UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E EXATAS,

CURSO DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ANALÍTICA

Microextração por gota orgânica flotada e solidificada após emulsificação assistida por ultrassom para a pré-concentração de cádmio em amostras de alimentos

LEANDRO BATISTA PEIXOTO

Orientador: Fábio de Souza Dias

Jequié- BA

2016

Microextração por gota orgânica flotada e solidificada após emulsificação assistida por ultrassom para a pré-concentração de cádmio em amostras de alimentos

Leandro Batista Peixoto[2], Fábio de Souza Dias[1]*.

1- Universidade Federal do Recôncavo da Bahia,
Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas,
Campus Universitário de Cruz das Almas (Cep 44380-000).
Cruz das Almas, Bahia, Brasil.
Tel/fax. (55) 75 3621-1738

2 - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia,
Departamento de Química e Exatas, Laboratório de Química Analítica,
Campus de Jequié, 45200-190, Jequié, Bahia, Brasil.

* - Corresponding author (e-mail: fsdias@ufrb.edu.br, fabiosdias@yahoo.com.br)

Microextração por gota orgânica flotada e solidificada após emulsificação assistida por ultrassom para a pré-concentração de cádmio em amostras de alimentos

Dissertação apresentada 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

Jequié – Bahia
Setembro / 2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB
Recredenciada pelo Decreto Estadual Nº 9.996, de 02.05.2006
Programa de Pós-Graduação em Química

Leandro Batista Peixoto

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

DISSERTAÇÃO APROVADA EM **08/06/2016.**

Comissão Examinadora:

Fabio de Souza Dias

Prof. Dr. Fabio de Souza Dias (UFBA, Salvador-BA, 2010)
(Orientador)

Prof. Dr. Rodrigo Veiga de Albuquerque (UFBA, Salvador-BA, 2011)

Prof. Dr. Alailson Falcão Dantas (UFBA, Salvador-BA, 2005)

Rua José Moreira Sobrinho, s/n – Jequiezinho
CEP: 45.208-091 - Jequié – Bahia
Telefone: (73) 3528-9630 Email: ppgquimica@uesb.edu.br

FICHA CATALOGRÁFICA

Peixoto, Leandro Batista.

P43 Micoetração por gota orgânica flotada e solidificada após emulsificação assistida por ultrssom para a pré-concentração de cádmio em amostras de alimentos/Leandro Batista Peixoto.- Jequié, UESB, 2016.

26 f: il.; 30cm. (Anexos)

Dissertação de Mestrado (Pós-graduação em Química,)- Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2016. Orientador: Profº. Drº. Fábio de Souza Dias.

1. Cádmio em amostras de alimentos – Pré-concentração e determinação 2. Metais – Determinação de cádmio em amostras de alimentos assistida por ultrassom (USAE-SFODME) 3.Cádmio em amostras de alimento – Determinação por espectrometria de absorção atômica por chama FAAS) I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia II. Título.

CDD – 543

AGRADECIMENTOS

A Deus e a minha família, pelo fato de estar vivo e poder chegar ao fim deste ciclo;

Ao Prof. Dr. Fábio de Souza Dias, que muito me ensinou, contribuindo para meu crescimento científico, intelectual e profissional;

Aos Professores:Djalma Oliveira, Mário Sérgio Rocha, Valfredo Lemos e Marcos Bezerra, pela atenção e apoio;

Aos colegas de mestrado Jeferson, Lucília, Darllen, Elizabeth, João Honorato, Geovane e Mirela pelo apoio durante este percurso e aos demais colegas que contribuíram direta ou indiretamente para que fosse possível eu alcançar este objetivo;

Ao Programa de Pós-graduação em Química da UESB, pela oportunidade de realização do mestrado;

Aos órgãos de fomento Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de mestrado e pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa. Ao LQA, pela colaboração nos trabalhos experimentais.

ABREVIATURAS E SIGLAS

Cd	Cádmio
FAAS	Espectrometria de absorção atômica com chama
ICP OES	Espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado
USAE-SFODME	Microextração por gota orgânica flotada e solidificada após emulsificação assistida por ultrassom
DLLME	Microextração líquido-líquido dispersiva
SDME	Microextração em gota única
HLLME	Microextração líquido-líquido homogênea
LLE	Extração líquido – líquido
CPE	Extração em ponto nuvem
SPE	Extração em fase sólida
EPN	Extração no ponto nuvem
HNO_3	Ácido nítrico
HCl	Ácido clorídrico
H_2SO_4	Ácido sulfúrico
A	Absorvância
ANVISA	A Agência Nacional de Vigilância Sanitária
TAN	1-(2-tiazoliazo)-2-naftol
TAR	4-(2-tiazoliazo) resorcinol
TAO	4-(2-tiazoliazo)-orcinol
TAM	2-(2-tiazoliazo)-5-dimetilaminofenol
TAC	2-(2-Thiazolilazo)-p-cresol
K-4-BPDC	4-benzilpiperidina ditiocarbamato de potássio
TOACl	Cloreto de trioctil-metilamônio

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Complexos formados entre o reagente quelante TAC e cádmio II; (A) complexo bidentado, (B) complexo tridentado.

Figura 2- Influência do pH na USAE-SFODME para pré-concentração e determinação de Cd (II) por FAAS

Figura 3- Influência da concentração do tampão na USAE-SFODME para pré-concentração e determinação de Cd (II) por FAAS

Figura 4- Influência do volume do solvente extrator na USAE-SFODME para pré-concentração e determinação de Cd (II) por FAAS

Figura 5- Influência da concentração do TAC na USAE-SFODME para pré-concentração e determinação de Cd (II) por FAAS

Figura 6- Influência do tempo de sonicação na USAE-SFODME para pré-concentração e determinação de Cd (II) por FAAS

Figura 7- Influência do volume do diluente da fase rica na USAE-SFODME para pré-concentração e determinação de Cd (II) por FAAS

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Condições operacionais do equipamento para determinação de Cd (II) por FAAS

Tabela 2. Condições iniciais aplicadas na otimização das variáveis do sistema

Tabela 3. Efeito dos Interferentes na detecção de Cd(II) concentração de 50 mg L^{-1}.

Tabela 4. Parâmetros analíticos

Tabela 5. Comparação da USAE-SFODME com outros métodos para a determinação de cádmio em amostras de água de alimentos, com FAAS.

Tabela 6. Determinação de Cd (II), em diferentes amostras e determinação por FAAS

RESUMO

No presente trabalho foi desenvolvido um procedimento para pré-concentração e determinação de cádmio em amostras de alimentos baseado na microextração por gota orgânica flotada e solidificada após emulsificação assistida por ultrassom (USAE-SFODME) utilizando 2-(2-tiazolilazo)-p-cresol (TAC) como reagente complexante.O analito foi determinado por espectrometria de absorção atômica por chama (FAAS). O método apresentou limites de detecção e quantificação de 0,70 µg L^{-1} e 2,10 µg L^{-1}, respectivamente. A precisão do método foi expressa como desvio padrão relativo, de 3,00 % (10,0 µg L^{-1}). A exatidão do método foi avaliada a partir da análise de amostras de referência certificadas de folhas de tomate (SRM 1573a) e farinha de arroz (SRM 1567a). A partir do teste de adição padrão foram encontradas recuperações que variaram entre90 a 100%. O procedimento foi aplicado na determinação de cádmio em amostras de farinha de milho, feijão, couve e água mineral encontrando valores entre 0,30 a 2,10 µg g^{-1} para as amostras de alimentos e 0,3 a 0,46 µg L^{-1} para as amostras de água.

