



**FURG**

**Dissertação de Mestrado**

**AVALIAÇÃO DE ESPONJAS DE QUITOSANA COMO  
ADSORVENTES NA  $\mu$ -dSPE PARA DETERMINAÇÃO DE  
FERRO EM CERVEJA POR HR-CS F AAS**

---

**Kaiane de Quevedo Ribeiro**

**PPGQTA**

**Rio Grande, RS - Brasil**

**2025**

**AVALIAÇÃO DE ESPONJAS DE QUITOSANA COMO  
ADSORVENTES NA  $\mu$ -dSPE PARA DETERMINAÇÃO DE  
FERRO EM CERVEJA POR HR-CS F AAS**

**por**

**KAIANE DE QUEVEDO RIBEIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental da Universidade Federal do Rio Grande (RS), como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA TECNOLÓGICA E AMBIENTAL.

PPGQTA

Rio Grande, RS - Brasil

2025

## Ficha Catalográfica

R484a Ribeiro, Kaiane de Quevedo.

Avaliação de esponjas de quitosana como adsorventes na  $\mu$ -dSPE para determinação de ferro em cerveja por HR-CS F AAS / Kaiane de Quevedo Ribeiro. – 2025.

xvii, 105 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Mestrado em Química Tecnológica e Ambiental, Rio Grande/RS, 2025.

Orientador: Dr. Bruno Meira Soares.

Coorientador: Dr. Tito Roberto Sant'Anna Cadaval Junior.

1. Esponja de quitosana. 2. Ferro. 3. Cerveja. 4.  $\mu$ -dSPE. I. Soares, Bruno Meira. II. Cadaval Junior, Tito Roberto Sant'Anna. III. Título.

CDU 544.723:663.4

Catálogo na Fonte: Bibliotecária Sabrina Vaz da Silva CRB 10/2243

**Universidade Federal do Rio Grande - FURG  
Escola de Química e Alimentos  
Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e  
Ambiental**

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

**Avaliação de esponjas de quitosana como adsorventes na  $\mu$ -dSPE para  
determinação de ferro em cerveja por HR-CS F AAS**

Elaborada por

**Kaiane de Quevedo Ribeiro**

Como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química Tecnológica  
e Ambiental

**Comissão Examinadora**

Documento assinado digitalmente



**BRUNO MEIRA SOARES**  
Data: 06/03/2025 02:08:58-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Prof. Dr. Bruno Meira Soares (FURG)  
(Presidente-Orientador)**

Documento assinado digitalmente



**CEZAR AUGUSTO BIZZI**  
Data: 06/03/2025 11:37:35-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Prof. Dr. Cezar Augusto Bizzi (UFSM)**

Documento assinado digitalmente



**ELIEZER QUADRO ORESTE**  
Data: 06/03/2025 13:04:56-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Prof. Dr. Eliézer Quadro Oreste (FURG)**

Documento assinado digitalmente



**TITO ROBERTO SANT ANNA CADAVAL JUNIOR**  
Data: 06/03/2025 15:17:03-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

**Prof. Dr. Tito Roberto Sant'Anna Cadaval Junior (FURG)**

Rio Grande, 27 de fevereiro de 2025.

## AGRADECIMENTOS

---

---

Agradeço primeiramente a minha família, em especial aos meus pais, Jenize e Marcio, por todo amor, carinho, confiança, auxílio, e por me apoiarem tanto a seguir meus sonhos. Por todo o incentivo para nunca desistir mesmo com as dificuldades que encontramos pela frente. Vocês sempre serão a minha luz para seguir em frente.

Ao meu irmão, Murilo, por sempre estar do meu lado, perguntar como estão sendo meus dias e por ser meu ouvinte dos finais de semana mesmo jogando videogame. Sua positividade me alegra e contigo vejo as coisas como elas são, sempre boas.

A Universidade Federal do Rio Grande (FURG) pela oportunidade de aprendizado durante o período do mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho com a bolsa de estudos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental (PPGQTA) e aos órgãos de fomento, pela oportunidade de executar este trabalho e participação no programa.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Bruno Meira Soares, primeiramente pela oportunidade e por ter me recebido de braços abertos quando cheguei a FURG e no grupo de pesquisa, aceitando ser meu orientador neste desafio que é o mestrado. Por depositar confiança em mim no desenvolvimento deste trabalho, compartilhando seus conhecimentos com total paciência e compreensão, me fazendo entender cada ponto importante do trabalho. Além de sempre me tranquilizar, dizendo que vai dar tudo certo e seguimos em frente!

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Tito Roberto Sant'Anna Cadaval Junior, por disponibilizar o Laboratório de Tecnologia Industrial (LTI) e os materiais necessários a fim de desenvolver o biomaterial empregado neste trabalho. Além de compartilhar seus conhecimentos e enriquecer ainda mais o estudo.

Aos Prof. Dr. Eliézer Quadro Oreste e Prof. Dr. Cezar Augusto Bizzi por fazerem parte da banca examinadora e contribuir para o aperfeiçoamento do trabalho. E a Profa. Dra. Karina Lotz Soares pela participação na banca examinadora durante a qualificação, seus conhecimentos também foram cruciais para a finalização do trabalho.

Ao meu namorado, Anderson Santos Simões, pelo seu amor, carinho, paciência e compreensão nos momentos difíceis. Obrigada por me acolher em todos os momentos, me apoiar e me motivar todos os dias para seguir em frente e lutar pelos meus sonhos.

A Ana Claudia Beduhn Luckow, Lisliane Kickofel, Maiara Helena de Melo Malinowsk, Lisliane Kickofel, Enilin de Mendonça de Azevedo, Ana Luísa Queiroz Silva Santos e Luanne Ramos Lima que fazem parte do Grupo de Estudos em Preparo de Amostras e Espectrometria (GEPAE), do qual também faço parte. Agradeço a amizade, ajuda e por todo o apoio oferecido durante a execução deste trabalho. Além de todas os conhecimentos compartilhados e acima de tudo as conversas e risadas que tive com todas, a fim de amenizar todo o estresse dos dias corridos e seguirmos em frente.

Agradeço novamente a Ana Claudia Beduhn Luckow, por se disponibilizar a compartilhar seus conhecimentos para a visão crítica tanto deste trabalho quanto do artigo, seus apontamentos foram cruciais para minha evolução.

Ao Centro Integrado de Análises (CIA) e ao Centro de Microscopia Eletrônica do Sul (CEME-Sul) pelo espaço concedido para a realização das análises e às colaborações para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Dr. Diego da Costa Cabreira, Dra. Roseane D' Avila e ao Prof. Dr. Jean Lucas de Oliveira Arias por me receberem no CIA e estarem a disposição sempre compartilhando seus conhecimentos. Além do acompanhamento durante as análises das caracterizações da quitosana, estando comigo e me explicando tudo nos mínimos detalhes.

Ao Laboratório de Tecnologia Industrial (LTI) pela parceria, oportunidade e disponibilidade de todos os materiais necessários para a produção da quitosana, além

de poder ter acompanhado todos os passos para a produção, enriquecendo minha bagagem de conhecimentos em uma área que fico feliz de ter explorado.

A Keli Arruda da Silva, pela amizade, por ter me recebido no LTI, por estar sempre a disposição para compartilhar seus conhecimentos comigo e por ter me ajudado tanto com conceitos físico-químicos. Meus mais sinceros agradecimentos.

Ao Laboratório de Análises de Compostos Orgânicos e Metais (LACOM) pela parceria e pela oportunidade de utilizar o espaço para a realização de parte dos experimentos deste trabalho. Agradecimento especial a Dr<sup>a</sup>. Sergiane Caldas Barbosa, por sempre me receber bem e me ajudar.

A Yasmin Ribeiro Bloedorn e ao Willian do Espirito Santo Rodrigues, por serem os melhores amigos que eu poderia ter em minha vida. Obrigado por aguentarem minhas alegrias e minhas tristezas durante todos esses anos de amizade. A amizade e o apoio de vocês foram cruciais para a minha evolução pessoal e a motivação contribuiu para a minha evolução profissional.

Por fim, a todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho e estiveram comigo durante esses dois anos de evolução acadêmica, os meus sinceros agradecimentos.

## SUMÁRIO

---

---

<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	<b>xiii</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS</b> .....	<b>xiv</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>xvii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xviii</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>5</b>
<b>2.1. Objetivo Geral</b> .....	<b>5</b>
<b>2.2. Objetivos Específicos</b> .....	<b>5</b>
<b>3. Revisão da literatura</b> .....	<b>6</b>
<b>3.1. Cerveja: Produção e composição química</b> .....	<b>6</b>
<b>3.2. Íons metálicos em cerveja</b> .....	<b>9</b>
<b>3.3. Métodos analíticos para determinação elementar em cervejas</b> .....	<b>11</b>
3.3.1. Técnicas de determinação.....	11
3.3.1.1. Espectrometria de absorção atômica com atomização por chama.....	12
3.3.1.2. Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua	12
3.3.2. Métodos de preparo de amostra.....	14
<b>3.4. Microextração em fase sólida dispersiva</b> .....	<b>21</b>
3.4.1. A $\mu$ -dSPE e a Química Verde .....	24
3.4.2. Aplicações da $\mu$ -dSPE .....	25
<b>3.5. Quitosana</b> .....	<b>29</b>
3.5.1. Fonte e processo de obtenção .....	29
3.5.2. Propriedades físico-químicas .....	33
<b>3.6. Esponja de Quitosana</b> .....	<b>34</b>
<b>3.7. Aplicações da Quitosana em Química Analítica</b> .....	<b>37</b>
<b>4. Materiais e métodos</b> .....	<b>47</b>
<b>4.1. Instrumentação</b> .....	<b>47</b>
<b>4.2. Reagentes</b> .....	<b>48</b>
<b>4.3. Amostras</b> .....	<b>49</b>
<b>4.4. Pré tratamento das amostras</b> .....	<b>49</b>

<b>4.5. Obtenção das esponjas de quitosana</b> .....	<b>49</b>
4.5.1. Extração da quitina .....	49
4.5.2. Pré tratamento dos resíduos .....	50
4.5.3. Desacetilação da quitina.....	50
4.5.4. Purificação da quitosana .....	50
4.5.5. Secagem .....	51
4.5.6. Preparação das esponjas de quitosana.....	51
<b>4.6. Caracterização da Quitosana</b> .....	<b>53</b>
4.6.1. Espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR .....	53
4.6.2. Ressonância Magnética Nuclear – RMN .....	53
<b>4.7. Caracterização da Esponja de Quitosana</b> .....	<b>54</b>
4.7.1. Análise Termogravimétrica – TGA.....	54
4.7.2. Calorimetria Exploratória Diferencial – DSC.....	54
4.7.3. Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV .....	54
4.7.4. Espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR .....	55
<b>4.8. Procedimento da <math>\mu</math>-dSPE</b> .....	<b>55</b>
<b>4.9. Determinação de Fe por HR-CS F AAS</b> .....	<b>55</b>
<b>4.10. Fluxograma dos procedimentos empregados</b> .....	<b>56</b>
<b>4.11. Infraestrutura</b> .....	<b>57</b>
<b>4.12. Análise estatística</b> .....	<b>57</b>
<b>4.13. Performance analítica</b> .....	<b>57</b>
4.13.1. Limite de detecção e quantificação.....	58
4.13.2. Linearidade.....	58
4.13.3. Exatidão e precisão .....	59
<b>4.14. Tratamento de resíduos</b> .....	<b>59</b>
<b>5. Resultados e discussões</b> .....	<b>60</b>
<b>5.1. Caracterização da quitosana</b> .....	<b>60</b>
5.1.1. Ressonância Magnética Nuclear – RMN .....	60
<b>5.2. Caracterização da Esponja de Quitosana</b> .....	<b>61</b>
5.2.1. Análise Termogravimétrica - TGA.....	61
5.2.2. Calorimetria Exploratória Diferencial – DSC.....	62
5.2.3. Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV .....	63

5.2.4. Espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR .....	65
<b>5.3. Avaliação dos parâmetros da <math>\mu</math>-dSPE .....</b>	<b>66</b>
5.3.1. pH .....	66
5.3.2. Concentração da solução extratora .....	69
5.3.3. Volume da solução extratora .....	71
5.3.4. Massa de adsorvente .....	75
<b>5.4. Performance analítica .....</b>	<b>76</b>
5.4.1. Linearidade.....	76
5.4.2. Limite de detecção e quantificação .....	77
5.4.3. Exatidão e precisão .....	78
<b>5.5. Métrica AGREE .....</b>	<b>79</b>
<b>6. Conclusões.....</b>	<b>82</b>
<b>7. Referências bibliográficas.....</b>	<b>83</b>

## LISTA DE FIGURAS

---



---

Figura 1 – Processo de produção da cerveja. ....	7
Figura 2 – Principais componentes de um instrumento HR-CS AAS. ....	13
Figura 3 – Esquema da dSPE. ....	21
Figura 4 – Tipos de estrutura de adsorventes utilizados na dSPE. ....	23
Figura 5 – Esquema da $\mu$ -dSPE. ....	24
Figura 6 – Número de publicações de 2000 a 2024 sobre a $\mu$ -dSPE. ....	26
Figura 7 – Estrutura da quitina e da quitosana a partir da desacetilação da quitina. ....	30
Figura 8 – Etapas do processo de obtenção da quitina. ....	31
Figura 9 – Etapas do processo de obtenção da quitosana. ....	32
Figura 10 – Estrutura da quitosana reticulada com glutaraldeído. ....	35
Figura 11 – Estruturas químicas da quitosana (CS), glutaraldeído (GA), zeólita (Z), funcionalizado com ácido etilenodiaminotetracético (CS-EDTA) e funcionalizado com ácido dietilenotriaminopentacético (CS-DTPA). ....	37
Figura 12 – Técnicas de determinação elementar utilizando quitosana como adsorvente em análise inorgânica. ....	43
Figura 13 – Métodos de preparação de amostras utilizando quitosana como adsorvente em análises inorgânicas. ....	44
Figura 14 – Espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS) utilizado para as determinações. ....	47
Figura 15 – Quitosana em solução de ácido acético 1% (v/v) para posterior dissolução. ....	52
Figura 16 – Hidrogel de quitosana. ....	52
Figura 17 – Esponjas de quitosana. ....	53
Figura 18 – Fluxograma das etapas de desenvolvimento do trabalho. ....	56
Figura 19 – Espectro de RMN. ....	60
Figura 20 – Análise termogravimétrica de esponjas de quitosana. ....	62
Figura 21 – Perfil de DSC da esponja de quitosana. ....	63
Figura 22 – Imagens de MEV da esponja de quitosana funcionalizada com glutaraldeído, ampliada em x30 (A) e x50 (B). ....	64

Figura 23 – Imagem de MEV da esponja de quitosana funcionalizada com glutaraldeído.....	65
Figura 24 – Espectros de FTIR: (a) quitosana e (b) quitosana reticulada com glutaraldeído.....	66
Figura 25 – Efeito do pH da amostra para extração de Fe. As barras de erros representam o desvio padrão (n=3). ....	67
Figura 26 – Protonação da quitosana em meio ácido. ....	68
Figura 27 – Efeito da concentração de HNO <sub>3</sub> para extração de Fe. As barras de erros representam o desvio padrão (n=3). ....	70
Figura 28 – Etapa do processo de dessorção. Onde: 0,01 mol L <sup>-1</sup> (A) 0,05 mol L <sup>-1</sup> (B) 0,1 mol L <sup>-1</sup> (C) 0,5 mol L <sup>-1</sup> (D) 1 mol L <sup>-1</sup> (E) e 2 mol L <sup>-1</sup> (F).....	71
Figura 29 – Efeito do volume de HNO <sub>3</sub> para extração de Fe. As barras de erros representam o desvio padrão (n=3). ....	72
Figura 30 – Etapa de adsorção, onde (A) Microtubo Eppendorf com quitosana e (B) Microtubo Eppendorf com adição da amostra. ....	73
Figura 31 – Etapa de dessorção (A) após o descarte do sobrenadante e (B) com a adição da solução extratora. ....	74
Figura 32 – Efeito da massa de adsorvente para extração de Fe. As barras de erros representam o desvio padrão (n=3). ....	75
Figura 33 – Curva de calibração externa. ....	77
Figura 34 – Pictogramas obtidos pelo software AGREE para o método proposto $\mu$ -dSPE/HR-CS F AAS (A) e os métodos da literatura empregando MAD/ICP OES (B) e DLLME/F AAS (C). ....	80

## LISTA DE TABELAS

---

---

Tabela 1 – Principais estilos de cerveja Lager e Ale. ....	8
Tabela 2 – Estudos sobre a determinação elementar em cervejas. ....	18
Tabela 3 – Trabalhos empregando a $\mu$ -dSPE. ....	27
Tabela 4 – Pesquisa utilizando quitosana como adsorvente na preparação de amostras para análise inorgânica. ....	39
Tabela 5 – Amostras de cerveja utilizadas no desenvolvimento do trabalho. ....	49
Tabela 6 – Condições instrumentais empregadas nas determinações de Fe por HR-CS F AAS. ....	56
Tabela 7 – Valores de LOD e LOQ do método para o método proposto $\mu$ -dSPE/HR-CS F AAS (valores em $\text{mg L}^{-1}$ ). ....	78
Tabela 8 – Concentrações de Fe obtidas por HR-CS F AAS (após $\mu$ -dSPE) nas amostras de cerveja e após os ensaios de recuperação (resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão, em $\text{mg L}^{-1}$ , n = 3). ....	78

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

---

---

$\mu$ -dSPE, Microextração em fase sólida dispersiva, do inglês *Dispersive Solid-Phase Microextraction*

CCD, Dispositivo de carga acoplada, do inglês *Charge-Coupled Device*

CV-AAS, Espectrometria de absorção atômica por vapor químico, do inglês *Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry*

DAD, Detecção por arranjo de diodos, do inglês *Diode Array Detection*

DLLME, Microextração líquido-líquido dispersiva, do inglês *Dispersive Liquid-Liquid Microextraction*

DPV, Voltametria de pulso diferencial, do inglês *Differential Pulse Voltammetry*

DSC, Calorimetria exploratória diferencial, do inglês *Differential Scanning Calorimetry*

dSPE, Extração em fase sólida dispersiva, do inglês *Dispersive Solid-Phase Extraction*

ET AAS, Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica, do inglês *Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry*

F AAS, Espectrometria de absorção atômica com chama, do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*

FTIR, Espectroscopia na região do infravermelho com a Transformada de Fourier, do inglês *Spectroscopy in the Infrared Region with the Fourier Transform*

GAC, Química Analítica Verde, do inglês *Green Analytical Chemistry*

GF AAS, Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, do inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*

HG AAS, Espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos, do inglês *Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry*

HPLC, Cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*

HR-CS AAS, Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua, do inglês *High-Resolution Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry*

ICP OES, Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*

ICP-MS, Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês *Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry*

LC-UV, Cromatografia a líquido com detecção por ultravioleta, do inglês *liquid chromatography-ultraviolet detection*

LIBS, Espectroscopia de emissão óptica induzida por laser, do inglês *Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*.

LLE, Extração líquido-líquido, do inglês *Liquid-Liquid Extraction*

LOD, Limite de detecção, do inglês *Limit of detection*

LOQ, Limite de quantificação, do inglês *Limit of quantification*

LS-AAS, Espectrometria de absorção atômica com fonte de linhas, do inglês *Line Source Atomic Absorption Spectrometry*

MAD, Decomposição assistida por micro-ondas, do inglês *Microwave-Assisted Digestion*

MDSPE, Extração sólida em fase dispersiva magnética, do inglês *Magnetic Dispersive Solid-Phase Extraction*

MEV, Microscopia eletrônica de varredura

MIP OES, Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas, do inglês *Microwave-Induced Plasma Optical Emission Spectrometry*

MS, Espectrometria de massas, do inglês *Mass Spectrometry*

MSPE, Extração magnética em fase sólida, do inglês *Magnetic Solid Phase Extraction*

pH, Potencial Hidrogeniônico

PP, Polipropileno, do inglês *Polypropylene*

QuEChERS, Rápido, Fácil, Barato, Eficiente, Robusto e Seguro, do inglês *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe*

RMN, Ressonância magnética nuclear, do inglês *Nuclear Magnetic Resonance*

RP-DLLME, Microextração líquido-líquido dispersiva em fase reversa, do inglês *Reverse Phase-Dispersive Liquid-Liquid Extraction*

SEM, Microscopia eletrônica de varredura, do inglês *Scanning Electron Microscopy*

SPE, Extração em fase sólida, do inglês *Solid-Phase Extraction*

SPME, Microextração em fase sólida, do inglês *Solid-Phase Microextraction*

SQT-F AAS, Espectrometria de absorção atômica com chama com tubo de quartzo com fenda, do inglês *Slotted Quartz Tube Flame Atomic Absorption Spectroscopy*

TGA, Análise termogravimétrica, do inglês *Thermogravimetric Analysis*

TS-FF-AAS, Espectrometria de absorção atômica com chama com termospray, do inglês *Thermal Spray Flame Atomic Absorption Spectrometry*

UV, Ultravioleta, do inglês *Ultraviolet*

XRF, Espectrometria de fluorescência de raios X, do inglês *X Ray*, do inglês *Fluorescence Spectrometry*

## RESUMO

---

---

### **Título: Avaliação de esponjas de quitosana como adsorventes na $\mu$ -dSPE para determinação de ferro em cerveja por HR-CS F AAS**

Autora: Kaiane de Quevedo Ribeiro

Orientador: Prof. Dr. Bruno Meira Soares

Neste estudo, foi proposto pela primeira vez, um método analítico empregando a microextração em fase sólida dispersiva ( $\mu$ -dSPE) com esponjas de quitosana reticulada com glutaraldeído como adsorventes para a extração e pré-concentração de Fe em cerveja para posterior determinação por espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua com atomização por chama (HR-CS F AAS). Os principais parâmetros da  $\mu$ -dSPE foram investigados e as condições selecionadas foram 30 mg de adsorvente (esponja de quitosana), amostra em pH 4 e 800  $\mu$ L de HNO<sub>3</sub> 1 mol L<sup>-1</sup>. O método se mostrou linear entre 0,5 e 23 mg L<sup>-1</sup> (curva de calibração externa) e os valores de LOD (Limite de Detecção) e LOQ (Limite de Quantificação) foram 0,28 e 0,92 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. Adicionalmente, também foram realizados ensaios de recuperação em três níveis. As recuperações referentes aos ensaios de recuperação variaram entre 87 e 120%. As concentrações encontradas nas diferentes amostras de cerveja variaram de 0,66 a 1,41 mg L<sup>-1</sup>. A aplicação da métrica AGREE revelou um score de 0,7, evidenciando que o método proposto está de acordo com boa parte dos princípios da Química Analítica Verde (GAC), os quais foram comparados com métodos da literatura que realizaram a determinação de Fe em cerveja empregando MAD/ICP OES e DLLME/F AAS, os quais revelaram scores de 0,54 e 0,56, respectivamente. Portanto, o método proposto mostrou-se eficiente para a determinação de ferro em cerveja, apresentando vantagens como rapidez, simplicidade, emprego de materiais de fontes renováveis, miniaturização, redução na geração de resíduos e segurança ao operador.

Palavras-chave:  $\mu$ -dSPE, esponja de quitosana, ferro, cerveja.

## ABSTRACT

---

---

### **Title: Evaluation of chitosan sponges as adsorbents in $\mu$ -dSPE for determination of iron in beer by HR-CS F AAS**

Author: Kaiane de Quevedo Ribeiro

Advisor: Prof. Dr. Bruno Meira Soares

In this study, an analytical method was proposed for the first time employing dispersive solid-phase microextraction ( $\mu$ -dSPE) with cellularized chitosan sponges with glutaraldehyde as adsorbents for the extraction and pre-concentration of Fe in beer for subsequent determination by high-resolution atomic absorption spectrometry with continuous source with flame atomization (HR-CS F AAS). The main parameters of  $\mu$ -dSPE were investigated and the selected conditions were 30 mg of adsorbent (chitosan sponge), sample at pH 4 and 800  $\mu$ L of  $\text{HNO}_3$  1 mol  $\text{L}^{-1}$ . The method was linear between 0.5 and 23 mg  $\text{L}^{-1}$  (external calibration curve) and the values of LOD (Limit of Detection) and LOQ (Limit of Quantification) were 0.28 and 0.92 mg  $\text{L}^{-1}$ , respectively. In addition, recovery tests were also carried out at three levels. The recoveries related to the recovery trials ranged from 87 to 120%. The concentrations found in the different beer samples were from 0.66 to 1.41 mg  $\text{L}^{-1}$ . The application of the AGREE metric revealed a score of 0.7, showing that the proposed method is in accordance with most of the principles of Green Analytical Chemistry (GAC), which were compared with methods in the literature that performed the determination of Fe in beer using MAD/ICP OES and DLLME/F AAS that revealed scores of 0.54 and 0.56, respectively. Therefore, the proposed method proved to be efficient for the determination of iron in beer, presenting advantages such as speed, simplicity, use of materials from renewable sources, miniaturization, waste generation and safety to the operator.

Keywords:  $\mu$ -dSPE, chitosan sponge, iron, beer.

# 1. INTRODUÇÃO

---

---

A cerveja está entre as bebidas mais consumidas mundialmente, depois da água, café, chá e leite, sendo a primeira entre as bebidas alcoólicas. A sua produção se dá a partir da fermentação alcoólica de cereais, tendo como principais matérias-primas a água, cevada, lúpulo e o malte, podendo ser combinados com diversos outros suplementos, como aveia, açúcares, arroz, trigo, milho e centeio (ANDERSON *et al.*, 2019). A partir da combinação e transformação dessas matérias-primas, podem ser produzidos diversos tipos de cervejas, como a Pilsen, Lager, Ale, Pale Ale, Stout, Porter, Belgian Ale, Brown, Bock, Munchner, entre outras (BORGES *et al.*, 2015; PIRES *et al.*, 2020).

Com a crescente produção e consumo de cerveja pela população, empreendedores têm percebido a necessidade de inovação na produção com estratégias diferenciadas. Porém, mesmo com as melhorias tecnológicas nas indústrias cervejeiras, ainda é possível encontrar contaminantes nas cervejas, os quais podem ter origem a partir de diversos fatores (ANDERSON *et al.*, 2019). Uma fonte importante é o solo, onde suas matérias primas (especialmente os cereais e o lúpulo) são diretamente cultivadas, ou através do próprio processamento da cerveja, incluindo etapas desde a pulverização até a inclusão de produtos químicos que podem estar presentes no processo de fermentação, onde podem ser encontrados alguns metais ou contaminantes (PIRES *et al.*, 2020). Esses contaminantes em bebidas podem ser derivados de diversos processos mecânicos na Indústria, os quais são realizados por máquinas que geralmente são feitas de partes metálicas e com o passar do tempo ocorre o desgaste desses instrumentos. Além disso, o armazenamento do produto em tanques metálicos, assim como o envase em latas podem causar contaminação nos produtos (ANDERSON *et al.*, 2019).

Dessa forma, é importante que seja realizado um controle de qualidade rigoroso durante a produção da cerveja, a fim de assegurar que não apresente contaminantes que possam prejudicar a saúde do consumidor, incluindo elementos metálicos, pois podem ser acumulados no corpo humano gerando diversos problemas para a saúde (ROSA *et al.*, 2015). Além disso, a presença de metais na cerveja pode afetar suas características e propriedades, como o pH, sabor, cor e teor alcoólico. Mudanças no

processo de fabricação como o tempo e temperatura nas etapas de fermentação, maturação e o uso de ingredientes diferenciados como trigo, milho, centeio e arroz também são fatores que podem alterar as características da cerveja (ANDERSON *et al.*, 2019).

O ferro (Fe) é um dos elementos essenciais que está presente em inúmeros alimentos, porém em elevadas concentrações (5 - 2000 mg L<sup>-1</sup>) pode ser preocupante, visto que pode provocar o envelhecimento da cerveja, ocorrendo a catálise das reações químicas e formando espécies reativas de oxigênio, como O<sub>2</sub><sup>-</sup>, OOH•, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e OH• (POHL, 2008). Essas espécies, também chamadas de radicais livres, podem oxidar os compostos orgânicos que contribuem com as características do sabor, cor e com a qualidade da espuma da cerveja (POHL, 2008; GONZÁLEZ-SANJOSÉ *et al.*, 2017). Portanto, é interessante que seja feito uma análise química a fim de determinar a concentração de Fe em cervejas para o controle de qualidade.

Para realizar uma análise química da cerveja objetivando a determinação elementar, técnicas como a espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS, do inglês *flame atomic absorption spectrometry*), a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS, do inglês *grafite furnace atomic absorption spectrometry*), a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES, do inglês *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*), a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS, do inglês *inductively coupled plasma mass spectrometry*) e as técnicas voltamétricas têm sido empregadas (PIRES *et al.*, 2020; WELNA *et al.*, 2023; ALJOHANI *et al.*, 2024; SECO *et al.*, 2024). No entanto, a maioria das possibilidades envolvendo estas técnicas, exigem que as amostras sejam introduzidas nos instrumentos na forma de solução, preferencialmente, com a mínima presença da matriz para minimizar problemas de interferências na etapa de determinação elementar (PEREIRA *et al.*, 2018; BONEMANN *et al.*, 2021). Portanto, um eficiente preparo de amostras é de fundamental importância.

Os métodos de preparo de amostras mais empregados em amostras de alimentos ou bebidas são os baseados na decomposição das amostras, especialmente por via úmida em sistemas abertos com aquecimento convencional ou em sistemas fechados a partir do uso de decomposições assistidas por micro-ondas (MAD, do inglês *microwave-assisted digestion*) (PIRES *et al.*, 2020; CHEN *et al.*,

2024). No entanto, estes métodos podem ser morosos, proporcionar a perda dos analitos por volatilização (no caso dos sistemas abertos) e demandar instrumentação de custo relativamente elevado (como no caso do uso de fornos micro-ondas) (NEMATÍ *et al.*, 2010; KRUG, 2019).

Como alternativa para o preparo de amostras visando a quantificação de elementos traço em amostras de alimentos e bebidas (na forma líquida), tem-se o emprego de métodos baseados na extração dos analitos empregando ou não uma etapa de pré-concentração (PELEGRÍN *et al.*, 2020). Na literatura, são relatadas algumas alternativas como extração líquido-líquido (LLE, do inglês *liquid-liquid extraction*) (HOUZAR *et al.*, 2024), extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid-phase extraction*) (CAO *et al.*, 2023), extração em fase sólida dispersiva (dSPE, do inglês *dispersive solid-phase extraction*) (DEMIR *et al.*, 2021), microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME, do inglês *dispersive liquid-liquid microextraction*) (SECO *et al.*, 2024), microextração líquido-líquido dispersiva de fase reversa (RP-DLLME, do inglês *reverse phase-dispersive liquid-liquid microextraction*) (KALSCHNE *et al.*, 2020), entre outras. Esses métodos apresentam vantagens como simples operação, baixo custo, rapidez e uma menor geração de resíduos. A dSPE é uma derivação da SPE, a qual utiliza um material adsorvente com afinidade pelos analitos em estudo, que é adicionado em uma amostra líquida. Após agitação e centrifugação, descarta-se o sobrenadante e faz-se a dessorção dos analitos em solução adequada, na maioria das vezes incluindo pré-concentração (FERNÁNDEZ *et al.*, 2016; SOCAS-RODRÍGUEZ *et al.*, 2015). Nos casos em que pequenas massas (na ordem de mg) de adsorvente têm sido utilizadas, os autores têm utilizado a nomenclatura de microextração em fase sólida dispersiva ( $\mu$ -dSPE, do inglês *dispersive solid-phase microextraction*) (AKKAYA *et al.*, 2019; ARAIN *et al.*, 2023).

A  $\mu$ -dSPE vem avançando significativamente com o desenvolvimento de estudos que exploram materiais alternativos, como adsorventes provenientes de fontes renováveis, os quais oferecem maior seletividade, eficiência e sustentabilidade ao processo de extração. A quitosana é um biopolímero produzido a partir da desacetilação da quitina, a qual pode ser extraída principalmente de exoesqueletos de crustáceos. Possui baixa toxicidade, é biodegradável e possui alta capacidade de adsorção. Além disso, pode se ligar a vários íons metálicos e ser facilmente modificada por meio químico ou processos físicos para a formação de filmes,

esponjas, hidrogel magnético, entre outros (ALVES *et al.*, 2021). O uso de esponjas de quitosana demonstra interesse científico, visto que sua reticulação permite diminuir a solubilidade da quitosana em meio ácido, permitindo assim, o seu emprego do ponto de vista analítico na  $\mu$ -dSPE para a determinação elementar. Portanto, este trabalho tem como objetivo avaliar, de forma inédita, esponjas de quitosana como adsorventes na  $\mu$ -dSPE para posterior determinação de Fe em amostras de cerveja por espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua com atomização por chama (HR-CS F AAS, do inglês *high resolution-continuum source flame atomic absorption spectrometry*).

