

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO SOLOS E QUALIDADE DE
ECOSSISTEMAS CURSO DE MESTRADO**

EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA UTILIZANDO MINICOLUNAS CONTENDO FIBRAS DE SISAL IMPREGNADAS COM TIAZOLILAZO-RESORCINOL E ÁCIDO N-DIÁCETICO 3-AMINOMETILALIZARINA-N, PARA A DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO E COBRE EM AMOSTRAS DE ÁGUA MINERAL E FOLHAS DE TABACO EMPREGANDO ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA

JOSEMARIO SANTANA BONSUCESSO

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
JULHO – 2013**

EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA UTILIZANDO MINICOLUNAS CONTENDO FIBRAS DE SISAL IMPREGNADAS COM TIAZOLILAZO-RESORCINOL E ÁCIDO N-DIÁCETICO 3-AMINOMETILALIZARINA-N, PARA A DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO E COBRE EM AMOSTRAS DE ÁGUA MINERAL E FOLHAS DE TABACO EMPREGANDO ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA

JOSEMARIO SANTANA BONSUCESSO

Engenheiro Agrônomo
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2013.

Dissertação submetida ao Colegiado do Curso do Programa de Pós-Graduação em Solos e Qualidade de Ecossistemas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Solos e Qualidade de Ecossistema.

Orientador: Prof. Dr. Fábio de Souza Dias

Co-Orientador: Prof. Dr. Sivanildo da Silva Borges

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Jacira Texeira Castro

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
MESTRADO EM SOLOS E QUALIDADE DE ECOSISTEMAS
CRUZ DAS ALMAS - BAHIA – 2013

FICHA CATALOGRÁFICA

B721

Bonsucesso, Josemario Santana.

Extração em fase sólida utilizando minicolunas contendo fibras de sisal impregnadas com tiazolilazo-resorcinol e ácido n-diacético 3-aminometilizarina-n, para a determinação de cádmio e cobre em amostras de água mineral e folhas de tabaco empregando espectrometria de absorção atômica com chama / Josemario Santana._ Cruz das Almas,BA, 2013.

51f.; il.

Orientador: Fábio de Souza Dias.

Coorientadora: Jacira Texeira Castro.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1.Extração (Química) – Análise espectral. 2.Metals pesados – Absorção. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 540

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO SOLOS E QUALIDADE DE
ECOSSISTEMAS
CURSO DE MESTRADO**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
JOSEMARIO SANTANA BONSUCESSO**

Prof. Dr. Fábio de Souza Dias
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB
(Orientador)

Prof. Dr. Leonardo Sena G. Teixeira
Universidade Federal da Bahia – UFBA

Prof. Dr. Alailson Falcão Dantas
Universidade Federal da Bahia – UFBA

Dissertação homologada pelo Colegiado do Curso de Mestrado em Solos e
Qualidade de Ecossistemas em conferindo o Grau de Mestre em
Solos e Qualidade de Ecossistemas em

OFEREÇO

Aos meus pais, Joselia Machado Santana e Florisvaldo Tosta
Bonsucesso, minha querida esposa Josiene Caldas e aos meus irmãos
Josevaldo e Josenildo pelos momentos felizes.

A minha querida mãe Josélia machado, e a minha esposa Josiene Caldas

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Ao nosso grande Deus por me conceder forças para conseguir vencer os obstáculos e dar sabedoria para escolher o caminho certo, e conseguir a concretização desse objetivo.

Em especial as mulheres da minha vida: Josélia Machado Santana e Josiene Calda da Silva, por me dar incentivo para vencer as dificuldades do dia-dia.

Ao meu Orientador Fábio de Souza Dias por acreditar, ter paciência e compreensão.

A minha grande amiga Zuleide, pelo apoio e ajuda, muito obrigado.

A empresa ASCOOB pela oportunidade em poder trabalhar e estudar, e todo pessoal que trabalha comigo, meus sinceros agradecimentos.

Aos amigos de sempre: Júnior, Clailto, Mauricio, Cintia, Tuninha, Maria, Nancir e Miriam, por estar sempre acreditando e torcendo por mim.

A Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), em especial ao Programa de Pós-Graduação, solos e qualidade de ecossistemas pela oportunidade concedida para minha formação profissional.

Aos colegas, Lucas Carneiro, Lucylia Suzart e ao professor Walter Nei Lopes dos Santos pela ajuda.

Aos técnicos do NUATE CETEC : Antonio Benedito, Marcos Machado, Cristiano Caíro, Marcio Cunha, Anderson Matioli, Tatiana Dalto, Thamyres Moura.

Meus sinceros agradecimentos!

SUMÁRIO

Página

RESUMO

ABSTRACT

CAPÍTULO I

1. Introdução	1
1.1 Metais.....	1
1.2 Extração em fase sólida (EFS).....	3
1.3 Biossorventes.....	4
1.4 Sisal (Agave sisalana).....	5
1.5 Alizarina e reagentes azóicos.....	7
1.6 Otimização	11
1.7 Características analíticas	12

CAPÍTULO II

SISTEMA DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO OFF-LINE COM FIBRA SISAL IMPREGNADA COM O AZUL DE ALIZARINA (AFA) NA DETERMINAÇÃO DE COBRE EM AMOSTRAS DE FOLHAS DE TABACO POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA..... 14

2. Justificativa	15
3. Materiais e métodos	17
4. Reagentes e soluções.....	17
5. Preparo do minicoluna de fibra de sisal impregnada com Azul de Alizarina	17
6. Coletas das amostras.....	18
7. Preparo das amostras	18
8. Digestão completa das amostras de folhas de tabaco	18
9. Sistema de pré-concentração off-line.....	19
10. Resultado e discussões	19
10.1 Otimização do método analítico.	19
10.2 Procedimento de pré-concentração	23

10.3 Características analíticas	24
10.4 Tolerância a outros íons	25
10.5 Determinação de cobre em folhas de tabaco	25
10.6 Comparações entre métodos para pré-concentração e determinação do cobre	26
11. Conclusões parciais	27

CAPÍTULO III

SISTEMA DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO OFF-LINE COM FIBRA DE SISAL IMPREGNADA COM TIAZOLILAZO RESORSINOL (TAR) PARA DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO EM ÁGUA MINERAL POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA EM CHAMA	28
---	----

12. Justificativa	29
13. Materiais e métodos	30
14. Reagentes e soluções	31
15. Preparo do minicoluna de fibra de sisal impregnada com TAR.....	31
16. Sistema de pré-concentração off-line	32
17. Preparo das amostras	32
18. Estratégia de otimização	32
19. Resultado e discussões	33
19.1 Determinação das condições críticas, usando planejamento fatorial 3 ²	35
19.2 Características analíticas	37
19.4 Tolerância a outros íons	39
19.5 Teste de robustez	39
19.6 Determinação de cádmio em água mineral	40
20. Conclusões parciais	41

CAPÍTULO IV

Referências	42
-------------------	----

RESUMO

No presente estudo, um sistemas de extração em fase sólida utilizando minicolunas com sisal impregnadas com o ácido N-diácetico 3 Aminometilalizarina-N, 4-(2-tiazolilazo)-resorcinol (TAR), são propostos como estratégias para preconcentração e determinação de metais em amostras de folhas de tabaco e água mineral. O método desenvolvido adotou um sistema de preconcentração *off-line* empregando espectrometria de absorção atômica em chama. As variáveis otimizadas foram concentração do tampão, pH, vazão de amostragem e vazão de eluição. Planejamento fatorial foi utilizado para avaliação dos fatores individuais e de suas interações. Na análise do sistema estudado, a concentração do tampão e pH foram fatores significativos. Após otimização do sistema, os pontos críticos encontrados foram: pH = 4,75, concentração do tampão de $0,005 \text{ mol L}^{-1}$. Este sistema permitiu a determinação do teor de cobre com um limite de detecção (LD) de $0,018 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e um limite de quantificação (LQ) de $0,061 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, precisão expressa como desvio padrão relativo (R.S.D) de 4,6 e 5,0%, utilizando concentração de 10 e $2,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Na determinação de cádmio em água mineral, utilizou-se planejamento fatorial de dois níveis com o objetivo de investigar quais variáveis são estatisticamente significativas. Os resultados apontaram que a concentração do tampão e pH foram fatores que afetam de forma significativa o sistema. Para a otimização das variáveis significativas utilizou-se planejamento fatorial de três níveis como metodologia de superfície de resposta, porém o resultado indicou ponto de sela. As melhores condições experimentais foram estabelecidas utilizando inspeção visual. A partir da análise do gráfico de contorno as condições experimentais estabelecidas foram: pH 7,0, concentração de tampão $0,009 \text{ mol L}^{-1}$, para a eluição utilizou-se HCl $2,0 \text{ mol L}^{-1}$. A determinação de cádmio foi possível com um limite de detecção de $0,05 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ e um limite de quantificação de $0,17 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, precisão, expresso como um desvio padrão relativo (RSD) de 2,9 e de 3,4% para uma concentração de cádmio de 10,0 e $20,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente.

Palavras chave: azul de flúor alizarina, tiazolylazo-resorsinol, biossorvente, fibra de sisal, extração em fase sólida.

ABSTRACT

In this study, one system using solid phase extraction minicolumns with sisal impregnated N-diacetic acid-N Aminometilizarina 3, and 4 - (2-thiazolylazo)-resorcinol (TAR) are proposed as strategies for preconcentration and determination of metals in leaf tobacco and mineral water. The method adopted a system employing off-line preconcentration atomic absorption spectrometry in flames. The variables were optimized buffer concentration, pH, sample flow rate and flow eluted. Factorial design was used for evaluation of individual factors and their interactions. In the analysis of the studied system, the buffer concentration and pH were significant factors. After optimization of the system, the critical points were: pH 4.75, buffer concentration of 0.005 mol L^{-1} . This system allowed the determination of copper content with a limit of detection (LOD) of $0.018 \mu\text{g L}^{-1}$ and a limit of quantification (LOQ) of $0.061 \mu\text{g L}^{-1}$, precision expressed as relative standard deviation (RSD) of 4, 6 and 5.0% using a concentration of $10 \mu\text{g L}^{-1}$ and $2.0 \mu\text{g L}^{-1}$, respectively. The determination of cadmium in mineral water, we used two-level factorial design in order to investigate which variables are statistically significant. The results showed that the buffer concentration and pH were factors that significantly affect the system. For the optimization of the significant variables was used factorial design of three levels as response surface methodology, but the result indicated saddle point. Optimum conditions were established using visual inspection. From the contour plot analysis of the experimental conditions were established: pH 7.0 buffer concentration 0.009 mol L^{-1} used for the elution HCl 2.0 mol L^{-1} . The determination of cadmium was possible with a detection limit of $0.05 \mu\text{g L}^{-1}$ and a limit of quantification of $0.17 \mu\text{g L}^{-1}$ accuracy, expressed as relative standard deviation (RSD) of 2.9 and 3.4% cadmium concentration of 10.0 and $20.0 \mu\text{g L}^{-1}$, respectively.

Keywords: alizarin fluorine blue, thiazolylazo-resorsinol, biosorbent, sisal fiber, solid phase extraction.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Estrutura de uma Alizarina	21
Figura 2. Estrutura do ácido N-diácetico 3-Aminometilizarina-N,	22
Figura 3. Estrutura básica, 4-(2-tiazoliazó)-resorcinol (TAR).....	23
Figura 4- Gráfico de Pareto originado para estimativa dos efeitos das variáveis e suas interações para extração do cobre pelo sistema off-line utilizando fibra de sisal como bioabsorvente e detecção por FAAS	34
Figura 5. Os gráficos de contorno	36
Figura 6: curva analítica pré-concentrada	24
Figura 7. Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados. Vazão de amostragem (VA), Vazão eluição (VE), concentração do tampão (CT) e pH.....	33
Figura 8. superfície de resposta para as variáveis pH e concentração do tampão	36
Figura 9. Gráfico de Pareto para teste de robustez com uma variação de 10% para o pH e concentração tampão	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Planejamento Fatorial (2^4) para avaliação das variáveis, pH, concentração tampão, vazão de amostragem e vazão de eluição.....	20
Tabela 2. Fatores e níveis utilizados no planejamento fatorial.....	22
Tabela 3. A matriz do desenho fatorial completo 3^2	22
Tabela 4. Determinação do cobre em folhas de tabaco.....	25
Tabela 5. Fatores e níveis utilizados no planejamento fatorial.....	26
Tabela 6. A matriz do planejamento fatorial completo 2^4	32
Tabela 7. A matriz do planejamento fatorial completo 3^2	32
Tabela 8. Teste de Adição/recuperação e determinação de cádmio em amostras de água mineral.....	34
Tabela 9. Condições críticas.....	38
Tabela 10 planejamento fatorial completo de dois níveis para teste de robustez	38

Lista de Abreviaturas

AFA: Azul de Alizarina

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária .

