UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: QUÍMICA ANALÍTICA

Desenvolvimento de método analítico para determinação e especiação de cobre utilizando extração em fase sólida com fibras de bambu impregnadas com Batocuproína.

MARLA THAIS FERNANDES TEODORO

Orientador: Prof. Dr. Fábio de Souza Dias

Jequié-BA
2015

MARLA THAIS FERNANDES TEODORO

Desenvolvimento de método analítico para determinação e especiação de cobre utilizando extração em fase sólida com fibras de bambu impregnadas com Batocuproína.

Artigo apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Química.

Área de concentração: Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr Fábio de Souza Dias
Co-orientador: Prof. Dr. Marcos de Almeida Bezerra

Jequié – Bahia
Fevereiro / 2015

Teodoro, Marla Thaís Fernandes.
T289 Desenvolvimento de método analítico para determinação e especiação de cobre utilizando extração em fase sólida com fibras de bambu impregnadas com Batocuproína/Marla Thaís Fernandes Teodoro.- Jequié, UESB, 2015.
42 f: il.; 30cm. (Anexos)

Trabalho de conclusão de curso (Pós-graduação em Química)- Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2015. Orientador: Profº. Drº. Fábio de Souza Dias.

1. Fibra de bambu – Especiação de cobre em vinho 2. SPE – Sistema de pré-concentração para especiação de cobre em vinhos I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia II. Título.

CDD – 543

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA - UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUIMICA-PGQUI

Marla Thaís Fernandes Teodoro

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia com requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM **20/02/2015.**

Comissão Examinadora:

Fabio de Souza Dias

Prof. Dr. Fábio de Souza Dias (UFBA, Salvador, 2010)
(Orientador)

Luana Novaes Santos

Profa. Dra. Luana Novaes Santos(UFSCAR, São Carlos/SP, 2012)

Marcos de Almeida Bezerra

Prof. Dr. Marcos de Almeida Bezerra (UFBA, Salvador, 2006)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Árvore do Bambu (*Bambusa vulgaris*). 18

Figura 2. Transformação da árvore de bambu em fibras para o processo de EFS. 19

Figura 3. Formação do quelato cobre com o reagente 2,9-dimetil-4,7-difenil-1,10-fenantrolina. 19

Figura 4. Três planejamentos gerados por diferentes projeções planas do sólido geométrico cuboctaedro: (a) e (b) Planejamentos Doehlert e (c) Planejamento Box-Benhken. Fonte [40] 22

Figura 5. Sistema de Pré-concentração em fase sólida utilizado para extração *offline* de cobre: (a) Sorção do analito sobre o suporte sólido, (b) Dessorção do analito com eluente adequado, (c) Técnica de detecção para quantificação do analito. 25

Figura 6. Espectro de Infravermelho da fibra de bambu. 27

Figura 7. Microscopia eletrônica de varredura da fibra in natura de bambu. 27

Figura 8. Volumes estudados da amostra em relação com a resposta analítica. 28

Figura 9. Gráfico de Pareto do planejamento fatorial de dois níveis no processo de pré-concentração de cobre. 30

Figura 10. (a) superfície de resposta (b) curva de nível da variação do pH (B) e do vazão de eluição (A) e tendo como resposta analítica a absorbância. 33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Níveis das variáveis no planejamento fatorial 2^4..... 29

Tabela 2. Matriz e resultados do planejamento fatorial 2^4 para pré-concentração de Cu (I) = 200 µg L^{-1} 29

Tabela 3. Matriz do planejamento Doehlert com valores codificados e decodificados para Cu(I) = 200 µg L^{-1}. 31

Tabela 4. Curvas analíticas e coeficiente linear do método de extração/pré-concentração. 33

Tabela 5. Características analíticas do método desenvolvido para extração e pré-concentração de Cobre. 34

Tabela 6. Efeito da natureza dos redutores para uma concentração de Cu (I) = 200 µg L-1 e pH 5,5..... 34

Tabela 7. Especiação de cobre em amostras de vinhos brancos..... 35

Tabela 8. Determinação de Cobre em amostras de alimento utilizando diferentes técnicas de detecção..... 36

Tabela 9. Determinação de cobre em amostras de alimento utilizando o método proposto. 37

Tabela 10. Determinação de cobre em vinhos pelo método proposto..... 38

Tabela 11. Resultado obtido para o material de referência analisado através do método proposto. 38

Tabela 12. Interferentes estudados no sistema de pré-concentração 39

LISTA DE ABREVIATURAS

FAAS	Espectrometria de absorção atômica com chama
SPE	Extração em Fase Sólida
EPN	Extração no ponto nuvem
Abs	Absorvância
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
ICP OES	Espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado
VA	Vazão de amostragem
VE	Vazão de Eluição
CT	Concentração do Tampão
FE	Fator de Enriquecimento
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de Quantificação
RSD	Desvio padrão relativo
EBT	Negro de eriocromo T
PUF	Espuma de poliuretano
TAM	2-(2-tioazoliazo)-5-dimetilaminofenol
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
$Cu(batucop)_2^+$	Complexo de cobre com batocuproína
Batocuproína	2,9-dimetil-4,7-difenil-1,10-fenantrolina
ICP- MS	Espectrometria de massa
CG	Cromatografia gasosa com plasma indutivamente acoplado
BTAC	Reagente 2-(2-Benzotiazolilazo)-p-Cresol
OIV	Organização Internacional de Vinha e do Vinho

Desenvolvimento de método analítico para determinação e especiação de cobre utilizando extração em fase sólida com fibras de bambu impregnadas com Batocuproína.

Marla Thais Fernandes Teodoro

Orientador: Prof. Dr. Fábio de Souza Dias

Co-orientador: Prof. Dr. Marcos de Almeida Bezerra

RESUMO

No presente trabalho, uma minicoluna de fibra de Bambu impregnada com batocuproína é proposto como sistema de pré-concentração para especiação de cobre em vinhos branco e seco e determinação em amostras de alimento por espectrometria de absorção atômica. No âmbito do processo de otimização, um design fatorial completo de dois níveis (2^4) foi utilizado para a avaliação preliminar de quatro fatores, envolvendo as variáveis: vazão de amostragem, vazão de eluição, concentração do tampão e pH. Esse planejamento mostrou que, para os níveis estudados, todos os fatores foram significativos. Em seguida aplicou-se a matriz de Doehlert no processo de otimização das variáveis. As condições experimentais estabelecidos foram: vazão de amostragem 8,0 mL mim $^{-1}$, vazão de eluição 10,0 mL mim^{-1}, pH 5,5, concentração de tampão 0,02 mol L^{-1} este sistema permite a determinação de cobre com um limite de detecção (LD) de 0,5 μg L^{-1} e limite de quantificação (LQ) de 1,66 μg L^{-1}, precisão expressa como o desvio padrão relativo (RSD) de 2,70 e 2,79%, utilizando a concentração de 5,0 e 20 μ L^{-1}, respectivamente, e um fator de pré-concentração de 33 para um volume de amostra de 50,0 mL. A exatidão foi confirmada por determinação de cobre no material de referência certificado, NIST 1573a Folhas de tomate e por testes de adição/recuperações de cobre variando entre 93-100%.

Palavras-chaves: Fibra de bambu, SPE, Especiação, cobre, vinho

ABSTRACT

In the current work, a mini-column Bamboo fiber impregnated with bathocuproine is proposed as pre-concentration system for copper speciation in dry white wines and determination in food samples by atomic absorption spectrometry. As part of the optimization process, a full factorial design of two levels (2^4) was used for the preliminary evaluation of four factors involving the variables of sample flow, elution flow, buffer concentration and pH. This planning has shown that, for the studied levels, all factors were significant. Then applied to Doehlert matrix of the variables in optimization process. The experimental conditions were established: 8.0 mL $mim^{-1}$of sample flow, elution flow rate 10.0 mL mim^{-1}, pH 5.5, buffer concentration 0.02 mol L^{-1} this system allows the determination of copper with a limit of detection (LOD) of 0.5 µg L^{-1} and the limit of quantification (LOQ) of 1.66 µg L^{-1}, precision expressed as relative standard deviation (RSD) of 2.70 and 2.79 % using a concentration of 5.0 to 20 µg L^{-1}, respectively, and a factor for pre-concentration of 33 to a volume of 50.0 mL. The accuracy was confirmed by determination of copper in the certified reference material, NIST 1573a tomato leaves and adding tests / copper recoveries ranging from 93-100%.

Keywords: bamboo fiber, SPE, Speciation, copper, wine

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS 4
LISTA DE TABELAS 6
LISTA DE ABREVIATURAS 7
RESUMO 8
ABSTRACT 9
1.0 INTRODUÇÃO 12
1.1 ESPECIAÇÃO 13
1.2 ESPECIAÇÃO DE COBRE EM VINHO 14
1.3 EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA APLICADA À DETERMINAÇÃO DE ÍONS COBRE 16
1.4 BIOADSORVENTES NATURAIS 17
1.4.1. FIBRA DE BAMBU (*BAMBUSA VULGARIS*) 18
1.5 REAGENTE BATOCUPROÍNA PARA DOSAGEM DE COBRE 19
1.6 OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA 20
1.7 PLANEJAMENTO FATORIAL DE DOIS NÍVEIS 20
1.8 PLANEJAMENTO DOEHLERT 20
2.0 PARTE EXPERIMENTAL 22
2.1 INSTRUMENTAÇÃO 22
2.2 MATERIAIS E REAGENTES 23
2.3 CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA 23
2.4 TRATAMENTO E IMPREGNAÇÃO DA FIBRA 24
2.5 SISTEMA DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO 24
2.6 OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA 25
2.7 PREPARO DA AMOSTRA 25
3.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO 26
3.1 CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA 26
3.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA 27
3.3 ESTUDO DO VOLUME DA AMOSTRA 27
3.4 OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA 28
3.4.1 PLANEJAMENTO FATORIAL DE DOIS NÍVEIS 28
3.4.2 APLICAÇÃO DO PLANEJAMENTO DOEHLERT 31
3.5 CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DO MÉTODO DESENVOLVIDO 33
3.6 ESPECIAÇÃO EM VINHOS 34
3.7 APLICAÇÃO EM AMOSTRAS SÓLIDAS 35
3.8 AVALIAÇÃO DA EXATIDÃO DO MÉTODO 36

3.9 TESTES DE SELETIVIDADE 39
4.0 CONCLUSÃO 40
5.0 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA 41

1.0 INTRODUÇÃO

O cobre é um elemento amplamente distribuído na natureza, encontra-se na tabela periódica localizado no quarto período e grupo 11, caracterizado como elemento de transição, possui massa atômica de 63,543 ± 0,003 g mol^{-1}e apresenta estados de oxidação (I) e (II). A configuração eletrônica de acordo com a tabela periódica para o cobre (I) é $[Ar]3d^{10}$ e cobre (II) $[Ar]3d^{9}$. O íon cobre (I) livre não é estável em soluções aquosas, tendendo a se desproporcionar em cobre (II) e cobre metálico na ausência de ligantes que o estabilizem [1]. A meia reação encontra-se abaixo.

$$2\ Cu^{+}_{(aq)} \longleftrightarrow Cu_{(s)} + Cu^{2+}_{(aq)} \qquad E^{o} = 0{,}37\ V$$

O cobre em seu estado puro é um metal maleável muito utilizado na fabricação de moedas, fios elétricos, tubulações e encanamentos de água quente, e em composição com outros metais para a produção de ligas e chapas metálicas. Os compostos de cobre são empregados na agricultura, no tratamento da água para controle de algas (sulfato de cobre pentahidratado), na preservação de madeira, couro e tecido e como aditivo em alimentos [1, 2].

