

# UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA (UESB) PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA (PPGQUI)

LUCILIA ALVES MEIRA

Desenvolvimento de método analítico baseado na microextração líquidolíquido dispersiva assistida por ultrassom utilizando 5-(4dimetilaminobenzildeno) rodanina para pré-concentração de cádmio e zinco

> JEQUIÉ-BA MARÇO-2016

# LUCILIA ALVES MEIRA

Desenvolvimento de método analítico baseado na microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom utilizando 5-(4dimetilaminobenzildeno) rodanina para pré-concentração de cádmio e zinco

> Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química.

Área de concentração: Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Fábio de Souza Dias

JEQUIÉ-BA MARÇO/2016 Meira, Lucilia Alves.

M451 Desenvolvimento de método analítico baseado na microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom utilizando 5-(4-dimetilaminobenzildeno) rodanina para a préconcentração de cádmio e zinco/Lucilia Alves Meira.- Jequié, UESB, 2016.

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

Dissertação de Mestrado (Pós-graduação em Química)-Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2016. Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Fábio de Souza Dias.

1. Metais – Microextração 2. Metais (desenvolvimento de método analítico) – 5-(4dimetilaminobenzildeno) rodanina I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia II. Título.

#### CDD - 543

# LUCILIA ALVES MEIRA

Desenvolvimento de método analítico baseado na microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom utilizando 5-(4-dimetilaminobenzildeno) rodanina para pré-concentração de cádmio e zinco

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

DISSERTAÇÂO APROVADA EM: 29/03/2016

Comissão Examinadora:

20100

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

Prof. Dr. Valfredo Azevedo Lemos (UFBA, Salvador-BA, 2001)

Profa. Dra. Luana Novaes Santos (UFSCar, São Carlos-SP, 2012)

Dedico essa dissertação à todas as pessoas (parentes, amigos e professores) que direta ou indiretamente contribuíram para o seu desenvolvimento.

## AGRADECIMENTOS

É chegado o momento, momento de AGRADECER a todos aqueles que contribuíram para que esse trabalho chegasse até aqui.

Agradeço inicialmente a DEUS... Sem TI SENHOR tudo seria mais complicado, as angústias seriam maiores e os erros mais difíceis de resolver. Obrigada DEUS por renovar minhas forças a cada amanhecer. OBRIGADA SENHOR!

Agradeço a aquelas pessoas que são meu porto seguro, que me encorajam todos os dias, que fazem de mim sempre uma pessoa melhor, que são meus melhores AMI-GOS... Obrigada a vocês MÃE, PAI, IRMÃ e IRMÃO (cunhado), só vocês são capazes de mensurar o tamanho da alegria por essa conquista.

Agradeço a todos os professores que direta ou indiretamente deram sua contribuição para a realização desse trabalho, em especial aos professores MARCOS BE-ZERRA e VALFREDO LEMOS... Vocês não contribuíram apenas com o espaço físico, mais que isso, sempre contribuíram com o conhecimento... Conhecimento esse que levarei comigo para toda VIDA.

Agradeço ao meu ORIENTADOR, FÁBIO DE SOUZA DIAS... Apesar da distância geográfica o senhor cooperou de forma grandiosa, obrigada pelas importantes orientações. Os conhecimentos aqui adquiridos, certamente não serão esquecidos!

Agradeço aos colegas do laboratório de química analítica I e II da UESB... Gisseli, Analú, Márcio e em especial ao colega Willian... Sua colaboração meu CARO foi super requisitada e de fundamental importância.

Agradeço aos colegas de mestrado, Valéria, João, Manuela, Mirela, Geovane, Elizabeth, Leandro e Márcio pelos belos momentos vividos JUNTOS... Fico na expectativa de vivê-los novamente em um futuro bem próximo. Deixo um agradecimento especial a Jeferson, que é aquele AMIGO para toda HO-RA, que sempre se mostrou a disposição para AJUDAR e a minha amiga Vanessa que mesmo na distância sempre esteve presente... OBRIGADA MEUS QUERI-DOS!!!

Agradeço por fim a CAPES pela bolsa de mestrado concedida.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CONAMA- Conselho nacional de meio ambiente

ANVISA- Agência nacional de vigilância sanitária

SDME- Microextração com gota suspensa

HFME- Microextração em fase líquida com fibra oca

SFODME- Microextração com gota orgânica flutuante solidificada

DLLME- Microextração líquido-líquido dispersiva

USA DLLME- Microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom

PDR- 5-(4-dimetilaminobenzildeno) rodanina

PVC- Cloreto de polivinila

OMS- Organização mundial de saúde

ICP OES- Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado

ICP-MS- Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado

XRF- Fluorescência de raios-X

ET AAS- Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica

GF AAS- Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite

FAAS- Espectrometria de absorção atômica com chama

**UNS-ICP OES-** Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado com nebulização ultrassônica

LLE- Extração líquido-líquido

Br-PADAP- 2-(5-bromo-2-piridilazo)-5-dietilaminofenol

HPLC- Cromatografia líquida de alto desempenho

GC- Cromatografia a gás

DI-SDME- Microextração com gota suspensa por imersão direta

HS-SDME- Microextração com gota suspensa por headspace

LPME-SFO- Microextração em fase líquida baseada na gota orgânica flutuante soli-

dificada

**USAEME-** Microextração por emulsificação assistida por ultrassom

LD- Limite de detecção

LQ- Limite de quantificação

LRS- Faixas lineares

PF- Fator de pré-concentração

EF- Fator de enriquecimento
MSR- Metodologia de superfície de resposta
SPE- Extração em fase sólida
ANOVA- Analise de variância
PAN- 1-(2-piridilazo)-naftol

# LISTA DE FIGURAS

Figura 19. Curva analítica utilizando o sistema de pré-concentração por Figura 20. Curva analítica utilizando medida direta de Cd por FAAS......61 Figura 21. Avaliação da robustez do método ......63 Figura 23. Estudo do solvente dispersor e extrator na determinação de Zn por Figura 24. Otimização da concentração do reagente complexante 5-(4dimetilaminobenzildeno) rodanina......72 Figura 25. Otimização do volume do solvente extrator (tetracloreto de carbono).....73 Figura 27. Gráfico de Pareto gerado pelos resultados do planejamento fatorial de dois níveis fracionado......75 Figura 28. Gráfico de contorno (28A) e superfície de resposta (28B) para as variáveis concentração de NaCl e pH. .....77 Figura 29. Gráfico de contorno (29A) e superfície de resposta (29B) para as variáveis concentração de NaCl e tempo de sonicação......78 Figura 30. Curva analítica utilizando o sistema de pré-concentração por USA Figura 31. Comparação da curva analítica com adição de zinco presente em amostra de cachaça com a curva analítica convencional, utilizando o método de préconcentração em estudo......80

# LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> . Concentrações limites de cádmio para alguns alimentos24
Tabela 2. Concentração limite de zinco em alimentos e bebidas
Tabela 3. Pseudo-componentes e componentes originais utilizados no planejamento
de mistura com restrição50
Tabela 4. Planejamento de mistura com restrição para a pré-concentração de
cádmio por USA DLLME53
Tabela 5. Planejamento fatorial de dois níveis fracionado para seis variáveis (26-2)
para Cd, utilizando o procedimento de pré-concentração por microextração líquido-
líquido assistido por ultrassom, sob as condições ótimas: 200 $\mu L$ de PDR, 140 $\mu L$ de
CCl4 e 660 µL de metanol55
Tabela 6. Análise de variância para os efeitos calculados para os dados
representados na tabela 556
Tabela 7. Valores codificados, valores reais e suas respectivas respostas para a
matriz Doehlert
Tabela 8. Analise de material de referencia certificado60
Tabela 9. Características analíticas do método61
Tabela 10. Teste de interferentes para cádmio62
Tabela 11. Aplicação da DLLME assistida por ultrassom em amostras de água
mineral, torneira, de rio e sedimento do Rio de Contas, Jequié-BA64
Tabela 12. Comparação da USA DLLME com outros métodos de microextração
líquido-líquido reportados na literatura para o cádmio65
Tabela 13. Condições do GF AAS utilizadas no estudo de validação da USA DLLME
para determinação de zinco em cachaça69
Tabela 14. Programa de aquecimento do forno de grafite para a determinação de
zinco70
Tabela 15. Condições iniciais do método de USA DLLME para determinação de
zinco70
Tabela 16. Valores máximos e mínimos utilizados no planejamento fatorial de dois
níveis74
Tabela 17. Dados da ANOVA para o planejamento fatorial de dois níveis fracionado

INTR	ODUÇÃO	19
CAPI	TULO I- Referencial teórico	22
1.1	CÁDMIO E ZINCO: GENERALIDADES	23
	1.1.1.Cádmio	23
	1.1.2.Zinco	24
	1.1.3. Determinação de cádmio e zinco	26
1.2	MÉTODOS DE SEPARAÇÃO E PRÉ-CONCENTRAÇÃO BASEAD	OS NA
EX <sup>-</sup>	FRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO	28
	1.2.1.Extração líquido-líquido (LLE)	28
	1.2.2.Microextração com gota suspensa (SDME)	29
	1.2.3. Microextração em fase líquida com fibra oca (HF-LPME)	
	1.2.4. Microextração com gota orgânica flutuante solidificada (SFODME	)32
	1.2.5. Microextração por emulsificação assistida por ultrassom (USAEM	E)32
	1.2.6.Microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom (L DLLME)	JSA 33
1.3	CARACTERISTICAS DO AGENTE COMPLEXANTE	5-(4-
1.3. DIN	. CARACTERISTICAS DO AGENTE COMPLEXANTE IETILAMINOBENZILDENO) RODANINA	5-(4- 35
1.3. DIN	CARACTERISTICAS       DO       AGENTE       COMPLEXANTE         IETILAMINOBENZILDENO)       RODANINA	<b>5-(4-</b> <b>35</b> 37
1.3 DIN 1.4	CARACTERISTICAS DO AGENTE COMPLEXANTE IETILAMINOBENZILDENO) RODANINA 1.3.1.Complexos OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA	<b>5-(4-</b> 35 37 37
1.3 DIN 1.4	CARACTERISTICAS       DO       AGENTE       COMPLEXANTE         IETILAMINOBENZILDENO)       RODANINA	5-(4- 35 37 37 37
1.3 DIN 1.4	CARACTERISTICAS       DO       AGENTE       COMPLEXANTE         IETILAMINOBENZILDENO)       RODANINA	<b>5-(4-</b> <b>35</b> <b>37</b> <b>37</b> <b>37</b> <b>38</b> <b>3</b> 9
1.3 DIN 1.4	CARACTERISTICAS       DO       AGENTE       COMPLEXANTE         IETILAMINOBENZILDENO)       RODANINA	<b>5-(4-</b> <b>35</b> <b>37</b> <b>37</b> <b>37</b> <b>38</b> <b>3</b> 9 <b>4</b> 0
1.3 DIN	CARACTERISTICAS       DO       AGENTE       COMPLEXANTE         IETILAMINOBENZILDENO) RODANINA       1.3.1.Complexos       1.3.1.Complexos         0TIMIZAÇÃO MULTIVARIADA       1.4.1.Planejamento de misturas       1.4.2.Planejamento fatorial de dois níveis         1.4.3.Metodologia de superfície de resposta       1.4.4.Matriz de Doehlert	<b>5-(4-</b> <b>35</b> <b>37</b> <b>37</b> <b>38</b> <b>3</b> 9 40 42
1.3 DIN 1.4 CAPI	CARACTERISTICAS       DO       AGENTE       COMPLEXANTE         IETILAMINOBENZILDENO)       RODANINA       1.3.1.Complexos         1.3.1.Complexos       0TIMIZAÇÃO MULTIVARIADA       1.4.1.Planejamento de misturas         1.4.1.Planejamento de misturas       1.4.2.Planejamento fatorial de dois níveis       1.4.3.Metodologia de superfície de resposta         1.4.3.Metodologia de superfície de resposta       1.4.4.Matriz de Doehlert       1.4.4.Matriz de Doehlert         TULO II. Aplicação da microextração líquido-líquido dispersiva assist som para pré-concentração de cádmio em amostras ambientais       1.4.1.	<b>5-(4-</b> <b>35</b> <b>37</b> <b>37</b> <b>38</b> <b>3</b> 9 40 42 ida por 45
1.3 DIN 1.4 CAPI ultras 2.0.	CARACTERISTICAS       DO       AGENTE       COMPLEXANTE         IETILAMINOBENZILDENO)       RODANINA       1.3.1.Complexos         1.3.1.Complexos       0TIMIZAÇÃO MULTIVARIADA       1.4.1.Planejamento de misturas         1.4.1.Planejamento de misturas       1.4.2.Planejamento fatorial de dois níveis       1.4.3.Metodologia de superfície de resposta         1.4.3.Metodologia de superfície de resposta       1.4.4.Matriz de Doehlert       1.4.4.Matriz de Doehlert         TULO II. Aplicação da microextração líquido-líquido dispersiva assist som para pré-concentração de cádmio em amostras ambientais       PARTE EXPERIMENTAL.	<b>5-(4-</b> <b>35</b> <b>37</b> <b>37</b> <b>38</b> <b>3</b> 9 40 42 ida por 45 46
1.3. DIN 1.4. CAPI <sup>*</sup> ultras 2.0. <b>2.1</b> .	CARACTERISTICAS       DO       AGENTE       COMPLEXANTE         IETILAMINOBENZILDENO)       RODANINA       1.3.1.Complexos.         1.3.1.Complexos.       OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA       1.4.1.Planejamento de misturas         1.4.1.Planejamento de misturas       1.4.2.Planejamento fatorial de dois níveis         1.4.3.Metodologia de superfície de resposta       1.4.3.Metodologia de superfície de resposta         1.4.4.Matriz de Doehlert       TULO II. Aplicação da microextração líquido-líquido dispersiva assist som para pré-concentração de cádmio em amostras ambientais         PARTE EXPERIMENTAL       Instrumentação	5-(4- 35 37 37 38 39 40 42 ida por 45 46 46
1.3. DIN 1.4. CAPI ultras 2.0. 2.1. 2.2.	CARACTERISTICAS       DO       AGENTE       COMPLEXANTE         IETILAMINOBENZILDENO) RODANINA       1.3.1.Complexos       1.3.1.Complexos         1.3.1.Complexos       0TIMIZAÇÃO MULTIVARIADA       1.4.1.Planejamento de misturas         1.4.1.Planejamento de misturas       1.4.2.Planejamento fatorial de dois níveis         1.4.3.Metodologia de superfície de resposta       1.4.3.Metodologia de superfície de resposta         1.4.4.Matriz de Doehlert       1.4.4.Matriz de Doehlert         TULO II. Aplicação da microextração líquido-líquido dispersiva assist som para pré-concentração de cádmio em amostras ambientais         PARTE EXPERIMENTAL         Instrumentação         Reagentes	5-(4- 35 37 37 38 39 40 40 45 46 46 46
1.3. DIN 1.4. CAPI ultras 2.0. 2.1. 2.2. 2.4.	CARACTERISTICAS       DO       AGENTE       COMPLEXANTE         IETILAMINOBENZILDENO) RODANINA       1.3.1.Complexos       1.3.1.Complexos         1.3.1.Complexos       OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA       1.4.1.Planejamento de misturas         1.4.2.Planejamento fatorial de dois níveis       1.4.2.Planejamento fatorial de dois níveis         1.4.3.Metodologia de superfície de resposta       1.4.4.Matriz de Doehlert         TULO II. Aplicação da microextração líquido-líquido dispersiva assist som para pré-concentração de cádmio em amostras ambientais       PARTE EXPERIMENTAL         Instrumentação       Reagentes       Soluções	5-(4- 35 37 37 38 39 40 40 42 ida por 45 46 46 46 46

# SUMÁRIO

2.4.3. Solução de cádmio (20 μg L <sup>-1</sup> )	47
2.4.5. Solução de PDR	47
2.4.6. Solução tampão amoniacal (pH 8,5-10,0)	47
2.4.7. Solução tampão fosfato (pH 6,5-8,0)	47
2.4.8. Solução tampão acetato (pH 4,5-6,0)	48
2.5. Preparo das amostras	48
2.6. Digestão parcial das amostras	48
2.7. Procedimento de microextração líquido-líquido dispersiva assistid	la por
ultrassom para pré-concentração e determinação de cádmio	48
2.8. OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA	49
2.8.1. Planejamento de mistura com restrição	49
2.8.2. Planejamento fatorial e Matriz Doehlert	50
2.9. RESULTADOS DE DISCUSSÃO	51
2.9.1. Seleção do solvente extrator e dispersor	51
2.9.2. Planejamento de mistura com restrição	52
2.9.3. Planejamento fatorial de dois níveis fracionado	54
2.9.4. Determinação das condições críticas usando a matriz Doehlert	57
2.9.5.Validação do método analítico	59
2.9.5.1. Material de referencia certificado	59
2.9.6. Características analíticas do método	60
2.9.7. Interferência de outros íons metálicos no procedimento proposto	62
2.9.8.Teste de robustez	63
2.9.9. Determinação de cádmio em amostras de água e sedimento	63
CAPITULO III. Microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrasson a pré-concentração de zinco em amostras de cachaça e determinação por FAA	n para S66
3.0. PARTE EXPERIMENTAL	67
3.1. Instrumentação	67
3.2. Soluções	67
3.2.1. Solução padrão de zinco (100 μg L <sup>-1</sup> )	67
3.2.2. Solução de zinco (20 μg L <sup>-1</sup> )	67
3.3. Preparo das amostras	67

