UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

HELAN CARLOS SILVA OLIVEIRA

SISTEMA EM LINHA FECHADO EMPREGANDO RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA E PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO 70% PARA TRATAMENTO DE FITOTERÁPICOS COMO ETAPA PRÉVIA À DETERMINAÇÃO DE MANGANÊS

JEQUIÉ – BA
JULHO/2019

HELAN CARLOS SILVA OLIVEIRA

SISTEMA EM LINHA FECHADO EMPREGANDO RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA E PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO 70% PARA TRATAMENTO DE FITOTERÁPICOS COMO ETAPA PRÉVIA À DETERMINAÇÃO DE MANGANÊS

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

Área de concentração: Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Valfredo Azevedo Lemos.
Coorientador: Prof. Dr.Marcelo Eça Rocha

JEQUIÉ – BA
JULHO/2019

O48s Oliveira, Helan Carlos Silva.
Sistema em linha fechado empregando radiação ultravioleta e peróxido de hidrogênio 70% para tratamento de fitoterápicos como etapa prévia à determinação de manganês / Helan Carlos Silva Oliveira.- Jequié, 2019.
42f.

(Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, sob orientação do Prof. Dr. Valfredo Azevedo Lemos e coorientação do Prof. Dr. Marcelo Eça Rocha)

1. Radiação UV 2.FAAS 3.Peróxido de hidrogênio 70% 4.Manganês 5.Pré-concentração I.Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia II.Título

CDD – 523.72

Rafaella Câncio Portela de Sousa - CRB 5/1710. Bibliotecária – UESB - Jequié

TERMO DE APROVAÇÃO

HELAN CARLOS SILVA OLIVEIRA

Sistema em linha fechado empregando radiação ultravioleta e peróxido de hidrogênio 70% para tratamento de fitoterápicos como etapa prévia à determinação de manganês

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

COMISSÃO EXAMINADORA

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

Prof. Dr. Marcelo Eça Rocha - Coorientador
(UFBA, Salvador - BA, 2016)

Profa. Dra. Luciana Bagdeve de Oliveira dos Santos
(USP, São Paulo - SP, 2006)

Profa. Dra. Liz Oliveira dos Santos
(UFBA, Salvador - BA, 2016)

Dissertação aprovada pelo Colegiado do Curso de Pós-graduação em Química em 26 / 07 / 2019.

Aos meus amados pais, Genet e Mosar,
meu irmão Geovan César, a vocês,
o bem mais precioso que tenho
na vida, dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer ao nosso bom Deus pela a sabedoria concedida e por estar sempre do meu lado nessa caminhada.

Gostaria de agradecer imensamente o Professor Dr. Valfredo Azevedo Lemos pela Orientação. Gostaria de registrar aqui também, que me sinto muito grato e feliz por ter sido seu orientando. Agradeço também não só pela orientação, mas pela amizade, pelos conselhos e também pelos puxões de orelha quando necessário.

À minha família (minha mãe Genet, Meu Pai Mosar, meu irmão Geovan) pelo incentivo e carinho e aquele agradecimento muito especial para minha namorada Larissa por está sempre do meu lado dando apoio e carinho e até mesmo me ajudando nos experimentos.

Agradecer também a Rebeca, Leane e Marcelo pela parceria do laboratório e amizade, obrigado por me ajudar sempre quando se fez necessário, meu muito obrigado. Aos companheiros de LQA Márcio José, Luana, Jeferson, Ivanilson, Nelinho, Jonathan e Joaquim.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da UESB e todos os professores que contribuíram para aquisição de conhecimentos em química analítica.

À Fapesb pela bolsa concedida.

A todos que torceram e contribuíram pela realização deste trabalho.

Nunca foi sorte

Sempre foi D.E.U.S, o tempo todo, do meu lado,

Guiando minha vida, nos caminhos certos das minhas conquistas.

Lourdes Sousa

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Tipos de coluna para preparação e pré-concentração em linha. 18

Figura 2. Componentes do sistema de digestão UV 19

Figura 3. Componentes do sistema de pré-concentração em fluxo utilizado para pré-concentração e determinação de manganês. 20

Figura 4. Estudo do material sorvente utilizado no preenchimento da minicoluna no sistema de pré-concentração em linha.. 22

Figura 5. Formação de um complexo íon-metálico [36].....22

Figura 6. Estudo do agente complexante na formação do complexo íon-metálico.. 23

Figura 7. Estrutura sugerida para o complexo 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol(TAN) com Mn(II). 23

Figura 8. Representação dos equilíbrios ácido-base envolvendo as formas do TAN 1-(2-tiazolilazo)-2- Naftol [39] 24

Figura 9. Estudo do pH na formação do complexo íon-metálico no sistema de pré-concentração em linha.. 25

Figura 10. Estudo do comprimento da minicoluna no sistema de pré-concentração em linha.. 26

Figura 11. Estudo do efeito do volume do reagente complexante.. 27

Figura 12. Estudo do tempo de pré-concentração sobre o sinal analítico de absorvância do manganês.. 27

Figura 13. Estudo do tipo de eluente para dessorção do Mn(II).. 28

Figura 14. Estudo da concentração do eluente.. 29

Figura 15. Estudo da vazão do eluente.. 30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Parâmetros do espectrômetro utilizado na determinação de manganês. 17

Tabela 2. Condições do sistema em linha para pré-concentração e determinação de Mn (II) por FAAS. 20

Tabela 3. Estudo de alguns interferentes no sistema de pré-concentração em linha proposto. 31

Tabela 4. Estudo dos principais parâmetros analíticos do método proposto. 33

Tabela 5. Resultados da determinação de manganês em amostras de fitoterápicos utilizando-se o método proposto 34

ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária

APDC- 4-(2-Pyridylazo)resorcinol

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

DDTC- Dietilditiocarbamato de sódio

FAAS - Espectrometria de Absorção Atômica em Chama (Flame Atomic Absorption Spectrometry)

FE Fator de enriquecimento

ICP - MS - Espectrometria de Massas com Plasma Acoplado Indutivamente (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry)

LD - Limite de Detecção (Limit of Detection)

LQ - Limite de Quantificação (Limit of Quantification)

Mn- Manganês

PAN- 1- (2-piridilazo)2-naftol (PAN)

PAR- 1-(2- tiazolilazo)-2-naftol

PVC- Cloreto de polivinila

RPM- Rotação por minuto

SNC- Sistema Nervoso Central

SPE - Extração em fase sólida (Solid phase extraction)

TAN- 1-(2- tiazolilazo)-2-naftol

UV- Radiação ultravioleta

SISTEMA EM LINHA FECHADO EMPREGANDO RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA E PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO 70% PARA TRATAMENTO DE MEDICAMENTOS COMO ETAPA PRÉVIA À DETERMINAÇÃO DE MANGANÊS

Autor: Helan Carlos Silva Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Valfredo Azevedo Lemos.

Coorientador: Prof. Dr.Marcelo Eça Rocha

RESUMO

Neste trabalho, foi desenvolvido um sistema fechado para a decomposição de fitoterápicos comercializados na cidade de Jequié-BA, visando à determinação de manganês (Mn) por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS). O sistema digestor é composto por um tubo de teflon com um comprimento de 3,5m e 0,8mm de diâmetro, que é enrolado em torno de uma lâmpada UV de 8W e 30 cm de comprimento. A lâmpada foi instalada em uma caixa de madeira de 50 cm de comprimento, 29 cm de altura e 29 cm de largura. Durante a etapa de digestão, uma bomba peristáltica é empregada para impulsionar 5,0 mL da amostra de fitoterápico na presença de 2,0 mL de peróxido de hidrogênio 70% por meio de tubos de teflon a uma taxa de fluxo de 1mL min^{-1} por 45 min. Em um segundo momento, a amostra foi encaminhada para a etapa de pré-concentração. O sistema de pré-concentração é constituído por duas bombas peristálticas, uma válvula manual de seis vias e duas posições, uma minicoluna recheada com algodão e tubos de teflon e silicone. O metal extraído foi determinado por FAAS. Os parâmetros que influenciam a extração do Mn(II) foram otimizados utilizando-se o método univariado. Sob condições otimizadas, o método apresentou limite de detecção de 1,0 µg L^{-1}, limite de quantificação de 3,2 µg L^{-1}, fator de enriquecimento de 22, índice de consumo de 0,45mL min^{-1} e precisão expressa pelo desvio padrão relativo (RSD%) de 2,33%. A exatidão do método foi avaliada através do método de adição de padrão e recuperação do analito. O sistema foi empregado para digestão e determinação do manganês em duas amostras de fitoterápicos. O teor de Mn(II) variou de 44,40 a 58,95 μgL^{-1}.