O cobre é abundante na natureza na forma de sulfetos, arsenitos, cloretos e carbonatos. Está naturalmente presente na atmosfera por dispersão pelo vento e erupções vulcânicas. As principais fontes antropogênicas do metal são: mineração, fundição, queima de carvão como fonte de energia entre outras [3]. Pode ser encontrados em animais (ostras e mexilhões), plantas, alimentos e bebidas. No ar, o cobre geralmente é encontrado na forma de óxidos, sulfatos e carbonatos. As partículas, dependendo do tamanho, sofrem deposição seca ou são arrastadas pela água da chuva. O teor do metal em água potável está entre 0,005 e acima de 30 mg L^{-1}, dependendo das características da água, como pH e dureza.

Este metal está presente no dia-a-dia dos seres vivos, por fazer parte de uma alimentação balanceada, além de ser encontrado em todas as partes do organismo humano, inclusive nas funções enzimáticas [4]. O excesso desse metal devido a desordens metabólicas do organismo pode levar a ocasionar uma intoxicação no fígado por causa do acúmulo do metal que só é percebida na adolescência quando o fígado começa a necrosar, podendo evoluir o quadro para uma cirrose hepática, esse mal é conhecido como doença de Wilson

ocasionando danos irreversíveis e até a morte [5]. É importante saber o teor de cobre dos alimentos, principalmente para considerações nutricionais e tecnológicas. Em sistemas biológicos, o cobre é envolvido em reações de oxi-redução que são importantes para a vida. Devido ao seu potencial oxidante, o cobre pode causar alterações indesejáveis nos alimentos processados, relacionados com reações de escurecimento, oxidação lipídica e consequentemente perda de valor nutritivo [2].

1.1 ESPECIAÇÃO

A concentração total de um objeto de análise, não são dados suficientes para uma boa compreensão do comportamento do analito em um sistema em estudo, uma vez que as diferentes espécies que tenham o mesmo elemento químico não apresentam as mesmas características toxicológicas físicas e químicas. Este fato faz com que, estudos envolvendo especiação química sejam cada vez mais importantes para compreender a toxicidade, biotransformação, e seus efeitos sobre organismos vivos, entre outros [6].

Especiação é definido como a distribuição de um elemento nas suas espécies químicas, isto é, a sua composição isotópica, o seu estado de oxidação, e a natureza de quaisquer substituintes ligados covalentemente ou a formar complexos [7]. Assim, a IUPAC, definiu a especiação como a análise que possibilitar a separação, identificação e determinação dos diferentes estados de oxidação e/ou das distintas formas [8]. Atualmente, sabe-se que a determinação da concentração total de um elemento é uma informação limitada, especialmente sobre o seu comportamento no meio ambiente e os danos que pode causar à saúde.

Estudos realizados desenvolveram um procedimento analítico de especiação de Hg^{2+} e metil-Hg^{2+}, utilizando a extração no ponto nuvem e solventes extratores para cada uma das espécies químicas envolvidas em amostras de fruto do mar e determinação por ICP OES [9].

Um estudo comparativo do total de conteúdo e especiação geoquímica de sete metais de transição (Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn) nos sedimentos do rio San Diego de los Baños foi realizada através de um procedimento de extração sequencial e detectado por (ICP OES) [10].

Foram determinadas as concentrações isotópicas de cobre (II) por especiação, utilizando ligantes orgânicos naturais em águas do mar da Tasmânia, para compreender o ciclo biogeoquímico deste importante micronutriente no sistema marinho e analise por ICP-MS [11]. Trabalhos importantes na área de especiação utilizando técnicas cromatográficas foram desenvolvidos, como determinação multielementar e especiação Bário, Ferro, cálcio, Alumínio, Cobalto, Cobre, de folhas de chá preto utilizando a cromatografia por exclusão molecular acoplado ao ICP MS [12]. A espectrometria de absorção atômica foi utilizada na especiação de cobre, zinco e ferro em amostras de ervas medicinais [13].

A essencialidade e a toxicidade de uma espécie química dependem da quantidade que é ingerida, da forma físico-química e/ou do estado de oxidação da espécie presente na amostra. Em geral, a separação, identificação e a determinação das diversas espécies químicas sob as quais o elemento de interesse pode estar presente em uma amostra, permitem gerar informações capazes de compreender melhor as reações químicas e bioquímicas dos elementos nos organismos. Neste sentido diversas técnicas de detecção e quantificação estão sendo utilizadas no estudo de especiação, como as técnicas cromatográficas que são cromatografia gasosa (CG), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), e as técnicas não cromatográficas como espectroanalíticas [14] e eletroanalíticas entre outras [6, 8,15].

1.2 ESPECIAÇÃO DE COBRE EM VINHO

O vinho é uma das bebidas alcoólicas tradicionalmente mais consumidas no mundo, e uma das mais antigas produzida pelo homem, sua composição química é muito complexa: além de etanol, açúcares e ácidos orgânicos, contém taninos, substâncias aromáticas, corantes e microelementos [16].

Os elementos minerais presentes no vinho provêm, em grande parte das plantas via absorção radicular, verificando-se um constante enriquecimento durante a formação e maturação do fruto [17,18]. A concentração total de metais presentes nos vinhos é derivada de duas grandes fontes, a primeira delas, é a fonte natural, que corresponde à transferência dos metais existente no solo para o fruto através das raízes. A segunda é a fonte antropogênica que pode ser dividida em três subgrupos. O primeiro compreende o uso de

fertilizantes inorgânicos e orgânicos e de pesticidas utilizados na prática agrícola, o segundo está associado à poluição ambiental e trata-se da deposição do material particulado presente no ar sobre as uvas, e por fim a contaminação resultante do processo de vinificação [19].

A análise de especiação em vinho é de grande importância, para a caracterização da autenticidade e controle de qualidade da bebida. Os estudos relacionados à especiação química em vinhos consideram que fenômenos depreciativos da sua qualidade tais como turvações, precipitações e oxidações de substâncias indesejáveis durante a produção de vinho estar diretamente ligada ao estado de oxidação de algumas espécies metálicas presentes na bebida[18]. Numa matriz complexa como a do vinho, alguns elementos traço ocorrem como íons livres, outros como complexos de baixo peso molecular, ou como complexos macromoleculares. Assim, a especiação de metais associado à ligantes biológicos também é um assunto de interesse crescente, tendo em vista que a complexação pode reduzir sua toxicidade e biodisponibilidade [20].

Foi desenvolvido um sistema de pré-concentração em linha usando mini-coluna de EPU/BTAC, que foi utilizado para quantificação de chumbo livre e total em vinhos. Os resultados foram satisfatórios ficando abaixo do limite de quantificação para o chumbo [21].

Foi desenvolvido um procedimento analítico para o fracionamento e determinação de cobre, ferro e zinco em diferentes frações do vinho. Utilizaram a resina Amberlite XAD-8, para separação do Cu, Fe e Zn complexados com polifenóis, proteínas e polissacarídeos e a Dowex 50x8 condicionada com HNO_3 para promover a sorção das espécies lábeis Cu, Zn e Fe (II) e Fe (III) e condicionada com ácido tartárico para a sorção das espécies carregadas negativamente. Empregou-se também, a 1,10-fenantrolina para promover a complexação da espécie de Fe (II) livre em solução. Segundo os mesmo, os resultados demonstraram que 30 % do ferro está complexados com polifenóis e proteínas contidas no vinho e 5% apresenta-se associado a polissacarídeos. 50% do cobre está presente na forma de espécie lábil, mas também o cobre encontra-se ligado a complexos orgânicos como polifenóis, proteínas e 4-5 % complexados a polissacarídeos. Em relação ao Zn, mais de 60 % encontra-se na forma lábil carregada positivamente e 15 % estão ligados a complexos como o polifenóis [22, 23].

Como uma maneira de controlar a presença de macronutrientes, micronutrientes e os íons metálicos presentes no vinho. As regras devem ser seguidas pelos produtores para ganhar o direito de exportar para os mercados internacionais. A OIV – *Internationale de la vigne et du Vin* é o principal órgão de fiscalização no qual o Brasil e o Mercosul fazem parte da organização impondo limites máximos para o cobre de 1,00 mg L^{-1} [24].

1.3 EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA APLICADA À DETERMINAÇÃO DE ÍONS COBRE

O baixo teor e a complexidade das matrizes dificultam a quantificação direta dos analitos presentes em amostras seja sólidas ou líquidas. Sendo assim, elementos traços necessitam de técnicas de separação e pré-concentação para viabilização da determinação. Técnicas como extração em fase sólida (SPE), extração em fase líquida, extração no ponto nuvem (EPN), diminuem o efeito de matriz aumentando o fator de enriquecimento que permita a determinação do metal em uma faixa de concentração detectada por um equipamento de baixo custo entre outros fatores [25].

Métodos de extração em fase sólida se baseiam na sorção do analito sobre a superfície de um material sólido e sua re-extração com solvente apropriado podendo ser determinado por injeção ou aspiração. Os principais objetivos da SPE são a remoção de interferentes da matriz, a concentração e o isolamento dos analitos [26].

As fases sólidas, ou sorventes empregados em SPE, são similares àquelas utilizadas em cromatografia líquida em coluna, consequentemente, os mecanismos de separação também são similares. Os principais mecanismos são: adsorção, partição (fase normal e reversa), troca iônica e exclusão. Esses mecanismos estão associados a processos químicos, físicos e mecânicos que atuam durante a separação [27]. O suporte sólido ou adsorvente pode ser tratado ou modificado, com reagentes complexantes de forma que o analito seja retido, quando a solução contendo a amostra atravessar a coluna. Para eluição do metal é preciso utilizar ácidos concentrados para re-extração, devido a formação do complexo que dependem do pH do meio reacional [5].