PALAVRAS CHAVE: USAE-SFODME, micro extração; metais; espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS), alimentos, cádmio.

ABSTRACT

In this work was developed a procedure for preconcentration and determination of cadmium in food samples by FAAS based on microextration by flotation and solidified organic drop after emulsification assisted by ultrasound (USAE-SFODME) using 1- (2-thiazolylazo) -p cresol (TAC) as complexing reagent. The analyte was determined by atomic absorption spectrometry with flame (FAAS). The limit of detection and quantificationwere 0.7 µg $L^{-1}$and 2.1 µg L^{-1}, respectively. The precision of the method was expressed as relative standard deviation of 3.0% (10 µg L^{-1}). The accuracy was evaluated from the analysis of certified reference samples, tomato leaves (SRM 1573a) and rice flour (SRM 1567a), and addition and recovery test results which ranged from 90 to 100%. The procedure was applied to determination of cadmium in corn flour samples, beans, cabbage and mineral waterand analyte concentration varied from 0.30 to 2.10 µg $g^{-1}$for food samples and from 0.3 to 0.46 µg g^{-1} for water samples.

KEYWORDS: USAE-SFODME, micro extraction; metals; atomic absorption spectrometry with flame (FAAS); foods; cadmium.

1.0.INTRODUÇÃO

Torna-se cada vez maior a preocupação por parte da sociedade científica em estudar vários elementos não essenciais aos seres vivos, visto que muitos são tóxicos, mesmo em baixas concentrações [1]. Dentre os elementos não essenciais, o cádmio (cd) merece destaque, pois é tóxico, bioacumulativo, não apresenta funções biológicas, fisiológicas e atua como inibidor enzimáticos[2].

O cádmio pode ser encontrado em água doce, salgada, solo, fertilizantes e baterias. Os maiores riscos de intoxicação com este metal ocorrem nas proximidades de fundições do zinco, pois o cádmio é transportado através de particulados atmosféricos produzidos por estas atividades industriais e mineradoras. Este metal entra no organismo humano através da ingestão de alimentos, principalmente, no consumo de ostras, peixes e água. Além disso, e no cigarro. [3]. A exposição prolongada a este metal apresenta, como consequência, lesões em órgãos e tecidos (rins, fígado, ossos e pulmões), efeitos cancerígenos além de poder substituir o zinco presente em algumas enzimas, inativando-as [3].

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece 3,0 µg l^{-1} a concentração máxima de cádmio permitida em água potável e 0,2 mg l^{-1} a concentração máxima de cádmio permitida para alimentos [4]. O cádmio não apresenta função biológica e fisiológica, Portanto é fundamental monitorar e determinar o teor deste elemento em água e alimentos [5].

Várias técnicas espectroanalíticas podem ser utilizadas para a quantificação do cádmio, mesmo em amostras de águas e alimentos cujo teor desse elemento se encontra em quantidade traço. As técnicas comumente utilizadas são: espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) [6]. Uma técnica multielementar, alta seletividade e sensibilidade, porém apresenta algumas desvantagens como: possíveis interferências espectrais, decorrentes da sobreposição de linhas e interferência de transporte causadas por diferenças nas propriedades físicas das soluções medidas [7]. Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (GF- AAS) [8]. Nesta técnica, os átomos permanecem no atomizador por um período ≤ 1s, o que torna a técnica sensível. Possui limites de detecção na ordem de µg L^{-1}, utiliza quantidade de amostra no intervalo de 10–50 µL. No entanto, as

análises são demoradas, alto custo de manutenção, e monoelementar [9]. Espectrometria de fluorescência atômica (AFS) [10]. Está técnica oferece grandes vantagens em termos de linearidade e níveis de detecção, o que tem melhorado em função da qualidade das lâmpadas empregadas como fontes de excitação. No entanto apresenta limitações, como supressão da fluorescência e emissão de fundo [11].

Neste trabalho, a técnica espectroanalítica utilizada foi a Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS) por ser rápida, baixo custo de manutenção relativo, simplicidade de operação, eficiente para análise de rotina de metais em amostras ambientais e de alimentos. No entanto, teor de cádmio presente em amostras de água e alimento está em nível traço o que dificulta sua quantificação empregando essa técnica analíticas de detecção sem um tratamento prévio das amostras que podem envolver procedimento de separação e pré-concentração [12].

As técnicas de separação e pré-concentração tem sido bastante utilizadas na extração de metais e metaloídes uma vez que estas possibilitam maior sensibilidade no método e consequentemente apresenta maior limite de detecção e quantificação, sobretudominimizar interferências de matriz. Dentre as técnicas de extração e/ou pré-concentração pode-se destacar, a extração líquido-líquido (LLE) [13], extração em fase sólida (SPE) [14] e extração no ponto nuvem (EPN) [15]. Porém, essas técnicas apresentam desvantagens, tais como: utilizam quantidades elevadas das amostras e solventes orgânicos, custo elevado e de difícil automação. Com isso, os químicos veem desenvolvendo novos métodos baseados na miniaturização da tradicional extração líquido-líquido [16].

Entre as principais técnicas de microextração destaque-se, a microextração em gota única (SDME) [17]. Microextração líquido-líquido homogênea (HLLME) [18], microextração em fase sólida (SPME) [19], Amicroextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) [20], microextração e emulsificação assistida por ultrassom (UASEME) [21], microextração baseada na solidificação e flotação da gota orgânica (SFODME) [22].

Neste trabalho utilizou-se a microextração por gota orgânica flotada e solidificada após emulsificação assistida por ultrassom (USAE-SFODME) pela simplicidade de operação, baixo consumo do solvente extrator e por utilizar sistema de radiação ultrassônico que acelera a etapa da extração analítica sem utilizar solvente orgânico dispersor [23].

Visando obter seletividade na determinação de metais, Os reagentes azóicos têm despertado muita atenção nos cientistas em análise espectrofotométrica. Vários reagentes complexantes incluindo, 1-(2-tiazoliazo)-2-naftol (TAN), 4-(2-tiazoliazo) resorcinol (TAR),

4-(2-tiazoliazo)-orcinol (TAO) e 2-(2-tiazoliazo)-5-dimetilaminofenol (TAM) e 2-(2-Thiazolilazo)-p-cresol (TAC)são utilizados a depender de sua afinidade com osanalitos (JENSEN, 1960).

Neste trabalho, utilizou-se oTAC como reagente quelante, devido à sua boa seletividade e sensibilidade ao longo de uma ampla faixa de pH.O TAC é um pó cristalino, marrom amarelado, (PF 129-130 ºC) pouco solúvel em água, mas rapidamente solúvel em soluções de ácidos minerais, hidróxidos alcalinos e em solventes orgânicos comuns. Apresenta equilíbrio ácido-base devido à possibilidade de atuar como aceptor e doador de prótons com a mudança do pH do meio[24].

Os solventes orgânicos utilizados nesta técnica devem possuir algumas características, tais como: baixa solubilidade em água; ser pouco volátil para evitar que ocorra a perda de solvente no momento da extração; extrair quantitativamente os analitos; possuir densidade inferior à água e ter um ponto de fusão próximo à temperatura ambiente [25]. Neste trabalho o solvente extrator usado foi o 2-dodecanol por apresentar as características supracitadas.