AS: Sinal Analítico

CPE: extração em ponto nuvem

CT: concentração do tampão

EFS: extração em fase sólida

FAAS: Espectrometria de Absorção Atômica de chama

GFAAS :Espectrometria de absorção Atômica em Forno Grafite

HFRLM: extração com membrana líquida renovável

ICP OES : Espectrometria de Emissão Ótica

ICP-MS Plasma Acoplado a Espectrometria de Massa

JECFA : “Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives”

LD: limite de detecção

LLE: extração líquido-líquido

LQ: limite de quantificação

OMS: Organização Mundial de Saúde

RAL: Relatórios Anuais de Lavras

RSD: desvio padrão relativo

SA: sinal analítico

SDME: microextração em gota suspensa

TAC :2-(2 tiazoliazó)-p-cresol

TAM: 2-(2- tiazolilazo)-5-dimetilaminofenol

TAN :1-(2-tiazoliazó)-2-naftol

TAO :4-(2-tiazoliazó)-orcinol

TAR: 4-(2-tiazolilazo)-resorcinol

VA: vazão de amostragem

VE: vazão de eluição

XAD-2: resina Amberlite

CAPITULO I

1. INTRODUÇÃO

1.1 Metais

Os programas de promoção à saúde vêm dando prioridade aos estudos dos metais tóxicos. Mercúrio, chumbo, cádmio e arsênio, por apresentarem maiores riscos ambientais em razão de seu uso intenso, toxicidade e ampla distribuição tem despertado interesse entre os metais. Além desses, o alumínio, cobre, manganês, zinco, cromo e cobalto também podem representar risco ao ambiente (NOALE, 2007).

A classificação dos metais em essenciais e não-essenciais é através da interação com os organismos vivos. Os primeiros são imprescindíveis ao organismo humano em concentrações específicas, pois participam de processos metabólicos importantes á manutenção da vida , esses metais somente causam danos quando suas concentrações estão abaixo de um valor mínimo, caracterizando carência, ou quando se apresentam em elevadas concentrações, resultando em intoxicações agudas ou crônicas. Os metais tóxicos estão em vários ambientes, fazendo parte do cotidiano das pessoas, impregnados como contaminates em alimentos e águas, sendo portanto alvo de interesse de vários estudiosos (BAPTISTA, 2009).

Devido ao alto desenvolvimento das cidades, grandes quantidades de resíduos provenientes das indústrias, agricultura intensiva localizada, extração de minérios e uso de agrotóxicos vêm acumulando metais no ambiente ocasionando risco à saúde e ao meio ambiente (DEL RIO, 2004).

Assim como a maiorias dos metais liberados no ambiente, o cádmio é resultante das atividades antrópicas, sendo a indústria, os fertilizantes e os agrotóxicos os principais fatores que têm aumentado a concentração do cádmio no solo, conseqüentemente sendo absorvido pelos vegetais, que desta maneira será transferido através da cadeia alimentar para os seres humanos e animais (SATARUG et al., 2003).

Estudos revelam que o metal tóxico cádmio é um agente cancerígeno para humanos (FILIPIC et. al., 2006). Dentre os problemas causados pela ingestão de cádmio, estão afibrose e edema pulmonar, enfisema pulmonar, doenças renais como proteinúria e glicosúria, hipertensão arterial sistêmica, diminuição da produção de anticorpos, anemia e diminuição da testosterona (MIGUEL, 2008).

Em 1988, o “Joint Expert Committee on Food Additives” (JECFA) estabeleceu que a ingestão semanal tolerável provisória (PTWI) para Cd como sendo 7 µg/kg de peso corpóreo/semana, aplicável tanto para adultos como para bebês e crianças (WHO, 2004).

O Cd tem diversas utilidades, na indústria não alimentícia é usado na fabricação de baterias de veículos, pastas de limpeza, pisos, como componente em metalúrgicas, em pigmentos, acabamentos de peças, plásticos e vidros. Na indústria alimentícia está presente em bebidas e diversos alimentos, mesmo sendo em baixas concentrações (TAVARES, 2010).

Outro elemento bastante estudado é o cobre. Ele é encontrado em muitos alimentos e como contaminante natural da água. A alimentação é a principal entrada do elemento no corpo humano (BARCELOS, 2008).

O cobre é um elemento bastante utilizado na indústria, principalmente em ligas metálicas, canos, radiadores de automóveis, fios elétricos e seus óxidos e sulfatos são utilizados na fabricação de fungicidas. O cobre é um dos principais metais presentes no corpo humano. Encontra-se distribuído praticamente em todo o organismo, mas em diferentes concentrações, o que indica seu papel funcional. Porém a ingestão de mais 15 mg diário do elemento é prejudicial ao organismo. O acúmulo do elemento ao longo do tempo no organismo humano pode causar doenças como epilepsia, melanomas, artrite reumatoide e doenças neurológicas (TAVARES, 2010).

Na lavoura, o cobre faz parte da constituição de diversos fungicidas, que são vendidos com os nomes comerciais: Dithane, Agrinose, a base de oxicloreto de cobre, cobre Atar BR, que tem como constituinte o óxido cuproso usado na lavoura do fumo no controle do fungo *Alternaria tenuissima*.

A ingestão média de cobre através da dieta varia, normalmente, entre 0,9 e 2,7 mg por dia. Esta variação reflete os diferentes hábitos alimentares assim como os diferentes processamentos agrícolas em todo o mundo (WHO, 2004).

O cobre e cádmio são metais que geralmente são encontrados em diversas matrizes, principalmente em níveis traço, dessa forma é fundamental o uso de metodologias analíticas que possibilite a determinação desses metais nessas fontes para sabermos a reais quantidades do elemento para evitar possíveis contaminações.

1.2 Extração em fase sólida (EFS)

Existem alguns problemas que dificultam a análise de metais traço, como interferência química da matriz da amostra e alto limite de detecção de algumas técnicas analíticas. Nesse sentido, a pré-concentração é um procedimento muito utilizado para viabilizar as análises, pois permite a aplicação de uma instrumentação simples, de baixo custo de aquisição e manutenção. Dentre os procedimentos de pré-concentração tem-se à extração líquido-líquido (LLE), (DAPAAH et al.,1999), extração com membrana líquida renovável (HFRLM) (OLIVEIRA et al., 2008), extração em fase sólida (EFS), (Queiroz et al., 2001) extração em ponto nuvem (CPE) (CURTIUS et al.,2005), a microextração em gota suspensa (SDME) (QUEIROZ. et al, 2001), dentre outras.

A extração em fase sólida (EFS) é uma das estratégias analíticas que apresenta vantagens quando comparada com as técnicas de extração tradicionais. É simples, de baixo custo, pode ser utilizada em campo, requer pouca quantidade de solvente, facilidade de automação e baixos limites de detecção que podem ser alcançados (THUMAN, 1998; LOBINSKI & MARCZENKO, 1992; CAMEL, 2003).

Existe essencialmente na EFS um processo de três etapas: no primeiro momento ativação do sorvente para deixar os sítios ativos disponíveis; em segundo passo a amostra percola através da camada do sorvente, e os analitos são extraídos da matriz da amostra para o sorvente sólido; na etapa final, um eluente apropriado é aplicado para remover o analito retido no processo chamado de dessorção (QUEIROZ et al., 2001).

Existem basicamente duas formas que possibilitam o uso da extração em fase sólida, o on-line (o qual está acoplado diretamente no sistema de detecção) e off-line ou descontínuo (não acoplado ao sistema de detecção) (FRITZ, 1999). A EFS off-line oferece vantagens quando comparada com a preparação de

amostras usando extração líquido-líquido, como a redução no tempo e etapas do procedimento, as quais frequentemente resultam na perda de analito durante o processo de preparação da amostra sendo uma das maiores fontes de erros das análises (QUEIROZ et al., 2001).

Existem diversos suportes sólidos utilizados na EFS como, Carvão ativado, sílica gel, resina Amberlite XAD-2, entre outros. Estes materiais estão disponíveis comercialmente, são de origem sintética. Existem diversos trabalhos utilizando estes materiais. Desenvolveram um sistema on-line usando minicoluna empacotada com resina Amberlite XAD-2 com 2-(2-tiazolilazo)-5-dimetilaminofenol (TAM) para determinação de traços de cádmio por FAAS. Em outro trabalho usou a mesma resina impregnada com o agente complexante 1-(2-tiazolilazo)-p-cresol (TAC) para determinação de cobalto (MELO et. al.; 200)

O processo de adsorção e eluição dos analitos pela fase sólida ocorrem através de forças intermoleculares entre o analito e fase sólida, onde envolvem interações tipo Van der Waals, tipo eletromagnéticas, dipolo-dipolo, dipolo induzido, íons- íons, íons e ligação de hidrogênios (FARIA, 2004).

1.3 Biossorventes

Na extração/pré-concentração de metais são frequentemente usados adsorventes de origem sintética (GODLEWSKA-ZYLKIEWICZ, 2001). Contudo, outros materiais de origem biológica, os chamados “biossorventes”, que compreendem o grupo dos “adsorventes naturais” estão sendo bastante utilizado no processo de pré-concentração. Estes materiais não são tóxicos, de baixo custo e biodegradáveis (GODLEWSKA-ZYLKIEWICZ, 2001).

Os biossorventes já foram citados em vários estudos com eficiência comprovada em processos adsorptivos, abrindo caminho para estudos com novos materiais para serem usados em pesquisas envolvendo sistema de pré-concentração e também criando possibilidade em diminuir os impactos ao meio ambiente, devido ao descarte de materiais sintéticos usados nos processos de pré-concentração e baratear os custos das análises pois são materiais mais baratos comparados ao sintéticos (BARRETO, 2009).

No caso dos biossorventes de origem vegetal os grupos químicos funcionais existentes no material são os que irão proporcionar a capacidade de

retenção dos íons metálicos da solução. Esses grupos funcionais geralmente estão presentes em estruturas contidas na parede celular do sorvente natural que envolve macromoléculas de celulose organizadas com formato de microfibrilas envolvida por hemiceluloses, ligninas, pectinas e porções pequenas de proteínas vegetais. As macromoléculas contêm grupos funcionais químicos, como alcoóis, aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos, fenóis e éteres. (DEMIRBAS, 2008).

Dentre as diversas características que torna os biossorventes atrativos no uso na química analítica têm-se robustez, baixo custo, fácil utilização e eficiência, comumente são encontradas em grandes quantidades na natureza (XIE et al., 1996).

Estudos de investigação de diferentes biossorventes têm demonstrado que são obtidos bons resultados quando o material apresenta um grande número de sítios de ligação química tais como grupos carboxílicos, carbonilas, hidroxila, amina ou amida. Estes grupos químicos atuam como sequestrantes quando interagem com metais presentes em solução (BARRADA, et al., 2009). Algas, materiais quitinosos ou celulose contendo biomassa tem sido empregado, devido à ocorrência de um ou mais dos grupos químicos mencionados nestes materiais (SAADA et al., 2008)

Trabalhos de pesquisa apontam o uso de alguns materiais agrícolas como biossorventes no tratamento de efluentes para remover metais tóxicos, como por exemplo, casca de Avelã (DEBIRBAS, 2003), casca de arroz (LOW & LEE, 2002), talos de uva (WILLIAMS et al., 1998) , casca de amendoim (JOHNSON et al., 2002), etc.

Alguns autores desenvolveram trabalhos utilizando biossorventes na pré-concentração de metais, tais como: Sementes de moringa para determinação de cádmio e zinco em amostras de álcool combustível (COELHO et. al. 2010), produto da digestão do cupim foi usado para determinação de cromo em álcool combustível (BIACHINI, 2011) e o mesmo autor utilizou em outro trabalho rolha de cortiça para determinação de cádmio em amostra de cigarros.

1.4 Sisal (*Agave sisalana*)

A fibra de sisal é relatada como um material que tem características e funcionalidade já comprovada para retenção de metais (SANTOS et al., 2001).

Ela corresponde cerca de 70 % da produção comercial de todas as fibras desse tipo produzida no mundo. Sendo o nordeste brasileiro o principal produtor onde, Bahia, Paraíba e Rio Grande do Norte são os estados produtores, com 93,5, 3,5 e 3,0%, respectivamente, da produção nacional. O sisal, além de constituir fonte de renda e emprego para um grande contingente de trabalhadores, é um importante agente de fixação do homem à região semiárida nordestina (MARTIN, 2009).

Agave sisalana, é uma planta nativa do México da península de Yucatã. A caracterização anatômica da fibra de sisal se apresenta como estruturas, que tem como função principal a sustentação e rigidez da planta. Esta fibras possuem um comprimento que vai de 1 a 1,5 metros e com diâmetro de aproximadamente 100-300 μm (LI et al., 2000).



A fibra de sisal obtida a partir do tecido vascular da planta e tem diversas aplicações, como reforço de plásticos, obtenção de materiais com desempenho mecânico e térmico adequado, substituição às fibras sintéticas como reforço de compósitos poliméricos. É uma possibilidade bastante atraente, principalmente por ser biodegradável, atóxica, de fonte renovável, o que condiz com os atuais esforços de proteção ao meio ambiente (LI et al, 2000; MARTIN,2001)



Estudos mostraram que a fibra de sisal possui grupos carboxílicos, grupos fenólicos entre outros (SANTOS et al, 2011). São nas estruturas das paredes celulares dos vegetais que estão contidos estes grupos capazes de interagir com íons metálicos (VAGHETTI, 2009).

A composição química da fibra de sisal é basicamente celulose, hemicelulose, lignina e pectina. Os percentuais de cada constituinte foi descrito em alguns trabalhos, Por exemplo (MWAIKAMBO & ANSELL; 2002) demonstraram que a fibra de sisal é constituída por 73% de celulose, 13% de hemicelulose, 11% de lignina e 2% de pectina. (MEDINA, 1954), mostraram que 65,8% é celulose, 12% de hemicelulose, 9,9% de lignina e 0,8% de pectina. Sendo que a composição química do sisal pode variar com o tipo de plantio e os tratamentos dado durante o cultivo (RAZERA, 2004).

A fibra de sisal tem diversas utilidades, pode ser utilizada nos processos de formação de compósitos, tais como: enrolamento filamentar, laminação, moldagem por transferência de resina, extrusão, injeção. Mas tem como destino principal a industriada cordoaria, o Brasil é um dos maiores produtores mundial da fibra (AMICO, 2004).