De acordo com metodologias descritas na literatura existem vários reagentes orgânicos para extração e separação do cobre. Pesquisadores

utilizaram o negro de eriocromo T (EBT) na quantificação de Cu (II) em amostras de águas por extração em fase sólida usando espuma de poliuretano (PUF) [28]. Foram avaliados também o reagente 2-(2-tioazoliazo)-5-dimetilaminofenol (TAM) para determinação de Cu (II) em amostras de água [29] e alimentos [5], além de outros reagentes como 2,2'-Biquinolina (cuproína) [1] e batocuproína [30], sendo os dois últimos são reagentes seletivos para extração de cobre.

Neste sentido uma metodologia foi desenvolvida para especiação de cobre em vinhos brancos e determinação em alimentos usando extração em fase sólida com fibra de bambu (*Bambusa vulgares*) impregnada com o reagente orgânico batocuproína e determinação por FAAS.

1.4 BIOADSORVENTES NATURAIS

Diversos materiais adsorventes são empregados em método de extração em fase sólida, e a escolha de adsorvente natural depende da natureza do analito de interesse e da matriz em que ela se encontra.

O fenômeno de adsorção ocorre devido à presença de diversos grupos funcionais que constituem a biomassa, tais como celulose, polioses, proteínas e lignina. Assim, a adsorção resulta de interações eletrostáticas e também da formação de complexos entre íons metálicos e os grupos funcionais presentes na superfície celular, quando estes exibem alguma afinidade química pelo metal [44].

O termo adsorvente natural é designado a qualquer material que não seja produzido sinteticamente e que apresente propriedades adsortivas de espécies químicas de origem orgânica e inorgânica. Além disso, são consideradas matérias de fácil aquisição, e em alguns casos são tidos como subprodutos de processos industriais [15].

Os adsorventes lignocelulósicos como são conhecidos os resíduos de subprodutos industriais tais como resíduos de maçã, sabugo de milho, cascas de soja, coco, amedoim, fibras de sisal, bambu entre outros, sendo constituídos basicamente de celulose, hemicelulose e lignina. Esses materiais naturais possuem a habilidade adsorver íons metálicos a partir de grupos funcionais principalmente hidroxilas e carboxilas presentes na estrutura das macromoléculas [15].

1.4.1. FIBRA DE BAMBU (*BAMBUSA VULGARIS*)

Os bambus pertencem à família *Poaceae* e subfamília *Bambusoideae,* que está dividida em duas grandes tribos: bambus herbáceos e os lenhosos. Na América são 41 gêneros e 473 espécies, sendo que o Brasil possui a maior diversidade e endemismo entre os países da América com aproximadamente 234 espécies, das quais 155 são lignificadas e 75 herbáceos [44].

Os gêneros mais cultivados no Brasil são*: Bambusa, Dendrocalamus e Phyllostachys,* todos de origem asiática, trazidos pelos primeiros imigrantes e devido à boa adaptação ao clima tropical brasileiro, foram disseminados por todo o país [44].

As Fibras vegetais do bambu, por serem abundantes, de baixo impacto ambiental quando descartadas e apresentarem propriedades mecânicas, físicas e térmicas adequadas às aplicações na indústria, estão se tornando alternativas atrativas do ponto de vista econômico e principalmente ambiental.

A composição química do bambu se assemelha à da madeira, com exceção dos extratos alcalinos, cinzas e sílica que são maiores. Em geral, os principais constituintes químicos macromoleculares dos colmos são celulose (±55%), lignina (±25%) e hemicelulose (pentoses) (±20%), em menor escala, resinas, tanino (ácido tânico), as ceras e os sais orgânicos [44].

Figura 1. Árvore do Bambu (*Bambusa vulgaris*).

Figura 2. Transformação da árvore do bambu em fibras para o processo de EFS.

1.5 REAGENTE BATOCUPROÍNA PARA DOSAGEM DE COBRE

De acordo com a literatura, o cobre é um elemento amplamente analisados em suas quantidades traços. A análise de cobre em alimentos e bebidas é necessária, pois quantidades traços do elemento podem provocar alterações de aroma e sabor.

O reagente 2,9-dimetil-4,7-difenil-1,10-fenantrolina também conhecida como batocuproína, possui fórmula molecular $C_{26}H_{20}N_2$ e peso molecular 360,46. A batocuproína é um pó incolor ou amarelo pálido, com ponto de fusão de 278 ºC, que é recristalizado com benzeno. É insolúvel em água e etanol, mais é facilmente solúvel em solventes orgânicos mais comuns, tipo benzeno e clorofórmio. O reagente orgânico na presença de cobre forma um quelato estável do tipo CuL_2^{+}, na região do agrupamento cuproína utilizado para a complexação de cobre de acordo com a **Figura 3** [1].

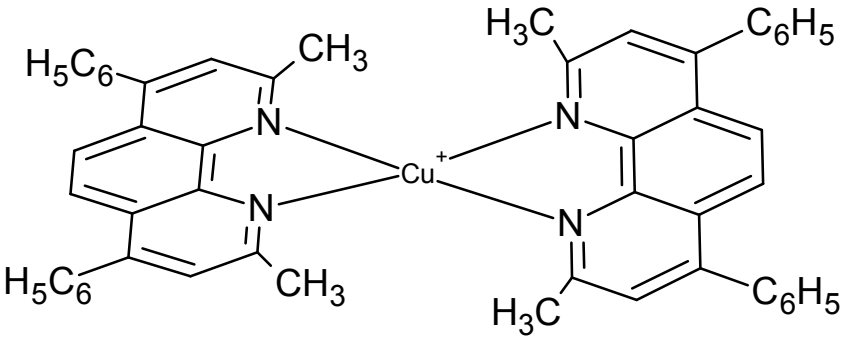

Figura 3. Formação do quelato cobre com o reagente 2,9-dimetil-4,7-difenil-1,10-fenantrolina.

1.6 OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA

A Quimiometria é uma área da ciência que se refere à aplicação de métodos estatísticos e matemáticos [31], para delinear ou selecionar a melhor resposta de métodos ou experimentos e fornecer as principais informações e dados relevantes de uma análise [32]. O modelo estatístico dos métodos multivariados considera a correlação entre muitas variáveis analisadas respectivamente, permitindo a extração de uma quantidade muito maior de informação com um número reduzido de experimentos. Logo, o planejamento multivariado permite resultados rápidos, econômicos, eficientes e precisos [5].

1.7 PLANEJAMENTO FATORIAL DE DOIS NÍVEIS

Em um planejamento fatorial são investigadas as influências de todos os fatores experimentais de interesse e os efeitos de interação na resposta. Se a combinação de *k* fatores é investigada em dois níveis, um planejamento fatorial completo exige a realização de 2 x 2 x ... x 2 = 2^k ensaios diferentes, sendo chamado de planejamento fatorial 2^k [33].

Para se fazer um estudo de níveis dos fatores ou variáveis utilizados no processo, é empregado códigos de sinais como (+) e (-). O primeiro interage com níveis superiores ou níveis máximos, o segundo níveis inferiores ou níveis mínimos e existe um último nível, (0) onde todas as variáveis interagem como o ponto médio dos níveis [5,34,35].

Planejamentos fatoriais de dois níveis são geralmente utilizados em investigações preliminares, quando se deseja saber se determinados fatores tem ou não influência sobre a resposta.

1.8 PLANEJAMENTO DOEHLERT

Dentre as matrizes multivariadas destaca-se o planejamento Doehlert onde seus pontos experimentais descrevem um domínio circular para duas variáveis, esférico para três e hiperesférico para mais de três variáveis os que acentuam a uniformidade no espaço envolvido sem obter sobreposição entre os hexágonos [32]. As suas matrizes não possuem ajuste de rotação, mas possuem algumas vantagens como necessidade de poucos pontos experimentais para sua aplicação e alta eficiência [34]. Embora o planejamento

não seja ortogonal, isto não significa perda da qualidade necessária para o seu uso efetivo nos procedimentos de otimização [36].

O planejamento Doehlert tem uma estrutura propícia para a aplicação de superfícies de resposta (MSR) permitindo a estimativa dos parâmetros do modelo quadrático e a construção de planejamentos sequenciais [37]. Os pontos da matriz Doehlert correspondem aos vértices de um hexágono gerado de um simplex regular e, em geral, o número total de pontos experimentais no planejamento é igual a k^2+k+pc,em que k é o número de fatores e pc é o número de experimentos no ponto central [5,32,35,38]. Uma importante propriedade do planejamento Doehlert diz respeito ao número de níveis que cada variável possui. Com quatro variáveis, por exemplo, o número de níveis é 5, 7, 7 e 3, o que permite avaliar as variáveis consideradas mais importantes, ou seja, que apresentam efeitos mais significativos em um número maior de pontos do espaço estudado [39].

O planejamento Doehlert mostra-se adequado e vantajoso por vários motivos: ele é facilmente aplicado as variáveis experimentais e necessita de poucos experimentos; permite a construção de planejamentos sequenciais em direção à região onde a resposta máxima é esperada, e a quantidade de níveis relacionados a cada fator pode ser selecionada de forma a obter maiores informações sobre os fatores mais significantes ou problemáticos [5,33].