## 2. OBJETIVOS

---

### 2.1. Objetivo Geral

Avaliar esponjas de quitosana como adsorventes na  $\mu$ -dSPE para posterior determinação de Fe em amostras de cerveja por HR-CS F AAS.

### 2.2. Objetivos Específicos

- Produzir as esponjas de quitosana empregando: *i*) extração da quitina (a partir de carapaças de camarão); *ii*) desacetilação da quitina (para obter a quitosana) e *iii*) reticulação da quitosana com glutaraldeído (para obter as esponjas);
- Caracterizar a quitosana empregando as técnicas de espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR, do inglês *spectroscopy in the infrared region with the Fourier Transform*) e ressonância magnética nuclear (RMN, do inglês *nuclear magnetic resonance*);
- Caracterizar as esponjas de quitosana empregando as técnicas análise termogravimétrica (TGA, do inglês *thermogravimetric analysis*), calorimetria de varredura diferencial (DSC, do inglês *differential scanning calorimetry*), microscopia eletrônica de varredura (SEM, do inglês *scanning electron microscopy*) e espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR, do inglês *spectroscopy in the infrared region with the Fourier Transform*);
- Avaliar os principais parâmetros da  $\mu$ -dSPE (pH, volume e concentração de solução extratora e massa de adsorvente);
- Avaliar a performance analítica, aplicando os principais parâmetros de mérito do método desenvolvido (LOD, LOQ, linearidade, exatidão e precisão);
- Aplicar o método desenvolvido em diferentes tipos e marcas de cerveja; e
- Aplicar as métricas AGREE para avaliar se o método proposto atende aos princípios da GAC.

## 3. REVISÃO DA LITERATURA

---

### 3.1. Cerveja: Produção e composição química

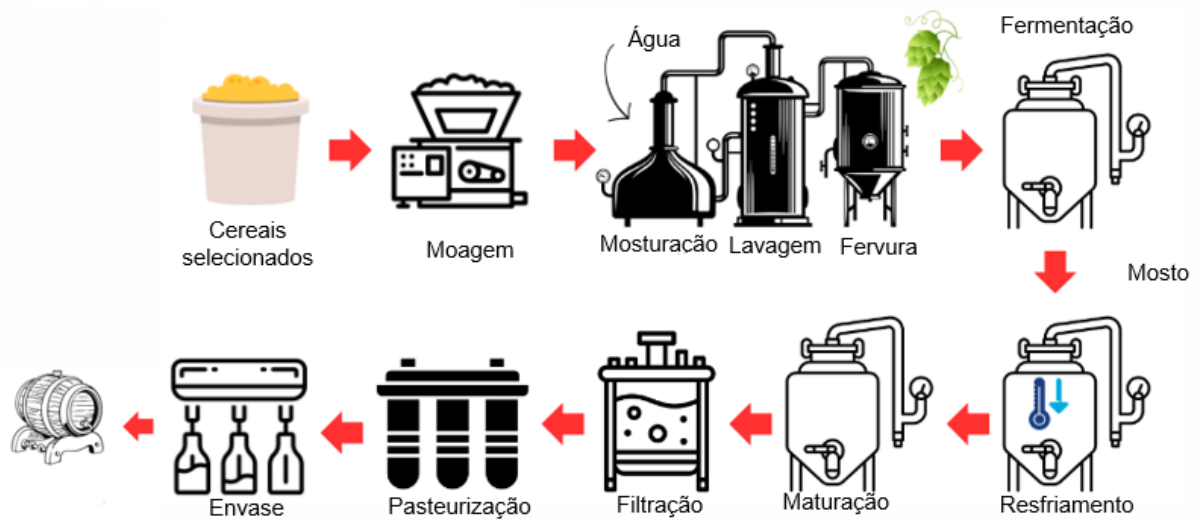
A cerveja é uma das bebidas mais consumidas mundialmente, sua produção é baseada em quatro ingredientes tradicionais na indústria cervejeira, sendo eles: água, cevada, lúpulo e leveduras (BORGES *et al.*, 2015). Sua produção ocorre a partir da fermentação alcoólica de cereais, porém nem todos os cereais servem para a produção, pois precisam ter características específicas, onde os cereais mais utilizados são: cevada, trigo, aveia, arroz e milho (MORADO, 2009). O teor de proteína, a taxa de gordura, o rendimento de extração e a capacidade de germinação são características importantes para decidir quais cereais serão utilizados para a produção. A cevada é o cereal base para a produção da cerveja, visto que é rica em amido e contém uma enzima chamada amilase, a qual atua na conversão de amido em açúcar. Além disso, é um cereal de custo relativamente menor e mais fácil de maltar que outros cereais (MORADO, 2009; SILVEIRA *et al.*, 2022).

Como definição, a cerveja é uma bebida fermentada a base de amido e aromatizada com lúpulo. A partir dos ingredientes tradicionais são desenvolvidos diversos tipos de cervejas, tanto industriais, como artesanais (MORADO, 2009; PIRES *et al.*, 2020). A mistura de diversas opções de malte com outros cereais depende da disponibilidade e custo da matéria-prima. O arroz e o milho são utilizados em diversos tipos de cerveja a fim de reduzir seu custo e proporcionar diferentes estilos de cerveja. Os parâmetros importantes escolhidos pelas indústrias cervejeiras para garantir um bom produto são: seleção dos cereais, combinação de espécies de leveduras, escolha do lúpulo para a aromatização, propriedades físico-químicas da água utilizada no processo, filtragem, temperatura e tempo de fermentação (MORADO, 2009).

A produção da cerveja, como ilustrado na Figura 1, é iniciada na germinação por meio da hidratação dos cereais selecionados por tamanho, teor de proteína e umidade. Durante o processo de germinação podem ser adicionados adjuntos moídos, caso seja necessário. Os adjuntos são fontes de carboidratos, além da cevada, como o arroz e milho, os quais podem ser utilizados para o produto ter um

custo menor ou para produzir um tipo específico de cerveja (PIRES *et al.*, 2020). A cerveja apresenta cerca de 90% de água em sua composição, portanto, é de extrema importância a qualidade da água utilizada durante o processo, visto que deve ser isenta de turbidez, apresentar pH controlado para favorecer a atuação das enzimas e das leveduras durante a fermentação, além de possuir sais minerais, como Ca, Fe, K, Mg, Na, P e Zn (ROSA *et al.*, 2015; PIRES *et al.*, 2020; SECO *et al.*, 2024).

Figura 1 – Processo de produção da cerveja.



Fonte: Própria autora.

No processo de fermentação, a mistura de todos os cereais utilizados é aquecida e são produzidas enzimas que transformam o amido presente nos grãos em açúcares, como maltose e glicose. Posteriormente, o cereal germinado é seco ou torrado e é chamado de malte, que devido à quebra do amido em açúcares, possui sabor adocicado. O produto resultante da fermentação é chamado de mosto (SECO, 2023).

Durante a fermentação, o mosto (caldo) que contém os grãos maltados, lúpulo e leveduras irão produzir etanol e dióxido de carbono, ésteres, fenóis e ácidos orgânicos (MORADO, 2009; SECO *et al.*, 2024). O mosto contém também oxigênio, que será utilizado pela levedura como nutriente para sua multiplicação. Outros nutrientes importantes que estão presentes no mosto são aminoácidos e alguns sais minerais. Nesta etapa, uma variedade de compostos é formada, como subprodutos do metabolismo da levedura. Os fatores mais importantes para que ocorra uma

fermentação eficaz são: temperatura, contrapressão (pressão do ar dentro do tanque), escolha adequada da levedura e sua quantidade (MORADO, 2009; PIRES *et al.*, 2020).

A partir do processo de fermentação, as cervejas são classificadas nos seguintes tipos: Lager (baixa fermentação) e Ale (alta fermentação) (LAGO, 2021). As cervejas do tipo Lager são as mais popularizadas, fermentadas por leveduras em temperaturas baixas (9-15 °C) durante 7 a 10 dias. As cervejas do tipo Ale são fermentadas em temperaturas altas (15-25 °C) durante 3 a 5 dias. No final do processo de fermentação, a levedura flocula, sedimentando (Lager) ou flutuando (Ale), dependendo da faixa de temperatura. Posteriormente, a mistura é então armazenada em tanques adequados, podendo ser utilizada para fermentações posteriores, desde que mantida a qualidade microbiológica (MORADO, 2009; FERREIRA *et al.*, 2010). Os principais estilos de cerveja Lager e Ale estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Principais estilos de cerveja Lager e Ale.

Tipo de Cerveja	Estilos de cerveja
Lager	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pilsen</li> <li>• American Lager</li> <li>• Bock</li> </ul>
Ale	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Belgian Ale</li> <li>• Brown Ale</li> <li>• Pale Ale</li> <li>• India Pale Ale (IPA)</li> </ul>

Após o processo de fermentação, inicia-se o processo de maturação, onde as leveduras remanescentes metabolizam os carboidratos ainda presentes na cerveja e outras substâncias indesejáveis resultantes da fermentação. O produto pode ser filtrado ou passar por uma etapa de carbonatação, para ser pasteurizado (ROSA, 2015; PIRES *et al.*, 2020).

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e o Sindicato Nacional da Indústria da Cerveja (Sindicerv), o Brasil é o 3º maior produtor de cerveja do mundo, atrás da China e dos Estados Unidos, com cerca de 16,1 bilhões de litros de cerveja comercializados e um crescimento de 4,5% em relação a 2022. O tipo de cerveja mais produzido e consumido mundialmente, principalmente no Brasil, é a do tipo Pilsen, que possui pouco lúpulo, baixa fermentação e baixo teor alcoólico comparado às cervejas de outros tipos (MAPA, 2024).

Do ponto de vista nutricional, a cerveja é composta predominantemente por água, 6% de extrato residual, 0,5% de CO<sub>2</sub> e de aproximadamente 8% de teor alcoólico (KEUKELERIE, 2000; ROSA *et al.*, 2015). Sua composição química apresenta inúmeros compostos inorgânicos e orgânicos. Os principais compostos inorgânicos que podem estar presentes na cerveja são: sulfatos, cloretos, nitritos e nitratos. Porém, em altas concentrações podem favorecer a corrosão dos tanques de armazenamento do produto e influenciar na fermentação (ROSA, 2015; COELHO NETO *et al.*, 2020). Os compostos orgânicos presentes na cerveja são provenientes da matéria-prima ou são formados durante a produção, como nas atividades enzimáticas ou durante a fermentação. Os compostos orgânicos que podem estar presentes na cerveja são: aminoácidos, carboidratos, flavonoides, proteínas, polifenóis, vitaminas do complexo B (B1, B2), entre outros (SANCHEZ *et al.*, 2010; COELHO NETO *et al.*, 2020).

### **3.2. Íons metálicos em cerveja**

A cerveja é uma bebida preparada a partir de fermentação alcoólica, onde são adicionados vários ingredientes naturais utilizados na fabricação, como água, cereais, cevada, entre outros, os quais são as principais fontes endógenas de metais na bebida. O teor depende da qualidade desses componentes, do tipo de cerveja e do seu país de origem, dependendo do processo de fabricação (BORGES *et al.*, 2015; PIRES *et al.*, 2020).

Os metais presentes na cerveja podem ser essenciais ou potencialmente tóxicos para o corpo humano e em altas concentrações podem comprometer os processos de fermentação e a qualidade da cerveja, influenciando no sabor. A presença de metais pode ocorrer devido a contaminação dos equipamentos dos

processos de fabricação, como tubulações, recipientes e tanques, onde a cerveja é fermentada, filtrada, gaseificada e embalada, bem como onde o produto é armazenado e transportado, geralmente em barris, latas ou garrafas (POHL, 2008; PASSAGUE *et al.*, 2015).

A deterioração dos recipientes onde são armazenados os produtos pode levar a um aumento nas concentrações de Al, Co, Cr, Cu, Fe e Ni, visto que esses elementos migram facilmente para a cerveja (POHL, 2008). No caso do Al, a contaminação é referente ao tempo de armazenamento, visto que quanto maior o tempo, maiores serão as concentrações de metais que podem ser encontrados na bebida. Em relação às bebidas que são envasadas em latas, além do tempo de armazenamento em tanques nas indústrias, quanto maior a temperatura do ambiente em que ela se encontra, maior é a taxa de corrosão da lata e conseqüentemente ocorre o acúmulo de metais (POHL, 2008; PIRES *et al.*, 2020).

A presença de metais na cerveja influencia principalmente o processo de produção. O malte é o principal responsável pela maior parte dos íons metálicos na cerveja, seguido do lúpulo e da água utilizada no processo de fabricação (WIETSTOCK *et al.*, 2015; SILVEIRA, 2023). A presença de metais como Fe, Cu, Mn, Ni e Zn ocorre devido aos cereais selecionados para a sua fabricação, visto que esses elementos são micronutrientes essenciais para as plantas (POHL, 2008; SILVEIRA, 2023). Alguns metais são cofatores essenciais para as enzimas que participam do processo de fermentação, como Ca, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Ni e Zn (POHL, 2008). Na literatura, os elementos Al, Ba, Cr, Cu e Fe são frequentemente encontrados na composição química da cerveja (PIRES *et al.*, 2019; SILVEIRA *et al.*, 2023; SECO *et al.*, 2024).

Os metais presentes em nível traço ( $1 \mu\text{g L}^{-1}$  a  $100 \text{mg L}^{-1}$ ) ou ultratraço (menor que  $1 \mu\text{g L}^{-1}$ ) têm sido comumente investigados pelos seus efeitos na saúde humana. O Fe pode interferir na qualidade da espuma e no sabor da cerveja estando presente em concentrações elevadas (PIRES *et al.*, 2019; SILVEIRA, 2022). Além disso, pode provocar o envelhecimento da cerveja, catalisando as reações químicas e formando espécies reativas de oxigênio, reduzindo a estabilidade do produto (GONZÁLEZ-SANJOSÉ *et al.*, 2017). Os compostos orgânicos presentes na cerveja são facilmente oxidados pelas espécies reativas de oxigênio, alterando a qualidade da espuma e estabilidade do sabor do produto (POHL, 2008). Com relação aos

números de oxidação, os estados mais comuns do ferro são Fe(II) e Fe(III) (SECO, 2024). Além disso, é um elemento químico de extrema importância em diversos campos da ciência, apresentando propriedades químicas e físicas que o tornam fundamental em processos químicos, físicos, ambientais e biológicos (DUARTE, 2019).

### **3.3. Métodos analíticos para determinação elementar em cervejas**

#### **3.3.1. Técnicas de determinação**

Para escolher a melhor técnica analítica para uma análise, é importante entender não só a aplicação, mas também as vantagens e desvantagens de cada técnica instrumental. Parâmetros como sensibilidade, capacidade de detecção, tempo de análise, custo e compatibilidade com a amostra são fundamentais para a escolha da técnica (KRUG, 2019; DEMATTÊ *et al.*, 2019).

Para a análise química de cerveja com foco na determinação elementar, técnicas como a espectrometria de absorção atômica com fonte de linhas (LS-AAS, do inglês *line source-atomic absorption spectrometry*) com atomização por chama (F AAS), em forno de grafite (GF AAS) e por geração de hidretos (HG AAS), além das técnicas voltamétricas, permitem determinações, geralmente, monoelementares (DEMATTÊ *et al.*, 2019). Dentre as técnicas multielementares, destacam-se a ICP OES e a ICP-MS (WIETSTOCK *et al.*, 2015; SILVEIRA *et al.*, 2023). Outra técnica que pode permitir tanto a determinação monoelementar como a determinação multielementar de 2 ou mais elementos é a HR-CS AAS. Além disso, a espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP-OES, do inglês *microwave-induced plasma-optical emission spectrometry*) se destaca como uma interessante alternativa (LEÃO *et al.*, 2018; PIRES *et al.*, 2019). Embora as técnicas que utilizam plasma como o ICP-OES e ICP-MS possuam muitas vantagens, como determinação multielementar e ampla faixa de trabalho, elas possuem desvantagens como o alto custo de aquisição (no caso do ICP-MS), manutenção e de operação (devido ao elevado consumo de Ar), onde exigem treinamento e experiência do analista (PIRES *et al.*, 2019). Nesta revisão, será dado destaque para as técnicas F AAS e HR-CS F AAS, as quais foram empregadas no método proposto.

### 3.3.1.1. Espectrometria de absorção atômica com atomização por chama

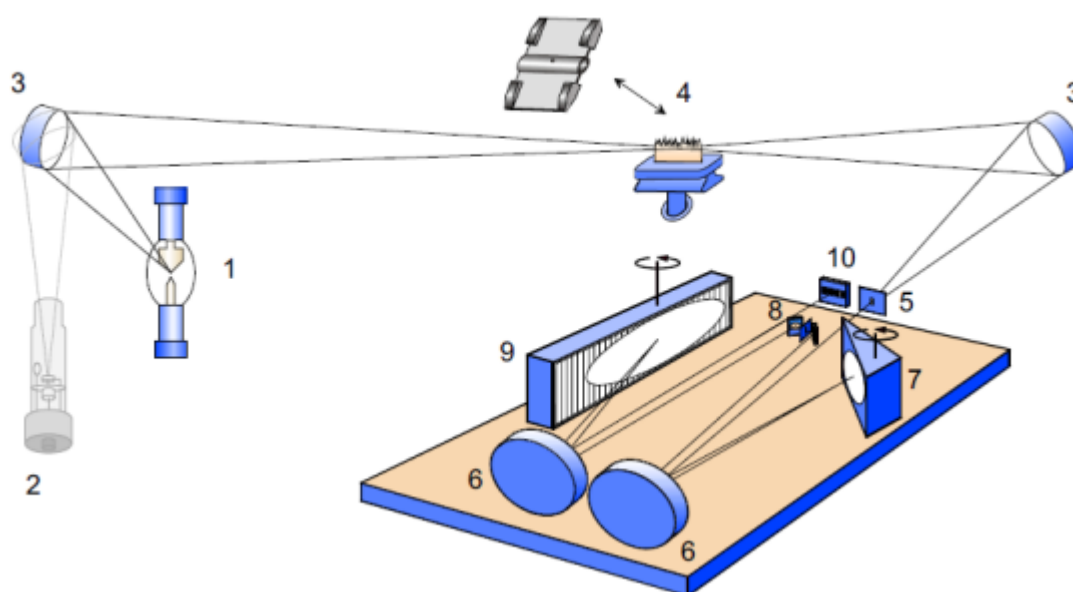
Diversas técnicas podem ser empregadas para a determinação elementar em cerveja, uma vez que as técnicas são escolhidas pela compatibilidade da amostra com o instrumento e pelas possíveis interferências que podem ocorrer durante análise. Uma das técnicas mais empregadas na literatura para determinação elementar é a F AAS, uma técnica amplamente consolidada por apresentar seletividade e capacidade de identificação e quantificação de diferentes elementos com custos de aquisição e manutenção acessíveis, apresentando simplicidade e robustez (SILVEIRA *et al.*, 2023; SECO *et al.*, 2024).

Entretanto, esta técnica exige que seja realizado um preparo eficiente das amostras, através de uma decomposição, extração, pré-concentração, entre outros. Quando associada a um método de preparo de amostra eficiente, apresenta sucesso na análise química e baixas interferências (WU *et al.*, 2009; SEEGER *et al.*, 2015; YAZICI *et al.*, 2019). A técnica é baseada na absorção de radiação eletromagnética, derivada de uma fonte de radiação, por átomos gasosos no estado fundamental. A amostra líquida é introduzida no atomizador por meio de uma câmara de nebulização que converte o líquido em um aerossol, o qual é misturado com o gás comburente e oxidante antes de atingir o queimador (WELZ *et al.*, 2005).

### 3.3.1.2. Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua

A HR-CS AAS é uma técnica que difere da LS-AAS, pelo seu monocromador duplo, pelo emprego de uma lâmpada de arco curto de Xe (capaz de emitir radiação em um espectro contínuo) e pelo detector de carga acoplada (CCD, do inglês *charge-coupled device*) (BOSCHETTI, 2016), os quais podem ser visualizados na Figura 2.

Figura 2 – Principais componentes de um instrumento HR-CS AAS.



Legenda: (1) lâmpada de arco curto de Xe; (2) lâmpada de cátodo oco (opcional); (3) espelhos elipsoidais focalizadores; (4) atomizador (chama ou forno de grafite); (5) fenda de entrada do monocromador; (6) espelhos parabólicos; (7) prisma; (8) fenda intermediária e espelhos ajustáveis; (9) rede Echelle e (10) detector CCD. Adaptado de Welz *et al.* (2005).

A alta resolução do monocromador combinado com a capacidade do detector acarretou um grande avanço para a técnica de HR-CS AAS, uma vez que possibilitou a observação da região da linha analítica de interesse. Isso só é possível pois uma terceira dimensão é analisada: o comprimento de onda. O monocromador de alta resolução (DEMON, do inglês *double-echelle monochromator*) é composto por um prisma para pré-seleção de ordens espectrais seguido de uma fenda intermediária ajustável e uma rede *Echelle*. Após passar pelo monocromador, a radiação incide no detector CCD, o qual possui 512 pixels com dimensões individuais de 24 x 24  $\mu\text{m}$ , onde cada pixel possui um multiplicador individual, permitindo que o instrumento opere com 512 detectores independentes, dos quais 200 pixels são usualmente utilizados para propósitos analíticos (WELZ *et al.*, 2005).

As informações obtidas com o arranjo de um espectrômetro HR-CS AAS não são obtidas utilizando uma fonte de linhas clássica, uma vez que apenas a absorbância versus tempo é visualizada. Além disso, esse recurso permite que mais de um comprimento de onda seja monitorado simultaneamente, contando que os

mesmos estejam dentro do mesmo intervalo espectral. A sensibilidade do sinal analítico pode ser reduzida ou ampliada, dependendo do número de pixels avaliados (WELZ *et al.*, 2005). A técnica permite análises em baixas concentrações (na ordem de  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) empregando atomização por forno de grafite e em concentrações relativamente superiores (na ordem de  $\text{mg L}^{-1}$ ) empregando atomização por chama em amostras sólidas, líquidas ou suspensões.

### 3.3.2. Métodos de preparo de amostra

Para a realização de uma análise química visando a determinação elementar, a amostra precisa ser submetida a um preparo de amostra adequado, visando sua preparação para as etapas subsequentes. O procedimento de preparo da amostra deve apresentar baixo consumo de reagentes, simplicidade e possuir mínima contaminação e baixa geração de resíduos. A escolha do procedimento de tratamento da amostra, depende da natureza da amostra, dos analitos a serem determinados e da sua concentração, da técnica escolhida para as determinações e da precisão e exatidão desejadas (KRUG, 2019).

Durante o preparo de amostra, as amostras podem ser submetidas a diversas etapas, como limpeza, secagem, moagem e filtração e, em seguida, a métodos de extração, decomposição, separação, entre outros. No caso de bebidas gaseificadas, como a cerveja, o primeiro passo para o seu tratamento consiste em um processo de degaseificação, o qual pode ser realizado com o auxílio de um banho ultrassônico (KRUG, 2019; PIRES *et al.*, 2020).

A cerveja contém elevados teores de matéria orgânica, sendo assim, os métodos de preparo de amostras comumente empregados são as decomposições por via úmida que podem ser feitos tanto em sistemas abertos ou fechados. Os métodos em sistema aberto são bastante morosos e consomem grande quantidade de reagentes. Entre os métodos de decomposição por via úmida em sistemas fechados destaca-se a MAD, onde as amostras são submetidas a aquecimento a partir da interação com a radiação micro-ondas, na presença de ácidos concentrados, como o  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{HCl}$  e  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , podendo ser combinado com o  $\text{H}_2\text{O}_2$  (oxidante auxiliar) (ORESTE *et al.*, 2016). Esses sistemas permitem decomposições bastante eficientes, com a redução do tempo, consumo de reagentes e contaminação da amostra, além de

minimizar o risco de perda de analitos quando comparados com os sistemas abertos (PASSAGHE *et al.*, 2015; KRUG, 2019; PIRES *et al.*, 2020). No entanto, necessitam de instrumentação com custo de aquisição e manutenção relativamente elevado como os fornos micro-ondas.

Métodos simples, rápidos, de baixo custo, com número reduzido de etapas, uso de materiais obtidos de fontes renováveis, com menor geração de resíduos e consumo de energia, são alguns dos princípios da Química Analítica Verde (GAC, do inglês *green analytical chemistry*) que tem norteado o desenvolvimento de métodos na Química Analítica (GAŁUSZKA *et al.*, 2013). Visando uma análise rápida e simples das amostras de cerveja, alguns estudos têm empregado a análise direta por GF AAS, a fim de minimizar os processos (BORGES *et al.*, 2015). No entanto, em determinações empregando a ICP OES, a análise direta pode ocasionar interferências espectrais e/ou instabilidade no plasma, podendo ser uma limitação para a detecção de elementos traço (ASFAW e WIBETOE 2005; POHL, 2008). Além da análise direta, as amostras de cerveja podem ser diluídas com água ou ácidos e introduzidas em diversas técnicas, como na espectrometria de absorção atômica em forno de chama termospray (TS-FF-AAS, do inglês *thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry*) (NASCENTES *et al.*, 2005), F AAS (BELLIDO-MILLA *et al.*, 2004) e GF AAS (BORGES *et al.*, 2015). A diluição da amostra é realizada para minimizar possíveis interferências físicas e/ou químicas da matriz que acompanham os processos de atomização (NASCENTES *et al.*, 2005; POHL, 2008), além de evitar o depósito de sólidos na cabeça do queimador ou danificar o tubo de grafite por uma camada de cinzas. Porém na F AAS, devido a diluição da nuvem atômica nos gases da chama, a diluição das amostras de cerveja pode comprometer o LOQ (BELLIDO-MILLA *et al.*, 2004; POHL, 2008).

Para analitos presentes em baixas concentrações, uma alternativa para aumentar a capacidade de detecção é a utilização de métodos de pré-concentração (FERNÁNDEZ *et al.*, 2016; DEMIR *et al.*, 2021). A pré-concentração possibilita o aumento da concentração do analito e a redução de possíveis interferentes. Na literatura, são relatados métodos de precipitação, co-precipitação, extrações líquido-líquido e sólido-líquido, bem como mecanismos de captura de átomos a fim de realizar a pré-concentração dos analitos (TÜRKER, 2012; FERNÁNDEZ *et al.*, 2016). Os métodos de precipitação e co-precipitação são empregados quando compostos

insolúveis dos analitos são formados, os quais, posteriormente, podem ser dissolvidos em diferentes volumes de solvente. Para esses métodos de preparo de amostra, o pH é um parâmetro importante, pois influencia na seletividade dos analitos (FERREIRA *et al.*, 2007; ZHAO *et al.*, 2012).

A pré-concentração por LLE, tem como fundamento a separação dos metais em solução entre duas fases líquidas imiscíveis. Para realizar a extração, é necessário um agente quelante a fim de remover os analitos em solução. A LLE é uma técnica simples, porém, apresenta desvantagens como a utilização de elevados volumes de amostra e solventes orgânicos tóxicos, gerando uma grande quantidade de resíduos (FERREIRA *et al.*, 2007; ZHAO *et al.*, 2012). Na SPE, ocorre a separação dos analitos da amostra através da retenção em uma fase sólida e posterior eluição dos analitos em um solvente adequado. Esse método permite a utilização de diversos materiais adsorventes, os quais podem ser materiais poliméricos sintéticos ou naturais (CAO *et al.*, 2023).

As características do analito a ser pré-concentrado pelo método está diretamente relacionada com a escolha do melhor adsorvente a ser utilizado. Sendo assim, através da adsorção dos analitos, ocorre a interação com os grupos funcionais do adsorvente, as quais podem ser por troca iônica, formação de pares iônicos, quelação ou polaridade. No caso de íons metálicos, estudos experimentais para o controle de pH, tempo de extração, temperatura e concentração de íons metálicos são de extrema importância (FERNÁNDEZ *et al.*, 2016; FERREIRA *et al.*, 2007; ZHAO *et al.*, 2012).

A SPE original é realizada em cartuchos comerciais contendo o material adsorvente, seguido de eluição dos analitos com solvente adequado. Em uma escala menor, tem-se a microextração em fase sólida (SPME, do inglês *solid-phase microextraction*), a qual é realizada com uma fibra contida em uma seringa. Recentemente, a dSPE ou a  $\mu$ -dSPE foi proposta visando trazer vantagens e facilidades em comparação com a SPE. Ao invés de utilizar um cartucho, na dSPE, a amostra pode ser adicionada em um tubo de polipropileno (PP) juntamente com o material adsorvente. Após, a mistura passa por agitação e centrifugação. A amostra (sobrenadante) é retirada e adiciona-se uma solução/solvente adequado para a dessorção dos analitos em um volume menor que o volume inicial (pré-concentração) (ISLAS *et al.*, 2017).

A dSPE tem se destacado por apresentar muitas vantagens frente às outras técnicas, como a utilização de pouca quantidade de solventes, reduzindo o volume de resíduo gerado, curto tempo de extração, alta eficiência, além da possibilidade de pré-concentração dos analitos. Sendo assim, diversos estudos estão sendo relatados na literatura sobre diferentes adsorventes que possibilitam a pré-concentração dos analitos com grande eficiência, como carvão ativado, nanotubos de carbono e quitosana, a qual é um material polimérico não convencional, porém economicamente viável (RUIZ *et al.*, 2019; SALEHI *et al.*, 2021; DEMIR *et al.*, 2021).

Na Tabela 2, são relatados diversos estudos encontrados na literatura com base na determinação elementar em cervejas.

Tabela 2 – Estudos sobre a determinação elementar em cervejas.

