



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Instituto de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

**DESENVOLVIMENTO DE UM PROCEDIMENTO PARA FRACIONAMENTO DE
MANGANÊS DE CHÁ PRETO E DETECÇÃO POR VOLTAMETRIA DE
REDISSOLUÇÃO CATÓDICA**

Aline de Carvalho Elias

Uberlândia-MG

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Instituto de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

**DESENVOLVIMENTO DE UM PROCEDIMENTO PARA FRACIONAMENTO DE
MANGANÊS DE CHÁ PRETO E DETECÇÃO POR VOLTAMETRIA DE
REDISSOLUÇÃO CATÓDICA**

Dissertação de mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação do Instituto
de Química da Universidade Federal de
Uberlândia, como requisito para obtenção
do título de Mestre em Química.

Aluna: Aline de Carvalho Elias

Orientador: Prof. Dr. Sidnei Gonçalves da Silva

Área de Concentração: Química Analítica

Uberlândia-MG

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

E42d
2019 Elias, Aline de Carvalho, 1990-
Desenvolvimento de um procedimento para fracionamento de manganês de chá preto e detecção por voltametria de redissolução catódica [recurso eletrônico] / Aline de Carvalho Elias. - 2019.

Orientador: Sidnei Gonçalves da Silva.

Coorientador: Rodrigo Alejandro Abarza Munoz.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Química.

Modo de acesso: Internet.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2019.673>

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Química. 2. Manganês. 3. Voltametria. 4. Eletrodo de carbono. I. Silva, Sidnei Gonçalves da, 1980- (Orient.). II. Munoz, Rodrigo Alejandro Abarza, 1980- (Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

CDU: 54

Gerlaine Araújo Silva - CRB-6/1408



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO, NÚMERO 297/PPQUI.

DATA: 27/02/2019

DISCENTE: Aline de Carvalho Elias

MATRÍCULA: 11712QMI001

TÍTULO DO TRABALHO: Desenvolvimento de procedimentos para fracionamento de manganês em amostras de chá preto por voltametria de redissolução catódica.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química

LINHA DE PESQUISA: Espectroanalítica Aplicada

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Desenvolvimento de procedimentos para a determinação de espécies orgânicas e inorgânicas em alimentos

Às nove horas do dia vinte e sete de fevereiro de dois mil e dezanove, no(a) Auditório Prof. Dr. Manuel Gonzalo Hernández-Terrones, piso superior do Bloco 51 no Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelo Prof^º Dra. Regina Massako Takeuchi, Universidade Federal de Uberlândia, Prof^º Dra. Cassiana Seimi Nomura, Universidade de São Paulo e Prof. Dr. Sidnei Gonçalves da Silva, professor(a) orientador(a) e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa apresentou o(a) candidato(a) e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas no Regulamento do Programa PPQUI. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(a) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em sequência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o(a) apresentador(a). A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e aprovou o(a) candidato(a). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será

desenvolvimento de um procedimento para fracionamento de manganês de chá preto e detecção por voltametria de redissolução catódica

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 11 horas e 40 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.

Prof^º Dra. Regina Massako Takeuchi

Prof^º Dra. Cassiana Seimi Nomura

Prof. Dr. Sidnei Gonçalves da Silva

AGRADECIMENTOS

A Deus, sem Ele, jamais teria conseguido chegar até aqui. Agradeço por toda graça concedida em minha vida.

Aos meus pais, Márcia e Gilberto, minha base por toda essa caminhada, por todos os valores morais, conselhos e broncas ao longo dessa vida. Sem o apoio de vocês seria muito difícil concluir essa etapa. Meu muito obrigada hoje e sempre!

Ao meu filho Vitor, pela compreensão em todos os momentos de distância. Agradeço ao companheirismo nesses 10 anos. Tudo sempre por você!

A todos os meus familiares, que embora tenha sido um ano difícil, conseguiram sorrir com as minhas conquistas.

Ao meu orientador Prof. Dr. Sidnei Gonçalves da Silva, por ter aceitado me orientar. Eu posso dizer que a minha formação não teria sido a mesma sem a sua pessoa.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Rodrigo Alejandro Abarza Muñoz por todo auxílio e instrução.

Ao Núcleo de Pesquisa em Eletroanalítica (NuPe) pelo espaço concedido e especialmente à Silvia Vaz Fernandes Castro por todo apoio e auxílio neste período.

Agradeço à Prof.^a Dra. Raquel Maria Ferreira de Sousa pelo suporte em algumas análises que contribuíram para esse trabalho.

Aos meus queridos amigos que foram essenciais na caminhada até aqui, Geandre, Weida, Josiele, Bruno. Ao GRISA e todos os membros pela amizade e todos os conhecimentos compartilhados.

A CAPES, pela concessão de bolsas de estudo

Ao Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, pelo espaço físico concedido.

EPÍGRAFE

“Ontem passado. Amanhã futuro. Hoje agora. Ontem foi. Amanhã será.
Hoje é. Ontem experiência adquirida. Amanhã lutas novas. Hoje, porém,
é a nossa hora de fazer e de construir”

(Chico Xavier)

RESUMO

As propriedades medicinais do chá têm sido estudadas ao longo dos anos. Estas propriedades podem ser atribuídas principalmente pela presença espécies antioxidantes, tais como flavonoides. O chá é uma bebida preparada pela infusão de folhas, casca, raízes e folhas de certas plantas, destacando-se a infusão preparada da planta *Camellia sinensis*. Além de possuir compostos biologicamente ativos, o chá pode possuir metais considerados essenciais para o desenvolvimento humano, entre eles o manganês. Em alguns casos, esses metais podem estar complexados na presença de compostos orgânicos originalmente presentes na infusão, contribuindo para o aumento da biodisponibilidade do mesmo. Esta dissertação apresenta o desenvolvimento de um procedimento visando o fracionamento de manganês em amostras de infusões de chá preto empregando voltametria de redissolução catódica. A determinação da fração de manganês ligada à matéria orgânica foi realizada diretamente na amostra diluída, sem a necessidade de uma etapa de preparo de amostra adicional. Para a determinação de manganês total, uma etapa de digestão ácida foi implementada empregando HNO_3 e H_2O_2 (4:1). Medidas eletroquímicas foram realizadas empregando um eletrodo de carbono vítreo como eletrodo de trabalho, em meio tampão acetato ($\text{pH} = 4,5$), utilizado como eletrólito de suporte. Respostas lineares foram observadas na faixa de concentração de 10 a 250 $\mu\text{g L}^{-1}$. Desvio padrão relativo, limite de detecção e quantificação foram estimados como 9,7% ($n = 10$) 0,06 e 0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Os resultados obtidos para a determinação de manganês livre e total em amostras de chá foram concordantes com os procedimentos de referência.

Palavras – chaves: Chá, fracionamento, manganês, voltametria de redissolução catódica, eletrodo de carbono vítreo

ABSTRACT

The medicinal properties of tea have been studied over the years. These properties can be attributed mainly to the presence of antioxidant species, such as flavonoids. Tea is a drink prepared by the infusion of leaves, bark, roots and leaves of some kind of plants, highlighting infusions prepared by *Camellia sinensis*. In addition to having biologically active compounds, tea could contain some metals considered essential for human development, among them is manganese. In some cases, these metals may be complexed in the presence of organic compounds, originally present in the infusion, contributing to its bioavailability increase. This dissertation presents the development of a procedure for the manganese fractionation black tea infusions using cathodic stripping voltammetry. The determination of the fraction relative to manganese bounded to organic matter was performed directly on the diluted sample, without an additional sample preparation step. For total manganese determination, an acid digestion step was implemented employing HNO_3 and H_2O_2 (4:1). Electrochemical measurements were performed using a glassy carbon electrode as a working electrode, in acetate buffer medium ($\text{pH} = 4.5$). Linear responses were observed in the concentration range of 10 to $250 \mu\text{g L}^{-1}$. Relative standard deviation, limit of detection and quantification were estimated as 9.7% ($n = 10$), 0.06 and $0.2 \mu\text{g L}^{-1}$, respectively. The results obtained for the determination of free and total manganese in black tea samples were in agreement with the reference procedures

Keywords: Tea, fractionation, manganese, cathodic stripping voltammetry, glassy carbon electrode.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Forma de onda de potencial variando com o tempo. 11
- Figura 2** - Forma de aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada. 13
- Figura 3** - Voltamogramas cíclicos de 1 mmol L⁻¹ de catequina, 1 mmol L⁻¹ de Mn²⁺ e do complexo [Mn(catequina)]. Eletrólito: tampão fosfato (pH 8); velocidade de varredura: 100 mV s⁻¹; incremento de potencial: 5 mV. 22
- Figura 4** - Voltamogramas cíclicos para soluções contendo de 1 mmol L⁻¹ de quercetina, 1 mmol L⁻¹ de Mn²⁺ e do complexo [Mn(quercetina)]. Eletrólito (Branco): tampão fosfato (pH 8); velocidade de varredura: 100 mV s⁻¹. 23
- Figura 5** - Voltamogramas cíclicos para uma amostra de chá preto obtida em diferentes condições: (a) branco; (b) amostra sem remoção de oxigênio (c) remoção do oxigênio (borbulhando nitrogênio na amostra por 15 min). Demais condições iguais a Figura 4. 24
- Figura 6** - Avaliação do efeito do aumento da amplitude no sinal analítico para a determinação voltamétrica de manganês. Potencial de condicionamento de -0,5 V durante 30 s. Potencial de deposição de 1,2 V por 60 s. Frequência 20 Hz. Incremento de potencial 4 mV. 27
- Figura 7** - Avaliação do efeito do aumento da frequência no sinal analítico para a determinação voltamétrica de manganês. 50 µg L⁻¹ de Mn²⁺. Potencial de condicionamento de -0,5 V durante 30 s. Potencial de deposição de 1,2 V em 60 s. Amplitude 100 mV. Incremento de potencial 4 mV. 28
- Figura 8** - Voltamogramas do efeito do aumento da frequência para a determinação voltamétrica de manganês. 50 µg L⁻¹ de Mn²⁺. Potencial de condicionamento de -0,5 V durante 30 s. Potencial de deposição de 1,2 V em 60 s. Amplitude 100 mV. Incremento de potencial 4 mV. (a) 10 Hz (b) 20 Hz (c) 30 Hz (d) 40 Hz (e) 50 Hz (f) 60 Hz (g) 70 Hz (h) 80 Hz (i) 90 Hz (j) 100 Hz. 29

Figura 9 - Avaliação do efeito do aumento do incremento de potencial no sinal analítico para a determinação voltamétrica de manganês. $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Mn^{2+} . Potencial de condicionamento de -0,5 V por 30 s. Potencial de deposição de 1,2 V por 60s. Amplitude 100 mV. Frequência 60 Hz.. 30

Figura 10 - Avaliação do efeito do aumento do tempo de deposição no sinal analítico para a determinação voltamétrica de manganês. $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Mn^{2+} . Potencial de condicionamento aplicado de -0,5 V durante 30 s. Potencial de deposição de 1,2 V. Amplitude 100 mV. Frequência 60 Hz. 31

Figura 11 - Resposta voltamétrica (área de pico) em função da concentração de manganês. Condições otimizadas conforme Tabela 2. 33

Figura 12 - Voltamogramas da curva de calibração de manganês. Condições otimizadas conforme Tabela 2. (a) 20 (b) 40 (c) 60 (d) 80 (e) $100 \mu\text{g L}^{-1}$. 34

Figura 13 - Sinal analítico para 10 medidas consecutivas de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de manganês. 35

Figura 14 - Voltamogramas para 10 medidas analíticas consecutivas de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de manganês. 36

Figura 15 - Curva de adição de padrão para a determinação voltamétrica de manganês em amostras de chás. Demais condições conforme Tabela 2. A amostra foi diluída 100 vezes 38

Figura 16 - Voltamogramas amostra 1. Condições experimentais otimizadas da Tabela 3. Eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl saturado). (a) branco (b) amostra (c) 20 (d) 40 e (e) $60 \mu\text{g L}^{-1}$. 39

Figura 17 - Curva de calibração obtida pelo método de adição de padrão por espectrometria de absorção atômica por chama para a amostra 1. A amostra foi diluída 2 vezes. 40

Figura 18 - Voltamogramas amostra 2. Condições experimentais otimizadas da Tabela 2. Eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl saturado). (a) branco (b) amostra (c) 10 (d) 20 e (e) 30 $\mu\text{g L}^{-1}$. 42

Figura 19 - Voltamograma amostra 2 após digestão ácida. Condições experimentais otimizadas da Tabela 2. Eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl saturado). (a) amostra (b) 10 (c) 20 e (d) 30 $\mu\text{g L}^{-1}$. 42

Figura 20 - Voltamogramas amostra 3. Condições experimentais otimizadas da Tabela 3. Eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl saturado). (a) branco (b) amostra (c) 10 (d) 20 e (e) 30 $\mu\text{g L}^{-1}$. 43

Figura 21 - Voltamograma amostra 3 após digestão ácida. Condições experimentais otimizadas da Tabela 3. Eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl saturado). (a) amostra (b) 10 (c) 20 e (d) 30 $\mu\text{g L}^{-1}$. 43

Figura 22 - Voltamogramas amostra 4. Condições experimentais otimizadas da Tabela 2. Eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl saturado). (a) branco (b) amostra (c) 10 (d) 20 e (e) 30 $\mu\text{g L}^{-1}$. 44

Figura 23 - Voltamograma amostra 4 após digestão ácida. Condições experimentais otimizadas da Tabela 2. Eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl saturado). (a) amostra (b) 10 (c) 20 e (d) 30 $\mu\text{g L}^{-1}$. 44

Figura 24 - Voltamogramas cíclicos obtidos para soluções de manganês (50 $\mu\text{mol L}^{-1}$) em (---) meio aquoso (UU) Triton X-114. 48

Figura 25 - Sinal analítico para 10 medidas consecutivas 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de manganês com Triton X-114. Eletrólito de suporte tampão acetato 0,01 mol L^{-1} (pH 4,5). Potencial de condicionamento de -0,5 V durante 30 s. Potencial de deposição de 1,2V. Degrau de deposição 10mV. Amplitude 50 mV. Frequência 20 Hz. Eletrodo de trabalho ECV. Eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl saturado). 49

Figura 26 - Resposta voltamétrica (área de pico) em função da concentração de manganês com Triton X-114. Eletrólito de suporte tampão acetato 0,01 mol L^{-1} (pH 4,5). Potencial de condicionamento de -0,5 V durante 30 s. Potencial de deposição

de 1,2V. Degrau de deposição 10mV. Amplitude 50 mV. Frequência 20 Hz. Eletrodo de trabalho ECV. Eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl saturado). 50

Figura 27 - Voltamogramas da curva de calibração de manganês com Triton X-114. Eletrólito de suporte tampão acetato 0,01 mol L⁻¹ (pH 4,5). Potencial de condicionamento de -0,5 V durante 30 s. Potencial de deposição de 1,2V. Degrau de deposição 10mV. Amplitude 50 mV. Frequência 20 Hz. Eletrodo de trabalho ECV. (a) 10 (b) 20 (c) 30 (d) 40 (e) 50 µg L⁻¹. 51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Lista de reagentes utilizados	17
Tabela 2 - Parâmetros eletroquímicos otimizados para a determinação de Mn por ECV.....	32
Tabela 3 - Equações obtidas pelo método de adição de padrão para todas amostras de chá obtidas após a eliminação da matéria orgânica.....	41
Tabela 4 – Determinação de manganês total em amostras de chá. Concentrações em mg L ⁻¹ (n=3). F _{crítico} = 19 (95% de confiança).	45
Tabela 5 – Determinação de Mn (II) livre em amostras de chá preto.	46
Tabela 6 – Equações obtidas pelo método de adição de padrão para determinação de Mn(II) livre em outras amostras de chá..	46
Tabela 7 – Equações obtidas pelo método de adição de padrão para determinação de Mn(II) livre após extração líquido-líquido por F AAS..	46
Tabela 8 – Determinação de Mn(II) livre em amostras de chá. Concentrações em mg L ⁻¹ (n=3). F _{crítico} = 19 (95% de confiança)..	46

LISTA DE ABREVIações, SIGLAS E SÍMBOLOS

AAS – do inglês, *Atomic Absorption Spectrometry* – Espectrometria de Absorção Atômica

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ASV – do inglês, *Anodic Stripping Voltametry* – Voltametria de Redissolução Anódica

CSV – do inglês, *Cathodic Stripping Voltametry* – Voltametria de Redissolução Catódica

DPR – Desvio Padrão Relativo

ECV – Eletrodo de Carbono Vítreo

F AAS – do inglês, *Flame Atomic Absorption Spectrometry* – Espectrometria de Absorção Atômica com Chama

GF AAS – do inglês, *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry* – Absorção Atômica com Forno de Grafite

ICP MS – do inglês, *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry* – Espectrometria de Massas Acoplada ao Plasma de Argônio

ICP OES – do inglês, *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry* – Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente

IUPAC – do inglês, *International Union of Pure and Applied Chemistry* – União Internacional da Química Pura e Aplicada

LD – limite de detecção

LQ – limite de quantificação

MnSOD – do inglês, *Manganese Superoxide Dismutase* – manganês superóxido dismutase

R – coeficiente de correlação linear

SWV – do inglês, *Square Wave Voltammetry* – voltametria de onda quadrada

UV – Ultra-violeta

Vis – visível

WC AES – Tungsten Coil Atomic Emission Spectrometry, Espectrometria de Emissão Atômica em Filamento de Tungstênio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 <i>Camellia sinensis</i>	2
1.2 Manganês	5
1.3 Determinação de manganês	8
1.4 Técnicas eletroquímicas	9
1.5 Modalidades da voltametria	10
1.5.1 Voltametria cíclica	10
1.5.2 Voltametria de onda quadrada	12
1.5.3 Voltametria de redissolução catódica e anódica	13
2 OBJETIVO	16
2.1 Objetivos específicos	16
3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	17
3.1 Reagentes e soluções	17
3.2. Instrumentação	18
3.2.1 Amostra de chá preto	19
3.3 Procedimento de referência	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1 Otimizações para voltametria de onda quadrada	24
4.2 Características analíticas e aplicação em meio aquoso	32
4.2.1 Repetibilidade	34
4.2.2 Limite de detecção e limite de quantificação	36
4.2.3 Aplicação em amostras de chá preto comercial	37
4.3 Fracionamento de manganês em amostras de chás	47
4.3.1 Características analítica em meio Triton X-114	49
4.3.1.2 Repetibilidade	49
4.3.1.3 Linearidade	50
4.4 Método Comparativo	52
5 CONCLUSÕES	54
6 REFERÊNCIAS	55

1 INTRODUÇÃO

O chá, infusão originalmente preparada com folhas, flores e raízes da planta *Camellia sinensis*, se popularizou pelo mundo pelas suas características de aroma e sabor (BRAIBANTE *et al.*, 2014), bem como pelo seu potencial terapêutico, tornando-se uma das bebidas mais consumidas no mundo (CAMARGO *et al.*, 2016). As infusões possuem alto poder antioxidante pois são bebidas ricas em flavonoides, compostos polifenólicos naturais produzido pela planta como proteção contra agentes externos (SILVIA *et al.*, 2015). Além disso, esta bebida apresenta em sua composição metais considerados essenciais para o organismo, tais como: ferro, cobre, zinco e manganês (PARREIRA, 2012). O déficit de manganês no organismo pode acarretar deformação de ossos e cartilagens (BURTON; GUILARTE, 2009). No entanto, o excesso deste metal pode ser prejudicial causando danos ao sistema nervoso, com sintomas parecidos com o Parkinson (U.S. EPA, 2004).