Palavras-chave: Radiação UV, FAAS, peróxido de hidrogênio 70%, manganês, pré-concentração.

SISTEMA EM LINHA FECHADO EMPREGANDO RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA E PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO 70% PARA TRATAMENTO DE MEDICAMENTOS COMO ETAPA PRÉVIA À DETERMINAÇÃO DE MANGANÊS

Autor: Helan Carlos Silva Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Valfredo Azevedo Lemos.

Coorientador: Prof. Dr.Marcelo Eça Rocha

ABSTRACT

In this work, a closed system was developed for the decomposition of phytotherapics marketed in the city of Jequié-BA, aiming at the determination of manganese (Mn) by flame atomic absorption spectrometry (FAAS). The digester system consists of a teflon tube with a length of 3.5m and 0.8mm in diameter, which is wrapped around the lathe of a UV lamp of 8W and 30cm in length. The letter is presented in a wooden box 50 cm long, 29 cm high and 29 cm wide, fully painted black inside. During a digestion step, a peristaltic pump is used to boost 5.0 mL of phytotherapeutic acid sample in the presence of 2.0 mL of 70% hydrogen peroxide by means of a Teflon tube flow rate of 1 mL min^{-1} for 45 min. In a second moment, a sample is sent to a preconcentration stage. The pre-assembly system consists of two peristaltic pumps, a six-way two-way manual valve, a mini-column stuffed with cotton and teflon and silicone tubes. The extracted metal was determined by FAAS. The parameters that influence the extraction of Mn(II) were optimized using the univariate method. Under optimized conditions, the method had a detection limit of 1.0 µg L^{-1}, a quantification limit of 3.2 µg L^{-1}, enrichment factor of 22, a consumption index of 0.45 ml min^{-1} and expressed precision by the relative standard deviation (RSD%) of 2.33%. The accuracy of the method was evaluated through the method of addition and recovery of the analyte. The system was used for digestion and determination of manganese in two herbal samples. The Mn(II) content ranged from 44.40 to 58.95 µgL^{-1}

Key words: UV radiation, FAAS, hydrogen peroxide 70%, manganese, preconcentration.

SUMÁRIO

1 Introdução 13
2 Experimental 17
2.1 Instrumentação 17
2.2 Reagentes 17
2.3 Construção das minicoluna de sílica 18
2.4 Descrição e operação do sistema em linha 18
2.5 Condições iniciais do sistema em linha 20
2.6 Preparo das amostras 21
3 Resultados e discussão 21
3.1 Otimização de variáveis 21
3.1.1 Estudo do material utilizado na minicoluna 21
3.1.2 Influência do reagente quelante 22
3.1.3 Estudo do pH 24
3.1.4 Tamanho da coluna 25
3.1.5 Estudo do volume do reagente complexante 26
3.1.6 Tempo de pré-concentração 27
3.1.7 Estudo do tipo de Eluente 28
3.1.8 Estudo da concentração do eluente 29
3.1.9 Vazão do eluente 30
3.2 Estudo da seletividade de alguns íons 30
3.3 Características analíticas 32
3.3.1 Linearidade 32
3.3.2 Sensibilidade 32
3.3.3 Fator de enriquecimento 32
3.3.4 índice de consumo (IC) 33
3.3.5 Precisão 33
3.4 Exatidão e aplicação do método 34
4 Conclusão 34
5 Perspectivas 35
6 Referências 36

1 Introdução

A utilização das plantas medicinais pelo homem é quase tão antiga quanto a própria humanidade, utilizando-a como um dos primeiros recursos alternativos de tratamento não convencional para o cuidado da saúde dos indivíduos e de suas famílias [1]. Ainda hoje o uso de plantas medicinais é o único recurso terapêutico de diversas comunidades em pequenas e grandes regiões brasileiras, sendo elas cultivadas em quintais, comercializadas em feiras livres e mercados populares [2, 3].

Com os avanços ocorridos na área científica, o desenvolvimento de fitoterápicos reconhecidamente seguros e eficazes, a comprovação científica dos benefícios e da ação terapêutica de certas plantas, tem aumentado significativamente a procura por terapias alternativas com o uso de plantas medicinais [4]. E como consequência da grande difusão e da utilização das plantas medicinais, as indústrias vêm produzindo produtos à base de espécies vegetais, de diversas formas farmacêuticas que têm sido comercializados em farmácias, supermercados e casas de produtos naturais.

O amargo é um composto líquido feito com extrato de plantas medicinais. Vendido com o slogan “O chá da família brasileira”, o chá amargo é um produto com ervas naturais à base de carqueja (*Baccharis genistelloides*), camomila (*Matricaria recutita*), chá verde (*Camelia sinensis*) e hortelã pimenta (*Mentha Piperita L*). Seu uso é indicado principalmente para os que sofrem de problemas digestivos [5].

É bem conhecido que os vegetais podem absorver metais do solo, bem como da atmosfera pelo pó depositado nas suas superfícies [6]. Dentre estes metais, destacamos o manganês Mn(II) cuja importância cresce a cada dia em todo o mundo. O funcionamento do Mn(II) no organismo ocorre através de um mecanismo eficaz que mantém os níveis deste metal em concentrações ideais. Ele age como ativador essencial em uma série de reações metabólicas catalisadas por enzimas, que integra o sistema de defesa do organismo contra radicais livres sendo muito importante para reprodução e o crescimento. Também associado à formação de tecido conjuntivo e ósseo além de ajudar a expulsar os radicais livres que promovem o envelhecimento [7,8]. No entanto, altas

concentrações no organismo podem acarretar prejuízos ao Sistema Nervoso Central (SNC), uma vez que, possui um potencial neurotóxico. O excesso de Mn(II) no organismo tem sido associado a prejuízos neuropsicológicos em crianças e adultos [9-11]. A farmacopeia brasileira estabelece o limite máximo de 250 μ*g* g^{-1} de Mn(II) em chás [12]. Assim, o monitoramento dos níveis deste metal nestas matrizes é extremamente importante a fim de auxiliar no controle de qualidade no que se refere à proteção dos consumidores para os riscos de contaminação.

Dentro do protocolo analítico, é de fundamental importância o analista levar em consideração um conjunto de etapas denominado sequência analítica, que o direcionam na obtenção dos resultados requeridos. Estas etapas são: Definição do problema, escolha do método, amostragem, preparação da amostra, medida do analito, avaliação e ação a ser tomada a partir dos resultados obtidos. Dentre todas essas etapas, a de preparo de amostras é a mais crítica, onde, de modo geral, se cometem os maiores erros (Cerca de 30% do valor total) e se consome mais tempo (61% do tempo total), aumentando os custos da análise [13-16].

A etapa de preparo de amostras constitui um conjunto de procedimentos necessários pela transformação do analito de interesse, que se encontra inicialmente ligado à matriz, em uma forma inorgânica mais simples e disponível, presente em uma solução homogênea com um mínimo de interferentes [17]. A análise elementar da maioria das matrizes complexas, como no caso de fitoterápicos, frequentemente requer uma etapa de solubilização/decomposição total ou parcial da amostra antes da análise instrumental. Para este propósito, a amostra é convencionalmente tratada por meio de técnicas de digestão ácida em placas de aquecimento, ou por meio de técnicas de redução a cinzas [18]. Tais técnicas de decomposição de amostras apresentam uma série de inconvenientes, como elevado tempo gasto para o tratamento da amostra, necessidade de grandes volumes de reagentes, grande risco de contaminação e perdas de analitos voláteis. [16, 19, 20].