Tipo de cerveja	Analito	Método de preparo de amostra	Condições experimentais	Técnica de determinação	LOD	Referência
Dark, Pilsen e sem álcool	Cu, Mn, Pb e Zn	Diluição	Desgaseificação em banho ultrassônico por 20 min e diluição 1:1 e 1:5 com 0,14 mol L <sup>-1</sup> HNO <sub>3</sub>	TS-FF-AAS	(µg L <sup>-1</sup> ) Cu: 2,2 Mn: 1,8 Pb: 1,6 Zn: 0,9	(NASCENTES <i>et al.</i> , 2005)
Lager, Dark, baixo teor alcoólico e sem álcool	Cu, Fe e Mn	MAD	Desgaseificação foi realizada passando argônio pela cerveja por 1 h. MAD (10,0 mL da amostra, 5,0 mL de HNO <sub>3</sub> concentrado e 2,0 mL de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 30%)	ICP OES	(ng mL <sup>-1</sup> ) Cu: 1,1 Fe: 1,1 Mn: 0,3	(ASFAW <i>et al.</i> , 2005)
-	Pb	SPE	Amostra com pH ajustado em 6, vazão de amostra de 6,0 mL min <sup>-1</sup> , 63,0 mg de massa adsorvente e 2,0 mol L <sup>-1</sup> de HNO <sub>3</sub> a uma vazão de 2,0 mL min <sup>-1</sup>	F AAS	(µg L <sup>-1</sup> ) 7,5	(ALVES <i>et al.</i> , 2011)
-	Pb	SPE	Amostra com pH ajustado em 8, concentração de ditizona 0,0005% (p/v), 2 mL de HNO <sub>3</sub> 1,0 mol L <sup>-1</sup> , vazão da amostra 3 mL min <sup>-1</sup> ; vazão do eluente, 0,5 mL min <sup>-1</sup>	F AAS	(µg L <sup>-1</sup> ) 0,36	(CHENG <i>et al.</i> , 2014)

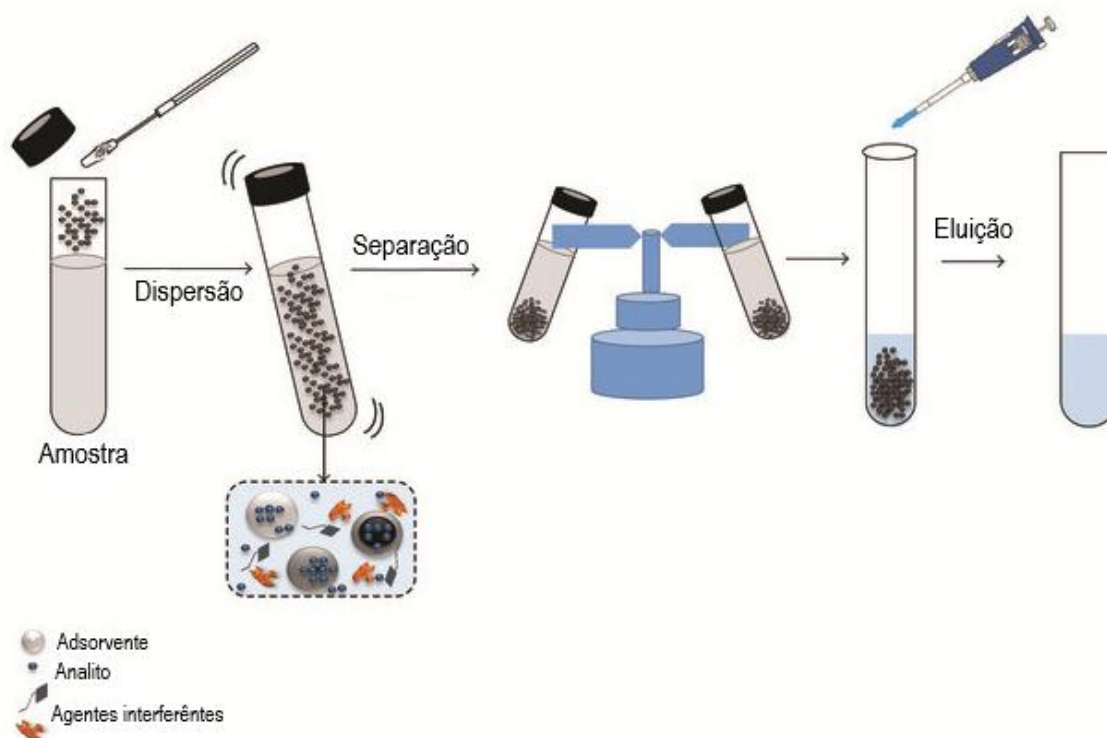
Pilsen e sem álcool	Al, Cd, Cu e Pb	Análise direta	Desgaseificação a 25 °C e diluição 1:1 com HNO <sub>3</sub> 0,2% (v/v)	GF AAS	(µg L <sup>-1</sup> ) Al: 1,9 Cd: 0,6 Cu: 2,9 Pb: 0,8	(BORGES <i>et al.</i> , 2015)
Pilsen	Ca, Cu, Fe, Mg e Zn	MAD	10 mL da amostra, 5 mL de HNO <sub>3</sub> concentrado e 2 mL de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 30%	ICP OES	-	(WIETSTOCK <i>et al.</i> , 2015)
Artesanal, Dark e Pilsen	Al, Ba, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Ni, Sr e Zn	Diluição	Diluições com solução de HNO <sub>3</sub> 1,0 mol L <sup>-1</sup> com proporção de 1:4	MIP OES	(µg L <sup>-1</sup> ) Al: 15,4 Ba: 1,40 Ca: 970 Co: 4,0 Cr: 0,84 Cu: 2,62 Fe: 10,1 K: 100 Mg: 30 Mn: 0,78 Ni: 3,90 Sr: 1,50 Zn: 12,6	(PIRES <i>et al.</i> , 2019)
Pilsen	Cl, Fe e Si	MAD	Desgaseificação em um banho ultrassônico por 30 min	HR-CS GF AAS e HR-CS GF MAS	(µg L <sup>-1</sup> )	(PIRES <i>et al.</i> , 2020)

			MAD (5 mL da amostra, 2,0 mL de HNO <sub>3</sub> concentrado e 2 mL de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> a 30%)		Cl: 0,05 Fe: 2,0 Si: 0,08	
Pilsen	Cu	DLLME	5 mL de amostra, 100 µL CCl <sub>4</sub> como solvente extrator e dietil ditiocarbamato de sódio (DDTC) 2% (m/v) como agente quelante	F AAS	(µg L <sup>-1</sup> ) 3,2	(SILVEIRA <i>et al.</i> , 2023)
Pilsen	Fe	DLLME	10 mL de amostra, 75 µL de 1,2-diclorobenzeno como solvente extrator, 500 µL de pirrolidina ditiocarbamato de amônio (APDC) 0,5% (p/v) como agente complexante	F AAS	(µg L <sup>-1</sup> ) 9,0	(SECO <i>et al.</i> , 2024)

### 3.4. Microextração em fase sólida dispersiva

A dSPE é uma derivação da SPE e vem sendo amplamente utilizada desde que foi proposta por Anastassiades *et al.* (2003), como um método de preparo de amostra eficiente na extração de pesticidas. O método tem sido aplicado com sucesso para extração, isolamento e limpeza no preparo de amostra de uma ampla variedade de medicamentos veterinários (ISLAS *et al.*, 2017), alimentos (ONER *et al.*, 2021) e bebidas (ARAIN *et al.*, 2023). A dSPE é também empregada como uma complementação do método QuEChERS (rápido, fácil, barato, eficiente, robusto e seguro, do inglês do inglês *quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe*), atuando como uma etapa de limpeza para a determinação de pesticidas, sendo utilizada para a eliminação de possíveis interferências (*clean-up*), uma vez que podem afetar a determinação subsequente dos analitos (ARIAS *et al.*, 2018; ISLAS *et al.*, 2017). Na Figura 3, está mostrado um esquema da dSPE.

Figura 3 – Esquema da dSPE.



Fonte: Adaptado de Islas *et al.* (2017).

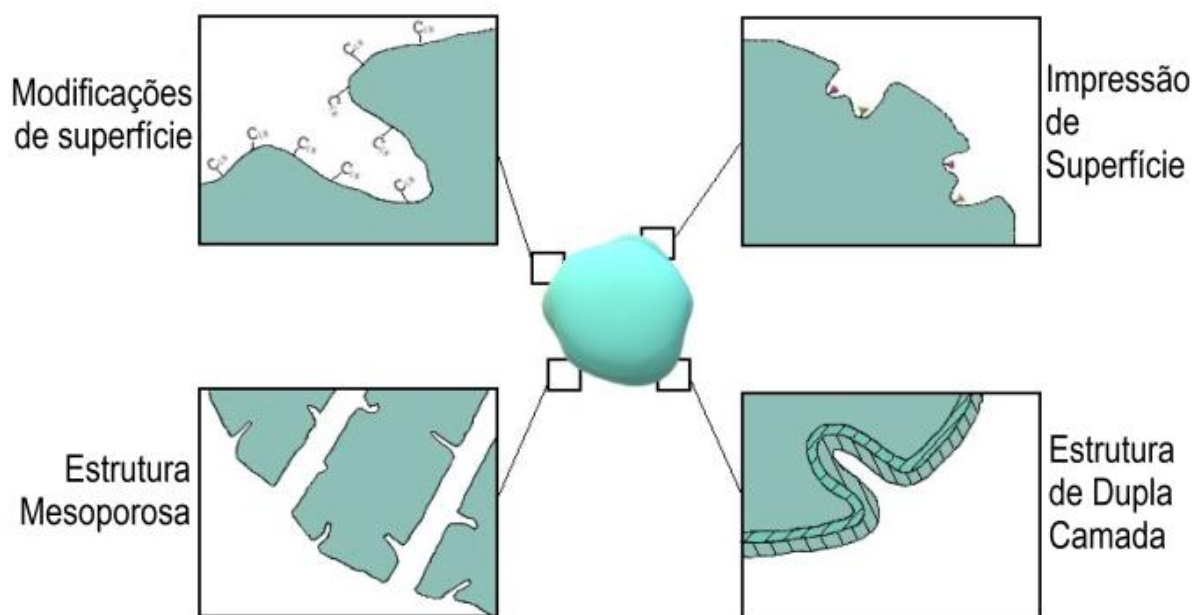
O método consiste em adicionar um adsorvente sólido, geralmente polimérico, a base de carbono ou derivado de sílica, diretamente na amostra líquida. Após, pode ser empregada agitação por vórtex (TOKAY *et al.*, 2021) ou ultrassom (SADEGHI *et al.*, 2017; JAKAVULA *et al.*, 2021), com posterior centrifugação. O emprego de agitação por vórtex ou por ultrassom favorece a dispersão do adsorvente, favorecendo a difusão dos analitos. Porém, se a fonte de energia não for controlada, pode afetar negativamente a extração, ocasionando a degradação dos analitos (CHISVERT *et al.*, 2019).

Após o processo de dispersão, o adsorvente é isolado por centrifugação seguido de filtração, se for necessário. Uma vez que o adsorvente é separado da fase líquida, os analitos na superfície do adsorvente podem ser desorvidos com a adição de solventes orgânicos. A dSPE é considerada um método rápido, simples e com baixa geração de resíduos, considerando as quantidades baixas de adsorvente e volume de solvente, sendo mais ambientalmente amigável do que a SPE convencional, pois é isenta da utilização de cartucho, disco ou coluna (ISLAS *et al.*, 2017; ŚCIGALSKI *et al.*, 2020).

Os materiais utilizados como adsorventes na dSPE são sólidos que sofrem modificação por meio químico ou físico pela adição de compostos químicos que modificam suas afinidades pelo analito. Essas modificações e funcionalizações ampliam suas aplicações, permitindo retenção máxima dos analitos e minimizando interferências. No entanto, com base na crescente aplicação da dSPE, novos materiais adsorventes estão sendo investigados para serem utilizados, assim como adsorventes provenientes de fontes renováveis (DEMIR *et al.*, 2021; ARAIN *et al.*, 2023).

Os materiais adsorventes apresentam diferentes estruturas funcionais que podem ser modificadas, a fim de atingir maior eficiência de extração. A dispersão do adsorvente leva a um aumento de sua superfície ativa e, portanto, a uma melhoria na cinética de extração. Além disso, a dSPE permite o uso de uma quantidade menor de adsorvente em comparação às abordagens de extração convencionais, resultando em um custo menor (JAMALI *et al.*, 2013). Na Figura 4, são ilustradas algumas estruturas que os adsorventes podem apresentar.

Figura 4 – Tipos de estrutura de adsorventes utilizados na dSPE.



Fonte: Adaptado de Ścigalski (2020).

Além disso, a dSPE tem sido utilizada como preparo de amostra para posterior determinação e quantificação de diversos analitos por técnicas instrumentais como F AAS (GHORBANIAN *et al.*, 2019), GF AAS (CHAIKHAN *et al.*, 2021), cromatografia a líquido com detecção por ultravioleta (LC-UV, do inglês *liquid chromatography-ultraviolet detection*) (FLORIANO *et al.*, 2018), espectrometria de massa (MS, do inglês *mass spectrometry*) (ZHU *et al.*, 2019), detector por arranjo de diodos (DAD, do inglês *diode array detector*) (EYVAZLOU *et al.*, 2024), cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *high performance liquid chromatography*) (ABNIKI e MOGHIMI, 2024), entre outras técnicas.

Se tratando de dSPE, nos casos em que pequenas massas de adsorvente têm sido utilizadas (até 50 mg), os autores têm utilizado a nomenclatura de  $\mu$ -dSPE. Uma vez que a quantidade de adsorvente é independente da retenção dos analitos, estes podem ser extraídos de forma eficaz, mesmo com massas reduzidas de amostra. Além disso, comparado com a dSPE, a  $\mu$ -dSPE é um método de preparo de amostra consolidado e conhecido pela sua simplicidade, baixo custo, menor consumo de reagentes e curto tempo de extração. Essas características trazem versatilidade para o método, o qual pode empregar diversos tipos de adsorventes, como mencionado anteriormente para a dSPE (CHISVERT *et al.*, 2019). A Figura 5 ilustra o esquema do

método  $\mu$ -dSPE, o qual utiliza pouca quantidade de adsorvente e amostra, logo, o método pode ser realizado utilizando microtubos *Eppendorf*.

Figura 5 – Esquema da  $\mu$ -dSPE.



Fonte: própria autora.

### 3.4.1. A $\mu$ -dSPE e a Química Verde

Os Princípios da GAC têm norteado o desenvolvimento de novos métodos na Química Analítica, apresentando simplicidade, rapidez, baixo custo e número reduzido de etapas no tratamento de amostras (GAŁUSZKA *et al.*, 2013). A GAC enfatiza a importância de evitar e/ou diminuir a geração de resíduos, priorizando métodos miniaturizados e, conseqüentemente, uma menor geração de resíduos. Adicionalmente, a minimização do uso de reagentes, o emprego de materiais de fontes renováveis, um menor número de etapas e a diminuição do tempo de extração também são características da GAC. Dessa forma, o emprego de métodos visando os princípios da GAC pode aumentar a eficiência e diminuição dos custos do método, gerando diversas aplicações.

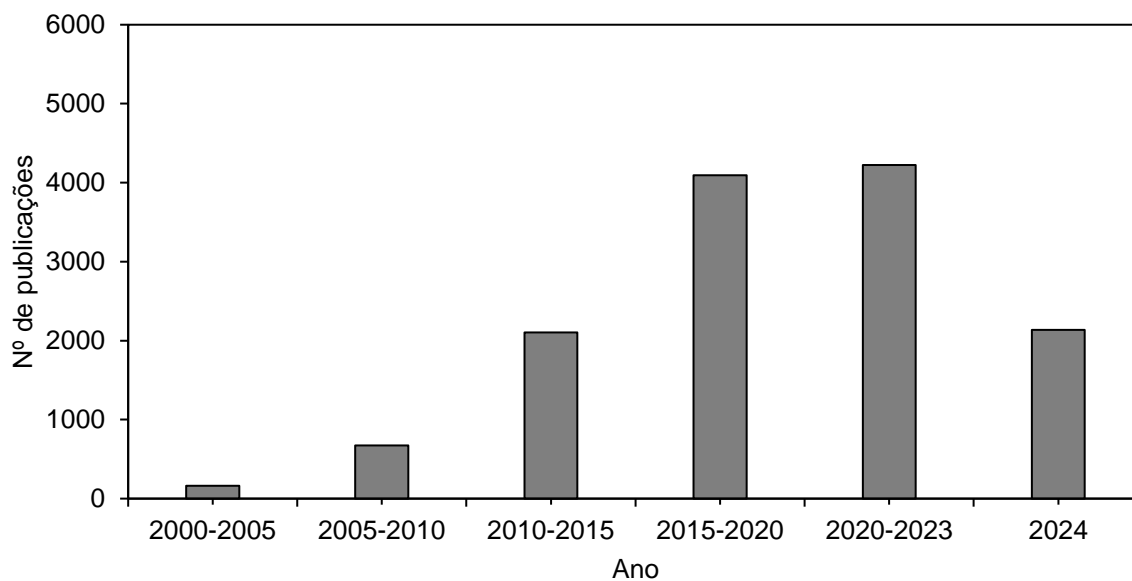
A  $\mu$ -dSPE atende aos princípios da GAC, proporcionando métodos ambientalmente amigáveis, miniaturizados e com menor geração de resíduos. Esses métodos priorizam, principalmente, o uso de materiais de fontes renováveis, minimizando a geração de resíduos e o consumo de energia (FERNÁNDEZ *et al.*, 2016; SILVEIRA, 2022). Portanto, a busca por novos materiais adsorventes provenientes de fontes renováveis que possam ser utilizados em diversos métodos analíticos vem aumentando constantemente. A quitosana, um dos biopolímeros mais abundantes na natureza, demonstrou interesse mundial (ALVEZ *et al.*, 2021). Suas

aplicações incluem a remoção de metais tóxicos do meio ambiente (KATARINA *et al.*, 2008), processos de separação (recuperação de metais valiosos em hidrometalurgia) (BEGUM *et al.*, 2021) e para fins analíticos (como pré-concentração prévia à análise espectrofotométrica) (DEMIR *et al.*, 2021; SALEHI *et al.*, 2021).

É crescente o desenvolvimento de trabalhos que atendam aos princípios da GAC, onde o uso de adsorventes obtidos de fontes renováveis, como crustáceos, pode ser utilizado para adsorção de inúmeros elementos, como Pb (DING *et al.*, 2021), Te (DEMIR *et al.*, 2021), Zn (HU *et al.*, 2021), Ni (ELSAYED *et al.*, 2020), entre outros. Na literatura, vários estudos sobre suas propriedades químicas e físicas são relatados. No entanto, poucos estudos utilizam a quitosana como adsorvente para a determinação de metais. Dentre estes, se destacam estudos que utilizaram quitosana em métodos de preparo de amostras, como dSPE (DEMIR *et al.*, 2021), MSPE (MALTEPE *et al.*, 2020), SPE (DAI *et al.*, 2012), entre outros. Além disso, a quitosana tem sido usada como adsorvente em diversas amostras, como água potável (KAZEMI *et al.*, 2017), água do mar (KATARINA *et al.*, 2008), arroz e leite em pó (CAO *et al.*, 2023). Para análises orgânicas, a quitosana tem sido aplicada em diversos estudos, como na determinação de pesticidas (SAMADIFAR *et al.*, 2017), fármacos (ARIAS *et al.*, 2018), entre outros.

#### 3.4.2. Aplicações da $\mu$ -dSPE

Na literatura, são reportados diversos estudos empregando a  $\mu$ -dSPE como método de preparo de amostra para análise inorgânica e orgânica. De 2000 a 2024, foram publicados cerca de 11 mil artigos sobre  $\mu$ -dSPE, conforme pesquisa feita nas bases de dados “Scopus”, “Google Scholar” e “Periódicos CAPES” com as palavras-chave “dispersive solid-phase microextraction” e “ $\mu$ -dSPE”, conforme destacado na Figura 6.

Figura 6 – Número de publicações de 2000 a 2024 sobre a  $\mu$ -dSPE.

No período de 2000-2023 ocorreu um crescimento nas publicações sobre a  $\mu$ -dSPE e a estimativa é que as publicações aumentem ainda mais durante os anos, pois em 2024 os estudos seguem aumentando consideravelmente. A  $\mu$ -dSPE tem sido amplamente aplicada em análises orgânicas, como na determinação de compostos fenólicos (CAO *et al.*, 2015), pesticidas (GHORBANI *et al.*, 2021), entre outros. No que diz respeito à análise inorgânica, a  $\mu$ -dSPE tem sido aplicada em amostras aquosas e empregando diferentes tipos de adsorventes, conforme ilustrado na Tabela 3.

Tabela 3 – Trabalhos empregando a  $\mu$ -dSPE.

Adsorvente	Amostra	Analito	Condições experimentais	Técnica de determinação	LOD	Referência
Nanotubos de carbono de paredes múltiplas	Água	Se	200 mL de adsorvente oxidado disperso a uma concentração de 5 mg mL <sup>-1</sup> , 100 mL de amostra, agitação por 5 min.	XRF	(ng mL <sup>-1</sup> ) 0,2	(SKOREK <i>et al.</i> , 2012)
Óxido de grafeno	Água, saliva e urina	Cd, Cr e Pb	30 $\mu$ L de adsorvente (7 mg mL <sup>-1</sup> ), 1,5 mL de amostra, agitação manual, 10 min de centrifugação e 100 $\mu$ L de ácido nítrico 0,5 mol L <sup>-1</sup> .	GF AAS	( $\mu$ g L <sup>-1</sup> ) Cd: 0,005 Cr: 0,012 Pb: 0,035	(GHAZAGHI <i>et al.</i> , 2016)
Nanopartículas de sílica mesoporosa	Água	Mn(II) e Mn(VII)	10 mg de adsorvente, 100 mL de amostra, sonicação por 2 min, centrifugação por 3 min e 500 $\mu$ L de HNO <sub>3</sub> 0,35 mol L <sup>-1</sup>	F AAS	( $\mu$ g L <sup>-1</sup> ) Mn(II): 0,007 Mn(VII): 0,008	(SHIRKHANDLOO <i>et al.</i> , 2016)
Nanopartículas de óxido de cério	Água	Be	20 mg de adsorvente, 10 $\mu$ L de amostra, agitação ultrassônica por 6 min, centrifugação a 400 rpm por 7 min e 0,5 mL de ácido fórmico concentrado sob sonicação por 3 min em temperatura ambiente	F AAS	( $\mu$ g L <sup>-1</sup> ) 0,16	(HOSSEINI <i>et al.</i> , 2018)
Óxido de grafeno funcionalizado	Água e alimentos	Cr(III), Cu(II) e Pb(II)	10 mg de adsorvente, 20 mL de amostra, sonicação por 5 min.	DPV	(ng mL <sup>-1</sup> ) Cr(III): 0,15 Cu(II): 0,02 Pb(II): 0,03	(GHORBANI <i>et al.</i> , 2019)

com dietilenotriamina						
Óxido de grafeno e carvão ativado	Água	Cd, Cr, Mn, Ni, Pb e Zn	10 mg de adsorvente, 10 mL de amostra, agitação em vórtex por 3 min, centrifugação por 3 min.	LIBS	( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) Cd: 25 Cr: 8 Mn: - Ni: - Pb: - Zn: 44	(RUIZ <i>et al.</i> , 2019)
Partículas magnéticas de cobalto	Chá preto	Pb	20 mg de adsorvente, 30 mL de amostra, agitação manual por 15 s, 1 mL de HCl 1 mol L <sup>-1</sup>	SQT-F AAS	( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) 7,77	(AKKAYA <i>et al.</i> , 2019)
Nanocompósito de molibdato de bismuto	Água e alimentos	Pb(II)	5 mg de adsorvente, 2 mL de amostra, agitação em vórtex por 0,5 min, centrifugação por 3 min e 3 mL de HNO <sub>3</sub> 0,5 mol L <sup>-1</sup> .	F AAS	( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) 1,75	(ARAIN <i>et al.</i> , 2023)

Nos estudos relatados na Tabela 3, diferentes formas de agitação têm sido empregadas, como agitação manual (AKKAYA *et al.*, 2019), por vórtex (ARAIN *et al.*, 2023) e por banho ultrassônico (GHORBANI *et al.*, 2019). A agitação na  $\mu$ -dSPE é um fator importante, visto que uma agitação eficiente favorece a cinética do processo de transferência de massa, uma vez que a eficiência de extração depende diretamente da superfície de contato entre os analitos e o adsorvente (KHEZELI *et al.*, 2017). A natureza e as propriedades físico-químicas do adsorvente são muito importantes para obter uma extração eficiente. Sendo assim, os principais requisitos que um adsorvente precisa possuir para ser utilizado na  $\mu$ -dSPE é: *i*) ter elevada área superficial e *ii*) dispensabilidade em amostras líquidas (ŚCIGALSKI E KOSOBUCKI, 2020).

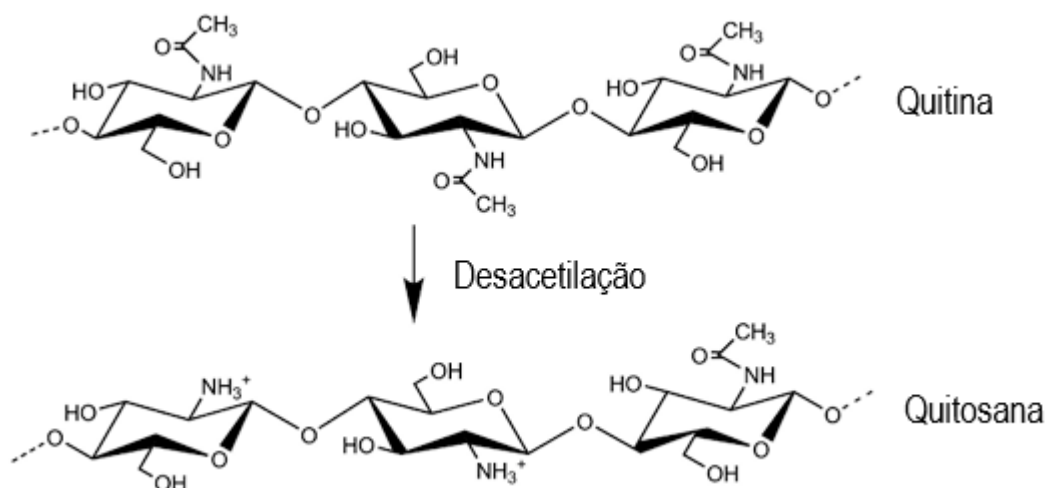
### 3.5. Quitosana

#### 3.5.1. Fonte e processo de obtenção

A quitosana é um polissacarídeo natural, denominado de biopolímero, possui elevada solubilidade em meio ácido, sendo obtido através da desacetilação alcalina ou enzimática da quitina, a qual é o segundo biopolímero mais abundante da natureza, depois da celulose (AZAROVA *et al.*, 2016; GUIBAL, 2004). A quitina é um polissacarídeo de cadeia longa, insolúvel em solventes orgânicos e em água, sendo obtido principalmente do exoesqueleto de crustáceos, embora outras fontes como a parede celular de fungos e outros materiais biológicos possam ser utilizadas (ALVES *et al.*, 2021). A quitina e seus derivados são provenientes de compostos renováveis, biodegradáveis e não tóxicos que apresentam diversas propriedades biológicas (HAMED *et al.*, 2016). De acordo com a Figura 7, a principal diferença estrutural entre quitina e quitosana é a substituição do grupo acetamida no C-2 (posição 2 do carbono), que afeta significativamente a solubilidade do material, bem como o grau de desacetilação (RINAUDO, 2006). A quitosana é um biopolímero insolúvel em água, álcool, acetona e ácidos concentrados. No entanto, é solúvel na maioria dos ácidos inorgânicos diluídos, como HCl e HNO<sub>3</sub>, resultando em soluções viscosas (AHMED *et al.*, 2016). Além de sua alta solubilidade em ácidos inorgânicos, a quitosana também é altamente solúvel em ácidos orgânicos diluídos, como ácido acético, ácido cítrico e ácido fórmico (AHMED *et al.*, 2016). As limitações físico-químicas da quitina, como

sua insolubilidade em água e na maioria dos solventes orgânicos, juntamente com a dificuldade de modificar sua cadeia polimérica, representam desafios para o uso em larga escala (MOURA *et al.*, 2011; MARAGON *et al.*, 2020).

Figura 7 – Estrutura da quitina e da quitosana a partir da desacetilação da quitina.



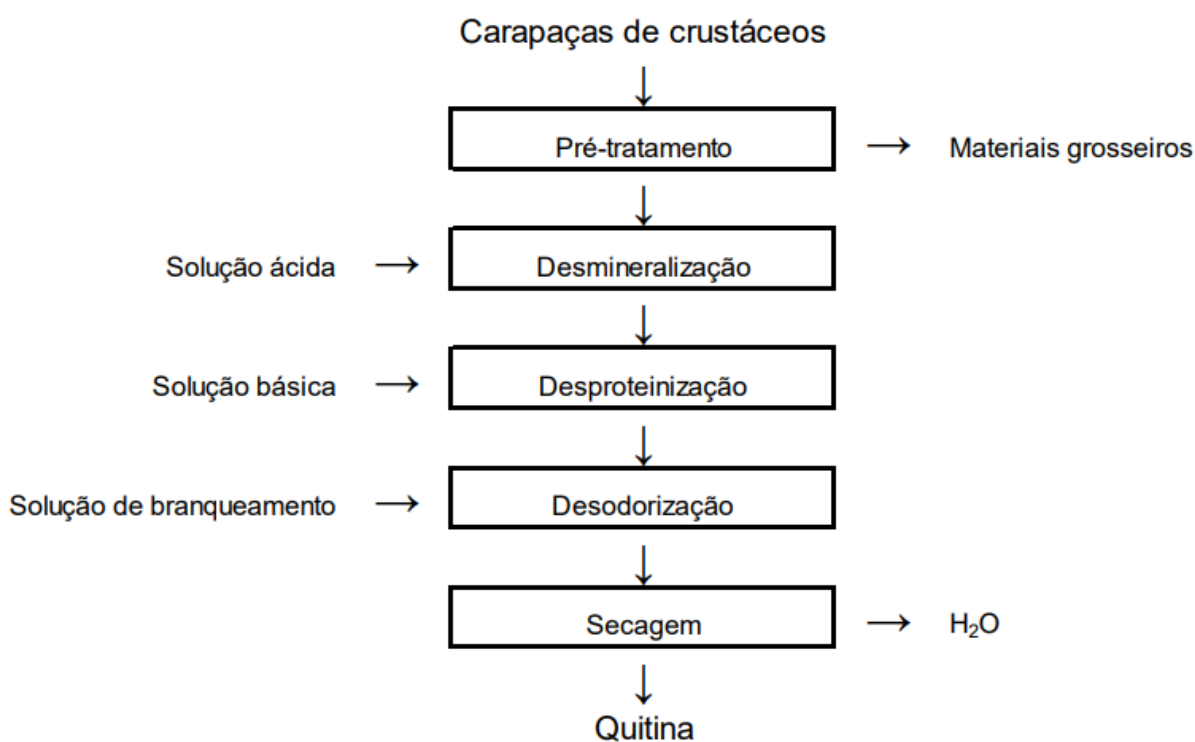
Fonte: Adaptado de Nilsen-Nygaard *et al.* (2015).

A conversão da quitina em quitosana pode ser feita por métodos alcalinos ou enzimáticos (ALVES *et al.*, 2021). Os métodos alcalinos requerem o uso de bases, enquanto os métodos enzimáticos dependem de microrganismos que produzem ácidos orgânicos e enzimas para as etapas de desmineralização e desproteínização (ARBIA *et al.*, 2013). O método mais comumente utilizado para a obtenção da quitosana é a desacetilação alcalina, devido ao seu curto tempo de processamento, simplicidade e baixo custo (MOURA *et al.*, 2011). O método enzimático, por outro lado, é usado com menos frequência, pois é principalmente um processo em escala laboratorial com alto custo operacional (CAMPANA-FILHO *et al.*, 2007; ALVES *et al.*, 2021).

O método de extração de resíduos de crustáceos na quitina envolve três etapas principais: desmineralização, desproteínização e desodorização (ALVES *et al.*, 2021), conforme diagrama do processo de extração apresentado na Figura 8. Essas etapas são projetadas para remover carbonatos, proteínas e pigmentos do material. Antes da primeira etapa, o resíduo passa por um pré-tratamento, onde é lavado em água corrente para separar material grosso, como fibras e qualquer outra substância que possa acompanhar o resíduo e interferir nos resultados (MOURA *et al.*, 2021). No

estágio de desmineralização, soluções ácidas como HCl, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HCOOH e H<sub>3</sub>CCOOH são aplicadas sob condições variáveis de temperatura e tempo para reduzir o teor de cinzas da matéria-prima. Durante a fase de desproteínização, soluções básicas, como NaOH, são usadas para reduzir o teor de proteína, levando à hidrólise dos grupos acetamida do polímero (CAMPANA-FILHO *et al.*, 2007; MOURA, 2014). A etapa final é a desodorização, na qual os pigmentos e odores da matéria-prima são removidos usando solventes orgânicos como hipoclorito, acetona e etanol (CAMPANA-FILHO *et al.*, 2007; WESKA *et al.*, 2007; ARBIA *et al.*, 2013; MOURA *et al.*, 2021; ALVES *et al.*, 2021).

Figura 8 – Etapas do processo de obtenção da quitina.

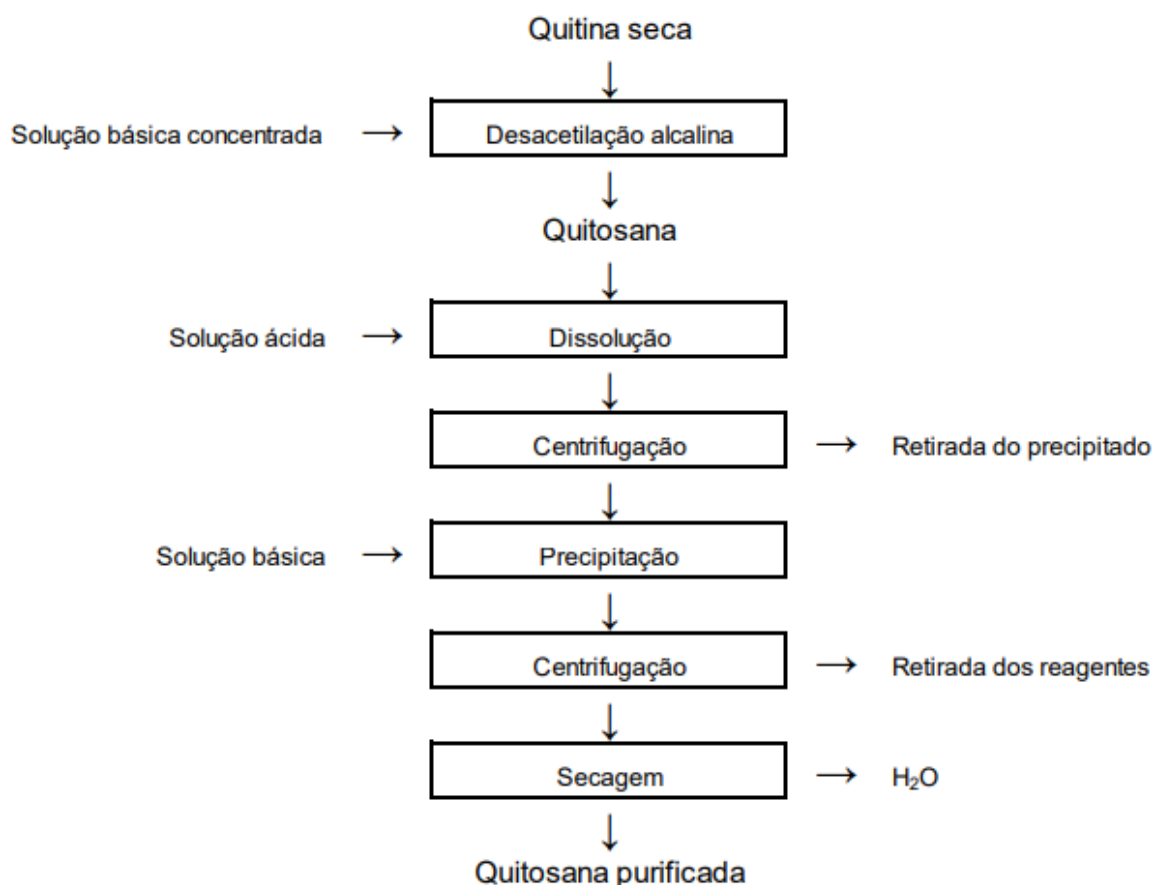


Fonte: Moura (2014).