Umas das propriedades dos metais para ser constituinte (funcional ou estrutural) essencial para os seres vivos é sua a capacidade de perder elétrons, formando cátions além de possuir alta solubilidade em fluídos biológicos (BENITE; MACHADO; BARREIRO, 2007). Os mecanismos de absorção do manganês pelo organismo pode ser melhor compreendido a partir de estudos de especiação e fracionamento deste metal em alimentos. Este elemento apresenta várias formas químicas, tais como espécies fracas e fortemente ligadas a compostos orgânicos presente nos chás, entre eles na forma de complexos de flavonoides presentes nas infusões (YALÇIN; FILIK; APAK, 2012).

A especiação química pode ser definida como modo de determinação e identificação de substâncias químicas, considerando as espécies complexadas e

não complexadas e diferentes estados de oxidação. Permite discernir a mobilidade e disponibilidade dos metais, com a finalidade de entender o comportamento químico da espécie. O termo especiação compreende a disposição de um elemento entre espécies químicas, enquanto fracionamento é a classificação de uma substância ou de um grupo de substâncias de uma determinada amostra de acordo com as suas atividades analítica (IUPAC, 2000).

1.1 *Camellia sinensis*

A *Camellia sinensis*, a mais famosa da família das *Theacea*, é uma planta perene (DA SILVA; DA SILVA; MICHELIN, 2013), cuja infusão preparada com esta planta é conhecida popularmente como chá preto, chá verde ou chá-da-índia (VULCANO; SILVEIRA; ALVAREZ-LEITE, 2008). Originária da China, necessita de temperatura branda e elevada umidade para reprodução (BRAIBANTE *et al.*, 2014).

Cultivada em mais de 30 países, chegou ao Brasil pelos imigrantes chineses (VULCANO; SILVEIRA; ALVAREZ-LEITE, 2008) e atualmente é cultivada principalmente na região do Vale do Ribeira no estado de São Paulo (DA SILVA; DA SILVA; MICHELIN, 2013). Em 1944, Registro, cidade que se destaca na região do Vale do Ribeira pela produção de chá, possuía 45 fábricas, sendo que 34 delas produzia o chá “bruto” enquanto outras finalizavam o processo, embalavam e comercializavam. Com o cenário favorecido para a produção de chá no Brasil entre 1930 e 1940, por motivos como o incentivo de produção do mercado interno no cenário pós-crise (1929/30) e o desabastecimento deste produto produzido pela Ásia nos mercados sul americanos ocasionados pela Segunda Guerra Mundial (1939-45), ocorreu um aumento na produção e os preços superaram o do arroz e feijão. Em

1950, o mercado perdeu seu maior comprador, Argentina, pois este país começou sua própria produção, com isso o Brasil teve que modernizar sua produção e buscar novos compradores, como Europa e Estados Unidos (MELLO, 2015). Nos anos 2000, a produção de chá voltou a crescer no Brasil, depois de alguns altos e baixos de décadas anteriores, e atingiu valores de produção superiores a 8.000 toneladas ao ano. Em seguida voltou a cair em 2003, não ultrapassando 6.000 toneladas ao ano (MELLO, 2015). Na safra de 2006/2007 a produção não ultrapassou 3.500 toneladas, embora os dados mostrem redução da produção, foi considerada rentável para aquela safra, correspondeu a 0,71 % do PIB daquele ano (LIMA *et al.*, 2009) e em 2012 não atingiu 2.000 toneladas e a produção mundial ultrapassou 4.000.000 toneladas. Em contrapartida, o consumo brasileiro de chás aumentou e está 12% em volume acima da média mundial, que também cresceu (MELLO, 2015).

A propriedade medicinal da *Camellia sinensis* é atribuída a presença de compostos biologicamente ativos, como os flavonoides, especialmente catequina (ALMEIDA, 2011) pertencente ao grupo dos polifenóis, atribuindo a esta bebida características antioxidante (LIMA *et al.*, 2009). Possui ainda taninos, cafeína e proteínas (ALMEIDA, 2011), entre outras substâncias consideradas importante para o organismo humano. O chá preto, verde, branco e vermelho são provenientes das folhas da mesma planta *Camellia sinensis*, diferenciando-se apenas pelo tratamento dado as folhas. O chá preto é obtido através de folhas que passaram por um processo de fermentação, na qual ocorre o escurecimento das folhas por meio de reações naturais de enzimas oxidativas, como a polifenoloxidase (CAMARGO *et al.*, 2016). As catequinas, presentes originalmente nas folhas, sofrem oxidação (MATSUBARA; RODRIGUEZ-AMAYA, 2006), sendo convertidas em teaflavinas e teasinensinas (ALMEIDA, 2011), atribuindo uma coloração avermelhada e um sabor

característico. O chá verde e o chá branco são produzidos por processos sem fermentação, conduzidas em um processo de vaporização para manter a cor, sendo o chá branco obtido de folhas mais jovens (NISHIYAMA *et al.*, 2010). De toda produção mundial, 78% corresponde ao chá preto e 20% ao chá verde (PARREIRA, 2012).

O chá é considerado como alimento funcional, isto é, possui propriedades que promovem a melhora dos sintomas de algumas doenças crônicas (SENGER; SCHWANKE; GOTTLIEB, 2010). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) considera alimento funcional aquele alimento que alega em seu rótulo propriedades que provocam um benefício à saúde, sem necessidade de uma supervisão médica (ANVISA, 1999).

As propriedades químicas da planta *Camellia sinensis* são dependentes de fatores externos, como meio ambiente, temperatura e cultivo, que levam a planta a possuir maior ou menor concentração de espécies químicas (DA SILVA; DA SILVA; MICHELIN, 2013). Com o constante interesse da população moderna em torno de uma alimentação saudável, o chá vem sendo utilizado abundantemente pelas famílias para uso alimentar, bem como para fins medicinais (VULCANO; SILVEIRA; ALVAREZ-LEITE, 2008), com isso, os efeitos benéficos para a saúde têm sido largamente explorado ao longo dos anos.

As características da composição química do solo em que a planta *Camellia sinensis* cresce são considerados fatores que afetam a qualidade do chá, pois pode levar ao acúmulo de metais essenciais ou tóxicos na planta. Pode agregar valor a presença de metais por melhorar a qualidade da matéria prima. Por exemplo, é relatado na literatura que a presença de alumínio (Al) no solo aumenta o crescimento da planta devido à maior absorção de fósforo (P) (KONISHI,

MIYAMOTO, TAKI, 1985). A maioria dos micronutrientes é predominantemente constituinte de moléculas de enzimas e são, portanto, essenciais em pequenas proporções para as plantas e seres vivos (MARSCHNER, 1995). O Mn é considerado um elemento essencial para o desenvolvimento da planta, pois desempenha um papel importante no transporte de elétrons na fotossíntese, a deficiência desse metal prejudica o crescimento da planta e pode ter alguns sintomas específicos, como o amarelamento das folhas. (VELOSO *et al.*, 1995). Outros metais encontrados na planta são potássio (K) e magnésio (Mg) (FERRARA, MONTESANO, SENATORE, 2001). Também há estudos sobre a acumulação de cromo (Cr), zinco (Zn), cálcio (Ca), níquel (Ni) e manganês (Mn) (XIE *et al.*, 1998). Como consequência, os metais encontrados na planta, pode resultar em metais benéficos ou maléficos na infusão preparada de chá (LIMA *et al.*, 2009). Poucos trabalhos na literatura relatam os malefícios da ingestão de metais ou de alguns componentes orgânicos presentes no chá (LIMA *et al.*, 2009).

Metais como Al e Mn, em infusões de chá, podem apresentar menor biodisponibilidade para o organismo humano quando presentes na forma de quelatos com catequinas e outros polifenóis presentes, embora a formação destes complexos é dependente do pH do solo que a planta se desenvolve (VITORELLO; CAPALDI; STEFANUTO, 2005).

1.2 Manganês

O manganês é um dos elementos mais abundantes na superfície terrestre, correspondente a aproximadamente 0,1% da crosta terrestre (U.S. EPA, 2004). Pode ser encontrado na água, alimentos e solos (ARNDT, 2009). Considerado de

grande interesse comercial, se encontra na natureza na forma de óxidos, hidróxidos, silicatos e carbonatos, podendo ser o elemento predominante ou em menor concentração. Além disso, não há relatos de ser encontrado na forma livre na natureza (SAMPAIO *et al.*, 1994).

Alguns metais são considerados essenciais para o organismo vivo, pois desempenham papéis fundamentais em diversas funções, como cofatores enzimáticos ou grupos funcionais de proteínas (CORDOVA, 2012). O manganês é um elemento considerado essencial para o desenvolvimento e funcionamento saudável do cérebro humano pois é um cofator da enzima antioxidante superóxido dismutase (MnSOD) (CORDOVA, 2012). Estudos na literatura relatam que a deficiência desse metal ocasionou convulsões em ratos, além de má formação dos ossos e redução da fertilidade (BURTON; GUILARTE, 2009). A meia vida deste metal é de aproximadamente 36 dias, dependendo de fatores específicos, mas no cérebro essa meia vida pode ser maior, podendo ocasionar acúmulo nesse órgão caso a ingestão seja elevada (MENEZES-FILHO, 2009).

O organismo precisa de traços desse metal e isso pode ser obtido em uma dieta rica em alimentos saudáveis. Uma vez consumido, a absorção ocorre em pequenas proporções no intestino. Em elevadas concentrações, metais considerados essenciais podem ser considerados tóxico ao indivíduo, o excesso de manganês, por exemplo, pode ocasionar o Manganismo (U.S. EPA, 2004). A alimentação é a fonte de absorção mais importante de manganês para a população em geral. Ele é encontrado em muitos produtos alimentícios, como vegetais, folhagens, alimentos de origem animal (WHO, 2011), nozes e cereais (ARNDT, 2009) e em chás (YALÇIN; FILIK; APAK, 2012)

A ingestão diária de 2 a 5 mg de manganês em indivíduo adulto e de 1 a 3 mg em criança por dia é considerada como a quantidade ideal de consumo (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1989). Apreciadores de chá podem ter uma ingestão maior deste metal do que a população em geral, uma xícara de chá pode conter 0,4 mg a 1,3 mg de manganês (U.S. EPA, 2004). Em indivíduos saudáveis, em média 5% de manganês consumido via alimentar é absorvido (CORDOVA, 2012) (GARDNER; GUNN, 1995). Dependendo da idade do indivíduo, da quantidade ingerida, espécies químicas, via de exposição e dieta são condições que afetam a absorção e retenção de manganês (U.S. EPA, 2003a). Com isso, agências governamentais estabelecem o máximo de concentração que podemos nos expor. Na água potável, é estipulado a concentração de $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ de manganês como segura para consumo, segundo a agência de proteção ambiental Americana (U.S. EPA, 2003a) enquanto o Ministério da Saúde brasileiro estabelece $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ (Ministério da Saúde, 2005).

A forma química e o estado de oxidação de metais presentes em alimentos são importantes para informar sua biodisponibilidade no organismo humano. Podem ser encontrados em alimentos na forma livre ou combinados (COZZOLINO, 1997). Com base na configuração eletrônica do manganês e nos números de oxidação que esse pode alcançar, suas formas mais estáveis são Mn(II) e o Mn(IV) (ARNDT, 2009). O Mn(III) é considerado instável em meio neutro e oxidante, na ausência de compostos ligantes considerados estabilizadores (ARNDT, 2009). O estado nutricional do Mn pode ser mais facilmente estudado pela especiação dos íons de manganês (YALÇIN; FILIK; APAK, 2012). Diversas espécies de metais presentes na infusão são atribuídas à presença de metal ligado a uma cadeia orgânica (M-O), tais como complexos polifenólicos e oxalatos. Estudos apresentados na literatura relatam que a absorção de M-O pelo organismo é maior que a absorção de metal

livre (M-L) (NARADI, *et al.* 2009), assim o metal pode apresentar biodisponibilidade variável, resultando em diferentes benefícios para a saúde (YALÇIN; FILIK; APAK, 2012).

1.3 Determinação de manganês

Diferentes técnicas são aplicadas para a determinação de manganês total em amostras variadas, entre elas Espectrofotometria (UV-Vis) (MIREA *et al.*, 2015), Espectrometria de Absorção Atômica (AAS) (YALÇIN; FILIK; APAK, 2012), Espectrometria de Emissão Atômica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP OES) (MORGANO, QUEIROZ, FERREIRA, 1999), Espectrometria de Massas Acoplada ao Plasma de argônio (ICP-MS) (KIRA, MAIHARA, 2007), Ativação Neutrônica Instrumental (INAA) (COSTA, MENEZES, 2012), Espectrometria de Emissão Atômica com Filamento de Tungstênio (WC AES) (GONZALEZ; SANTOS, 2015).

Na literatura, diversos trabalhos para determinação de metais em chás foram relatados empregando técnicas espectrométricas, tais como a Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (GF AAS) para a determinação de Pb e Cd (FIRMINO, 2011), para a determinação de Cd, Co, Pb, Cr e Ni (POLECHOŃSKA *et al.*, 2015), Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (F AAS) para Mn (MATSUSHIMA, MESHITSUKA, NOSE, 1993). Variados procedimentos de especiação de manganês foram relatados na literatura, empregando técnicas cromatográficas, métodos de extração em fase sólida (YALÇIN; FILIK; APAK, 2012) e Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS) (SOLOVYEV *et al.*, 2017).

As técnicas convencionais para determinação de Mn, como AAS, fornecem alta precisão e sensibilidade, mas possuem grandes desvantagens, tais como elevado custos de aquisição e manutenção e baixa portabilidade. Técnicas eletroquímicas como voltametria, oferecem uma alternativa mais simples e econômica, com limites de detecção adequados para diversas aplicações analíticas (KANG *et al.*, 2014).

1.4 Técnicas eletroquímicas

A eletroquímica estuda a relação de sistemas elétricos em processos químicos. Em sistemas eletroquímicos, o interesse se deve aos processos e motivos que afetam o transporte de cargas através de uma interface química (BARD *et al.*, 2000). Esse método leva em consideração características elétricas (corrente elétrica, diferença de potencial, acúmulo interfaciais de cargas e outros) (PACHECO *et al.*, 2013), em uma reação redox, ou seja, com transferências de cargas.

A medida é realizada a partir da transferência de carga na interface do eletrodo em solução e tem como fundamento a geração de corrente elétrica não nula (dinâmica). A corrente total do sistema é a soma da corrente faradáica, advinda da reação de oxirredução do analito de interesse e a corrente capacitiva, que é proveniente da dupla camada elétrica, que se forma na interface eletrodo/solução (PACHECO *et al.*, 2013). O potencial em técnicas eletroquímicas é análogo ao comprimento de onda em técnicas ópticas (WANG, 2006).

As vantagens das técnicas eletroquímicas são inúmeras, incluem sensibilidade e seletividade adequadas para inúmeras aplicações analíticas, além de especificidade para espécies eletroativas. Possui ampla faixa linear de trabalho,

portabilidade e instrumentação de menor custo em relação aos de AAS, capacidade de especiação do analito de interesse, monitoramento ambiental, permitem ensaios de ambientes incomuns (WANG, 2006; PACHECO, 2013). Contudo, apresentam desvantagens quanto à perda ou irreprodutibilidade nas medidas (LOWINSOHN, BERTOTTI, 2006).

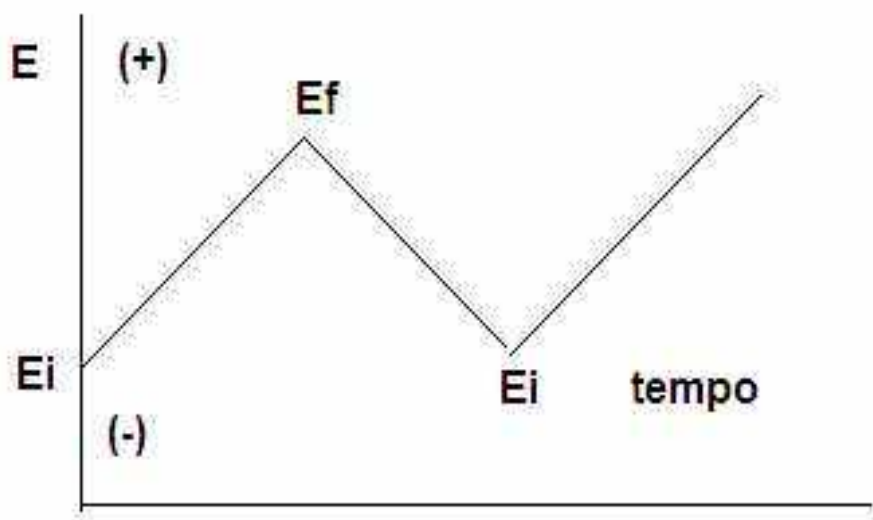
1.5 Modalidades da voltametria

1.5.1 Voltametria cíclica

A voltametria cíclica é uma técnica que mede a corrente em função do potencial a partir de uma reação redox e fornece informações sobre a termodinâmica dos sistemas redox e a cinética de sistemas heterogêneos (WANG, 2006). A voltametria é um processo dinâmico, ou seja, que produz corrente, fundamentada na polarização em uma interface entre a superfície do eletrodo de trabalho e camada da solução de interesse (PACHECO *et al.*, 2013). A velocidade que ocorre o processo de oxidação ou redução é dependente da transferência de massa da solução para a superfície do eletrodo. (SKOOG *et al.* 2006). Nessa técnica, a resposta da intensidade da corrente é um ciclo inteiro ou ciclo parcial, conhecido como voltamograma cíclico, construído por uma varredura de potencial em uma direção e, posteriormente, na direção oposta a inicial. O sentido pode ser tanto positivo como negativo, dependendo da substância analisada (FONSECA; PROENÇA; CAPELO, 2015)

Na Figura 1, é possível verificar a resposta do varredura linear do potencial realizado em uma solução em repouso, utilizando uma onda de potencial triangular (WANG, 2006).