Neste sentido, existe uma constante busca pelo desenvolvimento de metodologias de preparação de amostras que apresentem simplicidade, rapidez, utilizem pequenos volumes de reagentes, permitam o tratamento de grande número de amostras, além de proporcionarem resultados precisos e exatos.

Dentro deste cenário, a foto-oxidação usando radiação ultravioleta, vêm recebendo crescente interesse por parte da comunidade científica como alternativa às metodologias convencionais.

A irradiação da amostra por ondas eletromagnéticas da região do ultravioleta pode ser útil para a decomposição de interferentes, como a matéria orgânica. A mineralização usando irradiação UV pode representar uma alternativa efetiva em muitas situações, oferecendo algumas vantagens quando comparada aos procedimentos convencionais de decomposição de amostras, que são: a eliminação ou redução de perdas de analitos voláteis; o menor risco de contaminação da amostra, além de que, requer o uso de menores quantidades de reagentes e elimina, em muitos casos, a necessidade do uso de reagentes altamente corrosivos. Dessa forma, demonstra-se que, as condições para a mineralização da amostra são mais brandas, possibilitando, por exemplo, que o processo seja conduzido a baixas temperaturas e, em condições de pH com meio neutro ou básico, tornando-se útil quando a etapa de digestão é seguida por procedimentos de extração e/ou pré-concentração. Somado à isso, também existe a possibilidade do desenvolvimento de sistemas de irradiação em fluxo mecanizados ou automatizados, onde a facilidade de sua integração em sistemas de fluxo tem impulsionado o desenvolvimento de sistemas integrados para a análise de amostras[18, 21, 22].

O uso da radiação ultravioleta(UV) com a combinação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) estabelece um processo de oxidação avançada que gera radicais hidroxilas ($^{\cdot}OH$), estes radicais tem sido usados em procedimentos de decomposição de compostos orgânicos em aberturas de amostras. Esse método de preparo de amostra já foi aplicado para a digestão de alimentos, matrizes ambientais e biológicas [23-25]. Neste contexto, Almeida e Vasconcelos et al, desenvolveu um procedimento em batelada utilizando 30% de H_2O_2 e radiação UV durante um hora para digestão e determinação de vários elementos em amostras de vinho por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS)[26]. Além disso, Raineldes et al, desenvolveu um sistema em linha fechado para digestão de amostras usando peróxido de hidrogênio 70% e radiação UV para determinação de chumbo em vinhos por espectrometria de absorção atômica com chama [27]. É de importância destacar que o peróxido de

hidrogênio 30% é um dos reagentes mais empregados em procedimentos de preparação de amostras. No entanto, o peróxido de hidrogênio 70% foi recentemente produzido e teve aplicação limitada em química.

Normalmente, amostras de plantas medicinais encontram-se na forma sólida, sendo que, comumente, no pré-tratamento das amostras são empregados três estágios antes de se proceder as análises por técnicas espectroanalíticas: moagem, secagem e dissolução. Existem poucas técnicas que permitem a análise direta da amostra sem nenhuma preparação prévia, tais como análise por ativação neutrônica, termogravimetria, espectrometria de flurescência de raios-X, ablação com laser, espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, dentre outras. No entanto, tais técnicas são relativamente caras, e não se encontram tão disponíveis quanto à espectrometria de absorção atômica com chama [28].

A espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) é uma técnica simples e de baixo custo relativo quando comparada com as demais. Devido a isto, é mais frequentemente utilizada por laboratórios de análises rotineiras. Uma desvantagem destas técnicas é a sua baixa sensibilidade. Uma alternativa seria, portanto, uma etapa de pré-concentração do analito. Os métodos analíticos de pré-concentração baseiam-se em alguns fenômenos, como a precipitação, evaporação, extração líquido-líquido e extração em fase sólida (SPE) [29-31].

A extração em fase sólida tem sido a técnica mais comumente empregada em muitas áreas da química, incluindo meio ambiente, farmacêutica, clínica, alimentos e indústrias [32], pois apresenta inúmeras vantagens tais como: flexibilidade, baixo custo devido ao menor consumo de reagentes, ausência de emulsões, rapidez, simplicidade e é de fácil automação. Atualmente um número grande de sorventes são disponíveis comercialmente para o preenchimento de um minicoluna. Em geral, os materiais de recheio empregados para SPE, destacam-se o carvão ativado, sílica, resinas poliméricas, espumas de poliuretano e adsorventes naturais [33].

Diante disso, neste trabalho foi desenvolvida uma associação entre o método de digestão utilizando radiação UV e peróxido de hidrogênio a 70% e um sistema em linha de extração em fase sólida com detecção espectrométrica para dosagem de manganês em amostras de chá amargo.

2 Experimental

2.1 Instrumentação

Um Espectrômetro de absorção atômica com chama ar/acetileno Perkin Elmer, (Norwalk, CT, EUA), modelo AAnalyst 200, foi utilizado na detecção de manganês. Uma lâmpada de catodo oco (Perkin-Elmer, Norwalk, CT, EUA) de manganês, foi utilizada como fonte de radiação e as condições operacionais foram sugeridas pelo fabricante estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 Parâmetros do espectrômetro utilizado na determinação de manganês.

Parâmetro	Valor
Comprimento de onda (nm)	279,45
Largura da fenda (nm)	0,7
Corrente da lâmpada (mA)	4,0
Altura do queimador (mm)	13,5
Vazão de fluxo do gás acetileno(L min^{-1})	2,5
Vazão de fluxo do ar (L min^{-1})	10,0
Vazão de aspiração da solução (mL min^{-1})	5,0

Utilizou-se o medidor de pH Quimis Q400AS (Diadema, Brasil), balança analítica SARTORIUS (modelo BL D105), agitador magnético com aquecimento (Fisatom, 752 A); sistema para purificação de água (QUIMIS, São Paulo, Brasil), micropipetas (Transferpette Digital - Brand, RB704174, RB704178; Sealpette, ER 33832; Kacil S); ponteiras (Brand, 18170, 18266, 702533). Além disso, vidraria convencional, mantida em solução de HNO_3 a 10% v v^{-1} durante 24h para descontaminação e enxaguadas com água deionizada. Duas bombas peristáltica (Watson Marlow, modelo 120S e CCM6DS-K) equipados com tubos de Tygon de vários diâmetros e tubos capilares de Teflon ou polietileno foram usadas para propulsionar todas as soluções durante a etapa de pré-concentração.

2.2 Reagentes

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e as soluções foram preparadas com água ultrapura, proveniente de um purificador ELGA (Modelo Classic UF MK2 - resistividade de 18,2 mΩ. cm) após prévia destilação e deionização. Nos experimentos foram utilizados os seguintes reagentes: ácido nítrico 65% (v v^{-1}) (Merck), ácido clorídrico 37% (v v^{-1}) (Merck), ácido sulfúrico 98% (v v^{-1}) (Merck), hidróxido de sódio (F. Maia), hidróxido de amônia (F. Maia),

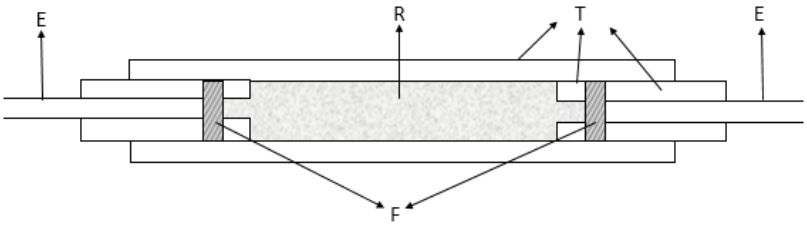
borato de sódio (Vetec), acetato de sódio (Vetec) , 1-(2-tiazolilazo)-2- Naftol(TAN) (Merck) e etanol (Synth)

As soluções de trabalho de manganês foram preparadas, diluindo-se uma solução estoque de 1000 µg mL^{-1} (Fluka, Analytical). O pH das soluções de manganês foi ajustado com soluções-tampão acetato de sódio/ácido acético (pH 5,0 a 6,0), borato de sódio/ácido clorídrico (pH 7,0 a 8,5), amoniacal/hidróxido de amônio (pH 9,0). Os reagentes dietilditiocarbamato (DDTC), Br-PADAP (2-(5-bromo-2-piridilazo)5-dietilaminofenol), 1- (2-piridilazo)2-naftol (PAN), pirrolidina ditiocarbamato de amônio (APDC), 4-(2-Pyridylazo)resorcinol (PAR) e 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol foram usados no procedimento de pré-concentração.