2.0 OBJETIVO

2.1 Esse trabalho tem como objetivo desenvolver um procedimento analítico baseado na microextração por gota orgânica flotada e solidificada após emulsificação assistida por ultrassom para a pré-concentração de cádmio em amostras de água ealimentos por FAAS

3.0 PARTEEXPERIMENTAL

3.1.Instrumentação

Durante a etapa de pré-concentração e otimização das variáveis foram usadas uma balança analítica, modelo AX 200, bloco digestor marca (Tecnal) modelo (Te -007MP) uma cuba ultrassônica marca (Cristófoli) e uma centrífuga marca (Quimis) modelo (0222T 204), tubos de ensaio de vidro e micropipetas de volume variável. Para as medidas de absorvância foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica, marca A Perkin Elmer (Norwalk, CT, USA). As condições operacionais do equipamento durante a determinação de cádmio são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Condições operacionais do equipamento para determinação de Cd (II) por FAAS.

Parâmetros	Condição
Comprimento de onda (nm)	228,80
Corrente da lâmpada(mA)	7,50
Largura de banda da fenda (mm)	1,0
Altura do queimador (mm)	13,50
Taxa de fluxo acetileno (L min^{-1})	2,01
Taxa de fluxo do ar (L min^{-1-})	13,51
Vazão de nebulização (mL min^{-1})	5,0-7,0

3.2. Reagentes

Todos os reagentes utilizados nos experimentos foram de grau analítico. Para o preparo das soluções foram usadas água deionizada. Utilizou-se em cada procedimento solução padrão de cádmio (II) (1000 μgmL^{-1}) e diluiu o volume adequado com água deionizada para a concentração de 10,0μgL^{-1}. O reagente complexante (0,030% m/v), 2-(2-tiazolilazo)-p-cresol (TAC) foi preparado pela dissolução de 0,075 g de TAC em 250 mL etanol. O solvente extrator utilizado foi 2-dodecanol (Sigma Aldrich) e solução tampão amoniacal (pH 8,5-10). Utilizou-se vidraria convencional, mantida em solução de ácido nítrico, 5% v/v durante 12h para descontaminação e enxaguadas com água deionizada.

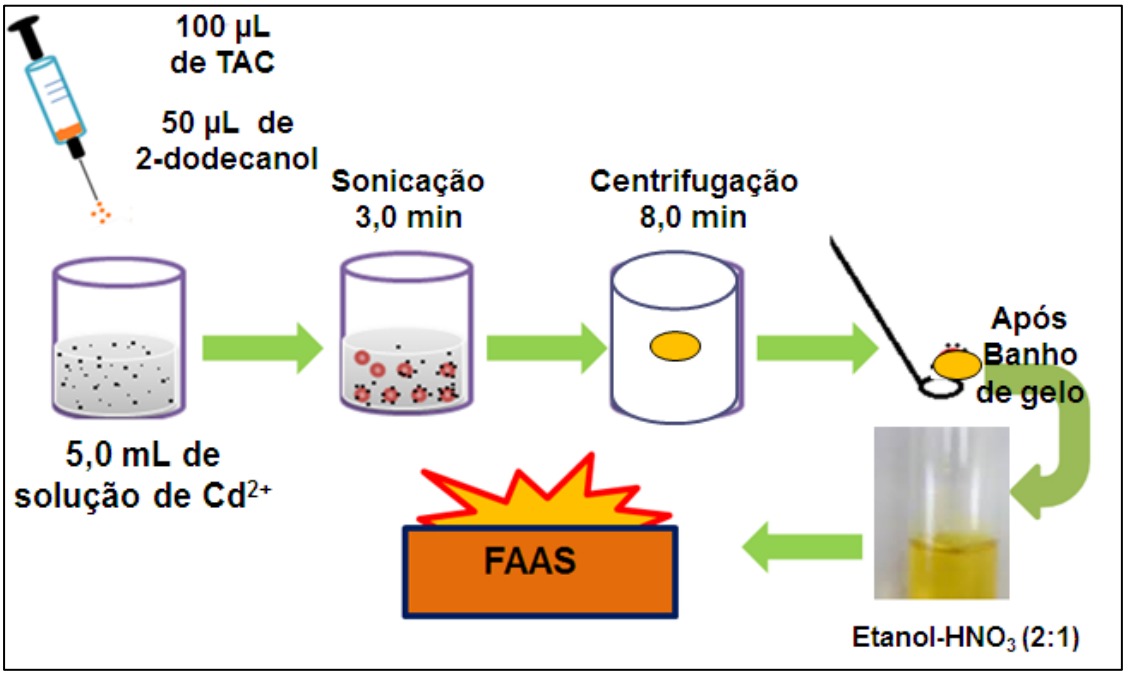
3.3.Preparo da amostra

Para a abertura das amostras utilizou-se bloco digestor (Tecnol TE-007 MP). Cerca de 0,2000 g da amostra certificada de folha de tomate NIST 1573a e 0,1500 g de farinha de arroz NIST 1567aforam tratadas com 1,5 mL de ácido nítrico concentrado e 0,500mL de peróxido de hidrogêniopor 2 h a uma temperatura de 120°C. Após as amostras atingir a temperatura ambiente estas foram neutralizadas com solução de hidróxido de sódio até atingir pH próximo a 7,0.

3.4.Procedimento para pré-concentração de cádmio utilizando a microextração por gota orgânica flotada e solidificada após emulsificação assistida por ultrassom

Inicialmente,5,0 mL dasoluçãocontendo cádmio a uma concentração de 10 μgL^{-1} foram colocados em tubos de ensaio de 10 mL. Em seguida foi adicionado 100 µL do 2-(2-tiazolilazo)-p-cresol (TAC) (0,03%, m/v), e 50,0 µL do2- dodecanol, em pH NH_3/NH_4Cl 9,0. A soluçãofoi submetida a um processo de sonicação por 3,0 min, centrifugada por 8,0 min e resfriada até a gota solidificar. Em seguida retirou-se a fase contendo o analito, colocou-se em um tubo de ensaio e dilui-se com 300 µL da solução de Etanol-HNO_3 na proporção de 2:1. O analito presente na fase orgânica foi retirado com auxílio de uma palhetae foi determinado por espectrometria de absorção atômica por chama (FAAS). A Figura 1 ilustra o resumo do procedimento.

FIGURA 1- Resumo do procedimento da microextração por gota orgânica flotada e solidificada após emulsificação assistida por ultrassom (USAE-SFODME)



4.0.RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para uma melhor eficiência da microextração em gota orgânica solidificada e por emulsificação assistida por ultrassom (USAE-SFODME) é necessário a otimização de algumas variáveis experimentais que influenciam na formação do complexo e extração do analito. Neste trabalho foram otimizadas as seguintes variáveis: pH, volume do solvente extrator, concentração do complexante, tempo de extração, tempo de centrifugação, tipo do

diluente e volume do diluente. Utilizou-se uma estratégia de otimizaçãounivariada empregando-se uma solução de Cd (II) 10 µg L^{-1}. As condições iniciais estão descritas na Tabela 2

Tabela 2 Condições iniciais aplicadas na otimização das variáveis do sistema

Parâmetro	Condição Inicial
pH	8,0
Volume do solvente extrator (µL)	50
Concentração do complexante % (m/v)	0,03
Concentração do tampão ($molL^{-1}$)	0,01
Tempo de sonicação (min)	5,0
Tempo de centrifugação (min)	5,0
Tipo do diluente	Etanol-ácido nítrico

4.1. Estudo da influência do pH

Na microextração em gota orgânica solidificada e por emulsificação assistida por ultrassom (USAE-SFODME) o pH do meio é um parâmetro de grande influência, pois aumenta quantitativamente a extração do analito, a eficiência do método e a estabilidade do complexo formado com o metal [26].