Figura 1- Forma de onda de potencial variando com o tempo



Fonte: Adaptado de Fonseca, Proença, Capelo (2015)

As células eletroquímicas mais comuns são formadas por dois ou três eletrodos (PACHECO *et al.*, 2013). Um eletrodo de trabalho que se polariza, um eletrodo de referência que permite o controle do potencial sobre o eletrodo de trabalho e um eletrodo auxiliar ou contra-eletrodo área relativamente maior que o de trabalho que tem como intuito minimizar as perturbações elétricas, auxiliando para que o eletrodo de referência cumpra sua função sem interferências quando um potencial é aplicado na célula eletrolítica (PACHECO *et al.*, 2013). Também é de grande importância a escolha de um eletrólito de suporte, esse deve possuir alta solubilidade, não pode reagir com espécies presentes na célula eletrolítica e não ser oxidado ou reduzido na faixa de potencial aplicado. Algumas das funções do eletrólito de suporte é manter os coeficientes de atividades das espécies eletroativas praticamente constantes, diminuindo a espessura da camada elétrica (AGOSTINHO; VILLAMIL; ARANHA, 2004).

A escolha da técnica de voltametria ideal para a análise depende do tipo de informação qualitativa e/ou quantitativa que se deseja obter sobre o analito ou do

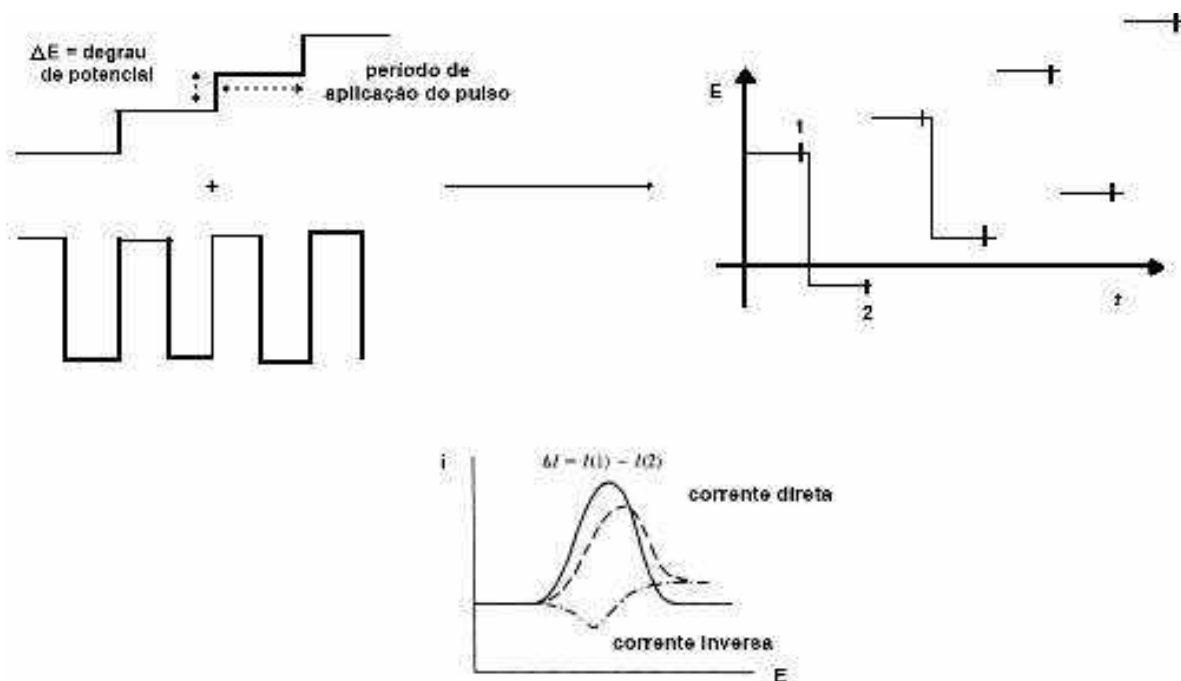
sistemas redox formado ou sobre a interação entre o analito e o eletrodo de trabalho (PACHECO *et al.*, 2013).

1.5.2 Voltametria de onda quadrada

A voltametria de onda quadrada é uma técnica amplamente utilizada para análises quantitativas. Oferece algumas vantagens tais como a frequência analítica e sensibilidade desejáveis (SKOOG *et al.*, 2006), com limites de detecção comparáveis aos obtidos por técnicas espectroscópicas (DE SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003).

Nesta técnica uma onda quadrada simétrica (ΔE_p) é sobreposta a uma rampa de potencial (ΔE_s) na forma de escada aplicada a um eletrodo de trabalho, conforme a Figura 2. A corrente é amostrada duas vezes, durante cada ciclo de onda quadrada, uma no final do pulso direto, quando o sentido do pulso é igual ao sentido da varredura e outra no final do pulso reverso, quando a direção do pulso é contrária a direção da varredura (WANG, 2006).

Figura 2 - Forma de aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada



Fonte: Adaptado de Pacheco *et al.*, 2013

O voltamograma é resultante da diferença entre as correntes obtidas no pulso direto e reverso para cada incremento de potencial aplicado (PACHECO *et al.*, 2013).

1.5.3 Voltametria de redissolução catódica e anódica

As técnicas de redissolução englobam um grande número de sistemas eletroquímicos que contêm uma etapa de pré-concentração do analito (etapa de deposição) e depois uma etapa de varredura, resultando em uma grande vantagem na utilização do método em análises de traços, pois o analito pode ser concentrado por fatores de 100 a 1000 vezes (SKOOG *et al.*, 2006). A pré-concentração é feita por eletrodeposição em um tempo controlado e potencial de deposição é geralmente 0,3-0,5 V mais negativo que o potencial de redução do íon analisado. Além disso,

fatores como dimensão do eletrodo e velocidade de agitação alteram os resultados da análise (SKOOG *et al.*, 2006; WANG, 2006).

A etapa de deposição é fator importante para a sensibilidade da técnica. Nessa etapa, a solução se mantém em agitação e ocorre a deposição na superfície do eletrodo. Após o tempo de deposição pré-selecionado ter sido alcançado, a agitação é interrompida e o analito depositado pode ser determinado por voltametria ou potenciometria. Nesta segunda parte, o analito é redissolvido para a solução, (SKOOG *et al.*, 2006; WANG, 2006). A voltametria de redissolução apresenta duas variações, na redissolução catódica (CSV), aplica-se um potencial positivo ao eletrodo de trabalho, que atua como anodo na etapa de deposição e como cátodo na etapa de redissolução. Na redissolução anódica (ASV) ocorre o inverso da CSV (SKOOG *et al.* 2006).

Na literatura diversos trabalhos são apresentados empregando a voltametria de redissolução para determinação de manganês. Stozhko e colaboradores (2005) propuseram o uso de um eletrodo modificado de grafite com formazan em meio amoniacal (pH 9) para a determinação de manganês em águas. Neste trabalho antimônio foi considerado um interferente que pode ser minimizado com a oxidação de Sb(III) para Sb(V) utilizando oxidação química ou radiação UV. Interferentes orgânicos foram eliminados após digestão empregando radiação UV e aquecimento a 90°C por 1 hora na presença de peróxido de hidrogênio. Em outro trabalho apresentado na literatura, um sensor eletroquímico à base de cobre e eletrodo de paládio foi empregando para a determinação de Mn em águas (KANG *et al.*, 2014). Nesse trabalho, o Fe(II) foi considerado um interferente em uma concentração acima de 0,5 mg L⁻¹, atribuída ao fato que este elemento pode reduzir quimicamente o MnO₂ à Mn(II) mais efetivamente que o potencial aplicado ao eletrodo. Outro

trabalho foi realizado com um eletrodo de carbono comercial modificado foi empregado e, neste estudo, os autores concluíram que possíveis cátions, tais como Al(III), Cu(II), Fe(II) e Pb(II), causam interferências na determinação de manganês (BERG *et al.*, 2016). A voltametria de redissolução foi empregada para a determinação de manganês em amostras de vinhos (BURMAKINA *et al.*, 2016), utilizando eletrodo de grafite com eletrólito de suporte com amônia (pH 9,2) e corrigido (pH 5). De acordo com os autores, nenhuma interferência foi observada neste procedimento.

De acordo com os trabalhos apresentados na literatura, empregando a voltametria de redissolução para a determinação de manganês, espécies orgânicas e inorgânicas podem interferir na determinação deste analito e em diversos casos, uma etapa de preparo de amostra adicional é necessária para a remoção de interferentes. Neste trabalho um procedimento empregando a voltametria de redissolução catódica de onda quadrada é proposto para o fracionamento de manganês em amostras de chá preto (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze).

2 OBJETIVO

Esse trabalho tem como objetivo desenvolver um procedimento para a fracionamento de manganês em amostras de chá preto (*Camellia sinensis* (L.) *Kuntze*) empregando a voltametria de onda quadrada com redissolução catódica.

2.1 Objetivos específicos

- Realizar o fracionamento de manganês livre em amostras de chá preto sem uma etapa de preparo de amostra adicional.
- Determinar a concentração de manganês total em amostras de chá preto.
- Estabelecer condições satisfatórias para a extração de manganês(II) livre por ponto nuvem, e com isso obter o fracionamento de manganês na amostra de chá preto.

3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes e soluções

Todas as soluções empregadas neste trabalho foram preparadas em água ultrapura, tipo 1 (18 MΩcm), (Gehaka, São Paulo, Brasil). A Tabela 1 apresenta os reagentes utilizados para o desenvolvimento desse trabalho.

Tabela 1 - Lista de reagentes utilizados

Reagente	Teor	Empresa
Quercetina	P.A	-
Catequina	P.A	-
Triton X-100	P.A	Amresco
Triton X-114	P.A	Sigma-Aldrich
Ácido nítrico	65%	Merck
Peróxido de hidrogênio	30%	Dinâmica
Solução estoque padrão de Mn	1000 mg L ⁻¹	Tritisol
Hidróxido de sódio	P.A	Qhemis
Fosfato monobásico de sódio	P.A	Vetec
Ácido acético	99%	Vetec
Fosfato diácido de sódio	P.A	Vetec
Acetato de sódio	P.A	Vetec
Etanol	P.A	Synth

Soluções padrões de manganês foram preparadas por diluições sucessivas de uma solução padrão contendo 1000 mg L^{-1} (Titrisol) do analito. Solução tampão de ácido fosfórico/fosfato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada a partir da dissolução de quantidades apropriadas de fosfato diácido em água, ajustando o pH com NaOH (Qhemis). Solução tampão de ácido acético/acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada pela adição de quantidades apropriadas de ácido acético e acetato de sódio em água deionizada. Solução de catequina 1 mmol L^{-1} foi preparada solubilizando quantidades apropriadas do reagente em uma mistura de etanol e Triton X-100, completando o volume em balão volumétrico de 25 mL com tampão fosfato (pH 8). A solução de quercetina 1 mmol L^{-1} , foi preparada da mesma forma.

Para estudos eletroquímicos das espécies de manganês presentes nas amostras de chás, preparou-se um complexo adicionando quantidades iguais de catequina ou quercetina 1 mmol L^{-1} com manganês de mesma concentração. Em seguida a solução foi aquecida por duas horas (80°C).

3.2. Instrumentação

Todas as medidas voltamétricas para a determinação de manganês foram realizadas empregando-se um potenciostato modelo Vertex (Ivium Technologies, Eindhoven, Holanda). Demais parâmetros de operação estão apresentados a seguir:

- Eletrodo de trabalho de carbono vítreo (ECV) – área $5,172 \text{ mm}^2$.
- Eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl saturado).
- Eletrodo auxiliar de platina.
- *Software* IviumSoft 2,5, fornecido pelo fabricante, para aquisição dos dados.

Um espectrômetro de absorção atômica SpectrAA-220 (Varian®, Victoria, Austrália) foi empregado para comparar os resultados obtidos para a determinação de manganês em amostras de chá com aqueles obtidos pelo procedimento proposto. Todas as medidas foram realizadas em triplicata. Os parâmetros instrumentais de operação utilizados estão apresentados abaixo:

- Lâmpada de catodo oco de Mn – Varian®, Victoria, Austrália; comprimento de onda da lâmpada 279,5 nm.
- Lâmpada de corretor de fundo de deutério.
- Resolução espectral 0,2 nm.
- Chama ar-acetileno (oxidante).

3.2.1 Amostra de chá preto

Preparou-se o chá preto conforme orientação do fabricante, cerca de 2,1 g de amostra do chá foram pesadas e em seguida foram adicionados 200 mL de água deionizada a 100° C. Em seguida, as amostras foram filtradas em membranas de acetato de celulose de 0,45 µm e mantidas sob refrigeração até a medida analítica.

Para a determinação de Mn livre no método proposto eletroquímico, a amostra de infusão foi diluída 100 vezes em uma célula eletrolítica com tampão acetato/acético 0,1 mol L⁻¹ e a quantificação do analito foi realizada pelo método de adição de padrão.

A determinação de manganês total pelo método eletroquímico foi realizada após digestão ácida empregando 1 mL de ácido nítrico concentrado, 0,25 mL de peróxido de hidrogênio (30%) e 3 mL de chá preto, seguido por aquecimento por 1 hora em bloco digestor (90°C) e o pH corrigido com NaOH (3 mol L⁻¹). Posteriormente, o digerido foi diluído 50 vezes em uma célula eletrolítica com

tampão ácido acético/acetato 0,1 mol L⁻¹ seguida da determinação pelo método de adição de padrão.

3.3 Procedimento de referência

Para comparação dos resultados obtidos para o fracionamento de manganês as amostras de chás foram submetidas a extração líquido-líquido em ponto nuvem. Em um tubo de 15 mL foram adicionados 1 mL da amostra de chá preto seguido da adição de 1,0 mL de Triton X-114 (5%, v/v). Em seguida, a amostra foi submetida ao aquecimento em banho termostatzado (45°C) por 10 min e em seguida centrifugada por 15 min (3000 rpm). Após a separação das fases, foi utilizada a fase correspondente ao Mn(II) livre (Fase aquosa) para quantificação no F AAS pelo método de adição de padrão.

Para determinação de Mn total no F AAS, as amostras foram filtradas em membrana de acetato de celulose, e em seguida as amostras foram submetidas às leituras por F AAS, pelo método de adição de padrão.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A determinação de manganês empregando técnicas eletroanalíticas é relatada em diversos trabalhos na literatura (GRYGO-SZYMANKO; TOBIASZ; WALAS, 2016). Nestes procedimentos, a determinação de manganês em diferentes amostras foi realizada considerando apenas as espécies de manganês livres em solução. Nestas aplicações, a determinação ocorreu em amostras na ausência de espécies que possam reagir com este metal, levando à formação de complexos estáveis, o que poderia ocasionar na diferenciação do perfil eletroquímico da espécie livre em solução. Visando avaliar o perfil eletroquímico das espécies de manganês, foram registrados voltamogramas cíclicos obtidos para uma solução padrão do analito e também na presença de flavonoides, comumente encontrados em infusões preparadas a partir da planta *Camellia sinensis*. Considerando que esta espécie é rica em flavonoides, uma infusão, típica preparada com amostras de chás comercialmente disponíveis, apresenta teores elevados destas espécies (LIMA *et al.*, 2009). Este estudo teve como finalidade verificar se na presença de alguns flavonoides, que podem formar complexos com manganês, existiria alteração no perfil eletroquímico deste analito, o que ocasionaria interferência na determinação deste metal em amostras de chá.

Para os estudos do perfil voltamétrico foram obtidos voltamogramas cíclicos para soluções contendo manganês e dois flavonoides, catequina e quercetina, assim como os complexos formados entre estes flavonoides e o metal, de acordo com informações obtidas na literatura. Na Figura 3 são apresentados os voltamogramas cíclicos obtidos em presença de catequina e na Figura 4 na presença de quercetina.

De acordo com os resultados obtidos nas Figuras 3 e 4, os íons livres Mn(II) possuem potencial de oxidação em 0,75 V (ARNDT, 2009). Os complexos de [Mn(quercetina)] e [Mn(catequina)] apresentaram o mesmo pico de oxidação em 0,75 V em uma menor amplitude. É importante destacar que, embora tenha ocorrido a formação do complexo dos flavonoides com o metal, confirmado pela mudança de coloração da solução, em equilíbrio parte do metal permanece livre em solução. Na literatura não são apresentados dados dos valores da constante de formação destes complexos. Portanto, o sinal observado para a solução contendo manganês na presença dos dois flavonoides pode ser atribuído à presença de metal livre.

Figura 3 - Voltamogramas cíclicos de 1 mmol L⁻¹ de catequina, 1 mmol L⁻¹ de Mn²⁺ e do complexo [Mn(catequina)]. Eletrólito: tampão fosfato (pH 8); velocidade de varredura: 100 mV s⁻¹; incremento de potencial: 5 mV.