2.3 Construção das minicolunas de algodão

Para o preparo das minicolunas recheadas, foi adicionada uma quantidade adequada de algodão em um tubo de cloreto de polivinila (PVC) com 5,0 cm de comprimento e 0,5 mm de diâmetro interno. A Figura 1 relaciona o tipo de coluna usada no sistemas de pré-concentração em linha.

Figura 1. Tipos de coluna para preparação e pré-concentração em linha. (T) Tubo de tygon; (F) Espuma plástica ou rede; (R) Recheio; (E) Tubo de teflon [34];



2.4 Descrição e operação do sistema em linha

Os sistemas descritos a seguir foram empregados para digestão da amostra e pré-concentração do Mn(II) com detecção por FAAS. Representações esquemáticas dos sistemas são apresentadas nas Figuras 2 e 3.

O sistema digestor é composto por um tubo de teflon com um comprimento de 3,5m e 0,8mm de diâmetro, que é enrolado em torno de uma lâmpada UV de 8W e 30 cm de comprimento (Figura 2). A lâmpada é instalada em uma caixa de madeira de 50 cm de comprimento, 29 cm de altura e 29 cm de largura, totalmente pintada de preto por dentro. Durante a etapa de digestão, uma bomba peristáltica é empregada para impulsionar 5,0 mL da amostra do fitoterápico na

presença de 2,0 mL de peróxido de hidrogênio 70% por meio de tubos de teflon a uma taxa de fluxo de 1mL min^{-1} por 45 min. Após 45 minutos, com ajuda de uma segunda bomba peristáltica, a amostra é encaminhada para a etapa de pré-concentração. O sistema é constituído por duas bomba peristáltica, uma válvula manual de seis vias e duas posições (pré-concentração e eluição, conforme a Figura 3), uma minicoluna recheada com algodão e tubos de teflon e silicone. Nas vias 2 e 5 da válvula está conectada a minicoluna preenchida com uma quantidade adequada de algodão. Na via 6 encontra-se um tubo capilar ligado à amostra. Na via 1 o depósito de descarte. Na via 3, encontra-se um tubo capilar submerso no eluente, solução de HCl. O sistema de detecção está conectado por um tubo capilar ligado à via 4. Inicialmente, a válvula foi acionada na posição de pré-concentração. A bomba peristáltica é ligada e uma quantidade de 10,0 mL da amostra é succionada e percola pela minicoluna. Na segunda etapa a válvula é acionada para posição de eluição. O eluente atravessa a minicoluna, liberando os íons Mn (II) retidos na minicoluna e transportando-os para o espectrômetro de absorção atômica com chama.

Figura 2. Componentes do sistema de digestão UV

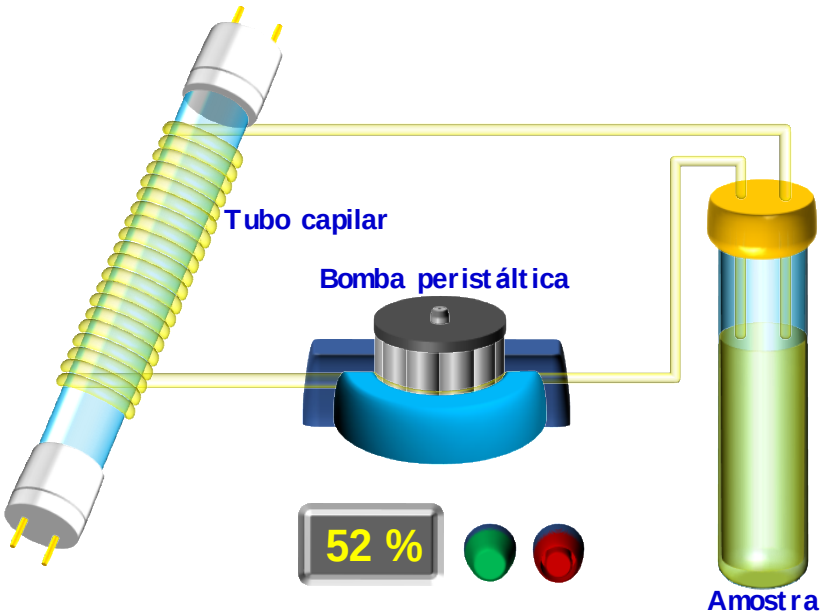
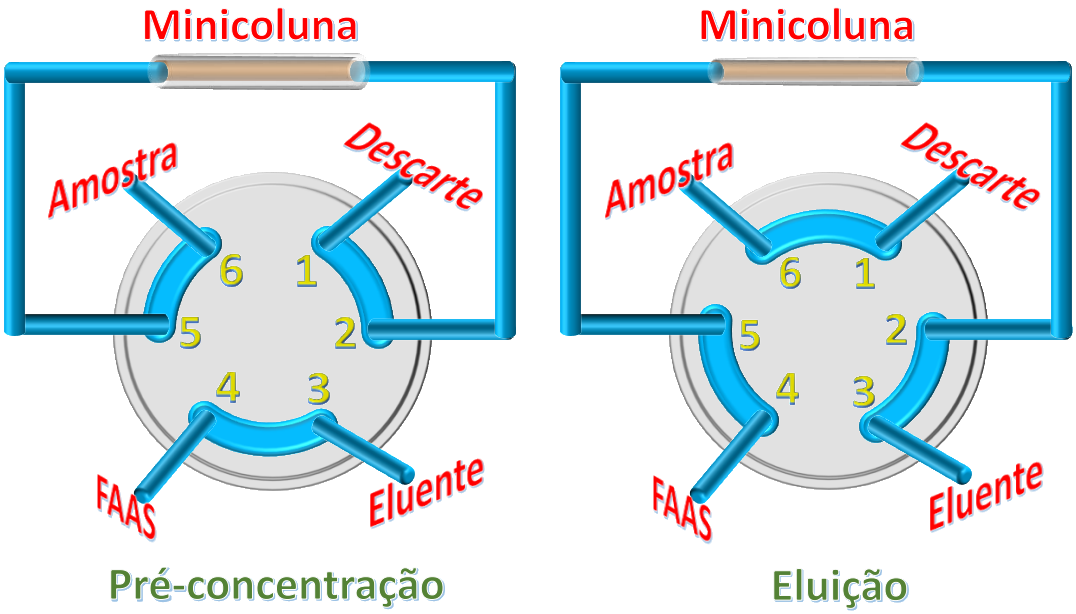


Figura 3. Componentes do sistema de pré-concentração em fluxo utilizado para pré-concentração e determinação de manganês.



2.5 Condições iniciais do sistema em linha

A otimização do sistema em linha foi realizada de acordo com as condições descritas na Tabela 2.

Tabela 2. Condições do sistema em linha para pré-concentração e determinação de Mn (II) por FAAS.