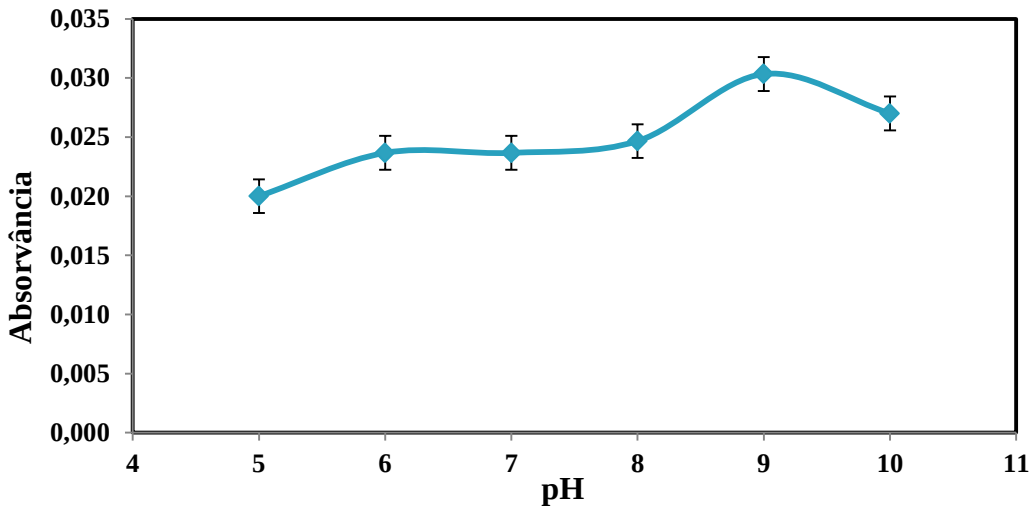


Figura 2-Influência do pH na USAE-SFODME para pré-concentração e determinação de Cd (II) por FAAS. Solvente extrator, 2-dodecanol; volume do solvente extrator, 50 µL;

concentração do TAC, 0,03%; concentração do tampão 0,01 molL^{-1}; tempo de sonicação, 5,0 min; tempo de centrifugação, 5,0 min; tipo e volume do diluente, Etanol-HNO_3 (2:1).

Como pode ser verificado no gráfico, um valor de pH 9,0 apresentou melhor sinal analítico. Reagentes da classe tiazoliazofenois na qual o TAC 1-(2-tiazolilazo)-p-cresol)está inserido se comportam como ligantes mono ou bidentados. EmpH menor que 9,0 é favorável a formação do quelato MHL ($[Cd(HTAC)]^{2+}$) com baixa estabilidade;pH em meio alcalino é favorável a formação do complexo mais estável Cd $(TAC)_2$. Portanto, pH = 9,0 oferece uma condição ideal para a ocorrência da formação do complexo bidentado por isso foi usado nos experimentos posteriores.

4.2.Estudo da concentração do tampão

A concentração do tampão é uma propriedade importante em procedimentos de pré-concentração. Foi estudada a influência da concentração do tampão amoniacal variando-as nos intervalos de 0,01 a 0,10 mol L^{-1}, conforme (Figura 3).

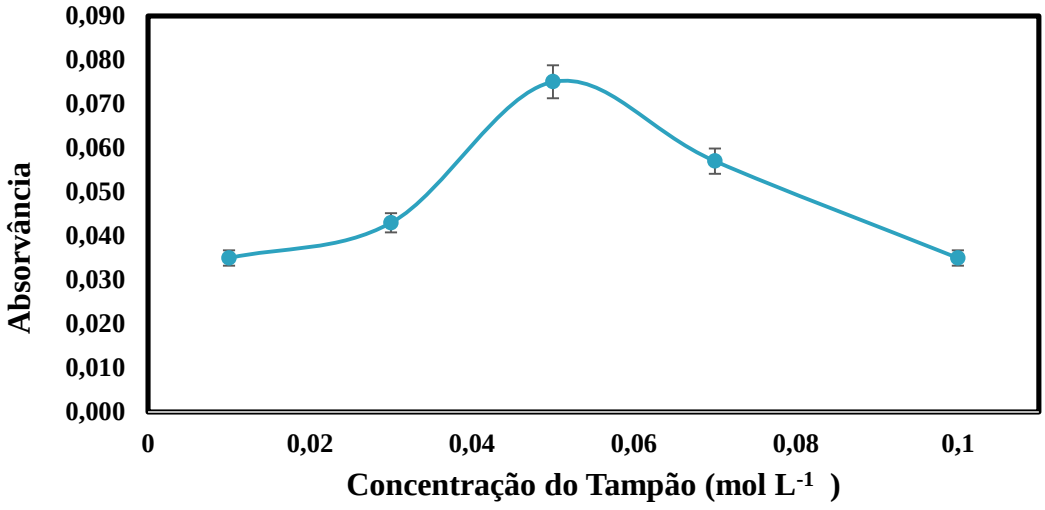


Figura 3-Influência da concentração do tampão na USAE-SFODME para pré-concentração e determinação de Cd (II) por FAAS. pH = 9,0; Solvente extrator, 2-dodecanol; volume do solvente extrator, 50 µL; concentração do TAC, 0,03%; tempo de sonicação, 5,0 min; tempo de centrifugação, 5,0 min; tipo e volume do diluente, Etanol-HNO_3 (2:1).

Como pode ser observado na (Figura 3), a concentração do tampão apresenta maior absorvância em 0,05 molL^{-1}. Concentrações inferiores, possivelmente, não foram suficiente

para manter o pH com poder tamponante eficiente. Concentrações maiores que 0,05 molsL^{-1}provoca queda no sinal analítico, poishaverá competição entre o reagente quelante e as moléculas de amônia.

4.3. Estudo do volume do solvente extrator

O efeito do volume do solvente extrator é muito importante em procedimentos envolvendo microextração, visto que este parâmetro é um dos responsáveis pelo fator de pré-concentração [27]. Neste estudo, foi avaliado sua influência variando os volumes de 2-dodecanol nos intervalos de 50 a 300 µL. A Figura 4apresenta o resultado deste estudo.