Após a obtenção da quitina, é realizado um processo de desacetilação alcalina para produzir quitosana. Este processo envolve uma solução básica, normalmente NaOH, em altas temperaturas. Após a desacetilação, o biopolímero já é considerado quitosana, porém, passa por um processo de purificação para diminuir o conteúdo de cinzas e conseqüentemente concentrar a quitosana. O processo de síntese e

purificação da quitosana consiste em diversas etapas, conforme diagrama apresentado na Figura 9.

Figura 9 – Etapas do processo de obtenção da quitosana.



Fonte: Moura (2014).

O grau de desacetilação da quitosana depende da temperatura da reação, duração e concentração da solução alcalina. Uma vez obtida a quitosana, a mesma passa por purificação e secagem para garantir que o material seja armazenado em local seco, preservando suas propriedades físico-químicas (CAMPANA-FILHO *et al.*, 2007; WESKA *et al.*, 2007). Para manter essas propriedades, é fundamental que o teor de umidade permaneça abaixo de 10%, enfatizando a importância da fase de secagem na prevenção de interferências na polimerização. A quitosana contém unidades monoméricas de carboidratos, que podem ser afetadas por temperaturas elevadas, levando à degradação do polímero. Portanto, o controle de temperatura durante o processo de produção é essencial, pois as cadeias poliméricas são

sensíveis ao calor. Elevadas temperaturas também podem influenciar o desempenho do biopolímero em métodos analíticos, dependendo da duração da exposição (DOTTO *et al.*, 2011). Vários métodos de secagem para quitosana são relatados na literatura, incluindo liofilização (SONG *et al.*, 2021), secagem em leito fluidizado (COSTA-SILVA *et al.*, 2021) e secagem em leito de jorro e bandeja (DOTTO *et al.*, 2011).

### 3.5.2. Propriedades físico-químicas

As propriedades físico-químicas da quitosana resultam em menor cristalinidade, comparado à quitina, o que a torna solúvel na maioria dos ácidos, como  $\text{HNO}_3$  e  $\text{HCl}$ . A cristalinidade da quitosana é influenciada pelos grupos hidroxila e amino em sua estrutura polimérica, que dependem em grande parte da orientação da cadeia molecular. Em meio ácido, ocorre a protonação dos grupos amino ao longo da cadeia polimérica, criando múltiplos sítios catiônicos e aumentando a solubilidade da quitosana. Além disso, os grupos amino exibem forte atração por íons metálicos (GERHARDT *et al.*, 2020). Essa propriedade torna a quitosana atraente para o uso como adsorvente em métodos de preparo de amostras, devido à sua capacidade de adsorver uma ampla gama de poluentes de amostras líquidas e sólidas (GERHARDT *et al.*, 2020; NGAMSURACH *et al.*, 2022).

A quitosana pode adsorver vários íons metálicos, incluindo Pb (DAI *et al.*, 2012) e Cd (BANDFORUZI *et al.*, 2019). A adsorção de metais pode ocorrer por quelação em soluções neutras ou por protonação em soluções ácidas, dependendo se os metais são catiônicos ou aniônicos. Este processo é impulsionado por forças eletrostáticas e pelos pares de elétrons livres de nitrogênio dos grupos amino, que variam dependendo do pH da solução, permitindo que a quitosana seja utilizada de diferentes maneiras, independentemente de sua funcionalização (GUIBAL, 2004).

No entanto, parâmetros-chave como solubilidade e pH, podem afetar o desempenho da quitosana como adsorvente em métodos analíticos se a reticulação adequada ou a modificação química não forem aplicadas. Sua baixa cristalinidade, baixa resistência mecânica e instabilidade em meio ácido são desvantagens. A solubilidade da quitosana em soluções com pH abaixo de 4 é uma limitação significativa (WESKA *et al.*, 2007). A quitosana quimicamente modificada demonstra

adsorção aprimorada em ambientes de pH ácido e neutro, mas à medida que o pH aumenta, o aumento da concentração de íons  $\text{OH}^-$  inibe a adsorção efetiva (WESKA *et al.*, 2007; UPADHYAY *et al.*, 2021).

A determinação de metais presentes nos níveis de ppm e ppb geralmente requer uma etapa de pré-concentração usando solventes inorgânicos para aumentar a sensibilidade e eliminar ou reduzir significativamente o efeito da matriz que pode interferir no sinal analítico (OSHITA *et al.*, 2008). Conseqüentemente, a aplicação de materiais à base de quitosana em métodos analíticos, bem como seu uso como adsorventes, tem sido de grande interesse pelos químicos analíticos, incluindo o seu uso como *clean-up*, para a remoção de diferentes matrizes (MLADENOVA *et al.*, 2011).

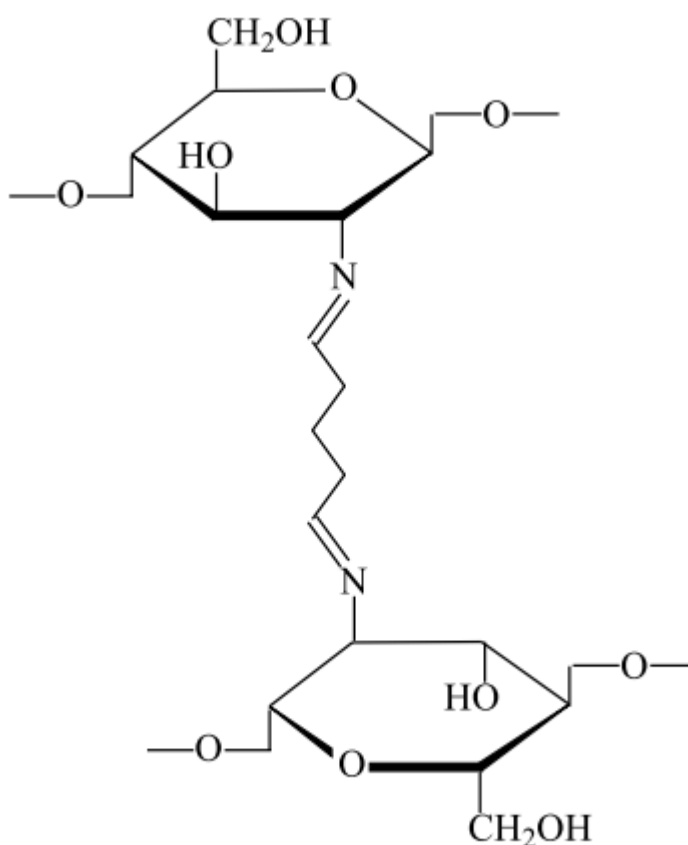
Conseqüentemente, o desenvolvimento de estudos alinhados aos princípios da GAC está em ascensão, enfatizando o uso de adsorventes derivados de fontes renováveis, como crustáceos, para a adsorção de diversos íons metálicos. A literatura contém inúmeros estudos com foco nas propriedades químicas e físicas da quitosana, bem como sua aplicação como adsorventes para a determinação de metais (CAO *et al.*, 2023; ARPUTHARAJ *et al.*, 2024).

### 3.6. Esponja de Quitosana

A quitosana é um biopolímero muito versátil em relação às modificações estruturais, principalmente quando comparada com outros polissacarídeos, devido a presença dos grupos funcionais ( $-\text{OH}$ ) e ( $-\text{NH}_2$ ) em sua estrutura química. Em virtude da presença desses grupos, os agentes reticulantes reagem quimicamente, ocasionando modificações na cadeia polimérica e, conseqüentemente, alterações nas propriedades físico-químicas do biopolímero. As modificações na estrutura da quitosana, sejam elas físicas ou químicas, proporcionam um aumento de reatividade, uma ampliação da faixa de pH de trabalho e podem aumentar a capacidade de adsorção (RINAUDO, 2006). Além disso, as modificações são realizadas a fim de melhorar as propriedades da quitosana e ampliar suas aplicações como adsorvente, uma vez que podem ser utilizados diversos agentes reticulantes para o processo, principalmente quando existe a necessidade da utilização da quitosana em meio ácido (SILVA, 2024).

O glutaraldeído é o agente reticulante mais empregado na modificação química da quitosana, pois possui grupos funcionais ativos e baixa massa molar, permitindo interações que provocam uma “quebra” das cadeias poliméricas da quitosana, contribuindo com a resistência térmica, mecânica e com o pH (BERGER, 2004). A reticulação da quitosana com glutaraldeído a torna mais resistente do ponto de vista químico, visto que as propriedades físico-químicas podem favorecer o emprego do material reticulado para íons metálicos. A Figura 10 mostra uma representação esquemática da reação da quitosana com glutaraldeído.

Figura 10 – Estrutura da quitosana reticulada com glutaraldeído.



Fonte: Mendes, 2011.

Os sítios ativos da quitosana possibilitam a adição de aldeídos monofuncionais, como o formaldeído, ou bifuncionais, tais como o glicoxal e/ou o glutaraldeído, como agentes reticulantes, formando as bases de Schiff, também denominadas de iminas,

as quais são formadas pela condensação de uma amina primária com uma carbonila, sob condições específicas, formando as ligações C=N (MCMURRY, 2012).

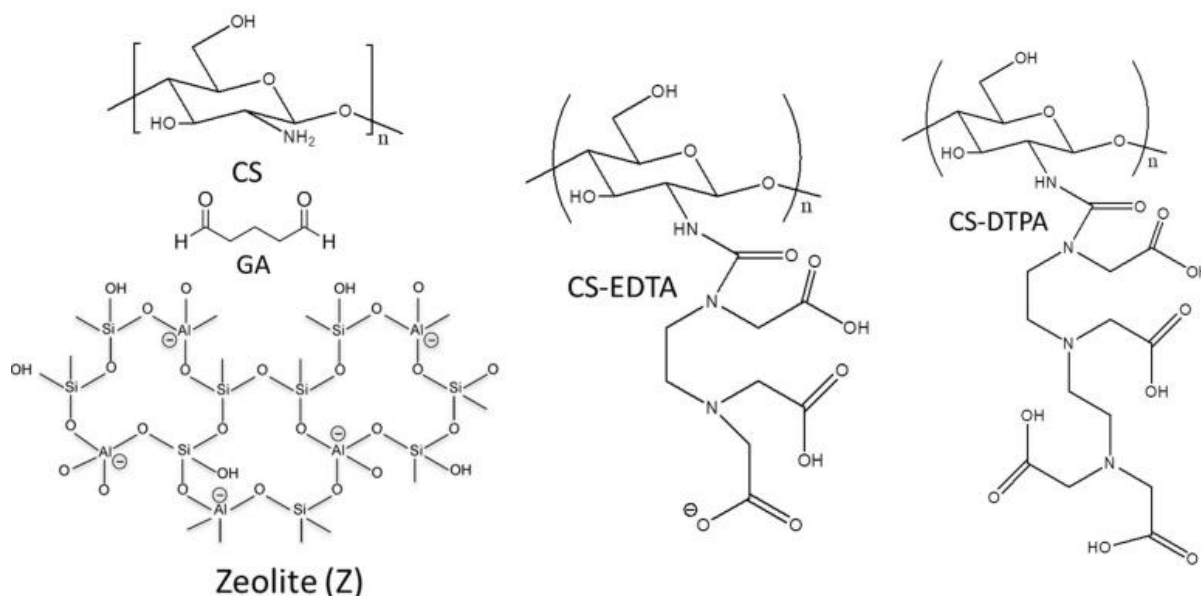
A modificação química da quitosana ocorre a partir da inserção de um agente reticulante na sua estrutura que favorece a formação do hidrogel de quitosana, o qual apresenta desempenho promissor em soluções ácidas e resistência mecânica (LU *et al.*, 2018; SILVA, 2024). A partir dos hidrogéis, a liofilização deste material resulta em modificações químicas, que são capazes de ampliar sua área superficial, melhorando ainda mais sua solubilidade em meio ácido (POON *et al.*, 2014; SILVA, 2024).

Os métodos de preparo de amostras e as técnicas instrumentais de análise têm avançado constantemente na Química Analítica, norteados por inúmeros trabalhos. Diversos pesquisadores estão desenvolvendo novos materiais adsorventes, a fim de melhorar os métodos atuais e torná-los mais eficientes. Recentemente, uma alternativa como adsorvente para o preparo de amostra vem ganhando visibilidade por diversas características e propriedades que podem influenciar positivamente na eficiência dos métodos de extração, por serem materiais oriundos de fontes renováveis. A utilização de materiais esponjosos como adsorventes apresenta características favoráveis para uma eficiente extração de íons metálicos, como elevada área superficial e estrutura propícia para diversas ligações devido a seu grande número de poros (CHATZIMITAKOS E STALIKAS, 2020).

No que diz respeito ao emprego da esponja de quitosana (a qual pode ser reticulada na presença de glutaraldeído), o número de estudos com enfoque analítico é ainda menor. Na  $\mu$ -dSPE, quando o objetivo é a extração e pré-concentração de analitos inorgânicos, uma solução aquosa ácida diluída deve ser empregada na etapa de dessorção. No entanto, em pHs muito ácidos a quitosana pode ser solubilizada. Portanto, o uso da esponja de quitosana pode ser uma alternativa interessante, pois a reticulação permite diminuir a solubilidade da quitosana em meio ácido, permitindo assim, o seu emprego do ponto de vista analítico na  $\mu$ -dSPE.

Dinu *et al.* (2021) desenvolveram esponjas a base de quitosana para a determinação de Co(II), Cu(II) e Fe(III) em amostras de água. As esponjas foram reticuladas com glutaraldeído e funcionalizadas por ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e ácido dietilenotriaminopentacético (DTPA), aprisionando uma zeólita natural a partir de uma técnica de segregação de gelo. As estruturas das esponjas são ilustradas na Figura 11.

Figura 11 – Estruturas químicas da quitosana (CS), glutaraldeído (GA), zeólita (Z), funcionalizado com ácido etilenodiaminotetracético (CS-EDTA) e funcionalizado com ácido dietilenotriaminopentacético (CS-DTPA).



Fonte: Adaptado de Dinu *et al.*, (2021).

Neste estudo, os íons Fe(III) obtiveram melhor adsorção em solução com pH 4, enquanto Co(II) e Cu(II) foram adsorvidos em solução com pH 6. Além disso, foi estudada a reutilização do adsorvente a base de quitosana e foi obtida uma eficiente extração mesmo após o quinto ciclo de sorção/adsorção, destacando a estabilidade química do material para a determinação de metais em amostras de água.

### 3.7. Aplicações da Quitosana em Química Analítica

Na literatura, são relatados diversos estudos utilizando quitosana aplicada à Química Analítica. Portanto, foi realizada uma pesquisa nas bases de dados Scopus, Google Acadêmico e Periódicos CAPES, abrangendo os anos de 2000 a 2024, com as palavras-chave 'determinação de elementos-traço usando quitosana' e 'quitosana aplicada à química analítica'. Vale ressaltar que, embora muitos artigos sobre quitosana explorando cinética e termodinâmica estejam disponíveis na literatura, o estudo da quitosana como adsorvente para a determinação de metais de uma perspectiva analítica está aumentando a cada ano. Além dos vários tipos de quitosana

usados nesses estudos, vale ressaltar que a quitosana tem sido comumente aplicada em métodos de preparo de amostras, particularmente em extrações sólido-líquido (CAO *et al.*, 2023), filtração simples (HAMZA *et al.*, 2021) e digestão ácida (ARPUTHARAJ *et al.*, 2024). Cada método permite o uso de quitosana em diferentes formas para adsorver e/ou pré-concentrar os analitos, exigindo posteriormente uma técnica de quantificação apropriada com base nos objetivos específicos do estudo (MLADENOVA *et al.*, 2011).

Na Tabela 4, são apresentados artigos com foco em análise inorgânica para a determinação de elementos-traço em diferentes amostras com diferentes tipos de quitosana. As modificações físicas e químicas da quitosana são extensas e são aplicadas em vários métodos de preparo de amostras e técnicas analíticas.

Tabela 4 – Pesquisa utilizando quitosana como adsorvente na preparação de amostras para análise inorgânica.

<b>Tipo de quitosana</b>	<b>Amostra</b>	<b>Analito</b>	<b>Preparo de amostras</b>	<b>Técnica de determinação</b>	<b>Referência</b>
Resina	Água do rio	Ag, Al, Cd, Co, Fe, Ni, Pb, U e Zn	SPE	ICP-MS	(LEE <i>et al.</i> , 2000)
Resina	Água	Ni e Pb	SPE	ICP-MS	(GAO <i>et al.</i> , 2002)
Resina	Água do mar	Ag	SPE	ICP-MS	(KATARINA <i>et al.</i> , 2006)
Resina	Água	Cd, Ga, In, Ni, Pb, Sc, Th e V	Pré-concentração Online	ICP OES	(HAKIM <i>et al.</i> , 2007)
Resina	Água	Ag, Be, Cd, Co, Ni, Pb, U e V	-	ICP OES	(SABARUDIN <i>et al.</i> , 2007)
Flocos	Água	U	SPE	ICP OES	(OSHITA <i>et al.</i> 2008)
Resina	Água	Zn	Pré-concentração Online	F AAS	(CARLETTO <i>et al.</i> , 2008)
Resina	Água do mar	Ag, Al, As, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cs, Fe, Ga, Hg, In, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Rb, Se, Sr, Tl, Th,	SPE	ICP-MS	(KATARINA <i>et al.</i> , 2008)
Esponja	Água	Cd, Cu, Pb e V	SPE	ICP OES	(CHEN <i>et al.</i> , 2009)

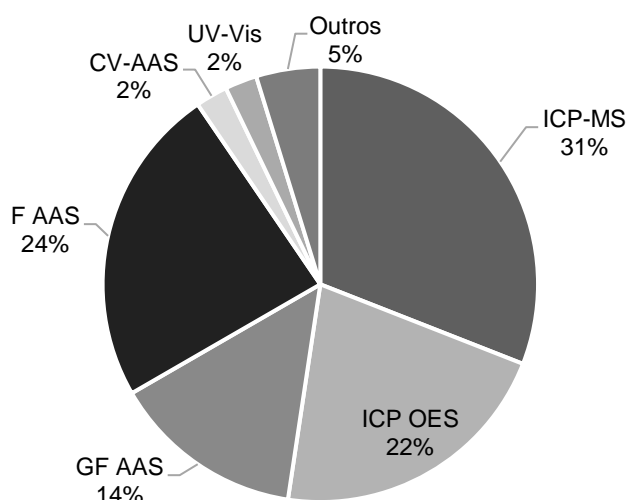
Flocos	Água	As	-	GF AAS	(GÉRENTE <i>et al.</i> , 2010)
Membrana	Água	Cd,, Ni e Pb	SPE	E AAAA,	(MLADENOVA <i>et al.</i> , 2011)
Resina	Água	Ge	SPE	ICP-MS	(SABARUDIN <i>et al.</i> , 2011)
Enxertada com nanotubos de carbono de paredes múltiplas	Arenque, espinafre, água do rio e água da torneira	Cr, Pb e V	SPE	ICP-MS	(DAI <i>et al.</i> , 2012)
Com líquido iônico	Água	Co, e Ni	Pré-concentração por líquido iônico	ICP-MS	(ZAWISZA <i>et al.</i> , 2013)
Nanopartículas	Água	Hg	SPE	CV-AAS	(ZIAEI <i>et al.</i> , 2014)
Filme	Água	Al, Cd,, Co, Fe, Ni, Pb e Zn	SPE	ICP-MS	(DJERAHOV <i>et al.</i> , 2016)
Magnético	Água de poço, água potável, chá preto, arroz e leite	Zn	SPE	F AAS	(KAZEMI <i>et al.</i> , 2017)
Esponja	Solo	Eu	SPE	ICP OES	(BAI <i>et al.</i> , 2018)
Resina	Solo	U	SPE	UV-Vis	(LIU <i>et al.</i> , 2019)
Nanopartículas	Água, solo e alimentos	Hg	-	PIC-EM/MS	(SADANI <i>et al.</i> , 2019)
Nanopartículas	Água	La	$\mu$ -SPE	ICP OES	(RAJABI <i>et al.</i> , 2019)

Magnético	Água	Pb	MDSPE	F AAS	(GHORBANIAN <i>et al.</i> , 2019)
Magnético	Água e leite	Zn	MDSPE	F AAS	(ABDOLMOHAMMAD-ZADEH <i>et al.</i> , 2019)
Hidrogel	Água	As	MSPE	SQT-FAAS	(MALTAPE, 2020)
Microesferas	Arroz, trigo e chá	Cd e Pb	SPE	GF AAS	(HUANG <i>et al.</i> , 2020)
Pó	Água	U	Flutuação	TXRF	(SZLACHTA <i>et al.</i> , 2020)
Modificado	Água	Ni	-	ICP-MS	(ELSAIED <i>et al.</i> , 2020)
Magnético	Água	Cd, e Pb	SPE	F AAS	(HOSAIN <i>et al.</i> , 2020)
Pó	Água	Cd, Fe, Mn, Pb e Zn	-	ICP OES	(JAGABA <i>et al.</i> , 2021)
Esponjas	Água e solo	As, Cd, Cu e Pb	-	ICP-MS	(LI <i>et al.</i> , 2021)
Pó	Solo	Zn	Filtração	F AAS	(HU <i>et al.</i> , 2021)
Pó	Água	Ni, Hg e Zn	-	ICP OES	(BENETTAYEB <i>et al.</i> , 2021)
Pó	Água e águas residuais	Cd e Pb	Filtração	ICP OES	(HAMZA <i>et al.</i> , 2021)
Magnético	Água	Cd, e Pb	dSPE	F AAS	(SALEHI <i>et al.</i> , 2021)
Esponja	Água	Co, Cu e Fe	Filtração	F AAS	(DINU <i>et al.</i> , 2021)

Microesferas	Água e sedimentos	As e Cd	-	AAS	(ZHANG <i>et al.</i> , 2021)
Hidrogel magnético	Água	Te	dSPE	SQT-F AAS	(DEMIR <i>et al.</i> 2021)
Microesferas	Sal	Pb	SPE	GF AAS	(DING <i>et al.</i> , 2022)
Microesferas	Arroz e leite em pó	Cr, Cd, Cr, Pb e V	SPE	ICP-MS	(CAO <i>et al.</i> , 2023)
Nanopartículas	Leite	Cd e Pb	Digestão ácida	GF AAS	(ABDELNABY <i>et al.</i> , 2023)
Micropartículas	Água	Ce	-	ICP-MS	(ALJOHANI <i>et al.</i> , 2024)
Filme	Urina	As e Cr	Digestão ácida	GF AAS	(ARPUTHARAJ <i>et al.</i> , 2024)

A escolha da melhor técnica analítica para uma análise requer uma compreensão, tanto da aplicação, quanto das vantagens e desvantagens de cada técnica instrumental. Parâmetros como sensibilidade, capacidade de detecção, tempo de análise, custo e compatibilidade com a amostra são fundamentais para a seleção da técnica adequada (KRUG, 2019; DEMATTÊ *et al.*, 2019). Como pode ser visto na Figura 12, a literatura apresenta diferentes técnicas para determinação elementar, incluindo F AAS, GF AAS, HG-AAS e técnicas voltamétricas, que normalmente permitem determinações monoelementares (DEMATTÊ *et al.*, 2019).

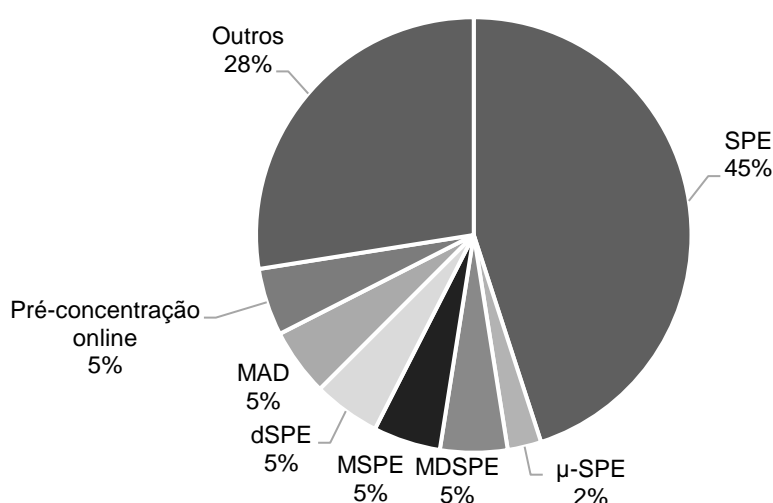
Figura 12 – Técnicas de determinação elementar utilizando quitosana como adsorvente em análise inorgânica.



Entre as técnicas multielementares, a ICP OES e a ICP-MS são particularmente notáveis. Além disso, a técnica HR-CS AAS pode facilitar a determinação de um ou mais elementos, oferecendo vantagens como maior sensibilidade, baixa massa de amostra, menor consumo de reagente e capacidade de análise direta de sólidos. Com a crescente demanda por métodos de preparo de amostras seletivos e de baixo custo, tem sido cada vez mais necessário investigar métodos de extração e pré-concentração em conjunto com técnicas instrumentais de análise que atendam a análises de amostras complexas e à determinação de analitos inorgânicos em baixa concentração.

Em relação ao preparo de amostra empregando quitosana para a determinação elementar, a Figura 13 destaca a maioria dos estudos que empregam a SPE e suas variações, como dSPE, MSPE, MDSPE e  $\mu$ -SPE. A quitosana é um biopolímero fácil de obter e altamente versátil. Quando proveniente de resíduos da indústria pesqueira, ajuda a prevenir a contaminação ambiental, promovendo a preservação ambiental e aderindo aos princípios da GAC. Conseqüentemente, numerosos estudos exploraram diferentes tipos de quitosana, muitas vezes modificando-a para aplicações específicas (HAMZA *et al.*, 2021). As pesquisas utilizando métodos de extração e pré-concentração para determinação de metais com quitosana ainda estão em crescimento, pois a maioria dos estudos se concentra na determinação de compostos orgânicos e na caracterização desses biopolímeros.

Figura 13 – Métodos de preparação de amostras utilizando quitosana como adsorvente em análises inorgânicas.



Lee *et al.* (2000), foi um dos primeiros estudos a empregar a pré-concentração de metais e a eliminação de matriz usando uma resina à base de quitosana em SPE, seguida pela determinação de Ag, Al, Cd, Co, Fe, Ni, Pb, U e Zn por ICP-MS em amostras de água. A resina à base de quitosana adsorveu efetivamente esses íons metálicos em amostras de água, produzindo resultados satisfatórios com  $\text{HNO}_3$  como eluente. Os autores destacaram que a modificação química da quitosana foi particularmente adequada para uso em altas concentrações de ácido.

Ao longo dos anos, vários estudos empregaram a SPE. Por exemplo, Cao *et al.* (2023), utilizaram microesferas de quitosana sintetizadas reticuladas com ácido tartárico e enxertadas com poli (ácido N-metacrilóil-L-alanina) (PNMA-TACS), que foram usadas como adsorventes na SPE para a separação de íons metálicos em nível traço, incluindo As, Cd, Cr, Pb e V em amostras de arroz e leite em pó. A determinação elementar subsequente foi realizada usando ICP-MS. O adsorvente foi caracterizado e os principais parâmetros que influenciam o método de preparo da amostra, como pH, quantidade de adsorvente e concentração e volume da solução de extração, foram otimizados. Os limites de detecção (LODs) variaram de 1,1 a 3,7 ng L<sup>-1</sup>. Além disso, foram realizados ensaios de recuperação, obtendo recuperação satisfatória de até 103%. O método proposto apresentou alta sensibilidade e precisão e as microesferas apresentaram maiores áreas superficiais, além de obterem baixa interferência.

Se tratando de dSPE, Demir *et al.* (2021) empregaram a extração dispersiva em fase sólida à base de hidrogel de quitosana magnética (MCH-dSPE) para a determinação de Te em águas residuais, água de abastecimento e água mineral usando a espectrometria de absorção atômica com chama em tubo de quartzo com fenda (SQT-F AAS). Parâmetros como pH, volume de tampão, quantidade de hidrogel, período de mistura e volume de eluente foram otimizados. O LOD e o LOQ foram de 19 e 63 µg L<sup>-1</sup>, respectivamente. Para avaliar a aplicabilidade do método, foram realizados estudos de recuperação em amostras de água mineral, água de torneira e águas residuais. Os resultados de recuperação estiveram em aproximadamente 100%. O estudo demonstrou que o uso de hidrogel de quitosana como adsorvente na dSPE produziu resultados satisfatórios para a pré-concentração de Te, oferecendo um método simples, de baixo custo e ecologicamente correto.

Da mesma forma, Salehi *et al.* (2021) desenvolveram um método de pré-concentração utilizando quitosana magnética reticulada com base Schiff sintetizada a partir de metionina e glutaraldeído (MG-Chi/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) como adsorvente para a determinação de Cd, Cu e Pb em amostras de água por F AAS. Parâmetros importantes como pH, tipo e volume de eluente, tempo de eluição, tempo de extração, quantidade de adsorvente, volume da amostra e efeito de possíveis íons interferentes foram avaliados. Os LODs foram 0,10, 0,22 e 0,24 µg L<sup>-1</sup> para Cd, Cu e Pb, respectivamente. Além disso, foram realizados testes de recuperação, obtendo recuperações de 100 a 102%.

Recentemente, Aljohani *et al.* (2024) desenvolveram micropartículas de quitosana como um produto de base biológica a partir da impressão de íons  $\text{Ce}^{3+}$ . As micropartículas foram modificadas com hidrazina tiosalicílica (TSCS), que foram produzidas por cianoacetilação de quitosana. Em seguida, a funcionalização com hidrazina foi realizada para finalmente ligar as partículas de tiosacarato à estrutura. Os produtos obtidos a partir da acetilação da quitosana são solúveis em água, devido a uma distribuição aleatória dos grupos acetil espalhados por toda a cadeia polimérica. A reação ocorre em meio heterogêneo, conservando as regiões cristalinas do polímero (GARCIA *et al.*, 2008; ALJOHANI *et al.*, 2024). As micropartículas de Ce-TSCS foram impressas em íons, sintetizando o composto TSCS com  $\text{Ce}^{3+}$  e reticuladas com glutaraldeído. Os íons  $\text{Ce}^{3+}$  foram desorvidos do polímero usando uma solução contendo EDTA e  $\text{HNO}_3$ . O método apresentou seletividade favorável para a remoção de  $\text{Ce}^{3+}$ , além de suas características mostrarem que o biopolímero pode ser usado para remover outros íons, como  $\text{La}^{3+}$  e  $\text{Cd}^{2+}$ , presentes nas águas residuárias.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

---

### 4.1. Instrumentação

As determinações de Fe foram realizadas em um espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS) modelo ContrAA 700 (Analytik Jena, Alemanha), o qual possui atomização em forno de grafite e por chama, conforme Figura 14. O equipamento conta com uma lâmpada de arco curto de Xe (Analytik Jena), cuja emissão de radiação compreende a faixa contínua de 185 a 900 nm. O monocromador de alta resolução (DEMON) é constituído por um prisma para pré-seleção de ordens espectrais, seguido de uma fenda intermediária ajustável e uma rede *Echelle*. Nas determinações de Fe por HR-CS F AAS (empregado no método proposto) foi utilizada a linha de ressonância principal em 248,3270 nm. Todas as medições de Fe por HR-CS AAS foram feitas monitorando o pixel central (CP)  $\pm 1$ .

Figura 14 – Espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS) utilizado para as determinações.



Fonte: Própria autora.