Material sorvente	Sílica
Agente complexante	PAN
pH	8,0
Tamanho da coluna	6,0 cm
Volume do complexante	50µL
Tempo de pré-concentração	60 s
Tipo de eluente	HCl
Concentração do eluente (HCl)	0,500 mol L^{-1}
Concentração do metal na amostra	100 µg L^{-1}
Vazão do eluente	11,6 mL min^{-1}

2.6 Preparo das amostras

As amostras de fitoterápico foram coletadas em farmácias e casas de produtos naturais na cidade de Jequié, Bahia Brasil. Foram selecionadas dois fitoterápicos as quais eram os mais comercializadas na cidade. Após a coleta, foram transferidos separadamente 5,0 mL de cada uma das amostras para um tudo de ensaio 50 mL. Então, foram adicionados em cada um dos tubos 2,0mL de peróxido de hidrogênio 70%. Após os 45 minutos de digestão, dentro do mesmo tudo de ensaio foram adicionados quantidades suficientes de NaOH e HCl para ajuste do pH e adição de 1,0 mL de solução-tampão borato de sódio pH 7,0. Em seguida, o procedimento de pré-concentração proposto foi aplicado.

3 Resultados e discussão

3.1 Otimização de variáveis

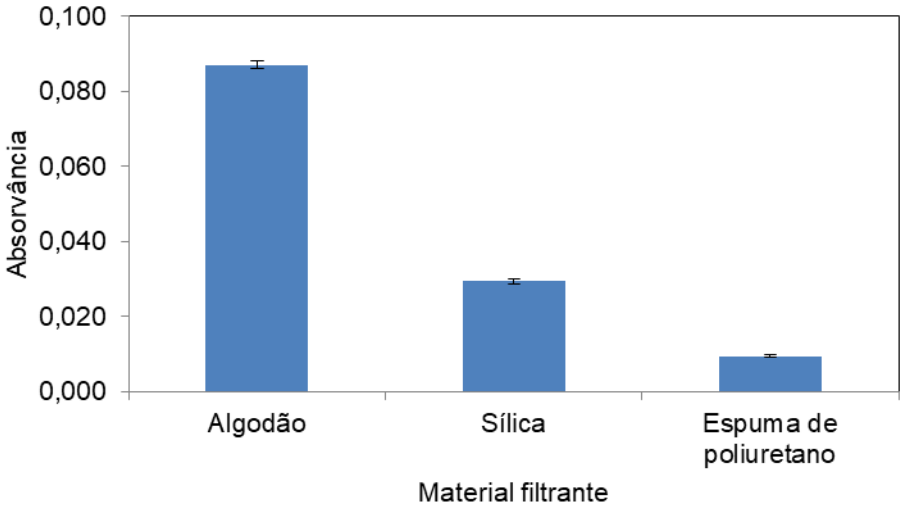
Uma solução de Mn (II) a 100,0 µg L^{-1} foi utilizada nos estudos inicias de otimização. Alguns parâmetros que influenciam a eficiência da extração do analito pelo material sorvente foram otimizadas individualmente utilizando a metodologia univariada, onde cada variável é otimizada por vez fixando-se em um determinado valor, e variando as outras variáveis envolvidas no processo. Foram estudadas o material filtrante, agente complexante, pH, tamanho da coluna, volume do complexante, tempo de pré-concentração, tipo de eluente, concentração do analito da amostra, concentração do eluente e vazão da amostra.

3.1.1 Estudo do material utilizado na minicoluna

Uma das etapas do sistema de pré-concentração requer uma minicoluna recheada com um material filtrante. Foram realizados testes com três materiais diferentes: algodão, sílica e espuma de poliuretano. Dentre as várias características para a escolha do recheio da minicoluna, destaca-se a capacidade de permitir a passagem do fluído, retendo as espécies de interesse, sem causar um aumento significativo na pressão do sistema em linha. Os resultados apresentados na Figura 4 mostram que o algodão apresentou uma melhor resposta analítica. Além de não aumentar a pressão total do sistema é resistente

a ácidos diluídos, bases diluídas, reagentes orgânicos, insolúvel em água e biodegradável [35]. Então, este material, foi empregado em todos os experimentos posteriores.

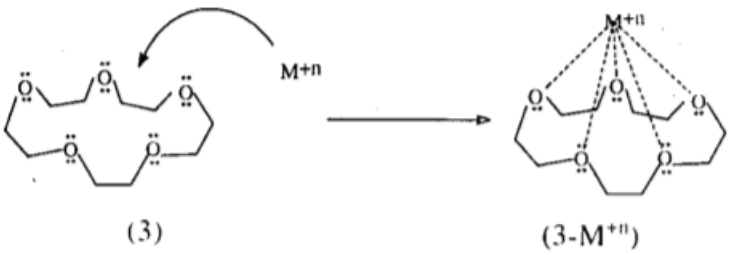
Figura 4. Estudo do material sorvente utilizado no preenchimento da minicoluna no sistema de pré-concentração em linha. Agente complexante: PAN; pH da solução: 7,0; Tamanho da minicoluna: 6,0 cm; Volume do complexante: 50µL; Tempo de pré-concentração: 60seg; Tipo de eluente: HCl; Concentração do eluente: 0,500 mol L^{-1}; Concentração do Mn (II): 100 µg L^{-1}; Vazão do eluente: 11,6 mL min^{-1}.



3.1.2 Influência do reagente quelante

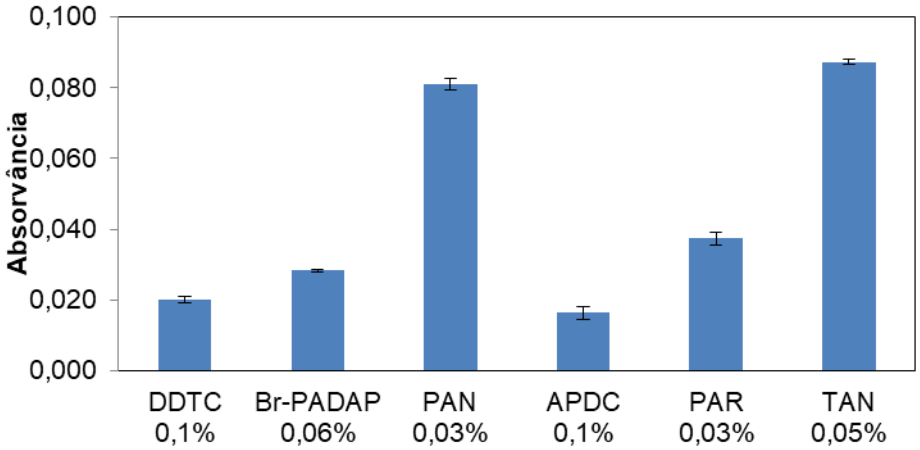
Os agentes complexantes podem ser substâncias orgânicas cíclicas ou acíclicas contendo átomos como oxigênio, nitrogênio, enxofre, que possuem elétrons livres, ou seja, pares eletrônicos não compartilhados [36]. De acordo com a posição desses heteroátomos, obtém-se uma conformação (3) que apresenta uma cavidade, permitindo a entrada de íons metálicos, resultando na formação do complexo (3-M^{+n}).

Figura 5. Formação de um complexo íon-metálico [36]



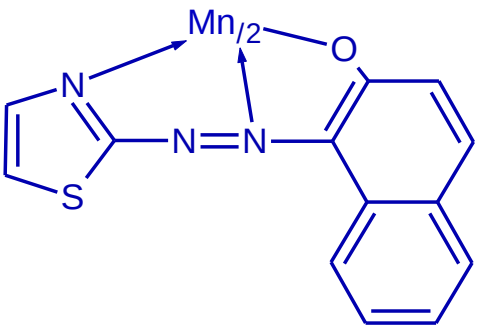
A presença de um agente quelante pode viabilizar a formação de espécies apolares do analito, que apresentam afinidade ao solvente, favorecendo a extração. Foram avaliados seis tipos de complexante; dietilditiocarbamato (DDTC), Br-PADAP (2-(5-bromo-2-piridilazo)5-dietilaminofenol), 1- (2-piridilazo)2-naftol (PAN), pirrolidina ditiocarbamato de amônio (APDC), 4-(2-piridilazo)resorcinol (PAR) e 1-(2- tiazolilazo)-2-naftol (TAN). Os resultados são apresentados na figura 6 e o reagente TAN foi escolhido com complexante.