3.4. Procedimento de microextração líquido-líquido dispersiva assistida por
ultrassom para pré-concentração e determinação de Zn67
3.5. Aplicação da microextração líquido-líquido dispersiva assistida por
ultrassom em amostras de cachaça68
3.5. Otimização multivariada68
3.6. Planejamento fatorial e Matrix Doehlert69
3.7. Validação do método69
3.8. RESULTADOS DE DISCUSSÃO70
3.8.1.Otimização da composição do solvente extrator e dispersor71
3.8.2. Estudo da concentração do 5-(4-dimetilaminobenzildeno) rodanina71
3.8.3.Estudo do volume do solvente extrator72
3.8.4. Estudo do volume do dispersor (Etanol)73
3.8.5. Planejamento fatorial de dois níveis74
3.8.6.Matriz Doehlert77
3.8.7.Validação do método analítico78
3.8.8.Figuras de mérito78
3.7.1.Interferentes81
3.7.2. Aplicação81
CAPITULO IV. Conclusões
4.1. CONCLUSÕES85
REFERÊNCIAS

Desenvolvimento de método analítico baseado na microextração líquidolíquido dispersiva assistida por ultrassom utilizando 5-(4dimetilaminobenzildeno) rodanina para pré-concentração de cádmio e zinco

Autora: Lucilia Alves Meira Orientador: Prof. Dr. Fábio de Souza Dias

**RESUMO:** No presente trabalho foram desenvolvidas estratégias analíticas baseadas na microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom para a préconcentração de metais em amostras de água, sedimento de rio e cachaça, empregando a determinação por FAAS. Primeiramente, realizou-se a otimização dos componentes da mistura da USA DLLME e em seguida um planejamento experimental de dois níveis fracionado (26-2) para avaliar a significância das variáveis, pH, concentração do tampão, tempo de centrifugação, tempo de sonicação, concentração de NaCI e temperatura. As variáveis estatisticamente significativas (pH, concentração de NaCl e tempo de sonicação) foram otimizadas utilizando matriz Doehlert a partir da qual foram determinadas as seguintes condições experimentais: pH 9,0; concentração de NaCl, 4 % (m/v) para cádmio e 5% (m/v) para zinco, o tempo de sonicação ótimo foi 5,0 min. Os limites de deteccão e quantificação foram 0,23 µg L<sup>-1</sup> e 0,76 µg L<sup>-1</sup> para cádmio. Para zinco o limite de detecção foi 0,11 µg L<sup>-1</sup> e o limite de guantificação foi 0,34 µg L<sup>-1</sup>. A exatidão foi confirmada pela análise de materiais de referência certificados de água (APS 1071-Drinking water standard solution), sedimento (CRM016-50G-Fresh water sediment), ostra (NIST 1566b - Oyster tissue) e folha de Tomate (NIST 1573a-Tomato leaves), teste de adição padrão, que apresentou recuperações entre 90 e 110 % tanto para cádmio em amostras ambientais, como para zinco em amostras de cachaça e através de análise em diferentes técnicas espectroanalíticas. O método foi aplicado para a análise de cádmio em água de rio, de consumo humano e sedimentos, assim como para análise de zinco em cachaça. A concentração de cádmio variou entre 1,46-4,60 µg L<sup>-1</sup> para as amostras de água e 0,90-1,23 µg g<sup>-1</sup> para amostras de sedimentos. Para as amostras de cachaça a concentração de zinco variou de 1,34-12,46 µg L<sup>-1</sup>.

Palavras chave: microextração, 5-(4-dimetilaminobenzildeno) rodanina, metais

Development of analytical method based at dispersive liquid-liquid microextraction assisted by ultrasound using 5-(4-dimethylaminobenzylideno) rhodanine for preconcentration of cadmium and zinc

Authoress: Lucilia Alves Meira Advisor: Prof. Dr. Fábio de Souza Dias

**ABSTRACT:** A dispersive liquid-liquid microextraction assisted by ultrasound (USA DLLME) procedure has been developed for preconcentration of cadmium and zinc by flame atomic absorption spectrometry (FAAS). The proportions of a mixture composed of a disperser, extractor solvents and complexing reagent was optimized using a constrained mixture design. The variables pH, concentration of NaCl and sonication time were optimized using a Doehlert matrix. The method presented precision\_expressed as relative standard deviation (RSD) of 2.92 and 3.38% for 50 and 20 µg L<sup>-1</sup>, respectively, the detection limit was 0.23 µg L<sup>-1</sup> for cadmium and 0.11 µg L<sup>-1</sup> for zinc. The accuracy was confirmed by the analysis of certified reference materials and analysis employing another analytical technique. The Spike test showed recoveries between 90 and 110%. The method was applied to determination of cadmium in river water, drinking water and sediment, the concentration of cadmium ranged from 0.25-2.21 µg L<sup>-1</sup> for water samples and from 0.90 to 1.23 µg g<sup>-1</sup> for sediment samples. The zinc was determinated in sugar cane spirit, the concentration of zinc ranged from 1.34-12.46 µg L<sup>-1</sup>.

Keywords: microextraction, 5-(4-dimethylaminobenzylideno) rhodanine, metals

## INTRODUÇÃO

O cádmio é um metal tóxico e pode ser considerado perigoso à saúde humana [1] e é encontrado comumente em baterias de veículos, pastas de limpeza, em componente utilizados nas indústrias metalúrgicas, pigmentos de tintas, vernizes e em fertilizantes fosfatados [2]. O uso do cádmio nas indústrias tem sido um dos principais responsáveis pelo aumento significativo da contaminação por cádmio no meio ambiente (rios, lagos, florestas etc.). Por outro lado, existem fontes naturais de contaminação, como, emissões de gases de atividade vulcânica, queima de florestas, transporte pelo vento de partículas de fuligem e solos contaminados [3]. A Organização Mundial de Saúde estabelece de 3,0 a 10  $\mu$ g L<sup>-1</sup> como limite máximo permitido de cádmio em amostras de água. Em sedimento o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) estabelece de 0,6 a 3,5  $\mu$ g L<sup>-1</sup> para o mesmo elemento.

Nos seres vivos o cádmio apresenta efeitos carcinogênicos, além de danos hepáticos, renais, pulmonares e até neurocomportamentais através de ações no sistema nervoso central [4].

O zinco por sua vez é um metal essencial. Se apresenta naturalmente nos solos, com concentrações variáveis, desde traço a 900 mg kg<sup>-1</sup>. A maioria das rochas terrestres contém zinco, sendo essas: basalto, granito, xistos, argilitos dentre outras [20]. Como fonte antropogênica é possível encontrar zinco no meio ambiente através da atividade de mineração, uso do lodo de esgoto, de resíduos e subprodutos industriais, além do uso de fertilizantes agroquímicos [21]. O zinco possui um papel muito importante para as plantas, microorganismos e animais, pois faz parte de enzimas como a anidrase carbônica [22]. Por outro lado, apesar do zinco ser um elemento essencial, altas concentrações no organismo humano pode levar a intoxicação, causando assim, distúrbios no metabolismo energético, alteração na resposta do sistema imunológico e anorexia [23]. Em bebidas alcoólicas como as destiladas e as fermento-destiladas o teor máximo permitido de zinco pela ANVISA é de 5,0 mg L<sup>-1</sup>.

Dessa forma, se faz necessário o monitoramento dos níveis de cádmio e zinco em amostras de alimentos, bebidas e ambientais. No entanto, existem amostras em que as quantidades de cádmio e zinco são muito pequenas, o que dificulta a quantificação do elemento empregando-se algumas técnicas analíticas. Necessitando assim de um tratamento prévio, que pode envolver procedimentos de separação e préconcentração.

Os procedimentos de microextração em fase líquida vêm sendo comumente utilizados para essa finalidade, por serem simples, de baixo custo, rápidos e ambientalmente limpos, por se tratarem de procedimentos que utilizam uma quantidade muito pequena de solventes orgânicos, diferentemente da extração líquido-líquido tradicional [5]. Apresentam grande sensibilidade, especificidade na extração e maior capacidade de automação quando comparada com a extração líquido-líquido tradicional.

Tem sido desenvolvidos vários tipos de microextração em fase líquida, dentre as mais conhecidas destacam-se a microextração em fase líquida com gota suspensa (SDME), microextração em fase líquida com fibra oca (HFME), microextração com gota orgânica flutuante solidificada (SFODME) e microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) [5].

A microextração líquido-líquido dispersiva se trata de uma miniaturização da extração líquido-líquido tradicional. Utiliza pequenos volumes de uma mistura de componentes, contendo um reagente complexante, um solvente dispersor e um solvente extrator, que são rapidamente injetados na amostra aquosa pelo uso de uma seringa, formando então uma solução turva no tubo de ensaio que é agitada suavemente e posteriormente centrifugada para que as partículas finas do solvente extrator possam então ser depositadas no fundo do tubo de ensaio [6]. Para uma maior eficiência da DLLME é possível utilizar uma etapa de sonicação antes da etapa de centrifugação, pois as ondas ultrassônicas aumentam a eficiência da extração, passando assim a ser chamada de microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom (USA DLLME).

As técnicas de espectrometria atômica podem ser combinadas com DLLME para determinação de analitos em baixa concentração em muitas amostras.

Na otimização de procedimentos analíticos, existe a necessidade de ajustar as variáveis no estabelecimento das melhores condições para a realização das análises. Este processo pode consumir muito tempo e reagentes, caso uma otimização univariada seja realizada. Outro problema da estratégia univariada é que a mesma não considera as interações entre as variáveis, mas os procedimentos que envolvem técnicas de otimização multivariada estão sendo muito utilizados no desenvolvimento de procedimentos analíticos, porque eles são mais econômicos e eficazes, além

de permitir que mais do que uma variável seja otimizada ao mesmo tempo [7]. O planejamento de misturas consiste em ajustar um modelo polinomial matemático para uma superfície de resposta obtida de acordo com um delineamento experimental específico, conhecido como planejamento estatístico de mistura. Outros procedimentos de otimização de métodos analíticos são o planejamento fatorial completo de dois níveis, composto central, Box-Behnken e matriz Doehlert, que são metodologias de superfície de resposta (RSM) [8].

Além disso, para que ocorra a extração do analito e posterior quantificação por técnicas analíticas adequadas, geralmente faz-se o uso de agentes quelantes, que se ligam ao íon metálico formando um complexo ou quelato estável capaz de ser extraído da fase aquosa para o pequeno volume de fase orgânica. O 5-(4dimetilaminobenzildeno) rodanina (PDR) é um reagente pouco estudado, porém bastante promissor, pois é insolúvel em água, solúvel em dioxano, etanol e ácidos minerais concentrados e levemente solúvel em acetona, clorofórmio e benzeno [61]. Não há nenhum estudo do PDR como complexante para o cádmio e zinco utilizando o método de microextração líquido-líquido dispersiva. Por isso, esse trabalho propõe o uso da microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom com metodologia de otimização multivariada (planejamento de mistura com restrição e Dohelert) baseada no quelante 5-(4-dimetilaminobenzildeno) rodamina, para a préconcentração de cádmio em águas e sedimentos do rio de Contas da região de Jequié e zinco em amostras de cachaça comercializados na cidade de Jequié/Bahia/Brasil. CAPITULO I- Referencial teórico

### 1.1. CÁDMIO E ZINCO: GENERALIDADES

A natureza é composta por uma grande variedade de elementos químicos, que podem ser classificados como essenciais ou não essenciais. Alguns desses elementos são considerados tóxicos. Entretanto, um elemento não é considerado tóxico em qualquer concentração, pois, alguns deles como ferro, manganês, zinco e cobre são nutrientes para as plantas e seres humanos. É necessário que se apresentem em uma concentração limite para que se torne prejudicial. Existem cinco elementos que se destacam pelo potencial de toxicidade, sendo estes, níquel, cádmio, chumbo, cromo e mercúrio, sendo tóxicos para as plantas, animais e seres humanos [9].

#### 1.1.1. Cádmio

O Cádmio é um metal branco-azulado, de dureza considerável e pode facilmente ser transformado em folhas e fios delgados. Pertence ao grupo dos metais de transição, localizado no grupo 12 da tabela periódica, possui número atômico 48, massa atômica 112,4u. Ocorre na natureza sob a forma de sulfetos, óxidos, hidróxidos, cloretos e fluoretos, todos contendo especificamente cádmio no estado de oxidação 2+. [10].

É possível encontrar cádmio em rejeito de minério, indústrias eletrometalúrgicas, ligas, soldas, baterias de Cd-Ni, lodo de esgoto entre outras fontes antropogênicas [2]. Nos últimos 50 anos o cádmio vem sendo amplamente utilizado em escala industrial em uma variedade de aplicações, como na indústria elétrica e galvânica devido a sua propriedade não corrosiva, na produção de cloreto de polivinila (PVC) como estabilizante, nas indústrias de plástico e vidro como pigmento, além de fazer parte de várias ligas metálicas [11].

O cádmio é um dos metais mais poluentes ao solo e não possui nenhum papel conhecido no processo biológico [12]. Possui pouca afinidade com os coloides do solo, como consequência pode ser absorvido pelas raízes das plantas e uma quantidade muito grande pode ser acumulada nos tecidos vegetais, e dessa forma pode ser inserida na cadeia alimentar, e assim afetar a saúde humana [13]. O cádmio é acumulativo no organismo humano, ficando retido no fígado, nos tecidos dos rins com um tempo de meia vida de 20-30 anos. Os principais sintomas da contaminação em seres humanos é a calcificação dos rins, deformação óssea, doenças cardiovasculares, retardamento do crescimento e câncer [14].

No Japão centenas de pessoas foram intoxicadas por cádmio, através do consumo de arroz, que foram cultivados por irrigação com água de um rio contaminado devido à atividade mineradora [15]. No Brasil, na cidade de Três Marias do estado de Minas Gerais, o solo da região foi contaminado por cádmio devido à um vazamento de uma mineradora presente na região [16]. Na década de 90 a região do Vale do Paraíba, foi contaminada por cádmio por uma indústria, localizada em Caçapava, SP, que desde 1979 é produtora de lingotes de chumbo, através da reciclagem de resíduos industriais e de baterias [17].

A organização mundial de saúde (OMS) estabelece de 3,0 a 10  $\mu$ g L<sup>-1</sup> como limite máximo permitido de cádmio em água para o consumo humano, e em sedimento o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) estabelece como limite máximo permitido de 0,6 a 3,5  $\mu$ g g<sup>-1</sup> [27]. Na Tabela 1 são apresentados os limites de cádmio permitido para alguns alimentos.

CATEGORIAS	Limite máximo (mg kg <sup>-1</sup> )
Hortaliças Frutos com folhas em bainha	0,05
Hortaliças leguminosas	0,10
Raízes e tubérculos	0,10
Chá, erva mate, e outros vegetais para infusão	0,40
Peixes crus, congelados ou refrigerados	0,05

Tabela 1. Concentrações limites de cádmio para alguns alimentos

Fonte: ANVISA [18], adaptada.

## 1.1.2. Zinco

O zinco é um metal essencial, de número atômico 30, massa atômica 65,4u, sólido à temperatura ambiente, localizado no grupo 12 da tabela periódica, número de oxidação 2+ e classificado como um metal de transição. Se apresenta naturalmente nos solos, com concentrações variando desde traço a 900 mg kg<sup>-1</sup>. A maioria das rochas terrestres contém zinco, sendo essas: basalto, granito, xistos, argilitos dentre outras [19]. Como fonte antropogênica é possível encontrar zinco no meio ambiente através da atividade de mineração, uso do lodo de esgoto, de resíduos e subprodutos industriais, além do uso de fertilizantes agroquímicos [20]. Grande quantidade de alimentos e bebidas podem apresentar zinco em sua composição, seja por meio de absorção natural do solo ou por processos industriais. O setor industrial é um grande agente causador de contaminações por zinco, seja pelo descarte do resíduo industrial ou pelos próprios processos de produção, seja de alimentos ou bebidas (sucos, destilados, vinhos etc.).

O zinco possui um papel muito importante para as plantas, microorganismos e animais, pois faz parte de enzimas como a anidrase carbônica. Não é acumulativo no organismo, apenas uma pequena quantidade ingerida pelo homem é absorvida, sendo o restante eliminado pelas fezes. Nas plantas o zinco é absorvido facilmente, devido a sua solubilidade, mobilidade e disponibilidade para as plantas com isso ocorrem a regulação dos micronutrientes nas plantas, que por sua vez, absorvem os micronutrientes por atração eletrostática na dupla camada difusa vegetal e também pela formação de complexos na superfície [21].

Em plantas como o feijoeiro, por exemplo, ocorre uma grande absorção de zinco pelas raízes, pelas sementes e também pelos órgãos reprodutores.

Por outro lado, apesar do zinco ser um elemento essencial, altas concentrações no organismo humano pode levar a intoxicação, causando assim, distúrbios no metabolismo energético, alteração na resposta do sistema imunológico e anorexia [22].

A organização mundial de saúde recomenda uma concentração de 5,0 mg L<sup>-1</sup> em água potável, já que concentrações superiores podem causar depressão do sistema imunológico e sintomas gástricos no consumidor [23].

Em bebidas alcoólicas como as destiladas e as fermento-destiladas o teor máximo permitido de zinco pela ANVISA, assim como a água é de 5,0 mg L<sup>-1</sup>. Na Tabela 2 é apresentado um resumo da concentração limite permitida de zinco em bebidas e alimentos.