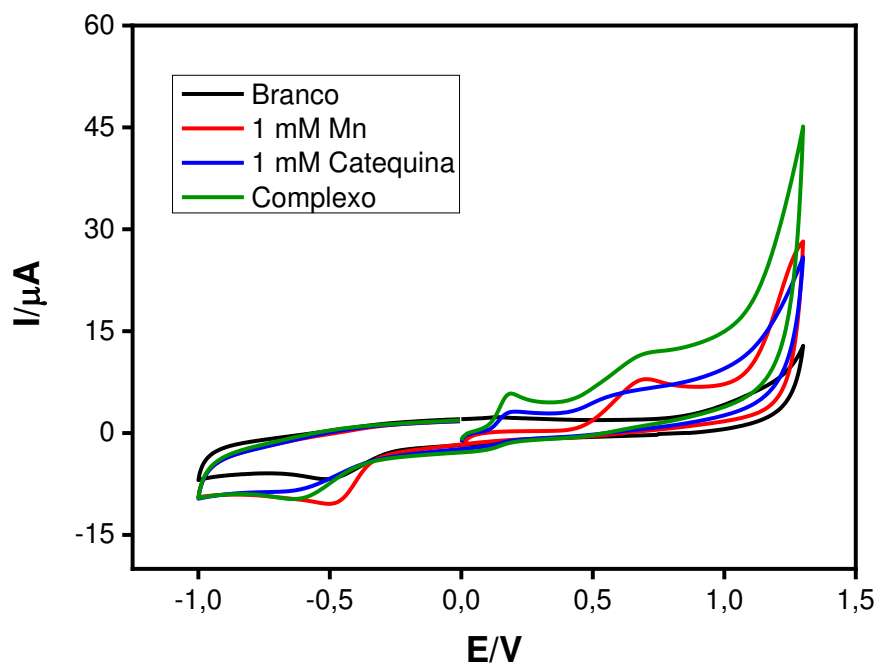
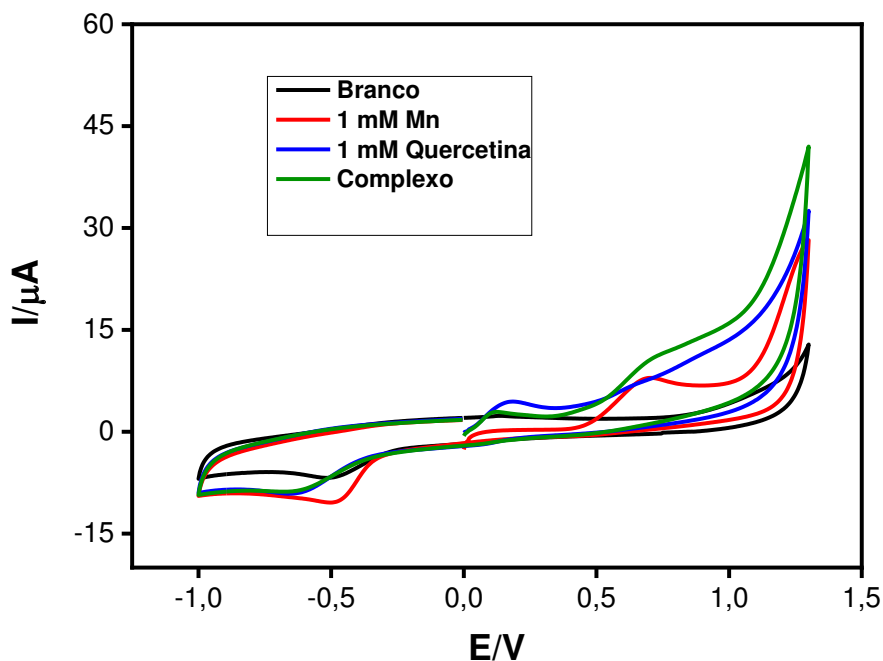
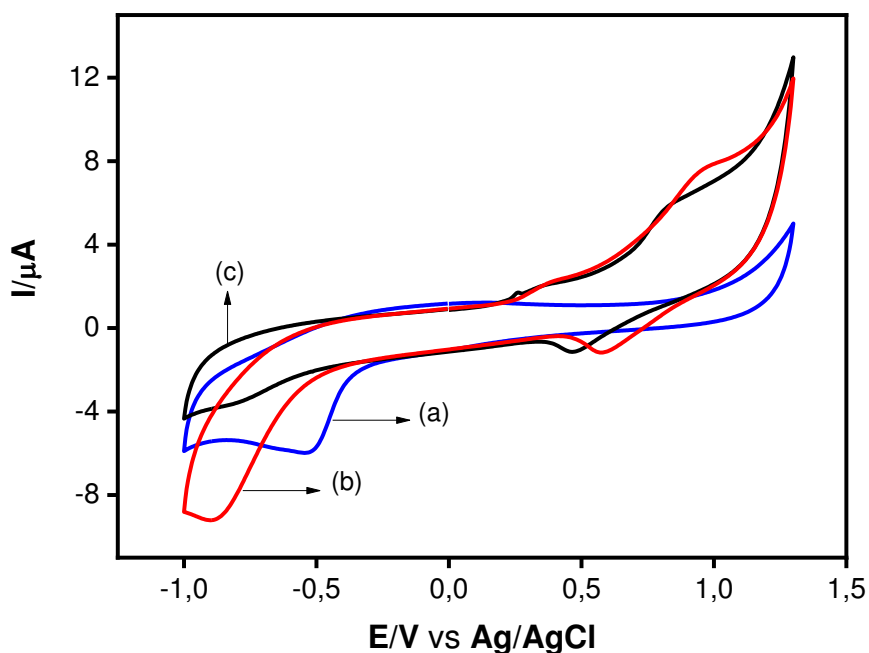


Figura 4 - Voltamogramas cíclicos para soluções contendo de 1 mmol L⁻¹ de quercetina, 1 mmol L⁻¹ de Mn²⁺ e do complexo [Mn(quercetina)]. Eletrólito (Branco): tampão fosfato (pH 8); velocidade de varredura: 100 mV s⁻¹.



O potencial de redução em -0,52 V observados nos voltamogramas apresentados nas Figuras 3 e 4 pode ser atribuído à presença de oxigênio dissolvido em solução. Para confirmar se o pico é correspondente à redução do oxigênio, e eventualmente eliminar possíveis interferências, foram obtidos voltamogramas cíclicos para uma mesma amostra de chá preto antes e após a remoção do oxigênio da solução previamente as medidas (DE SOUZA *et al.*, 2011). Conforme observado na Figura 5, não houve variação significativa na região de monitoramento do analito após a remoção de oxigênio com nitrogênio. Sendo assim, experimentos seguintes foram realizados sem a necessidade de remoção do oxigênio.

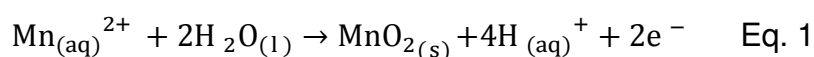
Figura 5 - Voltamogramas cíclicos para uma amostra de chá preto obtida em diferentes condições: (a) eletrólito de suporte; (b) amostra sem remoção de oxigênio (c) remoção do oxigênio (borbulhando nitrogênio na amostra por 15 min). Intervalo de potencial (0,0 a +1,5 V: +1,5 a -1,0; -1,0 a 0,0). Demais condições iguais da Figura 4.



4.1 Otimizações para voltametria de onda quadrada

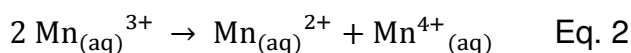
Na literatura são apresentados trabalhos que reportam a determinação de Mn(II) por voltametria de redissolução catódica. As medidas são baseadas na formação de óxidos do metal que se adsorvem à superfície do eletrodo de carbono e posterior redissolução do metal (FELIX *et al.*, 2005; LIMA, 2014). A determinação voltamétrica de manganês é dependente do pH, conforme Equações 1 a 4 (FELIX *et al.*, 2005).

A equação 1 é proposta por Rodrigues, Munichandraiah, Shukla, 1998:

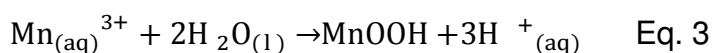


Essa reação não ocorre em uma etapa, pois é pouco provável que 2 elétrons sejam transferidos em uma única etapa. Com isso, o Mn^{2+} sofre uma oxidação para Mn^{3+} .

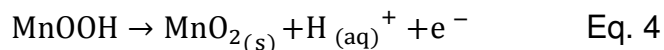
Em pH abaixo de 7, o Mn^{3+} pode obedecer a equação 2:



Ou a Equação 3:



E posteriormente, ocorre a oxidação do MnOOH, conforme a Equação 4:



De acordo com a literatura o próprio Mn^{4+} pode levar ao dióxido de manganês (DAVIES, 1968). Conforme a Equação 5.



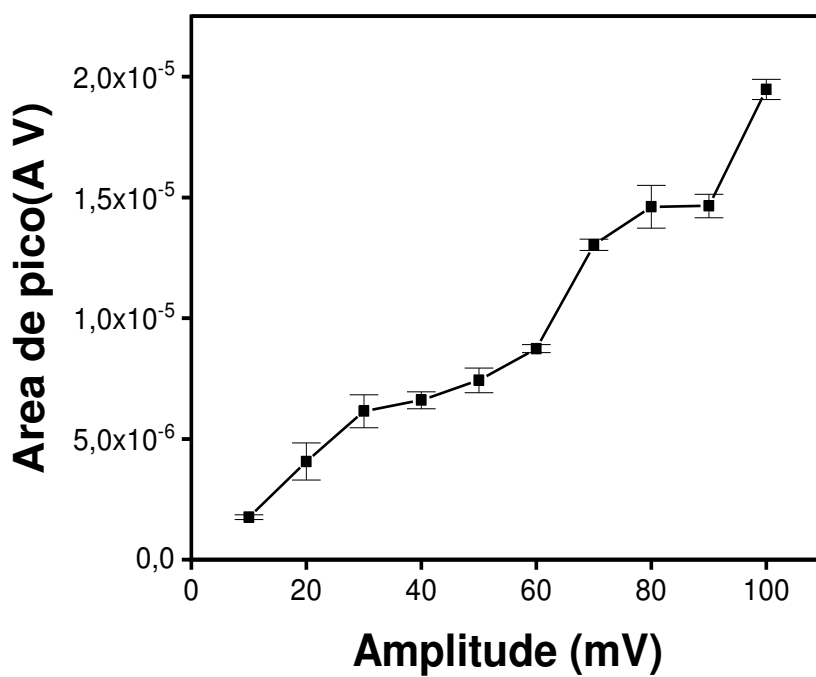
Em função destes estudos, neste trabalho optou-se por fixar o pH em 4,5, considerado o ideal para a detecção do manganês, pois se obtém uma maior sensibilidade na detecção do metal (LIMA, 2014). O tampão acetato de sódio/ ácido acético foi o escolhido como eletrólito de suporte pela facilidade do preparo, eficiência na estabilidade do pH e menor força iônica (AGOSTINHO; VILLAMIL; ARANHA, 2004). Medidas empregando redissolução catódica necessitam de uma etapa de limpeza do eletrodo de trabalho, minimizando efeito de memória ocasionado pela deposição do analito na superfície do eletrodo em etapas sucessivas. Com base na literatura o potencial de condicionamento -0,5 V é

considerado suficiente (FELIX *et al.*, 2005) para a limpeza. Esta etapa de condicionamento foi implementada em todas as medidas.

Os parâmetros eletroquímicos da voltametria de onda quadrada podem influenciar diretamente no sinal analítico. A otimização de parâmetros eletroquímicos é uma etapa importante no desenvolvimento de um procedimento analítico, pois a precisão, seletividade e sensibilidade podem ser afetadas de acordo com as condições de trabalho (DE SOUZA, MACHADO, AVACA, 2003). Considerando estes aspectos, diversos parâmetros eletroquímicos foram otimizados pelo método univariado com a finalidade de se obter uma relação de compromisso entre sensibilidade, precisão e seletividade para a determinação de manganês em infusões preparadas a partir da planta *Camellia sinensis*, empregando voltametria de onda quadrada.

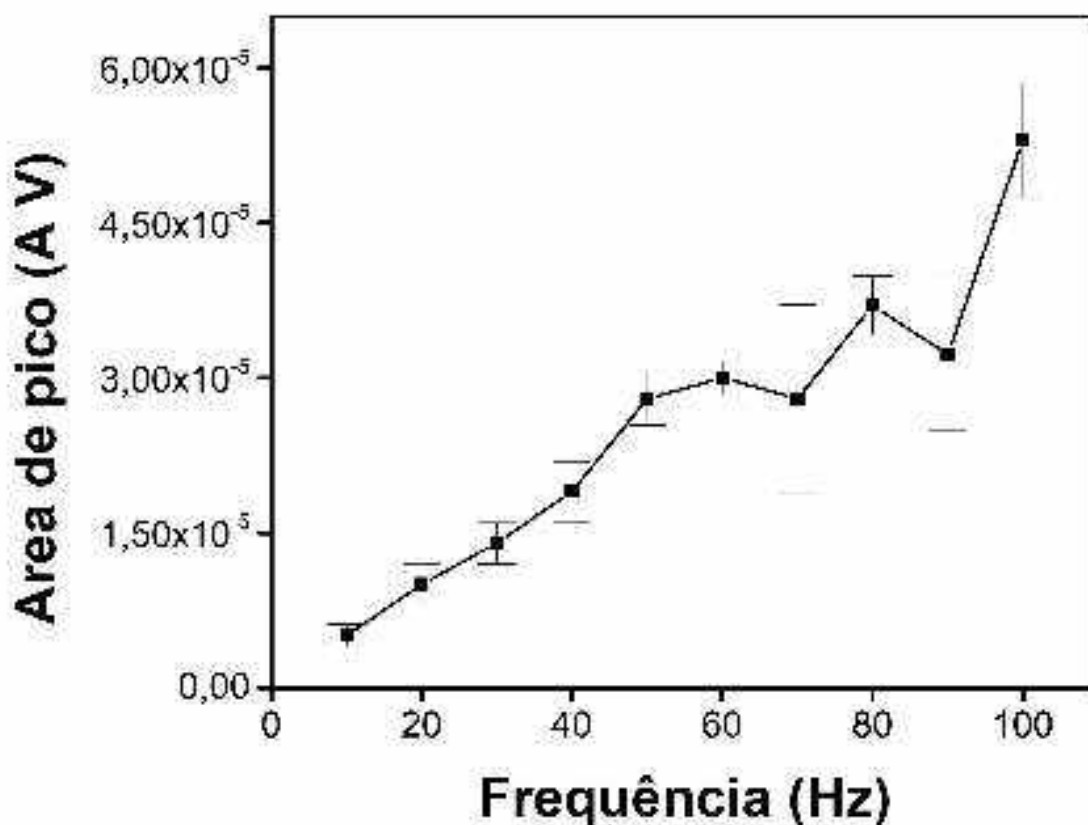
O efeito da amplitude no sinal analítico de manganês foi avaliado no intervalo de 10 a 100 mV para soluções de manganês e os resultados estão apresentados na Figura 6. Como pode ser observado, o sinal analítico aumentou com o aumento da amplitude de pulso e maiores sinais foram obtidos com 100 mV. Com a finalidade de diminuir a corrente capacitiva na técnica de SWV a aplicação de pulsos de potencial é aplicado na forma de escada, no qual a amplitude é a magnitude de pulsos aplicados, a frequência a passagem de pulsos por segundo em um mesmo ponto, e o degrau de deposição (step) é um incremento a variação do degrau da escada (DE SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003). O potencial de 100 mV foi considerado satisfatório por apresentar maior sinal analítico e menor desvio padrão quando realizados em triplicata, não sendo necessário a aplicação de potenciais maiores.

Figura 6 - Avaliação do efeito do aumento da amplitude no sinal analítico para a determinação voltamétrica de manganês. $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Mn^{2+} . Potencial de condicionamento de $-0,5 \text{ V}$ durante 30 s . Potencial de deposição de $1,2 \text{ V}$ por 60 s . Frequência 20 Hz . Incremento de potencial 4 mV . Tampão HAc/Ac^- ($\text{pH } 4,5$).



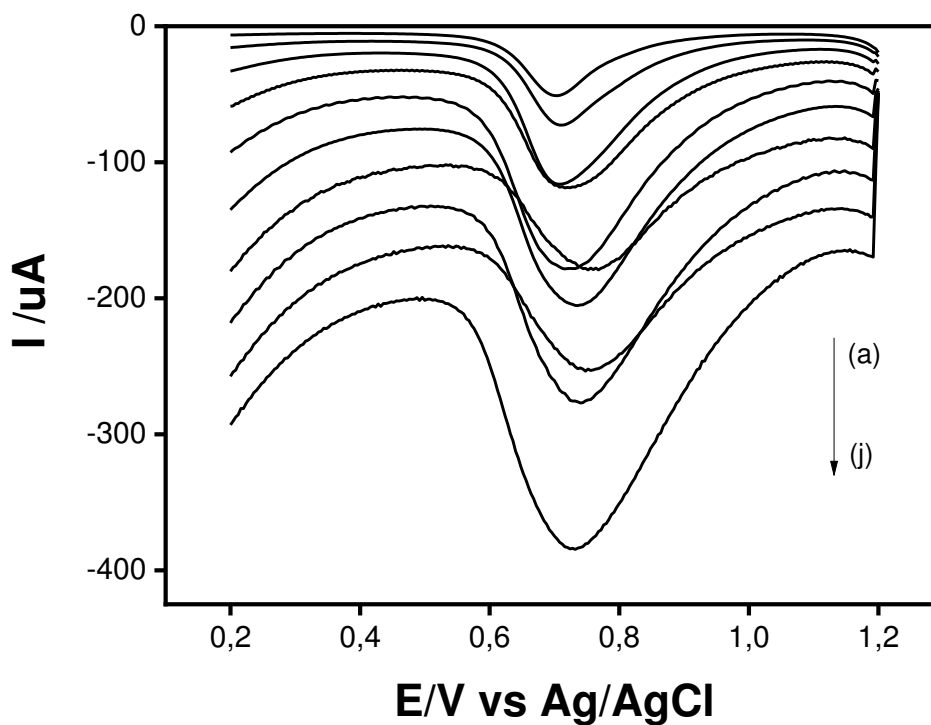
A frequência de aplicação dos pulsos de potencial foi avaliada no intervalo de 10 a 100 Hz e a variação do sinal analítico em função do potencial está apresentado na Figura 7. A Figura 8 apresenta os voltamogramas obtidos para a avaliação do efeito do aumento da frequência no sinal analítico.