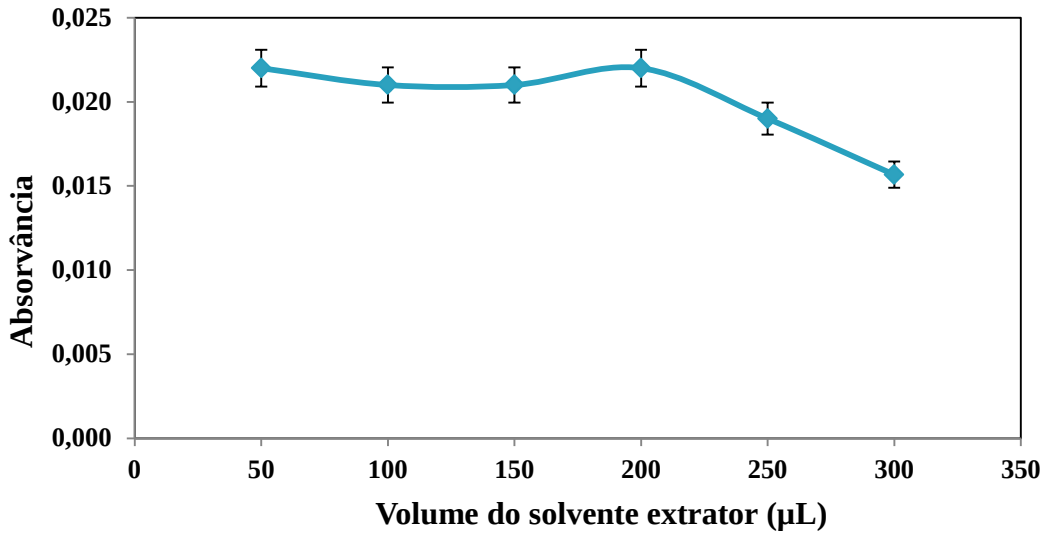


Figura 4-Influência do volume do solvente extrator na USAE-SFODME para pré-concentração e determinação de Cd (II) por FAAS. pH = 9,0; concentração do tampão, 0,05 molL^{-1}; Solvente extrator, 2-dodecanol; concentração do TAC, 0,03%; tempo de sonicação, 5,0 min; tempo de centrifugação, 5,0 min; tipo e volume do diluente, Etanol-HNO_3 (2:1).

Como pode ser observado na Figura 4, a variação do volume do solvente extrator de 50 a 200 µL obtiveram absorvância constantes. Quando utilizado volume superior a 200 µL há um decréscimo no sinal analítico. Isso ocorre, pois, quando se aumenta o volume do solvente extrator aumenta-se o volume final da solução da gota. Embora na faixa de 50 a 200µL o sinal analítico não variou muito, utilizou-se 50 µL, pois o mesmo permitiu analisar em quantidade menor de 2-dodecanol, sem prejudicar a eficiência da extração.

4.4.Estudo da concentração do TAC

A concentração do agente quelante 2-(2tiazoliazo)-p-cresol (TAC) tem um efeito fundamental na formação do complexo. Para este estudo a concentração do TAC foi avaliada variando sua concentração entre 0,01 a 0,05% m/v.

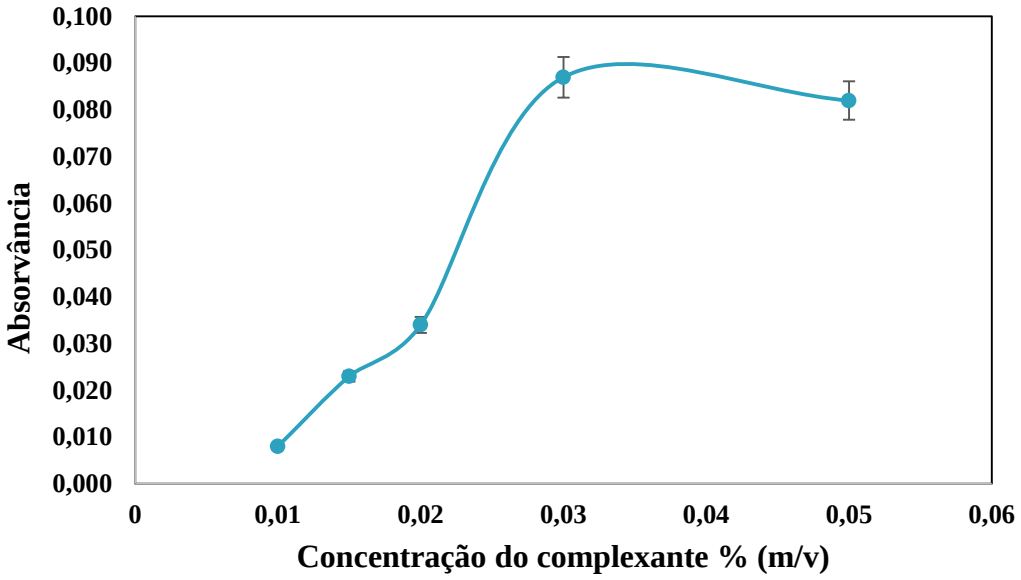


Figura 5-Influência da concentração do TAC na USAE-SFODME para pré-concentração e determinação de Cd (II) por FAAS. pH = 9,0; concentração do tampão, 0,05 mol.L^{-1}; Solvente extrator, 2-dodecanol; volume do solvente extrator, 50 µL; tempo de sonicação, 5,0 min; tempo de centrifugação, 5,0 min; tipo e volume do diluente, Etanol-HNO_3 (2:1).

Os resultados apresentados na Figura 5 mostra que o melhor sinal analítico ocorreu quando a concentração do TAC foi a partir de 0,03% (m/v), possivelmente, nesta concentração ocorreu complexaçãoeficiente dos os íons de cádmio presentes na solução. Nota-se que valores abaixo de 0,03% m/v ocorrem diminuição no sinal de absorvância. Possivelmente, a quantidade do agente quelante não foi suficiente para complexa o cádmio presente em solução.

4.5.Estudo do tempo de sonicação

O tempo de sonicação desempenha uma função muito importante em métodos de extração, pois ele é responsável por aumentar a eficiência da extração. Essa reprodutibilidade ocorre quando a fase orgânica e aquosa entra em equilíbrio resultando numa máxima quantidade de analito extraído pela microgota [28]. O efeito do tempo de sonicação foi estudadonos intervalos de 0 a 10 min com uma frequência de sonicação constante. A Figura 6 apresenta o resultado deste estudo.

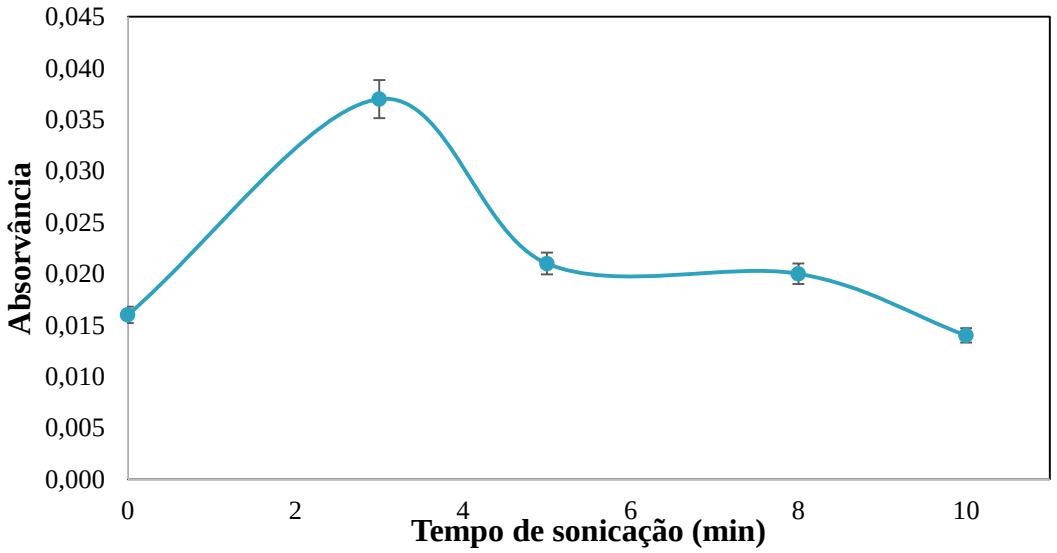


Figura 6: Influência do tempo de sonicação na USAE-SFODME para pré-concentração e determinação de Cd (II) por FAAS. pH = 9,0; concentração do tampão, 0,05 mol.L^{-1}; Solvente extrator, 2-dodecanol; volume do solvente extrator, 50 µL; concentração do TAC, 0,03% (m/v); 5,0 min; tempo de centrifugação, 5,0 min; tipo e volume do diluente, Etanol-HNO_3 (2:1).