CATEGORIAS	Limite máximo (mg L <sup>-</sup> ')
Bebidas alcoólicas fermentadas	5,00
Bebidas alcoólicas fermento destiladas	5,00
Refrescos e refrigerantes	5,00
Sucos de frutas e xaropes naturais	25,00
Outros alimentos	50,00

Tabela 2. Concentração limite de zinco em alimentos e bebidas

Fonte: ANVISA [18], adaptada

#### 1.1.3. Determinação de cádmio e zinco

Várias técnicas analíticas podem ser utilizadas para a quantificação de cádmio e zinco em amostras ambientais [24] e de alimentos [25]. No entanto, algumas técnicas espectroanalíticas não apresentam sensibilidade suficiente para determinação destes analitos que podem estar presentes em concentração traço e/ou apresentam interferência devido a matriz da amostra [35].

As técnicas analíticas mais utilizadas para esses fins são: A espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), fluorescência de Raios-X (XRF), espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS) e espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS).

As técnicas baseadas em plasma indutivamente acoplado (ICP OES e ICP-MS) vem sendo aplicadas para determinação de cádmio e zinco, visto que, elas apresentam algumas vantagens, como: (1) determinação simultânea de metais em várias linhas espectrais, (2) excelente precisão e exatidão e (3) alta sensibilidade e ampla faixa dinâmica [26].

LARA e colaboradores determinaram cádmio e zinco em amostras de vinho provenientes de Mendonza na Argentina empregando a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado com nebulização ultrassônica (USN-ICP OES) como técnica de detecção. As concentrações de cádmio e zinco estavam entre 1,0-4,7 µg L<sup>-1</sup> e 24-130 µg L<sup>-1</sup> respectivamente. Os níveis encontrados são comparáveis aos teores determinados em vinhos provenientes de outras partes do mundo [27]. No entanto, as técnicas de ICP apresentam alguns problemas como:

- (1) Extinção do plasma provocado por análise direta de amostras com alto conteúdo de matriz orgânica;
- (2) Bloqueio do injetor devido à deposição de carbono a partir de oxidação incompleta da matriz orgânica;
- (3) Interferências isobáricas para técnica de ICP MS;

Visando determinações analíticas com um mínimo de preparo e manipulação da amostra uma alternativa é a utilização de técnicas que possibilitem a análise direta da amostra como a Fluorescência de Raio-X (XRF), que tem por finalidade a determinação do teor de um determinado elemento numa matriz, utilizando-a medida de intensidade de uma das linhas características emitidas pelo mesmo. É uma técnica multielementar, não destrutiva, além de ser de fácil automação e versátil. No entanto, é uma técnica que não apresenta sensibilidade desejável para a determinação de analitos em concentração traço [28].

MARTINS utilizou a técnica de fluorescência de raio-X para determinação multielementar, incluindo cádmio e zinco em amostras de sedimento do mangue do Rio Jundiaí. A abertura das amostras foi realizada com água régia. A preparação de pastilhas prensadas a partir do resíduo seco dos lixiviados permitiu sua análise na forma sólida [29].

Contrária a XRF, a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS), apresenta baixos níveis de interferências quando comparado às técnicas de ICP, permite a análise de elementos com baixas concentrações, geralmente, na faixa de µg L<sup>-1</sup>, possibilita a utilização de pequenos volumes da amostra, possui alta sensibilidade, maior que a do ICP OES. Por outro lado a ET AAS pode apresentar algumas desvantagens, como tempo e custo da análise relativamente alto [30].

Uma outra técnica espectroanalítica amplamente utilizada para a determinação de metais em diversas amostras é a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS), pois, além de se tratar de uma técnica analítica bem estabelecida há alguns anos, possui sensibilidade desejável e possibilita resultados efetivos quando comparados com outras técnicas analíticas [31].

Cádmio e zinco são facilmente determinados por FAAS, pois, essa técnica apresenta poucas interferências, que por sua vez são facilmente eliminadas.

PINTO e colaboradores determinaram zinco em 52 amostras de cachaça por FAAS, provenientes de produtores da região do Vale do Jequitinhonha, estado de Minas Gerais, Brasil. Testes de adição e recuperação do analito nas amostras apresentaram resultados na faixa de 87,0 a 96,5 % de recuperação, o que indicou uma apropriada exatidão do método de calibração usado. Em todas as amostras analisadas, a concentração de zinco não ultrapassou 3,64 mg L<sup>-1</sup> [32].

Entretanto, a sensibilidade e seletividade do FAAS não é suficiente para a determinação do cádmio e zinco em algumas matrizes, principalmente, as mais complexas, como matrizes biológicas [33], de alimentos [29] e ambientais [28], visto isso, se faz necessário uma etapa prévia de tratamento da amostra, que em muitos casos necessitam de uma etapa prévia de separação e pré-concentração do analito. Os métodos de separação mais utilizados são extração líquido-líquido, extração em fase sólida, troca iônica e coprecipitação.

# 1.2. MÉTODOS DE SEPARAÇÃO E PRÉ-CONCENTRAÇÃO BASEADOS NA EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO

## 1.2.1. Extração líquido-líquido (LLE)

A tradicional extração líquido-líquido é um método de separação bastante utilizado, por ser simples, eficiente, não necessita de equipamentos altamente sofisticados e possui a capacidade de poder utilizar uma grande variedade de solventes orgânicos.

A extração líquido-líquido se baseia na partição da amostra entre duas fases imiscíveis (aquosa e orgânica). A eficiência da extração depende da afinidade do soluto pelo solvente de extração, da razão das fases e do número de extrações. É possível encontrar alguns sistemas em que o valor da constante de distribuição K<sub>D</sub>, entre as fases pode ser aumentado pelo ajuste do pH, pela formação de par iônico com solutos ionizáveis, pela formação de complexos lipofílicos com íons metálicos ou pela adição de sais neutros para diminuir a solubilidade de compostos orgânicos na fase aquosa [34].

Para extração de íons metálicos é necessário a utilização de reagentes orgânicos, que proporcionam a formação de complexos, e assim os complexos que possuírem caráter hidrofóbico podem ser extraídos para a fase orgânica [35]. Vários reautilizados gentes orgânicos podem ser como por exemplo 0 5-(4dimetilaminobezildeno) rodanina (PDR), que forma quelatos pouco solúveis em meio aquoso [10] e o 2-(5-Bromo-2-piridilazo)-5 dietilaminofenol (Br-PADAP), bastante utilizado na complexação de íons metálicos como Manganês, Chumbo entre outros [36].

Por outro lado, essa técnica possui uma série de desvantagens, tais como:

- As amostras com alta afinidade pela água são parcialmente extraídas pelo solvente orgânico, resultando em perda do analito;
- Impurezas do solvente são concentradas junto com a amostra, implicando no uso de solventes ultrapuros;

- (3) Pode ocorrer a formação de emulsões, o que resulta em grande consumo de tempo;
- (4) Volumes relativamente grandes de amostras e de solventes são requeridos, gerando problemas de descartes;
- (5) Alguns solventes orgânicos são tóxicos;
- (6) Pode ocorrer adsorção dos analitos nas paredes da vidraria;
- (7) Difícil automação.

Para minimizar alguns desses problemas como grande consumo de reagentes e dificuldade de automação vem sendo bastante utilizado os métodos de microextração líquido-líquido, que se trata da miniaturização da extração líquido-líquido convencional, pois utiliza-se pequenos volumes (microlitros) de solventes orgânicos. Os métodos de microextração líquido-líquido mais utilizados são: Microextração com gota única (SDME), Microextração líquido-líquido com fibra oca (HFME), Microextração por emulsificação assistida por ultrassom (USAEME), Microextração com gota orgânica flutuante solidificada (SFODME) e Microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME).

#### 1.2.2. Microextração com gota suspensa (SDME)

Jeannot e Cantwell [37] foram os primeiros a utilizarem a SDME em 1996, combinada com análise cromatográfica. Essa técnica se baseia na distribuição do analito entre uma microgota de um solvente orgânico suportada na ponta de uma microseringa e uma solução aquosa contendo o analito. Após a extração, a microgota é injetada no sistema de detecção para posterior quantificação [38]. A SDME tornou-se popular por causa de seu baixo custo, simplicidade, velocidade, redução na geração de resíduo e compatibilidade com cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) e cromatografia a gás (GC), bem como sua aplicabilidade para diferentes matrizes, uma vez que há um bom número de solventes que podem ser utilizados [39].

Atualmente existem dois tipos de microextração com gota suspensa, a microextração com gota suspensa por imersão direta (DI-SDME) e a microextração com gota suspensa por headspace (HS-SDME).

Na primeira, a gota é mergulhada diretamente na solução da amostra que é submetida à agitação. A extração direta é empregada quando o analito não é volátil ou, no caso de analitos voláteis, quando a amostra não é tão complexa. A extração

indireta ("headspace") é empregada para analitos voláteis, já que a gota não entra em contato direto com a solução. A amostra é frequentemente aquecida e os componentes voláteis são extraídos para a gota orgânica pelo processo de sorção [40].

Entretanto, as desvantagens SDME incluem a variação do volume da gota durante o processo e especialmente quando se utiliza condições extremas de extração (velocidade de agitação elevada, longo tempo de extração e de alta temperatura), que afeta a estabilidade da gota e precisão analítica. A técnica não é geralmente apropriada para amostras com partículas sólidas, uma vez que as partículas em suspensão pode provocar a queda da gota ou até mesmo torná-la muito instável [41]. A figura 1 ilustra os dois tipos de SDME



**Figura 1.** Sistema da microextração com gota suspensa, 1A. Microextração com gota suspensa por imersão direta e 1B. Microextração com gota suspensa por Headspace.

### 1.2.3. Microextração em fase líquida com fibra oca (HF-LPME)

Para evitar a instabilidade da gota em SDME, em 1999, Pedersen-Bjergaard e Rasmussen [42] introduziram a microextração em fase líquida com fibra oca.

Nessa técnica os poros de uma membrana capilar porosa e hidrofóbica são impregnados com um solvente de extração e o seu lúmen é preenchido com microlitros de uma fase aceptora. Com isso a fase doadora (fase aquosa) não entra em contato direto com a fase aceptora (fase orgânica), permitido agitação constante durante a extração. Além disso, o baixo custo de cada unidade de extração possibilita o seu uso uma única vez, evitando problemas de "carry-over", efeito normalmente observado em outras técnicas de extração com membranas [43].

A HF-LPME se divide em dois tipos, sistema de HF-LPME com duas fases e três fases. No sistema bifásico o mesmo solvente que é impregnado nos poros da membrana está contido em seu lúmen, dessa forma, uma vez que a fibra é introduzida em uma solução aquosa o analito é extraído para a membrana porosa e posteriormente para o seu lúmen e em seguida o conteúdo do lúmen é injetado no sistema de detecção. Para obtenção de resultados favoráveis neste modo de extração, o analito deverá ser moderado ou altamente hidrofóbico, podendo conter grupos ionizáveis ácidos ou básicos. Já no sistema trifásico a fase aceptora é uma fase aquosa assim como a fase doadora, e estão separadas pela fase orgânica contida nos poros da fibra. A fase orgânica atua como uma barreira entre as fases aceptora e doadora (ambas aquosas), impedindo o contato entre as duas fases [44].

Apesar da grande aplicabilidade da HF-LPME, essa apresenta algumas desvantagens, como difícil automação e a fibra não é reutilizável. A figura 2 ilustra o sistema de HF-LPME bifásico e trifásico.





#### 1.2.4. Microextração com gota orgânica flutuante solidificada (SFODME)

Em 2007, Khalili-Zanjani et al. [45] introduziram a simples e de baixo custo microextração em fase líquida baseada na gota orgânica flutuante solidificada (LPME-SFO), hoje mais conhecida como (SFODME), em que um extrator com uma densidade menor que a da água, baixa toxicidade e temperatura de fusão próximo a temperatura ambiente (no intervalo de 10-30 ° C) foi utilizado.

A microextração com gota orgânica flutuante solidificada (SFODME) é uma técnica analítica na qual um pequeno volume de um solvente orgânico é colocado na solução aquosa. A fase aquosa é agitada durante um período de tempo prescrito e em seguida a amostra é transferida para dentro de um banho de gelo, quando o solvente orgânico solidificado é transferido para um pequeno frasco cônico é usado para a determinação do analito. SFODME tem as vantagens de simplicidade, baixo custo, baixo tempo de extração, consumo mínimo de solvente orgânico e alto fator de enriquecimento [46]. A figura 3 ilustra o sistema de pré-concentração utilizando a microextração com gota orgânica flutuante solidificada.



Figura 3. Sistema de microextração com gota orgânica flutuante solidificada

#### 1.2.5. Microextração por emulsificação assistida por ultrassom (USAEME)

Relatada por Guerreiro et al.[47] a microextração por emulsificação assistida por ultrassom apresenta baixo custo e alta eficiência. O método combina o processo de microextração com as radiações de ultrassom. A USAEME se baseia na extração do analito pelo uso de radiação de ultrassom, uma ferramenta poderosa para a aceleração do processo de transferência de massa dos analitos entre a solução aquosa de amostra e o solvente de extração imiscível com a água, resultando no aumento da eficiência da extração em um curto tempo. A utilização de ultrassom leva a uma redução no tamanho das gotículas do solvente de extração, o que leva à um melhor contato entre os líquidos imiscíveis, melhorando assim a transferência de massa. Imediatamente após a extração, ocorre a centrifugação para a separação das fases [48].

USAEME tem várias vantagens, tais como excelentes fatores de enriquecimento, simplicidade, facilidade de operação, baixo custo e baixo consumo de solventes orgânicos [49]. A figura 4 ilustra o sistema de microextração por emulsificação assistida por ultrassom.





# 1.2.6. Microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom (USA DLLME)

Introduzida em 2006 por Rezaee [50], a microextração líquido-líquido dispersiva atrai atenção para a pré-concentração de componentes orgânicos e inorgânicos em diversas matrizes.

A DLLME é uma técnica baseada na rápida injeção de uma mistura ternária (solvente dispersor, solvente extrator e complexante) a uma solução aquosa contendo os componentes a serem extraídos. Essa mistura possibilita a formação de uma solução turva, constituída por gotículas do reagente de extração, capazes de se ligarem aos íons metálicos complexados, desde que o complexo formado tenha caráter hidrofóbico. Após a extração a solução é centrifugada para separação e sedimentação da fase orgânica na parte inferior do tubo. E em seguida o sobrenadante é retirado e a fase rica é então quantificada por um sistema de detecção adequado [51].

As vantagens do método são simplicidade de operação, rapidez, baixo custo, alto fator de recuperação, alto fator de enriquecimento e ambientalmente correto [6].

Para uma maior eficiência da DLLME é possível utilizar uma etapa de sonicação antes da etapa de centrifugação, pois as ondas ultrassônicas aumentam a eficiência da extração, passando assim a ser chamada de microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom (USA DLLME).

A etapa de sonicação baseia-se na ação de ondas mecânicas de baixa frequência, as quais são responsáveis pela formação e colapso de microbolhas ocasionando áreas pontuais de alta pressão e temperatura na solução. A ação do ultrassom facilita a quebra do solvente extrator, facilitando a interação com a solução aquosa e posteriormente aumenta a extração dos elementos [52].

Uma das grandes diferenças entre a LLE e a DLLME é que na LLE são realizadas no mínimo, três etapas sucessivas de extração para aumento da eficiência da mesma, enquanto que na DLLME a extração ocorre em uma única etapa. Além disso, o volume de solvente utilizado na microextração líquido-líquido é muito pequeno (na ordem de microlitros), estando de acordo com o princípio da química verde.

Jahromi e Moghimi [53,54] executaram duas das primeiras aplicações da DLLME na pré-concentração de cádmio em amostras de água e determinação por GF AAS. Os dois métodos desenvolvidos se mostraram sensíveis e adequados para monitoramento de cádmio em concentrações traços em amostras de água.

Mohammadi e colaboradores aplicaram a DLLME na pré-concentração de Cádmio e Zinco em amostras de água de rio com linearidade de 1,0 ng mL<sup>-1</sup> a 1,5 µg mL<sup>-1</sup> <sup>1</sup> para zinco e 1,0 ng mL<sup>-1</sup> a 0,4 µg mL<sup>-1</sup> para cádmio. O método proposto foi aplicado para determinação de quantidade traço de zinco e cádmio em amostras padrão e água com resultados satisfatórios [55].

Rajabi e colaboradores estudaram a USA DLLME na pré-concentração cobre, cobalto e zinco em amostras de água natural e determinação por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS). Sob condições ótimas os limites de detecção

(LOD), faixas lineares (LRS), o fator de pré-concentração (PF), fator de enriquecimento (EF) e índice de consumo (IC) foram variando de 1,9-4,4 μg L<sup>-1</sup>, 6-500 μg L<sup>-1</sup>, 50, 48 -56 e 0,18-0,21 respectivamente. O procedimento sugerido foi aplicado com sucesso para a determinação do cobre, cobalto e zinco em amostras de água naturais [56]. A figura 5 ilustra o sistema de microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom.



Figura 5. Sistema de microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom

# 1.3. CARACTERÍSTICAS DO AGENTE COMPLEXANTE 5-(4-DIMETILAMINOBENZILDENO) RODANINA

Para a extração da maioria dos metais utilizando métodos de préconcentração, geralmente, esses precisam estar complexados por algum ligante especifico ou seletivo. No meio ambiente cádmio e zinco podem ser encontrados, geralmente, associados à agentes complexantes, que pode ser a própria água formando espécies mais simples como Cd(OH)<sub>2</sub> e Zn(OH)<sub>2</sub>. Além disso, formam complexos com ligantes contendo O, N, S e X (X= haletos ou pseudo-haletos) com átomos doadores, [Zn(Et)<sub>2</sub>], [Cd(Cl)<sub>4</sub>]<sup>2-</sup>, [Zn(en)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup>, [Cd(NH<sub>3</sub>)<sub>6</sub>]<sup>2+</sup>. Complexos de zinco são geralmente incolores, já os complexos de cádmio são coloridos por causa das transições de transferência de carga. São conhecidos muitos complexos tetraédricos e octaédricos contendo cádmio e zinco, sendo os complexos de cádmio mais estáveis que os de zinco [57]. Um bom ligante ou agente complexante deve formar um complexo estável com o íon metálico em um pH adequado. Muitos agentes complexantes podem ser utilizados na formação de complexos metálicos com cádmio e zinco, como é o caso do 5-(p-dimetilaminobenzildeno)rodanina (PDR).