A desgaseificação das amostras foi realizada em banho de ultrassom modelo CUS3203B (Cristófoli, Brasil), com capacidade para 2,5 L e frequência de 42 kHz, com amplitude variável e potência de 170 W. Para a desgaseificação, as amostras foram sonicadas em béqueres de vidro.

Para o preparo das amostras por  $\mu$ SPE foram utilizadas uma balança analítica modelo AG220A (Gehaka, Brasil), um medidor de pH modelo PH140 (Simpla, Brasil), um agitador vórtex modelo K45- 2810 (Kasvi, Brasil) e uma minicentrífuga modelo 8011154 (Biopet, Brasil) com capacidade para 8 eppendorfes de 2 mL e velocidade máxima de 7200 rpm. Para a filtração dos extratos da  $\mu$ SPE, foram utilizadas seringas de polipropileno (PP), com capacidade de 1 mL (Medix, Brasil), agulhas de seringa hipodérmica 13 x 0,45 mm (Medix, Brasil) e filtros de seringa com 0,22  $\mu$ m de diâmetro de poro (Filtrilo, Brasil).

#### **4.2. Reagentes**

Os reagentes utilizados foram de grau analítico e as soluções foram preparadas utilizando água ultrapura purificada em um sistema (resistividade 18,2 M $\Omega$  cm) de purificação modelo Direct-Q UV3® (Millipore, USA). Para o desenvolvimento dos métodos, foram utilizadas soluções estoque de referência de Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 1000 mg L<sup>-1</sup> (Specsol, Brasil). As soluções de referência dos analitos foram preparadas através de diluições sucessivas a partir da solução estoque. Para o ajuste de pH da amostra foram preparadas soluções a partir de NaOH 99% (Sigma Aldrich, USA) e HCl 37% (Merck, Alemanha). As soluções extratoras para a  $\mu$ SPE foram preparadas a partir de HNO<sub>3</sub> 65% (Merck, Alemanha). Ambos os ácidos (HNO<sub>3</sub> e HCl) foram previamente destilados em destilador sub-boiling modelo DuoPUR® (Milestone, Itália).

Os materiais utilizados no desenvolvimento do trabalho foram descontaminados com água e detergente Extran® neutro (Merck). Em seguida, foram enxaguados com água ultrapura e descontaminados por imersão em banho de HNO<sub>3</sub> 20% (v/v), por cerca de 24 h. Após este período, os materiais foram lavados com água ultrapura e secas em temperatura ambiente.

### 4.3. Amostras

As amostras de cerveja avaliadas foram adquiridas no comércio local da cidade de Pelotas-RS. O critério para a escolha das amostras foi avaliar cervejas com fermentação alta e baixa, utilizando diferentes estilos, conforme é apresentado na Tabela 5. A cerveja do tipo Pilsen foi empregada durante a otimização da  $\mu$ -dSPE, por ser o estilo mais consumido. No laboratório, as amostras foram submetidas a um banho ultrassônico para a desgaseificação em temperatura ambiente, armazenada em tubos de PP e mantidas sob refrigeração até o momento das análises.

Tabela 5 – Amostras de cerveja utilizadas no desenvolvimento do trabalho.

Amostra	Estilo	Fermentação
Amostra 1	Pilsen	Baixa
Amostra 2	Amber Lager	Baixa
Amostra 3	IPA	Alta
Amostra 4	Pale Ale	Alta
Amostra 5	Weiss	Alta
Amostra 6	Blond Ale	Alta

### 4.4. Pré tratamento das amostras

As amostras foram colocadas em um béquer e desgaseificadas. Na desgaseificação, as amostras foram submetidas a um banho ultrassônico durante 4 ciclos de 480 s, totalizando 32 min. Em seguida, as amostras foram armazenadas em tubos de PP, sob refrigeração.

### 4.5. Obtenção das esponjas de quitosana

#### 4.5.1. Extração da quitina

Os resíduos de carapaças de camarão utilizados para a extração da quitina foram obtidos de uma indústria pesqueira da cidade do Rio Grande-RS e armazenados em um freezer (-18 °C) até seu devido tratamento químico.

#### 4.5.2. Pré tratamento dos resíduos

Os resíduos foram submetidos a um pré-tratamento, onde foram lavados em água corrente tendo como objetivo a separação do material grosseiro, como tecidos e todo o material que pode acompanhar os resíduos e interferir nos resultados. Após a lavagem, os resíduos foram desmineralizados, a fim de reduzir o teor de cinzas da matéria-prima. Dessa forma, foi utilizado HCl 2,5% (v/v) sob agitação em temperatura ambiente, durante duas horas. Em seguida, foram feitas lavagens com água, atingindo assim, pH neutro. Na etapa de desproteinização ocorreu a redução do teor de proteínas. Ao produto intermediário proveniente da desmineralização foi adicionada uma solução de NaOH 5% (m/v). Em seguida, o material foi submetido a uma lavagem com água até pH neutro. A desodorização foi realizada adicionando solução de hipoclorito de sódio 0,36% (v/v), sob agitação. Novamente, foram realizadas lavagens com água até pH neutro. Então, a quitina foi desidratada e moída para posterior desacetilação, para enfim obter a quitosana (SOARES *et al.*, 2003; WESKA *et al.*, 2007).

#### 4.5.3. Desacetilação da quitina

O processo de produção de quitosana foi feito a partir da reação de desacetilação da quitina. A reação foi realizada com quitina moída e utilizando uma solução de NaOH 45% (m/v) durante 240 min a uma temperatura de 135 °C. A proporção entre massa de solução NaOH e quitina foi de 20:1.

#### 4.5.4. Purificação da quitosana

Com a obtenção da quitosana, o material foi submetido a processos de dissolução, precipitação e centrifugação para a retirada dos reagentes em excesso (WESKA *et al.*, 2007). A purificação da quitosana ocorreu após sua dissolução em

ácido acético 1% (v/v). A solução foi centrifugada durante 30 minutos a fim de retirar o material não dissolvido pelo ácido. Em seguida, a precipitação total da quitosana ocorreu por adição de hidróxido de sódio 8% (m/v) até pH 12,5 e, posteriormente, a solução foi neutralizada com a adição de ácido acético 1% (v/v). A solução neutralizada foi submetida a centrifugação para a separação do sobrenadante. Sendo assim, o material final foi lavado com água corrente e realizou-se a sua secagem.

#### 4.5.5. Secagem

A quitosana foi submetida a uma secagem em leito de jorro a fim de obter uma quitosana com alta qualidade e apropriada para a posterior funcionalização. Esse tipo de secagem é realizado em materiais sensíveis ao calor, fazendo com que suas características físico-químicas sejam mantidas por um curto período de secagem. No leito de jorro, a secagem da quitosana foi realizada a 95 °C até sua completa desidratação (DOTTO *et al.*, 2011).

#### 4.5.6. Preparação das esponjas de quitosana

Após a quitosana seca, o material foi submetido a um processo de funcionalização, onde foi adicionado o D-glutaraldeído a fim de se obter um hidrogel. Em seguida, o hidrogel foi submetido a baixas temperaturas e liofilizado para enfim serem obtidas as esponjas de quitosana (MOURA *et al.*, 2011; RINAUDO, 2006). Primeiramente, a quitosana seca foi colocada em um béquer, conforme Figura 15, e em seguida, dissolvida em ácido acético 1% (v/v) durante 24 h, sob agitação.

Figura 15 – Quitosana em solução de ácido acético 1% (v/v) para posterior dissolução.



Após a dissolução completa, a solução foi colocada em uma placa de petri e foi adicionado 1,5% de D-glutaraldeído, ocorrendo a formação de um hidrogel de quitosana, conforme Figura 16 e dando início ao processo de funcionalização.

Figura 16 – Hidrogel de quitosana.



Em seguida, o hidrogel de quitosana foi colocado em um ultrafreezer modelo IULT 90-D (Indrel, Brasil) durante 48 h a uma temperatura de  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , onde ocorreu o congelamento do material. Após congelamento total, o material foi submetido a uma secagem por sublimação a frio em um liofilizador modelo L108 (Liobras, Brasil) durante 48 h a uma temperatura de  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$  e utilizando vácuo de  $44\text{ }\mu\text{mHg}$ . Na Figura 17, está apresentada a esponja de quitosana logo após a liofilização.

Figura 17 – Esponjas de quitosana.



#### 4.6. Caracterização da Quitosana

##### 4.6.1. Espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de Fourier - FTIR

A determinação dos grupamentos funcionais presentes nas superfícies da quitosana em pó foram avaliados em um espectrômetro de absorção molecular na região do infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) modelo Prestige 21, 210045 (Shimadzu, Japão), usando a técnica de refletância difusa, de acordo com Chowdhury *et al.* (2011).

##### 4.6.2. Ressonância Magnética Nuclear – RMN

Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  para a verificação do grau de desacetilação da quitosana foram obtidos em um espectrômetro modelo Bruker Ascend de 400 MHz, utilizando tubos de RMN com 5 mm de diâmetro. Para isso, foram pesadas amostras de 10 mg de quitosana e foram dissolvidas utilizando 1,5 mL de  $\text{H}_2\text{O}$ , 0,04 mL de HCl e 0,46 mL de  $\text{D}_2\text{O}$ . A análise foi realizada a uma temperatura de 70 °C.

A partir do espectro de RMN, foi determinado o grau de desacetilação através dos valores das integrais de cada pico de  $^1\text{H}$ , conforme a Equação 1, de acordo com Lavertu *et al.* (2003).

$$\text{GD}(\%) = \frac{H1D}{H1D + \frac{HAC}{3}} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Onde: H1D corresponde a integral do pico do monômero desacetilado e HAC é o a integral do pico do grupo acetil.

## 4.7. Caracterização da Esponja de Quitosana

### 4.7.1. Análise Termogravimétrica – TGA

A análise termogravimétrica (TGA) foi realizada em um analisador termogravimétrico modelo TGA-50 (Shimadzu, Japão). A programação de temperatura ocorreu de 25 a 1000 °C, com rampa de aquecimento de 10 °C/min a 1000 °C.

### 4.7.2. Calorimetria Exploratória Diferencial – DSC

As transições associadas aos processos exotérmicos e endotérmicos da esponja de quitosana foram determinadas utilizando um calorímetro de varredura diferencial (DSC) modelo DSC-60 (Shimadzu, Japão). A programação de temperatura ocorreu de 25 a 600 °C, com rampa de aquecimento de 10 °C/min a 400 °C.

### 4.7.3. Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV

As análises por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foram realizadas em um microscópio eletrônico de varredura modelo SM 6610 LV Scanning Electron Microscope (Jeol, Japão) e as amostras foram cobertas com ouro antes das análises.

#### 4.7.4. Espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de Fourier - FTIR

A determinação dos grupamentos funcionais presentes nas superfícies da esponja de quitosana foram avaliados em um espectrômetro de absorção molecular na região do infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) modelo Prestige 21, 210045 (Shimadzu, Japão), usando a técnica de refletância difusa, de acordo com Chowdhury *et al.* (2011).

#### 4.8. Procedimento da $\mu$ -dSPE

Para a otimização da  $\mu$ -dSPE, foram avaliados o pH da amostra (2, 4, 6, 8, 10 e 12), concentração da solução extratora ( $\text{HNO}_3$  0,01; 0,05; 0,1; 0,5; 1,0 e 2,0 mol L<sup>-1</sup>), volume da solução extratora (200, 400, 600, 800 e 1000  $\mu\text{L}$ ) e massa de adsorvente (5, 10, 20, 30, 40 e 50 mg).

O procedimento geral da  $\mu$ -dSPE consistiu na transferência de 2 mL de amostra em microtubos *Eppendorf* de 2 mL, com pH ajustado no valor de 4 (empregando soluções de NaOH 1,0 mol L<sup>-1</sup> e HCl 1,0 mol L<sup>-1</sup>), no qual foi adicionado 30 mg de adsorvente. Em seguida, a mistura foi submetida a agitação em vórtex por 1 min e centrifugação por 7200 rpm a 10 min. Posteriormente, foi retirada a fase contendo a amostra (sobrenadante) e 800  $\mu\text{L}$  de uma solução extratora ( $\text{HNO}_3$  1,0 mol L<sup>-1</sup>) foi adicionado. A mistura foi submetida novamente a agitação em vórtex por 1 min e centrifugação por 7200 rpm por 10 min. Por fim, o sobrenadante foi separado e filtrado em filtros de seringa de 0,22  $\mu\text{m}$  para posterior determinação de Fe por HR-CS F AAS. Os experimentos de otimização foram realizados com adição de analito, através de *spikes* de Fe na concentração de 2,5 mg L<sup>-1</sup>, antes de iniciar a extração.

#### 4.9. Determinação de Fe por HR-CS F AAS

A determinação elementar de Fe por HR-CS F AAS ocorreu no modo discreto (amostragem de volumes discretos), ou seja, aguardou-se até o início da integração do sinal analítico e então, foi iniciada a aspiração do extrato contendo Fe. A quantificação do analito ocorreu desta forma por consequência do volume final obtido

da extração (~800  $\mu\text{L}$ ). Na Tabela 6, estão apresentadas as condições instrumentais empregadas por HR-CS F AAS.

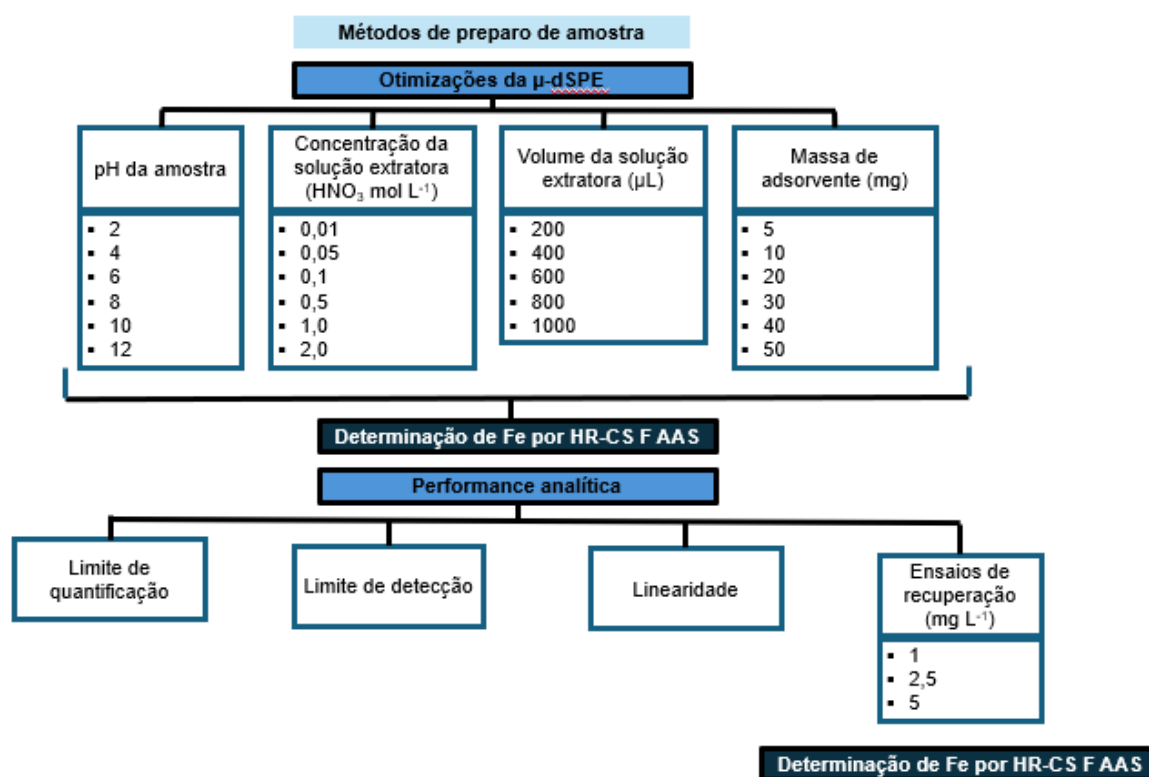
Tabela 6 – Condições instrumentais empregadas nas determinações de Fe por HR-CS F AAS.

Comprimento de onda (nm)	Vazão de $\text{C}_2\text{H}_2$ - Ar ( $\text{L h}^{-1}$ )	Taxa de aspiração ( $\text{mL min}^{-1}$ )	Altura do queimador (nm)
248,3270	50	5	6

#### 4.10. Fluxograma dos procedimentos empregados

Na Figura 18, está apresentado um fluxograma contendo as etapas de desenvolvimento do trabalho.

Figura 18 – Fluxograma das etapas de desenvolvimento do trabalho.



#### 4.11. Infraestrutura

Os experimentos de otimização da  $\mu$ -dSPE e as determinações por HR-CS AAS foram realizados no Laboratório de Preparo de Amostras III e no Laboratório de Espectrometria Atômica do Centro Integrado de Análises (CIA), respectivamente. As caracterizações por RMN foram realizadas na Sala de RMN e as caracterizações por DSC e TGA foram realizadas na Sala de Análises Térmicas, ambas localizadas no CIA. As caracterizações por MEV foram realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica da Região Sul (CEME-Sul). A produção de Quitosana e as esponjas de Quitosana, assim como as caracterizações por FTIR foram realizadas no Laboratório de Tecnologia Industrial (LTI) e na Sala de Espectroscopia, ambos localizados na Escola de Química e Alimentos (EQA), respectivamente. Toda a infraestrutura supracitada faz parte da Universidade Federal do Rio Grande (FURG).

#### 4.12. Análise estatística

O tratamento dos dados relativos à avaliação dos parâmetros da  $\mu$ -dSPE e durante a validação do método analítico foram executados com auxílio do *software Microsoft Excel 2024*. Ao longo da otimização da  $\mu$ -dSPE e na comparação dos resultados obtidos na validação do método, foi feito o teste de *Tukey-Kramer*, com nível de confiança de 95%. Os testes de comparação de médias foram realizados com auxílio do *software InStat GraphPad* versão 3.1.

#### 4.13. Performance analítica

A validação é definida como o processo de afirmar, por meio de estudos experimentais, que o método de preparo de amostras atenda aos requisitos das aplicações analíticas, assim, assegurando a confiabilidade dos resultados. A ANVISA estabelece parâmetros que devem ser avaliados para o desempenho do método, o qual deve cumprir com os critérios de aceitação estabelecidos (ANVISA, 2017). Neste trabalho, foram avaliados os parâmetros de limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), linearidade, exatidão e precisão.

#### 4.13.1. Limite de detecção e quantificação

Em análises envolvendo baixos níveis de analito, como na detecção de traços, é essencial determinar a menor concentração do analito que pode ser detectada e quantificada pelo método de análise. Sendo assim, é fundamental estimar o LOD de um procedimento analítico, o qual é definido como a menor quantidade de analito presente na amostra que pode ser detectada, embora não necessariamente quantificada, nas condições estabelecidas para o método. Além disso, tem-se o LOQ de um procedimento analítico, que corresponde à menor quantidade de analito presente na amostra que pode ser determinada de forma quantitativa, atendendo aos critérios de precisão e exatidão aceitáveis (ANVISA, 2017; INMETRO, 2020).

Os valores de LOD e LOQ foram determinados a partir dos parâmetros da curva de calibração e do desvio padrão ( $n=10$ ) do branco analítico, conforme a Equação 2 e 3.

$$LOD = 3,3 \times \frac{s}{S} \quad \text{Equação 2}$$

$$LOQ = 10 \times \frac{s}{S} \quad \text{Equação 3}$$

Onde:  $s$  é a estimativa do desvio padrão das leituras do branco analítico e  $S$  o coeficiente angular da curva de calibração.

#### 4.13.2. Linearidade

A linearidade de uma metodologia analítica refere-se à sua capacidade de fornecer respostas diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de uma faixa específica. É indispensável avaliar a relação linear em todo o intervalo estabelecido para o método, que abrange as concentrações mínima e máxima do analito na amostra, nas quais a metodologia demonstra um nível aceitável de precisão, exatidão e linearidade (ANVISA, 2017; INMETRO, 2020).

A linearidade do método foi avaliada através de curva de calibração na faixa de 0,1 a 23,0 mg L<sup>-1</sup>. A partir dos dados da curva, foi estimado o coeficiente de determinação ( $R^2$ ).

#### 4.13.3. Exatidão e precisão

A exatidão do método também pode ser determinada por diversas formas, incluindo ensaios de recuperação. A recuperação do analito pode ser estimada pela análise de amostras fortificadas com quantidades conhecidas. As amostras podem ser fortificadas com o analito em pelo menos três diferentes concentrações (baixa, média e alta) da faixa de uso do método (INMETRO, 2020). Dessa forma, foram realizadas adições de diferentes concentrações (1; 2,5 e 5 mg L<sup>-1</sup>) de Fe na amostra de cerveja e avaliou-se as recuperações. Os valores foram calculados através da Equação 4.

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{C_1 - C_2}{C_3} \times 100 \quad \text{Equação 4}$$

Onde: C<sub>1</sub> é a concentração do analito na amostra fortificada, C<sub>2</sub> é a concentração do analito na amostra não fortificada e C<sub>3</sub> é a concentração do analito adicionada à amostra fortificada.

A precisão foi avaliada através da repetibilidade das concentrações obtidas nas análises através do desvio padrão relativo (RSD).

#### 4.14. Tratamento de resíduos

Os resíduos gerados durante a execução deste trabalho foram descartados em frascos devidamente rotulados de acordo com as normas definidas pela Comissão de Resíduos da FURG e, em seguida, foram armazenados em local apropriado para posteriormente serem coletados pela Instituição de Ensino e enviados diretamente para o seu devido tratamento.

## 5.RESULTADOS E DISCUSSÕES

---

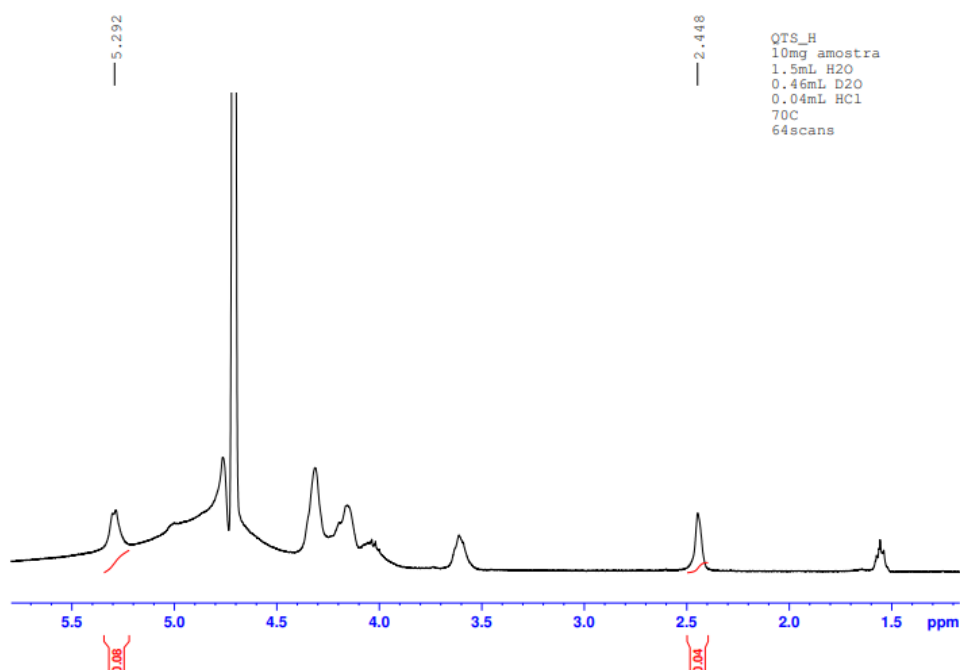
### 5.1. Caracterização da quitosana

#### 5.1.1. Ressonância Magnética Nuclear – RMN

Diversas técnicas analíticas podem ser empregadas para determinar o grau de desacetilação da quitosana. Porém, a escolha da técnica depende de fatores como a solubilidade da amostra e a disponibilidade de equipamentos (RINAUDO, 2006). O grau de desacetilação determina a quantidade de unidades de D–glucosamina gerados a partir da ruptura parcial das ligações de N–acetil, indicando o percentual de monômeros desacetilados presentes na estrutura. Quando o grau de desacetilação está acima de 70%, é possível caracterizar o polímero como quitosana, o qual se torna solúvel em meio ácido (RINAUDO, 2006).

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$ , ilustrado na Figura 19, foi utilizado para a determinação do grau de desacetilação conforme estudo de Lavertu *et al.* (2003). A partir dos valores referentes as integrais do monômero desacetilado e do acetilado, foi possível obter o grau de desacetilação de 86%, atribuído a quitosana.

Figura 19 – Espectro de RMN.



## 5.2. Caracterização da Esponja de Quitosana

### 5.2.1. Análise Termogravimétrica - TGA

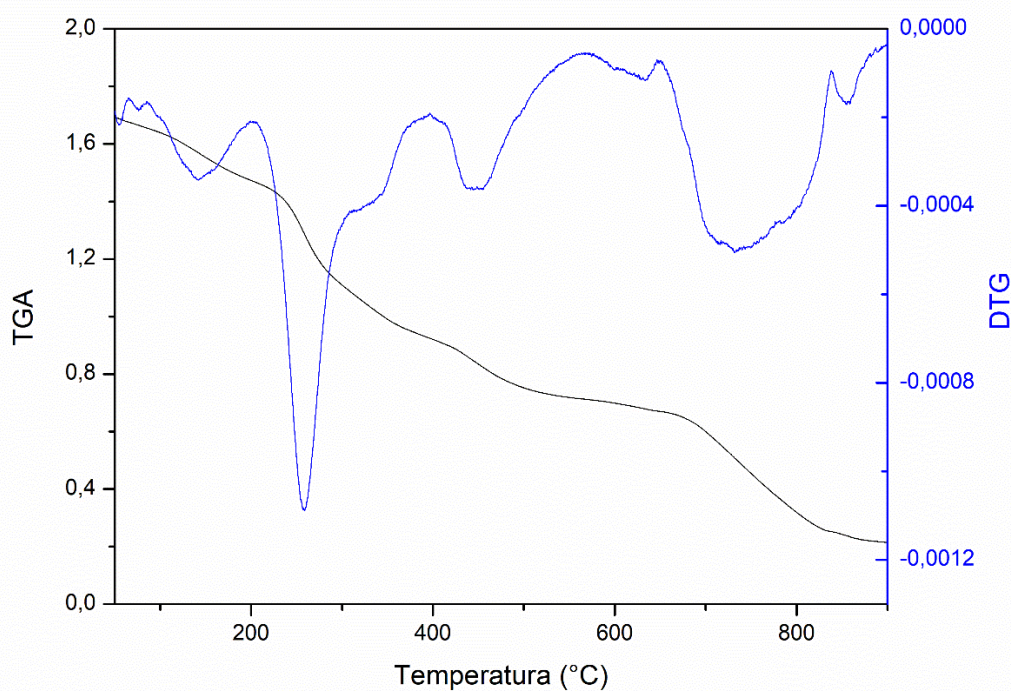
A análise termogravimétrica (TGA), é uma técnica que determina a variação da massa de uma amostra em função da temperatura (modo dinâmico) ou tempo (modo isotérmico), enquanto a amostra é submetida a um programa de temperatura controlado, podendo variar de temperaturas negativas até 1000 °C (SOUZA, 2019; GRANDINI, 2022). O emprego dos modos de análise de TGA depende do material em estudo. Aplicando esta técnica, obtém-se curvas termogravimétricas que fornecem informações quanto a estabilidade térmica da amostra, composição e umidade (GRANDINI, 2022; LONASHIRO, 2004). Com a curva termogravimétrica definida, é possível obter a primeira derivada da variação de massa em função da temperatura, chamada de DTG a qual determina as etapas de decomposição do material (HONG *et al.*, 2007).

Para caracterizar as esponjas de quitosana, foi necessário buscar informações sobre a perda de massa com aquecimento e detectar as mudanças de fase, considerando sua decomposição e oxidação. Dessa forma, relacionando a DTG com a curva termogravimétrica, é possível indicar com exatidão as temperaturas que correspondem ao início da reação e ao instante em que a velocidade é máxima. Uma vez que com a DTG as etapas de perda de massa podem ser mais bem distinguidas, quando comparado a utilização apenas da TG (GRANDINI, 2022). Portanto, através da curva termogravimétrica e da primeira derivada da variação de massa em função da temperatura, foi possível compreender a decomposição térmica da esponja de quitosana, conforme Figura 20.

Na Figura 20, é possível observar quatro etapas distintas de perda de massa. A primeira etapa, abaixo de 200 °C, pode ser atribuída a evaporação das moléculas de água adsorvidas ao material (BANIHASHEM *et al.*, 2020). Posteriormente, ocorreu a segunda etapa, entre 200 a 400 °C, que pode ser atribuída a oxidação térmica dos grupamentos amina e hidroxila. A penúltima etapa ocorreu na faixa de 500 a 600 °C, que se deve a decomposição dos hidrocarbonetos restantes na estrutura. A última etapa ocorreu em 600 a 800 °C, onde pode ser atribuído a incorporação do agente de

reticulação e a degradação do material como um todo (EBISIKE *et al.*, 2020; CAO *et al.*, 2023).

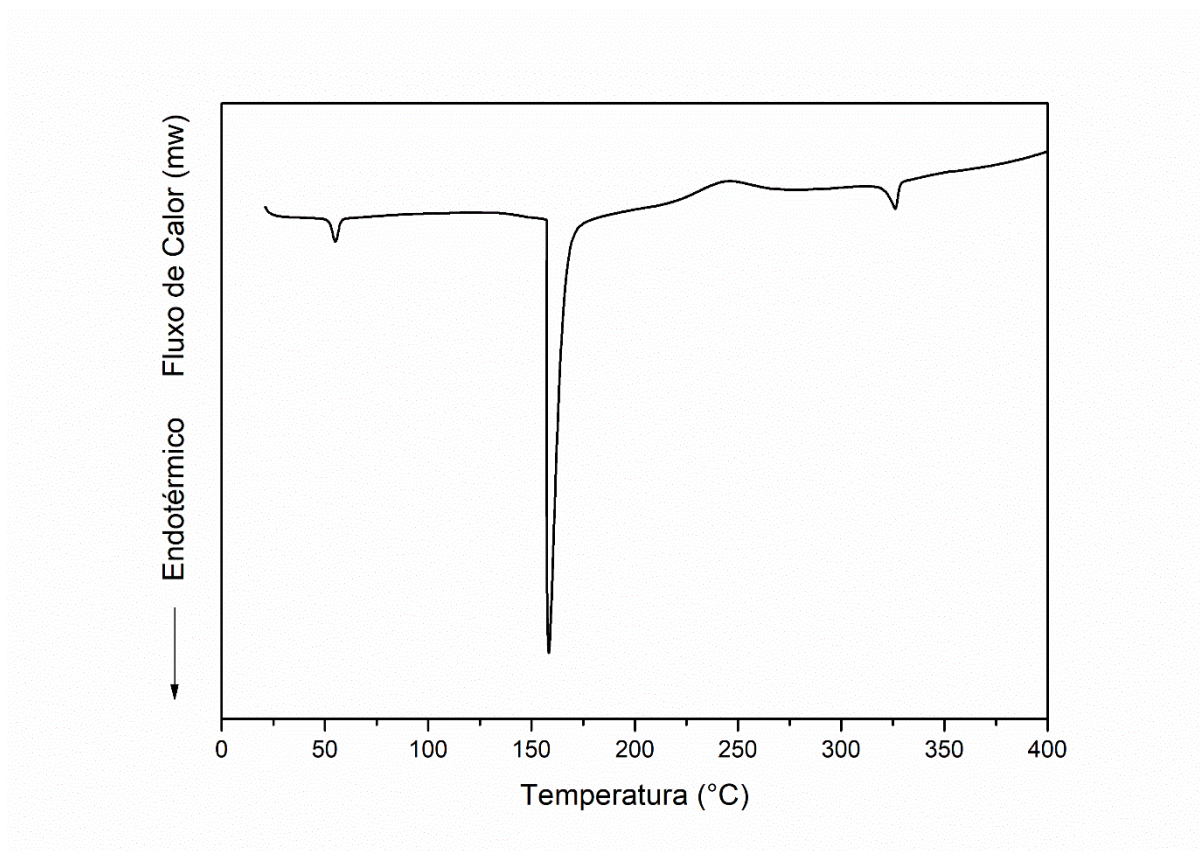
Figura 20 – Análise termogravimétrica de esponjas de quitosana.