Santos e colaboradores propuseram o uso de fibras de sisal (*Agave sisalana*), como adsorvente natural para bioissorção de íons de Pb (II) e Cd (II) em águas naturais. O potencial de bioissorção da fibra de sisal na remoção dos íons de Pb (II) e de Cd (II) a partir da solução aquosa foi investigada considerando os seguintes parâmetros: pH, a quantidade de biomassa e tempo de contato. Os resultados mostraram que o sisal tem uma área de superfície de $0,0233 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, e os principais grupos funcionais envolvido no processo de bioissorção são OH e CO. O processo de adsorção dos metais estudados foi melhor descrito pela isoterma de Freundlich. A capacidade máxima de bioissorção foi na ordem de $1,85 \text{ mg g}^{-1}$ para o Cd (II) e $1,34 \text{ mg g}^{-1}$ para o Pb (II) a pH 7 (Santos et al.; 2011).

1.5 Alizarina e reagentes azóicos

Para melhorar a eficiência dos bioissorventes no processo de pré-concentração são utilizados compostos complexantes, ou seja, a fase sólida é impregnada com um reagente orgânico para conferir maior capacidade de retenção dos íons metálicos. As alizarinas, corantes caracterizados pela presença

de substituintes ligados à estrutura central de uma antraquinona ou de um azo-composto, constituem uma classe desses compostos orgânicos que tem despertado um crescente interesse da comunidade científica. As propriedades complexantes têm sido as responsáveis pela larga aplicabilidade destas espécies na determinação de metais, associados a diversas técnicas analíticas (PEREIRA, 2003).

Os reagentes da família das Alizarinas foram muito utilizados como indicadores acido-base, pois a coloração destes reagentes em soluções aquosas são dependentes do pH. Nas alizarinas, a hidroxila é o responsável pela atividade complexante. Na Figura 1 é apresentada a estrutura básica da Alizarina (PEREIRA, 2003).

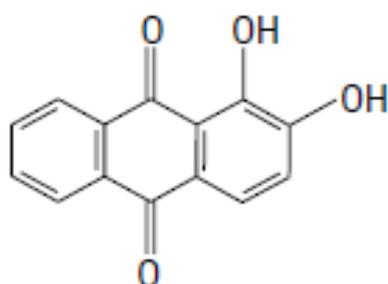


Figura 1. Estrutura de uma Alizarina

Durante a década 60, desde a sua introdução por Belcher e pesquisadores, o corante (AFA) azul de Alizarina (ácido N-diácetico 3-Aminometilizarina-N,). Este reagente tem sido utilizado amplamente para a determinação fotométrica de fluoreto (BELCHER & WEST, 1961). A Figura 2 apresenta a estrutura básica deste reagente.

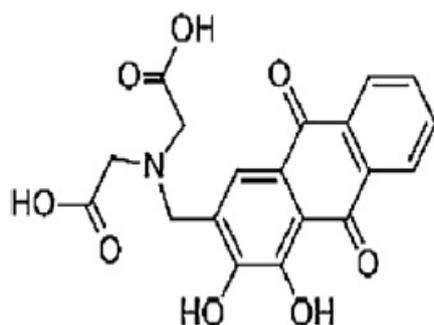


Figura 2. Estrutura do ácido N-diácetico 3-Aminometilalizarina-N,

Disponível comercialmente o azul de alizarina é preparado a partir da reação Mannich, que consiste na condensação da alizarina com ácido iminodiacético. Seu uso analítico é como indicador em titulação complexiométrica e como reagente fotométrico para determinação de alumínio, cobalto, cobre, índio, manganês, níquel e zinco e metais terras raras. Forma um complexo vermelho com cério III, com lantânio e praseodímio (e em menor grau com o samário) forma complexos azuis em água na presença de íons fluoreto (LEONARD, 1959).

O reagente geralmente encontrado na forma de ácido livre; é um sólido cristalino amarelo-castanho, com ponto de fusão por volta de 190°C, pouco solúveis em água, álcool e outros solventes orgânicos não-polares, mas facilmente solúvel em solução aquosa alcalina (CHENG, et al., 1982).

Os reagentes azóicos derivados do tiazol têm despertado muita atenção também. Estes reagentes têm sido utilizados na determinação espectrofotométrica devido à sua boa seletividade e sensibilidade ao longo de uma ampla faixa de pH e porque são relativamente fáceis de sintetizar e purificar (Teixeira et al, 1999). Os principais compostos desses grupos são: 2-(2-tiazoliato)-p-cresol (TAC), 1-(2-tiazoliato)-2-naftol (TAN), 4-(2-tiazoliato) resorcinol (TAR), 4-(2-tiazoliato)-orcinol (TAO) e 2-(2-tiazoliato)-5-dimetilaminofenol (TAM), (JENSEN, 1960).

Ferreira e colaboradores utilizaram o TAC para determinação de chumbo em ligas a base de cobre. O TAC também foi utilizado na determinação de cobalto (CASSELA et al, 2001) e urânio (TEXEIRA, et al., 1999) em amostras de água. O

TAM foi utilizado para determinação de cádmio em amostra certificadas e farinha de arroz e lagosta (MELO et al., 1999)

O TAR é um pó cristalino cor de laranja, com ponto de fusão 200-202 °C é ligeiramente solúvel em água, mas facilmente solúveis em solventes orgânicos. A Figura 3 apresenta a estrutura básica deste reagente.

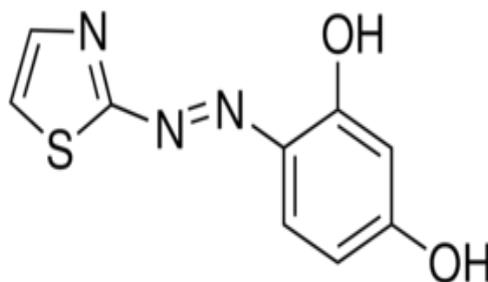


Figura 3. Estrutura básica 4-(2-tiazolilazo)-resorcinol (TAR)

Tem como aplicação analítica o uso como reagente. É recomendado como um indicador na titulação com EDTA dos seguintes íons metálicos; Cu(II) (pH 3 à 8), Co(II) (pH 4 à 8), Ni (pH 4 à 6), Ti(III) (pH 1 à 2) e os metais terras raras(CHENG,et al.,1982).

Um método espectrofotométrico foi desenvolvido por Carvalho e colaboradores para determinação de Cr (III) com 4-(2- thiazolilazo)-resorcinol. Cr (III) reage lentamente com TAR em pH 5,7 formando um complexo vermelho. A formação do complexo pode ser acelerada pela irradiação de energia de microondas na mistura reacional. Brometo de N-cetil-N, N,N-trimetilamônio (CTAB) foi usado para aumentar a sensibilidade e solubilização do sistema. O método permitiu a determinação de cromo na faixa de concentração entre 0,050 e 3,0 mg mL⁻¹ (9,62 x 10⁻⁷ a 5,77 x 10⁻⁵ mol L⁻¹) com absorvidade molar de 2,73 x10⁴ L⁻¹ mol⁻¹ cm⁻¹ e limite de detecção de 17 ng mL⁻¹ (3,3 x 10⁻⁷ mol L⁻¹) em 545 nm. A seletividade foi melhorada com o uso de EDTA e citrato como agentes mascarantes. Fe (III) interfere e deve ser extraído previamente, se presente na amostra. O método proposto foi aplicado com sucesso na determinação de cromo

em amostras de aço. A precisão (R.S.D. < 2%) e a exatidão obtidas foram satisfatórias (CARVALHO et al., 2004).

1.6 Otimização

Com a necessidade de aprimoramento de desempenho dos mais diversos sistemas surgiram os métodos de otimização. Alguns autores definem o processo de otimização aquele baseado em instruções que permitem extrair a melhor resposta de uma dada situação.

No processo de otimização de experimentos relativos à química analítica a técnica univariada foi bastante empregada. Porém esta técnica no processo de otimização consome muito tempo e reagente. Outro fato importante que não é analisado no procedimento otimização univariada são as interações existentes entre as variáveis, sendo desta forma omitido os valores ótimos procurados. Trabalhos recentes em desenvolvimento de métodos analíticos vêm dando ênfase a utilização de procedimentos onde envolve otimização por técnicas multivariadas, esta apresenta diminuição de custo com efetivação dos resultados e ainda leva em consideração no processo a relação existente entre as variáveis e permite a otimização de mais de uma variável simultaneamente (BEZERRA, 2003).

O primeiro passo da otimização multivariada é o planejamento fatorial de dois níveis, que consiste em uma investigação preliminar para descobrir se determinados fatores interferem ou não na resposta desejada. A avaliação dos resultados é feita através de análise de variância (ANOVA) (DEMING & MORGAN, 1987), nesse processo é estimado a significância dos fatores individualmente e de suas interações. Através da análise do diagrama de Pareto também é observado a significância dos fatores bem como suas interações, ele se apresenta como gráfico de barras horizontais, que representa aos valores absolutos dos efeitos estimados, e que verticalmente é tracejada por uma linha que corresponde a um intervalo de confiança de 95%. Caso esta linha seja excedida por determinado efeito, classificamo-lo como significativo sobre a resposta analítica (ARAMBARRI et al., 2000). Em seguida após a realização dos experimentos de triagem, os fatores significativos são selecionados e uma

metodologia de análise de superfície de resposta pode ser executada para otimização do experimento (FERREIRA, et al, 2004). Neste sentido, otimizar significa encontrar os valores das variáveis que irão produzir a melhor resposta desejada, isto é, encontrar a região ótima na superfície definida pelos fatores (TEÓFILO & FERREIRA, 2006).

1.7 Características analíticas

Os fatores considerados mais críticos no método para análise de metais traços são os limites de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ). Dessa forma os outros fatores se tornam irrelevantes quando o método julgado não atende os requisitos.

Para calcular o limite de detecção a (IUPAC, 1978) recomenda expressá-lo matematicamente como três vezes o desvio padrão do valor do sinal analítico que corresponde ao branco obtido de 15 a 20 determinações, dividido pelo coeficiente angular da inclinação da curva analítica (SKOOG, et. al, 1998)

$$LD = \frac{3 \sigma \text{ Branco}}{a} \quad (01)$$

Onde, a é coeficiente angular da inclinação da curva analítica.

Já o limite de quantificação (LQ) é definido como o nível acima do qual os resultados quantitativos podem ser obtidos com um grau específico de confiança. A forma pelo qual é calculada se assemelha do LD, sendo utilizadas dez vezes o desvio padrão do branco dividido pelo coeficiente angular da inclinação da curva analítica (CHAIRMAN, et. al. 1983).

$$LD = \frac{10 \sigma \text{ Branco}}{a} \quad (02)$$

Onde, a coeficiente angular da inclinação da curva analítica.

Precisão é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. (ANVISA, 2003).

A precisão representa o grau de repetibilidade entre os resultados de análises individuais quando o procedimento é aplicado várias vezes em uma mesma amostra nas mesmas condições. Normalmente são expressas através de variação (CV%), segundo a fórmula:

$$CV\% = \frac{s}{M} \times 100 \quad (03)$$

Onde, s é o desvio padrão e M , a concentração média determinada.

Exatidão do método é definida como sendo a concordância entre o resultado de um ensaio e um valor aceito como referência. A exatidão, quando aplicada a uma série de resultados de ensaio, implica numa combinação de erros aleatórios e sistemáticos (tendência).

CAPÍTULO II

SISTEMA DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO OFF- LINE COM FIBRA DE SISAL IMPREGNADA COM O AZUL DE FLÚOR ALIZARINA PARA DETERMINAÇÃO DE COBRE EM AMOSTRAS DE FOLHAS DE TABACO POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA¹

¹ Artigo publicado no periódico científico Talanta, v. 89, 2012, p. 276-279.

2. Justificativa

Os metais tóxicos são encontrados de forma natural nos solos, nas estruturas de vários minerais, adsorvidos quimicamente nos colóides, complexo de troca, quelatado ou em solução (VARENNE, 2003). Suas concentrações e formas na maioria das vezes não oferecem riscos para os ecossistemas, porém fatores como atividades humanas elevam os níveis desses elementos no ambiente, tornando uma preocupação (KABATA-PENDIAS & PENDIAS, 2001).

O fato de terem facilidade para ser absorvidos e biocumulados por plantas e animais os metais tem destaque diante de outros poluentes. Resíduos contendo essas espécies se alastram por cadeia alimentares apresentando uma grande mobilidade em ecossistemas contaminados. Metais tóxicos possuem grande relevância a saúde pública devido aos problemas causados aos seres humanos, são substâncias não biodegradáveis ao longo do tempo, podem ser encontrados no ambiente em diversas espécies e em diferentes formas, tais como íons, compostos iônicos, óxidos ou sulfetos. Estas diferentes formas nas quais os metais são encontrados conferem-lhes diferentes níveis de biodisponibilidade e toxicidade (BATISTA, 2009).

O cobre é considerado um metal com (densidade: $8,9 \text{ g cm}^{-3}$), e tem despertado o interesse crescente devido aos seus efeitos e danos causados pelo seu grau de fitotoxicidade quando em teores excessivos. Ele pode ser libertado através de atividades antropogênicas, resultantes da acumulação de fertilizantes, de chorumes e estrumes de aviários e pocilgas, fungicidas, bactericidas e indústria mineira (PILON-SMITS & PILON, 2002).

No plantio do tabaco são utilizados adubos químicos, orgânicos e agrotóxicos para aumentar a produtividade e ter um produto de qualidade que atenda as exigências do mercado. Muitos desses adubos e agrotóxicos têm na sua constituição o elemento químico cobre.