A partir da Figura 6 pode-se observar que são necessário três minutos para se obter um melhor sinal analítico, pois neste tempo as ondas ultrassônicas contribuem na formação de gotas menores de solvente orgânico na solução aquosa aumentando a superfície de contato entre a fase aquosa e a fase orgânica. Tempo superior a três minutos promove uma dispersão maior do solvente orgânico da fase aquosa.

4.6. Estudo do tempo de centrifugação

A centrifugação é um processo que acelera a separação das fases orgânica e aquosa. Após a amostra ser sonicada a fase orgânica se encontra dispersa e demora para separar a fases. Foi observado experimentalmente que 8,0 min foi tempo suficiente para separar a fase

rica em analito que se encontra dispersa na fase aquosa. Acima de 8,0 min não houve uma extração satisfatória. Isso porque pode ter ocorrido a solubilização da fase orgânica pela a fase aquosa. Logo, nos experimentos posteriores foi utilizado o tempo de 8,0 min de centrífugação.

4.7.Estudo do volume diluente

Em sistemas de pré-concentração estudar o volume da fase rica é importante, pois se não for ajustado poderá ocorrer uma dissolução parcial ou até mesmo diluição do analito. O volume do diluente foi estudado entre os intervalos de 50 a 300 µL e os resultados estão apresentados na Figura 7.

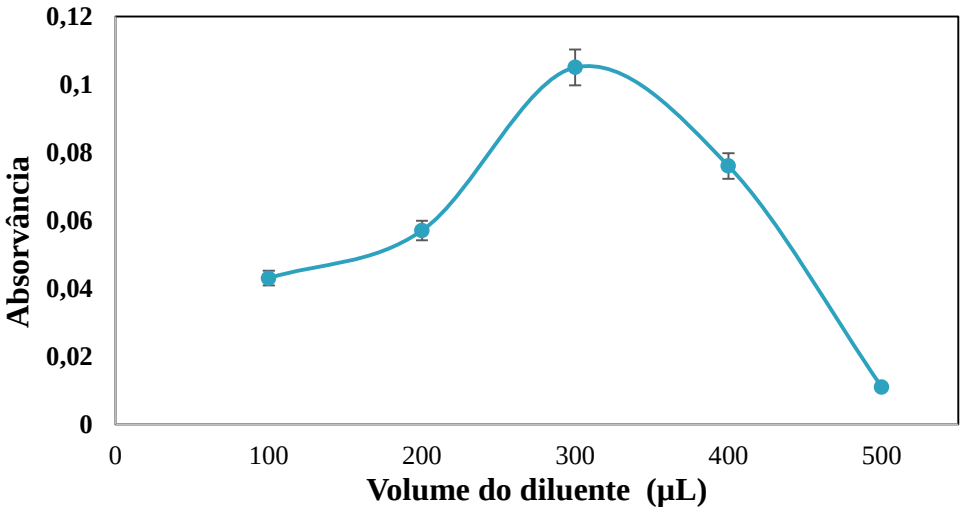


Figura 7: Influência do volume do diluente da fase rica na USAE-SFODME para pré-concentração e determinação de Cd (II) por FAAS. pH = 9,0; concentração do tampão, 0,05 mol.L^{-1}; Solvente extrator, 2-dodecanol; volume do solvente extrator, 50 µL; concentração do TAC, 0,03% (m/v); tempo de sonicação, 3,0 min; tempo de centrifugação, 8,0 min..

A partir do gráfico (Figura 7) pode-se inferir que a melhor dissolução da gota ocorre quando se utiliza um volume de 300 µL. Volume menor que 300 µL dificultam o carreamento da gota por conta da viscosidade da amostra. Utilizando volumes maiores ocorre diluição da gota provocando perda no sinal analítico. Portanto, o volume de 300 µL foi adotado para os demais procedimentos.

4.8. Estudo dos interferentes

Foi avaliado a tolerância a possíveis íons interferentes, pois o agente quelante TAC possui a capacidade de complexar outros íons que podem competir com a complexação do cádmio. A eficiência da extração foi investigada em presença de diferentes íons. O limite de interferência foi estabelecido como uma alteração significativa de ± 10% no sinal analítico. A Tabela 3 mostra os resultados desse estudo.

Tabela 3: Efeito dos Interferentes na detecção de Cd(II) concentração de 50 µg L^{-1}.

Cátions	**Concentração mg L^{-1} Máxima**	**Ânions**	**Concentração mg L^{-1} Máxima**
Fe^{3+}	1000	NO_3^-	1000
K^+	1000	SO_4^{2-}	1000
Na^+	5000	CO_3^{2-}	1000
Ni^{2+}	1,00	Cl^-	1300
Cu^{2+}	1,00		
Co^{2+}	1,00		
Zn^{2+}	1,00		

5.0. CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS

5.1. Linearidade

A linearidade corresponde à capacidade de um método fornecer resultados analíticos, diretamente proporcionais à concentração das substâncias de interesse, dentro de um determinado intervalo de concentrações onde o método será aplicado. As variáveis dependentes e independentes, correlacionam-se através da curva analítica cujos parâmetros foram estimados pelo método dos mínimos quadrados. [29] Neste trabalho foi obtida a seguinte equação da reta: $A = 0{,}0044c + 0{,}0026$ (Figura 9), onde A é a absorvância e c a concentração de cádmio em µg L^{-1}. O coeficiente de correlação dessa curva foi de 0,9993.