Figura 7 - Avaliação do efeito do aumento da frequência no sinal analítico para a determinação voltamétrica de manganês. $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Mn^{2+} . Potencial de condicionamento de $-0,5 \text{ V}$ durante 30 s . Potencial de deposição de $1,2 \text{ V}$ em 60 s . Amplitude 100 mV . Incremento de potencial 4 mV



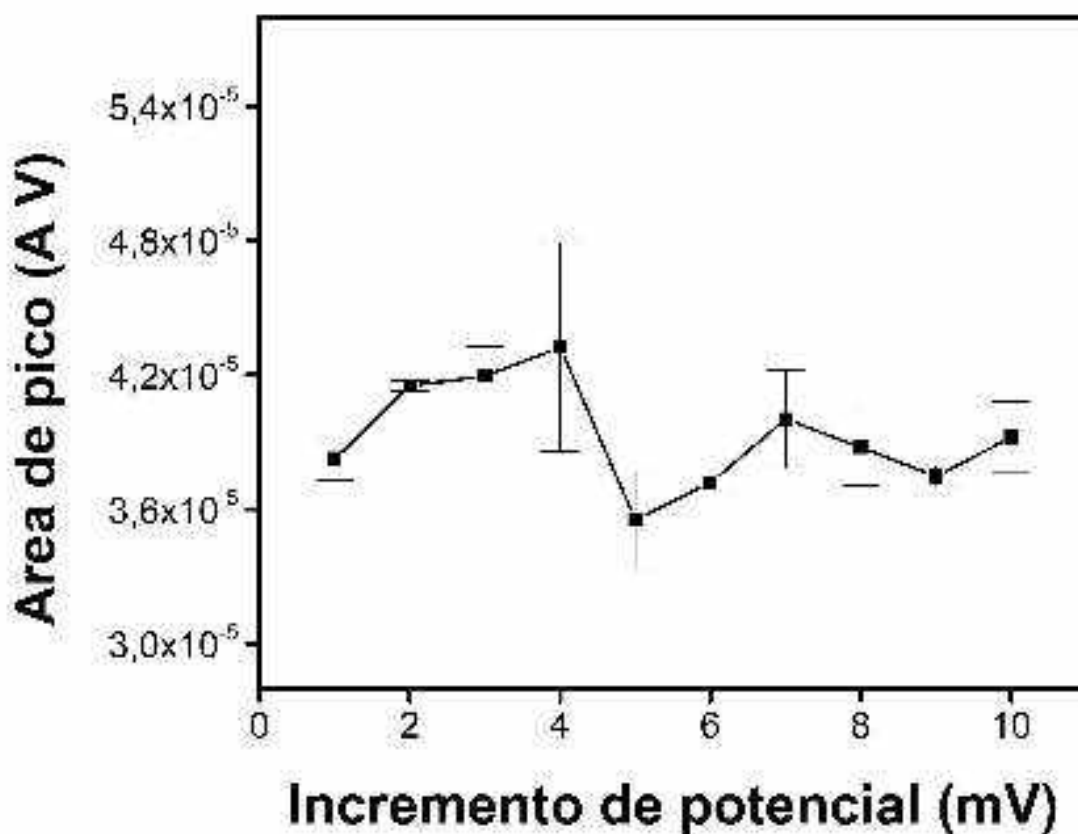
O sinal analítico aumentou com o aumento da frequência, no entanto, para valores acima de 60 Hz maiores desvios foram observados. O aumento da frequência, provoca um alargamento nos picos de redissolução catódica do Mn(II) e pode levar à uma sobreposição de outros picos de outras espécies presentes na amostra, e que possuem o sinal próximo ao do Mn(II) . Visando evitar interferências de outras espécies, a frequência de 60 Hz foi selecionada para estudos posteriores.

Figura 8 - Voltamogramas do efeito do aumento da frequência para a determinação voltamétrica de manganês. $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Mn^{2+} . Potencial de condicionamento de $-0,5 \text{ V}$ durante 30 s . Potencial de deposição de $1,2 \text{ V}$ em 60 s . Amplitude 100 mV . Incremento de potencial 4 mV . (a) 10, (b) 20, (c) 30, (d) 40, (e) 50, (f) 60, (g) 70, (h) 80, (i) 90 e (j) 100 Hz .



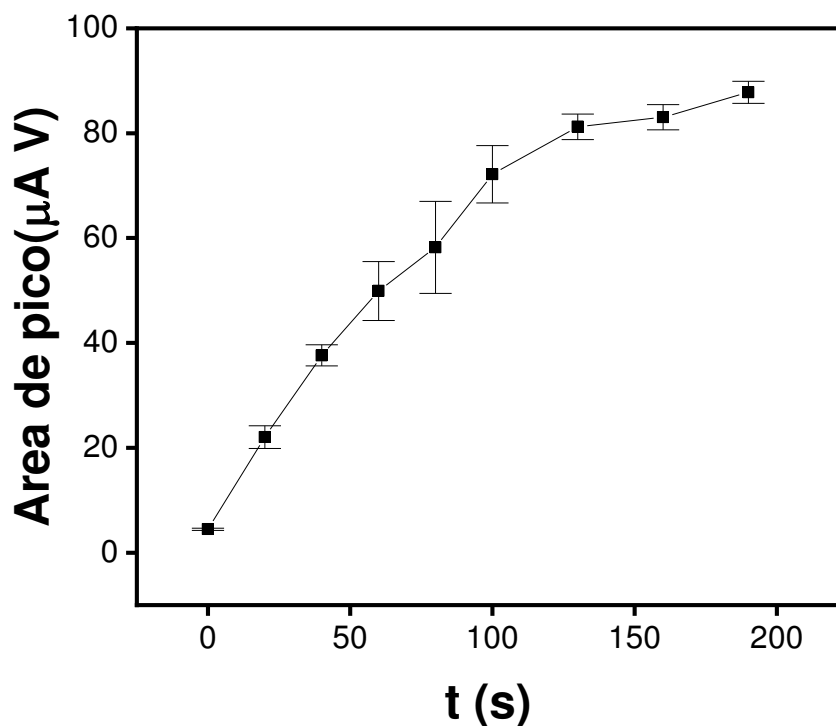
A variação do sinal em função do incremento de potencial (*step*) foi avaliada no intervalo de 1 a 10 mV , e os resultados estão apresentados na Figura 9. Melhores resultados foram obtidos quando o incremento de 2 mV foi empregado, proporcionando melhor precisão nas medidas.

Figura 9 - Avaliação do efeito do aumento do incremento de potencial no sinal analítico para a determinação voltamétrica de manganês. $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Mn^{2+} . Potencial de condicionamento de $-0,5 \text{ V}$ por 30 s. Potencial de deposição de $1,2 \text{ V}$ por 60 s. Amplitude 100 mV . Frequência 60 Hz . Tampão HAc/Ac^-



Uma alternativa para aumentar a sensibilidade em medidas voltamétricas é aumentar o tempo que é aplicado um potencial, mantendo a solução sob agitação para facilitar o transporte de massa do analito por convecção, junto a superfície do eletrodo. Quanto maior o tempo, maior a concentração do metal depositado (WANG, 2006). O efeito do tempo de deposição foi avaliado no intervalo de 0 a 200 s e os resultados obtidos estão apresentados na Figura 10.

Figura 10 - Avaliação do efeito do aumento do tempo de deposição no sinal analítico para a determinação voltamétrica de manganês. $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Mn^{2+} . Potencial de condicionamento aplicado de $-0,5 \text{ V}$ durante 30 s. Potencial de deposição de $1,2 \text{ V}$. Amplitude 100 mV. Frequência 60 Hz. Incremento de potencial 2 mV.



O sinal analítico aumenta com o aumento do tempo de deposição. Buscando estabelecer uma relação de compromisso entre aumento de sinal e frequência analítica, o tempo de 90 s foi selecionado para estudos posteriores. A Tabela 2 apresenta os parâmetros otimizados e os valores selecionados para a determinação voltamétrica de manganês.

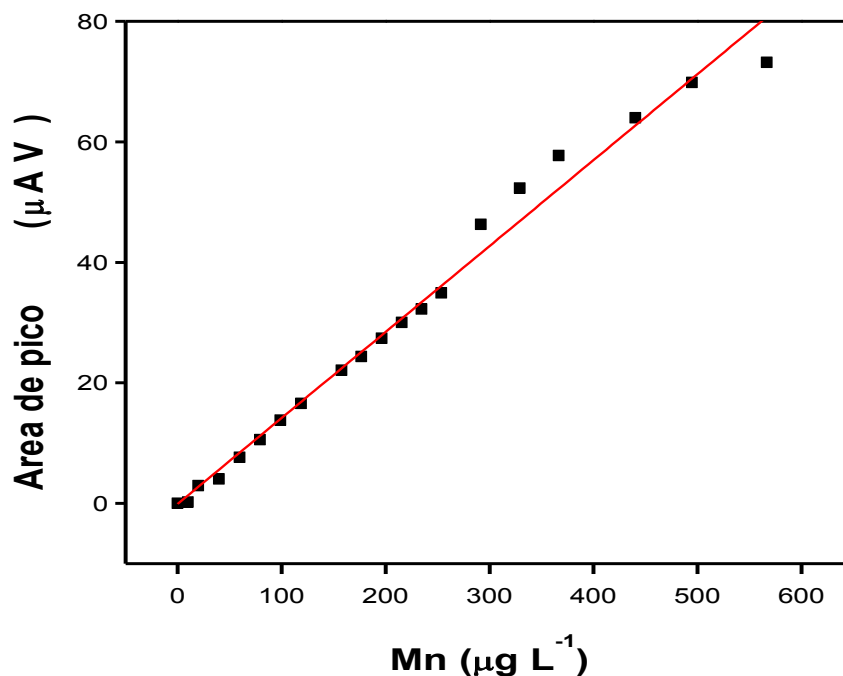
Tabela 2 - Parâmetros eletroquímicos otimizados para a determinação de Mn por ECV.

Parâmetros	Valor otimizado
Potencial de condicionamento (V)	-0,5
Tempo de condicionamento (s)	30
Potencial de deposição (V)	+1,2
Tempo de deposição (s)	90
Amplitude (mV)	100
Frequência (Hz)	60
Degrau de potencial (mV)	2

4.2 Características analíticas e aplicação em meio aquoso

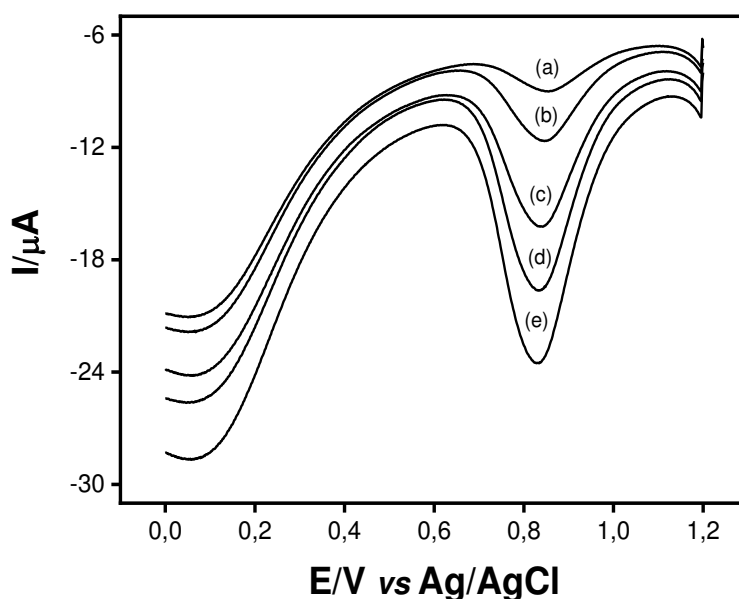
Após a otimização dos parâmetros eletroquímicos para a determinação de manganês, as características analíticas foram obtidas nas condições otimizadas. A faixa de trabalho foi avaliada construindo uma curva de calibração por adições crescentes do padrão de Mn, conforme a Figura 11.

Figura 11 - Resposta voltamétrica (área de pico) em função da concentração de manganês. Condições otimizadas conforme Tabela 2.



De acordo com os resultados apresentados na Figura 11, para o intervalo avaliado não foi observada correlação satisfatória ($r = 0,985$). No entanto, melhor linearidade ($r = 0,998$) foi observada no intervalo de concentração de 20 a 250 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os voltamogramas correspondentes a curva de calibração no intervalo de concentração de 20 a 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ estão apresentados na Figura 12.

Figura 12 - Voltamogramas da curva de calibração de manganês. Condições otimizadas conforme Tabela 2. (a) 20, (b) 40, (c) 60, (d) 80 e (e) 100 $\mu\text{g L}^{-1}$.



Para o intervalo linear avaliado nas Figuras 11 e 12, a seguinte equação linear foi obtida:

$$A_{Mn} = 0,21 + 1,3 C_{Mn^{2+}} (\mu\text{g L}^{-1}) \quad \text{Eq. 6}$$

onde A_{Mn} é a área de pico de redissolução catódica do Mn^{2+} e $C_{Mn^{2+}}$ a concentração de Mn^{2+} em $\mu\text{g L}^{-1}$. A Equação 6 apresenta coeficiente de correlação ($r = 0,999$) considerado, estatisticamente, ajuste ideal para uma curva (RIBANI *et al.*, 2004).

4.2.1 Repetibilidade

A precisão das medidas voltamétricas foi avaliada empregando as condições otimizadas para 10 leituras sucessivas de uma solução contendo Mn 50 $\mu\text{g L}^{-1}$. O desvio padrão relativo (DPR) foi calculado conforme a equação 7.

$$DPR = \frac{s}{x} \cdot 100 \quad \text{Eq. 7}$$

Sendo x a média das áreas de pico e s o desvio padrão das áreas de pico.

A Figura 13 apresenta o sinal analítico para 10 leituras e a Figura 14 apresenta o voltamograma da repetibilidade. O desvio padrão relativo estimado como 9,7%.

Figura 13 - Sinal analítico para 10 medidas consecutivas de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de manganês.

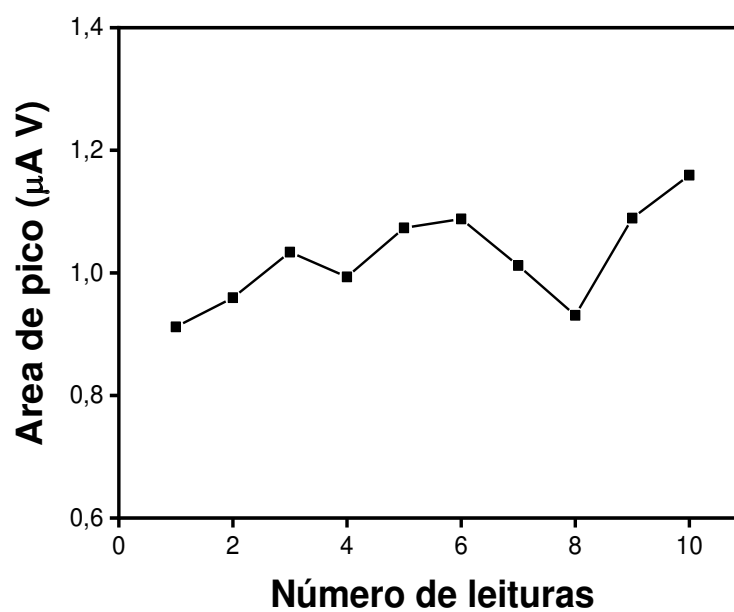
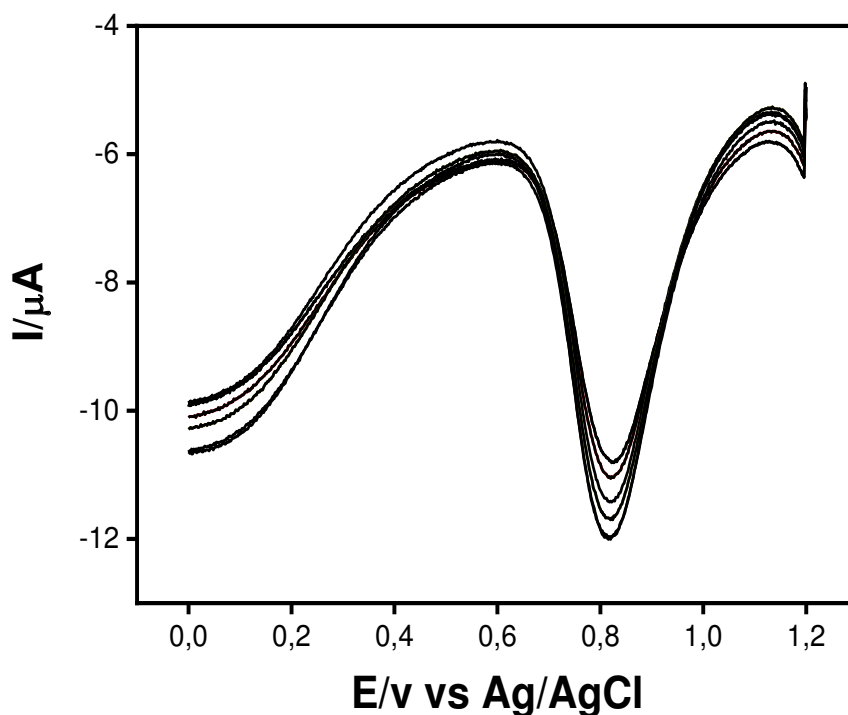


Figura 14 - Voltamogramas para 10 medidas analíticas consecutivas de $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de manganês.



De acordo com os voltamogramas de repetibilidade obtidos pode-se observar um suave aumento progressivo do sinal que pode ser atribuído a adsorção do analito na superfície do eletrodo. A adsorção que pode ser ocasionada pelos reagentes ou analito, fornecendo uma resposta analítica maior ou menor, impedindo a repetibilidade e/ou a reprodutibilidade eficaz (SOUZA, 2011). Ainda assim, o desvio obtido para as dez medidas consecutivas foi abaixo de 10%.

4.2.2 Limite de detecção e limite de quantificação

O limite de detecção (LD) é a menor concentração que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada em uma análise proposta. O LD pode ser

obtido de três formas: método visual, método sinal-ruído e método baseado em parâmetros da curva analítica (RIBANI *et al.*, 2004).

O método adotado foi o baseado em parâmetros da curva analítica de acordo com a Equação 8, na qual s é o desvio e B , o coeficiente angular do gráfico de calibração.

$$LD = \frac{3 \times s}{B} \quad \text{Eq. 8}$$

O limite de detecção foi estimado em $0,06 \mu\text{g L}^{-1}$, para valor de s igual $6,83 \times 10^{-10}$ e B igual a $3,80 \times 10^{-8}$.