A espécie *Nicotina tabacum* L. pertencente à família das Solanáceas, gênero *Nicotiana*, conhecida popularmente como tabaco é uma planta anual, autógama, com ciclo de vida variando entre 120 a 240 dias (MEDEIROS, 2005).

O Tabaco é uma planta herbácea com altura entre 90 a 180 cm possui folhas grandes, flores tubulares hermafroditas com cores variáveis (branco, púrpura, rosa, vermelho). Esta espécie é cultivada com objetivo principal a produção de cigarro, charuto e fumo de corda.

Estudos mostram que plantas de tabaco têm a característica de passividade em absorver e acumular metais tóxicos nas folhas decorrentes de espécies do solo. Parte destes metais é transferida através da fumaça de cigarros e charutos para dentro do corpo humano, onde se acumulam, danificando órgãos vitais (CSALARI, et al., 2002). A fumaça de um cigarro estima-se que contenha cercar de 150 µg de constituintes metálicos, dentre os principais encontra-se o cobre (SILVA, 2004).

As técnicas espectroanalíticas comumente usadas na determinação do cobre são: Espectrometria de Absorção Atômica com chama, que apresenta facilidade de operação, baixo custo, pouca interferência; Espectrometria de absorção Atômica em Forno Grafite (GFAAS) tem as características de baixos limites de detecção, análise apenas de um elemento por vez, precisa de analista com bom treinamento e baixo consumo de amostra (µL); Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES) que apresenta instrumentação e manutenção mais cara que o FAAS, experiência do operador, rapidez na análise de muitos elementos; e Plasma Acoplado a Espectrometria de Massa (ICP-MS) que tem como características principais, instrumentação e manutenção com custo elevado, Baixos limites de detecção, precisa de certo grau de experiência do operador (VENDECASTEELE & BLOCK, 1993).

O cobre em níveis traço, assim como alguns outros metais para serem determinados em amostras ambientais e biológicas, sempre foi uma grade desafio para os químicos, mesmo tendo várias técnicas que apresentam boa precisão e seletividade consideradas. O efeito da matriz e as baixas concentrações são os grandes fatores que dificultam as análises. Mas, condições de isolamento e o enriquecimento do analito podem diminuir estes efeitos negativos (BEZERRA, 2003).

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um sistema de pré-concentração com fibra de sisal impregnada com o azul de flúor alizarina para determinar cobre em amostras de folha de tabaco, utilizando como técnica analítica a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica modelo SpectrAA 220 FS (Mulgrave, Victória, Austrália) equipado com nebulizador pneumático. Uma lâmpada de cátodo oco de cobre foi utilizada sob as condições sugeridas pelo fabricante: corrente da lâmpada 10,0 mA, comprimento de onda de 324,8 nm e abertura de fenda (0,5 nm). A composição, da chama (ar / acetileno), com vazão de 1,40 mL min⁻¹ e vazão de aspiração de 5,0 mL min⁻¹.

4. Reagentes e soluções

Água utilizada para preparar as soluções foi deionizada. Para ajuste do pH das soluções foi utilizado solução tampão de: acetato (pH 4,7-6,0), borato (pH 7,0-8,5) e tampão amoniacal (pH 10,0).

As soluções padrão de cobre (II) (10 µg mL⁻¹) foi preparado a partir da solução de referência de 1000 µg mL⁻¹ (padrão para absorção atômica-marca Merck) por diluição com solução com solução de ácido clorídrico a 1% v/v.

Solução de NaOH (0,1 mol L⁻¹), preparada a partir do reagente P.A;

Solução de HCl (1,2 mol L⁻¹), preparada a partir de HCl 12 mol L⁻¹ (Merck) com água ultrapura;

Toda vidraria do laboratório foi lavada com detergente neutro, e foi conservada por 24 h em solução de ácido nítrico 10% (v/v) e antes da utilização foi novamente lavada com água deionizada.

A solução do reagente Azul de Alizarina (0,01% (m/v) foi preparada por dissolução de 0,01g de ácido n-diácetico 3-aminometilalizarina-N (SIGMA-ALDRICH) em álcool etílico (MERCK) para um volume final de 100 mL.

5. Preparo da minicoluna de Fibra de sisal impregnada AFA

A fibra de sisal foi adquirida na cidade de Cruz das Almas, Brasil. A fibra foi triturada em moinho de bolas, em seguida foi pesada 0,1 g da fibra de sisal e foi

colocada no meio da minicoluna, com dimensões: 5,0 cm de comprimento e um diâmetro interno de 4,0 mm, em seguida foi passada uma solução AFA em uma concentração de 0,01% m/v, através da minicoluna, a uma vazão de 2,5 mL min⁻¹, durante 5 min.

Depois, a coluna foi lavada com solução de hidróxido de sódio 1,00 mol L⁻¹ para remover o excesso de reagente AFA, e em seguida foi feita uma nova lavagem com um 1,00 mol L⁻¹ de solução de ácido clorídrico e água deionizada, a mesma vazão, de modo a evitar qualquer contaminação por metais. Depois desses procedimentos estava pronta a minicoluna de fibra de sisal para ser utilizada no método de pré-concentração.

6. Coleta das amostras

As folhas de tabaco da variedade Sumatra (tipo capeiro) foram amostradas em armazéns da empresa Ermor Tbarama Tabacos do Brasil LTDA da Cidade de Cruz das Almas, BA, sendo folhas que tinham passado por todas as etapas de secagem e fermentação, e estavam prontas para fabricação dos charutos. Assim que adquiridas foram levadas para o laboratório para preparação.

7. Preparo das amostras

Amostras de folhas de tabaco foram lavadas com solução Extran 10% (v/v), e imediatamente seguido por secagem em estufa a 60 °C. Triturou-se em moinho de esferas antes de serem peneirada utilizando peneira de nylon de 100 µm.

8. Digestão completa das amostras de folhas de tabaco

Para realizar a digestão das amostras foram utilizados, cerca de 0,5 g de folhas de tabaco e 3,0 mL de ácido nítrico concentrado e 2,0 mL de peróxido hidrogênio, onde foram acionados em um erlemeye de vidro e aqueceu-se a uma temperatura de 120 °C de sobre uma placa. Finalmente, os conteúdos foram transferidos quantitativamente para balões volumétricos de 50 mL e diluiu-se com água.

9. Sistema de pré-concentração off-line.

O sistema em fluxo foi operado em um modo com base em volume, onde 50,0 mL da solução foi bombeado a $6,0 \text{ mL min}^{-1}$, utilizando uma bomba peristáltica equipado com tubos de tygon, sendo submetido a uma percolação através de uma minicoluna com fibra de sisal impregnada com AFA, a pré-concentração do íon cobre (II) ocorre por sorção química na forma de AFA-complexos, em seguida foi percolado ácido clorídrico na coluna para dessorção do íon metálico, sendo o eluído recolhido em frasco e em seguida analisados em um espectrometro de absorção atômica com chama

10. RESULTADOS E DISCUSSÃO

10.1 Otimização do método analítico

Uma vez definida os aparatos do sistema de pré-concentração, foi escolhido para otimização as seguintes variáveis: pH, vazão de amostragem, vazão de eluição e concentração do tampão.

No primeiro momento a fim de obter uma avaliação prévia da influência das variáveis e suas interações, um planejamento fatorial (2^4) em dois níveis envolvendo 16 experimentos foi utilizado, no processo de otimização. No segundo momento, foi realizado um planejamento fatorial (3^2) completo para determinar as condições ideais para os fatores da concentração do tampão (CT) e pH. Todos os experimentos foram feitos em duplicata.

No processo de otimização do sistema de pré-concentração inicialmente a avaliação do sistema foi feita usando a absorvância como resposta analítica (Tabela 1). O software estatístico da marca STATISTICA foi utilizado para processar os dados experimentais.

Tabela 1. Planejamento Fatorial (2^4) para avaliação das variáveis, pH, concentração tampão, vazão de amostragem e vazão de eluição.

pH	CT	VE	VA	ABS
4,74	0,0010	3,0	3,0	0,1596
10,0	0,0010	3,0	3,0	0,1006
4,74	0,0100	3,0	3,0	0,1011
10,0	0,0100	3,0	3,0	0,0505
4,74	0,0010	8,0	3,0	0,1399
10,0	0,0010	8,0	3,0	0,1189
4,74	0,0100	8,0	3,0	0,1478
10,0	0,0100	8,0	3,0	0,0893
4,74	0,0010	3,0	8,0	0,1595
10,0	0,0010	3,0	8,0	0,1324
4,74	0,0100	3,0	8,0	0,1549
10,0	0,0100	3,0	8,0	0,0928
4,74	0,0010	8,0	8,0	0,1477
10,0	0,0010	8,0	8,0	0,1381
4,74	0,0100	8,0	8,0	0,1301
10,0	0,0100	8,0	8,0	0,1135
7,30	0,0055	5,5	5,5	0,1276
7,30	0,0055	5,5	5,5	0,1464
7,30	0,0055	5,5	5,5	0,1501

CT= concentração tampão, VE= vazão de eluição, VA= vazão de amostragem, Abs= absorbância.

Abaixo (Figura 4), através do gráfico de pareto as interações podem ser observadas e analisadas. Os níveis escolhidos foram selecionados a partir de trabalhos na literatura.

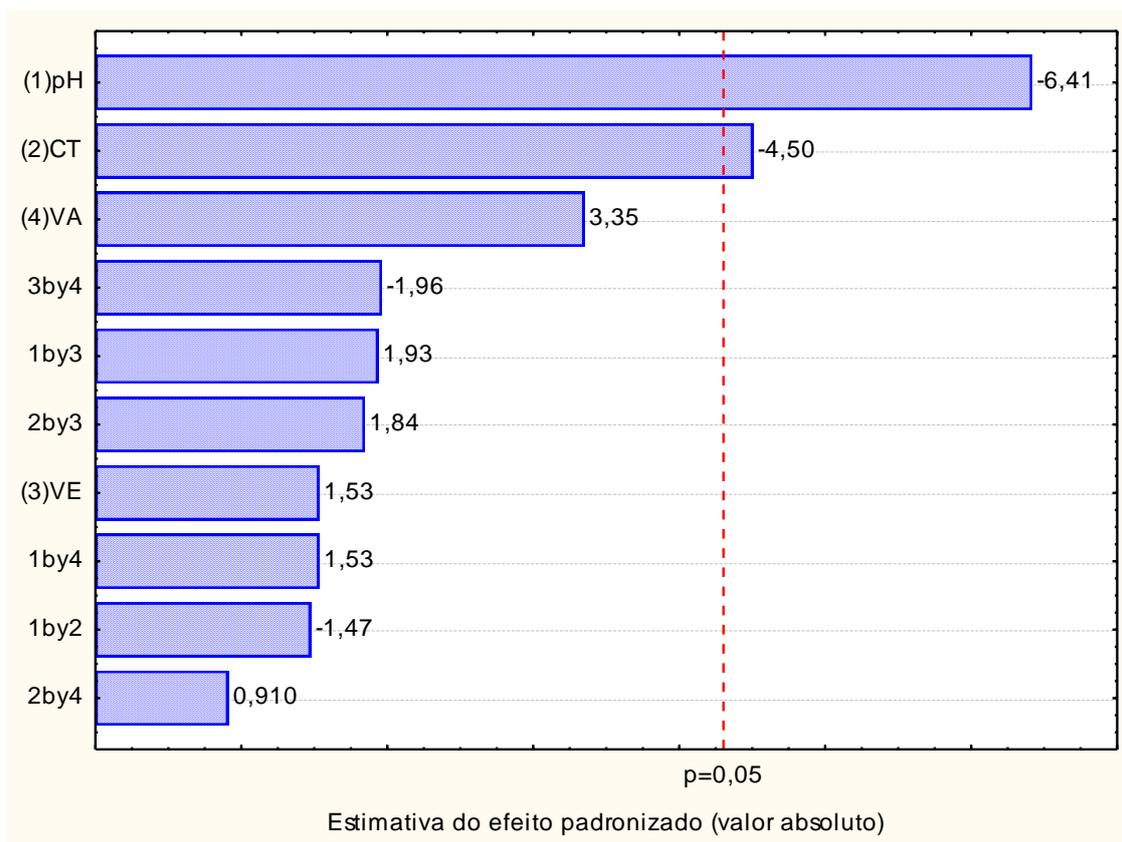


Figura 4. Gráfico de Pareto originado para estimativa dos efeitos das variáveis e suas interações para extração do cobre pelo sistema off-line utilizando fibra de sisal como biossorvente e detecção por FAAS.

Observa-se na Figura acima que os valores demonstram que apenas as concentração do tampão (CT) e fatores de pH são significativa. Os valores negativos descrito no gráfico de pareto, das variáveis pH e CT indicam que nos níveis estudados a absorvência aumentou com a diminuição desses fatores diminuindo, conseqüentemente obtendo um ganho de sinal analítico

Na Tabela 2 é apresentado as variáveis e níveis estudados no planejamento fatorial (3^2) completo.

Tabela 2. Variáveis e níveis utilizados no planejamento fatorial 3^2 .

Variáveis	Nível Inferior (-)	Ponto Central (0)	Nível Superior(+)
Concentração tampão (mol L^{-1})	0,0010	0,0055	0,0100
pH	4,700	7,300	10,00

As variáveis e os níveis que foram estudados e apresentados na Tabela 2 foram representados através da matriz do planejamento conjuntamente com os resultados que são ilustrados na (Tabela 3) a seguir.