Figura 6. Estudo do agente complexante na formação do complexo íon-metálico. Material filtrante: Algodão; pH da solução: 7,0; Tamanho da minicoluna: 6,0 cm; Volume do complexante: 50µL; Tempo de pré-concentração: 60seg; Tipo de eluente: HCl; Concentração do eluente: 0,500 mol L^{-1}; Concentração do Mn(II): 100 µg L^{-1}; Vazão do eluente:11,6 mL min^{-1}.



A Figura 7 mostra a estrutura sugerida para o complexo 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol(TAN) com Mn(II) [39].

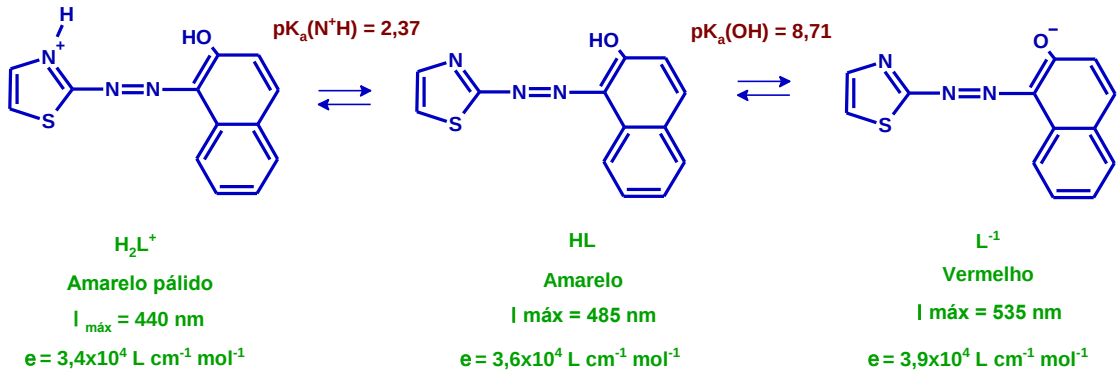
Figura 7. Estrutura sugerida para o complexo 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol(TAN) com Mn(II).



3.1.3 Estudo do pH

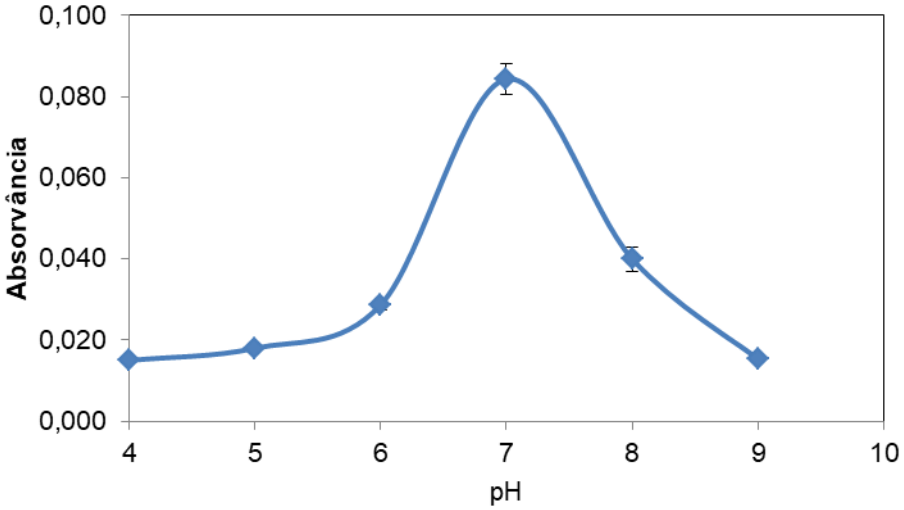
Uma das etapas determinantes em procedimentos de pré-concentração, principalmente no que diz respeito a reações que envolvam agentes complexantes de metais, devido as suas propriedades ácido-base, é o pH da fase aquosa. As reações de formação de composto de coordenação entre íons metálicos e o ligante TAN são extremamente dependente da variação da concentração hidrogênionica do meio reacional [38]. Isto se deve a protonação em meio ácido do átomo de nitrogênio, e consequente, ionização do hidrogênio do grupo hidroxila em meio básico. A Figura 8 apresenta as diferentes estruturas do TAN a medida que se varia o pH.

Figura 8. Representação dos equilíbrios ácido-base envolvendo as formas do TAN 1-(2-tiazolilazo)-2- Naftol [39]



A eficiência do complexo na retenção e recuperação de íons manganês foi verificada e determinou-se o meio mais adequado para a complexação do metal e a sua adsorção na coluna. Os resultados foram obtidos a partir de soluções-tampão de acetato de sódio (pH 4,0 - 5,0), Borato de sódio (pH 6,0 - 7,0 - 7,5 - 8,0) e amoniacal (pH 9,0) variando o pH em uma faixa entre 4,0 - 9,0. O maior sinal analítico de Mn (II) ocorreu a pH 7,0, como ilustra a Figura 9. Em um pH inferior ou superior a esse valor, a formação do complexo metálico diminui de magnitude resultando em um sinal analítico menor. Desta forma, o pH 7,0 foi empregado em todos os experimentos posteriores, pois viabilizou a maior quantidade extraída do elemento em estudo.

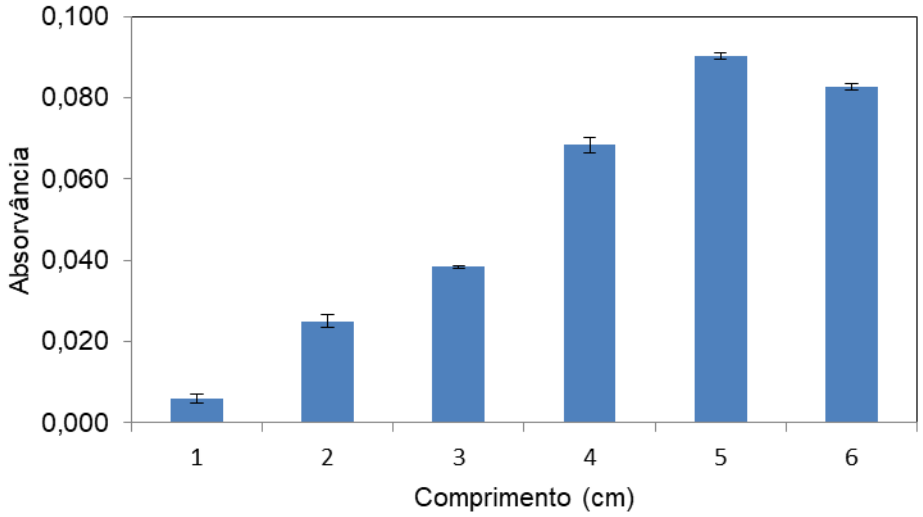
Figura 9. Estudo do pH na formação do complexo íon-metálico no sistema de pré-concentração em linha. Material filtrante: Algodão; Agente complexante; TAN; Tamanho da minicoluna: 6,0 cm; Volume do complexante: 50µL; Tempo de pré-concentração: 60seg; Tipo de eluente: HCl; Concentração do eluente: 0,500 mol L^{-1}; Concentração do Mn (II): 100 µg L^{-1}; Vazão do eluente: 11,6 mL min^{-1}.



3.1.4 Tamanho da coluna

A quantidade da massa/tamanho da minicoluna preenchida pelo algodão para a filtragem das espécies extraídas e pré-concentradas pelo sistema proposto também foi estudada. Trata-se de um importante estudo, pois minicolunas com massas maiores que a necessária para a retenção do analito aumenta a pressão total nas linhas do sistema e, consequentemente, a ocorrência de vazamentos, tornando as análises difíceis de serem controladas e executadas [35, 40]. No entanto, quando confeccionada minicolunas com massas menores que a necessária para a retenção do analito, a pressão deixa de ser uma variável problema, porém, observa-se um decréscimo significativo no sinal analítico. Isso por que não há fase sólida suficiente para filtrar as espécies microextraída. Outro possível problema é o aumento da velocidade da passagem da fase rica através da minicoluna [35]. A Figura 10 ilustra o comportamento do sinal analítico com a variação do tamanho da minicoluna e, consequentemente, sua massa.