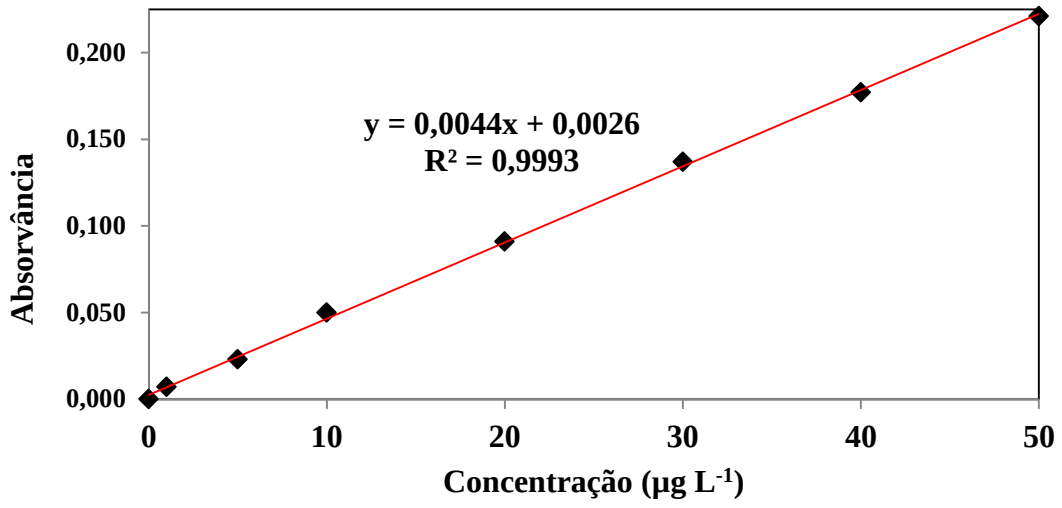
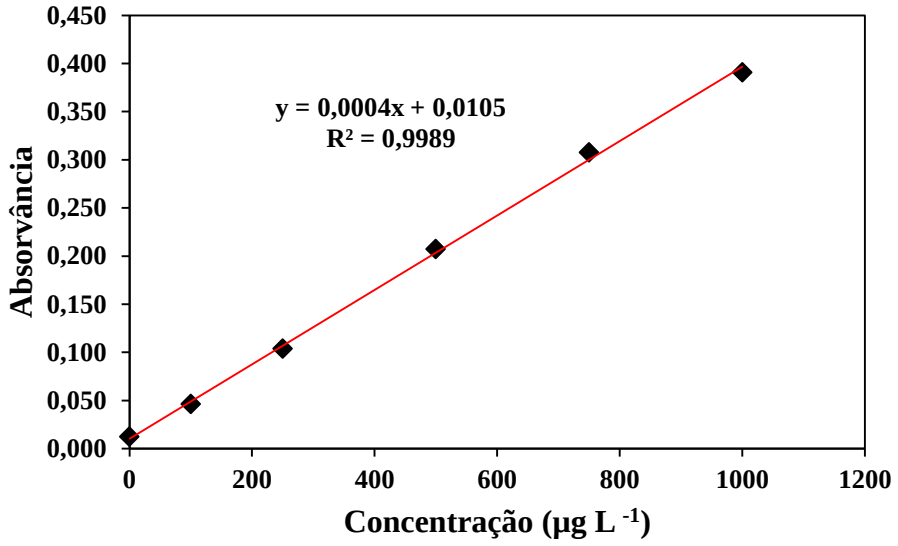


Figura 9. Curva analítica correspondente ao sistema de pré-concentração e determinação de cádmio por USAE-SFODME para determinação de Cd (II) por FAAS

Além da curva encontrada aplicando o método proposto, foi construída também uma curva analítica referente aánalise direta de Cd (II) por FAAS para que houvesse a possibilidade de comparar e verificar o aumento do sinal analítico no método proposto deste trabalho. A curva analítica referente a medida direta do cádmio tem a seguinte equação da reta: y = 0,0004x + 0,0105 (Figura 10) e fator de correlação de 0,9989.

Figura 10. Curva analítica referente às medias diretas de Cd (II) por FAAS.



5.2. Fator de enriquecimento (FE)

O fator de enriquecimento é utilizado para avaliar a eficiência de um método analítico, sendo calculado pela razão entre o coeficiente angular da curva analítica pré-concentrada e o coeficiente da curva analítica feita pelas medidas diretas do analito.

Vale ressaltar que outros parâmetros responsáveis pela característica analítica do método proposto foram analisados. A Tabela 4 mostra os resultados obtidos.

Tabela 4 – Parâmetros analíticos

Parâmetros	Cádmio
RSD (%)	**3,0**
LD (µg g^{-1})	**0,70**
LQ (µg g^{-1})	**2,10**
FE	**11**
Volume da amostra (mL)	**5,0**

Tabela 5- Comparação da USAE-SFODME **com outros métodos para a determinação de cádmio em amostras de água de alimentos, com FAAS.**

Método	LOD µg L^{-1}	FE	Amostra	Volume (mL)	Reagente Quelante	Ref
SPE	2,8	15	Alimentos	50,0	TAR	[30]
LPME	0,91	13,4	Água	5,0	Tiosalicilato	[31]
DLLME	0,30	13	Água	40	4-Terc-Butilcalix	[32]
USAE-SFODME	0,66	15	Água	6,0	K-4-BPDC	[33]
VALLME	2,9	35	Água	100	Oxina	
USAE-SFODME	0,66	11	Alimento	5,0	TAC	[Este trabalho]

6.0. EXATIDÃO

A exatidão do método é a diferença entre o valor encontrado experimentalmente e o valor verdadeiro [34]. Os processos mais usados para avaliar a exatidão de um método são por

meio de materiais de referência, adição padrão e adição recuperação. Neste trabalho a exatidão do método proposto foi avaliado pela determinação de cádmio em amostras de referência de água (APS 1071) folhas de tomate (SRM 1573a) e farinha de arroz (SRM 1567a). A Tabela 5 apresenta os valores certificados e encontrados após da aplicação do método proposto.

Tabela 5 – Aplicação da UASE-SFOME para determinação de Cd(II) em amostras certificadas

Amostra	**Quantidade de Cd (II) (µg kg^{-1})**	
	Encontrada	**Certificada**
Folha de tomate	1,40 ± 0,07	1,52 ± 0,04
Farinha de Arroz	0,28 ±0,03	0,32 ± 0,02
Água mineral	46,2 ± 2,56	50 ± 0,25

O método proposto também foi utilizado para a determinação de cádmio em amostras de milharina, fubá de milho, caule de feijão, folha de feijão, folha de couve e amostras de água. Os resultados são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Determinação de Cd (II), em diferentes amostras e determinação por FAAS.

Amostra	**Quantidade de Cd (II) (µg kg^{-1})**		**Rec. (%)**
	Adicionada (µg kg^{-1})	**Encontrada (µg kg^{-1})**	
Milharina	0	0,90± 0,01	-
	3	3,60± 0,02	90
	15	15,3± 0,04	96
Fubá de Milho	0	0,30± 0,01	-
	3	3,00± 0,03	90
	15	14,7± 0,02	96
Caule de Feijão	0	1,50± 0,02	-
	3	4,50± 0,01	100
	15	15,6± 0,02	94
Folha de Feijão	0	2,10± 0,02	-
	3	4,8± 0,01	90
	15	15,9± 0,03	92
Folha de Couve	0	0,60± 0,01	-
	3	3,60±0,01	100
	15	14,1± 0,01	90

Amostras de água	Quantidade de Cd (II) (µg L^{-1})		Rec. (%)
	Adicionada (µg L^{-1})	Encontrada (µg L^{-1})	
Agua mineral 1	0	0,46± 0,01	105
	10	10,9± 0,03	
Água mineral 2	0	0,30± 0,01	91
	10	9,40± 0,02	
Água mineral 3	0	0,40± 0,01	94
	10	9,80± 0,02	
Água de torneira 4	0	< LD	92
	10	9,23± 0,01	

7.0. CONCLUSÃO

- ✓ O método desenvolvido mostrou-se simples, eficiente, rápido e de baixo custo, combinado com FAAS para a determinação de cadmio em alimentos;
- ✓ O método apresentou baixos LD e LQ;
- ✓ O uso do ultrassom para substituir o solvente dispersor e a utilização de pequenas quantidades de solvente orgânico torna o método proposto de baixo impacto ambiental e de acordo com os princípios da química verde;
- ✓ O procedimento foi aplicado na determinação de cádmio em amostras de farinha de milho, feijão, couve e água mineral encontrando valores entre 0,30 a 2,10 µg kg^{-1} para as amostras de alimentos e 0,3 a 0,46 µg L^{-1} para as amostras de água.

8.0. REFERÊNCIAS

1.TAVARES, A. D. **Determinação de Cádmio e Chumbo em Alimentos e Bebidas Industrializados por Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica.** Tese (Doutorado), Universidade Federal da Paraíba, (2010).

2. ROCHA, A. F. **Cádmio, Chumbo, Mercúrio – A problemática destes metais pesados na Saúde Pública.**Curso de Ciencias da Nutrição, Universidade do Porto. (2009).