Tabela 3. A matriz do desenho fatorial 3^2 completa.

pH	Concentração do tampão (mol L ⁻¹)	Sinal analítico*
4,70	0,0010	0,1477
4,70	0,0055	0,1503
4,70	0,0100	0,1392
7,30	0,0010	0,1218
7,30	0,0055	0,1181
7,30	0,0100	0,0996
10,0	0,0010	0,0937
10,0	0,0055	0,0675
10,0	0,0100	0,0934
7,30	0,0055	0,1111
7,30	0,0055	0,1286
7,30	0,0055	0,1265

SA* = Absorvância

A equação a seguir relaciona as variáveis concentração do tampão (CT) e pH com o sinal analítico (SA), com base em valores reais. O resultado da equação é um ponto de sela, ou seja, vários pontos de máxima foram obtidos no espaço experimental estudado.

$$SA = 0,020 - 0,0091pH - 0,00023pH^2 - 2,232CT - 19,136CT^2 + 0,177PCT \quad (4)$$

Assim, a fim de determinar as melhores condições operacionais, uma inspeção visual do gráfico de contorno (Figura 5) foi utilizada.

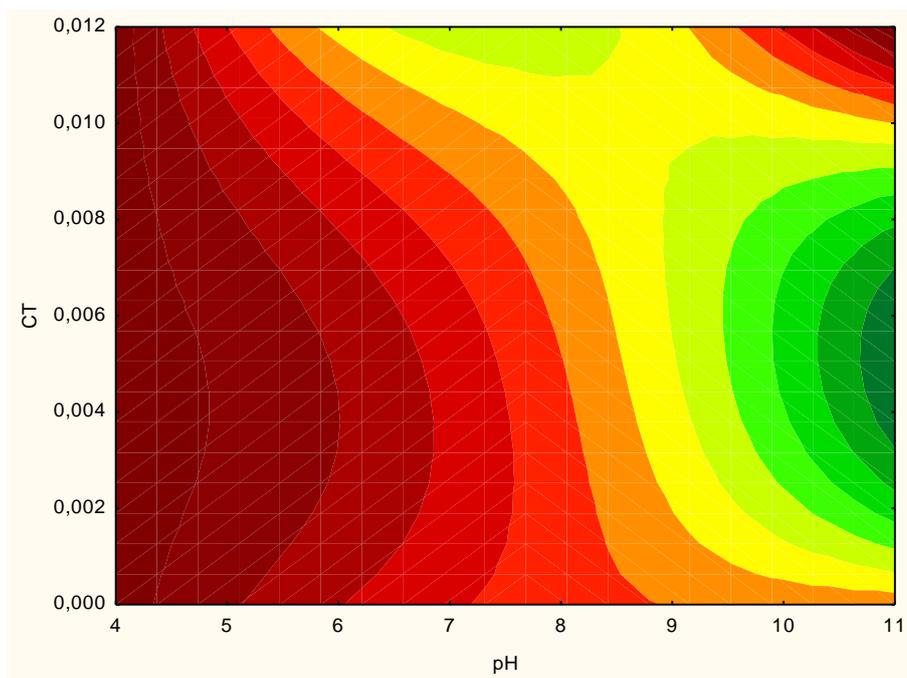


Figura 5. Gráfico de contorno

Considerando os resultados obtidos na etapa de otimização, as condições estabelecidas são: vazão de amostragem de $6,0 \text{ mL min}^{-1}$, pois em vazões maiores estava acontecendo rompimento do sistema, a concentração do tampão de $0,005 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH} = 4,75$, um volume de $1,5 \text{ mL}$ de HCl foi usado para eluir o analito a uma concentração de $1,00 \text{ mol L}^{-1}$ e vazão de eluição de $6,0 \text{ mL min}^{-1}$. Os volumes definidos para as amostras e preparação das soluções padrões das curvas analíticas foram 50 mL . Testes preliminares com concentrações para eluição do analito foram feitas, porém as concentrações de $1,00$, $2,00$ e $3,00 \text{ mol L}^{-1}$ não tiveram diferenças significativas nos resultados.

10.2 Procedimento de pré-concentração

Um planejamento fatorial completo 3^2 foi empregado para a otimização de um sistema de pré-concentração off-line para o cobre (II). O sistema foi operado com um volume de amostra de $50,0 \text{ mL}$, bombeado a $6,0 \text{ mL min}^{-1}$, e submetido à percolação através de uma minicoluna. Em seguida, o cobre (II) foi retido no minicoluna no processo complexação utilizando AFA, e a solução restante foram descartadas. Para deslocar o cobre complexado na minicoluna foi usada uma solução de ácido clorídrico a uma concentração de $1,00 \text{ mol L}^{-1}$, com vazão $6,0 \text{ mL min}^{-1}$. O eluato foi em seguida analisado por espectrometria de absorção

atômica com chama. A escolha do volume de 50,0 mL deve-se ao fato que um volume de 100,0 mL levaria muito tempo e um volume menor baixaria o fator de pré-concentração.

10.3 Características analíticas

As condições experimentais estabelecidas na etapa otimização foram: pH igual a 4,7; concentração de tampão $0,005 \text{ mol L}^{-1}$, e eluição com $\text{HCl } 1,0 \text{ mol L}^{-1}$, o sistema pré-concentração off-line permite a determinação de cobre com resposta linear de $0,1 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ a $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, e a curva analítica foi ($\text{Abs} = 0,1432 \times C_{\text{Cu}} \text{ } \mu\text{g L}^{-1} - 0,0034$), com um coeficiente de correlação de 0,998 Figura 6 .

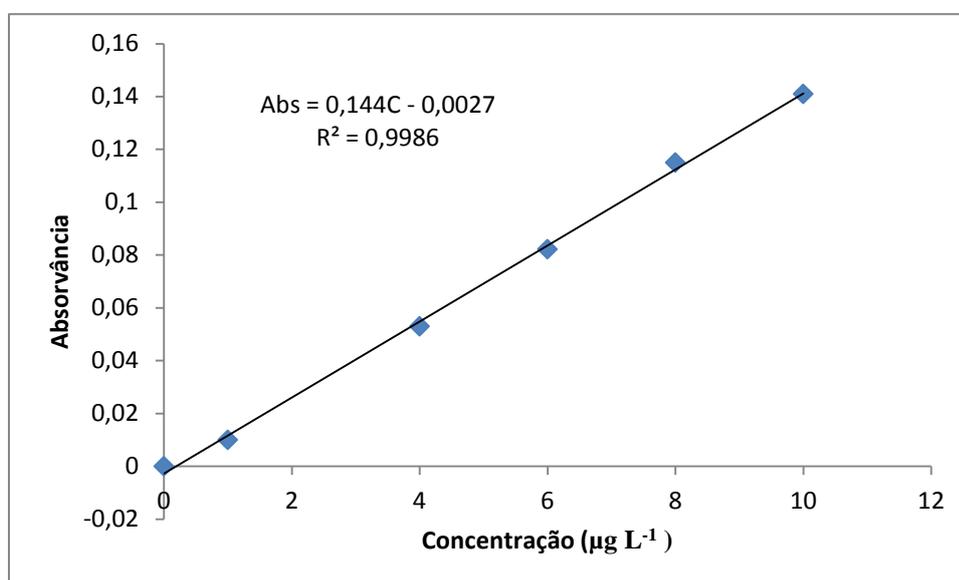


Figura 6: curva analítica pré-concentrada

Definido como a concentração de cobre que apresenta uma resposta que é igual a três vezes o desvio padrão do branco ($n = 10$), o limite de detecção (LD) foi de $0,018 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, enquanto que o limite de quantificação (LQ) foi de $0,061 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, com uma precisão expressa como um desvio padrão relativo (RSD) de 4,65 e 5,07%, para concentrações de $10,0$ e $2,0 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Os cálculos foram feitos seguindo as recomendações da (IUPAC, 1978) e um fator de pré-concentração calculado como a razão entre a fator da curva pré-concentrada sobre a sem pré-concentração de 75 para um volume de amostra de 50,0 mL.

A exatidão foi confirmada pela determinação de cobre no material de referência certificado, NIST SRM 1570 (folhas de espinafre) e por testes

adição/recuperação com níveis de recuperação variando de 93 à 100%. Com o método proposto, a concentração de cobre encontrado neste SRM foi de $12,5 \pm 0,5 \mu\text{g g}^{-1}$ e o certificado como o valor de $12,2 \pm 0,6 \mu\text{g g}^{-1}$. Através do teste t inferiu-se que não houve diferença significativa entre os valores.

10.4 Tolerância a outros íons metálicos

Com o intuito de verificar a interferência de outros íons metálicos sobre o método, uma solução padrão $10,00 \text{ mg L}^{-1}$ foi preparado contendo cobre e outros íons (F^- , Cl^- , CO_3^{2-} , HCO_3^- , Na^+ , SO_4^{2-} , K^+). Os resultados obtidos mostraram que na concentração estudada, outros íons não interferem na determinação do cobre, dessa forma permitindo que o método seja utilizado na determinação de cobre sem interferência.

10.5 Determinação de cobre em folhas de tabaco

O método proposto foi aplicado para a determinação de cobre em amostras de folhas de tabaco coletadas na cidade de Cruz das Almas, Brasil. Os resultados obtidos para a análise de quatro amostras recolhidas em armazéns da empresa Ermor Tabarama Tabacos do Brasil LTDA da cidade de Cruz das Almas variou de $0,15$ á $52 \mu\text{g g}^{-1}$, como mostrado na (Tabela 4). Foram realizados experimentos de recuperação e os resultados variaram de 93 á 100%. Foram avaliadas duas amostra, onde foi adicionado na amostra um $2,0 \mu\text{g g}^{-1}$ de cobre e recuperado $2,58 \pm 0,01$, com uma porcentagem na ordem de 100 %, na segunda amostra foi adicionado $2,0 \mu\text{g g}^{-1}$ de cobre e recuperado $2,34 \pm 0,02$, com uma porcentagem na ordem de 93%.

Tabela 4. Determinação do cobre em folhas de tabaco

Folhas de tabaco	Cobre determinado ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Amostra 1	0,52 \pm 0,03
Amostra 2	0,50 \pm 0,02
Amostra 3	0,15 \pm 0,04
Amostra 4	0,45 \pm 0,03

10.6 Comparações entre métodos para pré-concentração e determinação do cobre.

A Tabela 5 apresenta alguns parâmetros do método desenvolvido nesse trabalho e de outros publicados na pré-concentração de cobre em linha utilizando FAAS como técnica de detecção. Uma análise entre o método proposto nesta pesquisa e outros sistemas revela que o método desenvolvido possui características analíticas compatíveis aos apresentados.

Tabela 5. Pré-concentração de cobre em linha utilizando FAAS como técnica de detecção.

Analito	Reagentes Quelantes	Material Sorvente	FE ^a	LD ^b ($\mu\text{g L}^{-1}$)	RSD(%) ^c	Referência
Cobre	Azul de alizarina	Fibra de Sisal	75	0,018	4,86	Este trabalho
Cobre	-	Resina de Tamina	10	1,000	3,000	(MIRANDA et al., 2000)
Cobre	APDC ^d	Zeólita (Na-Fau)	65	0,400	2,800	(PENA, et, al.2000)
Cobre	APDC ^d	Zeólita (Na-LTA)	125	0,400	2,800	(PENA, et, al.2000)
Cobre	Calmagita	Amberlite XAD-2	32	0,150	6,000	(FERREIRA, et. al, 2000)
Cobre	Na-DDC ^e	KR-PTFE	120	0,200	3,600	(CHEN, et, al, 1994)
Cu, Pb, Cd	DDPA ^f	C ₁₈	35	0,200	1,300	(RENLI et al, 1994)
Cu, Pb, Cd, Fe	DDTC ^g	MIBK	60	0,500	3,000	(LIU et al., 2000)

^aFator de enriquecimento; ^bLimite de detecção; ^cPrecisão; ^dDitiocarbamato de Amônia e Pirrolidina; ^eN,N'-diciclohexilcarbodiimida de sódio; ^fDietilditiofosfato de amônio; ^g Dietilditiocarmato de sódio

11. CONCLUSÕES PARCIAIS

As características analíticas (precisão, limite de detecção e exatidão) obtidos demonstraram a viabilidade do sistema off-line proposto para a determinação de cobre em amostras de folhas de tabaco, usando FAAS.

O planejamento fatorial completo 3^2 permitiu uma otimização rápida e eficiente das variáveis químicas e operacionais do procedimento proposto.

Os valores de cobre encontrados estão nos limites de tolerância, logo os tratamentos culturais que foram dados na lavoura e nos processamentos de secagem e fermentação estão em níveis ideais.

CAPÍTULO III

SISTEMA DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO OFF-LINE COM FIBRA DE SISAL IMPREGNADA COM TAR PARA DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO EM ÁGUA MINERAL POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA EM CHAMA²

² Artigo publicado no periódico científico Microchemical Journal, v. 106, 2013, p. 363-367

12. JUSTIFICATIVA

A produção brasileira de água mineral engarrafada em 2011, segundo dados apurados dos Relatórios Anuais de Lavra (RAL), foi de 6,2 bilhões de litros. Valor que demonstra que há um grande consumo de água mineral no país.

A Resolução nº 54, de 15 de junho de 2000, define água mineral como sendo aquela obtida diretamente de fontes naturais ou artificialmente captada, de origem subterrânea, caracterizada pelo conteúdo definido e constante de sais minerais (composição iônica) e pela presença de oligoelementos e outros constituintes.

Outros autores classificam água mineral em função de sua temperatura, pela ocorrência de radioatividade temporária, de gás carbônico natural (carbogasosas), pela quantidade relativa de sais dissolvidos, e também pela ocorrência de algum elemento específico (BERTOLO, 2006).