O limite de quantificação é a menor concentração da substância de interesse, que pode ser quantificada na solução, com exatidão e precisão determináveis (BRITO *et al.*, 2003). O valor do LQ foi estimado através da Equação 9, na qual s é o desvio padrão da resposta e B , o coeficiente angular do gráfico de calibração. O valor obtido foi igual a $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$.

$$LQ = \frac{10 \times s}{B} \quad \text{Eq.9}$$

4.2.3 Aplicação em amostras de chá preto comercial

Após a otimização e a obtenção das características analíticas, o procedimento proposto foi aplicado na determinação de manganês em quatro amostras de chá preto comerciais preparadas conforme recomendações do fabricante. Os resultados obtidos foram comparados aos resultados obtidos por espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS). A concentração de Mn na amostra de chá preto foi

determinada pelo método de adição de padrão pelos métodos eletroquímico proposto e de referência. Na Figura 15 é apresentada uma curva de calibração obtida para a determinação voltamétrica de manganês pelo método proposto para a amostra 1. A Figura 16 apresenta os voltamogramas de onda quadrada obtidos na construção da curva de calibração para a mesma amostra.

A curva de adição de padrão apresentou um coeficiente de correlação linear igual a 0,999 sendo descrita pela Equação 10.

$$A_{Mn} = 8,54 + 0,33 C_{Mn\ 2+} (\mu g\ L^{-1}) \quad \text{Eq. 10}$$

Figura 15 - Curva de adição de padrão para a determinação voltamétrica de manganês em amostras de chás. Demais condições conforme Tabela 2. A amostra 1 foi diluída 100 vezes

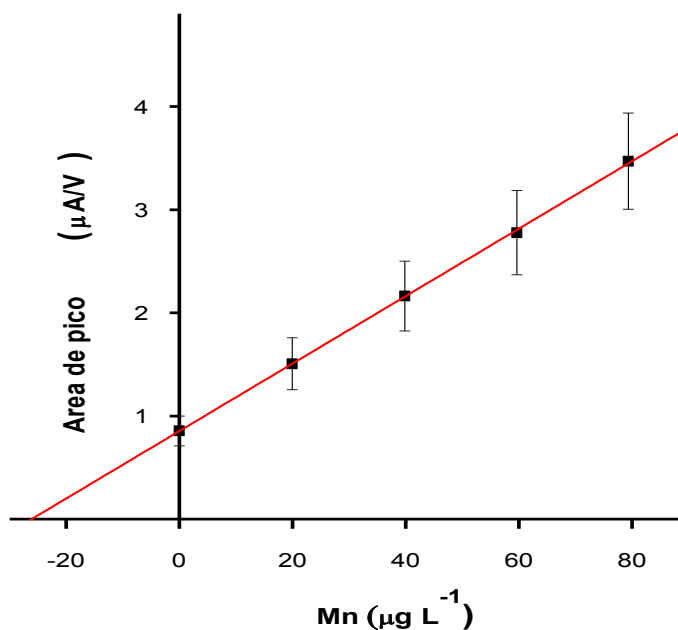
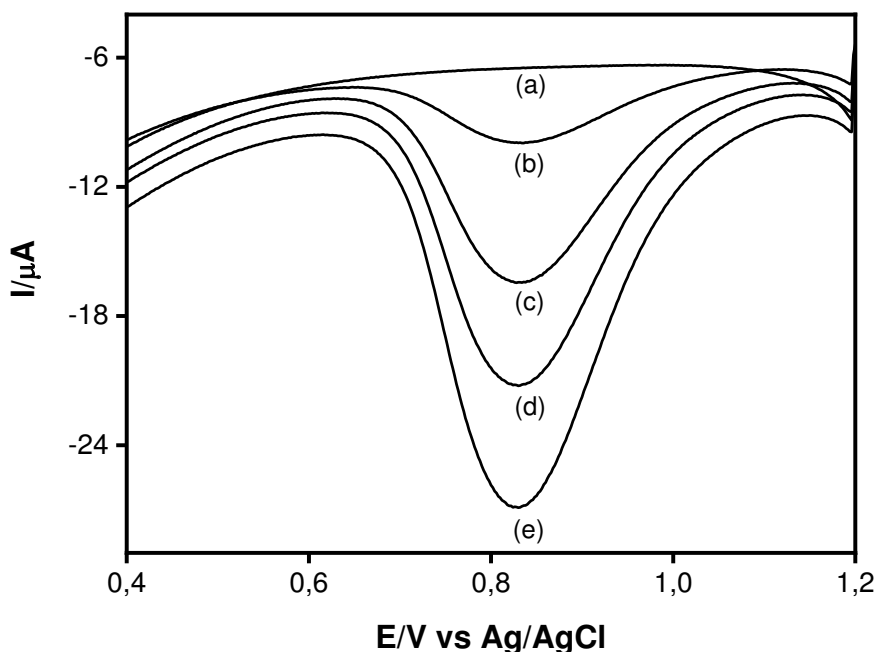


Figura 16 - Voltamogramas obtidos para a amostra 1 a sucessivas de adições de padrão. Condições experimentais otimizadas da Tabela 2. Eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl saturado). (a) branco (b) amostra (c) 20 (d) 40 e (e) 60 $\mu\text{g L}^{-1}$ de solução padrão de Mn.



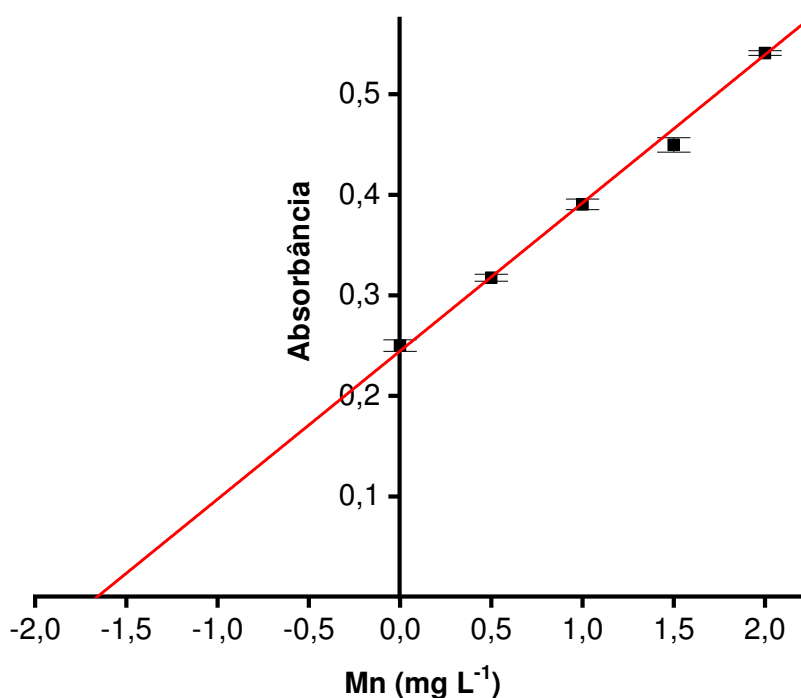
Os picos crescentes observados na Figura 16 são correspondentes aos sinais redução de manganês, e o perfil eletroquímico observado em trabalhos apresentados na literatura (LIMA, 2014). A corrente aumenta em proporção ao aumento da concentração do Mn adicionado a amostra. Com isso, pode-se concluir que o metal eletroativo é responsável pela corrente gerada (TONIETTO; GRASSI, 2012). De acordo com os resultados obtidos na Figura 15, a concentração de manganês obtida pelo método proposto foi igual a $(2,5 \pm 0,1 \text{ mg L}^{-1})$.

Para avaliar a exatidão do método proposto a espectrometria de absorção atômica com chama foi empregada para a determinação de manganês pelo método de adição de padrão. Esta estratégia foi adotada devido à variação de tensão superficial da amostra de chá. Empregando-se o método de adição de padrão,

interferências na determinação total de manganês seriam observadas na amostra de chá. A Figura 17 apresenta a curva de calibração obtida, descrita pela Equação 11.

$$Abs_{Mn} = 0,24 + 0,14 C_{Mn\ 2+} \text{ (mg L}^{-1}\text{)} \quad \text{Eq. 11}$$

Figura 17 - Curva de calibração obtida pelo método de adição de padrão por espectrometria de absorção atômica por chama para a amostra 1. A amostra foi diluída 2 vezes.



A concentração de manganês determinada por F AAS correspondeu a $(3,3 \pm 0,14 \text{ mg L}^{-1})$. De acordo com os resultados apresentados para a amostra 1, o valor obtido para o método proposto foi cerca de 25 % menor que o obtido por espectrometria de absorção atômica com chama. O menor valor obtido pelo método proposto pode ser atribuído à presença de componentes da matriz, especialmente compostos orgânicos, que podem formar complexos estáveis com o analito, alterando seu perfil eletroquímico, tornando o metal indisponível e ocasionando uma diminuição do sinal analítico.

Considerando a hipótese de que espécies orgânicas poderiam ocasionar a diminuição do sinal analítico, uma etapa de preparo de amostra visando a digestão da matéria orgânica foi implementada empregando a digestão ácida com aquecimento. No entanto, esta etapa foi realizada apenas para as demais amostras devido ao total consumo da amostra 1 nos testes iniciais. Para a digestão da amostra foi empregado 1 mL da amostra e adicionados 1 mL HNO₃ e 0,25 mL H₂O₂, seguido do aquecimento em chapa de aquecimento (90 °C) por 45 min.

As Figuras 18 a 23 apresentamos voltamogramas obtidos antes e após a etapa de digestão para as amostras 2 a 4 e a Tabela 4 apresenta as equações obtidas pelo método de adição de padrão para todas amostras de chá diluídas obtidas após a eliminação da matéria orgânica.

Tabela 3 - Equações obtidas pelo método de adição de padrão referente à média para todas amostras de chá obtidas após a eliminação da matéria orgânica .

Amostra	Equação	Coefficiente de correlação
2	$A_{M_t} = 1,11 + 0,12 C_{M_t\ 2+} (\mu\text{g L}^{-1})$	0,999
3	$A_{M_t} = 5,42 + 0,71 C_{M_t\ 2+} (\mu\text{g L}^{-1})$	0,999
4	$A_{M_t} = 3,54 + 0,64 C_{M_t\ 2+} (\mu\text{g L}^{-1})$	0,997

Figura 18 – Voltamogramas obtidos para a amostra 2. Condições experimentais otimizadas da Tabela 2. Eletrodo de trabalho: carbono vítreo. (a) branco (b) amostra (c) 10 (d) 20 e (e) 30 $\mu\text{g L}^{-1}$.

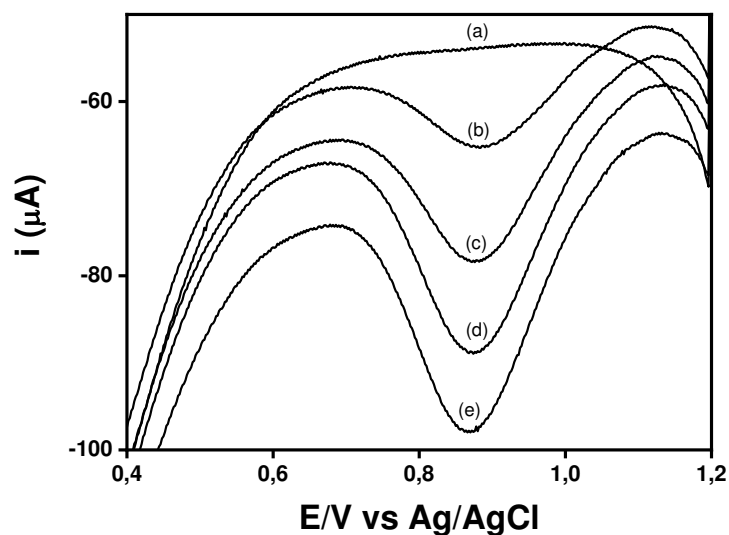


Figura 19 - Voltamograma amostra 2 após digestão ácida. Condições experimentais otimizadas da Tabela 2. Eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl saturado). (a) amostra (b) 10 (c) 20 e (d) 30 $\mu\text{g L}^{-1}$.

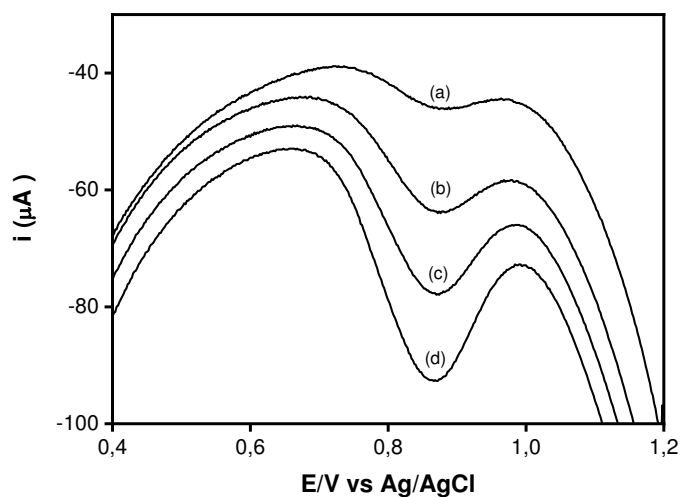


Figura 20 - Voltamogramas amostra 3. Condições experimentais otimizadas da Tabela 2. Eletrodo de trabalho: carbono vítreo. (a) branco (b) amostra (c) 10 (d) 20 e (e) 30 $\mu\text{g L}^{-1}$.

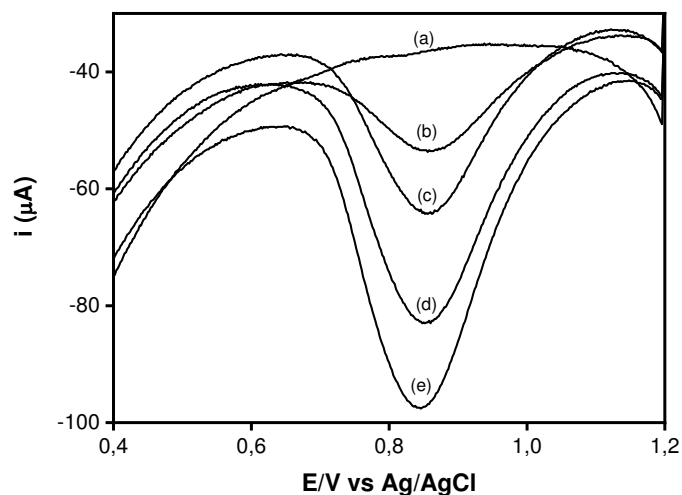


Figura 21 - Voltamograma amostra 3 após digestão ácida. Condições experimentais otimizadas da Tabela 2. Eletrodo de trabalho: carbono vítreo (a) amostra (b) 10 (c) 20 e (d) 30 $\mu\text{g L}^{-1}$.

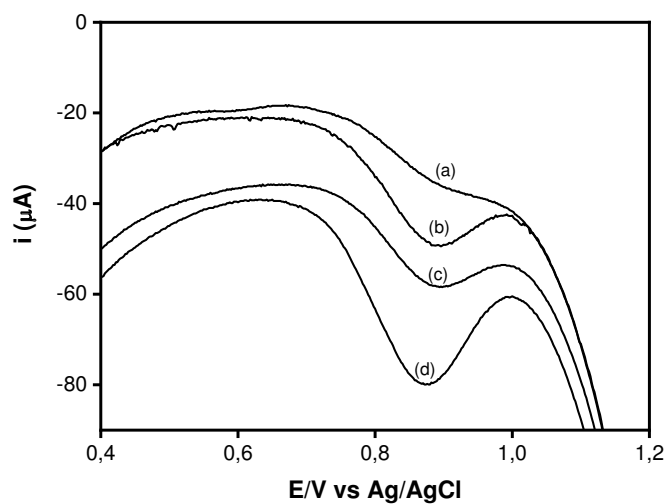


Figura 22 - Voltamogramas amostra 4. Condições experimentais otimizadas da Tabela 2. Eletrodo de trabalho: carbono vítreo. (a) branco (b) amostra (c) 10 (d) 20 e (e) 30 $\mu\text{g L}^{-1}$.

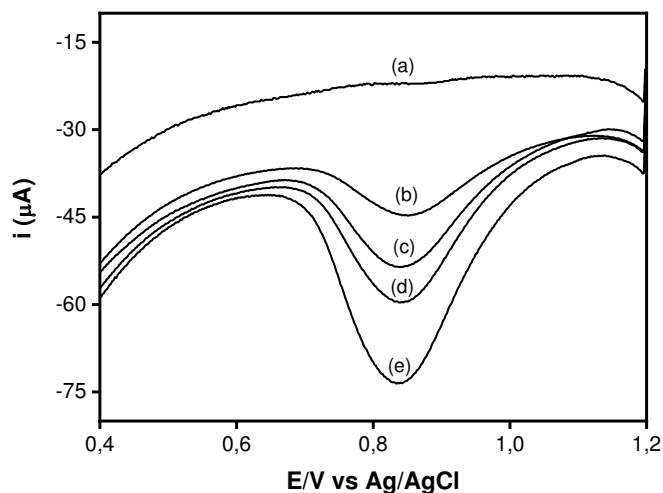
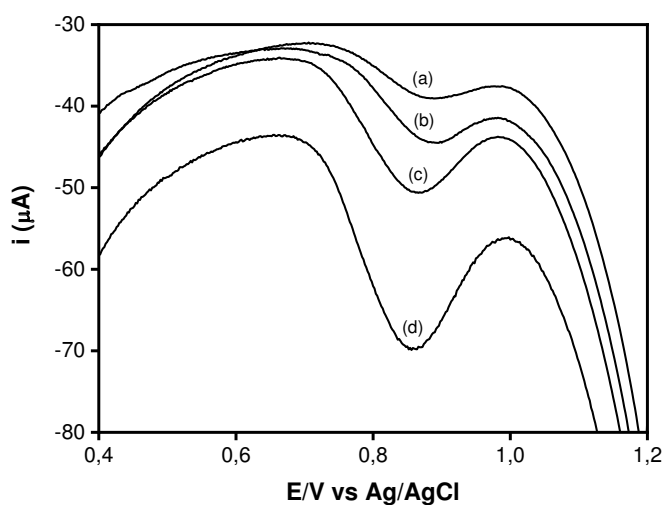


Figura 19 - Voltamograma amostra 4 após digestão ácida. Condições experimentais otimizadas da Tabela 2. Eletrodo de trabalho: carbono vítreo (a) amostra (b) 10 (c) 20 e (d) 30 $\mu\text{g L}^{-1}$.



