influência do minério de Ferro particulado. Dissertação de Mestrado

SÁ, A., NASSAR, C.A.G. (2015). VI-224 – Cobertura de Macroalgas em Diferentes Substratos: Subsídios para estudos Ambientais. Congresso Brasileiro de Engenharia Ambiental e Sanitária.

SEOANE, R.G, FERNÁNDEZ, J., VILLARES, R., ABOAL, J. (2017). Use of macroalgae to biomonitor pollutants in coastal waters: Optimization of the methodology. Ecological Indicators. V.84. p. 710-726

SEOANE, R.G, ABOAL, J., FERNÁNDEZ, J., BOQUETE., M.T. (2018). Biomonitoring coastal environments with transplanted macroalgae: A metodology review. V.135. p. 988-999

SHRIBASTAVA, A. (2011). Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. Chronicles of Young Scientists.v 2. p. 21-25.

SOUZA, A.A.; COCENTINO, A.L.M.; REIS, T.N.V. (2006)Macroalgas como indicadoras de qualidade ambiental na praia de Boa Viagem- Pernambuco- Brasil. Boletim Técnico – Científico do CEPENE, v. 14, n.2, p.25-33

STORELLI, M. M.; STORELLI, A.; MARCOTRIGIANO, G. O (2001). Heavy Metals in the aquatic environmental ofthe Southern Adriatic Sea, Italy Macroalgae, Sediments and Benthic Species.Environ. Intern. v. 26, p. 505-509.

TAN, I. H., BLOMSTER, J., HANSEN, G., LESKINEN, E., MAGGS, C. A., MANN, D. G., et al. (1999). Molecular phylogenetic evidence for a reversible morphogenetic switch controlling the gross morphology of two common genera of green seaweeds, Ulva and Enteromorpha. Mol. Biol. E v. 16, p. 1011–1018

TONIETTO, A.E., GRASSI, M.T. (2012). Análise de especiação de cobre e zinco empregando voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial. V 35 n 1

TORRES, M., BARROS, M., CAMPOS, S., PINTO, E., RAJAMANI, S., SAYRE, R., COLEPICOLO, P. (2008). Biochemical biomarkers in algae and marine pollution: a review. Ecotoxicology and Environmental Safety, v 71, p 1–15.

VANHAECKE , F., BALCAEN, L., DECONINK, I., SCHRIJVER, I.D., ALMEIDA, C.M., MOENS, L. (2003). Mass Discrimination in dinamyc reaction cell (DRC)-ICP-mass spectrometry. J. Anal. At. Spectrom**.** v.1**8**, 1060-1065

VASCONCELOS, B., GONÇALVES, A.A. (2013). Macroalgas e seus usos – alternativas para as indústrias brasileiras. Revista Verde.v 8. p. 125-140.

WANG, J. Analytical Electrochemistry- Third Edition, 2006

WANG, J, TIAN, B.M., WANG, J.Y., LU, J.M., OLSEN, C., YARNITZKY, C., OLSEN, K., HAMMERSTROM, D., BENNETT, W. (1999). Stripping analysis into 21st century. Faster, smaller, cheaper, simpler and better. Analytica Chimica Acta. 1999 , Vol. 385, pp. 429-435

WEN, Y. H, ZHANG, H.M., QIAN, P., ZHOU, H.T., ZHAO,P., YI, B.L., YANG, Y.S (2006). A study of the Fe (III)/Fe (II)–triethanolamine complex redox couple for redox flow battery application. Electrochimica Acta, v. 51, n. 18, p. 3769-3775

WOTTER, S.E.T (2010). Desenvolvimento e validação de método voltamétrico para determinação de ferro e sua especiação química em água intersticial no sedimento da lagoa dos Patos-RS. Dissertação de Mestrado

YAN, A., KILEY, P.J., 2009. Chapter 42 Techniques to Isolate O_2- Sensitive Proteins: [4Fe-4s]-FRN as an Exemple. v.463, p. 787-805

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E.(2008), Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações. 2. ed. São Paulo: Rima, 2008. 472 p.

ZENG, X., X. CHEN, ZHUANG, J. (2015). “The Positive Relationship between Ocean Acidification and Pollution.” *Marine Pollution Bulletin* 91: p. 14–21.

ZHAO, Y., FENG C., WANG, Q., YANG Y., ZHANG Z., SUGIURA N. (2011). Nitrate removal from groundwater by cooperating heterotrophic with autotrophic denitrification in a biofilm-electrode reactor. J. Hazard. Mater. V. 192. p. 1033-1039.

ZHOU, Q., ZHANG, J., FU, J., SHI, J., JIANG, G., (2008). Biomonitoring: an appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. Anal. Chim. Acta 606 (2),135–150.