### 5.2.2. Calorimetria Exploratória Diferencial – DSC

A análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC) é uma técnica que retrata a diferença de energia fornecida à amostra e a um material de referência, em função da temperatura, uma vez que a amostra e o material de referência são submetidos a uma programação controlada de temperatura. Aplicando esta técnica, obtém-se curvas endotérmicas que fornecem informações quanto a fusão, perda de massa da amostra, dessorção e reações de redução. A DSC é mais aplicada para encontrar informações sobre a fusão de materiais, visto que é uma propriedade de transição de primeira ordem, a qual é característica de metais, materiais cristalinos e semicristalinos (LONASHIRO, 2004). A Figura 21 representa o perfil calorimétrico da esponja de quitosana.

Figura 21 – Perfil de DSC da esponja de quitosana.



A Figura 21 apresenta o perfil de DSC da esponja de quitosana, onde a esponja apresentou no começo do programa de aquecimento uma alteração na linha de base a partir da temperatura ambiente com a formação de um pico endotérmico encontrado em aproximadamente 50 °C, sendo atribuído a evaporação de água (CUÉLLAR-GAONA *et al.*, 2024). Posteriormente, é possível observar um pico em aproximadamente 150 °C que pode ser atribuída a fusão cristalina do polímero, onde ocorre a redução na cristalinidade. Por volta de 250 °C, é possível observar um pico exotérmico, o qual é atribuído a oxidação da matéria orgânica do material (CADAVAL *et al.*, 2014). Em aproximadamente 320 °C, o pico endotérmico identificado é característico a degradação térmica da esponja de quitosana (BHAVSAR *et al.*, 2021).

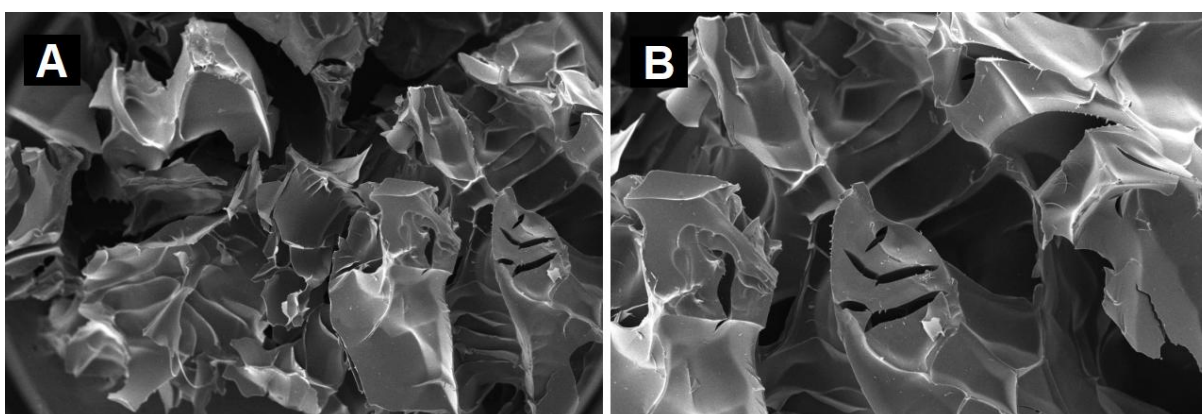
### 5.2.3. Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é geralmente empregada para o estudo de estruturas superficiais de amostras e da sua morfologia. As imagens obtidas

possuem alta profundidade de foco, o que possibilita obter diferentes relevos da superfície da amostra (MAHMOUDIAN *et al.*, 2020). Além disso, também é utilizado para observar a porosidade de um adsorvente, tamanho e forma (MAHMOUDIAN *et al.*, 2020).

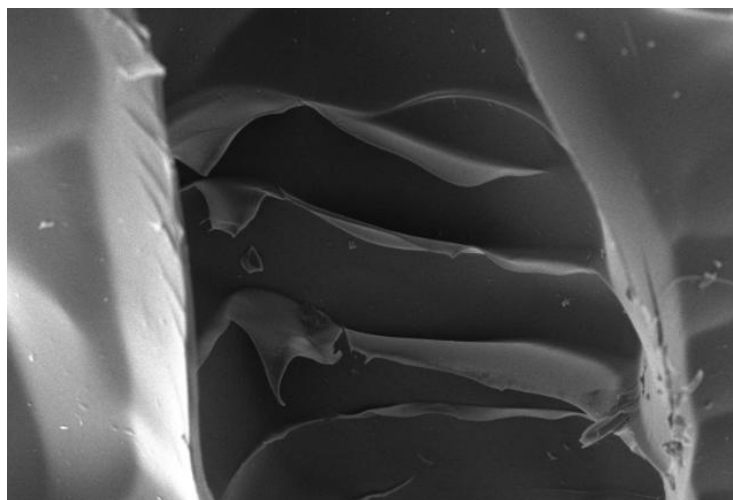
Portanto, a técnica foi escolhida para avaliar a morfologia e as propriedades superficiais da esponja de quitosana funcionalizadas com glutaraldeído. As imagens de MEV da esponja está apresentada na Figura 22.

Figura 22 – Imagens de MEV da esponja de quitosana funcionalizada com glutaraldeído, ampliada em x30 (A) e x50 (B).



A superfície do material da esponja de quitosana apresenta partículas de formato irregular, ondulações, camadas espessas e uma variedade de tamanhos de poros, conforme ilustrado na Figura 22. A presença dessas irregularidades mostra que a superfície da esponja não é uniformemente lisa e possui elevada porosidade (MAHMOUDIAN *et al.*, 2020). Com base nas imagens, o material apresenta uma estrutura de poros heterogênea, uma vez que as partículas que formam o material podem ter uma variedade de tamanhos, formas e orientações, além das camadas e poros espessos, como pode ser observado na Figura 23, onde mostra uma imagem de MEV ampliadas em x150 e pode se observar as camadas espessas da estrutura.

Figura 23 – Imagem de MEV da esponja de quitosana funcionalizada com glutaraldeído.



Através da morfologia apresentada da esponja, sua superfície e sua rede de poros interconectados com as camadas espessas, torna o adsorvente apropriado para ser aplicado em diferentes métodos de preparo de amostra para a adsorção de íons metálicos.

#### 5.2.4. Espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de Fourier - FTIR

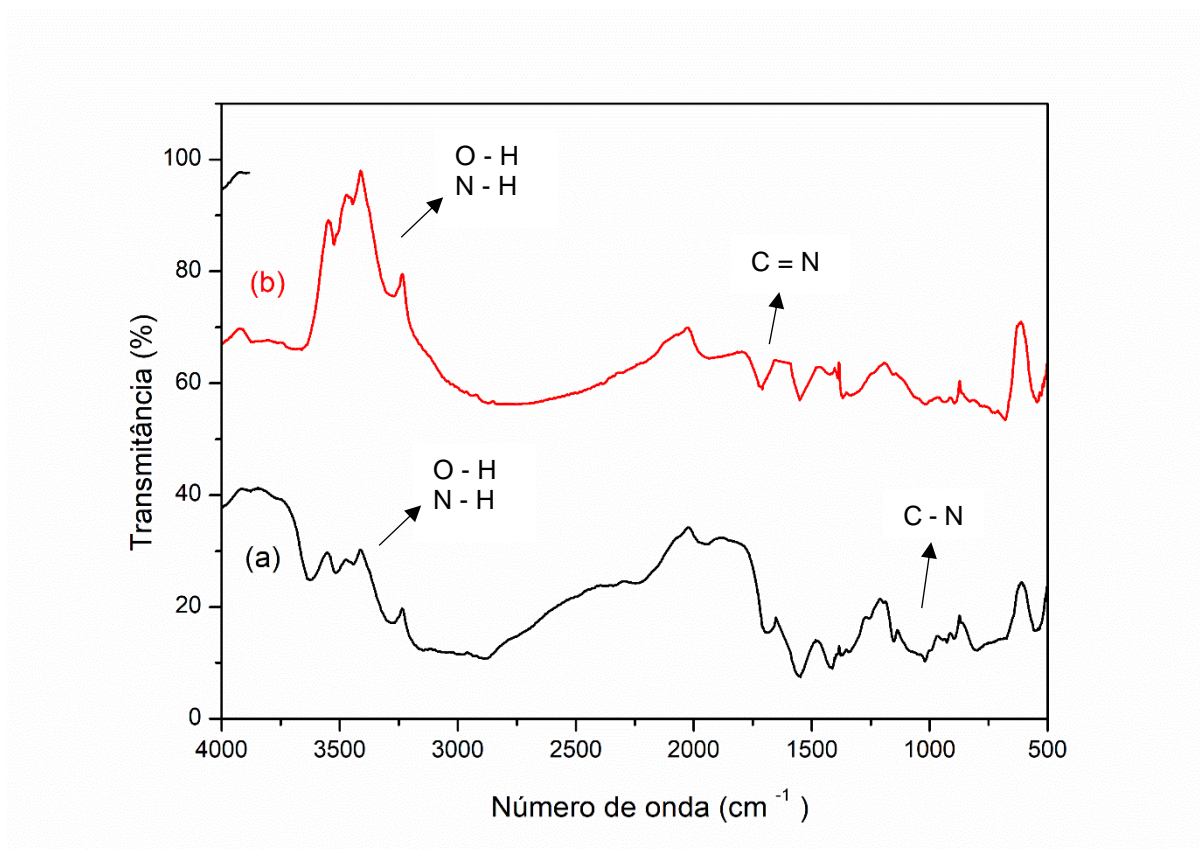
Os espectros de FTIR da quitosana e da esponja de quitosana estão representados na Figura 24, apresentando as alterações nos modos vibracionais dos principais grupamentos, a fim de confirmar as modificações.

Na Figura 24 (a) é apresentada a quitosana bruta e podem ser observadas bandas características do biomaterial. Em torno de 3550 e 3276  $\text{cm}^{-1}$  são identificados estiramentos dos grupos O-H e N-H, os quais são característicos dos grupos presentes na quitosana (CUÉLLAR-GAONA *et al.*, 2024). Logo, é possível observar em aproximadamente 1350-1000  $\text{cm}^{-1}$  uma banda que pode ser atribuída ao alongamento de C-N e N-H (CADAVAL *et al.*, 2013; DOTTO *et al.*, 2013; ALAGHA *et al.*, 2020).

Na Figura 24 (b) está apresentada as bandas características da reticulação da quitosana com glutaraldeído que forma uma base Schiff a partir dos grupos amina e aldeído do polímero (CHEN, 2009). Em torno de 1675-1710  $\text{cm}^{-1}$  é possível observar

bandas relativas ao grupamento imina, confirmando a ligação de reticulação (CHATTERJEE *et al.*, 2009; ALAGHA *et al.*, 2020).

Figura 24 – Espectros de FTIR: (a) quitosana e (b) quitosana reticulada com glutaraldeído.

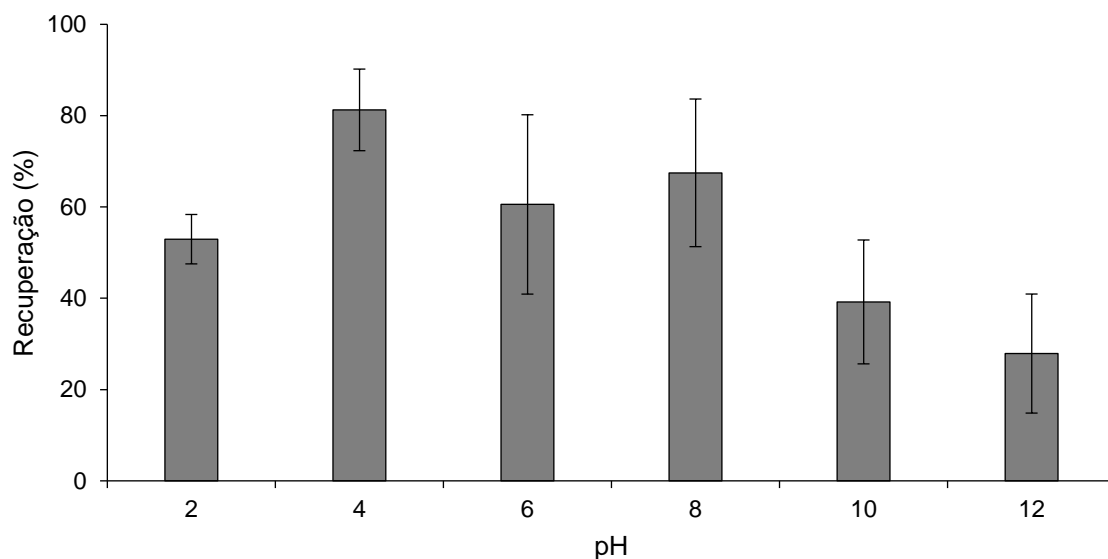


### 5.3. Avaliação dos parâmetros da $\mu$ -dSPE

#### 5.3.1. pH

O pH da solução é um parâmetro fundamental no processo de extração na  $\mu$ -dSPE, uma vez que influencia na eficiência de extração e está diretamente relacionado ao estado de ionização dos grupos funcionais do material (DEMIR *et al.*, 2021). Sendo assim, valores de pH variando de 2 a 12 foram empregados para a pré-concentração de Fe em amostra de cerveja do estilo Pilsen, conforme a Figura 25.

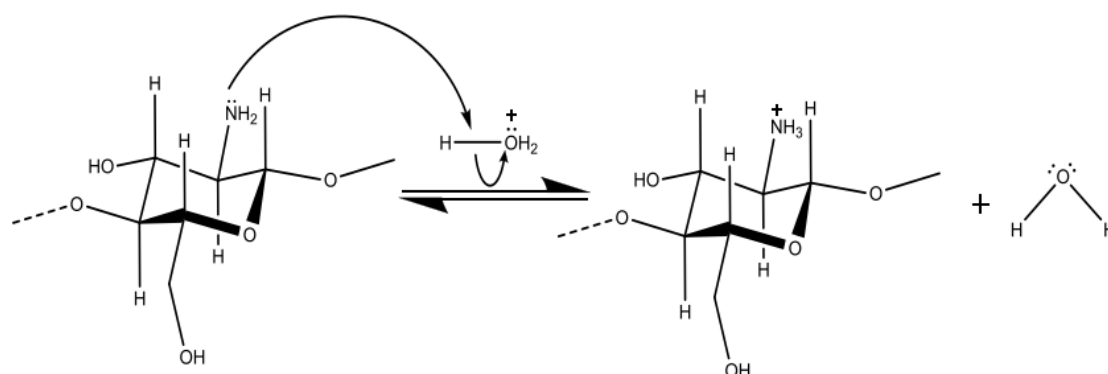
Figura 25 – Efeito do pH da amostra para extração de Fe. As barras de erros representam o desvio padrão (n=3).



Condições: 10 mg de adsorvente, 2 mL de amostra (pH ajustado com HCl 1 mol L<sup>-1</sup> e NaOH 1 mol L<sup>-1</sup> e *Spike* de Fe na concentração de 2,5 mg L<sup>-1</sup>), agitação em vórtex por 1 min, centrifugação a 7200 rpm por 10 min e 400 µL de HNO<sub>3</sub> 0,01 mol L<sup>-1</sup>.

A solubilidade da quitosana é inteiramente dependente do pH em que ela se encontra, pois pode influenciar suas propriedades físico-químicas. A adsorção de metais pode ocorrer por quelação em soluções com pH neutro ou por protonação em soluções ácidas, quando se trata de metais catiônicos e aniônicos, respectivamente. A protonação ocorre a partir do -NH<sub>2</sub> funcional no C-2 das unidades repetidas de D-glucosamina, como ilustrado na Figura 26.

Figura 26 – Protonação da quitosana em meio ácido.



Fonte: MOURA, 2014.

Isso ocorre devido as forças eletrostáticas e os pares de elétrons livres do nitrogênio geradas pelos grupos amino em soluções com diferentes teores de pH, fazendo com que a quitosana seja utilizada de formas diferentes, independente da sua funcionalização (GUIBAL, 2004). Parâmetros importantes como solubilidade e pH podem interferir durante a utilização da quitosana como adsorvente em métodos analíticos sem uma devida reticulação ou modificação química, devido à sua alta cristalinidade, baixa resistência mecânica e instabilidade em meio ácido. A solubilidade da quitosana na solução de pH tipicamente menor que 4 é a principal desvantagem da quitosana (MOURA *et al.*, 2021). A quitosana quando modificada quimicamente apresenta maior adsorção em pH ácidos e neutros, visto que com o aumento do pH ocasiona no aumento da concentração de íons  $\text{OH}^-$ , impossibilitando uma adsorção eficiente (UPADHYAY *et al.*, 2021; MOURA *et al.*, 2021). Portanto, a relação entre a quitosana e o pH da solução é fundamental para otimizar suas aplicações e preservar suas propriedades físico-químicas.

Portanto, a quitosana foi funcionalizada com glutaraldeído a fim de diminuir a solubilidade do adsorvente e apresentar maior adsorção em meio ácido. Conforme a Figura 25, é possível observar que a quitosana teve maior eficiência de extração em pH 4, no qual a recuperação foi de 81%. As menores eficiências de extração ocorreram a partir do pH 10, o qual forneceu a recuperação de 39%, confirmando que a modificação química do biomaterial se mostrou eficaz para a sua aplicação em pHs mais ácidos. Além do pH 10, baixas recuperações também foram obtidas em pH 2 e 12, sendo 53 e 28%, respectivamente. Os ensaios em valores de pH 6 e 8,

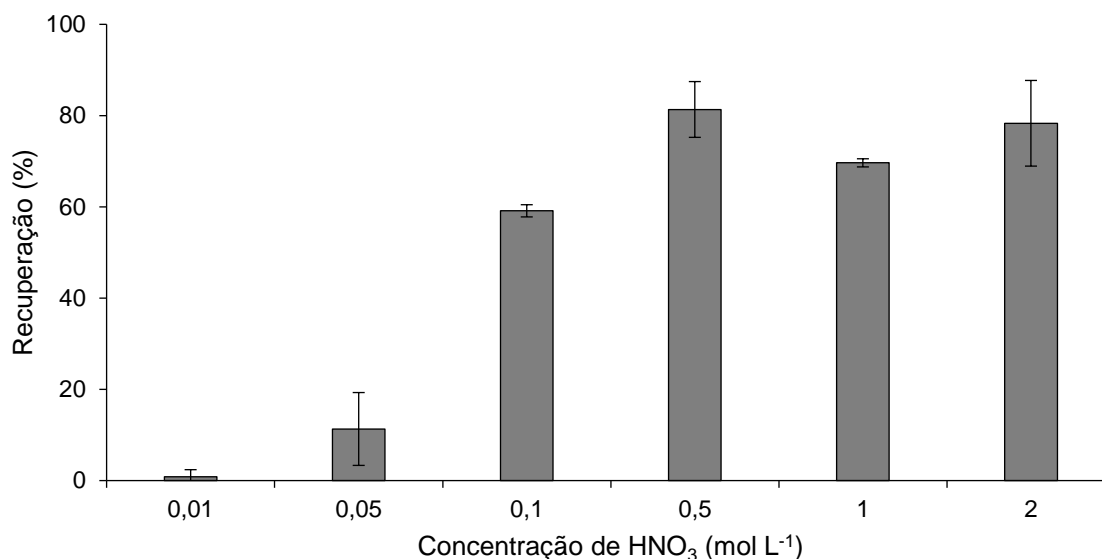
apresentaram 60 e 67% de recuperação, respectivamente. Portanto, as recuperações variaram entre 28 e 81%, onde o pH 4 foi escolhido para os experimentos subsequentes com base na maior recuperação obtida.

Dinu *et al.* (2021) relatou que os biomateriais a base de quitosana modificados quimicamente, apresentaram maior afinidade pelos íons Fe(III) em meio ácido (pH=4). Katarina *et al.* (2008) desenvolveram uma resina quelante a base de quitosana, a fim de utilizar como adsorvente na SPE para a determinação de diversos metais. A resina apresentou excelente capacidade de adsorção para metais de transição e elementos de terras raras, enquanto mostrou baixa afinidade por metais alcalinos e alcalino-terrosos em meios ácidos. Em pH 4, aproximadamente 25 elementos puderam ser coletados de forma quantitativa. Todos os metais foram facilmente recuperados da resina usando  $\text{HNO}_3$  1 mol  $\text{L}^{-1}$ . A resina apresentou estabilidade durante vários meses de armazenamento, e verificou-se que, mesmo após cerca de 30 vezes de uso no preparo das amostras, o comportamento de adsorção foi quase o mesmo que o primeiro. Dessa forma, o emprego da resina para a pré-concentração de metais obteve resultados favoráveis em amostras de água do mar utilizando a técnica de ICP-MS.

### 5.3.2. Concentração da solução extratora

A concentração da solução extratora é um parâmetro importante para a eficiência da extração na dSPE, visto que a concentração de  $\text{HNO}_3$  está inteiramente relacionada com a solubilidade do adsorvente e suas propriedades físico-químicas. Portanto, é importante salientar, que a modificação química da quitosana foi realizada objetivando uma eficiente extração com  $\text{HNO}_3$  diluído na etapa de dessorção. A eficiência de extração de Fe, foi avaliada adicionando um volume fixo de 400  $\mu\text{L}$  de soluções contendo  $\text{HNO}_3$  nas concentrações de 0,01; 0,05; 0,1; 0,5; 1,0 e 2,0 mol  $\text{L}^{-1}$  conforme ilustrado na Figura 27.

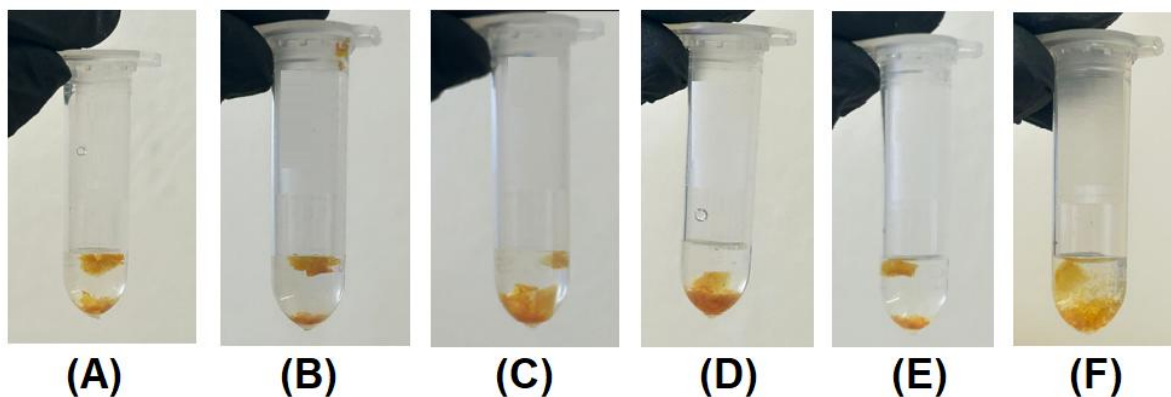
Figura 27 – Efeito da concentração de  $\text{HNO}_3$  para extração de Fe. As barras de erros representam o desvio padrão (n=3).



Condições: 10 mg de adsorvente, 2 mL de amostra (pH 4 ajustado com  $\text{HCl}$  1 mol  $\text{L}^{-1}$  e  $\text{NaOH}$  1 mol  $\text{L}^{-1}$  e *Spike* de Fe na concentração de 2,5 mg  $\text{L}^{-1}$ ), agitação em vórtex por 1 min, centrifugação a 7200 rpm por 10 min e 400  $\mu\text{L}$  de  $\text{HNO}_3$ .

É importante salientar, que as propriedades físico-químicas da quitosana a torna solúvel na maioria dos ácidos, como  $\text{HNO}_3$  e  $\text{HCl}$ . Porém, neste estudo avaliou-se concentrações diferentes de  $\text{HNO}_3$  e não de  $\text{HCl}$ , visto que durante o processo de obtenção da quitosana já é utilizado uma grande quantidade de  $\text{HCl}$  e este poderia influenciar na eficiência de extração. Em concentrações elevadas de  $\text{HNO}_3$ , pode ocorrer uma inversão do estado físico da esponja de quitosana, onde a partir de 2 mol  $\text{L}^{-1}$  a esponja volta a se tornar visivelmente um hidrogel, conforme a Figura 28 (F). Isso ocorre devido a uma degradação da estrutura da quitosana, afetando sua viscosidade e seu comportamento em meio ácido.

Figura 28 – Etapa do processo de dessorção. Onde: 0,01 mol L<sup>-1</sup> (A) 0,05 mol L<sup>-1</sup> (B) 0,1 mol L<sup>-1</sup> (C) 0,5 mol L<sup>-1</sup> (D) 1 mol L<sup>-1</sup> (E) e 2 mol L<sup>-1</sup> (F).



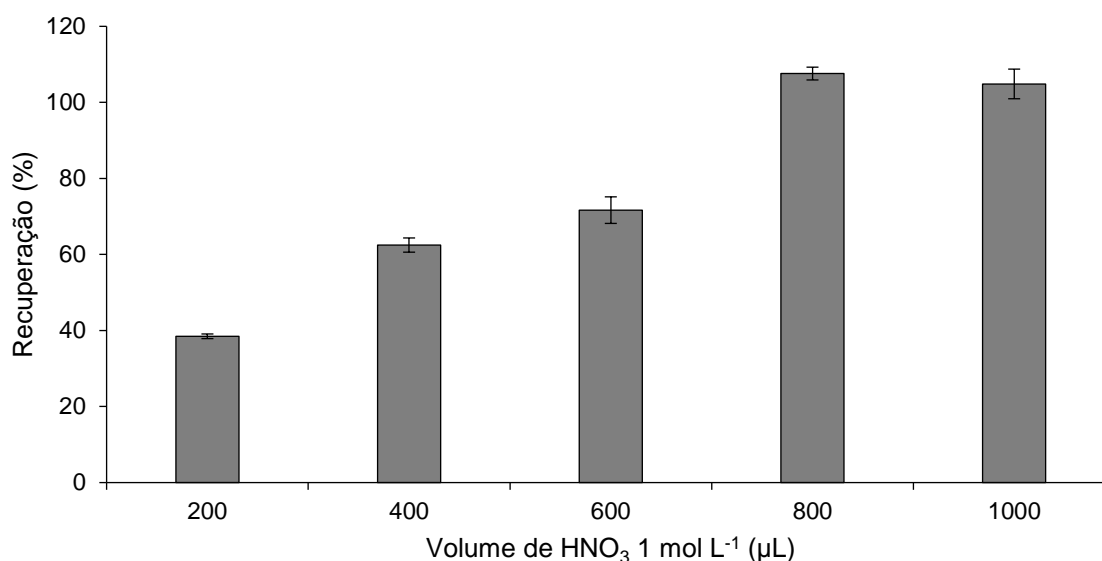
Condições: 400  $\mu$ L de HNO<sub>3</sub> e 10 mg de quitosana.

As recuperações variaram entre 1 e 81% e não foram observadas diferenças significativas (ANOVA,  $p > 0,05$ ) entre 0,5; 1,0 e 2,0 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub>. No entanto, a concentração de 1,0 mol L<sup>-1</sup> foi escolhida, visto que apresentou menores valores de brancos e menor desvio padrão (RSD igual a 1%).

### 5.3.3. Volume da solução extratora

A avaliação do volume de solução extratora foi dada pela maior recuperação entre as soluções contendo HNO<sub>3</sub> com volumes de 200, 400, 600, 800 e 1000  $\mu$ L, conforme ilustrado na Figura 29.

Figura 29 – Efeito do volume de HNO<sub>3</sub> para extração de Fe. As barras de erros representam o desvio padrão (n=3).



Condições: 10 mg de adsorvente, 2 mL de amostra (pH 4 ajustado com HCl 1 mol L<sup>-1</sup> e NaOH 1 mol L<sup>-1</sup> e *Spike* de Fe na concentração de 2,5 mg L<sup>-1</sup>), agitação em vórtex por 1 min, centrifugação a 7200 rpm por 10 min e adição de HNO<sub>3</sub> 1 mol L<sup>-1</sup>.

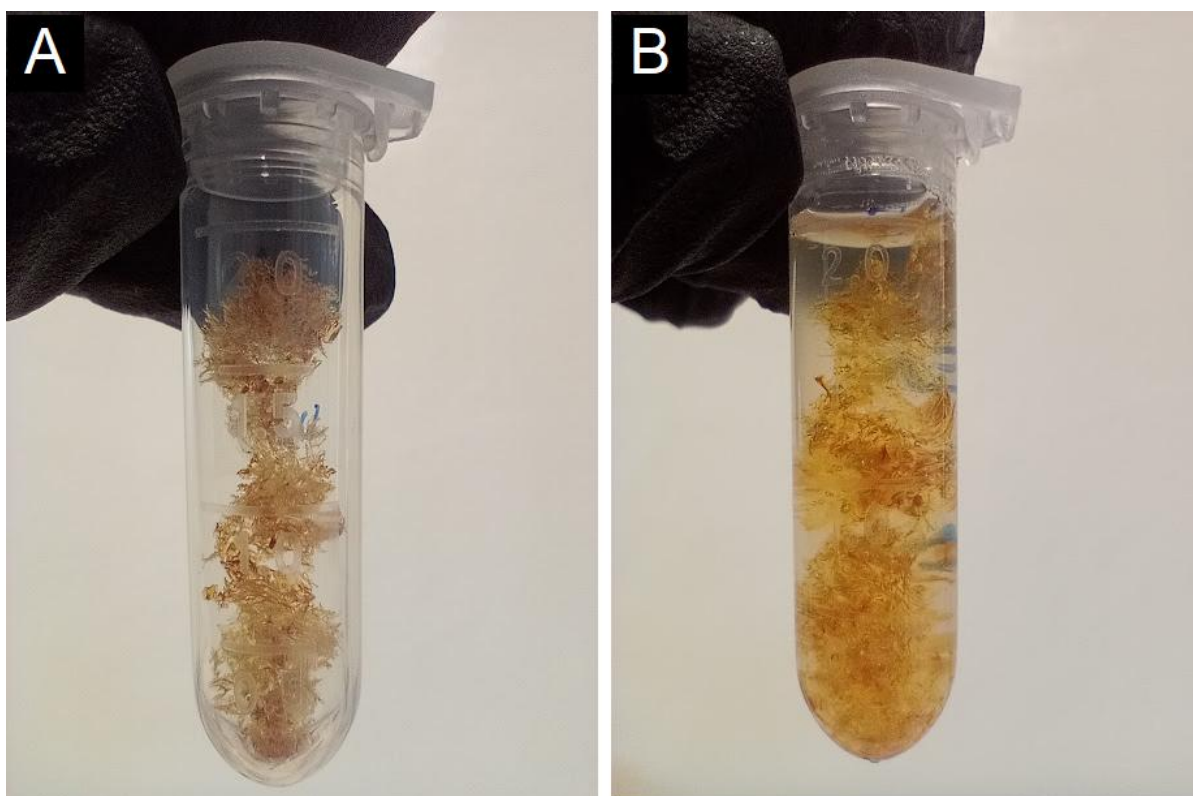
O volume da solução extratora tem efeito importante no fator de pré-concentração do analitos em métodos de microextração, como a  $\mu$ -dSPE. Um dos objetivos é a utilização do menor volume de ácido possível obtendo a melhor eficiência de extração (REZAEI *et al.*, 2010). O volume do solvente extrator influencia diretamente o fator de pré-concentração, pois quando o volume da solução extratora aumenta, o fator de pré-concentração é reduzido (MARTINS *et al.*, 2012). Além disso, a avaliação de volumes do solvente extrator (> 150  $\mu$ L) contribui para os processos de transferência de massa do analito entre a matriz e o solvente extrator, porém colabora para a diluição do extrato e conseqüentemente para a elevação dos valores de LODs (DUARTE *et al.*, 2016).

Logo, foi realizada a avaliação do volume de solução extratora (HNO<sub>3</sub> 1 mol L<sup>-1</sup>) e foi possível observar que ao aumentar o volume de solução, houve um aumento nas recuperações do analito, demonstrando que o aumento da solução colaborou com a dessorção do analito. As recuperações variaram entre 38 e 107% e não apresentaram diferenças significativas (ANOVA,  $p > 0,05$ ) entre 800 e 1000  $\mu$ L. Sendo

assim, optou-se pelo volume de 800  $\mu\text{L}$  por ser o menor volume com maior recuperação, empregando volumes menores, atendendo a um dos princípios da GAC.