Uma das formas mais perigosas de contaminação das águas de consumo humano é pelos metais tóxicos. Vários problemas a saúde humana podem ocorrer com a ingestão desses metais. Dentre os principais estão os distúrbios gastrointestinais até disfunção mental com degeneração do sistema nervoso central (BEEN, 1974).

A acumulação e toxicidade de metais devido a exposições ocupacionais, ou dos distúrbios causados por estes elementos, induzidos por situações especiais de doença como, por exemplo, a insuficiência renal em fase terminal tem despertado o interesse de estudos na área (D'HAESE, 1995).

O cádmio é objeto de pesquisa por ser considerado extremamente tóxico mesmo que em baixas concentrações. Fisicamente e quimicamente o cádmio possui propriedades semelhantes ao zinco, o que explica a ocorrência dos dois metais juntos na natureza. É um elemento que não é encontrado em estado puro na natureza e relativamente raro. Sua principal fonte mineral é a *greenockita*. O cádmio está associado principalmente a sulfetos em minérios de zinco, chumbo e cobre (CARDOSO & CHASIN, 2001).

O cádmio é um elemento metálico que tem como principais fontes de contaminação, os fertilizantes, pesticidas, água de irrigação contaminada, queima de biomassa na zona rural, combustão de carvão e óleo, emissões de veículos, incineração de resíduos urbanos e industriais e, principalmente, mineração e fundição (OGA, 2003)

A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera os limites entre 3 e 10 mg L⁻¹ como máximos admissíveis para cádmio e chumbo na água potável. Para avaliar a qualidade da água de beber e a origem de contaminação se faz necessário a determinação de contaminantes em matrizes aquosas. Porém a análise direta de micronutrientes na maioria das vezes é dificultada devido aos baixos níveis dos analitos e interferência dos componentes da matriz. Mesmo possuindo grande seletividade e sensibilidade as técnicas analíticas tais como a espectrometria de absorção atômica, precisa ser antecedida por uma etapa de pré-concentração dos elementos traço antes de sua determinação devido às suas baixas concentrações nas mais diversas amostras (especialmente amostras de água), (SADEGHI & SHEIKHZADEH, 2009; PEREIRA et al. 2011).

Estudos relatam a importância da fibra de sisal para o tratamento de água no processo de remoção de metais pesados. Mas estudos desse material na utilização de pré-concentração de metais não são encontrados na literatura

O objetivo do trabalho foi avaliar a utilização de uma minicoluna de fibra sisal impregnada com tiazolylazo-Resorsinol como sistema de pré-concentração para determinação de cádmio (II), em amostras de água minerais por espectrometria de absorção atômica com chama.

13. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados para os estudos os seguintes aparelhos e condições, um espectrômetro de absorção atômica (FAAS) do modelo SpectrAA 220 FS (Mulgrave, Victoria, Australia) equipado com um convencional nebulizador pneumáticos. A composição da chama foi ar / acetileno (vazão: 1,40 L min⁻¹). Taxa de aspiração foi de 5,0 mL min⁻¹. Uma lâmpada de cátodo oco de cobre foi utilizada sob as condições sugeridas pelo fabricante: corrente de 10,0 Am, O comprimento de onda mais sensível para cádmio 228,8 nm e a largura de banda da fenda seguido os valores sugeridos (0,5 nm). A composição tinha uma chama

de ar / acetileno, caudal de $1,40 \text{ L min}^{-1}$ e uma taxa de fluxo de aspiração de $5,0 \text{ mL min}^{-1}$.

14. Reagentes e soluções

Todos os reagentes químicos utilizados no experimento foram de grau analítico. Para preparar as soluções foram utilizados água ultra-pura ($18,2 \text{ MQ cm}$) a partir de um sistema Milli-Q (Millipore, MA, EUA). As vidrarias foram mantidas em solução de ácido nítrico (10% v/v) durante 12 h para a descontaminação total antes da utilização.

Água utilizada para preparar as soluções foi duplamente deionizada. Para ajuste do pH das soluções foi utilizada solução tampão de: acetato (pH 4,7-6,0), borato (pH 7,0-8,5) e tampão amoniacal (pH 10,0).

As soluções padrão de cádmio (II) ($10 \mu\text{g mL}^{-1}$) foi preparado a partir da solução de referência de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ (padrão para absorção atômica- marca Merck) por diluição com solução com solução de ácido clorídrico a 1% v/v.

Solução de NaOH ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$), preparada a partir do reagente P.A;

Solução de HCl ($1,2 \text{ mol L}^{-1}$), preparada a partir de HCl 12 mol L^{-1} (Merck) com água ultrapura;

Toda vidraria do laboratório foi lavada com detergente neutro, e foi conservada por 24 h em solução de ácido nítrico 10% (v/v) e antes da utilização foi novamente lavada com água deionizada.

A solução do reagente TAR (0,01% (m/v) foi preparada por dissolução de 0,01g de 4-(2-tiazoliazó)-resorcinol (SIGMA-ALDRICH) dissolvido em álcool etílico (MERCK) para um volume final de 100 mL.

15. Preparo da minicoluna de Fibra de sisal impregnada TAR

A fibra de sisal foi adquirida no comércio da cidade Cruz das Almas e foi levada ao laboratório onde triturou-se em moinho de bolas. Foram pesadas 0,1 g de fibras de sisal a qual, foi colocada no meio da minicoluna de dimensões: 5,0 cm de comprimento e um diâmetro interno de 4,0 mm. E em seguida foi utilizada uma solução de TAR 0,01% (m/v) percolada através da minicoluna, a uma vazão de $2,5 \text{ mL min}^{-1}$, durante 10 min. Depois, o sistema foi lavado com $1,00 \text{ mol L}^{-1}$ de solução de hidróxido de sódio para eliminar o excesso de reagente TAR, e em

seguida com um $1,00 \text{ mol L}^{-1}$ de solução de ácido nítrico e água, com a mesma vazão, de modo a evitar qualquer contaminação por metais.

16. Sistema de pré-concentração off-line.

O sistema off-line foi realizado utilizando uma bomba peristáltica equipado com tubos de Tygon e uma minicoluna empregnada com fibra de sisal carregada com TAR. Foi utilizado $1,0 \text{ mL}$ de HCl ($2,0 \text{ mol L}^{-1}$) para eluição do cádmio adsorvido na minicoluna, em seguida o eluído foi recolhido em frasco e em seguida analisados em espectrometria de absorção atômica com chama. O sistema de fluxo foi operado em um modo com base em volume, onde $50,0 \text{ mL}$ da solução foi bombeado a $6,0 \text{ mL min}^{-1}$, sendo submetido a uma percolação através da minicoluna.

17. Preparação das amostras

As amostras de água mineral foram obtidas em supermercados da cidade de Cruz das Almas, sendo de cinco marcas distintas. No laboratório, antes do processo de pré-concentração, todas as amostras de água foram filtradas através de uma membrana de tamanho de poro de $0,45 \mu\text{m}$ para remover as partículas em suspensão e foram armazenadas a $4 \text{ }^\circ\text{C}$.

18. Estratégia de otimização

As variáveis escolhidas para serem otimizadas foram: vazão de amostragem (VA), vazão de eluição (VE) concentração do tampão (CT) e o pH. Na Tabela 6 encontra-se estas variáveis com os valores mínimos, médios e máximos que foram escolhidos de acordo com experimentos prévios.

No processo de otimização, um planejamento fatorial completo de dois níveis (2^4) foi realizado para a avaliação prévia. A resposta analítica foi a absorvância e depois um gráfico de Pareto foi utilizado para demonstração da significância dos fatores. Os dados experimentais foram processados usando software STATISTICAL.

Em seguida um planejamento fatorial completo de três níveis foi realizado a fim de determinar as condições críticas do método, conjuntamente com uma

metodologia de análise de superfície de resposta, executada para otimização do experimento.

Tabela 6. Fatores e níveis utilizados no planejamento fatorial 2^4

Variáveis	Nível mínimo (-)	Ponto central (0)	Nível Máximo(+)
Concentração tampão (mol L^{-1})	0,0080	0,0240	0,0400
pH	3,0000	6,0000	9,0000
Vazão de amostragem (mL min^{-1})	2,0000	5,0000	8,0000
Vazão de eluição (mL min^{-1})	2,0000	5,0000	8,0000

19. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Atráves da definição das variáveis pH, concentração do tampão, vazão de amostragem e vazão de eluição um planejamento fatorial completo (2^4) foi realizado para determinar a influência de cada fator e de suas interações. Os dados deste planejamento com absorbância como resposta são mostrados na matriz experimental (Tabela 7).

Tabela 7. A matriz do planejamento fatorial completo (2^4).

pH	CT	VA	VE	Abs
3,0	0,008	2,0	2,0	0,0336
9,0	0,008	2,0	2,0	0,0256
3,0	0,040	2,0	2,0	0,0238
9,0	0,040	2,0	2,0	0,0140
3,0	0,008	8,0	2,0	0,0302
9,0	0,008	8,0	2,0	0,0348
3,0	0,040	8,0	2,0	0,0301
9,0	0,040	8,0	2,0	0,0158
3,0	0,008	2,0	8,0	0,0410
9,0	0,008	2,0	8,0	0,0228
3,0	0,040	2,0	8,0	0,0330
9,0	0,040	2,0	8,0	0,0180
3,0	0,008	8,0	8,0	0,0309
9,0	0,008	8,0	8,0	0,0310
3,0	0,040	8,0	8,0	0,0149
9,0	0,040	8,0	8,0	0,0251
6,0	0,024	5,0	5,0	0,0276
6,0	0,024	5,0	5,0	0,0313
6,0	0,024	5,0	5,0	0,0329

O resultado do planejamento fatorial analisado no gráfico de Pareto, foi fundamentado na análise de variância (ANOVA), demonstrou que apenas os fatores de concentração do tampão (CT) e o pH são significativos, assim como a interação entre pH e VA como pode ser visto no diagrama de Pareto (Figura 6), onde os valores que ultrapassa a linha tracejada p (probabilidade estatística) descreve a significância dos fatores, com nível de confiança de 95%. Os valores negativos para o efeitos da concentração do tampão (CT) e de pH indicaram que, nos níveis estudados, a absorvância aumentou com a diminuição do pH e CT, ou seja, a sorção do cádmio é mais eficiente nessas condições.

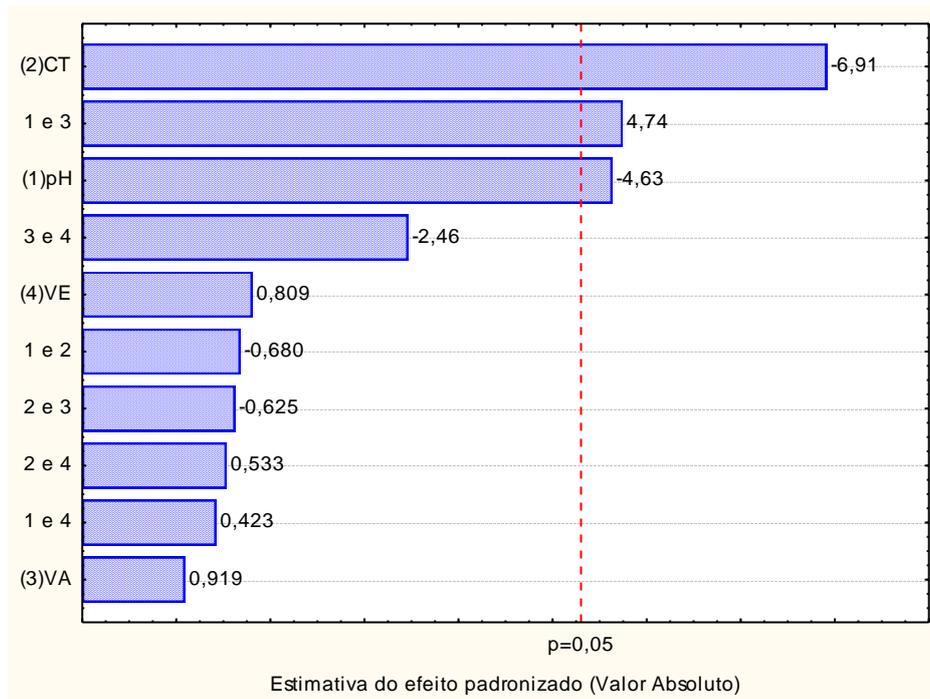


Figura 7. Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados, Vazão de amostragem (VA), vazão de eluição (VE), concentração do tampão (CT) e pH.

19.1 Determinação das condições críticas, usando planejamento fatorial completo 3^2

Um planejamento fatorial completo 3^2 foi realizado para a determinação das condições ótimas para a concentração do tampão (CT) e pH. As condições experimentais foram: CT, ponto inferior $0,008 \text{ mol L}^{-1}(-)$, ponto central $0,0240 \text{ mol L}^{-1}$ e ponto superior (+) $0,040 \text{ mol L}^{-1}$, o pH com ponto inferior 3,0, ponto central 6,0 e ponto superior (+) 9,0.