O 5-(p-dimetilaminobenzildeno) rodanina (PDR) foi sintetizado pela primeira vez em 2002 por Tang, Yang e Yin. É um derivado da família da rodanina. O reagente é sólido a temperatura ambiente e possui coloração avermelhado, dissolve-se facilmente em N, N-dimetilformamida e metilsulfóxido. É solúvel em solventes polares tais como etanol, acetona e em solução aquosa alcalina e insolúvel em água e em solventes de baixa polaridade tais como, o éter de petróleo. Na presença de surfactante o PDR tem alta sensibilidade, seletividade e forma reações coloridas (do amarelo para o laranja) estáveis com Au(III), Ag(I), Ru(III), Hg(II) e Cu(II). PDR é estável em etanol absoluto por cerca de mais de duas semanas e também possui comportamento ácido-base [58].

Trabalhos descritos na literatura, demontraram que o PDR também forma complexos estáveis com Cd (II), Zn (II) e Ni (II) [59].

No geral, o equilíbrio do PDR envolvem dois íons hidrogênio, como demonstrado no esquema da figura 6 [62].



Figura 6. Equilíbrio químico do 5-(4-dimetilaminobenzildeno) rodanina (PDR)
#### 1.3.1. Complexos

O comportamento das reações do PDR é caracterizado não somente pelo íon metálico, mas também pelo pH da solução. Em pH 2.2-3.8 formam-se complexos com  $H_2R^+$  e HR e em pH 6.1-9.2 formam-se complexos com HR e R<sup>-</sup>. Sendo que, os compostos de coordenação formados entre o PDR e o íon metálico (M-PDR) geralmente, envolvem o átomo de nitrogênio da rodanina, o átomo de enxofre do grupo tio-carbonil e o átomo de oxigênio do grupo carbonil. Pode ocorrer também a formação de complexos envolvendo os átomos de nitrogênio e enxofre do grupo triazina.

Os complexos Cd-PDR e Zn-PDR possuem estruturas idênticas. Cd e Zn possuem a tendência a se ligarem ao íon R<sup>-</sup>, formando assim em meio básico um quelato bidentado conforme ilustrado pela figura 7.



M = Cd ou Zn

Figura 7. Estrutura molecular do M-PDR

# 1.4. OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA

Para melhorar as condições de um procedimento analítico, existe a necessidade de otimizar suas variáveis experimentais, no entanto, isso requer tempo e custo relativamente altos se a estratégia de otimização univariada for aplicada. Atualmente a aplicação de metodologia multivariada apresenta um crescente aumento no interesse da comunidade acadêmica, pois, além de minimizar consumo de tempo e gastos, ainda permite a otimização das variáveis simultaneamente, além de permitir o estudos da interação entre elas [60].

#### 1.4.1. Planejamento de misturas

A utilização do planejamento de misturas tem encontrado grande reconhecimento em várias aplicações na ciência, na engenharia e principalmente nas indústrias. Suas principais vantagens são redução no tempo e no custo dos experimentos, além de permitir a otimização de misturas com limites entre suas proporções [61]. A modelagem de misturas é realizada através de um número limitado de observações, na qual é feita uma pré-seleção da quantidade dos componentes da mistura, resultando em experimentos com diferentes composições. A soma entre as proporções de uma mistura será sempre igual a 1, conforme a equação 1.

$$\sum_{i=1}^{q} x_{i} = 100\% = 1$$
 Equação 1.

Para uma mistura binária (formada por apenas dois componentes) a equação 1 reduz-se a X1+X2= 1 e a resposta para o planejamento é representada por uma reta (X2=1-X1), ou seja, se trata de um espaço experimental unidimensional demonstrado na figura 8A. Para sistemas formados por três componentes independentes, terá que obedecer a restrição X1+X2+X3=1 que define um triangulo equilátero descrito na figura 8B. Os pontos que compõem o triângulo descrevem todas as composições possíveis da mistura ternária. Os vértices correspondem aos componentes puros, os lados às misturas binárias e o ponto situado no centro às misturas ternárias. Uma mistura ternária corresponde a um espaço experimental bidimensional. É possível ter ainda uma mistura quaternária (x1+x2+x3+x4=1) representada por um tetraedro, terá sempre um espaço tridimensional, como na figura 8C [64].



**Figura 8.** (Bezerra, Adaptado) 8A. Mistura binária, unidimensional; 8B. Mistura ternária, bidimensional; 8C. Mistura quaternária, tridimensional.

Existem algumas misturas que certas limitações são impostas nas proporções dos seus componentes, nesse caso, uma nova região do planejamento deve ser escolhida, utilizando assim um planejamento de mistura com restrição. Nesse caso existe a necessidade do uso de pseudocomponentes. Para que uma mistura seja formada há a necessidade do uso de no mínimo 10% da cada componente na mistura ternária. A presença de limites inferiores também impõe o uso de limites superiores, sendo que o máximo que uma mistura pode ter de um determinado componente é de 80%, pois cada um dos demais terá no mínimo 10%, sendo assim, é possível ter restrições inferiores e superiores em uma mistura ou restrições dentro de uma sub-região de interesse. Os três tipos de restrição é ilustrado na figura 9 [54].



**Figura 9.** (Bezerra, Adaptado) Tipos de restrições em uma mistura. 9A. Restrição superior; 9B. Restrição inferior; 9C. Restrição dentro de uma região de interesse.

#### 1.4.2. Planejamento fatorial de dois níveis

O estudo da influência de qualquer variável sobre um sistema implica a realização de experimentos em que ocorra a variação dos fatores estudados em no mínimo dois níveis [62]. O número de experimentos necessários para o desenvolvimento de um planejamento fatorial completo de dois níveis obedece a expressão, n=2<sup>k</sup>, onde n é o número de experimentos e k é o número de fatores estudados [63]. Os níveis dos fatores são dados em termos codificados, onde, (-1, nível inferior) e (+1, nível superior), podendo ter ainda um nível zero (0), que se refere ao ponto central, utilizado para determinar o erro experimental através de repetições autenticas dos experimentos nesse ponto sem a necessidade da repetição dos demais ensaios. Para isso o número de experimentos no ponto central deve corresponder de 25 a 30% de todos os experimentos desenvolvidos [64].

Dentre as diversas vantagens do planejamento fatorial de dois níveis, destacamse as seguintes: (a) redução do número de ensaios sem prejuízo da qualidade da informação; (b) estudo simultâneo de diversas variáveis, separando seus efeitos; (c) seleção das variáveis que influenciam um processo com número reduzido de ensaios; dentre outras [65].

O planejamento experimental de dois níveis é utilizado quando não se deseja obter um resultado final e sim uma investigação preliminar.

Entretanto, o número de experimentos para a realização de um planejamento fatorial de dois níveis completo, geralmente é grande, pois aumenta com o aumento de k. Dessa forma, para 2<sup>6</sup> teriam-se 64 ensaios. Para reduzir o número de ensaios e facilitar o trabalho, faz-se o uso do planejamento fatorial de dois níveis incompleto (fracionado). Assim, para 2<sup>6-2</sup> teriam-se 16 ensaios. Além da redução do número de experimentos, pode-se aplicar outras viabilidades ao planejamento fatorial de dois níveis fracionado, como: (a) apresenta baixos valores nos efeitos de interações e (b) quando o número de fatores aumentam, crescem as chances de que uma ou mais variáveis não afetem a resposta, seja por efeitos principais, ou efeitos de interações [66].

#### 1.4.3. Metodologia de superfície de resposta

A partir dos resultados preliminares obtidos através de um planejamento fatorial, é necessário obter um resultado final. Isso é possível através do uso de metodologias de superfície de resposta (MSR). Desenvolvida por Box na década de 50, seu uso tem sido relatado em muitos trabalhos utilizando quimiometria [67].

As RSM consistem em um grupo de técnicas estatísticas e matemáticas, baseadas no ajuste de modelos empíricos obtidos através de dados obtidos pelo uso de um projeto experimental [68]. As MSR envolvem matrizes, onde, os fatores (variáveis independentes) tem um mínimo de três níveis, possibilitando assim as condições criticas para cada variável em estudo.

Os principais tipos de metodologias de superfície de resposta são: planejamento composto central, planejamento Box Behnken, matriz de Doehlert e planejamento fatorial de três níveis. Existem alguns critérios avaliados na escolha de uma MSR,

dentre eles tem-se: (a) quantidade de níveis dos fatores em função dos resultados do planejamento fatorial. Algumas metodologias apresentam níveis diferenciados entre os fatores. (b) Escolha do domínio experimental. É necessário saber se o efeito para cada fator é positivo ou negativo, pois esse determina a faixa de trabalho utilizando a RSM. (c) definição da resposta. A resposta deve ser definida antes da execução dos experimentos [57].

Existem ainda alguns estágios na aplicação de uma metodologia de superfície de resposta, como: (a) seleção das variáveis independentes de maior efeito para o sistema; (b) escolha da MSR e realização dos experimentos de acordo com a metodologia escolhida; (c) avaliação da capacidade do modelo; (d) verificação da necessidade de um deslocamento na direção da região ideal e (e) obtenção de valores ótimos para cada variável estudado [69].

O modelo matemático mais simples utilizado na avaliação de uma RSM baseia-se numa função linear. Para a sua aplicação é necessário que os resultados obtidos se enquadrem devidamente na equação 2.

Nesse caso, as respostas não devem apresentar curvatura. Para avaliar a curvatura e a interação entre as variáveis experimentais, o modelo de segunda ordem deve ser avaliado, esse contém os temos descritos na equação 3.

Para avaliar um ponto críticos modelos matemáticos envolvendo funções de primeira e segunda ordem não são mais eficientes, se faz necessário então a utilização de uma função quadrática, pois é simples e pode descrever uma variedade de superfícies, como descrito pelos termos da equação 4 [70].

Y= a + bA + cB + dA<sup>2</sup> + eB<sup>2</sup> + fAB + resíduo Equação 4. Onde, Y é a resposta experimental, A e B são as variáveis em estudo, a é um termo independente, b e c representam coeficientes dos termos lineares, d e e são os coeficientes dos termos quadráticos, f é o coeficiente do termo de interação e o resíduo é a diferença entre o resultado experimental e o previsto [55]. Para o modelo quadrático, o ponto crítico é caracterizado através de máximo, mínimo ou sela, e, pode ser calculado através da primeira derivada da equação 4 que descreve a superfície de resposta, conforme mostrado abaixo:

$$Y = a + bA + cB + dA^{2} + eB^{2} + fAB$$
$$\delta Y / \delta A = b + 2dA + fB = 0$$
$$\delta Y / \delta B = c + 2eB + fA = 0$$

As derivadas acima obedecem ao critério de Lagrange para obtenção dos pontos críticos em uma função de segunda ordem, o qual é baseando na determinante de Hessian (H). Para a aquação 4 o determinante é calculado da seguinte forma:

$$\Delta = \begin{vmatrix} \delta^2 R / \delta A^2 & \delta^2 R / \delta A \delta B \\ \delta^2 R / \delta A \delta B & \delta^2 R / \delta B^2 \end{vmatrix}$$
  
H(A,B)=  $(\delta^2 R / \delta A^2) (\delta^2 R / \delta B^2) - (\delta^2 R / \delta A \delta B)^2$ 

Os pontos críticos são obtidos através da resolução do sistema de equações:

# **δ**R/**δ**A=0

#### e **δ**R/**δ**B=0

Dessa forma tem-se as seguintes opções:

- (1) Os pontos críticos serão de máximo se H( $a_0,b_0$ )>0 e  $\delta^2 R/\delta A^2(a_0,b_0)<0$
- (2) Os pontos críticos serão mínimos se H(a<sub>0</sub>,b<sub>0</sub>) >0 e  $\delta^2 R/\delta A^2(a_0,b_0)>0$
- (3) Se H( $a_0,b_0$ ) >0 existe um ponto de sela, com valores mínimos e máximos.

#### 1.4.4. Matriz de Doehlert

Desenvolvida por David Doehlert em 1970, a matriz Doehlert descreve um domínio experimental esférico, possuindo grande vantagem entre as demais metodologias de superfície de resposta por proporcionar o uso de uma quantidade reduzida de ensaios, possibilita planejamentos envolvendo números de níveis diferenciados para os fatores, dentre outras [57,71].

Para duas variáveis, por exemplo, o planejamento Doehlert consiste em um ponto central e seis pontos formando um hexágono regular, e, portanto, situado sobre um círculo em três dimensões que pode ser visto de diferentes formas, dependendo da estrutura geométrica selecionada [72]. O número de experiências necessárias (N) para k fatores é dado por N = $K^2 + K + 1$ , sendo que um mínimo de três níveis é assegurado para cada fator [73]. No entanto, as variáveis são trabalhadas como número de níveis diferentes. Por exemplo, uma variável pode ser estudada em cinco níveis enquanto outra em três níveis, essa propriedade permite uma livre escolha dos fatores a serem atribuídos a um pequeno ou grande número de níveis, mas, no geral é preferível escolher a variável mais significativa com o número de nível mais alto [55]. Dessa forma é possível encontrar alguns tipos de modelos experimentais que podem ser utilizados na aplicação da matriz Doehlert para três variáveis, ilustrados na figura 10.



**Figura 10.** Representação de diferentes projeções para utilização da matriz Doehlert [62].

A matriz Doehlert resulta em superfícies de resposta, caracterizadas por pontos de máximo, mínimo ou cela, como é representado pela figura 11.





Atualmente, muitos trabalhos tem sido desenvolvidos utilizando a matriz Doehlert como metodologia de superfície de resposta empregando diferentes técnicas analíticas.

Bezerra et al [74] utilizaram a matriz Doehlert para três fatores na otimização de uma metodologia utilizada para determinação de cobre, manganês, níquel e zinco em rações de frango por espectrometria de absorção atômica com chama, alcançando uma precisão calculada como desvio padrão relativo de 5,30; 2,13; 0,88; e 0,83%, respectivamente.

Bianchin e colaboradoes [75] desenvolveram um sistema por injeção em fluxo para um método de extração em fase sólida (SPE) empregado na pré-concentração de níquel em amostras de água e determinação por FAAS. Foi utilizado nesse trabalho dois planejamentos Doehlert, cada uma para otimização de duas variáveis significativas para o sistema. A precisão desse método foi de 1,5%, com um alto fator de enriquecimento (92,25). **CAPITULO II.** Aplicação da microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom para pré-concentração de cádmio em amostras ambientais

## 2.0. PARTE EXPERIMENTAL

#### 2.1. Instrumentação

Um espectrômetro de absorção atômica com chama, marca Perkin Elmer (Norwalk, CT, USA) modelo AAnalyst 200, aquipado com um sistema convencional de nebulização e câmara de nebulização pneumática foi utilizado para as analises de absorvância. Uma lâmpada de cátodo oco de cádmio foi utilizada sob condições sugeridas pelo fabricante, aplicando uma corrente de 4,0 mA. Comprimento de onda de 228,8 nm para Cd. A largura de banda da fenda foi de 0,5 nm e aspiração foi de 5,0 mL min<sup>-1</sup>. O fluxo de acetileno foi 2,5 L min<sup>-1</sup> e o fluxo de ar foi 10,0 L min<sup>-1</sup>. A taxa de fluxo de aspiração utilizada pelo nebulizador foi de 4,0 mL min<sup>-1</sup>.

Para as medidas de pH, um pHmetro DIGIMED (Santo Amaro, Brazil), modelo DM-20, foi utilizado.

Durante a etapa de pré-concentração e otimização das variáveis foram utilizados os seguintes materiais: uma centrifuga da marca Bio Eng (São Paulo, Brazil), modelo Quimis<sup>®</sup> para acelerar o processo de separação da fase rica do analito de interesse; uma balança analítica, Shimadzu, modelo AY 220 e um ultrassom modelo Cristófoli.

#### 2.2. Reagentes

Todos os reagentes químicos utilizados nos experimentos foram de grau analítico. As vidrarias foram mantidas em solução de ácido nítrico (5% v/v) durante 12 horas para descontaminação, antes da utilização. Os reagentes utilizados estão citados abaixo:

- ✓ Gás argônio (99,998% de pureza);
- ✓ Ácido nítrico 65% (m/v) (Merck);
- ✓ Ácido clorídrico a 37% (m/v) (Merck);
- ✓ Etanol 99% (m/v) (Merck);
- ✓ Cloreto de amônio P.A (Vetec);
- Hidróxido de sódio (Quimex);
- ✓ Acetato de sódio (Synth);
- ✓ Fosfato de sódio (Synth);

- ✓ Hidróxido de amônio (Synth);
- ✓ Acetona (Synth);
- ✓ Tetracloreto de carbono (Synth);
- ✓ Diclorometano (Synth);
- ✓ Clorofórmio (Synth);
- ✓ Metanol (Merck);
- ✓ Peróxido de hidrogênio (Sinth);
- ✓ 5-(4-dimetilaminobenzildeno) rodanina (Sigma-Aldrich)
- ✓ Solução padrão de cádmio (1000  $\mu$ g mL<sup>-1</sup>)

## 2.4. Soluções

Todas as soluções foram preparadas com reagentes de grau analítico PA e água deionizada foi utilizada durante todo o trabalho.