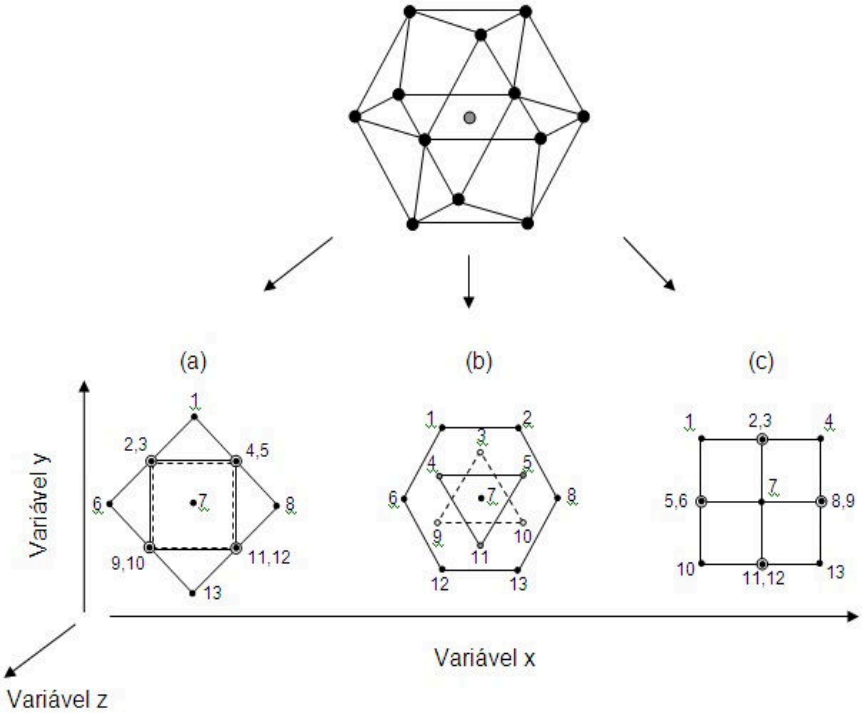

Figura 4. Três planejamentos gerados por diferentes projeções planas do sólido geométrico cuboctaedro: (a) e (b) Planejamentos Doehlert e (c) Planejamento Box-Benhken. Fonte [40]

2.0 PARTE EXPERIMENTAL

2.1 INSTRUMENTAÇÃO

Para o desenvolvimento deste trabalho, foram utilizados os seguintes equipamentos:

- Foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica com chama da Perkin Elmer Instruments (Norwalk, CT, USA) modelo AAnalyst 200, equipado com lâmpadas de cátodo oco. Os parâmetros instrumentais foram àqueles recomendados pelo fabricante. Utilizou-se comprimento de onda de 324,8 nm, para o cobre.
- Bloco digestor de 40 tubos, com controlador de temperatura, para o processo de digestão das amostras.
- Balança analítica (GEHAKA BK 200);
- Medidor de pH DIGIMED, modelo DM 20;
- Micropipetas (Transferpette - BRAND) e ponteiras (BRAND);
- Bomba peristáltica Alitea C-6 XV (Estocolmo, Suécia);
- Espectrum two, modelo Perkin Elmer
- Microscópio eletrônico de varredura, Shimadzu;

2.2 MATERIAIS E REAGENTES

Todos os reagentes utilizados para os experimentos foram de grau analítico. Água deionizada foi utilizada em todo o trabalho para fazer as soluções e lavagem das vidrarias. Utilizou-se para a experimentação tubos Falcon e balões volumétricos de 50,00 mL que foram descontaminados em ácido nítrico a 10% durante vinte e quatro horas e posteriormente secos em ambiente livre de poeira.

As seguintes soluções foram também utilizadas:

a) Soluções padrões de cobre. As soluções foram preparadas através de diluições da solução concentrada de metais da marca (Merck) de 1000 µg mL^{-1} às concentrações desejadas.
b) Solução de cloreto de hidroxilamina a 0,5, 1,0, 1,5, 2,0% (m/v). Foram preparadas pelas dissoluções de 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 g de hidroxilamina em 100 mL de água deionizada.
c) Solução de ácido clorídrico 1,0 $mol.L^{-1}$. Foi preparado pela diluição de 84 mL de HCl concentrado em 1000 mL de água deionizada.

As soluções de tampão ácido acético/acetato de sódio (pH 3 - 5,5) e fosfato de sódio (pH 6,0 - 8,0). Foram preparadas para os valores de pH: 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0.

- ✓ Solução tampão acetato de pH 4,0, 4,5, 5,0 e 5,5. Preparada a partir de acetato de sódio nas devidas concentrações e com o pH final ajustado com solução de NaOH 1,0 mol L^{-1} ou HCl (PA);
- ✓ Solução tampão fosfato de pH 6,0 e 6,5. Preparadas a partir de fosfato de sódio nas devidas concentrações e com o pH final ajustado com solução de NaOH 1,0 mol L^{-1} ou HCl (PA);
- ✓ Solução tampão fosfato de pH 7,0. Preparadas a partir de fosfato de sódio nas devidas concentrações e com o pH final ajustado com solução de NaOH 1,0 mol L^{-1} ou HCl (PA);

2.3 CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA

Os espectros de absorção do infravermelho foram obtidos utilizando um espectrum two, modelo Perkin Elmer, por inserção direta da fibra *in natura*. Um

microscópio eletrônico de varredura, modelo Shimadzu foi utilizado para obter as micrografias da fibra *in natura* de bambu.

2.4 TRATAMENTO E IMPREGNAÇÃO DA FIBRA

A fibra de sisal foi adquirida na cidade de Cruz das Almas, Bahia e foi triturada em moinho de bolas. A mesma foi submetida ao processo de descontaminação utilizando ácido nítrico (HNO_3) 0,50 mol L^{-1}, sobre agitação por 4 horas, em seguida, lavada exaustivamente até o pH neutro. Uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,10mol L^{-1}, foi utilizada para condicionamento da mesma. Secada em estufa por 24 horas a temperatura de 70 a 90 °C e por fim peneirada, em sistema de peneira de 35, 80, 100, 200 Mesh. A impregnação foi feita deixando-a em repouso em uma solução a 10% (m/v) de 2,9-dimetil-4,7-difenil-1,10-fenantrolina em dioxano em temperatura ambiente até a evaporação completa da solução.

2.5 SISTEMA DE PRÉ-CONCENTRAÇÃO

O sistema em fluxo foi operado em um modo com base em volume, onde 50,00 mL da solução foi bombeado a 8,0 mL min^{-1}, utilizando uma bomba peristáltica equipado com tubos de tygon, sendo submetido a uma percolação através de uma minicoluna com fibra de bambu impregnada com batocuproína, a pré-concentração do íon cobre (I) ocorre, por sorção química na forma de batocup-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

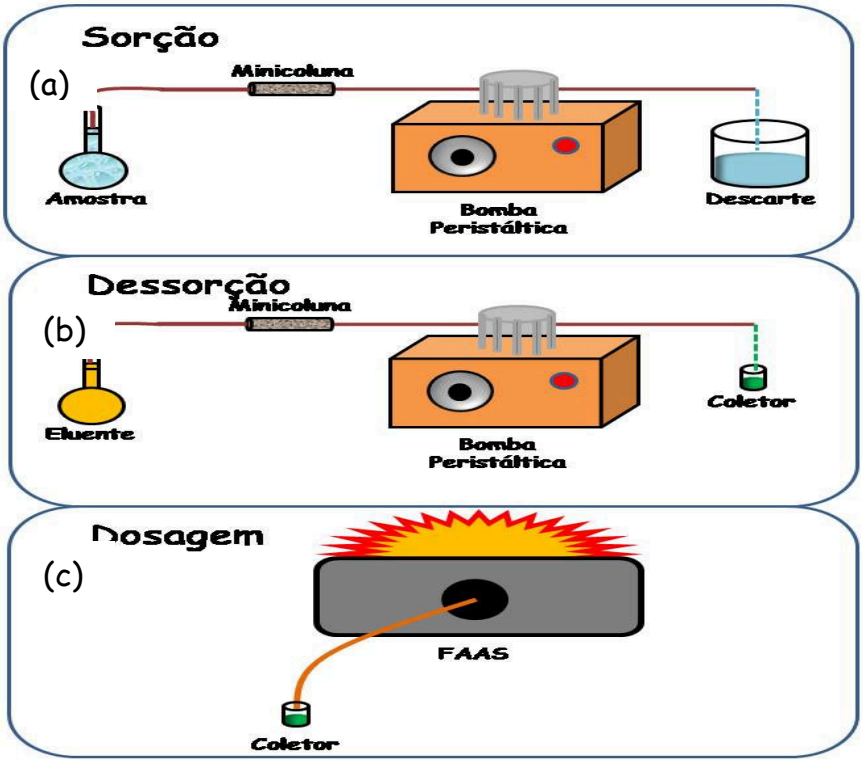

Figura 5. Sistema de Pré-concentração em fase sólida utilizado para extração *offline* de cobre: (a) Sorção do analito sobre o suporte sólido, (b) Dessorção do analito com eluente adequado, (c) Técnica de detecção para quantificação do analito.

2.6 OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA

Um planejamento fatorial de 2^4, com 19 análises foi aplicado para se avaliar as variáveis mais significativas que influenciam no processo de extração e pré-concentração do sistema [31]. Neste sistema de pré-concentração foram estudados quatro fatores: vazão de eluição, vazão de amostragem, concentração do tampão e pH,

A metodologia de análise de superfícies de respostas pode ser executada para otimização dos experimentos. Como matriz experimental utilizou-se o planejamento Doehlert para otimização das quatro variáveis utilizados no processo de extração e pré-concentração em fase sólida utilizando biomassa de bambu como material adsorvente, gerando-se assim as superfícies de resposta do procedimento realizado utilizando como ferramenta estatística o programa ESTATISTICA.

2.7 PREPARO DA AMOSTRA

As amostras de alimento e vinhos utilizadas para a aplicação do método foram obtidas na feira livre e no comércio da cidade de Jequié-Bahia. Foram pesadas massas de 0,3 g para as amostras sólidas, 0,1 g para amostras

certificadas e 25,00 mL para amostras líquidas para digestão e 40,00 mL para o procedimento sem digestão. Para as amostras sólidas foi aplicada a digestão em tubo aberto tratada com 2,0 mL de ácido nítrico e 1,0 mL de peróxido de hidrogênio 2:1 (v/v), por 4 horas em uma temperatura de 80 ºC. Para o vinho utilizou-se 3 mL de ácido nítrico e 3,0 mL de peróxido de hidrogênio por 5 horas em uma temperatura de 100 ºC até o volume mínimo. Alíquotas de 40, 00 mL de vinho foram medidas, acrescidas de 1,00 mL de cloridrato de hidroxilamina e completado até 50,00 mL com tampão acetato de sódio para o processo de pré-concentração sem digestão. Após as amostras digeridas atingirem a temperatura ambiente, estas foram ajustadas até o pH 5,5 com NaOH a 4 $mol.L^{-1}$ e em seguida completado com tampão acetato de sódio até o volume de 50,0 mL para posterior pré-concentração. O branco foi utilizado para avaliar a contaminação no processo de preparação da amostra, no processo de digestão ou no ajuste de pH das amostras.

3.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA

A espectroscopia de infravermelho é uma técnica bastante importante, aplicadas para elucidar grupos funcionais presentes nos bioadsorventes.

O espectro FT-IR, ilustrado na **Figura 6**, apontam os principias grupos funcionais presentes nas superfícies da biomassa da fibra de bambu.