3.CARDOSO, L. M. N.; ALICE, A. M. **Ecotoxicologia do cádmio e seus compostos.** Caderno de referência ambiental. V.6, 122.p. (2001).

4. **Teores máximos de cádmio nos géneros alimentícios.** Regulamento **(**UE) Nº488/2014 da comissão de 12 de maio de 2014.

5. **Cobalto e seus compostos.** Ficha de informações toxicológicas – FIT, Janeiro de 2012 – CETESB.

6.CADORE, S.; MATOSO, É.; SANTOS, M. C. **A espectrometria atômica e a determinação de elementos metálicos em material polimérico**. Quimica Nova, V.3, p.1533-1542. (2008).

7. MARAGHEH, M. G. **Ionic liquids for simultaneous preconcentration of some lanthanoids using dispersive liquid-liquid microextraction technique in uranium dioxide powder**. Environ.Science & Technology, V.43, p.1947-1951. (2009).

8. SHAMSIPUR, M.; RAMEZANI, M. **Selective determination of ultra trace amounts of gold by graphit furnace atomic absorption spectrometry after dispersive liquid-liquid microextraction.**Talanta, V.75, p.294-300. (2008).

9. MASERI, P, H.; **Combination of dispersive liquid-liquid microextraction with flame atomic absorption spectrometry using microsample introduction for determination of lead in water samples.**Analytica.Chimica.Acta, V.610, p.135-141. (2008).

10. NOMURA, C. S.; SILVA, C. S.; OLIVEIRA, P. V. **Análise direta de sólidos por espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite**. Quimica Nova, V.31, p.104-113.(2008).

11. BARRA, C.M.; SANTELLI, R. E.; ABRÃO, J.J; GUARDIA, M. **Especiação de arsênio - Uma revisão.** Química nova, V. 23, p.1-13. (2000).

12. FERREIRA, C. L.; **C**AMORIN, F. A. C.; LOBO, I. P.**Espectrometria de absorção atômica: o caminho para determinações multi-elementares.** Química nova, V. 31, p.1784-1790. (2008).

13. NARIN, I. **The uses of 1-(2-pryridylazo) 2-naphtol (PAN) impregnated Ambersorb 563 resin on the solid phase extraction of traces heavy metal ions and their determinations by atomic absorption spectrometry.**Talanta, V.60, p.2015-221. (2003).

14. TEIXEIRA, V. G.; COUTINHO, F. M.; GOMES, A. S. **Resinas Poliméricas para Separação e Pré-Concentração de Chumbo**. Química Nova, V.27, p.754-762. (2004).

15. QUEIROZ, S. C.; MELO, L. F.; JARDIM, I. C. **Novos sorventes baseados em poli (metiloctilsiloxano) sobre sílica para uso em extração em fase sólida.**Química Nova, V.29. (2006).

16. ESCALEIRA, L. A. **Extração e Pré-Concentração no Ponto Nuvem para a determinação de Metais em Águas Salinas Por Espectrometria de Emissão Ótica com Fonte de Plasma Indutivamente Acoplado**. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal Fluminense, Niterói (2005).

17. SONIA C. N.; QUEIROZ, C. H. **Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica.**Quimica Nova, V.24. (2000).

18. JEANNOT, M. **Solvent Microextraction into Single Drop**. Analitical Chemistry, V.68, p.2236-2240. (1996).

19. GHIASVAND, A. **Homogeneous liquid-liquid extraction method for the selective separation and preconcentration of ultra trace molybdenum**. Talanta, V.66, p. 912-916. (2005).

20. CRISTIAN, D.; SANZ, J.; CAMARA, C. **Recent develolopments in solide-phase microextractioncoatings and related techniques.**Journal.Chomatography. V.1103, p.183-192. (2006).

21. REZAEE, M. E. **Determination of organic compounds in water using dispersive liquid´liquid microextraction.**Journal of Chromatography A. V.1116, p.1-9. (2006).

22. BALIZA,P. T, L.; LEMOS, V. **A procedure for determination of cobaltin water samples affer dispersive liquid-liquid microextraction**. Microchemical journal, V.93, p.220-224. (2009).

23. DADFARNIA, S.; HAJI, S. A.; AMIRKAVEI, M. **Ultrasound-assisted emulsification-solidied floating organic drop microextraction combined with flow injection-flame atomic absorption spectrometry for the determination of palladium in water samples**. Turkish Journal of Chemistry. V.37, p.746-755. (2013).

24. CHENG, K. L., UENO, K.; IMAMURA, T. **Handbook of Organic Analytical Reagents, Second Edition, Boca Raton, Florida**: CRC Press, V.84, 620.p. (1992).

25. LI, J. C.; ZHANG, J.W.; WANG. **Ultrasound-Assisted Emulsification Solidified Floating Organic Drop Microextraction for the Determination of Trace Cadmium in Water Samples by Flame Atomic Absorption Spectrometry**. Journal of the Brazilian Chemical Society. V.22, p.446-453. (2011).

26. REZENDE, H. C. **Pré-Concentração por Extração em Ponto Nuvem Para Determinação de Cádmio em Amostras de Bebidas por Espectrometria de Absorção Atômica com Forno Tubular na Chama e Aerossol Térmico**. Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal de Uberlânida, Uberlânida. (2010).

27. FORTE, S. S. **Avaliação de fungos na biotransformaçãoestereosseletiva da hidroxizina e obtenção do metabólito quiral e ativo Cetirizina.** Dissertação (Mestrado em Química), Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, São Paulo (2013).

28.BRANDÃO, G. C. **Estratégias alternativas de preparo de amostras para a determinação de metais em alimentos por Espectrometria de Absorção Atômica em Chama.** Dissertação (Mestrado em Química), Universidade Federal da Bahia, Salvador (2010).

29. BEZERRA, M. D. **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 (Mestrado em Química), Universidade Federal da Bahia, Salvador (2003).

30. ZEID, A.; MOHAMED, H.E.; YILMAZ, M. S. **Solid phase extraction of Cd(II), Pb(II), Zn(II) and Ni(II) from food samples using multiwalled carbon nanotubes impregnated with 4-(2-thiazolylazo) resorcinol**. Microchimica Acta.V.117.p.397- 403. (2012).

31. MA. J.J.; DU, X.; ZHANG, J.W.; LI, J.C.; WANG, L.Z. **Ultrasound-assisted emulsification–microextraction combined with flame atomic absorption spectrometry for determination of trace cadmium in water samples.**Talanta, V.4, p. 80-98. (2009).

32. SILVA, E. D.; CORREIA, L. O.; SANTOS, L. O.; VIEIRA, E. V. D.; LEMOS, V. A. **Dispersive liquid-liquid microextraction for simultaneous determination of cadmium, cobalt, lead and nickel in water samples by inductively coupled plasma optical emission spectrometry**. MicrochimicaActa, V. 178, p. 269-275. (2012).

33. MAHMOUD, C.; MOHAMMAD, E.S.; SAEID, A.; MINA, A. **Vortex-assisted ionic liquid microextraction coupled to flame atomic absorption spectrometry for determination of trace levels of cadmium in real samples.** Journal of the Brazilian Chemical Society. V. 4, p. 35-41. (2013).

34. RIVIER.C , D. Roudil C. R. **Validation of analytical methods for nuclear spent fuel reprocessing.**Elsevier.V.72, p.115-118. (2014).