# 2.4.1. Solução padrão de cádmio (100 µg L<sup>-1</sup>)

Foram preparadas diariamente soluções padrão de cádmio de 100 μg L<sup>-1</sup> à 5% (v/v) de ácido nítrico, utilizando balões de 100 mL e água deionizada.

# 2.4.3. Solução de cádmio (20 µg L<sup>-1</sup>)

Foram preparadas soluções de cádmio a 20 μg L<sup>-1</sup>, pela diluição da solução estoque de 1000 μg mL<sup>-1</sup>. Sempre utilizando água deionizada para a diluição.

# 2.4.5. Solução de PDR

Preparou-se soluções de 5-(4-dimetilaminobenzildeno) rodanina na concentração de 0,025 %, pesando-se 0,0025 g do reagente e diluindo-o em etanol para um volume final de 10 mL.

# 2.4.6. Solução tampão amoniacal (pH 8,5-10,0)

Foram preparadas soluções de tampão amoniacal nas concentrações 0,02-0,1 mol L<sup>-1</sup> pesando-se massas de 1,08-5,38 g de cloreto de amônio, dissolvendo as massas pesadas em 1,0 L de água deionizada e o pH requerido foi ajustado com hidróxido de sódio.

## 2.4.7. Solução tampão fosfato (pH 6,5-8,0)

Foram preparadas soluções de tampão fosfato nas concentrações 0,02-0,1 mol L<sup>-1</sup>, pesando-se massas de 2,76-13,8 g de fosfato de sódio, dissolvendo as

massas pesadas em 1,0 L de água deionizada e o pH requerido foi ajustado com hidróxido de sódio e ácido clorídrico.

#### 2.4.8. Solução tampão acetato (pH 4,5-6,0)

Foram preparadas soluções de tampão acetato nas concentrações 0,02-0,1 molL<sup>-1</sup>, pesando-se massas de 2,72-13,6g de acetato de sódio, dissolvendo as massas pesadas em 1,0 litro de água deionizada e o pH requerido foi ajustado com hidróxido de sódio e ácido clorídrico.

#### 2.5. Preparo das amostras

As amostras de sedimento, água do rio, água de torneira e água mineral foram coletadas em Jequié, Bahia, Brasil. Considerando que as amostras de água mineral foram adquiridas em supermercados na cidade de Jequié, Bahia, Brasil. As amostras de água foram filtradas através de um filtro de membrana de tamanho de poro de 0,45 µm para remover material particulado em suspensão e armazenadas em garrafas PTFA a 6 °C. O pH foi ajustado com solução de ácido nítrico imediatamente após a coleta das amostras.

As amostras de sedimentos foram secas em forno a 100 °C, triturados e peneirados em peneira de 200 micrômetros e armazenados em recipientes descontaminados para uso posterior.

#### 2.6. Digestão parcial das amostras

A fim de realizar a digestão ácida, cerca de 0,1 g de amostras de sedimentos, 2,0 mL de ácido nítrico concentrado e 1,0 mL de ácido clorídrico concentrado foram colocadas em um recipiente de vidro e, em seguida aquecidos em um bloco digestor a 100°C (sob tais condições, as amostras podem facilmente se decompor). Finalmente, os conteúdos foram transferidos quantitativamente para frascos volumétricos de 15 mL, neutralizados com solução de hidróxido de sódio e o volume foi aferido com água destilada.

# 2.7. Procedimento de microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom para pré-concentração e determinação de cádmio

A tubos de ensaio de 10 mL, foram adicionados 3,0 mL de solução de cádmio 20  $\mu$ g L<sup>-1</sup>, contendo NaCl a 4 % (m/v). A solução foi tamponada com 1,0 mL de tam-

pão amoniacal, pH 9,0, 200  $\mu$ L de solução do reagente complexante PDR a 0,025 % (m/v), 150  $\mu$ L do reagente extrator (tetracloreto de carbono) e 650  $\mu$ L do reagente dispersor (metanol). A mistura foi colocada em banho de ultrassom por 5,0 min, centrifugada a 5500 rpm por 5,0 minutos. O sobrenadante foi descartado. 200  $\mu$ L de uma mistura de etanol/HNO<sub>3</sub> (2:1) foi adicionado à fase enriquecida. O cádmio foi então determinado por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS).

## 2.8. OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA

Foi aplicado um planejamento de mistura para a otimização da mistura dos componentes utilizada na USA DLLME para pré-concentração e determinação de cádmio e um planejamento Doehlert para as demais variáveis.

#### 2.8.1. Planejamento de mistura com restrição

A seleção do tipo de solvente dispersor e extrator foi realizada por um estudo univariado e o volume da mistura dos componentes da USA DLLME (solvente extrator, solvente dispersor e reagente complexante) foi otimizado utilizando um planejamento de mistura com restrição. O planejamento de mistura foi gerado por pseudocomponentes. A composição utilizada na mistura são mostrados na Tabela 3 e o gráfico gerado é mostrado na figura 12. Triplicatas do ponto central foram feitas para avaliar o erro experimental. Equação de mínimos quadrados foi utilizada para o ajuste dos modelos linear, quadrático e cúbico especial nas proporções dos componentes com o objetivo de gerar a mínima quantidade de resíduos possível. A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para avaliar a significância do modelo, recomendado por Barros Neto et al [76].



Figura 12. Gráfico gerado pelo planejamento de mistura com restrição

Exp.	Extrator	Complexante	Dispersor
1	100 (0,100)	50 (0,050)	850 (0,850)
2	200 (0,200)	50 (0,050)	750 (0,750)
3	100 (0,100)	200 (0,200)	700 (0,700)
4	200 (0,200)	200 (0,200)	600 (0,600)
5	100 (0,100)	125 (0,125)	775 (0,775)
6	200 (0,200)	125 (0,125)	675 (0,675)
7	150 (0,150)	50 (0,050)	800 (0,800)
8	150 (0,150)	200 (0,200)	650 (0,650)
9	150 (0,150)	125 (0,125)	725 (0,725)

**Tabela 3.** Pseudo-componentes e componentes originais utilizados no planejamento de mistura com restrição.

## 2.8.2. Planejamento fatorial e Matriz Doehlert

Um planejamento fatorial de dois níveis fracionado (2<sup>6-2</sup>) foi utilizado para uma avaliação preliminar de seis fatores, envolvendo as seguintes variáveis: pH, concentração do tampão, tempo de sonicação, tempo de centrifugação, concentração de NaCl (%) e temperatura (°C). Uma matriz Doehlert para três variáveis foi realizada para determinação das condições críticas do método. Os ensaios foram realizados em ordem randômica. Foi utilizado um modelo com face quadrada, estudando dois fatores com cinco níveis e um terceiro fator com três níveis, como ilustrado na figura 13. Triplicatas do ponto central foram realizadas para avaliar o erro experimental. A resposta analítica foi em absorvância. A resposta experimental foi processada usando o programa computacional STATISTICA



Figura 13. Modelo experimental com face quadrada para matriz Doehlert

# 2.9. RESULTADOS DE DISCUSSÃO

#### 2.9.1. Seleção do solvente extrator e dispersor

O reagente extrator utilizado em microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom é um parâmetro muito importante para a eficiência da extração, porque a eficiência da extração depende em grande parte da eficiência do reagente extrator. É necessário que o reagente seja imiscível na fase aquosa, que tenha baixa volatilidade e alta densidade quando comparado com a água. Clorofórmio (CHCl<sub>3</sub>) e tetracloreto de carbono (CCl<sub>4</sub>) foram estudados como solventes de extração.

Outro parâmetro importante é a seleção do solvente dispersor. O mesmo deve apresentar boa afinidade com a fase orgânica (solvente extrator) e aquosa (solução da amostra). O reagente dispersor tem função de quebrar o solvente extrator em pequenas gotículas, proporcionando assim, um maior contato do solvente extrator com a fase aquosa contendo o analito.

O solvente dispersor deve ser de baixa pressão de vapor e temperatura de ebulição relativamente alta para evitar perdas significativas durante a extração.

Nesse trabalho, diferentes solventes como a acetona, metanol e etanol foram avaliados com solventes dispersores. A seleção do solvente extrator e dispersor foi realizada pela utilização de ensaios com diferentes combinações entre os solventes analisados. Tetracloreto de carbono e metanol foram selecionados para a realização dos demais experimentos por apresentar maior percentual de extração. Os resultados são mostrados na figura 14. O estudo foi realizado considerando as variáveis: pH (9,0), concentração do tampão (0,05 mol L<sup>-1</sup>), concentração do reagente complexante PDR (0,025 % m/v), tempo de sonicação (5,0 min) e tempo de centrifugação (5,0 min).



Figura 14. Seleção do tipo de solvente extrator e dispersor.

#### 2.9.2. Planejamento de mistura com restrição

Para uma melhor eficiência da extração de cádmio utilizando a microextração liquido-líquido assistida por ultrassom e para um melhor resultado nas características do método proposto foi utilizado o planejamento de mistura, para aperfeiçoar as proporções ideais da mistura formada por solvente dispersor, solvente extrator e agente complexante, no entanto, para a formação da mistura ternária se faz necessário a utilização de proporções adequadas de cada componente, dessa forma não é possível a utilização de componentes puros, por isso foi utilizado o planejamento de mistura com restrição. O planejamento utilizado e as respostas obtidas para cádmio são mostradas na Tabela 4. O modelo quadrático foi utilizado para obter a melhor descrição da região experimental crítica.

Exp.	Extrator (µL)	Complexante (µL)	Dispersor (μL)	% Extração
1	100	50	850	57,3
2	200	50	750	63,5
3	100	200	700	69,6
4	200	200	600	57,3
5	100	125	775	81,9
6	200	125	675	75,8
7	150	50	800	88,1
8	150	200	650	98,0
9	150	125	725	51,1

**Tabela 4.** Planejamento de mistura com restrição para a pré-concentração de cádmio por USA DLLME.

A Análise de Variância (ANOVA) foi utilizada para avaliar o modelo quadrático. O modelo não apresenta falta de ajuste (p = 0.935> 0.05).

A superfície de resposta da figura 15 identifica as melhores proporções para se obter o maior nível de extração. A mistura otimizada é constituída de 140  $\mu$ L do solvente extrator, 200  $\mu$ L do reagente complexante e 660  $\mu$ L do solvente dispersor, totalizando 1000  $\mu$ L, o que equivale a 100% da mistura.



**Figura 15.** Superfície de resposta (A) e gráfico de contorno (B) obtidas através do planejamento de mistura com restrição para a otimização da mistura ternária utilizada na microextração líquido-líquido assistida por ultrassom.

## 2.9.3. Planejamento fatorial de dois níveis fracionado

Primeiramente, para avaliar a significância das variáveis experimentais foi utilizado um planejamento fatorial de dois níveis fracionado para seis variáveis (2<sup>6-2</sup>) utilizando um único bloco. A Tabela 5 mostra os dezenove ensaios realizados, os valores máximos e mínimos utilizados para as variáveis experimentais estudadas e as respostas médias das duplicatas realizadas para cada ensaio.

O planejamento fatorial de dois níveis mostra a ocorrência de três variáveis significativas, pH, concentração de NaCl e tempo de sonicação, onde os valores de significância são ilustrados no gráfico de Pareto da figura 16.



Efeito padronizado estimado (valor absoluto)

**Figura 16.** Gráfico de Pareto para o planejamento fatorial de dois níveis fracionado 2<sup>6-2</sup>, com a representação das variáveis significativas.

A significância dos efeitos das variáveis foi avaliada pela Análise de variância (ANOVA) e os efeitos foram verificados utilizando os valores de P. Os dados de A-NOVA são representados na Tabela 6.

**Tabela 5.** Planejamento fatorial de dois níveis fracionado para seis variáveis (2<sup>6-2</sup>) para Cd, utilizando o procedimento de préconcentração por microextração líquido-líquido assistido por ultrassom, sob as condições ótimas: 200 μL de PDR, 140 μL de CCl4 e 660 μL de metanol.

Exp.	рΗ	Conc. Tamp	T. Sonic.	T. cent.	Conc. de NaCl	Temp.	Extração (%)
4	9(+)	0,10(+)	1,0(-)	1(-)	0(-)	50(+)	27,0
11	5(-)	0,10(+)	1,0(-)	10(+)	4(+)	0(-)	35,0
3	5(-)	0,10(+)	1,0(-)	1(-)	4(+)	50(+)	53,0
17(PC)	7(0)	0,06(0)	4,5(0)	5,5(0)	2(0)	25(0)	9,00
9	5(-)	0,02(-)	1,0(-)	10(+)	0(-)	50(+)	21,0
12	9(+)	0,10(+)	1,0(-)	10(+)	0(-)	0(-)	47,0
10	9(+)	0,02(-)	1,0(-)	10(+)	4(+)	50(+)	25,0
1	5(-)	0,02(-)	1,0(-)	1(-)	0(-)	0(-)	5,00
14	9(+)	0,02(-)	8,0(+)	10(+)	0(-)	0(-)	23,0
18(PC)	7(0)	0,06(0)	4,5(0)	5,5(0)	2(0)	25(0)	13,0
8	9(+)	0,10(+)	8,0(+)	1(-)	4(+)	0(-)	29,0
6	9(+)	0,02(-)	8,0(+)	1(-)	0(-)	50(+)	33,0
13	5(-)	0,02(-)	8,0(+)	10(+)	4(+)	0(-)	17,0
16	9(+)	0,10(+)	8,0(+)	10(+)	4(+)	50(+)	3,00
15	5(-)	0,10(+)	8,0(+)	10(+)	0(-)	50(+)	0,00
2	9(+)	0,02(-)	1,0(-)	1(-)	4(+)	0(-)	25,0
19(PC)	7(0)	0,06(0)	4,5(0)	5,5(0)	2(0)	25(0)	11,0
7	5(-)	0,10(+)	8,0(+)	1(-)	0(-)	0(-)	0,00
5	5(-)	0,02(-)	8,0(+)	1(-)	4(+)	50(+)	13,0

	SQ	gl	MQ	F	Valor P
(1)pH	0,000086	1	0,000086	85,5625	0,011486
(2)Conc. T	0,000011	1	0,000011	10,5625	0,083051
(3)T. Sonic	0,000248	1	0,000248	248,0625	0,004007
(4)T. Centrif	0,000003	1	0,000003	3,0625	0,222222
(5)Conc. de NaCl	0,000039	1	0,000039	39,0625	0,024657
(6) Temperatura	0,000001	1	0,000001	0,5625	0,531479
Erro puro	0,000002	2	0,000001		
Total SS	0,001071	18			

 
 Tabela 6. Análise de variância para os efeitos calculados para os dados representados na tabela 5

#### SQ: soma quadrática; gl: graus de liberdade; MQ: média quadrática.

Nota-se que as três variáveis significativas tem papel crucial no desenvolvimento da USA DLLME, pois para que ocorra a separação de íons metálicos por microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom é necessário a formação prévia de um complexo com hidrofobicidade suficiente que permita a separação do analito da fase aquosa para o pequeno volume da fase orgânica. O valor de pH ideal permite a formação do complexo em meio adequado para sua estabilidade, além de controlar a interação entre o analito e o reagente quelante.

A adição de sal apresenta grande influência pois permite resolver problemas de formação indesejada de emulsão, por provocar a redução da solubilidade do analito na amostra aquosa e aumento na partição da fase orgânica. Além de provocar um aumento no volume da fase sedimentada, devido à diminuição da solubilidade do solvente extrator na presença de um sal.

A influência do tempo de sonicação é crucial para a USA DLMME, pelo fato das ondas ultrassônicas provocarem uma maior interação entre as partículas de solvente de extração e a fase aquosa. Um tempo de sonicação muito curto pode não ser suficiente para uma extração eficiente e um tempo relativamente alto pode provocar dispersão total do solvente extrator.

Pelos fatores citados é necessário a otimização dos valores críticos para pH, concentração de NaCl e tempo de sonicação.

As demais variáveis não foram significativas, como mostra o gráfico de Pareto da figura 17, mas foram selecionadas para o estudo devido a sua significância em outros trabalhos descritos na literatura [77, 81]. Por não apresentarem relativa significância foram utilizados sob as condições iniciais durante todo o desenvolvimento e aplicação do método.

É importante ressaltar a inclusão do estudo da influência da temperatura na extração de cádmio, pois existem complexos que sua formação é facilitada pela redução ou aumento de temperatura quando comparado a temperatura ambiente. Outro fato que justifica a avaliação da variável temperatura foi o uso do PDR como agente complexante para Cd, por ser pouco utilizado, não há relatos sobre sua temperatura de formação de complexos Cd-PDR.

A interação entre as variáveis não foi estudada, pelo fato do interesse maior ser apenas as variáveis isoladas.

## 2.9.4. Determinação das condições críticas usando a matriz Doehlert

Para a otimização das variáveis significativas avaliadas pelo planejamento fatorial foi aplicado a matriz Doehlert para três variáveis. As três variáveis estudadas foram pH, concentração NaCl e tempo de sonicação. Os 15 experimentos necessários para aplicação da matriz estão descritos na Tabela 7. O pH variou de 5-9, a concentração de NaCl de 2-10% e tempo de sonicação 2-8 min.

Os dados obtidos na realização dos 15 experimentos resultaram em superfícies de respostas e gráficos de linhas (figura 17 e 18) que permitiram a identificação dos pontos ótimos para as variáveis estudadas, sendo então, pH 9,0, concentração de NaCl foi de 4,0 % e tempo de sonicação 5,0 min.