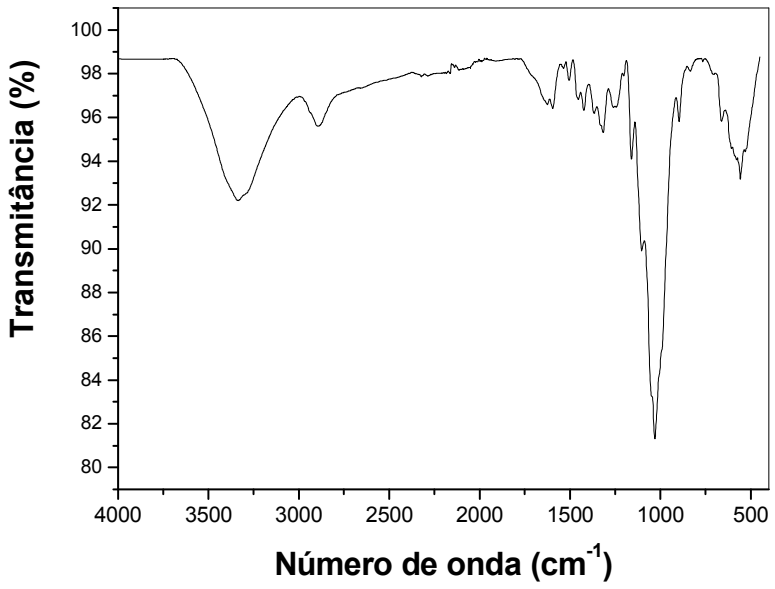

Figura 6. Espectro de Infravermelho da fibra de bambu.

A banda larga centrada em 3332,65 cm^{-1} presente no espectro indica a presença de bandas de O-H [41], e ao estiramento N-H de amidas [42] devido ao elevado conteúdo de proteínas, carboidratos, ácidos graxos, lignina e celulose.

A banda em cerca de 2915 a 2895 cm^{-1} pode ser atribuída no espectro, à vibração de estiramento assimétrico e simétrico da ligação C-H do grupo CH_2. Em 1700 a 1625 cm^{-1} é referente ao estiramento C=O de ácidos graxos. Uma banda fraca em 1317 cm^{-1} e uma intensa 1030 cm^{-1} está associada a uma combinação do estiramento de C-O e a deformação angular de OH.

3.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Na **Figura 7**, apresenta fotos tiradas através da microscopia eletrônica de varredura de imagens (MEV). O MEV caracteriza a morfologia da superfície do material adsorvente, a fibra de bambu.

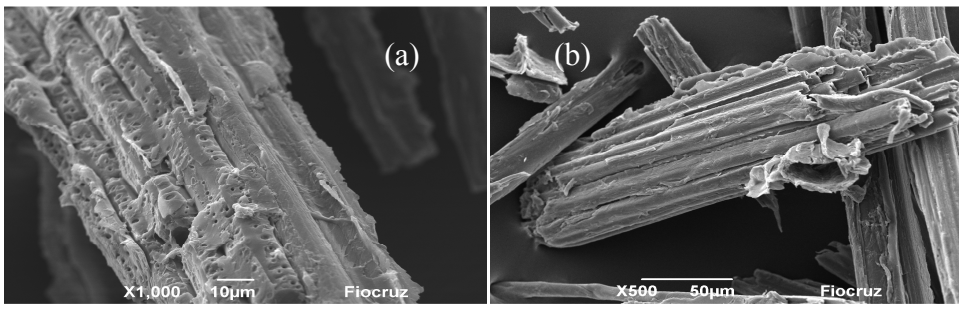

Figura 7: Microscopia eletrônica de varredura da fibra in natura de bambu.

Os interstícios porosos da fibra provam a pequena capacidade adsortiva do material, sendo que íons metálicos não se fixam com facilidade nas superfícies irregulares do adsorvente. Desse modo, foi utilizado um reagente orgânico no processo de impregnação da fibra, a batocuproína, para que haja a capacidade de complexação dos íons cobre .

3.3 ESTUDO DO VOLUME DA AMOSTRA

Foi aplicado um estudo preliminar do volume no processo de pré-concentração, a fim de se obter as melhores respostas de extração utilizando o sistema.

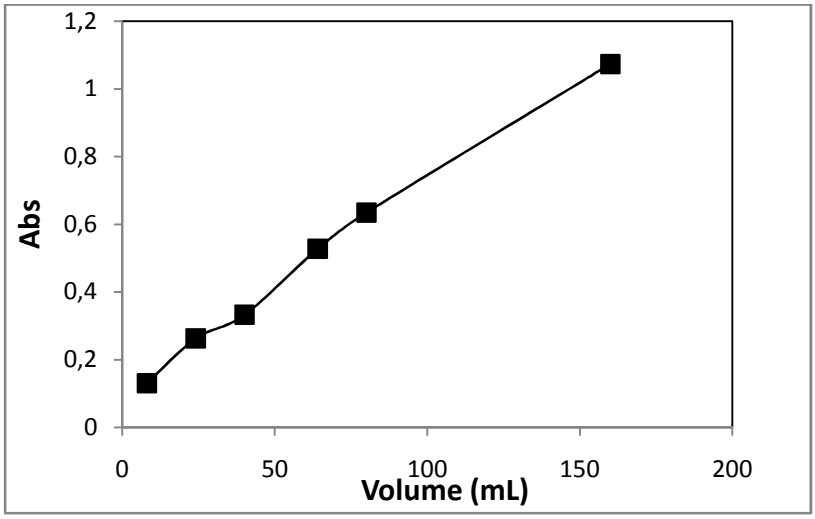

Figura 8.Volumes estudados da amostra em relação com a resposta analítica.

De acordo com a **Figura 8**, quanto maior o volume de amostra, melhor o sinal analítico, contudo foi escolhido um volume de amostragem de 50 mL, devido ao fato de que volumes maiores acarretariam na diminuição da freqüência analítica, tornando-se assim um processo demorado e custoso.

3.4 OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA

3.4.1 PLANEJAMENTO FATORIAL DE DOIS NÍVEIS

No processo de desenvolvimento dos experimentos, aplicou-se o planejamento fatorial 2^K para se determinar a princípio uma interação entre as variáveis utilizadas no processo. O planejamento utilizado foi 2^4, no qual os fatores utilizados foram pH, concentração do tampão, volume de eluição e vazão de amostragem. Ao todo foram 19 ensaios utilizados no processo incluindo-se o ponto central. O ponto central foi corrido pelo sistema em triplicata para possibilitar uma estimativa do erro.

Este tipo de planejamento é muito utilizado, para se obter resultados preliminares a respeito do tipo de influência existente entre os ensaios e a resposta. Os valores dos níveis altos e baixos são apresentados na **Tabela 1**. Os valores dos níveis máximos e mínimos foram escolhidos de acordo com experimentos prévios.

Tabela 1. Níveis das variáveis no planejamento fatorial 2^4.

Símbolo	Variável	Nível Inferior (-)	P. Central (0)	Nível Superior (+)
VA	Vazão de amostragem (mL mim^{-1})	2,0	5,0	8,0
VE	Vazão de eluição (mL mim^{-1})	2,0	5,0	8,0
CT	Concentração tampão (mol L^{-1})	0,025	0,5	1,0
pH	pH	4,0	5,0	6,0

Na **tabela 2** apresenta o tipo de planejamento fatorial de dois níveis com valores codificados, decodificados, variáveis e resultados a serem analisados.

Tabela 2. Matriz e resultados do planejamento fatorial 2^4 para pré-concentração de Cu (I) = 200 µg L^{-1} .

Exp	pH	VA	VE	CT mol/L	ABS
1	4(-)	2(-)	2(-)	0,025(-)	0,444
2	6(+)	2(-)	2(-)	0,025(-)	0,517
3	4(-)	8(+)	2(-)	0,025(-)	0,502
4	6(+)	8(+)	2(-)	0,025(-)	0,602
5	4(-)	2(-)	8(+)	0,025(-)	0,489
6	6(+)	2(-)	8(+)	0,025(-)	0,626
7	4(-)	8(+)	8(+)	0,025(-)	0,577
8	6(+)	8(+)	8(+)	0,025(-)	0,490
9	4(-)	2(-)	2(-)	1,00(+)	0,257
10	6(+)	2(-)	2(-)	1,00(+)	0,382
11	4(-)	8(+)	2(-)	1,00(+)	0,239
12	6(+)	8(+)	2(-)	1,00(+)	0,362
13	4(-)	2(-)	8(+)	1,00(+)	0,248
14	6(+)	2(-)	8(+)	1,00(+)	0,389
15	4(-)	8(+)	8(+)	1,00(+)	0,392
16	6(+)	8(+)	8(+)	1,00(+)	0,406
17	5(0)	5(0)	5(0)	0,50(0)	0,396
18	5(0)	5(0)	5(0)	0,50(0)	0,406
19	5(0)	5(0)	5(0)	0,50(0)	0,406

VA(vazão de amostragem) VE (vazão de eluição) CT(concentração do tampão)

Avaliando-se os resultados obtidos, foi plotado o gráfico de pareto **(Figura 9),** para avaliar a significância das variáveis em relação às respostas obtidas no processo de pré-concentração de Cu (I).

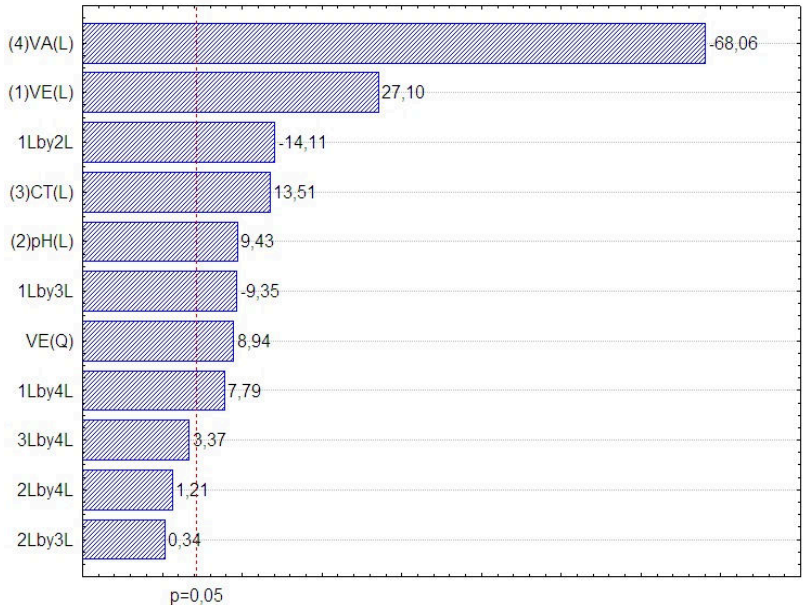

Figura 9: Gráfico de Pareto do planejamento fatorial de dois níveis no processo de pré-concentração de cobre.