Figura 10. Estudo do comprimento da minicoluna no sistema de pré-concentração em linha. Material filtrante: Algodão; Agente complexante; PAN; pH da solução: 7,0; Volume do complexante: 50µL; Tempo de pré-concentração: 60seg; Tipo de eluente: HCl; Concentração do eluente: 0,500 mol L^{-1}; Concentração do Mn (II): 100 µg L^{-1}; Vazão do eluente: 11,6 mL min^{-1}.

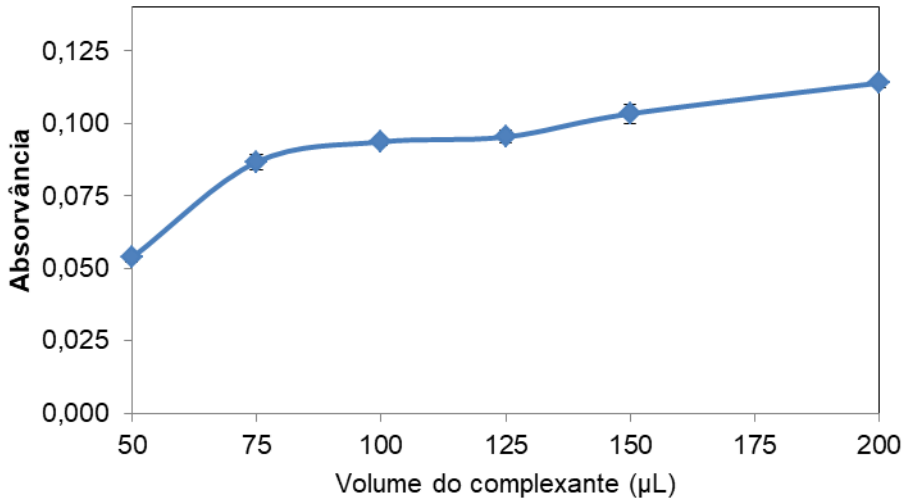


Analisando o gráfico observa-se que ocorreu um aumento da resposta analítica quando foram utilizadas minicolunas recheadas com algodão, numa faixa de comprimento entre 1,0 a 5,0 cm. Acima de 5,0 cm a filtragem da fase rica atinge o limite. A utilização de minicolunas com comprimento igual ou maior que 6 cm implica no aumento da pressão no sistema e logo observou-se vazamentos, consequentemente, uma diminuição do sinal analítico. O comprimento de minicoluna recheada utilizado para a determinação de manganês utilizando o sistema proposto foi de 5,0 cm.

3.1.5 Estudo do volume do reagente complexante

O efeito do volume de TAN também foi avaliado, tendo a finalidade de determinar a mínima concentração de reagentes em que a absorvância seria máxima. Os resultados são apresentados na Figura 11. Os resultados apresentados permitem observar que a intensidade do sinal analítico aumenta com o aumento do volume do complexante. Para estudos posteriores, foram adotados 150 µL de TAN, pois acima deste valor ocorre um consumo desnecessário de reagente, visto que a variação do sinal analítico não é significativa.

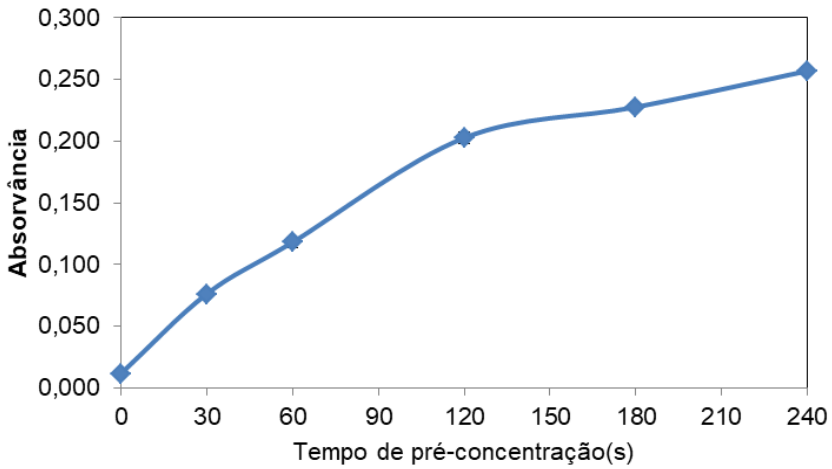
Figura 11. Estudo do efeito do volume do reagente complexante. Material filtrante: Algodão; Agente complexante; TAN; pH da solução: 7,0; Tamanho da minicoluna: 5,0 cm; Tempo de pré-concentração: 60seg; Tipo de eluente: HCl; Concentração do eluente: 0,500 mol L^{-1}; Concentração do Mn (II): 100 µg L^{-1}; Vazão do eluente: 11,6 mL min^{-1}.



3.1.6 Tempo de pré-concentração

No processo de análise de um método analítico, o fator tempo deve ser uma característica determinante. Este fator tornará viáveis análises de rotina que exijam rapidez na geração de resultados de forma segura [41]. No entanto, deve haver uma relação entre a velocidade analítica e os parâmetros de desempenho do método.

Figura 12. Estudo do tempo de pré-concentração sobre o sinal analítico de absorvância do manganês. Material filtrante: Algodão; Agente complexante; TAN; pH da solução: 7,0; Tamanho da minicoluna: 5,0 cm; Volume do complexante: 150µL; Tipo de eluente: HCl; Concentração do eluente: 0,500 mol L^{-1}; Concentração do Mn (II): 100 µg L^{-1}; Vazão do eluente: 11,6mL min^{-1}.

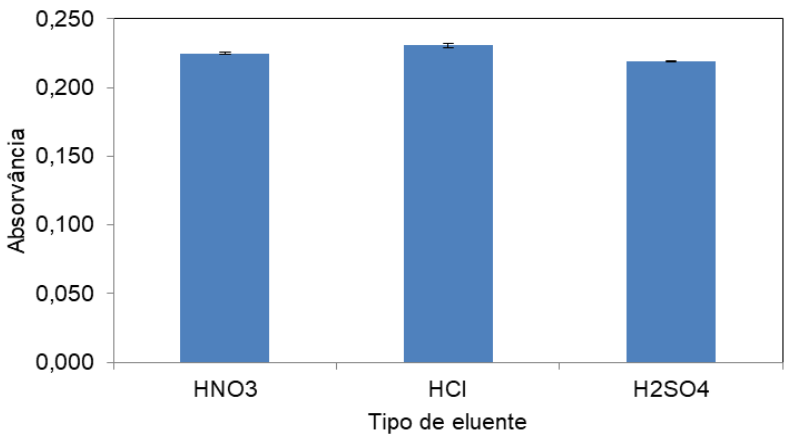


Observando-se a Figura 12, percebe-se que, para a coluna preenchida com algodão, o sinal analítico varia linearmente com o período de pré-concentração, no intervalo de 30 a 240 segundos. A capacidade da coluna, nessas condições de valores menores, não é alcançada até o período de 240 segundos, fato este que pode ser explicado de maneira que menores quantidades de Mn (II) são injetadas na coluna e, provavelmente, a capacidade da mesma não é suficiente para sorver tais quantidades, e ocorrem perdas, havendo diminuição do sinal. No entanto, por considera-se o tempo demasiadamente grande para um período de pré-concentração, optando-se nos experimentos seguintes um tempo de 180 segundos para pré-concentração, pois permite a obtenção de um sinal considerado satisfatório em relação ao obtido com 240 segundos.