A matriz do planejamento e os resultados encontram-se resumidos também na (Tabela 8). A equação abaixo ilustra a relação entre a concentração de tampão (CT), pH e sinal analítico (SA), considerando os valores reais.

$$AS = 0,0602 + 0,0321pH - 0,0024pH^2 - 0,252CT - 8,94CT^2 + 0,0619pHCT \quad (04)$$

A derivada desta equação em termos de pH e os resultados também de CT no seguinte sistema de equações:

$$\frac{\partial AS}{\partial pH} = 0,0321 - 0,0048 pH + 0,0619 CT \quad (05)$$

$$\frac{\partial AS}{\partial CT} = -0,252 - 17,88 CT + 0,0619 pH \quad (06)$$

Tabela 8. A matriz do planejamento fatorial (3^2).

pH	CT	Sinal analítico
3,0	0,0080	0,0125
3,0	0,0240	0,0042
3,0	0,0400	0,0012
6,0	0,0080	0,0453
6,0	0,0240	0,0436
6,0	0,0400	0,0319
9,0	0,0080	0,0353
9,0	0,0240	0,0339
9,0	0,0400	0,0341
6,0	0,0240	0,0493
6,0	0,0240	0,0462
6,0	0,0240	0,0416

Após a realização dos experimentos de triagem, os fatores significativos foram selecionados e uma metodologia de análise de superfície de resposta foi executada para otimização.

superfície de resposta

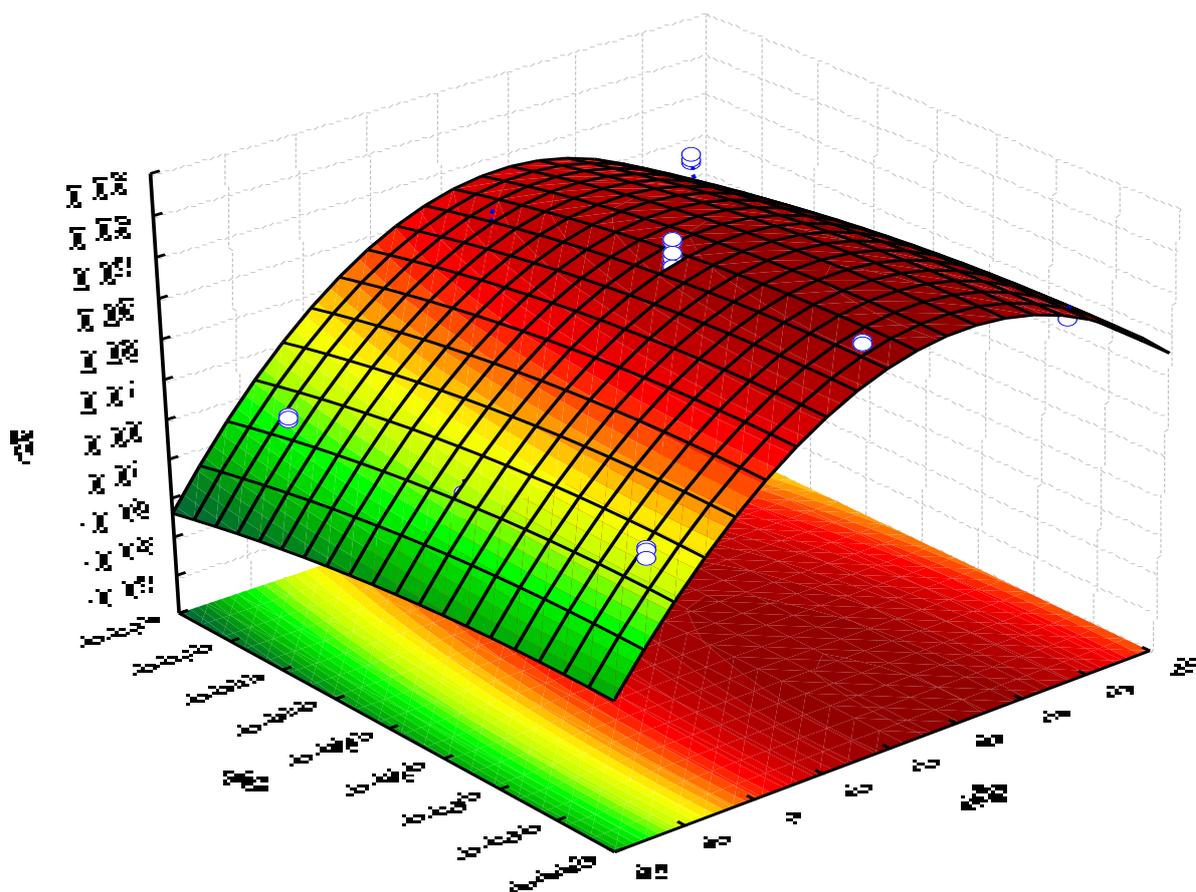


Figura 8. Superfície de resposta para as variáveis pH e concentração do tampão

Considerando-se os resultados obtidos na otimização as condições ótimas encontrada são os seguintes: vazão de amostragem de $6,0 \text{ mL min}^{-1}$, a concentração do tampão de $0,009 \text{ mol L}^{-1}$, pH 7,0, foi utilizado 1,0 mL HCl para eluição com vazão de $6,0 \text{ mL min}^{-1}$. Os volumes utilizados para as amostras e as soluções padrão na preparação das curvas analíticas foram de 50 mL.

19.2 Características analíticas

As condições estabelecidas a partir da otimização foram: pH 7,0 e concentração do tampão de $0,009 \text{ mol L}^{-1}$; o cádmio foi eluído com 1,0 mL de HCl ($2,0 \text{ mol L}^{-1}$). O sistema de pré-concentração off-line permite a determinação de cádmio com resposta linear 0,1- $800 \mu\text{g L}^{-1}$, a curva analítica foi ($\text{Abs} = 0,006^* \text{ Cd} - 0,0016$) com um coeficiente de correlação de 0,998.

O limite de detecção (LD), definida como a concentração de cádmio que dá uma resposta equivalente a três vezes o desvio padrão de do branco ($n = 10$), foi de $0,08 \mu\text{g L}^{-1}$ e um limite de quantificação (LQ) de $0,30 \mu\text{g L}^{-1}$. Precisão expressa como desvio padrão relativo (RSD) de 2,9 e 3,4% para as concentrações de cádmio de 10,0 e $20,0 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, o fator de pré-concentração para um volume de amostra de 50,0 mL foi de 30, sendo que foi calculado como a razão entre a fator da curva pré-concentrada sobre a sem pré-concentração.

Para avaliar a exatidão foram feito Teste de Adição/recuperação em amostras de água mineral, usando recuperações absolutas a comparação das concentrações encontradas em cinco amostras de água mineral com quantidades conhecidas de cádmio. As concentrações foram obtidas utilizando a curva de calibração, os valores obtidos foram cerca de 92% a 103% de recuperação de cádmio (Tabela 8).

Tabela 8. Teste de Adição/recuperação e determinação de cádmio em amostras de água mineral.

Amostras de água mineral	Conteúdo de cádmic adicionado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Conteúdo cádmio encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)
1	0,0000	$0,47 \pm 0,06$	101,6
	10,0000	$10,63 \pm 0,01$	
2	0,0000	< LQ	100
	1,0000	$10,02 \pm 0,02$	
3	0,0000	$0,52 \pm 0,04$	105
	1,0000	$11,02 \pm 0,01$	
4	0,0000	$0,64 \pm 0,05$	92,8
	10,0000	$9,92 \pm 0,01$	
5	0,0000	$2,02 \pm 0,03$	-

19.3 Tolerância a outros íons

A fim de verificar o efeito de outros íons metálicos, uma solução padrão contendo cádmio e outros íons (F^- , Cl^- , CO_3^{2-} , HCO^- , Na^+ , SO_4^{2-} , K^+), cada um de $24,0 \text{ mg L}^{-1}$, foi preparada. Em seguida a concentração de cádmio foi determinada. Os resultados obtidos mostraram que nesta concentração os outros íons não interferem na determinação de cádmio.

19.4 Teste de robustez.

A robustez definida como a medida da sua capacidade para reproduzir os resultados quando o procedimento é realizado sob pequenas alterações nos valores nominais estabelecidos também foi avaliada, onde a CT e pH foram os fatores analisados. Este teste foi realizado com as seguintes condições crítica descrita na tabela 9 abaixo.

Tabela 9. Condições críticas

Variáveis	Condições críticas
Concentração tampão (mol L^{-1})	0,0083
pH	7,0

Para este teste, foi utilizado um planejamento fatorial de dois níveis completo, centrada nas condições experimentais descrito na (Tabela 10). A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para interpretação dos dados a partir desta experiência, e os resultados demonstram que este procedimento é robusto para uma variação de 10% para os variáveis pH e concentração do tampão (Fig. 8).

Tabela 10. planejamento fatorial completo de dois níveis para teste de robustez

Ph	CT	Sinal analítico	Sinal analítico
6,3 (-)	0,00913 (-)	0,1408	0,1289
7,7 (+)	0,00747 (+)	0,2870	0,1182
6,3 (-)	0,00913 (-)	0,5690	0,1411
7,7 (+)	0,00747 (+)	0,3950	0,3950
6,3 (-)	0,00913 (-)	0,1259	0,1389

Um gráfico de pareto foi elaborado para descrever a variação de 10 % do pH e CT no experimento, Figura 8.

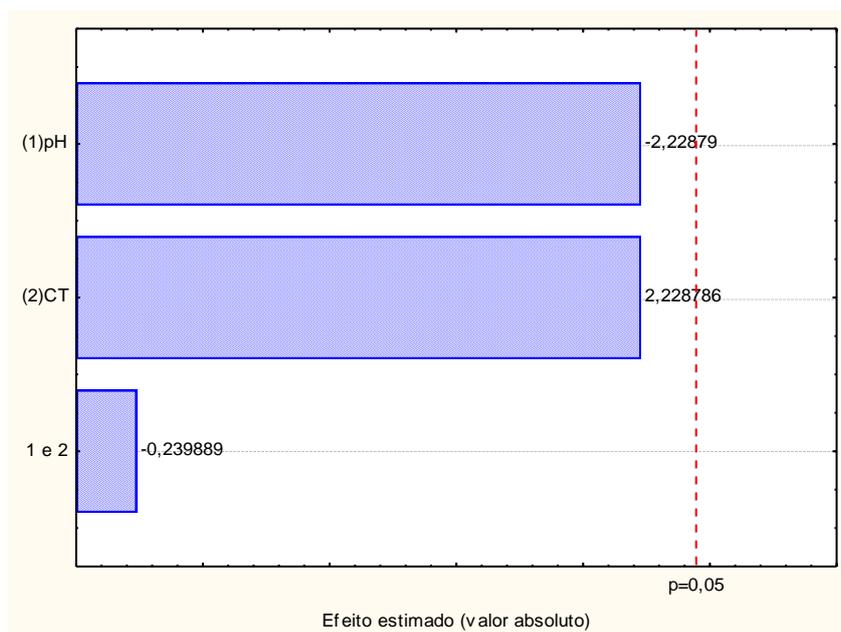


Figura 9. Gráfico de pareto para teste de robustez com uma variação de 10% para o pH e concentração tampão

Os valores abaixo de $p=0,05$ indicam que a variação aplicada aos valores otimizados para as variáveis não são significativos. O gráfico de Pareto Figura 8 mostra que este procedimento é robusto para uma variação de 10% nas variáveis, pH e vazão de eluição.

19.5 Determinação de Cádmio em água mineral

O método proposto foi aplicado na determinação de cádmio em amostras de água minerais coletadas em um supermercado na cidade de Crus das Almas, Brasil. Os resultados obtidos a partir da análise de cinco amostras coletadas em vários supermercados da cidade variaram de 0,47 a 2,02 $\mu\text{g L}^{-1}$, como pode ser visto na (Tabela 8). Ensaios de recuperação foram realizados e os resultados variaram de 92% a 103%. Estes resultados demonstraram que a concentração de cádmio não está acima dos padrões recomendados.

20. CONCLUSÕES PARCIAIS

A fibra de Sisal impregnada com TAR foi aplicado com sucesso na pré-concentração, para determinação de cádmio por FAAS em amostras de água mineral.

O método é simples, barato pois utiliza a fibra de sisal que é um material que é facilmente encontrado na região, pois é umas das maiores produtoras, o mesmo apresenta boa precisão e exatidão.

O conteúdo de cádmio nas amostras de água mineral coletada na cidade de Salvador, Brasil foi inferior ao nível máximo admissível ($3,0 \text{ mg L}^{-1}$) de cádmio para água mineral estabelecido pela Organização de Saúde do governo brasileiro e (ANVISA) Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

CAPÍTULO IV

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDROVA A, ARPADJAN S. **Determination of trace elements in analytical-reagent grade sodium salts by atomic absorption spectrometry and inductively coupled plasma atomic emission spectrometry after preconcentration by column solid phase extraction.** Analyst (1993) v.118, p.1309-1312.

ALVES, V. N.; MOSQUETTA R, COELHO, N. M. M.; BIANCHIN J. N.; ROUX K. C. DI P., R MARTENDAL, E, CARASEK E. **Determination of cadmium in alcohol fuel using moringa oleifera seeds as a biosorbent in an on-line system coupled to faas.** Talanta (2010) v.80 p.1133–1138.

AMICO, S. C., MOCHNACZ S., SYDENSTRICKER T. H. D. **Tratamento melhora propriedades de fibras de sisal para uso em compósitos** – Revista Plástico Industrial, São Paulo, Editora Aranda, Março (2004).

ANNADURVAL, G.; JUANG R. S.; LEE D J. **Adsorption of heavy metals from water using banana and orang peels.** Technol. (2002) v. 47 p.185-190.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos.** Resolução – RE 899, de 29 de maio de (2003).

ARAMBARRI, R. GARCIA; MILLÁN E. **Optimisation of tin Determination in água regia-HF extracts from seiments by eletrothermal atomic absorption spectrometry using experimental design**, Analyst, (2000) v. 125 p. 2084-2088.

BAPTISTA P. M.S. **Avaliação da resposta ao stresse oxidativo induzido por cádmio e cobre em plantas de tabaco tranformadas e não transformadas**, Dissertação para obtenção do Grau de Mestre e Engenharia do Ambiente Lisboa, (2009).