Os voltamogramas apresentados nas Figuras 19, 21 e 23 apresentam um deslocamento no pico para potenciais mais positivos. Considerando que estas amostras foram submetidas ao processo de digestão ácida, seguida da neutralização do ácido remanescente, nestas condições a força iônica do meio foi alterada, em comparação aos estudos realizados sem a etapa de digestão. Este

deslocamento pode ser atribuído ao aumento da força iônica do meio, no qual a deposição do analito na superfície do eletrodo depende também da força iônica do meio (MONTEIRO *et al.*, 2013).

Com base nos resultados, foi calculada a concentração de Mn^{2+} e o Teste F aplicado, conforme a Equação 12, utilizando 95 % de confiança para dois graus de liberdade. Na qual S_1^2 e S_2^2 são as variâncias de duas amostras com coeficiente de confiança de 95%.

$$F = \frac{S_1^2}{S_2^2} \quad \text{Eq. 12}$$

A Tabela 4 apresenta os resultados obtidos para a determinação de manganês total em amostras de chá.

Tabela 4 – Determinação de manganês total em amostras de chá. Concentrações em $mg\ L^{-1}$ ($n=3$). $F_{crítico} = 19$ (95% de confiança).

Amostras	Manganês total ($mg\ L^{-1}$)		
	Proposto	Referência	F
2	$3,28 \pm 0,13$	$3,42 \pm 0,20$	2,83
3	$3,05 \pm 0,23$	$3,29 \pm 0,13$	2,19
4	$2,43 \pm 0,17$	$2,66 \pm 0,15$	1,9

O teste F indica que as variâncias entre o procedimento proposto e os métodos de referência são comparáveis. Os resultados obtidos para todas as amostras analisadas pelo procedimento proposto estão em concordância (95% de confiança) com os obtidos por F AAS.

Na Tabela 5 estão apresentados os resultados obtidos para a determinação de manganês sem a etapa de digestão da amostra. Conforme apresentando anteriormente, as concentrações do analito foram sistematicamente menores que as obtidas após o procedimento de digestão. Uma provável justificativa para a menor concentração observada pode ser relacionada a complexação de manganês presente na amostra por moléculas orgânicas, tais como flavonoides e ácidos orgânicos, presentes em elevadas concentrações em amostras de chás (LIMA *et al.*, 2012). Neste caso, uma hipótese possível para a menor concentração de analito observada é que a quantidade de manganês determinada pelo método eletroquímico proposto é relativa a fração livre presente na amostra, excluindo-se a fração ligada às moléculas orgânicas.

Tabela 5 – Determinação de Mn (II) livre em amostras de chá preto.

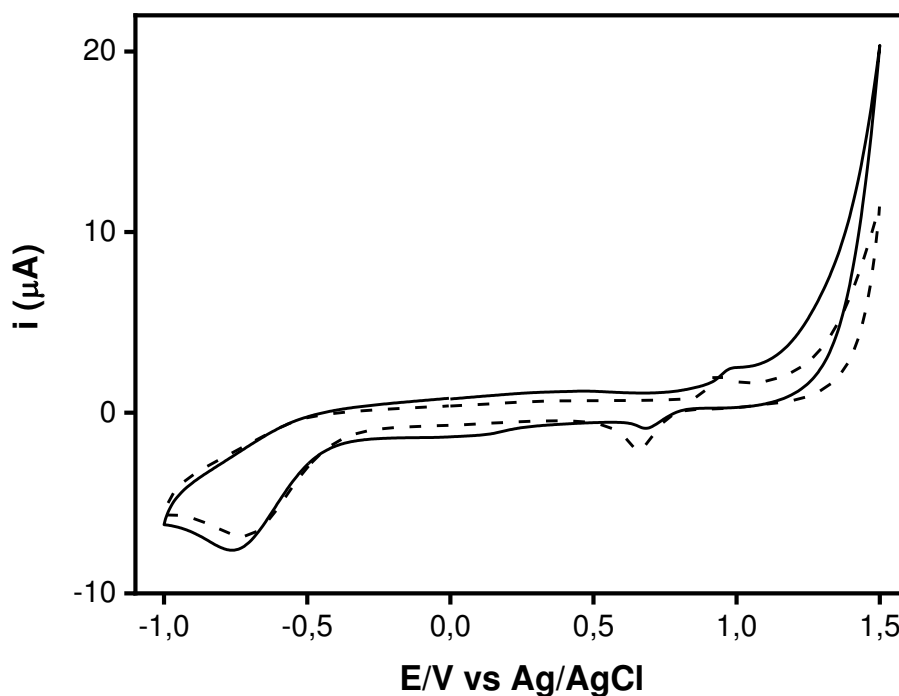
Amostra	Livre (mg L⁻¹)	Total (mg L⁻¹)	(%)
1	2,10	3,05	69
2	2,58	3,42	75
3	2,32	3,29	71
4	1,70	2,66	64

4.3 Fracionamento de manganês em amostras de chás

Para comprovar que o método proposto para a determinação eletroquímica de manganês, sem a etapa de digestão da amostra, consegue discriminar a fração de manganês livre da fração orgânica, uma etapa de extração líquido-líquido foi implementada. A extração em ponto nuvem empregando surfactante não-iônico foi utilizada para evitar o uso de solventes orgânicos, de acordo com o procedimento já apresentado na literatura (YALÇIN, FILIK, APAK, 2012). Durante o processo de extração, após a adição de surfactante (Triton X-114), seguido do aquecimento, duas fases distintas são observadas, uma fase rica em micelas, no qual espécies orgânicas são extraídas para o interior das micelas e outra fase pobre, prevalecendo espécies hidrofílicas. Desta forma, separando as duas fases, por centrifugação, é possível obter separadamente as duas espécies presentes na amostra de chá.

Para avaliar o perfil eletroquímico de manganês, na presença de surfactante, voltamogramas cíclicos foram obtidos em presença de Triton X-114, em quantidades aproximadas daquelas obtidas na fase rica, conforme apresentado na Figura 24.

Figura 24 - Voltamogramas cíclicos obtidos para soluções de manganês ($50 \mu\text{mol L}^{-1}$) em (---) meio aquoso (—) Triton X-114.



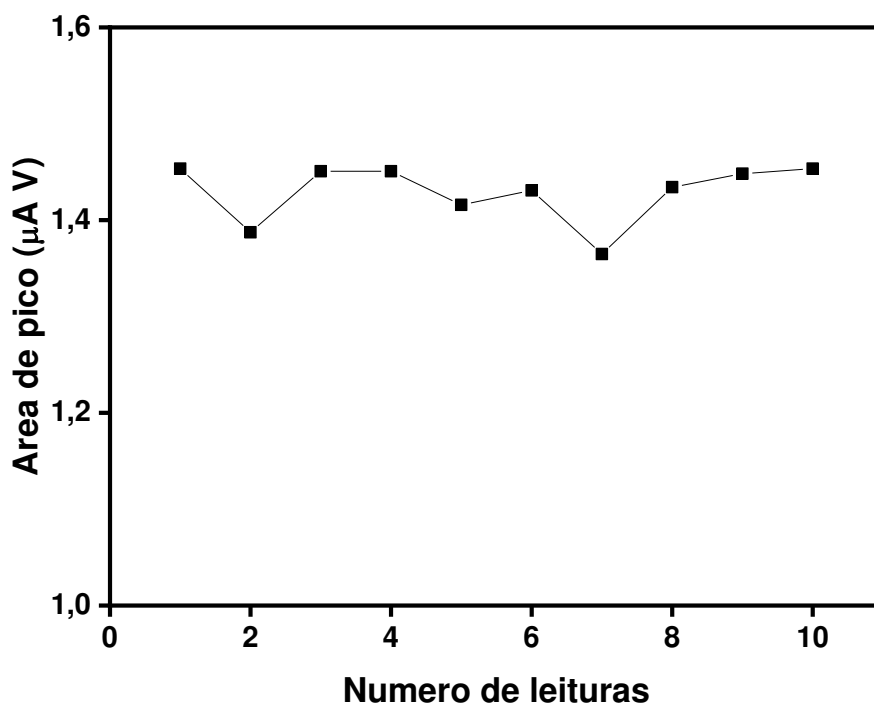
De acordo com a Figura 24, em presença de Triton X-114 um pequeno deslocamento e aumento do pico de oxidação em 0,66 V foi observado. A presença de surfactantes pode alterar parâmetros eletroquímicos, tais como potencial e corrente de pico, pois promove a limpeza na superfície do eletrodo, melhorando a atividade do eletrodo (GALLI *et al.*, 2006).

4.3.1 Características analítica em meio Triton X-114

4.3.1.2 Repetibilidade

A precisão do procedimento em presença de Triton X-114 foi avaliada para 10 leituras consecutivas de padrão de Mn^{2+} e meio de surfactante, conforme a Figura 27.

Figura 25 - Sinal analítico para 10 medidas consecutivas $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de manganês com Triton X-114 (5%). Eletrólito de suporte tampão acetato $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,5). Potencial de condicionamento de $-0,5 \text{ V}$ durante 30 s. Potencial de deposição de $1,2 \text{ V}$. Incremento de potencial 10 mV . Amplitude 50 mV . Frequência 20 Hz . Eletrodo de trabalho ECV. Eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl saturado).



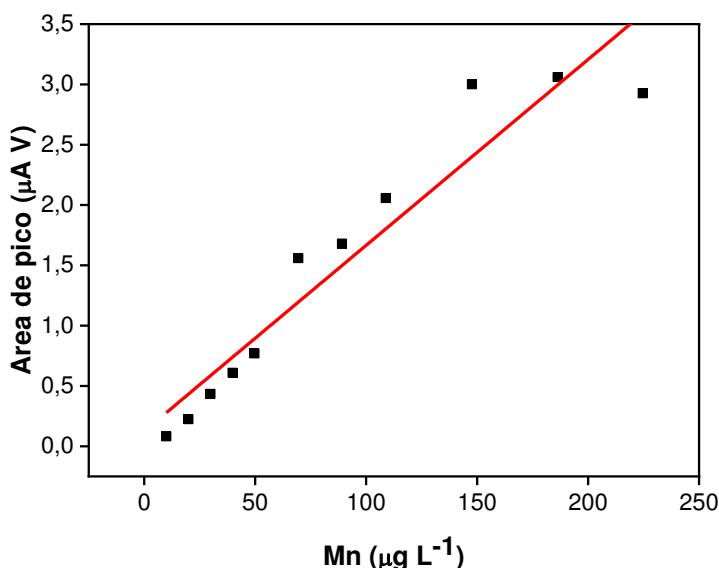
Em presença de Triton X-114 resultados mais precisos foram observados. Tal resultado pode ser justificado pela limpeza que o surfactante realiza na superfície do eletrodo, evitando o processo adsorptivo conforme relatado na literatura (GALLI *et al.*,

2006). Na presença de Triton X-114, obteve-se o desvio padrão relativo foi igual a 2%

4.3.1.3 Linearidade

Após os estudos de repetibilidade, foi avaliada a linearidade da resposta do manganês em presença de surfactante. A faixa de trabalho foi avaliada construindo uma curva de calibração por adições crescentes de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ do padrão de Mn^{2+} conforme a Figura 26.

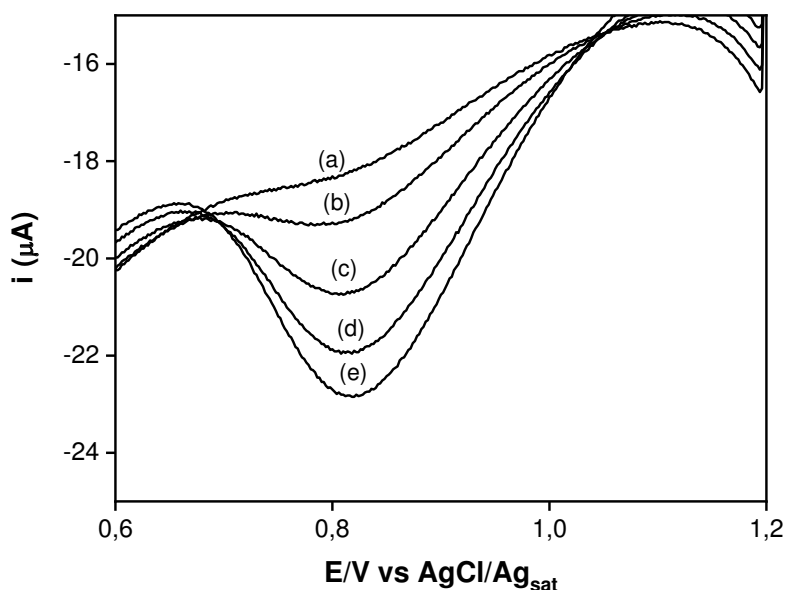
Figura 26 – Resposta voltamétrica (área de pico) em função da concentração de manganês com Triton X-114. Eletrólito de suporte tampão acetato $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,5). Potencial de condicionamento de $-0,5 \text{ V}$ durante 30 s. Potencial de deposição de $1,2 \text{ V}$. Incremento de potencial 10 mV . Amplitude 50 mV . Frequência 20 Hz . Eletrodo de trabalho ECV. Eletrodo de referência Ag/AgCl (KCl saturado).



De acordo com os resultados apresentados na Figura 28, para o intervalo avaliado não foi observado correlação adequada ($r = 0,901$). No entanto, melhor linearidade ($r = 0,996$) foi observada no intervalo de concentração de 10 a $50 \mu\text{g L}^{-1}$.

Os voltamogramas correspondentes a curva de calibração no intervalo de concentração de 10 a 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ estão apresentados na Figura 27.

Figura 27 – Voltamogramas da curva de calibração de manganês com Triton X-114. Eletrólito de suporte tampão acetato 0,1 mol L^{-1} (pH 4,5). Potencial de condicionamento de -0,5 V durante 30 s. Potencial de deposição de 1,2 V. Degrau de potencial 10 mV. Amplitude 50 mV. Frequência 20 Hz. Eletrodo de trabalho ECV. (a) 10 (b) 20 (c) 30 (d) 40 (e) 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Mn^{2+} .



Conforme observado na Figura 27, houve um alargamento do pico dos voltamogramas na presença de Triton X-114 em comparação ao pico sem a presença de surfactante. Em presença de Triton X-114, os limites de detecção e quantificação foram estimados em 1,34 e 4,42 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Após a obtenção das características analíticas em presença de Triton X-114, o procedimento proposto foi aplicado para a determinação de manganês em amostras de chá após o procedimento de extração em ponto nuvem e com determinação voltamétrica de manganês. Neste caso, a determinação de manganês ocorreu nas duas fases, rica e pobre, referindo-se à determinação das orgânica e livre, respectivamente. Interferências foram observadas na determinação de manganês em chá nas duas

fases analisadas, e os resultados obtidos para a determinação de manganês nas duas fases não foram concordantes com os resultados obtidos empregando F AAS método comparativo no F AAS.

4.4 Método Comparativo

Para verificar a exatidão do procedimento proposto para a determinação de manganês total e livre foi realizada a determinação do analito em amostras de chá preto e os resultados foram comparados aos resultados obtidos pelo método comparativo empregando extração líquido-líquido e determinação por F AAS. Outras três amostras foram preparadas e submetidas à determinação de manganês pelos dois métodos A Tabela 6 apresenta as equações obtidas pelo método de adição de padrão para as amostras de chá para determinação de Mn(II) livre pelo método eletroquímico proposto.

Tabela 6 - Equações obtidas pelo método de adição de padrão para determinação de Mn(II) livre em outras amostras de chá pelo método eletroquímico.

Amostra	Equação	Coefficiente de correlação
5	$A_{Mn} = 2,50 + 0,22 C_{Mn\ 2+} (\mu g\ L^{-1})$	0,999
6	$A_{Mn} = 1,40 + 0,15 C_{Mn\ 2+} (\mu g\ L^{-1})$	0,990
7	$A_{Mn} = 2,41 + 0,26 C_{Mn\ 2+} (\mu g\ L^{-1})$	0,989

A Tabela 7 apresenta as equações obtidas pelo método comparativo no F AAS (fase pobre).

Tabela 7 - Equações obtidas pelo método de adição de padrão para determinação de Mn(II) livre após extração líquido-líquido por F AAS.

Amostra	Equação	Coefficiente de correlação
5	$A_{Mn} = 0,06 + 0,30 C_{Mn\ 2+} (\mu g\ L^{-1})$	0,997
6	$A_{Mn} = 0,04 + 0,17 C_{Mn\ 2+} (\mu g\ L^{-1})$	0,990
7	$A_{Mn} = 0,052 + 0,22 C_{Mn\ 2+} (\mu g\ L^{-1})$	0,992

Com base nos resultados obtidos com as curvas analíticas, a concentração de Mn(II) livre foi calculada e a Tabela 8 apresenta os resultados obtidos.

Tabela 8 – Determinação de Mn(II) livre em amostras de chá. Concentrações em mg L⁻¹ (n=3). F_{crítico} = 19 (95% de confiança).

Amostras	Mn(II) livre (mg L ⁻¹)		
	Proposto	Referência	F
5	1,09 ± 0,22	1,05 ± 0,10	15,00
6	0,92 ± 0,14	1,00 ± 0,03	1,75
7	0,93 ± 0,20	0,95 ± 0,28	5,11

O teste F indica que as variâncias entre o procedimento proposto e os métodos de referência são comparáveis. Os resultados obtidos para todas as amostras analisadas pelo procedimento proposto estão em concordância (95% de confiança) com os obtidos por F AAS.

5 CONCLUSÕES

O método foi considerado satisfatório para a determinação de manganês total em amostras de chá preto. Quando comparado com o F AAS, os resultados foram concordantes, embora uma etapa de digestão ácida tenha sido implementada, que poderia ocasionar em perda de precisão e exatidão. Em relação a preparação da amostra para determinação de manganês total, é importante destacar que a adição de NaOH para ajustar o pH deve ser baixa, pois pode interferir no deslocamento dos picos voltamétricos.

O método proposto para a determinação de manganês, sem a etapa de digestão esta relacionado à fração livre de manganês presente na amostra. Resultados obtidos através de uma extração líquido-líquido em um método comparativo foram concordantes. Desta forma, o método proposto dispensa uma etapa adicional de preparo de amostra, permitindo a determinação direta do analito por voltametria por onda quadrada.