Os valores observados no gráfico revela, que todas as variáveis utilizadas no processo de otimização (pH, VA, VE e CT), são significativas para o processo de extração e pré-concentração de cobre (I). A linha vermelha tendência os resultados no sentido que após a ultrapassagem da mesma ($p>0,05$) os valores possuem influência na resposta analítica.

A variável de maior significância é a vazão de amostragem (VA), confirmada pelo gráfico de pareto. Neste caso, pode se observar que o valor de referência do gráfico é negativo, informando assim que em vazões menores os sinais de resposta são maiores. Esta variável controla o fluxo da massa do analito que passa pela coluna em função do volume da amostra. Quando não existe um volume de permanência suficiente para que haja complexação do analito pelo extrator sólido, há um decréscimo no sinal analítico, porém quando o volume é extremamente grande, o sinal analítico tende a cair, pelo motivo de haver lixiviação do metal pela própria coluna.

O segundo fator significativo foi a vazão de eluição da amostra (VE), esta variável controla a velocidade de HCl que passa na coluna para desfazer o complexo e remover o metal da fase sólida. Outra variável significativa foi a concentração do tampão (CT) este fato pode estar associado à formação do complexo $Cu(batocup)_2^+$ que indica, através do valor de referência que quanto maior for a concentração do tampão, melhor será a resposta.

O pH também é bastante significativo, este fator pode ser correlacionado com a concentração do tampão, ambos fatores são importantes para o estudo de complexação do metal cobre com o reagente batocuproína, se não houver um pH que se identifique para a formação do quelato estável através da constante de equilíbrio entre o metal e o reagente, não haverá retenção do analito e assim o sistema de pré-concentração não ocorrerá, sendo que sua significância foi positiva indicando que em uma faixa de pH maiores melhor é a resposta analitica [5].

3.4.2 APLICAÇÃO DO PLANEJAMENTO DOEHLERT

O estudo preliminar utilizando o fatorial de dois níveis mostraram que as variáveis estudadas foram significativas, necessitando de um processo de otimização que tenha uma maior interação entre os fatores e as quantidades de níveis relacionados, a fim de obter as regiões de resposta máxima para cada variável estudada. O planejamento foi aplicado para todas as variáveis (, VA, VE, CT e pH), envolvidas no planejamento fatorial de dois níveis.

Tabela 3. Matriz do planejamento Doehlert com valores codificados e decodificados para Cu(I) = 200 μg L^{-1}.

Exper.	(VE) $mL.min^{-1}$	(pH)	CT($mol.L^{-1}$)	(VA) $mL.mim^{-1}$	Abs
1	8,0 (0)	5,5 (0)	0,14(0)	10 (+0,791)	0,500
1.1	8,0 (0)	5,5 (0)	0,14(0)	10 (+0,791)	0,366
1.2	8,0 (0)	5,5 (0)	0,14(0)	10 (+0,791)	0,454
2	10 (+1,0)	5,5 (0)	0,14(0)	10 (+0,791)	0,689
3	9,0 (+0,5)	7,0 (+0,866)	0,14(0)	10 (+0,791)	0,350
4	9,0 (+0,5)	6,0 (+0,289)	0,26(+0,817)	10 (+0,791)	0,417
5	9,0 (+0,5)	6,0 (+0,289)	0,18(+0,204)	12 (+0,791)	0,411
6	6,0 (-1,0)	5,5 (0)	0,14(0)	10 (0)	0,435
7	7,0 (-0,5)	4,0 (-0,866)	0,14(0)	10 (0)	0,386
8	7,0 (-0,5)	5,0 (-0,289)	0,02(-0,817)	10 (0)	0,425
9	7,0 (-0,5)	5,0 (-0,289)	0,10(-0,204)	8 (- 0,791)	0,442
10	9,0 (+0,5)	4,0 (-0,866)	0,14(0)	10 (0)	0,358
11	9,0 (+0,5)	5,0 (-0,289)	0,02(-0,817)	10 (0)	0,454
12	9,0 (+0,5)	5,0 (-0,289)	0,10(-0,204)	8 (- 0,791)	0,456
13	7,0 (-0,5)	7,0 (+0,866)	0,14(0)	10 (0)	0,352

14	8,0 (0)	6,5 (+0,577)	0,02(-0,817)	10 (0)	0,500
15	8,0(0)	6,5 (+0,577)	0,10(-0,204)	8 (- 0,791)	0,492
16	7,0(-0,5)	6,0 (+0,289)	0,26(+0,817)	10 (0)	0,406
17	8,0(0)	4,5 (-0,577)	0,26(+0,817)	10 (0)	0,383
18	8,0(0)	5,5 (0)	0,22(+0,613)	8 (-0,791)	0,361
19	7,0(-0,5)	6,0 (+0,289)	0,18(+0,204)	12 (+0,791)	0,435
20	8,0(0)	4,5 (-0,577)	0,18(+0,204)	12 (+0,791)	0,395
21	8,0(0)	5,5 (0)	0,06(-0,613)	12 (+0,791)	0,389

Foram geradas as superfícies de resposta, a partir dos dados da **Tabela 3** do planejamento Doehlert, que pode ser observada na **Figura 10**.

De acordo com os resultados obtidos do planejamento, os pontos ótimos não foram descrito utilizando equações matemáticas para descrever os valores máximos e mínimos do planejamento, porque de acordo com a **Figura 10 (a)** da superfície de resposta, apresenta um ponto de sela. O ponto de sela representa o ponto de inflexão entre o máximo relativo a uma variável e o mínimo relativo à outra variável. Se a intenção for obter uma resposta máxima ou mínima de um sistema, as coordenadas do ponto de sela não servem como valores ótimos [40]. **Figura 10 (b)**. A inspeção visual através das curvas de níveis permitiu a avaliação das melhores condições operacionais para o processo de otimização das quatro variáveis [43]. Assim pela superfície pode-se observar que as regiões mais avermelhadas podem ser as de melhores condições operacionais para o sistema de pré-concentração do Cu (I)**.**

(a) (b)

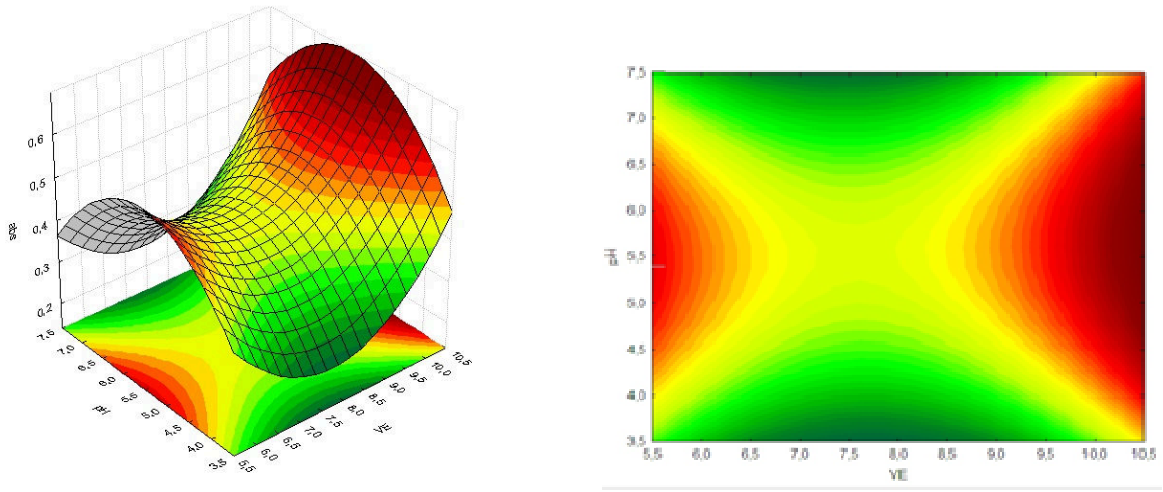

Figura 10. (a) superfície de resposta (b) curva de nível da variação do pH (B) e do vazão de eluição (A) e tendo como resposta analítica a absorbância.

Com os resultados baseados nas superfícies de resposta e nas curvas de níveis obtidas no planejamento Doehlert, as variáveis envolvidas no processo foram otimizadas, sendo que seus valores de respostas máximas foram: Vazão de amostragem 8,00 mL min^{-1}, pH 5,5, concentração do tampão 0,02 $mol.L^{-1}$, vazão de eluição em torno de 10,00 mL mim^{-1}.

3.5 CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DO MÉTODO DESENVOLVIDO

As curvas analíticas (**Tabela 4**) foram feitas baseadas na metodologia aplicada para o processo de extração e pré-concentração obedecendo à linearidade da Lei de Beer. As curvas foram feitas para as diferentes amostras. Para os vinhos fez-se uma curva com concentração alcoólica de15% (v/v), e para amostra sólida aplicou-se uma curva convencional.

Tabela 4. Curvas analíticas e coeficiente linear do método de extração/pré-concentração.

Calibração	Equação	R^2
Aquosa	[1]Abs = 0,003 [Cu (I) µg L^{-1}] - 0,003	0,998
	[2]Abs = 9 x10^{-5} [Cu (I) µg L^{-1}] - 0,0001	
Alcoólica	[1]Abs = 0,0024 [Cu (I) µg L^{-1}] - 0,003	0,997
	[2]Abs = 0,0002 [Cu (I) µg L^{-1}] - 0,001	

[1] com pré-concentração [2] sem pré-concentração

As características analíticas estão expressas na **Tabela 5**, onde os parâmetros analíticos foram calculados.

Tabela 5. Características analíticas do método desenvolvido para extração e pré-concentração de Cobre.

Parâmetros de Desempenho	Cobre
Fator de Enriquecimento (FE)	33,33
Limite de Detecção (LD) (µg L^{-1})	0,50
Limite de Quantificação (LQ) (µg L^{-1})	1,66
Desvio Padrão relativo (RSD%) (5 e 20 µg L^{-1})	2,70 e 2,79

3.6 ESPECIAÇÃO EM VINHOS

A metodologia aplicada para especiação de cobre utilizou-se soluções com potencial redutor para a conversão do cobre (II) em cobre (I). De acordo com algumas propriedades de espécies redutoras que levam mais tempo para se deteriorar, foi feito testes de possíveis redutores a fim de se obter melhores respostas e ser suficientemente estável.