BARCELOS T. D. DE J. **Cobre vital ou prejudicial para a saúde humana?** dissertação para a obtenção do grau de mestre em medicina pela universidade da beira interior, Covilhã, Junho de (2008).

BARRADA J.L., CARIDAD S., LODEIRO P., HERRERO R., VICENTE M.E.S. **Physicochemical characterisation of the ubiquitous bracken fern as useful biomaterial for preconcentration of heavy metals**, Biores. Technol. (2009) v.100 p.1561–1567.

BARRETO A. C. H. **modificações químicas em fibras de lignocelulósicas para aplicação na elaboração de biocompositos de matrizes fenólicas derivadas do Lcc e na biossorção de metais**, Mestrado em Química Inorgânica – Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, (2009).

BEAN, E.L. Potable Water: qualidade goas. J. **Am. Water Works Assoc.**, (1974) p.221-330.

BELCHER R.,& WEST T. S. **A study of the cerium(III)-alizarin complexan-fluoride reaction** Talanta, (1961), v.8, p. 853-862.

BERTOLO, R. A. **Reflexões sobre a Classificação e as Características Químicas da água Mineral Envasada do Brasil**. In: XIV Congresso Brasileiro de águas Subterrâneas, Curitiba (2006).

BEZERRA, A. M. **Aplicação de matriz de Doehlert na otimização de um sistema de pré-concentração em linha para determinação de cobre usando Espectrometria de Absorção Atômica com Chama**, dissertação de mestrado UFBA, Salvador –Bahia Fevereiro de (2003).

CAMELO V. **Solid phase extraction of trace elements**, Spectrochim. Acta Part B (2003) v 58 p. 1177–1233.

CARDOSO, L.M.N. & CHASIN, A.A.M. **Ecotoxicologia do Cádmio e Seus Compostos**. Cadernos de Referência Ambiental, Salvador, (2001) v. 6, p. 122.

CASSELA, R.J.; SALIM, V.A.; JESUÍNO, L.S.; SANTELLI, R.E.; FERREIRA, S.L.C.; CARVALHO, M.S. **Flow injection determination of cobalt after its sorption onto polyurethane foam loaded with 2-(2-thiazolylazo)-p-cresol (TAC)**. Talanta, (2001) v. 54, p. 61-67.

CARVALHO, L. S.; COSTA, A. C. S; FERREIRA, S. L. C e TEIXEIRA, L. S. G. **Spectrophotometric determination of chromium in steel with 4-(2-thiazolylazo)-resorcinol (TAR) using microwave radiation**. J. Braz. Chem. Soc. [online]. (2004) v.15, p. 153-157.

COULTATE, T. P. **Alimentos: A Química de seus Componentes**. 3ª Edição, Editora Artmed. (2004).

CURTIUS, ADILSON J.; WELZ, B. **Extração por ponto nuvem para determinação Cd e Pb em águas por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite, com uso de Irídio ou Rutênio como modificadores químicos permanentes**. 13º ENQA, Niterói/RJ (2005).

DAPAAH, A.R.K.; TAKANO, N.; AYAME A. **Solvent extraction of Pb(II) from acid medium with zinc hexamethylenedithiocarbamate followed by back-extraction and subsequent determination by FAAS.** *Anal. Chim. Acta* (1999) v. 386, p. 281-286.

DEBIRBAS, E. **Adsorption of cobalt (II) from aqueous solution onto activated carbon prepared from hazelnut shells** *Technol*, (2003) v. 21 p. 951-963.

DEL RIO, D. T. **"Biossorção de cádmio por leveduras *Saccharomyces cerevisiae*."** Dissertação de mestrado, microbiologia agrícola USP (2004).

DEMING, S.N.; MORGAN, S.L. **A chemometric: A textbook** , Elivier Scientific Publi shing Company, New York – (1988).

DEMIRBAS, A. **Heavy metal adsorption onto agro-based waste materials: A review.** *Journal of Hazardous Materials*, (2008) v.157, p. 220-229.

D'HAESE, P. C.; VAN LANDEGHEM, G. F.; LAMBERTS, L. V.; DE BROE, M. E. **HPLC-AAS hybrid technique for studying the speciation of trace metals (Al, Fe, Si, Hg) in biological fluids: A review of applications, recent experiences and perspectives** *Mikrochim. Acta* (1995) v.120 p.83-89.

FARIA L. J. DA S. **avaliação de diferentes sorventes na extração em fase sólida de pesticidas em água. Desenvolvimento e validação de metodologia.** Dissertação de mestrado, Instituto de química Unicamp, agosto de (2004).

FERREIRA, S. L. C.; SANTOS, W. N. L.; QUINTELLA, C, M.; NETO, B. B.; BOSQUE-SENDRA J. M. **doehlrt matrix: a chemometric tool for analytical chemistry-review.** *Talanta*, (2004) v. 63 p. 1061-1067.

FILIPIC, M.; FATUR, T.; VUDRAG, M. Molecular mechanisms of cadmium induced mutagenicity. **Humam and Exp.Toxic.**, (2006) v. 25, p. 67-77.

FRITZ, J.S. **Analytical solid-phase extraction**. USA: John Wiley & Sons Inc, (1999).

GODLEWSKA-ZYLKIEWICZ, B. "**Analytical applications of living organisms for pre-concentration of trace metals and their speciation**". *Analytical Chemistry*, (2001) v. 31, p. 175-189.

IUPAC. **Analytical chemistry division, commission on spectrochemical and optical procedures for analysis, nomenclature, symbols, units and their usage in spectrochemical analysis II**. *Spectrochimica Acta Part B – Atomic Spectroscopy*, (1978) v.33, p. 242–245.

JENSEN, B.S., **1-2(thiazolilazo)-2-oxyaryl compounds as complexometric metal indicators**. *Acta Chem. Scandin.*, (1960) v. 14, p. 927-931.

JOHNSON, P. D.; WATSON, M.A.; BROWN, J.; **Peanut hull pellets as single use for the capture of Cu(II) from wastewater**. *Waste Manage*, (2002) v. 22 p. 471- 480.

KABATA-PENDIAS, A. ; PENDIAS,H .**trace elements in soil and plants**. 3. Ed. Boca Rato: CRC press, (2001) p. 331.

LEONARD M. A., Ph.D. **Thesis**, Birmingham University, (1959).

LI, Y.; MAI; Y. W. & YE, L. - **Chemical and structural characterization of sisal fibers from *Agave sisalana* variety**. *Technol*, (2000) v. 6, p. 2037-2055.

LOBINSKI, R.; MARCZENKO, Z. Recent advances in ultraviolet-visible spectrophotometry. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, 1992 v.23, p. 55-111.

LOW, K.S.; LEE C.K.; **Column study on the sorption of Cr (VI) using quaternized rice hulls** *Bioresource Technology*, (1999) v. 68, p. 205-208.

MARTIN, A. R., MARTINS, M. A., MATTOSO, L. H., & SILVA, O. R. **Caracterização química e estrutural de fibra de sisal da variedade agave sisalana. *Polímeros: Ciência e Tecnologia***, (2009). v. 19(1), p. 40-46.

MEDEIRO, V. C.; **seleção artificial para resistência à murcha bacteriana (*Rastonia Solanacearum*) em fumo (*Nicotiana Tabacum* L.)** Dissertação para obtenção do grau de mestre em Fitotecnia, Porto Alegre, Abril de 2005.

MEDINA, J. C. - "**O sisal**", Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo, São Paulo (1954).

MELO, M.H.A.; FERREIRA, S.L.C.; SANTELLI, R.E. **Determination of cadmium by FAAS after on-line enrichment using a mini column packed with XAD-2 loaded with TAM**. *microchem. J.*(2000) v. 65, p. 59-65.

MESTER Z., STURGEON R., *Spectrochim.* **Trace element speciation using solid phase microextraction**, *Atomic Spectr.* (2005) v. 60, p. 1243-1269.

MIGUEL JÚNIOR, A. **Cádmio – Intoxicação**. *Medicina geriátrica*. Disponível em: <http://www.medicinageriatrica.com.br/2008/01/14/camdio-intoxicacao/>. Acesso em 20 fev./2012.

MWAIKAMBO, L.Y. & ANSELL, M. P. **Chemical modification of hemp, sisal, jute, and kapok fibers by alkalization**, *Appl. Polym. Sci.*((2002) v. 84, p. 2222-2234.

NOALE, R. Z. **Avaliação do Risco Ambiental em Sedimento dos Lagos do Riacho Cambé em Londrina Pela Distribuição de Metais**. Tese de Mestrado Centro de Ciências Exatas – Departamento de Química da Universidade Estadual de Londrina-PR 2007.

OGA, S. **Fundamentos da Toxicologia** 2ª Edição. São Paulo. Editora O Atheneu. 2003.

OLIVEIRA, A.R.M.; MAGALHÃES, I.R.S.; SANTANA, F.J.M.; BONATO, P.S.; Liquid-phase microextraction (LPME): **fundamentals and applications to the analysis of drugs in biological samples**; São Paulo, Quím. Nova (2008) v. 31, 637-644.

PEREIRA A.S., FERREIRA G., CAETANO L., MARTINES, M.A.U., PADILHA P.M., SANTOS A., CASTRO G.R., **Preconcentration and determination of Cu (II) in a fresh water sample using modified silica gel as a solid-phase extraction adsorbent** (2011), v. 50, p. 3446–3451.

PEREIRA C. F., FERNANDES E. N., MARQUES E. P., MARQUES A. L. B. **potencialidades analíticas do sistema cu (II) - amarelo de alizarina R: um novo procedimento espectral analítico para determinação de cu(II) no nível de micromolar e estudos de equilíbrios em solução**, Revista Analytica, (2003), v. p. 53-58.

PILON-SMITS, E.A. AND PILON, M. **Phytoremediation of Metais using, transgenic plants**. Crit Rev. (2002) v. 21, p. 439-456.

QUEIROZ, SONIA C N, CAROL H. COLLINS, AND ISABEL CSF JARDIM. **"Methods of extraction and/or concentration of compounds found in biological fluids for subsequent chromatographic determination."** Química Nova 24. (2001) v. 1, p. 68-76.

RAZERA, I. A. T.; FROLLINI E.; **composites based on jute fibers and phenolic matrices: proprieties of fibers composites**. J . Appl. Polym. Sci., (2004) v. 91, p. 1077- 1085.

RESOLUÇÃO - RDC Nº. 54, **Dispõe sobre o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Água Mineral Natural e Água Natural**, de 15 de junho de 2000.

RODRÍGUEZ L.C., GARCÍA R.B., CAMPAÑA A.M.G., BOSQUE-SENDRA J.M., **Chemometr.Intell. Lab. Syst.** (1998) v. 41 p. 57-68.

SAADA E.M., MANSOURB R.A., EL-ASMYB A., EL-SHAHAWIC M.S., **Sorption profile and chromatographic separation of uranium (VI) ions from aqueous solutions onto date pits solid sorbent**, *Talanta* (2008) v. 76 p. 1041–1046.

SADEGHI S., SHEIKHZADEH E. **Solid phase extraction using silica gel modified with murexide for preconcentration of uranium (VI) ions from water samples**, *J. Hazard. Mater.* (2009) v.163 p. 861–868.

SANTOS W.N.L., Cavalcante D.D.; Silva E.G., Virgens C.F., Dias F.S. **Biosorption of Pb(II) and Cd(II) ions by Agave sisalana (sisal fiber)**, *Microchem. J.* (2011) v. 97 p. 269–273.

SATARUG, S., BAKER, J.R., URBENJAPOL, S., HASWELL-ELKINS, M., REILLY, P.E.B., WILLIAMS, D.J., MOORE, M.R. **A global perspective on cadmium pollution and toxicity in nonoccupationally exposed population. Toxic. Letters.** (2003) v. 137, p. 65–83.

SILVA, R. A. C., **Composição química do cigarro.** *Jornal brasileiro de Pneumologia* 30 (Supl 2) - Agosto de 2004.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R., **“Fundamentos de Química Analítica”**, Tradução da 8ª edição norte-americana, Editora Thomson, (2006).

TAVARES A. D. **Determinação de cádmio e chumbo em alimentos e bebidas industrializados por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica**, tese de doutorado, João Pessoa, maio de (2010).

TEIXEIRA, L.S.G.; COSTA, A.C.S.; FERREIRA, S.L.C.; FREITAS, M.D.; DE CARVALHO, M.S. **Spectrophometric determination of uranium using 2-(2-thiazolylazo)-p-cresol (TAC) in the presence of surfactants**, J. of Braz Chem. Soc. (1999) v. 10, p. 519-522.

TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria II: Planilhas Eletrônicas para Cálculos de Planejamentos Experimentais, um Tutorial**, Quim. Nova (2006) v. 29, p. 338-350.

THURMAN, E. M. **Solid-phase extraction: principles and practice chemical analysis**, ed. J. D. Winefordner, John Wiley and Sons, New York, series (1998) vol 147.

VAGHETTI, **utilização de biossorbentes para remediação de efluentes aquosos contaminados com íons metálicos**, tese de Doutorado, Porto Alegre, (2009).

VARENNE, A. **Produtividade dos Solos e Ambiente**. Escolar Editora, Lisboa, Portugal (2003).

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Safety evaluation of certain food additives and contaminants**. Sixty-first meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) (2006).

WILLIAMS, C.J.; ADERHOLD, D.; EDYVEAN, R. G. J.; **Comparison between biosorbents for the removal of metal ions from aqueous solutions**. Water Research, (1980) v.32 p. 216-224.

XIE, J.; CHANG, H.; KILBANE, J.; **Removal and recovery of metal ions from wastewater using biosorbents and chemically modified biosorbents.** Bioresource Technology, (1996) v. 57 p.127-136.