Exp.	рН	Concentração de NaCl	Tempo de sonicação	Extração (%)
1	0 (7)	1 (10)	0 (5)	20,3
2	-0,5 (6)	0,5 (8)	-0,5 (2)	20,3
3	-0,5 (6)	0,5 (8)	0,5 (8)	39,0
4	0,5 (8)	0,5 (8)	-0,5 (2)	32,7
5	0,5 (8)	0,5 (8)	0,5 (8)	14,0
6	-1 (5)	0 (6)	0 (5)	51,0
7	1 (9)	0 (6)	0 (5)	63,6
8	-0,5 (6)	-0,5 (4)	-0,5 (2)	94,4
9	-0,5 (6)	-0,5 (4)	0,5 (8)	26,5
10	0,5 (8)	-0,5 (4)	-0,5 (2)	45,0
11	0,5 (8)	-0,5 (4)	0,5 (8)	51,0
12	0 (7)	-1(2)	0 (5)	57,4
13(pc)	0 (7)	0 (6)	0 (5)	45,0
14(pc)	0 (7)	0 (6)	0 (5)	45,0
15(pc)	0 (7)	0 (6)	0 (5)	51,0

 Tabela 7. Valores codificados, valores reais e suas respectivas respostas para a matriz Doehlert.



**Figura 17.** Superfície de resposta (A) e curva de níveis (B) obtidas através da matriz Doehlert para as variáveis pH e concentração de NaCI.



**Figura 18.** Superfície de resposta (A) e curva de níveis (B) obtidas através da matriz Doehlert para as variáveis pH e concentração de NaCl.

## 2.9.5. Validação do método analítico

#### 2.9.5.1. Material de referencia certificado

A exatidão e aplicabilidade do método proposto foi aplicado para determinação de Cd em material de referência certificado de água (APS 1071-Drinking water standard solution), sedimento (CRM016-50G-Fresh water sediment), ostra (NIST 1566b - Oyster tissue) e folha de Tomate (NIST 1573a-Tomato leaves). Os resultados da Tabela 8 mostram que não há diferença significativa entre os resultados obtidos pelo método proposto e os resultados certificados. Além disso, a aplicação do teste T indica que não há diferença significativa nos resultados.

MRC	Encontrada	Certificada
APS 1071-Água	48,5 ± 2,40 µg L <sup>-1</sup>	50,0 ± 0,25 µg L <sup>-1</sup>
CRM016-50G-Sedimento	0,47 ± 0,09 µg g⁻¹	0,47 ± 0,08 µg g⁻¹
NIST 1566b - Ostra	2,45 ± 0,48 µg g⁻¹	2,48 ± 0,08 µg g⁻¹
NIST 1573a-Folha de tomate	1,61 ± 0,36 µg g⁻¹	1,52 ± 0,04 µg g⁻¹

Tabela 8. Analise de material de referencia certificado

#### 2.9.6. Características analíticas do método

Foram construídas curvas analíticas variando-se a concentração do cádmio. A curva analítica correspondente ao sistema de pré-concentração desenvolvido foi construída variando-se a concentração da solução de Cd de 2,5 - 30  $\mu$ g L<sup>-1</sup>, com a finalidade de obter uma linearidade, ou seja a medida que se aumentar a concentração do analito a absorvância tenha um comportamento proporcional. Foi obtida a seguinte equação da reta: A = 0,0025C + 0,0017, onde A é a absorvância e C a concentração de cádmio em  $\mu$ g L<sup>-1</sup>. O coeficiente de correlação dessa curva foi de 0,9973. A figura 19 representa a curva analítica utilizando o método de USA DLLME.



**Figura 19.** Curva analítica utilizando o sistema de pré-concentração por microextração dispersiva líquido-líquido assistida por ultrassom. Para verificar o aumento do sinal analítico no sistema desenvolvido para determinação de Cd foi construída além da curva utilizando o método desenvolvido, uma curva analítica referente a medida direta de cádmio por FAAS. Dessa forma foi obtida a seguinte equação da reta: y = 0,00017x + 0,0043, tendo o fator de correlação dado por 0,9984. Para a construção da curva direta foram preparadas soluções de cádmio de 25-500 µg L<sup>-1</sup>. A figura 20 representa a curva analítica com medida direta.



Figura 20. Curva analítica utilizando medida direta de Cd por FAAS.

Com os dados das curvas analíticas foi possível calcular algumas figuras de mérito, como fator de enriquecimento, limite de detecção, limite de quantificação e desvio padrão relativo. O resumo das características analíticas do método são representados na Tabela 9.

Tabela 9. Características analíticas do método

Curva de calibração (C em µg L <sup>-1</sup> )	A = 0,0025C + 0,0017 (DLLME)
Curva de calibração (C em µg L⁻¹)	A = 0,00018C + 0,00561 (Direta)
LOD (µg L <sup>-1</sup> )	0,23 μg L <sup>-1</sup> e 0,03 μg g <sup>-1</sup>
LOQ (µg L <sup>-1</sup> )	0,76 μg L <sup>-1</sup> e 0,10 μg g <sup>-1</sup>
R <sup>2</sup> (coeficiente de correlação)	0,9973
RSD	2,92% (50 µg L <sup>-1</sup> ) e 3,38 (20 µg L <sup>-1</sup> )
Fator de enriquecimento	14

#### 2.9.7. Interferência de outros íons metálicos no procedimento proposto

Pelo fato do reagente 5-(4-dimetilaminobenzildeno) rodanina (PDR) poder complexar outros íons metálicos além do cádmio, podem ocorrer interferências na amostra que ocorre a presença de outros íons. Uma subsequente co-extração de outros complexos formados com PDR pode ocorrer e dessa forma reduzir a eficiência da extração. Nesse trabalho, foi estudado alguns íons com potencial interferências e os resultados são mostrados na Tabela 10.

Os resultados demonstram que não há interferências significativas de outros íons para determinação de Cd por USA DLLME, mesmo se houver uma concentração de interferentes maior que a estudada, pois a analise de material de referência certificado comprova a exatidão do método.

011
94,1
95,3
103
96,9
90,6
96,9
100
93,7
109
90,6
90,6
93,7
95,3
95,3
94,1

Tabela 10. Teste de interferentes para cádmio

#### 2.9.8. Teste de robustez

A robustez do método (definida como a medida da sua capacidade de reproduzir os resultados quando o procedimento é realizado sob pequenas alterações nos valores nominais definidos) também foi avaliada. Este teste foi realizado tendo em conta as condições críticas: pH 9,0, tempo de sonicação de 5,0 min e a concentração de NaCl 4,0% m/v. Neste teste, foi utilizado um planejamento fatorial completo de dois níveis envolvendo estas variáveis. A análise de variância (ANOVA) foi realizada para interpretar os dados a partir desta experiência, por sua vez, os resultados demonstram que este procedimento é robusto para uma variação de 10% no tempo de sonicação, concentração de NaCl e pH (Figura 21).



Efeito padronizado estimado (valor absoluto)

Figura 21. Avaliação da robustez do método

#### 2.9.9. Determinação de cádmio em amostras de água e sedimento

O método foi aplicado para determinação de cádmio em água mineral, água de torneira, água de rio e sedimento de rio. De acordo com a Tabela 11, as recuperações ficaram entre 90 e 110%. Sendo assim o método proposto possui boas recuperações.

Os resultados foram comparados com os limites máximos de cádmio estabelecidos pela OMS e pelo CONAMA em água e sedimento. Estando as amostras dentro dos limites máximos estabelecidos para cádmio.

Amostra	Amostra de Cd μg L <sup>-1</sup> (água) /μg g <sup>-1</sup> (sedi- mento)		% Recuperação
	Adicionada	Encontrada	
Mineral 1	0	3,00 ± 0,50	_
	10	$13,0 \pm 0,40$	100
	20	$24,0 \pm 0,42$	105
Mineral 2	0	$2,00 \pm 0,10$	_
	10	$11,0 \pm 0,09$	90
	20	$22,0 \pm 0,08$	100
Torneira 1	0	$5,00 \pm 0,58$	_
	10	$15,0 \pm 0,40$	100
	20	$24,0 \pm 0,37$	95
Torneira 2	0	< LOQ	_
	10	9,00 ± 0,01	90
	20	$22,0 \pm 0,01$	110
Sedimento1	0	$0,83 \pm 0,08$	_
	2,27	$2,94 \pm 0,02$	93
	4,54	5,85 ± 0,01	110
Sedimento 2	0	$0,98 \pm 0,08$	_
	2,27	$3,10 \pm 0,07$	93
	4,54	5,21 ± 0,05	93
Água d	le Rio	Concentraçã	o (µg L <sup>-1</sup> )
Rio	1	1,46 ± 0,05	
Rio	2	2,21 ± 0,71	
Nível de confiança	a, 95%		

**Tabela 11.** Aplicação da DLLME assistida por ultrassom em amostras de água mineral, torneira, de rio e sedimento do rio de Contas, Jequié-BA.

Os resultados obtidos com utilizando a USA DLLME foram comparados com outros métodos de pré-concentração para determinação de cádmio, como mostra a tabela 12.

Tec. De extração	Solv. Extrator	Complexante	LD (ual <sup>-1</sup> )	RSD (%)	PF	Vol. da amos tra (ml.)	- Amostra	Detecção	Ref.	
LLME	Xileno	Ditizona	0,11	5,90	-	25,0	Água	FAAS	[36]	—
DLLME	CCI <sub>4</sub>	DTC-Na	0,06	3,50	125	5,00	Água	GFAAS	[37]	
DLLME	CCl <sub>4</sub>	Salen	0,50	2,90	122	5,00	Água	GFAAS	[38]	
DLLME	CCl <sub>4</sub>	PAN	0,04	1,70	13	8,00	Água	FAAS	[39]	
DLLME	CH <sub>2</sub> CCI <sub>3</sub>	Ditizona	1,20	2,10	34	10,0	Água	FAAS	[27]	
USA DLL- ME	CCI <sub>4</sub>	PDR	0,23	2,92	14	3,00	Água e edimento	FAAS	Esse trabalho	

**Tabela 12.** Comparação da USA DLLME com outros métodos de microextração líquido-líquido reportados na literatura para o cádmio.

LLME- microextração líquido-líquido; DLLME- Microextração liquido-líquido dispersiva; USA DLLME- Microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom; FAAS- Espectrometria de absorção atômica com chama; GFAAS- Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite; PAN - 1-(2-Piridilazo)-2-naftol; Salen - *N,N'*-bis(salicildeno)etilenodiamino; PDR- 5-(4- dimetilaminobenzildeno) rodanina; DTC – Dietilditiocarbamato de sódio; CCI<sub>4</sub>- Tetracloreto de carbono; CH<sub>2</sub>CCI<sub>3</sub>- Tricloroetileno.

CAPITULO III. Microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom para a pré-concentração de zinco em amostras de cachaça e determinação por FAAS

## 3.0. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1. Instrumentação

Uma lâmpada de cátodo oco de zinco foi utilizada sob condições sugeridas pelo fabricante, aplicando uma corrente de 40 mA. Comprimento de onda de 213,9 nm para Zn. A largura de banda da fenda foi de 0,5 nm e aspiração foi de 5,0 mL min<sup>-1</sup>. O fluxo de acetileno foi 2.5 L min<sup>-1</sup> e o fluxo de ar foi 10.0 L min<sup>-1</sup>. A taxa de fluxo de aspiração utilizada pelo nebulizador foi de 4.0 mL min<sup>-1</sup>.

#### 3.2. Soluções

Todas as soluções foram preparados com reagentes de grau analítico PA e água deionizada foi utilizada durante todo o trabalho.

## 3.2.1. Solução padrão de zinco (100 µg L<sup>-1</sup>)

Foram preparadas diariamente soluções padrão de zinco de 100 μg L<sup>-1</sup> à 5% (v/v) de ácido nítrico, utilizando balões de 100 mL e água deionizada.

#### 3.2.2. Solução de zinco (20 $\mu$ g L<sup>-1</sup>)

Foram preparadas soluções de zinco a 20 µg L<sup>-1</sup>, pela diluição da solução estoque de 1000 µg mL<sup>-1</sup>. Sempre utilizando água deionizada para a diluição.

#### 3.3. Preparo das amostras

As amostras de cachaça foram adquiridas em supermercados da cidade de Jequié, Bahia, Brasil.

# 3.4. Procedimento de microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom para pré-concentração e determinação de Zn

A tubos de ensaio de 10 mL, foram adicionados 5,0 mL de solução de zinco a 20  $\mu$ g L<sup>-1</sup>, 100  $\mu$ L de solução do reagente complexante PDR a 0,025% (m/v), 50  $\mu$ L do reagente extrator e 3,0 mL do reagente dispersor, a mistura foi colocada em banho de ultrassom por 5,0 min, posteriormente foi centrifugada a 5500 rpm por 5,0 minutos para promover a deposição da fase orgânica no fundo do tubo de ensaio. O sobrenadante foi descartado. 300  $\mu$ L de uma mistura de etanol/HNO<sub>3</sub> (2:1) foi adicionado à fase enriquecida. O zinco foi então determinado por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS). A figura 22 apresenta um esquema ilustrativo do método.

# 3.5. Aplicação da microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom em amostras de cachaça

A tubos de ensaio de 10 mL foram adicionados 7,0 mL de cachaça, 100  $\mu$ L de solução do reagente complexante PDR a 0,025% (m/v), 50  $\mu$ L do reagente extrator. Não foi adicionado nenhum reagente dispersor, pois a própria amostra foi utilizada como dispersor. A mistura foi colocada em banho de ultrassom por 5,0 min, posteriormente foi centrifugada a 5500 rpm por 5,0 minutos para promover a deposição da fase orgânica no fundo do tubo de ensaio. O sobrenadante foi descartado. 300  $\mu$ L de uma mistura de etanol/HNO<sub>3</sub> (2:1) foi adicionado à fase enriquecida. O zinco foi então determinado nas amostras de cachaça por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS).



Figura 22. Esquema ilustrativo da USA DLLME para zinco.

## 3.5. Otimização multivariada

À princípio utilizou-se da otimização univariada para escolha do reagente extrator e dispersor e posteriormente para otimização da concentração do reagente complexante, do volume do solvente extrator e volume do reagente dispersor. Foi realizado um planejamento fatorial de dois níveis fracionado para analisar a significância das demais variáveis do sistema, sendo essas: pH, tempo de sonicação, tempo de centrifugação, concentração de NaCI (%), temperatura (°C) e concentração do tampão. Posteriormente a matriz Doehlert para três variáveis com face quadrada foi aplicada.

## 3.6. Planejamento fatorial e Matrix Doehlert

Um planejamento fatorial de dois níveis fracionado (2<sup>6-2</sup>) foi utilizado para uma avaliação preliminar de seis fatores. Uma matriz Doehlert para três variáveis foi realizada para determinação das condições críticas do método. Os ensaios foram realizados em ordem randômica. Foi utilizado um modelo com face quadrada, estudando dois fatores com cinco níveis e um terceiro fator com três níveis, como ilustrado na figura 4. Triplicatas do ponto central foram realizadas para avaliar o erro experimental. A resposta analítica foi em absorvância. A resposta experimental foi processada usando o programa computacional STATISTICA.

# 3.7. Validação do método

Para a validação do método de microextração líquido-líquido dispersiva assistido por ultrassom para a determinação de zinco foi realizado uma avaliação comparativa do FAAS com o GF AAS (espectrometria de absorção atômica com forno de grafite). Um espectrômetro de absorção atômica, marca Perkin Elmer, USA, modelo AAnalyst 400, equipado com forno de grafite modelo HGA 900 e corretor de fundo com lâmpada de deutério foi utilizado para as medidas de absorvância. Uma lâmpada de cátodo oco de zinco foi utilizada como fonte de radiação. As condições operacionais do equipamento durante a determinação de zinco são mostradas na Tabela 13.

Parâmetros	Condição
Comprimento de onda (nm)	213,9
Corrente da lâmpada (mA)	40
Corretor de radiação de fundo	Lâmpada de Deutério
Fluxo do gás de purga (mL min <sup>-1</sup> )	250
Volume da amostra (µL)	20

**Tabela 13.** Condições do GF AAS utilizadas no estudo de validação da USA DLLME para determinação de zinco em cachaça.

O programa de temperatura do forno de grafite para as determinações de zinco está apresentado na Tabela 14.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Patamar (s)	Fluxo de gás (mL min <sup>-1</sup> )
Secagem	100	5	20	250
Pirolise	400	10	20	250
Atomização	1800	0	5	0
Limpeza	2600	1	5	250

Tabela 14. Programa de aquecimento do forno de grafite para a determinação de zinco.

# 3.8. RESULTADOS DE DISCUSSÃO

Para a otimização da microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom para determinação de zinco em cachaça, primeiramente foi aplicado uma metodologia univariada para o estudo das variáveis, tipo de extrator e dispersor, concentração do complexante, volume do extrator e volume do dispersor. As condições iniciais do método são ilustradas na Tabela 15.

Tabela	15.	Condiçã	ões	iniciais	do	método	de	USA	DLLME	para	determina	ção	de :	zin-
CO.														