Tabela 6. Efeito da natureza dos redutores para uma concentração de Cu (I) = 200 µg L-1 e pH 5,5.

Redutores 1,5% (m/v)	Resposta (abs)
Hidroquinona	0,763
Bissulfito de Sódio	0,739
Cloridrato Hidroxilamina	0,800
Acido ascórbico	0,720

Pelos resultados obtidos na **Tabela 6**, observa-se que os potenciais redutores são próximos. Porém tanto a hidroquinona quanto o ácido ascórbico mudam de coloração rapidamente com passar do tempo. Pelos resultados obtidos o cloridrato de hidroxilamina além de obter melhor resposta para o

estudo, a solução se dissolve com facilidade em água e sua durabilidade é eficiente.

Para que ocorra o processo de especiação, foi feito a determinação total de cobre em amostras de vinho utilizando o método com/sem digestão e posterior pré-concentração. Por diferença de quantificação das concentrações do cobre total e do cobre Inorgânico, obtêm-se cobre na forma organometálica de acordo com a **Tabela 7**.

Tabela 7. Especiação de cobre em amostras de vinhos brancos.

Marca	Origem	$Cobre_{Total}$ ($\mu g\ L^{-1}$)	$Cobre_{Inorgânico}$ ($\mu g\ L^{-1}$)	$Cobre_{complexado}$ ($\mu g\ L^{-1}$)
A	Argentina	35,7±1,2	11,11± 0,6	24,50±1,8
B	Portugal	17,3±1,2	5,20 ± 0,6	12,17±1,5
C	Brasil	23,7±1,2	8,66 ± 0,6	15,00±1,0
D	Brasil	16,3±1,2	4,70 ± 0,6	11,70±1,8
E	Brasil	26,3±1,2	2,30 ± 0,6	24,00±1,0
F	Chile	18,3 ± 1,1	3,17 ± 0,6	15,17± 1,5

3.7 APLICAÇÃO EM AMOSTRAS SÓLIDAS

As amostras de alimento obtidas na cidade de Jequié foram tratadas pela metodologia de digestão e foram quantificadas no espectrômetro de absorção atômica com chama (FAAS) e no Espectrômetro de emissão ótica com plasma indutivamente (ICP OES). O teste “t” ou *student* para um nível de confiança de 95% foi aplicado para a comparação de dois métodos diferentes, obtendo-se resultados abaixo do “t” crítico evidenciando assim a proximidade dos valores das concentrações obtidas das seguintes amostras **(Tabela 8).**

3.8 AVALIAÇÃO DA EXATIDÃO DO MÉTODO

Exatidão do método é definida como sendo a concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceito como convencionalmente verdadeiro. A exatidão, quando aplicada a uma série de resultados de ensaio, implica numa combinação de componentes de erros aleatórios e sistemáticos. Para validação do método analítico, utilizou-se a comparação entre técnicas analíticas, testes de adição recuperação e a análise de material certificado. Na **Tabela 9 e 10** estão os resultados da adição recuperação das amostras de alimentos e vinhos.

Tabela 8. Determinação de Cobre em amostras de alimento utilizando diferentes técnicas de detecção.

Amostra	FAAS ($\mu g\ g^{-1}$)	ICP OES ($\mu g\ g^{-1}$)
Farinha Santo Antônio	1,26 ± 0,32	1,17 ± 0,02
Farinha Irajuba	0,75 ± 0,1	0,73 ± 0,02
Farinha de milho	0,33 ± 0,03	0,32 ± 0,01
Farinha Mata	0,96 ± 0,1	1,03 ± 0,02
Cominho	2,1 ± 0,5	---
Orégano	2,24 ± 0,3	---
Coentro seco	3,15 ± 0,7	---
Farinha de Milho	0,65 ± 0,1	---
Fubá	0,61± 0,001	---

Utilizou-se a metodologia desenvolvida para amostras de alimento utilizando método proposto em alimentos como: de farinha de mandioca de algumas regiões da Bahia, farinha de milho, orégano, coentro seco e fubá. estão estando dentro dos limites aceitos para recuperações. Os resultados são mostrados na **Tabela 9**. Pode-se notar que o conteúdo de cobre nas amostras varia entre 0,89 a 5,17 $\mu g\ g^{-1}$. As recuperações de cobre nas amostras provaram que este método não é afetado por efeito de matriz e pode ser aplicado satisfatoriamente para amostras de alimento.

Tabela 9. Determinação de cobre em amostras de alimento utilizando o método proposto.

Amostra	Adicionado ($\mu g\ g^{-1}$)	Encontrado ($\mu g\ g^{-1}$)	Recuperação (%)
Farinha Santo Antônio	0,0	1,28 ± 0,4	-
	1,67	2,83 ± 0,8	93,3
	3,33	4,33 ± 0,4	91,6
Farinha Irajuba	0,0	1,56 ± 0,4	-
	1,67	3,22± 0,4	100
	3,33	5,17 ± 0,4	108
Farinha de milho	0,0	1,17 ± 0,4	-
	1,67	2,83 ± 0,4	100
	3,33	4,33 ± 0,4	95,0
Farinha Mata	0,0	1,44 ± 0,4	-
	1,67	3,00 ± 0,4	106
	3,33	4,61 ± 0,4	96
Cominho	0,0	0,89± 0,4	-
	1,67	2,67 ± 0,4	93,0
	3,33	4,11 ± 0,4	95,3

Utilizou-se também a metodologia desenvolvida para amostras de bebida especificamente vinho, utilizando método proposto estando dentro dos limites aceitos para recuperações. Os resultados são mostrados na **Tabela 10**. Pode-se notar que o conteúdo de cobre nas amostras de vinho varia entre 16,0 a 53,0 $\mu g\ L^{-1}$. As recuperações de cobre nas amostras provaram que este método também não é afetado por efeito de matriz e pode ser aplicado satisfatoriamente para amostras de vinhos.

Tabela 10. Determinação de cobre em vinhos pelo método proposto.

Vinhos Digeridos	Adicionado ($\mu g\ L^{-1}$)	Encontrado ($\mu g\ L^{-1}$)	Recuperação %
A	0,0	31,0 ± 1,2	--
	10,0	41,0 ±1,2	100
	20,0	53,0 ± 1,2	110
B	0,0	16,0 ± 1,2	--
	10,0	25,0 ± 1,2	90
	20,0	38,0 ± 1,2	110
C	0,0	24,0±1,2	--
	10,0	33,0±1,2	90
	20,0	43,0±1,2	95
D	0,0	16,0±1,2	--
	10,0	27,0±1,2	110
	20,0	35,0±12	95
E	0,0	21,0±1,2	--
	10,0	31,0±1,2	100
	20,0	43,0±1,2	110

O cobre foi determinado no material de referência certificado folhas de tomate NIST 1573a. O resultado obtido pelo uso do procedimento proposto encontra-se na **Tabela 11**.

Tabela 11. Resultado obtido para o material de referência analisado através do método proposto.

Material certificado	Valor certificado ($\mu g\ g^{-1}$)	Valor encontrado ($\mu g\ g^{-1}$)
Folhas de tomate NIST 1573ª	4,70 ± 0,14	4,70 ± 0,2

Segundo os órgãos de fiscalização do Ministério da Agricultura, Anvisa e a organização internacional da vinha e do vinho (OIV), os valores encontrados de cobre tanto para alimentos quanto para vinhos, foram menores que o limite máximo aceitável em torno de 30 e 1,0 mg L^{-1}.

3.9 TESTES DE SELETIVIDADE

A seletividade do método foi testada, fazendo-se um estudo de cátions e ânions interferentes que possam estar presentes na matriz da amostra. O sistema de pré-concentração de cobre (I) com o reagente batocuproína impregnado na fibra de bambu, foi testado adicionando-se 5000 $\mu g.L^{-1}$ de uma solução multielementar dos íons e cátions em uma solução de 200 $\mu g.L^{-1}$ de cobre (I) na presença do redutor cloridrato de hidroxilamina e tampão acetato de sódio em pH 5,5. A seletividade foi analisada através da resposta do sinal analítico variando-se ± 10%. Na **Tabela 12** estão os cátions e ânions estudados no sistema e que não causam interferência ao Cu (I).

Tabela 12. Interferentes estudados no sistema de pré-concentração

Cátions	**$\mu g\ L^{-1}$**	**Ânions**
Fe (II), Co (II), Ni (II), Pb (II), Zn (II) Cd (II),	5000	SO_4^{2-}, Cl^-, CO_3^{2-}, NO_3^-

Cobre = 200 ($\mu g\ L^{-1}$)

4.0 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos, é possível afirmar a viabilidade do desenvolvimento de método analítico para determinação de cobre em alimentos e especiação em vinhos brancos utilizando extração em fase sólida com fibras de bambu impregnadas com Batocuproína empregando FAAS.

Foram obtidos satisfatórios parâmetros analíticos como fator de enriquecimento, limite de detecção e limite de quantificação nos quais evidenciam a eficiência do método proposto. Além disso, Através da caracterização do infravermelho e da microscopia eletrônica de varredura pôde-se evidenciar a estrutura do adsorvente.

A determinação do cobre em amostras de alimentos e vinho não apresentaram contaminação, de acordo com as normas estabelecidas pela *OIV*, com concentrações dentro do limite aceitável de até 1,00 mg L^{-1} para o vinho e a ANVISA com limites aceitáveis para o cobre em alimento de 5 - 30 mg/kg.

5.0 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

[1] DANTAS, A. F. **“ Avaliação da 2,2’-Biquinolina na separação, preconcentação e determinação de cobre por espectrofotometria de absorção molecular em solução e em fase sólida.”** 2004. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Universidade Federal da Bahia. UFBA. Salvador. 2004.

[2] FERREIRA, K.; GOMES, J. C.; CHAVES, J. B. C. Copper content of commonly consumed food in Brazil. **Food Chemistry**, v. 92, n. 1, p. 29–32, 2005.

[3] TOBIASZ, A.; WALAS, S. Solid-phase-extraction procedures for atomic spectrometry determination of copper. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 62, p. 106–122, 2014.

[4] FAQUIM, E. D. E. S. **Estudo da determinação de cobre por análise por diluição isotópica subestequiométrica**. 1994. Dissertação (Tecnologia Nuclear) - Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares. Universidade de São Paulo. 1994.

[5] BEZERRA, M. A. **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**. 2003. Dissertação (Química Analítica) - Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química. 2003.

[6] SILVA, E. G.; MATAVELI, L. R. V.; ARRUDA, M. A. Z. Speciation analysis of selenium in plankton, Brazil nut and human urine samples by HPLC-ICP-MS. **Talanta**, v. 110, p. 53–57, 2013.