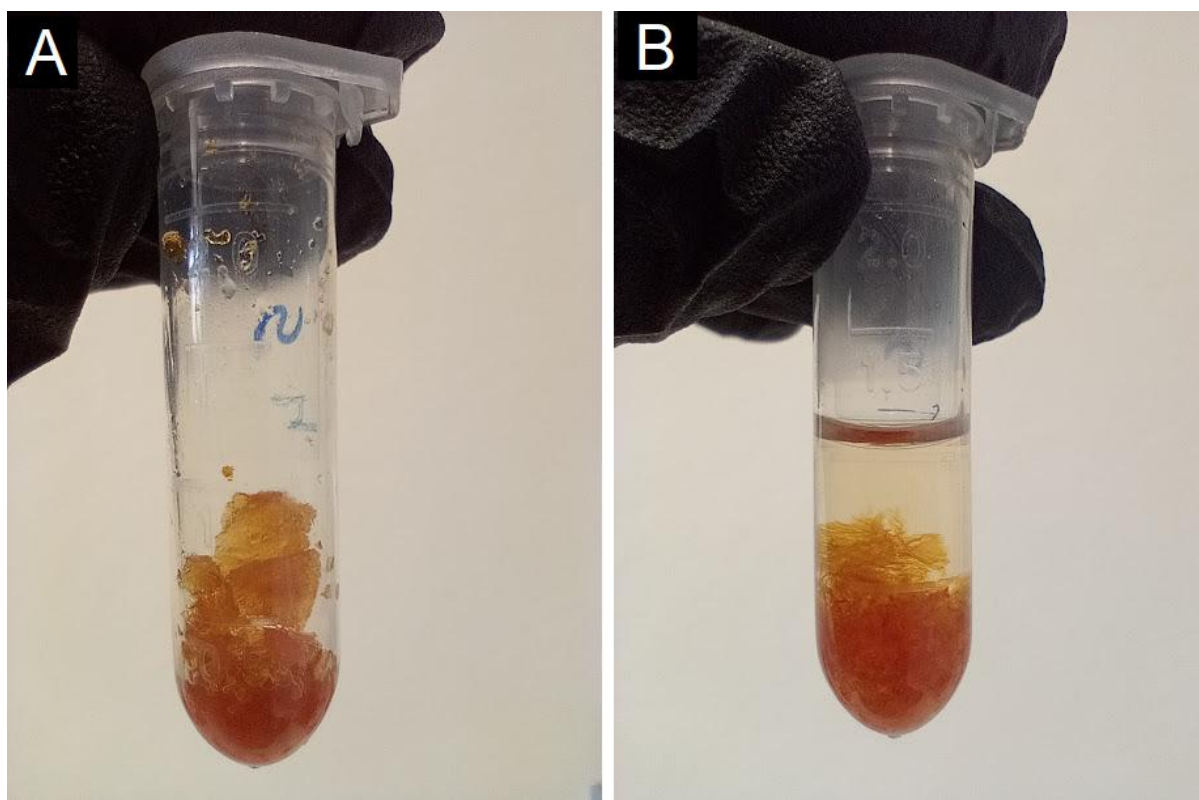
No caso da esponja de quitosana, a mesma possui uma grande área superficial, resultando em macro poros e, conseqüentemente, mesmo em pequenas quantidades, ocupa um espaço considerável do microtubo *ependorf*, conforme ilustrado nas Figuras 30 e 31. Dessa forma, volumes menores de solução extratora resultam em dessorção parcial do analito.

Figura 30 – Etapa de adsorção, onde (A) Microtubo Eppendorf com quitosana e (B) Microtubo Eppendorf com adição da amostra.



Condições: 2 mL de amostra e 30 mg de esponja de quitosana.

Figura 31 – Etapa de dessorção (A) após o descarte do sobrenadante e (B) com a adição da solução extratora.



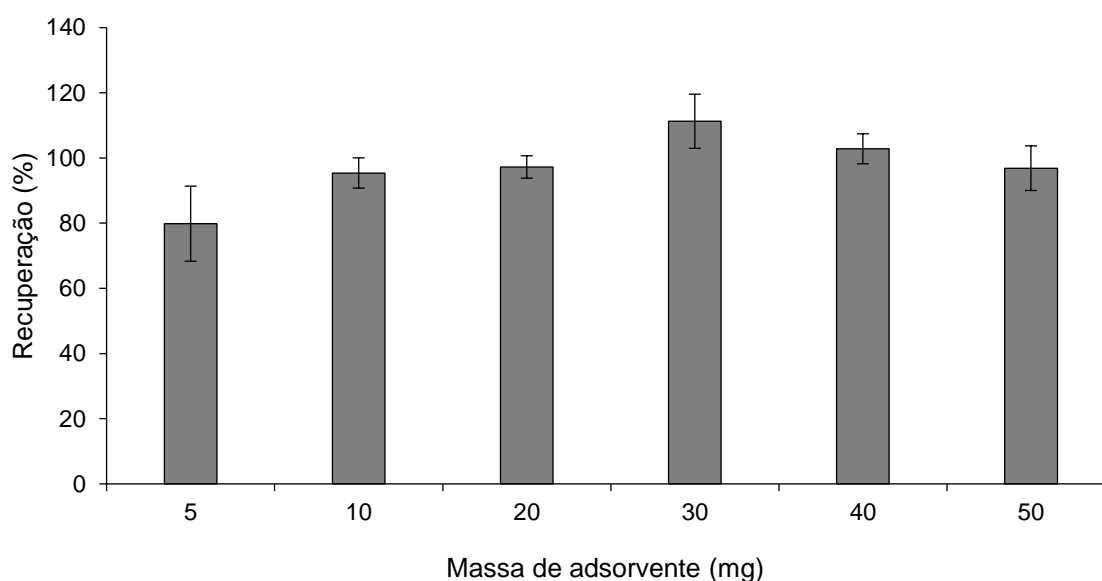
Condições: 30 mg de esponja de quitosana; 800  $\mu\text{L}$  de  $\text{HNO}_3$  1 mol  $\text{L}^{-1}$ .

A quantidade de solução extratora também foi avaliada diretamente no estudo de Demir *et al.* (2021). Durante o procedimento de extração, a dessorção de Te utilizando hidrogel magnético, foi realizada por meio da digestão do material em  $\text{HNO}_3$  concentrado. O autor relata que determinar a quantidade ideal de solução extratora assegura um elevado fator de pré-concentração. Para isso, foram testados volumes de 125, 150, 200 e 300  $\mu\text{L}$  de  $\text{HNO}_3$ . No estudo, foi possível verificar que volumes excessivos provocaram diluição da concentração do analito, resultando em redução dos valores de absorvância. O volume de 150  $\mu\text{L}$  mostrou-se adequado para dissolver completamente os hidrogéis, sendo o volume selecionado como o parâmetro ideal para a dSPE.

#### 5.3.4. Massa de adsorvente

O último parâmetro a ser avaliado na  $\mu$ -dSPE foi a massa de adsorvente. Onde foram avaliadas 5, 10, 20, 30, 40 e 50 mg de esponja de quitosana, como ilustrado na Figura 32.

Figura 32 – Efeito da massa de adsorvente para extração de Fe. As barras de erros representam o desvio padrão (n=3).



Condições: Adição de adsorvente, 2 mL de amostra (pH 4 ajustado com HCl 1 mol L<sup>-1</sup> e NaOH 1 mol L<sup>-1</sup> e *Spike* de Fe na concentração de 2,5 mg L<sup>-1</sup>), agitação em vórtex por 1 min, centrifugação a 7200 rpm por 10 min e 800  $\mu$ L de HNO<sub>3</sub> 1 mol L<sup>-1</sup>.

Pode ser observado que com o aumento da quantidade de adsorvente, foi ocorrendo um aumento nas recuperações, as quais variaram entre 79 e 111%. No entanto, não houveram diferenças significativas (ANOVA,  $p > 0,05$ ) entre as massas avaliadas. Sendo assim, optou-se por utilizar 30 mg de adsorvente.

A quantidade de adsorvente utilizada na microextração influencia na eficiência do método, uma vez que, quanto maior a quantidade de adsorvente, maior será a adsorção dos analitos. Entretanto, uma quantidade maior que 50 mg de esponja de quitosana pode interferir na adsorção, diminuindo a seletividade do método (CHISVERT *et al.*, 2019). Adicionalmente, a utilização de quantidades excessivas de adsorvente requer maior quantidade de amostra durante o método proposto (DEMIR

*et al.*, 2021). O potencial da utilização das esponjas de quitosana é de grande interesse e vai além do aumento da seletividade do método, uma vez que o biomaterial pode ser utilizado para reter os analitos de forma eficiente, onde os analitos são extraídos facilmente com ácido diluído. Sendo assim, a otimização da quantidade de adsorvente é fundamental para garantir a eficiência de extração.

No estudo de Demir *et al.* (2021), foram avaliadas diferentes massas de hidrogéis a base de quitosana, sendo elas 10, 15, 25 e 40 mg, a fim de investigar a quantidade ideal de hidrogéis de quitosana magnética que servem como materiais adsorventes. O valor de absorvância foi aumentado com a maior quantidade de adsorvente até 25 mg. Após essa quantidade, a absorvância não apresentou alteração significativa, revelando que 25 mg foram suficientes para coletar o analito (Te).

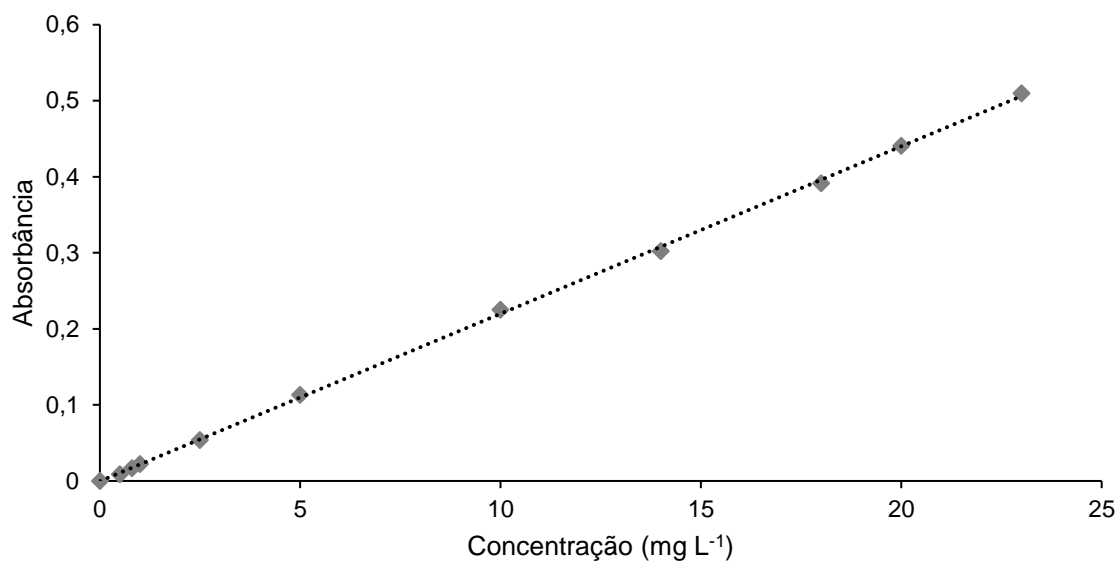
Arain *et al.* (2023) empregaram o método de  $\mu$ -dSPE e investigaram diversos parâmetros, um deles foi a quantidade de adsorvente que variou de 2,5 a 20 mg de nanocompósito de molibdato de bismuto para a pré-concentração de Pb. Os resultados mostraram que usando a partir de 5 mg de adsorvente, houve uma recuperação quantitativa do analito.

## **5.4. Performance analítica**

### **5.4.1. Linearidade**

A linearidade do método foi avaliada utilizando uma curva de calibração externa na faixa de concentração de 0,1 a 23,0 mg L<sup>-1</sup> de Fe utilizando solução de referência de Fe aquosa. Na Figura 33, está apresentada a curva de calibração e os parâmetros de regressão. A faixa de concentração avaliada no estudo da linearidade foi escolhida considerando a concentração de Fe que geralmente encontra-se presente em diferentes cervejas.

Figura 33 – Curva de calibração externa.



O método se mostrou linear na faixa avaliada, com coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de 0,9997, o que é considerado adequado para a linearidade da curva de calibração segundo as orientações da ANVISA que estabelece como parâmetro de linearidade os coeficientes de determinação maiores ou iguais a 0,990 (ANVISA, 2017). A equação resultante foi  $y=0,022x-0,0003$ . Desse modo, o método mostrou-se linear dentro dos intervalos de concentração avaliados.

#### 5.4.2. Limite de detecção e quantificação

Os valores de LOD e LOQ foram estabelecidos a partir dos parâmetros da curva de calibração, considerando  $3\sigma$  e  $10\sigma$  ( $\sigma$  sendo o desvio padrão do branco analítico,  $n = 10$ ), respectivamente. Os valores de LOD e LOQ instrumentais e do método estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 – Valores de LOD e LOQ do método para o método proposto  $\mu$ -dSPE/HR-CS F AAS (valores em  $\text{mg L}^{-1}$ ).

Parâmetros	Valores
LOD	0,19
LOQ	0,63

#### 5.4.3. Exatidão e precisão

A exatidão do método foi avaliada empregando ensaios de recuperação em 3 níveis, os quais estão representados por três diferentes concentrações (baixa, intermediária e alta). Na Tabela 8, estão apresentados os resultados obtidos no ensaio de recuperação e as concentrações de Fe obtidas nas amostras utilizadas na aplicabilidade do método.

Tabela 8 – Concentrações de Fe obtidas por HR-CS F AAS (após  $\mu$ -dSPE) nas amostras de cerveja e após os ensaios de recuperação (resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão, em  $\text{mg L}^{-1}$ ,  $n = 3$ ).

Amostra	Valor Adicionado	Valor determinado	Recuperação (%)
<b>Pilsen</b>	0	< 0,63	-
	1	1,38 $\pm$ 0,122	91
	2,5	3,2 $\pm$ 0,067	110
	5	6,0 $\pm$ 0,46	111
	0	< 0,63	-
<b>Amber Lager</b>	1	1,39 $\pm$ 0,039	99
	2,5	3,1 $\pm$ 0,017	106
	5	4,7 $\pm$ 0,38	95
	0	0,72 $\pm$ 0,007	-
	<b>IPA</b>	1	1,76 $\pm$ 0,118
2,5		3,7 $\pm$ 0,011	119
5		6,5 $\pm$ 0,094	116

<b>Pale Ale</b>	0	0,66 ± 0,061	-
	1	1,53 ± 0,053	87
	2,5	3,0 ± 0,37	94
	5	6,4 ± 0,165	115
<b>Weiss</b>	0	1,41 ± 0,22	-
	1	2,3 ± 0,017	89
	2,5	4,2 ± 0,098	112
	5	5,5 ± 0,43	89
<b>Blond Ale</b>	0	1,03 ± 0,037	-
	1	2,1 ± 0,24	107
	2,5	3,3 ± 0,73	91
	5	6,2 ± 0,192	103

Os valores obtidos para os ensaios de recuperação de Fe estiveram entre 87 e 120%, com RSDs inferiores a 21%, sendo considerados valores aceitáveis para a avaliação da exatidão e precisão do método. As concentrações de Fe nas amostras analisadas estiveram abaixo do LOQ (0,63 mg L<sup>-1</sup>) do método proposto para os estilos Pilsen e Amber Lager. Para os estilos IPA, Pale Ale, Weiss e Blond Ale, as concentrações determinadas foram 0,72, 0,66, 1,41 e 1,03 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente.

No estudo de Seco *et al.* (2024), foi investigado a concentração de Fe em três amostras distintas de cerveja do estilo Pilsen, onde foi possível obter as concentrações de 68,2; 93,7 e 59,7 µg L<sup>-1</sup>. As concentrações foram obtidas a partir do método proposto de DLLME com determinação por F AAS. Além disso, no trabalho de Wietstock *et al.* (2015) foi determinado para a concentração de Fe 9 µg L<sup>-1</sup>, o qual foi determinado por ICP OES.

### 5.5. Métrica AGREE

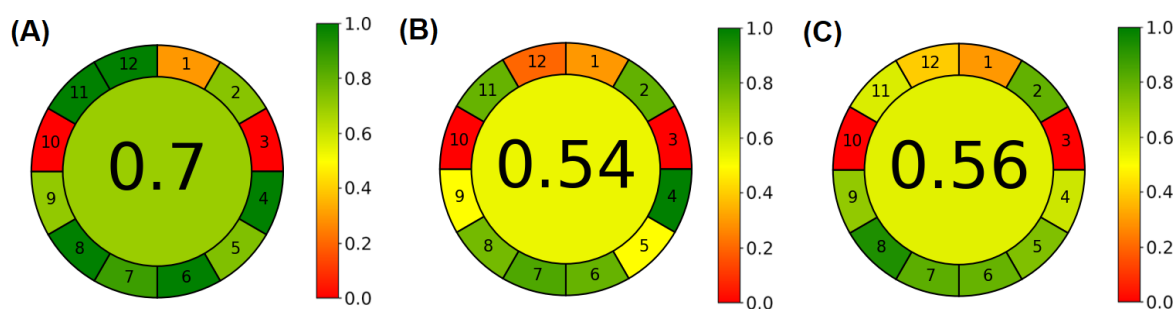
Os métodos utilizados neste estudo foram avaliados quanto à sua sustentabilidade por meio do software AGREE (*Analytical Greenness*), o qual é uma ferramenta especializada em abordar, flexibilizar e instruir a medida sustentável dos métodos analíticos. O sistema emprega os 12 princípios da Química Analítica Verde, transformando em uma escala padronizada de 0 a 1. Pontuações mais próximas de 1

(coloridas em verde) podem ser consideradas mais verdes, enquanto pontuações tendendo a 0 (coloridas em vermelho) indicam metodologias menos ambientalmente amigáveis (PENA-PEREIRA, WOJNOWSKI e TOBISZEWSKI, 2020; ALVES *et al.*, 2023).

A pontuação final, calculada a partir desses princípios, é representada por um pictograma, o qual exibe o desempenho do método em cada critério atribuído pelo usuário. O desempenho de cada princípio da GAC é representado em cores (verde, amarelo e vermelho) em torno do pictograma, o qual é dividido em 12 partes e uma pontuação no centro que varia de 0 a 1 (PENA-PEREIRA, WOJNOWSKI e TOBISZEWSKI, 2020).

Para avaliar o caráter verde do método com relação aos 12 princípios da GAC, foi gerado o pictograma do método proposto ( $\mu$ -dSPE/HR-CS F AAS). Também foram gerados outros dois pictogramas com métodos da literatura que realizaram a determinação de Fe em cerveja empregando MAD/ICP OES (WIETSTOCK *et al.*, 2015) e DLLME/F AAS (SECO *et al.*, 2024), os quais estão representados na Figura 34.

Figura 34 – Pictogramas obtidos pelo software AGREE para o método proposto  $\mu$ -dSPE/HR-CS F AAS (A) e os métodos da literatura empregando MAD/ICP OES (B) e DLLME/F AAS (C).



A análise de pictogramas do procedimento de preparo de amostra por  $\mu$ -dSPE para a determinação de Fe por HR-CS F AAS obteve pontuação igual a 0,70, Figura 34 (a), indicando que essa metodologia pode ser considerada ambientalmente amigável, especialmente quando comparada com os métodos encontrados na

literatura empregando MAD por ICP OES, Figura 34 (B) e DLLME por F AAS, Figura 34 (C) que apresentaram pontuação igual a 0,54 e 0,56, respectivamente.

Os pontos fortes do procedimento de  $\mu$ -dSPE são atribuídos aos princípios 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11 e 12. Portanto, os aspectos que tornam o método mais sustentável podem ser destacados como o tamanho mínimo da amostra (princípio 2), onde no método proposto é utilizado apenas 2 mL de amostra e o método de MAD e DLLME requer a utilização de 10 mL de amostra. No método de MAD e em DLLME, o volume final por amostra é de 25 mL e 10 mL, respectivamente, enquanto no método proposto, o volume do extrato é reduzido para 800  $\mu$ L por amostra, o que contribui para o princípio 7, reduzindo a geração de resíduos. A utilização da atomização por chama em comparação com o ICP OES faz com que propicie para a minimização de energia, uma vez que o ICP OES utiliza plasma de argônio, o que requer uma alta potência para se manter estável, corroborando com o princípio 9.

Os princípios 11 e 12 ponderam sobre a não utilização de reagentes tóxicos e sobre a segurança do operador, respectivamente. O método proposto emprega uma solução diluída de  $\text{HNO}_3$  1 mol  $\text{L}^{-1}$  para as extrações, contribuindo para a segurança do operador e reduzindo o impacto ambiental. Em contrapartida, o método de MAD utiliza  $\text{HNO}_3$  concentrado, o qual é altamente corrosivo e inflamável. A DLLME utiliza solventes tóxicos e inflamáveis. Com isso, temos que a utilização de  $\text{HNO}_3$  diluído possui menor impacto ambiental, contribuindo com os princípios 11 e 12.

## 6. CONCLUSÕES

---

A  $\mu$ -dSPE combinada com HR-CS F AAS (em amostragem discreta) empregando esponjas de quitosana reticulada com glutaraldeído foi investigada, pela primeira vez, para a determinação e pré-concentração de Fe em amostras de cerveja. Os principais parâmetros da  $\mu$ -dSPE foram investigados e as condições selecionadas foram pH 4,  $\text{HNO}_3$  1 mol  $\text{L}^{-1}$  como concentração da solução extratora, 800  $\mu\text{L}$  como volume de solução extratora e 30 mg de esponja de quitosana como massa de adsorvente. O método se mostrou linear e os valores de LOD e LOQ foram 0,28 e 0,92 mg  $\text{L}^{-1}$ , respectivamente. As recuperações referentes aos ensaios de recuperação realizado com diferentes amostras de cerveja variaram entre 87 e 120%, com concentrações de 0,66 a 1,41 mg  $\text{L}^{-1}$ . As caracterizações realizadas na quitosana e na esponja de quitosana reforçam o interesse em estudos utilizando biomateriais, visto pela grande área superficial da esponja de quitosana (1000  $\text{m}^2/\text{g}$ ).

O estudo contribuiu para o desenvolvimento de métodos de extração viáveis a serem empregados em laboratórios que contam com instrumentação de menor custo de aquisição e operação. Além disso, permite o emprego de materiais de fonte renovável, assim diminuindo os custos no preparo de amostra, atribuindo um destino a um resíduo da indústria pesqueira. Além do uso de microquantidades de esponja de quitosana, ainda foi possível concluir o trabalho empregando microvolumes de ácido nítrico diluído e sem necessidade do emprego de aquecimento, atendendo a alguns dos 12 princípios da GAC, como os princípios 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 11 e 12. Além disso, foi possível contribuir com a área de preparo de amostras através da proposição da  $\mu$ -dSPE em uma alternativa miniaturizada, contribuindo também para o controle de qualidade de amostras de cerveja e propondo uma aplicação da técnica HR-CS F AAS combinada com uma proposta inovadora de preparo de amostras na área de determinação elementar.

## 7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

ABDELNABY, A.; ABDELALEEM, N.; ELSHEWY, E.; MANSOUR, A. H.; IBRAHIM, S. S. Application of Bentonite Clay, Date Pit, and Chitosan Nanoparticles as Promising Adsorbents to Sequester Toxic Lead and Cadmium from Milk. **Biological Trace Element Research**, v. 201, p. 2650– 2664, 2023.

ABDOLMOHAMMAD-ZADEH, H.; AYAZI, Z.; NAGHDI, Z. Nickel oxide/chitosan nanocomposite as a magnetic adsorbent for pre concentration of Zn(II) ions. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 488, p. 165311, 2019.

ABNIKI, M.; MOGHIMI, A. Nanomagnetic chitosan/ $\beta$ -cyclodextrin for dispersive solid phase extraction of trace desipramine drug. **Materials Chemistry and Physics**, v. 316, p. 129117, 2024.

AHMED, S.; IKRAM, S. Chitosan Based Scaffolds and Their Applications in Wound Healing. **Achievements in the Life Sciences**, v. 10, p. 27-37, 2016.

AKKAYA, E.; ERULAS, F. A.; BÜYÜKPINAR, C.; BAKIRDERE, S. Accurate and sensitive determination of lead in black tea samples using cobalt magnetic particles based dispersive solid-phase microextraction prior to slotted quartz tube-flame atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v. 297, p. 124947, 2019.

ALAGHA, A.; NOURALLAH, A.; HARIRI, S. Characterization of dexamethasone loaded collagen-chitosan sponge and in vitro release study. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 55, p. 101449, 2020.

ALJOHANI, M. S.; ALNOMAN, R. B.; ALHARBI, H. Y.; BUKHARI, A. A. H.; MONIER, M. Development and evaluation of thiosalicylic-modified/ion-imprinted chitosan for selective removal of cerium(III) ion. **Carbohydrate Polymers**, v. 326, p. 121620, 2024.

ALVES, D. C. S.; HEALY, B.; PINTO, L. A. A.; CADAVAL, T. R.S.; BRESLIN, C. B. Recent Developments in Chitosan-Based Adsorbents for the Removal of Pollutants from Aqueous Environments. **Molecules**, v. 26, p.594, 2021.

ALVES, V.; ANDRADE, J. K.; FELSNER, M. L. Green and fast ultrasound-assisted extraction procedures for Fe, Mn, Mg and Ca analysis in cane syrups by FAAS. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 123, p. 105495, 2023.

ANASTASSIADES, M.; LEHOTAY, S. J.; STAJNBAHER, D.; SCHENCK, F. J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. **J AOAC Int.**, v. 86, p. 412-31, 2003.

ANDERSON, H. E.; SANTOS, I. C.; HILDENBRAND, Z. L.; SCHUG, K. A. A review of the analytical methods used for beer ingredient and finished product analysis and quality control. **Analytica Chimica Acta**, v. 1085, p. 1-20, 2019.

ARAIN, M. B.; AHMED, H. E. H.; SOYLAK, M. Dispersive solid phase microextraction (DSP- $\mu$ E) by using nanodiamond@Bi<sub>2</sub>MoO<sub>6</sub> composite for the separation-preconcentration of Pb(II) in food and water samples. **Microchemical Journal**, v. 195, p. 109495, 2023.

ARBIA W.; ARBIA, L.; ADOUR L.; AMRANE, A. Chitin Extraction from Crustacean Shells Using Biological Methods – A Review. **Food Technol. Biotechnol**, v. 51, p. 12–25, 2013.

ARIAS, J. L. O.; SHNEIDER, A.; BATISTA-ANDRADE, J. A.; VIEIRA, A. A.; CALDAS, S. S.; PRIMEL, E. G. Chitosan from shrimp shells: A renewable sorbent applied to the clean-up step of the QuEChERS method in order to determine multi-residues of veterinary drugs in different types of milk. **Food Chemistry**, v. 240, p. 1243-1253, 2018.

ARPUTHARAJ, E.; HUANG, Y. H.; VIJAVA, A.; MARIADOSS, A.; DELATTRE, C.; CHEN, P. C.; HUANG, Y. L. Miniaturized 3D-printed hand-operable dispersive sample pretreatment device with replaceable chitosan/polydopamine thin film metal sorbent for enhanced metal analysis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 276, p. 133767, 2024.

ASFAW, A.; WIBETOE, G. Direct Analysis of Beer by ICP-AES: A Very Simple Method for the Determination of Cu, Mn and Fe. **Microchim Acta**, v. 152, p. 61–68, 2005.

AZAROVA, Y. A.; PESTOV, A. V.; BRATSKAYA, S. Y. Application of chitosan and its derivatives for solid-phase extraction of metal and metalloid ions: a mini-review. **Cellulose**, v. 23, p. 2273- 2289, 2016.

BAI, R.; YANG, F.; ZHANG Y.; ZHAO, Z.; LIAO, Q.; CHEN, P.; ZHAO, P.; GUO, W.; CAI, C. Preparation of elastic diglycolamic-acid modified chitosan sponges and their application to recycling of rare-earth from waste phosphor powder. **Carbohydrate Polymers**, v. 190, p. 255-261, 2018.

BANDFORUZI, S. R.; HADJMOHAMMADI, M. R. Modified magnetic chitosan nanoparticles based on mixed hemimicelle of sodium dodecyl sulfate for enhanced removal and trace determination of three organophosphorus pesticides from natural Waters. **Analytica Chimica Acta**, v. 1078, p. 90-100, 2019.

BANIHASHEM S.; NEZHATI, M. N.; PANAHI, H. A. Synthesis of chitosan-grafted-poly(N-vinylcaprolactam) coated on the thiolated gold nanoparticles surface for controlled release of cisplatin. **Carbohydrate Polymers**, v. 227, p. 115333, 2020.

BEGUM, S.; YUHANA, N. Y.; SALEH, N. M.; SULONG, A. B. Review of chitosan composite as a heavy metal adsorbent: Material preparation and Properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 259, p. 117613, 2021.

BELLIDO-MILLA, D.; ONATE-JAEN, A.; PALACIOS-SANTANDER, J. M.; PALACIOS-TEJERO, D.; HERNANDEZ-ARTIGA, M. P. Beer digestions for metal determination by

atomic spectrometry and residual organic matter. **Microchimica Acta**, 144, p. 183-190, 2004.

BENETTAYEB, A.; MORSLI, A.; ELWAKEEL, K. Z.; HAMZA, M. F.; GUIBAL, E. Recovery of Heavy Metal Ions Using Magnetic Glycine-Modified Chitosan—Application to Aqueous Solutions and Tailing Leachate. **Applied Science**, v. 11, p. 8377, 2021.

BHAYSAR, P. S.; FONTANA, D. G.; ZÓCOLA, M. Sustainable Superheated Water Hydrolysis of Black Soldier Fly Exuviae for Chitin Extraction and Use of the Obtained Chitosan in the Textile Field. **ACS**, v. 6, p. 8884-8893, 2021.

BONEMANN, D.H.; LUCKOW, A. C. B.; OLIVEIRA, C. C.; SOUZA, A. O.; OLIVEIRA, S.; OLIVEIRA, A. M.; OLIVEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S. Determination of total concentration and bioaccessible fraction of metals in tomatoes and their derivatives by MIP OES. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 96, p. 103716, 2021.

BORGES, S. S. O.; BEINNER, M. A.; SILVA, J. B. B. Direct Method for Determination of Al, Cd, Cu, and Pb in Beers In Situ Digested by GF AAS Using Permanent Modifiers. **Biological Trace Element Research**, v. 167, p. 155-163, 2015.

BOSCHETTI, W. **Espectrometria de absorção atômica e molecular de alta resolução com fonte contínua e forno de grafite: possibilidades e aplicações analíticas**. Tese (Doutor em Química). Programa de Pós-Graduação em Química – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2016.

CADAVAL JR, T. R. S.; CAMARA, A. S.; DOTTO, G. L.; PINTO, L. A. A. Adsorption of Cr (VI) by chitosan with different desacetylation degrees. **Desalination and Water Treatment**, v. 51, p. 7690–7699, 2013.

CAMPANA-FILHO, S. P.; BRITTO, D.; CURTI, E.; ABREU, F. R.; CARDOSO, M. B.; BATTISTI, M. V.; YES, P. C.; GOY, R. C.; SIGNINI, R.; LAVALL, R. L. Extraction, Structures and Properties of  $\alpha$ - and  $\beta$ -Chitin. **Química Nova**, v. 30, p. 644-650, 2007.

CAO, Y.; QIN, J.; SU, Z.; CAI, L.; FANG, G.; WANG, S. Novel poly (N-methacryloyl-L-alanine acid) grafted chitosan microspheres based solid-phase extraction coupled with ICP-MS for simultaneous detection of trace metal elements in food. **Food Chemistry**, v. 20, p. 100926, 2023.

CARLETTO, J. S.; ROUX, K. C. D. P.; MALTEZ, H. F.; MARTENDAL, E.; CARASEK, E. Use of 8- hydroxyquinoline-chitosan chelating resin in an automated on-line preconcentration system for determination of zinc(II) by F AAS. **Journal of Hazardous Materials**, v. 157, p. 88–93, 2008.

CHAIKHAN, P.; UDNAN, Y.; AMPIAH-BONNEY, R. J.; CHAIYASITH, W. C. Air-assisted solvent terminated dispersive liquid–liquid microextraction (AA-ST-DLLME) for the determination of lead in water and beverage samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 162, p. 105825, 2021.

CHATTERJEE, S. et al. Enhanced adsorption of congo red from aqueous solutions by chitosan hydrogel beads impregnated with cetyltrimethyl ammonium bromide. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 2803–2809, 2009.

CHATZIMITAKOS, T. G.; STALIKA, C. D. Sponges and Sponge-Like Materials in Sample Preparation: A Journey from Past to Present and into the Future. **Molecules**, v. 25, p. 3673, 2020.

CHEN, D.; HU, B.; CHAOZHANG, H. Chitosan modified ordered mesoporous silica as microcolumn packing materials for on-line flow injection-inductively coupled plasma optical emission spectrometry determination of trace heavy metals in environmental water samples. **Talanta**, v. 78, p. 491-497, 2009.

CHEN, A. H.; CHEN, S. M. Biosorption of azo dyes from aqueous solution by glutaraldehyde-crosslinked chitosans. **Journal of Hazardous Materials**, v. 172, p. 1111– 1121, 2009.