Variável analítica	Condição inicial	
Extrator	Clorofórmio	
Dispersor	Etanol	
Volume do extrator (µL)	100	
Volume do dispersor (mL)	1,0	
Tempo de sonicação (min)	4,0	
Tempo de centrifugação (min)	5,0	
Concentração de NaCl (% m/v)	0	
Concentração do tampão (mol L <sup>-1</sup> )	0,05	
рН	9,0	
Temperatura de extração (°C)	26	

#### 3.8.1. Otimização da composição do solvente extrator e dispersor

Nesse trabalho diferentes extratores e dispersores foram utilizados para avaliar a eficiência dos mesmos na extração de zinco em cachaça por microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom. Foram utilizados com reagente extrator, tetracloreto de carbono e clorofórmio, como reagente dispersor foi utilizado metanol, etanol e acetona. O gráfico da figura 23 mostra os resultados obtidos através dos ensaios realizados. Pode-se perceber que a mistura tetracloreto de carbono e metanol apresenta uma extração ligeiramente mais eficiente, como é demonstrado pelos sinais de absorvância. No entanto por se tratar da utilização de uma amostra atanólica, optou-se por realizar os demais experimentos utilizando-se a composição tetracoreto de carbono e etanol.

A utilização do etanol como solvente dispersor proporciona a vantagem de reduzir a utilização de reagentes, substituindo o solvente dispersor pela dispersão do reagente extrator proporcionada pela própria amostra.



**Figura 23.** Estudo do solvente dispersor e extrator na determinação de Zn por microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom.

## 3.8.2. Estudo da concentração do 5-(4-dimetilaminobenzildeno) rodanina

Para a complexação dos íons Zn<sup>2+</sup> foi utilizado o agente complexante PDR, por apresentar baixa solubilidade em água e reagir com uma faixa considerável de

íons metálicos. Além disso, os complexos formados pelo PDR podem ser extraídos por uma variedade de reagentes orgânicos, como é o caso do reagente utilizado nesse trabalho.

A concentração do ligante tem um efeito relevante na formação do complexo, por isso foi estudada a concentração do PDR 0,01-0,03% m/v. A figura 24 ilustra que na concentração de 0,01- 0,025% m/v o sinal analítico do zinco aumenta, formando um pico em 0,025% m/v, indicando a total formação do complexo, após 0,025% m/v o sinal analítico diminui indicando a ocorrência de uma competição entre as moléculas do complexante em excesso e as moléculas de zinco complexados para a interação com o solvente de extração. Assim, a concentração de 0,025% m/v foi escolhida como ótima para a aplicação no sistema.



Figura 24. Otimização da concentração do reagente complexante 5-(4dimetilaminobenzildeno) rodanina

#### 3.8.3. Estudo do volume do solvente extrator

A quantidade de solvente extrator é uma variável muito importante em procedimentos envolvendo microextração líquido-líquido dispersiva. A quantidade de solvente utilizada não deve ser muito grande, de forma que ocorra alguma dissolução na fase aquosa. Também, o volume deve ser suficientemente grande para permitir a extração de uma quantidade significativa de analito. Neste estudo, o volume do tetracloreto de carbono foi variado na faixa de 25-150 µL. De acordo com os resultados apresentados na figura 25, a extração é máxima quando utilizado um volume de
solvente extrator de 50  $\mu$ L. Quando utilizado um volume abaixo de 50  $\mu$ L, a quantidade de tetracloreto não é suficiente para extrair uma quantidade significativa de zinco. Quantidades de tetracloreto acima de 50  $\mu$ L podem promover alguma dissolução do solvente na fase aquosa, diminuindo a quantidade extraída.



Figura 25. Otimização do volume do solvente extrator (tetracloreto de carbono)

#### 3.8.4. Estudo do volume do dispersor (Etanol)

A quantidade de volume dispersor é uma variável muito importante, visto que, um bom dispersor precisa ter boa afinidade com a fase orgânica, assim como com a fase aquosa, além disso matrizes alcoólicas possuem uma quantidade estabelecida de etanol em sua composição, por isso se faz necessário o uso de quantidades adequadas para que não ocorra a dispersão total do solvente extrator na fase aquosa.

Nesse estudo o volume do etanol foi variado de 0,5-4,0 mL. De acordo com os resultados representados na figura 26 o sinal analítico permanece praticamente constante de 0,5-2,0 mL, ocorrendo um pico em 3,0 mL, o que indica uma total dispersão do extrator na fase orgânica, após 3,0 mL ocorre uma queda no sinal analítico indicando uma possível dispersão total do extrator. Nos experimentos posteriores foi utilizado um volume de 3,0 mL de etanol.



Figura 26. Estudo do volume do solvente dispersor (Etanol)

# 3.8.5. Planejamento fatorial de dois níveis

Foi realizado um planejamento fatorial de dois níveis fracionado para avaliar a significância de seis variáveis, tempo de sonicação, tempo de centrifugação, concentração do NaCl, concentração do tampão, pH e temperatura de extração.

A Tabela 16 mostra os valores máximos e mínimos utilizados.

Variável	(-)	0	(+)
рН	5	7	9
Conc. Tampão (mol L <sup>-1</sup> )	0,02	0,06	0,1
T. Sonicação (min)	1	4,5	8
T. Centrifugação (min)	1	5,5	10
Conc. de NaCl (% m/v)	0	2	4
Temperatura (°C)	0	25	50

Tabela 16. Valores máximos e mínimos utilizados no planejamento fatorial de dois níveis

A Tabela 18 mostra os 19 ensaios realizados juntamente com as respostas para cada ensaio em nível de absorvância.

A significância dos efeitos das variáveis foi avaliada pela análise de variância (ANOVA) e os efeitos foram verificados utilizando os valores de P. Os dados de A-NOVA são representados na Tabela 17 e as variáveis mais significativas são representadas no gráfico de Pareto da figura 27.

	SQ	gl	MQ	F	Valor P
(1)pH	0,000144	1	0,000144	144,0000	0,006873
(2)Conc. Tampão	0,000002	1	0,000002	2,2500	0,272393
(3)T. Sonic	0,000361	1	0,000361	361,0000	0,002759
(4)T. Centrif	0,000000	1	0,000000	0,2500	0,666667
(5)Conc. de NaCl	0,000072	1	0,000072	72,2500	0,013560
(6)Temperat.	0,000001	1	0,000001	1,0000	0,422650
Erro puro	0,000002	2	0,000001		
Total SS	0,002262	18			



Efeito padronizado estimado(valor absoluto)

**Figura 27.** Gráfico de Pareto gerado pelos resultados do planejamento fatorial de dois níveis fracionado.

Exp.	рН	Conc. Tamp.	T. Sonic.	T. cent.	Conc. de	Temp.	Zn
					NaCl		
4	9(+)	0,10(+)	1,0(-)	1(-)	0(-)	50(+)	24,0
11	5(-)	0,10(+)	1,0(-)	10(+)	4(+)	0(-)	30,0
3	5(-)	0,10(+)	1,0(-)	1(-)	4(+)	50(+)	43,0
17(PC)	7(0)	0,06(0)	4,5(0)	5,5(0)	2(0)	25(0)	0,00
9	5(-)	0,02(-)	1,0(-)	10(+)	0(-)	50(+)	21,0
12	9(+)	0,10(+)	1,0(-)	10(+)	0(-)	0(-)	39,0
10	9(+)	0,02(-)	1,0(-)	10(+)	4(+)	50(+)	22,3
1	5(-)	0,02(-)	1,0(-)	1(-)	0(-)	0(-)	0,00
14	9(+)	0,02(-)	8,0(+)	10(+)	0(-)	0(-)	19,4
18(PC)	7(0)	0,06(0)	4,5(0)	5,5(0)	2(0)	25(0)	2,60
8	9(+)	0,10(+)	8,0(+)	1(-)	4(+)	0(-)	25,3
6	9(+)	0,02(-)	8,0(+)	1(-)	0(-)	50(+)	28,2
13	5(-)	0,02(-)	8,0(+)	10(+)	4(+)	0(-)	18,0
16	9(+)	0,10(+)	8,0(+)	10(+)	4(+)	50(+)	0,00
15	5(-)	0,10(+)	8,0(+)	10(+)	0(-)	50(+)	0,00
2	9(+)	0,02(-)	1,0(-)	1(-)	4(+)	0(-)	22,3
19(PC)	7(0)	0,06(0)	4,5(0)	5,5(0)	2(0)	25(0)	4,00
7	5(-)	0,10(+)	8,0(+)	1(-)	0(-)	0(-)	0,00
5	5(-)	0,02(-)	8,0(+)	1(-)	4(+)	50(+)	9,10

**Tabela 18.** Planejamento fatorial de dois níveis fracionado para seis variáveis (2<sup>6-2</sup>) para Zn, utilizando o procedimento de préconcentração por microextração líquido-líquido dispersiva.

Pela análise dos resultados percebe-se que a variável mais significativa foi o tempo de sonicação, esse fato torna a utilização do ultrassom na microextração líquido-líquido dispersiva uma variável indispensável, devido a sua capacidade de proporcionar uma maior interação entre as partículas do solvente extrator e os íons Zn presente na fase aquosa.

Em sequencia é possível perceber o pH e a concentração de NaCl como variáveis significativas. Dessa forma, se faz necessário o estudo dos valores críticos para tais variáveis, por isso, foi aplicado o planejamento de superfície de resposta com o uso da matriz de Doehlert.

#### 3.8.6. Matriz Doehlert

Foram realizados 15 experimentos para aplicação da matriz Doehlert. O pH variou de 5-9, concentração de NaCl de 2-10% (m/v) e tempo de sonicação 2-8 min.

Os dados obtidos na realização dos 15 experimentos resultaram em superfícies de respostas e gráficos de linhas (figura 28 e 29) que permitiram a identificação dos pontos ótimos para as variáveis estudadas, sendo então, pH 9,0, concentração de NaCl 5,0 e tempo de sonicação 5,0 min.



**Figura 28.** Gráfico de contorno (28A) e superfície de resposta (28B) para as variáveis concentração de NaCl e pH.



Figura 29. Gráfico de contorno (29A) e superfície de resposta (29B) para as variáveis concentração de NaCl e tempo de sonicação.

## 3.8.7. Validação do método analítico

As amostras de cachaça foram também analisadas por GF AAS, como um estudo comparativo do método, e nenhuma diferença significativa foi observada pela aplicação do teste-T pareado e o teste F (nível de confiança 95%). Os resultados são mostrados na Tabela 19.

Tabela 19. C	omparação	dos	s resultad	los	obtidos	através	das	determ	inações	de z	inco
em diferentes	s amostras	de	cachaça	por	FAAS	com os	res	ultados	obtidos	pelo	GF
AAS.											

Amostra	FAAS (μg L <sup>-1</sup> )	GF AAS (μg L <sup>-1</sup> )
1	1,70 ± 0,17	1,40 ± 0,04
2	1,35 ± 0,47	1,80 ± 0,02

#### 3.8.8. Figuras de mérito

Foram construídas duas curvas analíticas variando-se a concentração do zinco. Em uma das curvas foi utilizado o sistema de pré-concentração e a segunda curva foi utilizado o sistema de medida direta no FAAS. A curva analítica utilizada para determinação de Zn por USA DLLME foi construída variando-se a concentração da solução de Zn de 5,0-20  $\mu$ g L<sup>-1</sup>. Foi obtida a seguinte equação da reta: A = 0,0082C + 0,0012. O coeficiente de correlação dessa curva foi de 0,9994. A curva analítica utilizando medidas diretas no FAAS foi construída com concentrações de Zn variando de 50-500  $\mu$ g L<sup>-1</sup>. Foi obtida a seguinte equação da reta: A=0,0003C + 0,0069. O coeficiente de correlação dessa curva foi de 0,9937. A figura 30 mostra as curvas analíticas construídas.



**Figura 30.** Curva analítica utilizando o sistema de pré-concentração por USA DLL-ME (30A) e utilizando análise direta de zinco (30B).

É necessária a realização de uma curva de calibração utilizando o sistema de pré-concentração estudado para verificar o aumento de sinal analítico quando comparado com a curva por analise direta (sem a etapa de pré-concentração). Foi construída também uma curva com adição de zinco em amostra de cachaça, também chamada de curva de adição de analito.

As curvas com adição de analito são construídas para avaliar o efeito de matriz. Geralmente, o desejável é que a curva com adição de analito tenha características similares às da curva convencional, como similares inclinações da reta. O gráfico da figura 31 mostra a comparação de ambas as curvas analíticas.



**Figura 31.** Comparação da curva analítica com adição de zinco presente em amostra de cachaça com a curva analítica convencional, utilizando o método de préconcentração em estudo.

A curva analítica com adição de analito apresentou a seguinte equação: A = 0,0083C + 0,0427, com fator de correlação de 0,9999. Dados esses, similares ao da curva convencional mostrada na figura 32A. O teste T pareado calculado mostrou que as duas curvas analíticas não apresentam diferenças significativas.

A partir dos parâmetros obtidos pelas curvas analíticas foi possível calcular algumas figuras de mérito, que são descritas na Tabela 20, juntamente com as características analíticas do método.

Parâmetro analítico	Resultado
Curva convencional	A= 0,0082C+ 0,0012
Curva Ad. Analito	A= 0,0083C + 0,0427
Curva direta	A=0,0003C + 0,0069
Coef. de correlação	0,9994, 0,9999 e 0,9937
Limite de detecção	0,11 μg L <sup>-1</sup>
Limite de quantificação	0,34 µg L⁻¹
Fator de enriquecimento	28
RSD	3,43% para 20 µg L <sup>-1</sup>

Tabela 20. Resumo das características analíticas de mérito

## 3.7.1. Interferentes

Foi realizado um estudo de alguns íons com potenciais interferências para o zinco em amostras de cachaça, já que o 5-(4-dimetilaminobenzildeno) rodanina possui a capacidade de complexar diferentes cátions e ânions.

Os dados da Tabela 21 mostram a ausência de interferências para os íons estudados. . Foi utilizado no estudo de interferentes uma concentração de zinco de 50  $\mu$ g L<sup>-1</sup>.

Íons interferentes	Interferência (µg L <sup>-1</sup> )	% Recuperação
Mn <sup>2+</sup>	1.000	95,3
Pb <sup>2+</sup>	1.000	95,5
Cd <sup>2+</sup>	1.000	96,8
Ni <sup>2+</sup>	1.000	99,0
Cu <sup>2+</sup>	10.000	105
Mg <sup>2+</sup>	1.000	91,4
Ca <sup>2+</sup>	1.000	92,0
Co <sup>2+</sup>	1.000	90,0
Fe <sup>2+</sup>	1.000	97,1
K <sup>+</sup>	1.000	98,2
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	50.000	97,3
F	50.000	93,3
$CO_3^-$	50.000	99,6
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	50.000	99,6
SO4 <sup>2-</sup>	50.000	95,3

**Tabela 21.** Estudo de possíveis íons interferentes presentes em amostras de cachaça.

## 3.7.2. Aplicação

A microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom foi aplicada para a pré-concentração de zinco em amostras de cachaça e determinação por espectrometria de absorção atômica com chama. As amostras analisadas foram coletadas no comércio da cidade de Jequié/Bahia/Brasil.

A Tabela 22 ilustra os resultados obtidos para a determinação de zinco, esses estão dentro dos limites estabelecidos pela ANVISA para zinco em bebidas fermento destiladas que é de 5000 μg L<sup>-1</sup>

Amostra	Concentração (µg L <sup>-1</sup> )
1	$1,69 \pm 0,17$
2	$1,35 \pm 0,47$
3	$11,8 \pm 3,14$
4	$12,5 \pm 0,77$
5	<lq< td=""></lq<>

**Tabela 22.** Aplicação da USA DLLME para determinação de zinco em amostras de cachaça.

A Tabela 23 ilustra uma comparação do método desenvolvido com outros métodos de microextração líquido-líquido para determinação de zinco em diferentes matrizes.

Método	Solv. de	Quelante	LD (µg L <sup>-1</sup> )	PF	RSD	Volume da	Amostra	Detecção	Ref.
	extração				(%)	amostra			
						(mL)			
UA-IL-	Líquido	Salen	1,90	48	3,00	10	Alimento	FAAS	[77]
DLLME	iônico								
USAE-	1-dodecanol	PAN	0,79	76	4,00	5,0	Água	FAAS	[78]
SFODME									
DLLME-SFO	1-undecanol	PAN	0,25	86	4,50	10,0	Água	FAAS	[79]
DLLME	CCI <sub>4</sub>	PAN	0,17	250	6,90	5,0	Água	EDXRF	[28]
USA DLLME	CCI <sub>4</sub>	PDR	0,11	28	3,43	7,0	Cachaça	FAAS	Este
									trabalho

Tabela 23. Comparação da USA DLLME com outros métodos de microextração líquido-líquido reportados na literatura para o zinco

UA-IL-DLLME- Microextração líquido-líquido dispersiva com líquido iônico assistida por ultrassom; USAE-SFODME- Microextração com gota orgânica solidificada por emulsificação assistida por ultrassom; DLLME-SFO- Gota orgânica flutuante solidificada por microextração líquido-líquido dispersiva; FAAS- Espectrometria de absorção atômica com chama; PAN - 1-(2-Piridilazo)-2-naftol; Salen - *N*,*N'*-bis(salicildeno)etilenodiamino; PDR- 5-(*4*-dimetilaminobenzildeno) rodanina; EDXRF- Fluorescência de raios-X com energia dispersiva; CCl<sub>4</sub>- Tetracloreto de carbono.

# CAPITULO IV. Conclusões

#### 4.1. CONCLUSÕES

Os métodos desenvolvidos mostraram-se simples, eficientes, rápidos e de baixo custo, possibilitando a determinação de cádmio em amostras ambientais (água e sedimento) e zinco em amostras de cachaça.

O uso do planejamento de mistura com restrição foi uma importante ferramenta para a otimização da mistura ternária utilizada na USA DLLME para a préconcentração de Cd em amostras de água e sedimento, visto que para esse procedimento se faz necessário a utilização de proporções adequadas de cada componente e não apenas dos componentes puros.