[7] MOREL, M.-C.; SPADINI, L.; BRIMO, K.; MARTINS, J. M. F. Speciation study in the sulfamethoxazole-copper-pH-soil system: implications for retention prediction. **The Science of the total environment**, v. 481, p. 266–73, 2014.

[8] LADEIRA, A. C. Q.; PANIAGO, E. B.; DUARTE, H. A.; CALDEIRA. C. L. Especiação Química e sua Importância nos Processos de Extração Mineral e de Remediação Ambiental. **Química Nova na escola**, n. 8, p. 18–23, 2014.

[9] LI, Y.; HU, B. Sequential cloud point extraction for the speciation of mercury in seafood by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 62, n. 10, p. 1153–1160, 2007.

[10] MUÑOZ, M. S.; RODRÍGUEZ, C. M.; RUDNIKAS, A. J.; RIZO, O. D.; SANTOS-M. M.; ROMERA-R, E.; CASTILLO, J. R. F.; GRAMATGES-P, A.; VILLEGAS-M, N. V.; PADILLA, D. B.; DÍAZ, R. H.; HERNÁNDEZ-G. P. Physicochemical characterization, elemental speciation and hydrogeochemical modeling of river and peloid sediments used for therapeutic uses. **Applied Clay Science**, v. 104, p. 36–47, 2015.

[11] THOMPSON, C. M.; ELLWOOD, M. J.; SANDER, S. G. Dissolved copper speciation in the Tasman Sea, SW Pacific Ocean. **Marine Chemistry**, v. 164, p. 84–94, 2014.

[12] MATSUURA, H. HOKURA, A.; KATSUKI, F.; ITOH, A.; HARAGUCHI, H. Multielement Determination and Speciation of Major-to-Trace Elements in Black Tea Leaves by ICP-AES and ICP-MS with the Aid of Size Exclusion Chromatography. **ANALYTICAL SCIENCES**, v. 17, p. 391-398, 2001.

[13] ANDRADE, E. C. B.; ALVES, S. P.; TAKASE, I. Extração seqüencial de cobre, ferro e zinco em ervas medicinais. **Ciênc. Tecnol. Aliment**. v. 25, n. 4, p. 844–848, 2005.

[14] MONTICELLI, D.; LAGLERA, L. M.; CAPRARA, S. Miniaturization in voltammetry: ultratrace element analysis and speciation with twenty-fold sample size reduction. **Talanta**, v. 128, p. 273–277, 2014.

[15] ALVES, V. N. **Desenvolvimento de métodos de extração em fase sólida para especiação de cromo e arsênio empregando sementes de Moringa oleífera como bioadsorvente Desenvolvimento de métodos de extração em fase sólida para especiação de cromo e arsênio empregando semente**. 2013. (Química Analítica) - Universidade Federal de Uberlândia. Instituto de Química Tese. 2013.

[16] PYRZYNSKA, K. Chemical speciation and fractionation of metals in wine. **Chemical Speciation and Bioavailability**, v. 19, n. 1, p. 1–8, 2007.

[17] ARTICLES, R. Heavy Metals in Plants and Phytoremediation. **Environ Sci & Pollut** v. 10, n. Liao 1993, p. 335–340, 2003.

[18] CATARINO, S.; SOUSA, R. B.; GARCIA-C, A. S. REVISÃO : ELEMENTOS CONTAMINANTES NOS VINHOS CONTAMINANT ELEMENTS IN WINES : A REVIEW. **Ciência Téc. Vitiv.**, v. 22, n. 2, p. 45–61, 2007.

[19] ROBSON MOTA DE JESUS. **Desenvolvimento de método analítico para a determinação de cádmio em vinho e estudo preliminar de especiação de cádmio, ferro, manganês, zinco e cobre em vinho**. 2009. Dissertação (Química Analítica) - Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química. 2009.

[20] SPAZIANI, M.; OLIVEIRA, P. V.; CADORE, S.; O, E. Determinação de alguns constituintes inorgânicos em amostras de vinhos por espectrometria atômica: ICP OES e ETAAS. **Revista Analytica**, n. 20, p 48-55, 2006.

[21] LEMOS, V. **Capítulo V Aplicação de espuma de poliuretano impregnada em um sistema em linha para pré-concentração de chumbo (II).** 2001. Tese (Química Analítica) - Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química. 2001 .

[22] KARADJOVA, I. ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY IN WINE ANALYSIS – A REVIEW –. **Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering**, v. 28, n. 1, p. 17–31, 2009.

[23] KARADJOVA, I.; IZGI, B.; GUCER, S. Fractionation and speciation of Cu, Zn and Fe in wine samples by atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B:**, v. 57, p. 581–590, 2002.

[24] BOSCHETTI, W. **Estratégias analíticas para determinação sequencial de metais em vinhos por espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua por chama**. 2012. Dissertação (Química Analítica). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. instituto de Química. 2012.

[25] CHUBAR, N.; CARVALHO, J. R.; CORREIA, M. J. N. Heavy metals biosorption on cork biomass: effect of the pre-treatment. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 238, n. 1-3, p. 51–58, 2004.

[26] LEMOS, V. **Sistemas de pré-concentração em linha utilizando extração em fase sólida**. 2001. Tese (Química Analítica) - Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química. 2001 .

[27] CRISTINA, I.; FONTES, S. Extração em Fase Sólida: Fundamentos Teóricos e Novas Estratégias para Preparação de Fases Sólidas. **Scientia Chromatographica**, v. 2, p. 13–25, 2010.

[28] SORIANO, S.; CASSELLA, R. J. Solid-Phase Extraction of Cu(II) Using Polyurethane Foam and Eriochrome Black T as Ligand for its Determination in Waters by Flame Atomic Absorption Spectrometry. v. 24, n. 7, p. 1172–1179, 2013.

[29] YILMAZ, V. ARSLAN, Z.; HAZER, O. YILMAZ, H. Selective solid phase extraction of copper using a new Cu(II)-imprinted polymer and determination by inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP-OES). **Microchemical journal, devoted to the application of microtechniques in all branches of science**, v. 114, p. 66–72, 2014.

[30] RASERO-S, F. Ringbom Optimal Range, Other Parameters for the Copper (I) - Bathocuproine Complex. **Microchemical Journal**, v. 425, p. 418–425, 1981.

[31] NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, E. R. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na indústria**. 2.ed. Campinas. São Paulo. Unicamp ed, 2001.

[32] TEÓFILO, R. F.;ferreira, M. M. C. Quimiometria ii: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 338–350, 2006.

[33] GALVÃO, C. N. **Aplicação de técnicas quimiométricas na otimização de métodos usando a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado e espectrometria de absorção atômica com chama visando a análise de amostras ambientais**. 2011. Tese (Química Analítica)- Universidade Federal da Bahia Instituto de Química. 2011.

[34] FERREIRA, S. L. C.; SANTOS, W. N. L.; QUINTELLA, C. M.; NETO, B. B.; BOSQUE-SENDRA, J. M. Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry-review. **Talanta**, v. 63, n. 4, p. 1061–1067, 2004.

[35] BRASIL, J. L.; VAGHETTI, J. C. P.; ROYER, B.; JUNIOR, A. A. S.; SIMON, N. M.; PAVA, F. A.; DIAS, S. L. P.; LIMA, E. C. Planejamento estatístico de experimentos como uma ferramenta para otimização das condições de biossorção de cu(ii) em batelada utilizando-se casca de nozes pecã como biossorvente. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 548–553, 2007.

[36] QUELLE, C.; BESADA, V.; ANDRADE, J. M.; GUTIÉRREZ, N.; SCHULTZE, F.; GAGO, J.; GONZÁLEZ, J. J. Chemometric tools to evaluate the spatial distribution of trace metals in surface sediments of two Spanish rías. **Talanta**, v. 87, p. 197–209, 2011.

[37] SANTELLI, R. E.; BEZERRA, M. A.; SANTANA, O. D.; CASSELLA, R. J.; FERREIRA, S. L. C. Multivariate technique for optimization of digestion procedure by focussed microwave system for determination of Mn, Zn and Fe in food samples using FAAS. **Talanta**, v. 68, n. 4, p. 1083–1088, 2006.

[38] CUNICO, M. W. M.;, CUNICO, M. M.; MIGUEL, O. G.; ZAWADZKI, S. F.; PERALTA-ZAMORA, P.; VOLPATO, N. Planejamento fatorial : uma ferramenta estatística valiosa para a definição de parâmetros experimentais empregados na pesquisa científica . factorial desing : a valuable statistic tool to define experimental parameters applied in scientific research. **Visão Acadêmica**, p. 23–32, 2008.

[39] ARAÚJO, N. M. L.; FERREIRA, S. L. C.; SANTOS, H. C.; JESUS, D. S. BEZERRA, M. A. Factorial and Doehlert designs in the optimization of a separation procedure using polyurethane foam as a solid phase extractant for platinum determination in ferrous matrices using inductively coupled plasma optical emission spectroscopy. **Analytical Methods**, v. 4, p. 508-512, 2012.

[40] BEZERRA, M. de A. **Determinação de metais traço em efluentes de refinaria, vegetais digeridos e em vinhos por espectrometria atômica, após pré-concentração por extração no ponto nuvem e otimização multivariada**. 2006. Tese (Química Analítica)- Universidade Federal da Bahia Instituto de Química. 2006 .

[41] TOMAK, E. D.; TOPALOGLU, E.; GUMUSKAYA, E.; YILDIZ, U. C.; AY, N. An FT-IR study of the changes in chemical composition of bamboo degraded by brown-rot fungi. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 85, p. 131–138, 2013.

[42] PENG, H.; ZHOU, M.; YU, Z.; ZHANG, J.; RUAN, R.; WAN, Y.; LIU, Y. Fractionation and characterization of hemicelluloses from young bamboo (Phyllostachys pubescens Mazel) leaves. **Carbohydrate polymers**, v. 95, n. 1, p. 262–271, 2013.

[43] DIAS, F. S.; BONSUCESSO, J. S.; OLIVEIRA, L. C.; SANTOS, W. N. L. Preconcentration and determination of copper in tobacco leaves samples by using a minicolumn of sisal fiber (Agave sisalana) loaded with Alizarin fluorine blue by FAAS. **Talanta**, v. 89, p. 276–279, 2012.

[44] JÚNIOR, M. G.; NOVACK, K. M.; BOTARE, V. R. **REVISTA EIXO**, Brasília, DF, v. 2, n. 1, p. 39-52, 2013