6 REFERÊNCIAS

AGOSTINHO, S. M. L.; VILLAMIL, R. F. V.; AGOSTINHO NETO, A.; ARANHA, H. O. eletrólito de suporte e suas múltiplas funções em processos de eletrodo. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 813-817, 2004.

<https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000500022>

ALMEIDA, M. Z. **Plantas Medicinais** [online]. 3rd ed. Salvador: EDUFBA, 2011, 221 p. ISBN 978- 85-232-1216-2. Available from SciELO Books <<http://books.scielo.org>>.

ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as Diretrizes Básicas para a Avaliação de Risco e Segurança dos Alimentos. **Resolução n° 17, de 30 de Abril de 1999**. D.O.U. - Diário Oficial da União, Poder Executivo, de 03 de maio de 1999.

ARNDT, A. *Síntese, caracterização e estudo da ação neurotóxica de complexos de manganês (III) em Danio rerio* *Síntese , caracterização e estudo da ação neurotóxica de complexos de manganês (III) em Danio rerio*. 2009. 91f. Dissertação de mestrado- Programa de Pós graduação em Química Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

BARD, A. J.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical Methods** Fundamentals and Applications. 2 ed. New York: I. John Wiley & Sons, 2000. p. 1-5

BENITE, A. M. C.; MACHADO, S. D. P.; BARREIRO, E. J. Uma visão da química bioinorgânica medicinal. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 2062-2067, 2007.

<https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000800045>

BERG, K. E.; ADKINS, J. A.; BOYLE, S. A.; HENRY, C. S. Manganese detection using stencil-printed carbon inkElectrodes on transparency film. **Eletroanalysis**, v. 28, p. 679-684, 2016.

<https://doi.org/10.1002/elan.201500474>

BRAIBANTE, M. E. F.; SILVA, D.; BRAIBANTE H. T, S; PAZINATO, M. S. A Química dos chás. **Química Nova Na Escola**, v. 36, n. 3, p. 168-175, 2014.

<https://doi.org/10.5935/0104-8899.20140019>

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Vigilância em Saúde Ambiental. **Portaria MS n.º 518/2004** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação Geral de Vigilância em Saúde Ambiental - Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2005.

BRITO, N. M.; AMARANTE JUNIOR, O. P.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L.. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 129-146, 2003.

<https://doi.org/10.5380/pes.v13i0.3173>

BURMAKINA, G. V.; MOKN, N. S.; MAKSIMOV, N. G.; ZIMONIN, D.V., ZHIZHAEV, A. M.; RUBAYLO, A. I. Determination of manganese(II) in wines by stripping voltammetry on solid electrodes. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 71, n. 1, p. 71-76, 2016.

<https://doi.org/10.1134/S1061934816010032>

BURTON, N. C.; GUILARTE, T. R. Manganese neurotoxicity: Lessons learned from longitudinal studies in nonhuman primates. **Environmental Health Perspectives**, v. 117, n. 3, p. 325-332, 2009.

<https://doi.org/10.1289/ehp.0800035>

CAMARGO, L. E. A.; PEDROSO, L. S.; VENDRAME, S. C.; MAINARDES, R. M.; KHALIL, N. M. Antioxidant and antifungal activities of *Camellia sinensis* (L.) Kuntze leaves obtained by different forms of production. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, n. 2, p. 428-434, 2016.

<https://doi.org/10.1590/1519-6984.18814>

CORDOVA, F. M. de. *Mecanismos moleculares da neurotoxicidade do zinco e manganês sobre o sistema nervoso central de ratos em desenvolvimento*. 2012. 111 f. Tese de doutorado- Programa de pós graduação em neurociências Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

COSTA, L. A.; MENEZES, M. A. B. C.. Determinação de manganês em presença de Ferro: análise de solo por ativação neutrônica instrumental. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, p. 775-785, 2012.

<https://doi.org/10.1590/S0100-06832012000300009>

COZZOLINO, S. M. F. Mineral bioavailability. **Revista de Nutrição**, v. 10, n. 2, p. 87-98, 1997.

<https://doi.org/10.1590/S1415-52731997000200001>

DA SILVA, B. C.; DA SILVA, F.; MICHELIN, D. C.. Avaliação da qualidade de amostras de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (Theaceae) comercializadas no município de Araras - SP. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 34, n. 2, p. 245-250, 2013.

DAVIES, G.; Some aspects of the chemistry of manganese(III) in aqueous solution. **Coordination Chemistry. Reviews**, v. 4, p. 199-224, 1969.

[https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(00\)80086-7](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(00)80086-7)

DE SOUZA, D.; MELO, L. C.; CORREIA, A. N.; LIMA-NETO, P.. Utilização de eletrodos sólidos de Amálgama para a determinação analítica de compostos orgânicos e inorgânicos. **Química Nova**, v. 34, n. 3, p. 487-496, 2011.

<https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000300022>

DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: Aspectos teóricos. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 81-89, 2003.

<https://doi.org/10.1590/S0100-40422003000100015>

FAGUNDES, A.; ASSIS, D. S.; MAYARA, F.; ANASTÁCIO, O.; SILVA, D. D. B.; BASTOS, C.; PANARRA, P. A.. Determinação do teor de metais em plantas medicinais. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.11, n. 21, p. 3396-3407, 2015.

FELIX, F. S.; BARROS, R. C. M.; LICHTIG, J.; MASINI, J. C.; FERREIRA, N. G. Determinação de manganês em material particulado atmosférico de ambientes de trabalho utilizando eletrodo de diamante dopado com boro e voltametria de onda quadrada com redissolução catódica. **Química Nova**, v.28, n.6, p.1000-1005, 2005.

<https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000600013>

FERRARA, L.; MONTESANO, D.; SENATORE, A.. The distribution of minerals and flavonoids in the tea plant (*Camellia sinensis*). **Il Farmaco**, Pavia, v. 56, n. 5-7, p. 397-401, 2001

[https://doi.org/10.1016/S0014-827X\(01\)01104-1](https://doi.org/10.1016/S0014-827X(01)01104-1)

FIRMINO, L. D. A. *Avaliação da qualidade de diferentes marcas de chá verde (Camellia sinensis) Comercializadas em Salvador-Bahia*. 2011. 111. Dissertação de mestrado - Programa de pós graduação em ciências de alimentos Universidade Federal da Bahia, SALVADOR, 2011.

FONSECA, I.; PROENÇA, L.; CAPELO, S. A Voltametria Cíclica E De Varrimento Linear Unidirecional: Suas Potencialidades Na Caraterização De Processos De Corrosão. **Corrosão e Proteção de Materiais**, v. 34, n. 1, p. 12-21, 2015.

GALLI, A, DE SOUZA, D.; GARBELLINI, G. S.; COUTINHO, C. F. B.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A.S. Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos. **Química Nova**. v. 29, n. 1, p. 105-112, 2006.

<https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000100020>

GARDNER, M. J.; GUNN, A. M. Speciation and bioavailability of aluminium in drinking water. **Chemical Speciation and Bioavailability**, v. 7, n. 1, p. 9-16, 1995.
<https://doi.org/10.1080/09542299.1995.11083235>

GONZALEZ, M. H.; SANTOS, L. N. Determination of Manganese in Sludge, Alloy, and Soil by Tungsten Coil Atomic Emission Spectrometry. **Analytical Letters**, v. 48, n. 15, p. 2434-2445, 2015.
<https://doi.org/10.1080/00032719.2015.1033723>

GRYGO-SZYMANO, E.; TOBIASZ, A.; WALAS, S. Speciation analysis and fractionation of manganese: A review. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 80, p. 112-124, 2016.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.09.010>

IUPAC. União Internacional da Química Pura e Aplicada. GUIDELINES FOR TERMS RELATED TO CHEMICAL SPECIATION AND FRACTIONATION OF ELEMENTS. DEFINITIONS, STRUCTURAL ASPECTS, AND METHODOLOGICAL APPROACHES. Vol. 72, N°. 8, p. 1453-1470, 2000.
<https://doi.org/10.1351/pac200072081453>

JABŁOŃSKA-CZAPLA, M. Manganese and its speciation in environmental samples using hyphenated techniques: A review. **Journal of Elementology**, v. 20, n. 4, p. 1061-1075, 2015.
<https://doi.org/10.5601/jelem.2014.19.4.787>

KANG, W.; PEI, X.; BANGE, A.; HAYNES, E. N.; HEINEMAN, W. R.; PAPAUTSKY, I. Copper-based electrochemical sensor with palladium electrode for cathodic stripping voltammetry of manganese. **Analytical Chemistry**, v. 86, n. 24, p. 12070-12077, 2014.
<https://doi.org/10.1021/ac502882s>

KIRA, C.S.; MAIHARA, V.A. Determinação de elementos essenciais maiores e traço em queijos por espectrometria de emissão atômica com plasma de argônio induzido após digestão parcial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 27, n. 3, p.446-450, 2007.
<https://doi.org/10.1590/S0101-20612007000300004>

KONISHI, S.; MIYAMOTO, S.; TAKI, T. Stimulatory effects of aluminum on tea plants growth under low and high phosphorus supply. *Soil Science and Plant Nutrition*, Tokyo, v.31, p. 361-368, 1985.
<https://doi.org/10.1080/00380768.1985.10557443>

Lima, F. F. *Determinação de manganês em etanol combustível por voltametria de redissolução*. 2014. f. 59. Dissertação de mestrado-Universidade Federal de

Uberlândia, Uberlândia, 2014.

LIMA, J. D.; MAZZAFERA, P.; MORAES, W. S.; SILVA, R. B. Tea : aspects related to the quality and prospects. **Ciência Rural**, v. 39, n. 4, p. 1270-1278, 2009.
<https://doi.org/10.1590/S0103-84782009005000026>

LOWINSOHN, D.; BERTOTTI, M. Sensores eletroquímicos: Considerações sobre mecanismos de funcionamento e aplicações no monitoramento de espécies químicas em ambientes microscópicos. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1318-1325, 2006.
<https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000600029>

MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. London: Academic, p.889. 1995.

MATSUBARA, S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Teores de catequinas e teaflavinas em chás comercializados no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.2, p. 401-407, 2006.
<https://doi.org/10.1590/S0101-20612006000200024>

MATSUSHIMA, F.; MESHITSUKA, S.; NOSE, T. Contents of Aluminium and Manganese in Tea leaves and Tea infusions. **Japanese Journal of Hygiene**. v. 48, p. 864-872, 1993.
<https://doi.org/10.1265/jjh.48.864>

MELLO, L. R. *A Crise da Teicultura na Baixada do Ribeira (SP): Novos Arranjos do Território Regional*. 2015. 165. Monografia - Universidade de São Paulo. São Paulo, 2015.

Menezes-Filho, J. A.. *Níveis elevados de manganês e déficit cognitivo em crianças residentes nas proximidades de uma metalúrgica ferro-manganês na Região Metropolitana de Salvador*. 142. Tese de doutorado- Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Rio de Janeiro, 2009.

MIREA, C. M.; DIACONU, I.; SERBAN, E.C.; RUSE, E. Establishing performance parameters to determine manganese using UV-vis molecular absorption spectrometry. **Scientific Bulletin-University Politehnica of Bucharest**. v. 77, p. 103-114, 2015.

MONTEIRO, A. S. C.; GOVEIA, D.; ROTUREAU, E.; ROSA, A. H.; MASINI, J. C.; PINHEIRO, J. P. Especificação dinâmica de metais traço em ambiente aquático usando cronopotenciometria de redissolução anódica. **Química Nova**. v. 36, n. 10, p. 1570-1576, 2013.

MORGANO, M. A.; QUEIROZ, S. C. N.; FERREIRA, M. M. C. Determinação dos teores de minerais em sucos de frutas por espectrometria de emissão óptica em plasma indutivamente acoplado (ICP-OES). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.º3, p. 344-348, 1999.

<https://doi.org/10.1590/S0101-20611999000300009>

NARADI, E.P.; EVANGELISTA, F.S.; TORMEN, L.; SAINTPIERRE, T.D.; Curtius, A.J.; Souza, S.S.; Barbosa, J.R. The use of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for the determination of toxic and essential elements in different types of food samples. **Food Chemistry**, 112, p. 727 - 732, 2009.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.010>

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (Washington DC). Recommended Dietary Allowances. National Academies Press (US). 10 th, 1989.

NISHIYAMA, M. F.; COSTA, M. A. F.; DA COSTA, A. M.; SOUZA, C. G. M.; BÔER, C. G.; BRACHT, C. K.; PERALTA, R. M. Chá verde brasileiro (*Camellia sinensis* var *assamica*): efeitos do tempo de infusão, acondicionamento da erva e forma de preparo sobre a eficiência de extração dos bioativos e sobre a estabilidade da bebida. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 003582, p. 191-196, 2010.

<https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000500029>

PACHECO, W. F.; SEMAAN, F. S.; ALMEIDA, V. G. K.; RITTA, A. G. S. L.; AUCÉLIO, R. Q.. Voltametrias: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos
Voltammetry: A Brief Review About Concepts. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 4, p. 516-537, 2013.

<https://doi.org/10.5935/1984-6835.20130040>

PARREIRA, A. R. B. *Estudo comparativo do teor de metais contaminantes em amostras de chás provenientes de agricultura tradicional e biológica*. 2012. 125. Dissertação de mestrado-Universidade de Lisboa, Lisboa, 2012. Retrieved from <http://repositorio.ul.pt/handle/10451/11315>

POLECHOŃSKA, L.; DAMBIEC, M.; KLINK, A.; RUDECKI, A. Concentrations and solubility of selected trace metals in leaf and bagged black teas commercialized in Poland. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 23, n. 3, p. 486-492, 2015.

<https://doi.org/10.1016/j.jfda.2014.08.003>

RIBANI, M.; BOTOLLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**. v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

<https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000500017>

RODRIGUES, S.; MUNICHANDRAIAH, N.; SHUKLA, A. K.; A cyclic voltammetric

study of the kinetics and mechanism of electrodeposition of manganese dioxide. **Journal of Applied Electrochemistry**. 28, p.1235, 1998.

<https://doi.org/10.1023/A:1003472901760>

SAINT'PIERRE, T. D.. *Desenvolvimento De Métodos Analíticos Para Determinação De Metais Traço Em Álcool Combustível E Gasolina Por Espectrometrias De Absorção Atômica E De Massa Com Plasma Indutivamente Acoplado*, 2004. 124. Tese de doutorado- Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004

SAMPAIO, J. A.; ANDRADE, M. C.; DUTRA, A. J. B.; PENNA, M. T. M. **Rochas e Minerais Industriais: Manganês**. 2 ed. Editora CETEM, p. 633-647, 2008.

SENGER, A. E. V.; SCHWANKE, C. H. A.; GOTTLIEB, M. G. V. Green tea (*Camellia sinensis*) and its functional properties on transmissible chronic diseases. **Scientia Medica**, v.20, n.51, p. 292-300, 2010.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER F. J.; CROUCH, S. R.. **Fundamentos de Química Analítica**. 8 ed. São Paulo: Pioneira Thomson Learning, 2006.

SOLOVYEV, N.; VINCETI, M.; GRILL, P.; MANDRIOLI, J.; MICHALKE, B. Redox speciation of iron, manganese, and copper in cerebrospinal fluid by strong cation exchange chromatography - sector field inductively coupled plasma mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 973, p. 25-33, 2017.

<https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.03.040>

STOZHKO, N. Y.; INZHEVATOVA, O. V.; KOLYADINA, L. I.; LIPUNOVA, G. N. A Thick-Film Graphite-Containing Electrode Modified with Formazan for Determining Manganese in Natural and Drinking Waters by Stripping Voltammetry. **Journal of Analytical Chemistry**. v. 60, n. 2, p. 163-168, 2005.

<https://doi.org/10.1007/s10809-005-0052-7>

TONIETTO, A. E.; GRASSI, M. T. Análise de especiação de cobre e zinco empregando voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial. **Química Nova**, v. 35, n. 1, p. 170-174, 2012.

<https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000100029>

U.S. Environmental Protection Agency. 2003a. Health Effects Support Document for Manganese. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water. EPA. EPA-822-R-03-003. Washington, D.C.

U.S. Environmental Protection Agency. 2004. Drinking Water Health Advisory for Manganese. U.S. Environmental Protection Agency Office of Water Washington, DC EPA-822-R-04-003, p. 1-49 Washington, D.C

VELOSO, C. A C.; MURAOKA, T.; MALAVOLTA. E.; de CARVALHO, J. G. Influência do manganês sobre a nutrição mineral e crescimento da pimenteira do reino (*Piper nigrum*, L.) **Scientia Agricola**, v. 52, n. 2, p. 776-783, 1995.

<https://doi.org/10.1590/S0103-90161995000200028>

Vieira, M. S.; Bohrer S.; Rotta, R.; Ferrão, M.; Gerbase, A.. Aplicação do Método da Adição de Padrão para a Quantificação de Biodiesel em Blendas Comerciais de Biodiesel/Diesel., Nov, 2009.

VITORELLO, V. A.; CAPALDI, F. R.; STEFANUTO, V. A. Recent advances in aluminum toxicity and resistance in higher plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, n. 1, p. 129-143, 2005.

<https://doi.org/10.1590/S1677-04202005000100011>

VULCANO, I. R. C.; SILVEIRA, J. N.; ALVAREZ-LEITE, E. M. Teores de chumbo e cádmio em chás comercializados na região metropolitana de Belo Horizonte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.44, n.3 p.425-431, 2008.

<https://doi.org/10.1590/S1516-93322008000300012>

WANG, J. **Analytical Electrochemistry**. 3 ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, 2006.

WHO (The world Health Organization). Manganese in Drinking-water. Background Document for Development of WHO Guidelines for Drinking Water Quality, p.1-21, 2011.

YALÇIN, S.; FILIK, H.; APAK, R. Speciation analysis of manganese in tea samples using flame atomic absorption spectrometry after cloud point extraction. **Journal of Analytical Chemistry**, v.67, n.1, p.47-55, 2012.

<https://doi.org/10.1134/S1061934812010194>

XIE, M. Y. Multielement analysis of Chinese tea(*Camellia sinensis*) by total-reflection X-ray fluorescence. **Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und Forschung A**, v. 207, p.31-38, 1998.

<https://doi.org/10.1007/s002170050291>