O uso da metodologia de superfície de resposta em ambos os procedimentos foi de fundamental importância, proporcionando resultados significativos, economia de tempo e custo nas análises.

O uso do reagente quelante 5-(4-dimetilaminobenzildeno) rodanina, possibilitou uma complexação eficiente de cádmio e zinco, sem potenciais interferentes.

Com a microextração líquido-líquido dispersiva assistida por ultrassom combinada com o agente complexante PDR foram obtidos baixos limites de detecção e quantificação.

A utilização da composição da própria amostra de cachaça como dispersor para a DLLME resultou em bons resultados permitindo um menor consumo de reagentes.

O procedimento de USA DLLME apresentou boa exatidão e precisão e dessa forma pode ser utilizado para a determinação de cádmio em amostra de água e sedimento e zinco em cachaça.

## 4.2. PERSPECTIVAS

Tem-se como perspectivas futuras a aplicação do reagente quelante 5-(4dimetilaminobenzildeno) rodanina na pré-concentração de outros íons metálicos em diferentes matrizes.

## REFERÊNCIAS

[1] HOU, X. et al. Determination of Trace Metals in Drinking Water Using Solid-Phase Extraction Disks and X-ray Fluorescence Spectrometry. **Applied spectroscopy**, v.57, p. 338-342, 2003.

[2] INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER – IARC. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man. Berylium, Cadmium, Mercury, and Exposures in the Glass Manufacturing Industry. **Lyon:** I-ARC, v.58, p. 444, 1993.

[3] LOUREIRO, M. E. et al. Toxicidade e tolerância de cádmio em plantas. **Revista** trópica – ciências agrárias e biológicas, v.1, p. 58, 2008.

[4] NORDBERG, G.F. Historical perspectives in cadmium toxicity. **Toxicology applied pharmacology,** v. 3, p. 192-200, 2009.

[5] de OLIVEIRA, A. R. M. et al. Microextração em fase líquida (LPME): fundamentos da técnica e aplicações na Análise de fármacos em fluidos biológicos. Química Nova, V. 3, p. 637-644, 2008.

[6] KARIM-NEZHAD, G.; AHMADI, M.;ZARE-DIZAJDIZI, B. Background Corrected Dispersive Liquid-Liquid Microextraction of Cadmium Combined with Flame Atomic Absorption Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, p.1816-1822, 2011.

[7] SENA, M. M. et al. Determinação espectrofotométrica simultânea de paracetamol
e ibuprofeno em formulações farmacêuticas usando calibração multivariada.
Química Nova, v. 30, p. 75-79, 2007

[8] BEZERRA, M. A. et al. Use of Doehlert and constrained mixture designs in the development of a photo-oxidation procedure using UV radiation/ $H_2O_2$  for decomposition of landfill leachate samples and determination of metals by flame atomic absorption spectrometry. **Anais da Academia Brasileira de Ciências,** v. 1, p. 87, 2015.

[9] GARCIA, C. ; HERNANDEZ, T.; COSTA, F. The influence composting and maturation processes on the heavy-metal extractability from some organic wastes. **Bio-logical Wastes**, v 31, p 291-301, 1990.

[10] LEE, J.D. Química Inorgânica não tão concisa. São Paulo: Edgard Blücher Ltda., 5ed. p. 163-174, 1999.

[11] TONKS, D. B.; PESCE , A. J.; KAPLAN, L. A. Cádmio In: Química Clínica: métodos. **Panamericana**, 1990.

[12] RENNELLA, G. et al. Hydrolase activity microbial biomass and community structure in long-term Cd-contaminated soils. **Soil biology and Biochemistry**, v 36, p 443-451, 2004.

[13] MORENO, J. L. et al. Toxicity of cadmium to soil microbial activity: effect to sewage sludge addition to soil on the ecological dose. **Applied soil ecology**, v 21, p. 149-158, 2002.

[14] PINTO, F. G. et al. Determinação de cádmio em amostras de urina e soro humano por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite usando irídio como modificador permanente. **Eclética Química**, v 30, p.59-65, 2005.

[15] ADRIANO, D. C. Trace elements in the terrestrial environment. **New York: springer**, p 533, 1896.

[16] RIBEIRO FILHO, M. R. et al. Metais pesados em solos de áreas de rejeito de industrias de processamento de zinco. Revista brasileira de ciência do solo, v 23, p. 453-464, 1999.

[17] OKADA, I. A. et al. Avaliação dos níveis de chumbo e cádmio em leite em decorrência de contaminação ambiental na região do Vale do Paraíba, Sudeste do Brasil. Revista de Saúde Pública, v. 31, p. 140-143, 1997. [18] AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA- ANVISA. Resolução -RDC nº- 42, de 29 de agosto de 2013.

[19] MALAVOLTA, E. Fertilizantes e seu impacto ambiental: micronutrientes e metais pesados, mitos, mistificação e fatos. **Produquímica**, p. 40-62, 1994.

[20] MOHAMMADI, S. Z.; BAGHELANI, Y. M.; MANSORI, F. Dispersive liquid-liquid microextraction for the simultaneous separation of trace amounts of zinc and cadmium ions in water samples prior to flame atomic absorption spectrometry determination. **Química Nova**, v. 35, p.198-202, 2012.

[21] NASCIMENTO, C. W. A.; FONTES, R. L. F. correlação entre características de latossolos e parâmetros de equações de adsorção de cobre e zinco. **Revista brasileira de ciência do solo**, v.28, p.965-971, 2004.

[22] RAJABI, M. et al. Ultrasound-assisted ionic liquid based dispersive liquid–liquid microextraction and flame atomic absorption spectrometry of cobalt, copper, and zinc in environmental water samples. **Journal of Molecular Liquids,** v 194, p. 166–171, 2014.

[23] PINTO, F. G. et al. Determinação de cobre e zinco em cachaça por espectrometria de absorção atômica com chama usando calibração por ajuste de matriz. **Analitica**, v. 17, p. 48-50, 2005.

[24] ROMERO-GONZÁLEZ, M. E.; WILLIAMS, C. J.; GARDINER, P. H. E. Study of the Mechanisms of Cadmium Biosorption by Dealginated Seaweed Waste. **Environmental Science e Technology**, v.35, p. 3025–3030, 2001.

[25] MARTORELL, I. et al. Human Exposure to Arsenic, Cadmium, Mercury, and Lead from Foods in Catalonia, Spain: Temporal Trend. **Biological Trace Element Research**, v.142, p. 309-322, 2011.

[26] ANTHEMIDIS, A. N.; ARVANITIDIS, V. & STRATIS, J. A. On-line emulsion formation and multi-element analysis of edible oils by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Analytica chimica Acta**, v.537, p. 271-278, 2005.

[27] LARA, R. et al. Trace element determination of Argentine wines using ETAAS and USN-ICP-OES. Food and Chemical Toxicology, v. 43, p. 293–297, 2005.

[28] PYTLAKOWSKA, K.; SITKO, R. Energy-dispersive X-ray fluorescence spectrometry combined with dispersive liquid–liquid microextraction for simultaneous determination of zinc and copper in water samples. **Analytical Methods**, v. 5, p. 6192, 2013.

[29] BATISTA, M. I. S. Avaliação da influência da matéria orgânica, na determinação quantitativa de metais em amostras de sedimento, por espectrometria de absorção atômica e análise de metais traços por fluorescência de raios-X. Dissertação (Mestrado em Físico-Química; Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011.

[30] ROLDAN, P. S. dos.; KRUG, F. J. E.; NÓBREGA, J. A. de. Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica Empregando Filamentos de Tungstênio. **Revista Analtyca**, v. 25, 2006.

[31] LEMOS, V. A.; CARVALHO, A. L. de. Determination of cadmuim and lead in human biological samples by spectrometry and asstechniques: a review. **Environ-mental Monitoring and Assessment,** 2009.

[32] PINTO, F. G. et al. Determinação de cobre e zinco em cachaça por espectrometria de absorção atômica com chama usando calibração por ajuste de matriz. **Analytica**, p. 48-50, 2005.

[33] OLSSON, ING-M. et al. Cadmium in blood and urine: impact of sex, age, dietary intake, iron status, and former smoking--association of renal effects. **Environ Health Perspect**. v.110, p.1185–1190, 2002.

[34] QUEIROZ, S. C. N.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em Fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. **Química Nova**, v. 24, p.68-76, 2001.

[35] ROCHA, F. R. P.; TEIXEIRA, L. S. G. Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS. **Química nova**, v. 27, p.807-812, 2004.

[36] MOHADESI, A.; FALAHNEJAD, M. Based on Solidification Floating Organic Drop Trace Amounts of Manganese Prior to Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry Determination. **The Scientific World Journal**, v.2012, p. 5, 2012.

[37] JEANNOT, M. A.; CANTWELL, F.F. Solvent microextraction into a single drop. **Analytical Chemistry,** v. 68, p.2236, 1996.

[38] ZHAO, E. et al. Pesticides in water and the performance of the liquid-phase microextraction based techniques: A review. **Microchemical Journal**, v.83, p. 105, 2006.

[39] JEANNOT, M.A.; PRZYJAZNY, A.; KOKOSA, J.M. Single drop microextraction-development, applications and future trends. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, p. 2326, 2010.

[40] MARTÍN, J.; CAMACHO-MUÑOZ, D.; SANTOS, J. Determination of priority pollutants in aqueous samples by dispersive liquid-liquid microextraction. **Analytica chimica acta,** p. 7-60, 2013.

[41] LIU, H.; DASGUPTA, P. K. Analytical chemistry in a drop. Solvent extraction in a microdrop. **Analytical Chemistry**, v. 68, p. 1817, 1996.

[42] PEDERSEN-BJERGAARD, S.; RASMUSSEN, K. E. Liquid-liquid-liquid microextraction for sample preparation of biological fluids prior to capillary electro-phoresis. **Analytical Chemistry**, v.71, p.2650, 1999.

[43] OLIVEIRA, A. R. de M. et al. Microextração em fase líquida (LPME): Fundamentos da técnica e aplicações na Análise de fármacos em fluidos biológicos. **Química nova**, p.637–644, 2008.

[44] PEDERSEN-BJERGAARD, S.; RASMUSSEN, K. E. Liquid-phase microextraction with porous hollow fibers, a miniaturized and highly flexible format for liquid–liquid extraction. **Journal of Chromatography A**, v.1184, p. 132, 2008.

[45] ZANJANI, M. R. K. et al. A new liquid-phase microextraction method based on solidified of floating organic drop. **Analytica Chimica Acta**, v.585, p. 293, 2007.

[46] MOHAMADI, M.; MOSTAFAVI, A. A novel solidified floating organic drop microextraction based on ultrasound-dispersion for separation and preconcentration of palladium in aqueous samples. **Talanta**, v. 81, p.309–13, 2013.

[47] REGUEIRO, J. et al. Ultrasound-assisted emulsification-microextraction of emergent contaminants and pesticides in environmental waters. **Journal of Chroma-tography A**, v. 1190, p. 27, 2008.

[48] FONTANA, A. R.; ALTAMIRANO, J. C. Sensitive determination of 2,4,6trichloroanisole in water samples by ultrasound assisted emulsification microextraction prior to gas chromatography-tandem mass spectrometry analysis. **Talanta**, v. 81, p. 1536-1541, 2010.

[49] ZHANG, Y.; LEE, H. K. Application of ultrasound-assisted emulsification microextraction based on applying low-density organic solvent for the determination of organochlorine pesticides in water samples. **Journal of Chromatography A**, v.1252, p. 67–73, 2012.

[50] REZAEE, M. et al. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid–liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, v.1116, p.1–9, 2006. [51] AL-SAIDI, H. M.; EMARA, A. A. A. The recent developments in dispersive liquid– liquid microextraction for preconcentration and determination of inorganic analytes. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 18, p. 745–761, 2014.

[52] FERREIRA, B. L. et al. Ultrasound-assisted extraction from chocolate powder samples for the determination of Fe, K and Na. **Brazilian Journal of Food Technol-ogy**, v. 17, p. 236-242, 2014.

[53] JAHROMI, E. Z. et al. Dispersive liquid–liquid microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry: ultra trace determination of cadmium in water samples. **Analytica Chimica Acta**, v.585, p.305–311, 2007.

[54] MOGHIMI, A. Preconcentration ultra trace of Cd(II) in water samples using dispersive liquid–liquid microextraction with salen(N,N ¢ -bis(salicylidene)ethylenediamine) and determination graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Journal of Chinese Chemical Society**, v. 55, p.369–376, 2008.

[55] MOHAMMADI, S. Z.; BAGHELANI, Y. M.; MANSOR, F. Dispersive liquid-liquid microextraction for the simultaneous separation of trace amounts of zinc and cadmium ions in water samples prior to flame atomic absorption spectrometry determination. **Química Nova**, v. 35, p.198-202, 2012.

[56] RAJABI, M. et al. Ultrasoud-assisted ionic liquid based dispersive liquid-liquid microextraction and flame atomic absorption spectrometry of cobalt, copper and zinc in environmental water samples. **Journal of molecular liquids**, v. 194, p. 166-171, 2014.

[57] MACÊDO, S. S. Síntese e caracterização de complexos de cádmio(ii) com bases de Schiff derivadas de aminoácidos. Dissertação (Mestrado em Química)-Universidade de Brasília, Brasília, 2009.

[58] TANG, E.; YANG, G.; YIN, J. Studies on the synthesis of 5-(p-aminobenzylidene)-rhodanine and its properties. **Spectrochimica Acta Part A**, v. 59, p.651-656, 2003.

[59] AZEREDO, L. da C. et al. Determinação de Cd, Ni e Zn por espectrometria de Emissão Atômica com plasma indutivamente acoplado, após separação e préconcentração em coluna cotendo P-Dimetilaminobenzildeno-Rodanina adsorvida sobre silica gel. **Química Nova**, v. 22, p. 512-515, 1999.

[60] SENA, M. M. et al. Determinação espectrofotométrica simultânea de paracetamol e ibuprofeno em formulações farmacêuticas usando calibração multivariada. Química Nova, v. 30, p. 75-79, 2007.

[61] CAMPOS, L. F. A.; AMORIM, L. V.; FERREIRA, H. C. Utilização do planejamento experimental no estudo do efeito da composição de misturas de bentonitas na reologia de fluidos de perfuração. Parte II: composições ternárias. **Cerâmica**, v. 53, p. 68-73, 2007.

[62] BEZERRA, M. A. Aplicação da Matriz Doehlert em um sistema de préconcentração em linha para determinação de cobre Usando espectrometria de absorção atômica com Chama. Dissertação de mestrado, fevereiro, 2013.

[63] HAIR, J. F. et al. Análise multivariada de dados. Bookman, 6ed, 2009.

[64] FERREIRA, S. L. C. Introdução às técnicas de planejamento de experimentos. Salvador: **Vento Leste**, 1ªEd, 2015.

[65] FONTANA, R.; PISTONE, G.; ROGANTIN, M. P. Algebraic analysis and generation of two-levels designs. Journal of Applied Statistics, v. 9, p. 15–29, 1997.

[66] Li, W.; LIN, D. K. J. Optimal Foldover Plans for Two-Level Fractional Factorial Designs. **Technometrics**, v. 45, p. 142-149, 2003.

[67] BRUNS, R. E.; SCARMINIO, I. S.; NETO, B. B. Statistical Design – Chemometrics. **Elsevier**, 2006. [68] TEOFILO, R.F.; FERREIRA, M. M. C. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**, v. 29, p. 338, 2006.

[69] BEZERRA, M. A. et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v. 76 p. 965–977, 2008.

[70] BOSQUE-SENDRA, J. M. et al. Optimization of Analytical methods by using doehlert's design. **Analytical proceeding including analytical comunications**, v 32, p 375, 1995.

[71] Doehlert, D. H. Uniform Shell Designs. **Applied Statistics**, v. 19, p. 231-239, 1970.

[72] FERREIRA, S. L. C. et al. Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry—review. **Talanta**, v. 63, p. 1061–1067, 2004.

[73] MASSART, D. L. et al. Handbook of Chemometrics and Qualimetrics, Part A. **Elsevier,** Amsterdam, 2003

[74] BARROS, J. M. et al. Multivariate optimization of an ultrasound-assisted extraction procedure for Cu, Mn, Ni and Zn determination in ration to chickens. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, p. 891-902, 2013.

[75] BIANCHIN, J. N. et al. Otimização multivariada e aplicação do sorvente SiO2-Nb2O5 para determinação em linha de Ni(II) em matriz aquosa. **Eclética**, v. 33, 2008.

[76] Neto, B. de B.; Scarminio, I. S.; Bruns, R. E.; Como Fazer Experimentos. **Editora da Unicamp**: Campinas, 2ed, p. 214, 2002.

[77] MARYAM, R. et al. Ultrasound-assisted ionic liquid based dispersive liquid–liquid microextraction and flame atomic absorption spectrometry of cobalt, copper, and zinc

in environmental water samples. **Journal of Molecular Liquids,** v.194, p. 166–171, 2014.

[78] MA, J. et al. Solidified floating organic drop microextraction for determination of trace amounts of zinc in water samples by flame atomic absorption spectrometry. **Microchimica Acta**, v. 168, p. 153–159, 2010.

[79] ASADOLLAHI, T. et al. Application of Chemometrics Methods for the Simultaneous Determination of Zinc and Copper after Preconcentration and Separation by Liquid– Liquid Microextraction Based on Solidification of Floating Organic Drop Coupled to Flow Injection Spectrophotometry. **Current Analytical Chemistry**, v. 8, p. 373-381, 2012.