CHEN, G.; LAI, B. Correction of Matrix Effects of Carbon Origin by Matrix Overcompensation Calibration in Dilute-and-Shoot Icp-MS Multielement Analysis in Ready-to-Drink Sweet Tea and Unsweetened Tea. **SSRN**, 2024.

CHISVERT, A.; CARDENAS, S.; LUCENA, R. Dispersive micro-solid phase extraction. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 112, p. 226-233, 2019.

CHOWDHURY, S.; CHAKRABORTY, S.; SAHA, P. Biosorption of basic green 4 from aqueous solution by Ananas comosus (pineapple) leaf powder. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 84, p. 520–527, 2011.

COELHO NETO, D. M.; FERREIRA, L. L. P.; SAD, C. M. S.; CASTRO, E. V. R.; BORGES, W. S.; FILGUEIRAS, P. R.; LACERDA J. V. Conceitos Químicos Envolvidos na Produção da Cerveja: Uma Revisão. **Revista Virtual de Química**, v. 12, p. 1-28, 2020.

COSTA-SILVA, T. A.; CARVALHO, A. K. F.; SOUZA, C. R. F.; DE CASTRO, H. F.; BACHMANN, L.; SAIDA, S.; OLIVEIRA, W. P. Enhancement lipase activity via immobilization onto chitosan beads used as seed particles during fluidized bed drying: Application in butyl butyrate production. **Applied Catalysis A, General**, v. 622, p. 118217, 2021.

CUÉLLAR-GAONA, C. G.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, J. A.; MARTÍNEZ-RUIZ, E. O.; ACUÑA-VAZQUEZ, P.; DÁVILA-MEDINA, M. D.; CEDILLO-PORTILLO, J. J.; NARRO-CÉSPEDES, R. I.; SORIA-ARGUELLO, G.; PUCA-PACHECO, M.; IBARRA-ALONSO, M. C.; NEIRA-VELÁZQUEZ, M. G. Chitosan Hydrogels with Antibacterial and Antifungal Properties: Enhanced Properties by Incorporating of Plasma Activated Water. **Plasma Chemistry and Plasma Processing**, v. 44, p. 2303-2322, 2024.

DAI, B.; CAO, M.; FANG, G.; LIU, B.; DONG, X.; PAN, M.; WANG, S. Schiff base-chitosan grafted multiwalled carbon nanotubes as a novel solid-phase extraction adsorbent for determination of heavy metal by ICP-MS. **Journal of Hazardous Materials**, v. 119-220, p. 103-110, 2012.

DEMATTÊ, J. A. M.; DOTTO, A. C.; BEDIN, L. G.; SAYÃO, V. M.; SOUZA, A. B. Soil analytical quality control by traditional and spectroscopy techniques: Constructing the future of a hybrid laboratory for low environmental impact. **Geoderma**, v. 337, p. 111–121, 2019.

DEMIR C.; ER, E. O.; KARTOGLU, B.; ATSEVER, N.; YAGCI, O.; ONER, M.; BAKIRDERE, S. Preconcentration of tellurium using magnetic hydrogel-assisted dispersive solid-phase extraction and its determination by slotted quartz tube-fame atomic absorption spectrophotometry. **Chemical Papers**, v. 75, p. 4261-4267, 2021.

DING, X.; TENG, X.; SHE, Z.; LI, Y.; WANG, C. Preparation of chitosan-coated polystyrene microspheres for the analysis of trace Pb(II) ions in salt by GF-AAS assisted with solid-phase extraction. **Royal Society of Chemistry**, v. 12, p. 35526, 2022.

DINU, M.V.; HUMELNICU, D.; LAZAR, M.M. Analysis of Copper(II), Cobalt(II) and Iron(III) Sorption in Binary and Ternary Systems by Chitosan-Based Composite Sponges Obtained by Ice-Segregation Approach. **Gels**, v. 7, p. 103, 2021.

DJERAHOV, L.; VASILEVA, P.; KARADJOVA, I.; KURAKALVA, R. M.; ARADHI, K. L. Chitosan film loaded with silver nanoparticles-sorbent for solid phase extraction of Al(III), Cd(II), Cu(II), Co(II), Fe(III), Ni(II), Pb(II) and Zn(II). **Carbohydrate Polymers**, v. 147, p. 45-52, 2016.

DOTTO, G. L.; VIEIRA, M. L. G.; GONÇALVES, J. O.; PINTO, L. A. A. Removal of Bright Blue, Twilight Yellow and Tartrazine Yellow Dyes from Aqueous Solutions Using Activated Carbon, Activated Earth, Diatomaceous Earth, Chitin and Chitosan: Equilibrium and Thermodynamic Studies. **Química Nova**, v. 34, p. 1193-1199, 2011.

DOTTO, G. L. et al. Application of chitosan films for the removal of food dyes from aqueous solutions by adsorption. **Chemical Engineering Journal**, v. 214, p. 8–16, 2013.

EBISIKE, K.; OKORONKWO, A. E.; ALANEME, K. K. Synthesis and characterization of Chitosan–silica hybrid aerogel using sol-gel method. **Journal of King Saud University – Science**, v. 32, p. 550-554, 2020.

ELSAYED, N. H.; ALATAWIC, A.; MONIERD, M. Diacetylmonoxine modified chitosan derived ion-imprinted polymer for selective solid-phase extraction of nickel (II) ions. **Reactive and Functional Polymers**, v. 151, p. 104570, 2020.

EYYAZLOU, S.; JAVADI, A.; MOGADDAM, M. R. A. Determination of sulfonamide antibiotics residues in honey samples using magnetic dispersive solid phase extraction and HPLC–DAD along with evaluating the effect of exposing ultraviolet waves on their decontamination. **Microchemical Journal**, v. 206, p. 111563, 2024.

FEISTAUER, L. B. H. **Propriedades antioxidantes da cerveja artesanal**. Dissertação (Mestrado em Bioquímica). Programa de Pós-Graduação em Ciência Biológicas – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2016.

FERNÁNDEZ, E.; VIDAL, L.; COSTA-GARCÍA, A.; CANALS, A. Mercury determination in urine samples by gold nanostructured screen-printed carbon electrodes after vortex-assisted ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction. **Analytica Chimica Acta**, v. 915, p. 49-55, 2016.

FERREIRA, S. L. C.; ANDRADE, J. B.; KORN, M. G. A.; PEREIRA, M. G.; LEMOS, V. A.; SANTOS, W. N. L.; RODRIGUES, F. M.; SOUZA, A. S.; FERREIRA, H. S.; SILVA, E. G. P. Review of procedures involving separation and preconcentration for the determination of cadmium using spectrometric techniques. **Journal of Hazardous Materials**, v. 145, p. 358-367, 2007.

FLORIANO, L.; RIBEIRO, L. C.; SAIBT, N.; BANDEIRA, N. M. G.; PRESTES, O. D.; ZANELLA, R. Determination of Six Synthetic Dyes in Sports Drinks by Dispersive Solid-Phase Extraction and HPLC-UV-Vis. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 29, p. 602-608, 2018.

GALUSZKA, A.; MIGASZEWSKI, Z.; NAMIEŚNIK, J. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. **TrAC Anal Trends. Chem.**, v. 50, p. 78-84, 2013.

GAO, Y.; OSHITA, K.; LEE, K.H.; OSHIMA, M. MOTOMIZU, S. Development of column-pretreatment chelating resins for matrix elimination/multi-element determination by inductively coupled plasma-mass spectrometry. **The Royal Society of Chemistry**, v. 127, p. 1713–1719, 2002.

GÉRENTE, C.; ANDRÉSA, Y.; MCKAYB, G.; CLOIRECC, P. L. Removal of arsenic(V) onto chitosan: From sorption mechanism explanation to dynamic water treatment process. **Chemical Engineering Journal**, v. 158, p. 593–598, 2010.

GERHARDT, R.; FARIAS, B.S.; MOURA, J.M.; DE ALMEIDA, L.S.; ADRIANO, R.; DIAS, D.; CADAVAL, T.R.S.; PINTO, L.A.A. Development of chitosan/Spirulina sp. blend films as biosorbents for Cr<sup>6+</sup> and Pb<sup>2+</sup> removal. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 155, p. 142–152, 2020.

GHAZAGUI, M.; MOUSAVI, H. Z.; EASHIDI, A. M.; SHIRKHANDLOOC, H.; RAHIGHI, R. Innovative separation and preconcentration technique of coagulating homogenous dispersive micro solid phase extraction exploiting graphene oxide nanosheets. **Analytica Chimica Acta**, v. 902, p. 33-42, 2016.

GHOORBANI, M.; MOHAMMADI, P.; KESHAYARZI, M.; SAGHI, M. H.; MOHAMMADI, M.; SHAMS, A.; AGHAMOHAMMADHASAN, M. Simultaneous determination of organophosphorus pesticides residues in vegetable, fruit juice, and milk samples with magnetic dispersive micro solid-phase extraction and chromatographic method; recruitment of simplex lattice mixture design for optimization of novel sorbent composites. **Analytica Chimica Acta**, v. 1178, p. 338802, 2021.

GHOORBANIAN, N.; SEIDI, S.; GHASEMI, J. B.; SABEGHI, S. J. Dispersive solid phase extraction of lead in water samples using embedded 1,5-diphenylcarbazone grafted

graphene oxide in microporous magnetic chitosan coupled with flame atomic absorption spectrometry. **Journal of the Iranian Chemical Society**, v. 16, p. 1411–1421, 2019.

GONZÁLEZ-SANJOSÉ, M. L.; RODRÍGUEZ, P. M.; VALLS-BELLÉS, V. Beer and Its Role in Human Health. **Fermented Foods in Health and Disease Prevention**, p. 365-384, 2017.

GRANDINI, C. P. **Uso de filmes de quitosana/celulose em processos catalíticos e adsorptivos com aplicações tecnológicas e didáticas**. Tese (Doutor em Química). Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental -Universidade Federal do Rio Grande, Santo Antônio da Patrulha, RS, 2022.

GUIBAL, E. Interactions of metal ions with chitosan-based sorbents: a review. **Separation and Purification Technology**, v. 38, p. 43-74, 2004.

HAKIM, L.; SABARUDIN, A.; OSHIMA, M.; MOTOMIZU, S. Synthesis of novel chitosan resin derivatized with serine diacetic acid moiety and its application to on-line collection/concentration of trace elements and their determination using inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 558, p. 73–81, 2007.

HAMED, T.; OZOGUL, F.; REGENSTEIN, J. M. Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 48, p. 40-50, 2016.

HAMZA, M.F.; HAMAD, N.A.; HAMAD, D.M.; KHALAFALLA, M.S.; ABDEL-RAHMAN, A.A.-H.; ZEID, I.F.; WEI, Y.; HESSIEN, M.M.; FOUUDA, A.; SALEM, W.M. Synthesis of Eco-Friendly Biopolymer, Alginate-Chitosan Composite to Adsorb the Heavy Metals, Cd(II) and Pb(II) from Contaminated Effluents. **Materials**, v. 14, p. 2189, 2021.

HONG, P. Z.; LI, S. D.; OU, C. Y.; LI, C. P.; YANG, L.; ZHANG, C. H. Thermogravimetric Analysis of Chitosan. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 105, p. 291, 2007.

HOSAIN, A. N. A.; NEMR, A. E.; SIKAILY, A. E.; MAHMOUD, M. E.; AMIRA, M. F. Surface modifications of nanochitosan coated magnetic nanoparticles and their applications in Pb(II), Cu(II) and Cd(II) removal. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 8, p. 104316, 2020.

HOSSEINI, E.; CHAMSAZ, M.; GHORBANI, M. A Novel Ultrasonic Assisted Dispersive Solid Phase Microextraction for Preconcentration of Beryllium Ion in Real Samples Using CeO<sub>2</sub> Nanoparticles and its Determination by Flame Atomic Absorption Spectrometry. **Eurasian Journal of Analytical Chemistry**, v. 13. p. 1-11, 2018.

HU, W.; NIU, Y.; ZHU, H.; DONG, K.; WANG, D.; LIU, F. Remediation of zinc-contaminated soils by using the two-step washing with citric acid and water-soluble chitosan. **Chemosphere**, v. 282, p. 131092, 2021.

HUANG, L.; HUANG, W.; SHEN, R.; SHUAI, Q. Chitosan/thiol functionalized metal-organic framework composite for the simultaneous determination of lead and cadmium ions in food samples. **Food Chemistry**, v. 330, p. 127212, 2020.

ISLAS, G.; IBARRA, I. S.; HERNANDEZ, P.; MIRANDA, J. M.; CEPEDA, A. Dispersive Solid Phase Extraction for the Analysis of Veterinary Drugs Applied to Food Samples: A Review. **International Journal of Analytical Chemistry**, p. 17, 2017.

JAGABA, A. H.; KUTTY, S. R. M.; HAYDER, G.; BALOO, L.; GHALE, A. A. S.; LAWAL, I. M.; ABUBAK, S.; AL-DHAWI, B. N. S.; ALMAHBASHI, N. M. Y.; UMARU, I. Degradation of Cd, Cu, Fe, Mn, Pb and Zn by *Moringa-oleifera*, zeolite, ferric-chloride, chitosan and alum in an industrial effluent. **Ain Shams Engineering Journal**, v. 12, p. 57-64, 2021.

JAKAVULA, S.; BIATA, N. R.; DIMPE, K. M.; PAKADED, V. E.; NOMNGONGO, P. N. Multi-ion imprinted polymers (MIIPs) for simultaneous extraction and preconcentration of Sb(III), Te(IV), Pb(II) and Cd(II) ions from drinking water sources. **Journal of Hazardous Materials**, v. 416, p. 126175, 2021.

JAMALI, M. R.; FIROUZJAH, A.; RAHNAMA, R. Solvent-assisted dispersive solid phase extraction, **Talanta**, v. 116, p. 454-459, 2013.

KATARINA, R. K.; TAKAYANAGI, T.; OSHIMA, M.; MOTOMIZU, S. Synthesis of a chitosan-based chelating resin and its application to the selective concentration and ultratrace determination of silver in environmental water samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 558, p. 246–253, 2006.

KATARINA, R. K.; TAKAYANAGI, T.; OSHITA, K.; OSHIMA, M.; MOTOMIZU, S. Sample Pretreatment Using Chitosan-based Chelating Resin for the Determination of Trace Metals in Seawater Samples by Inductively Coupled Plasma–Mass Spectrometry. **Analytical sciences**, v. 24, p. 1537-1544, 2008.

KAZEMI, E.; DADFARNIA, S.; SHABANI, A. M. H.; RANJBAR, M. Synthesis, characterization, and application of a Zn (II)-imprinted polymer grafted on graphene oxide/magnetic chitosan nanocomposite for selective extraction of zinc ions from different food samples. **Food Chemistry**, v. 237, p. 921-928, 2017.

KAZEMI, E.; DADFARNIA, S.; SHABANI, A. M. H.; RANJBAR, M. Synthesis, characterization, and application of a Zn (II)-imprinted polymer grafted on graphene oxide/magnetic chitosan nanocomposite for selective extraction of zinc ions from different food samples. **Food Chemistry**, v. 237, p. 921-928, 2017.

KEUKELEIRC, D. Fundamentals of beer and hop chemistry. **Quimica Nova**. v. 23 p. 108-112, 2000.

KHEZELI, T.; DANASHFAR, A. Development of dispersive micro-solid phase extraction based on micro and nano sorbents. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 89, p. 99-118, 2017.

KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. **Métodos de Preparo de Amostras para Análise Elementar**. 2<sup>a</sup> ed., SBQ, 2019, 572 p.

LAGO, L. O. **Validação de um método para a determinação de micotoxinas em cevada maltada e cerveja usando QuEChERS-LC-QToF-MS e calibração por superposição de matriz**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2021.

LAVERTU, M.; XIA, Z.; SERREQUI, A. N.; BERRADA, M.; RODRIGUES, A.; WANG, D.; BUSCHMANN, M. D.; GUPTA, A. A validated <sup>1</sup>H NMR method for the determination of the degree of deacetylation of chitosan. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 32, p. 1149-1158, 2003.

LEÃO, P. R. P.; MEDINA, A. L.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S. Beer sample decomposition using a reflux system for the monoelementar determination by F AAS/AES and multielementar determination by MIP OES. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, p. 2017062, 2018.

LEE, K. H.; OSHIMA, M.; TAKAYANAGI, T.; MOTOMIZU, S. Simultaneous determination of trace elements in river-water samples by ICP-MS in combination with a discrete microsampling technique after enrichment with a chitosan-based chelating resin. **Analytical Chemistry**, v. 16, p. 371-378, 2000.

LI, H.; JI, H.; CUI, X.; CHE, X.; ZHANG, Q.; ZHONG, J.; JIN, R.; WANG, L.; LUO, Y. Kinetics, thermodynamics, and equilibrium of As(III), Cd(II), Cu(II) and Pb (II) adsorption using porous chitosan bead-supported MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles. **International Journal of Mining Science and Technology**, v. 31, p. 1107-1115, 2021.

LIU, Y.; CAO, X.; LE, Z.; LUO, M.; XU, W.; HUANG, G. Pre-Concentration and Determination of Trace Uranium (VI) in Environments using Ion-imprinted Chitosan Resin via Solid Phase Extraction. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, p. 533-540, 2019.

LONASHIRO, M. **Análise Térmica – Giolito**. Editora GIZ, 2004.

MALTEPE, E.; ER, E. O.; BAKIRDERE, S. Chitosan magnetic hydrogel based ligandless magnetic solid phase extraction for the accurate and sensitive determination of thallium by slotted-quartz tube flame atomic absorption spectrophotometry with matrix matching calibration strategy. **Microchemical Journal**, v. 158, p. 105231, 2020.

MARANGON, C. A.; MARTINS, V. C. A.; LING, M. H.; MELO, C. C.; PLEPIS, A. M. G.; MEYER, R. L.; NITSCHKE, M. Combination of Rhamnolipid and Chitosan in Nanoparticles Boosts Their Antimicrobial Efficacy. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 12, p. 5488-5499, 2020.

MCMURRY, J. **Organic chemistry**. 8<sup>a</sup>. ed. [S.I.]: Cengage Learning, 973–989, 2012.

MENDES, A. A.; OLIVEIRA, P. C.; CASTRO, H. F.; GIORDANO, R. L. C. Application of chitosan as support for immobilization of enzymes of industrial interest. **Química Nova**, v. 34, p. 831-840, 2011.

Mladenova, E. K.; Dakova, Y. G.; Karadjova, I. B. Chitosan membranes as sorbents for trace elements determination in surface Waters. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 18, p. 1633–1643, 2011.

MOHMOUDIAN, M. H.; FAZLZADEH, M.; NIARI, M. H.; AZARI, A.; LIMA, E. C. A novel silica supported chitosan/glutaraldehyde as an efficient sorbent in solid phase extraction coupling with HPLC for the determination of Penicillin G from water and wastewater samples. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 13, p. 7147-7159, 2020.

MORADO, R. **Larousse da cerveja**. São Paulo: Larousse do Brasil, 2009. 116 p.

MOURA, C. M.; MOURA, J. M.; SOARES, N. M.; PINTO, L. A. A. Evaluation of molar weight and deacetylation degree of chitosan during chitin deacetylation reaction: Used to produce biofilm. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 20, p. 351-355, 2011.

MOURA, J. M. **Avaliação da hidrólise alcalina da quitina e elaboração de filmes de quitosana para aplicação na adsorção do corante têxtil reativo preto 5**. Dissertação (Mestrado em Química). Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS, 2014.

MOURA, J. M.; FARIAS, B. S.; CADAVAL, T. R. S.; PINTO, L. A. A. **Chitin/chitosanbased films for packaging applications**. In: **Bio-based packaging: material, environmental and economic aspects**. Hoboken: Wiley, 2021.

NASCENTES, C. C.; KAMOGAWA, M. Y.; FERNANDES, K. G.; ARRUDA, M. A. Z.; NOGUEIRA, A. R. A.; NOBREGA, J. A. Direct determination of Cu, Mn, Pb, and Zn in beer by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 60, p. 749–753, 2005.

NGAMSURACH, P.; NAMWONGSAL, N.; PRAIPIPAT, P. Synthesis of powdered and beaded chitosan materials modified with ZnO for removing lead (II) ions. **Scientific Reports**, v. 12, p. 17184, 2022.

NILSEN-NYGAARD, J.; STRAND, S. P.; VARUM, K. M.; DRAGET, K. I.; NORDGARD, C. T. Chitosan: Gels and Interfacial Properties. **Polymers**, v. 7, p. 552-579, 2015.

ORESTE, E. Q.; SOUZA, A. O.; PEREIRA, C. C.; LISBOA, M. T.; CIDADE, M. J. A.; VIEIRA, M. A.; CADORE, S.; RIBEIRO, A. S. Evaluation of sample preparation 113

methods for the determination of Ca, Cu, Fe, K, and Na in milk powder samples by ICP-OES. **Food Analytical Methods**, v. 9, p. 777-784, 2016.

OSHITA, K.; SEO, K.; SABARUDIN, A.; OSHIMA, M.; TAKAYANAGI, T.; MOTOMIZU, S. Synthesis of chitosan resin possessing a phenylarsonic acid moiety for collection/concentration of uranium and its determination by ICP-AES. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 390, p. 1927– 1932, 2008.

PENA-PEREIRA, F., WOJNOWSKI, W. & TOBISZEWSKI, M. AGREE- Analytical greenness metric approach and software. **Analytical chemistry**, v. 92, p. 10076-10082, 2020.

PASSAGUE, P.; BERTOLI, S.; TUBARO, F.; BUIATTI, S. Monitoring of some selected heavy metals throughout the brewing process of craft beers by inductively coupled plasma mass spectrometry. **European Food Research and Technology**, v. 241, p. 199-215, 2015.

PELEGRÍN, C. J.; FLORES, Y.; JIMÉNEZ, A.; GARRIGÓS, M. C. Recent Trends in the Analysis of Chemical Contaminants in Beverages. **Beverages**, v. 3, p. 32, 2020.

PEREIRA, E. R.; SOARES, B. M.; MACIEL, J. B.; CALDAS, S. S.; ANDRADE, C. F. F.; PRIMEL, E. G.; DUARTE, F. A. Development of a dispersive liquid–liquid microextraction method for iron extraction and preconcentration in water samples with diferente salinities. **Analytical Methods**, v. 5, p. 2273-2280, 2013.

PIRES, L. N.; ALMEIDA, J. S.; DIAS, F. S.; TEIXEIRA, L. S. G. Sequential and simultaneous determination of chlorine, iron, and silicon in beer samples by high-resolution continuum source graphite furnace molecular and atomic absorption spectrometry. **Food Analytical Methods**, v. 13, p. 1746–1754, 2020.

PIRES, L. N.; DIAS, F. S.; TEIXEIRA, L. S. G. Assessing the internal standardization of the direct multi-element determination in beer samples through microwave-induced

plasma optical emission spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 1090, p. 31-38, 2019.

POHL, P. Determination and fractionation of metals in beer: A review. **Food Additives and Contaminants**, v. 25, p. 693–703, 2008.

POON, L.; WILSON, L. D.; HEADLEY, J. V. Chitosan-glutaraldehyde copolymers and their sorption properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 109, p. 92–101, 2014.

RAJABI, N.; MASROURNIA M.; ABEDI, M. Measuring and Preconcentration of Lanthanum Using Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@ Chitosan Nanocomposite with Solidphase Microextraction for ICPOES Determination. **Arabian Journal for Science and Engineering**, v. 45, p. 121–129, 2019.

RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress in Polymer Science**, v. 31, p. 603–632, 2006.

ROSA, N. A.; AFONSO, J. C. A Química da Cerveja. **Química nova na escola**, v. 37, p. 98-105, 2015.

RUIZ, F. J.; RIPOLL, L.; HIDALGO, M.; CANALS, A. Dispersive micro solid-phase extraction (D $\mu$ SPE) with graphene oxide as adsorbent for sensitive elemental analysis of aqueous samples by laser induced breakdown spectroscopy (LIBS). **Talanta**, v. 191. p. 162-170, 2019.

SABARUDIN, A.; LEGHORA, N.; OSHIMA, M.; HAKIMA, L.; TAKAYANAGIA, T.; GAO, Y. H.; MOTOMUZI, S. Sequential-injection on-line preconcentration using chitosan resin functionalized with 2- amino-5-hydroxy benzoic acid for the determination of trace elements in environmental water samples by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. **Talanta**, v. 62, p. 1609–1617, 2007.

SABARUDIN, A.; UMEMURA, T.; MOTOMIZU, S. Chitosan functionalized with di-2-propanolamine: Its application as solid phase extractant for the determination of

germanium in water samples by ICP-MS. **Microchemical Journal**, v. 99, p. 34–39, 2011.

SADANI, K.; NAG, P.; MUKHERJI, S. LSPR based optical fiber sensor with chitosan capped gold nanoparticles on BSA for trace detection of Hg (II) in water, soil and food samples. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 134, p. 90-96, 2019.

SADEGHI, M.; SHAMSIPUR, M. Simultaneous determination of ultra-low traces of lead and cadmium in food and environmental samples using dispersive solid-phase extraction (DSPE) combined with ultrasound-assisted emulsification microextraction based on the solidification of floating organic drop (UAEME-SFO) followed by GFAAS. **The Royal Society of Chemistry**, v. 7, p. 27656–27667, 2017.

SAMADIFAR, M.; YAMINI, Y.; KHATAEI, M. M. Magnetically solid-phase extraction of diazinon and chlorpyrifos pesticides in vegetables using covalent triazine-based framework incorporated chitosan nanocomposite. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 118, p. 105158, 2023.

SCIGALSKI, P.; KOSOBUCKI, P. Recent Materials Developed for Dispersive Solid Phase Extraction. **Molecules**, v. 25, p. 4869, 2020.

SECO, M. A. **Emprego da microextração líquido-líquido dispersiva para extração de ferro em cerveja e determinação por espectrometria de absorção atômica com chama**. Dissertação (Mestrado em Química). Programa de Pós-Graduação em Química - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2023.

SECO, M. A.; LARRUSCAIN, E. T. F.; SILVEIRA, J. R. K.; PICOLOTO, R. S.; DUARTE, F. A. A Simple Approach for Fe Determination in Beer by using Dispersive Liquid-Liquid Microextraction and Flame Atomic Absorption Spectrometry. **Brazilian Journal of Analytical Chemistry**, v. 11, p. 36-46, 2024.

SEEGER, T. S.; ROSA, F. C.; BIZZI C. A.; DRESSLER, V. L.; FLORES, E. M. M.; DUARTE, F. A. Feasibility of dispersive liquid–liquid microextraction for extraction and

preconcentration of Cu and Fe in red and white wine and determination by flame atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 105, p. 136-140, 2015.

SHIRKHANLOO, H.; KHALIGH, A.; MOUSAVI, H. Z.; RASHIDI, A. Ultrasound assisted-dispersive-micro-solid phase extraction based on bulky amino bimodal mesoporous silica nanoparticles for speciation of trace manganese (II)/(VII) ions in water samples. **Microchemical Journal**, v. 124, p. 637-645, 2016.

SILVA, K. A.; **Estrutura mega porosa à base de quitosana e modificadas com nanotubos de carbono como adsorvente do ibuprofeno**. Dissertação (Mestrado em Química Tecnológica e Ambiental). Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS, 2024.

SILVEIRA, J. R. K. **Determinação de cobre em cerveja por espectrometria de absorção atômica com chama após microextração líquido-líquido dispersiva**. 2022. Dissertação (Mestrado em Química). Programa de Pós-Graduação em Química - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2022.

SILVEIRA, J. R. K.; BRUDI, L. C.; WAECHTER, S. R.; MELLO, P. A.; COSTA, A. B.; DUARTE, F. A. Copper determination in beer by flame atomic absorption spectrometry after extraction and preconcentration by dispersive liquid-liquid microextraction. **Microchemical Journal**, v. 184, p. 108181, 2023.

SKOREK, R.; TUREK, E.; ZAWISZA, B.; MARGU, E.; QUERALT, I.; STEMPIN, M.; KUCHARSKID, P.; SITKO, R. Determination of selenium by X-ray fluorescence spectrometry using dispersive solid-phase microextraction with multiwalled carbon nanotubes as solid sorbent. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 27, p. 1688–1693, 2012.

SOARES, N. M.; MOURA, C.; VASCONCELOS, S.; RIZZI, J.; PINTO, L. A. A. Obtenção e purificação de quitosana a partir de resíduos de camarão em escala piloto. **Revista UniVap**, v. 10, p. 88-92, 2003.

SOCAS-RODRÍGUEZ, B.; HERRERA-HERRERA, A. V.; ASENSIO-RAMOS, M.; HERNÁNDEZ-BORGES, J. Dispersive Solid-Phase Extraction. **Analytical Separation Science**, p. 1525-1570, 2015.

SONG, W.; XU, J.; GAO, L.; ZHANG, Q.; TONG, J.; REN, L. Preparation of Freeze-Dried Porous Chitosan Microspheres for the Removal of Hexavalent Chromium. **Appl. Sci**, v. 11, p. 4217, 2021.

SZLACHTA, M.; NEITOLA, R.; PERÄNIEMIB, S.; VEPSÄLÄINENB, J. Effective separation of uranium from mine process effluents using chitosan as a recyclable natural adsorbent. **Separation and Purification Technology**, v. 253, p. 117493, 2020.

TOKAY, F.; GÜNAYDIN, R.; BAGDAT, S. A novel vortex assisted dispersive solid phase extraction of some trace elements in essential oils and fish oil. **Talanta**, v. 230, p.122312, 2021.

TÜRKER, A. R. Separation, preconcentration and speciation of metal ions by solid phase extraction. **Separation & Purification Reviews**, v. 41, p. 169-206, 2012.

UPADHYAY U.; SREEDHAR I.; SINGH S. A.; PATEL C. M.; ANITHA K. L. Recent advances in heavy metal removal by chitosan based adsorbents. **Carbohydrate Polymers**, v. 251, p. 117000, 2021.

WELNA, M.; SZYMCZYCHA-MADEJA, A.; POHL, P. Novel ICP-OES-Based Method for the Reliable Determination of the Total Content of 15 Elements in Yerba Mate Drinks along with the Determination of Caffeine and the In Vitro Bioaccessibility of the Compounds. **Molecules**, v. 28, p. 3374, 2023.

WELZ, B.; SPERLING, BECKER- ROSS, H.; FLOREK, S.; HEITMANN, U. **High-Resolution Continuum Source AAS**. 2 ed, Wiley-VCH, 2005, 310 p.

WESKA, R. F.; MOURA, J. M.; BATISTA, L. M.; RIZZI, J.; PINTO, L. A. A. Optimization of deacetylation in the production of chitosan from shrimp wastes: Use of response surface methodology. **Journal of Food Engineering**, v. 80, p. 749-753, 2007.

WIETSTOCK, P. C.; KUNZ, T. Uptake and Release of Ca, Cu, Fe, Mg, and Zn During Beer Production. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 73, p. 179-184, 2015.

WU, P.; HE, S.; LUO, B.; HOU, X. Flame Furnace Atomic Absorption Spectrometry: A Review. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 44, p. 411-437, 2009.

YAZICI, E.; FIRAT, M.; CHORMEY, D. S.; BUDAK T. B.; SAHIN, C.; TURAK, F.; BAKIRDERE, S. Trace Level Determination of Cadmium in Different Water Matrices and Rose Hip Tea Sample by Dispersive Liquid-liquid Microextraction Slotted Quartz Tube, Flame Atomic Absorption Spectrometry After Complexation with a New Imidazole-based Ligand. **Atomic Spectroscopy**, v. 40, p. 24-30, 2019.

ZAWISKA, B. SITKO, R. Pre-Concentration Procedure Based on Chitosan Combined with Ionic Liquid for the Determination of Cobalt, Nickel, and Copper in Water Samples. **Society for Applied Spectroscopy**, v. 67, p. 536-541, 2013.

ZHANG, Y.; WANG, Y.; ZHANG, Z.; CUI, W.; ZHANG, X.; WANG, S. Removing copper and cadmium from water and sediment by magnetic microspheres - MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/chitosan prepared by waste shrimp shells. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 9, p. 104647, 2021.

ZHAO, X.; SONG, N.; ZHOU, W.; JIA, Q. Preconcentration procedures for the determination of chromium using atomic spectrometric techniques: A review. **Central European Journal of Chemistry**, v. 10, p. 927-937, 2012.

ZIAEI, E.; MEHDINIA, A.; JABBARI, A. A novel hierarchical nanobiocomposite of graphene oxide– magnetic chitosan grafted with mercapto as a solid phase extraction

sorbent for the determination of mercury ions in environmental water samples.  
**Analytica Chimica Acta**, v. 850, p. 49-56, 2014.