3.1.7 Estudo do tipo de Eluente

O tipo de eluente é um fator importante no sinal analítico do analito. Em sistemas que utilizam extração em fase sólida, o eluente é utilizado para dessorção do analito e, também, para transportá-lo para a detecção. Soluções a 0,50 mol L^{-1} dos ácidos clorídrico, sulfúrico e nítrico foram testadas como eluente. Os resultados apresentados na Figura 13 permitem observar que a solução de ácido clorídrico promoveu o maior sinal analítico. As soluções dos ácidos nítricos e sulfúrico não proporcionaram resultados satisfatórios quanto o ácido clorídrico. Desta forma, a solução de ácido clorídrico foi utilizada nos experimentos posteriores.

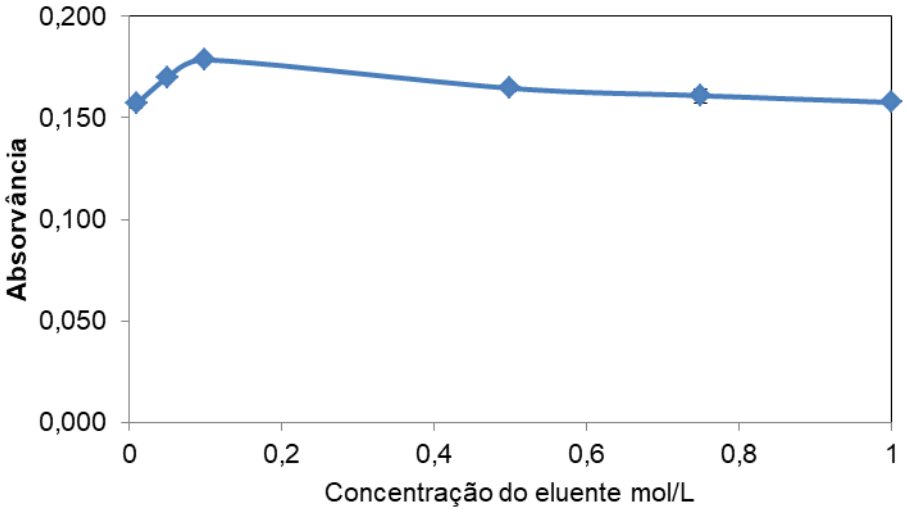
Figura 13. Estudo do tipo de eluente para dessorção do Mn(II). Material filtrante: Material filtrante: Algodão; Agente complexante; TAN; pH da solução: 7,0; Tamanho da minicoluna: 5,0 cm; Volume do complexante: 150µL; Tempo de pré-concentração: 180seg; Concentração do eluente: 0,500 mol L^{-1}; Concentração do Mn (II): 100 µg L^{-1}; Vazão do eluente: 11,6mL min^{-1}.



3.1.8 Estudo da concentração do eluente

Baseando-se no estudo 3.1.7, em que o ácido clorídrico foi determinado como melhor eluente, utilizou-se soluções de concentrações pré-definidas de 0,01; 0,05; 0,1; 0,50; 0,75; e 1,00 mol L^{-1} para avaliar qual a melhor concentração para a dessorção dos íons. A Figura 14 apresenta às diferentes concentrações de ácido clorídrico utilizadas na eluição do sistema proposto, permite observar que, o sinal é máximo para concentrações de ácido de 0,10 mol L^{-1}. Abaixo desse valor, há um decréscimo no sinal de absorvância, pois a concentração de ácido não é suficiente para baixar totalmente o pH do meio, e, então, retira uma quantidade menor do analito da minicoluna. Também há uma suave diminuição na absorvância para concentrações de ácido acima de 0,01 mol L^{-1}, provavelmente, devido ao aumento da acidez residual na minicoluna, pois a minicoluna ficando em um pH demasiadamente ácido faz com que na etapa de pré-concentração o meio não consiga atingir um pH ideal (pH 7,00) e consequentemente os íons manganês contidos na amostra não conseguem se complexar ao TAN, passando direto para o descarte. Nos experimentos posteriores, foram utilizadas soluções de ácido clorídrico de concentração 0,10 mol L^{-1}.

Figura 14. Estudo da concentração do eluente. Material filtrante: Material filtrante: Algodão; Agente complexante; TAN; pH da solução: 7,0; Tamanho da minicoluna: 5,0 cm; Volume do complexante: 150µL; Tempo de pré-concentração: 180seg; Tipo de eluente: HCl; Concentração do Mn (II): 100 µg L^{-1}; Vazão do eluente:11,6 mL min^{-1}.

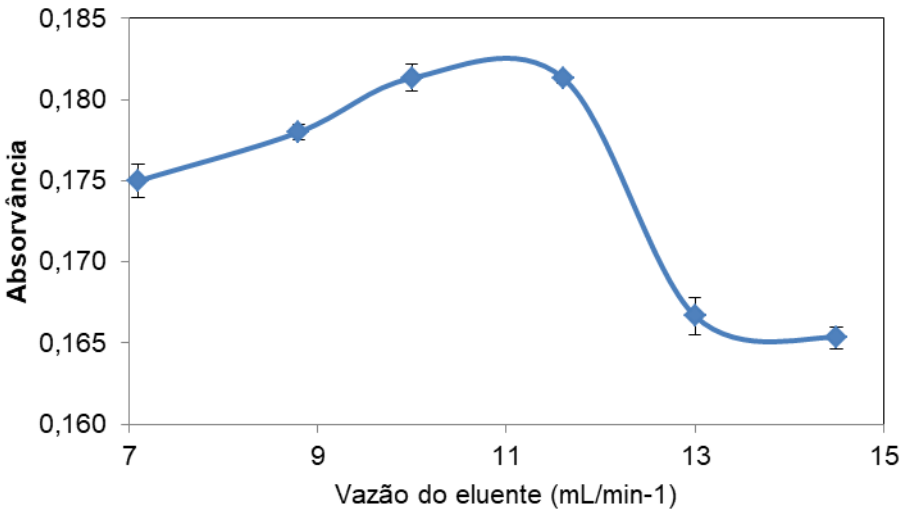


3.1.9 Vazão do eluente

A determinação do melhor valor de vazão do eluente vai depender de quão fortemente os íons se encontram retidos no sorvente e do poder de dessorção do próprio eluente.

De acordo com os resultados apresentado na Figura 15, a extração máxima ocorre no intervalo entre 7,1 e 14,5 mL min^{-1}. Variando-se a vazão do eluente no sistema estudado, verifica-se que, há uma diminuição com os valores mais altos de vazão, provavelmente, o eluente passa pela coluna tão rapidamente que o tempo de contato entre este e a matriz não é suficiente para ocorrer a dessorção completa do analito como observadas quando utilizados menores valores de vazão.

Figura 15. Estudo da vazão do eluente. Material filtrante: Material filtrante: Algodão; Agente complexante; TAN; pH da solução: 7,0; Tamanho da minicoluna: 5,0 cm; Volume do complexante: 150µL; Tempo de pré-concentração: 120seg; Tipo de eluente: HCl; Concentração do Mn (II): 100 µg L^{-1}; Concentração do eluente: 0,10 mol L^{-1}.



3.2 Estudo da seletividade de alguns íons

Outra variável importante que influencia na sorção de íons metálicos por materiais sólidos empregados no preenchimento da minicoluna, é a presença de interferentes nas soluções desses íons. Visando avaliar a seletividade do sistema de pré-concentração em linha proposto, verificou-se a influência de alguns íons na resposta do sistema em estudo na determinação de 25,0 µg L^{-1} de manganês. O efeito de cada espécie foi considerado como interferência quando o sinal em presença do íon correspondente resultou em uma variação significativa de ±10% no sinal analítico.

Tabela 3. Estudo de alguns interferentes no sistema de pré-concentração em linha proposto.

Espécie	Concentração máxima (µg L^{-1})	Recuperação (%)
Al^{3+}	250	92
As^{2+}	2500	101
Cd^{2+}	250	90
Co^{2+}	100	93
CO_3^{2-}	10000	106
Cr^{2+}	2500	105
Cu^{2+}	2500	90
F^-	10000	101
Fe^{3+}	2500	99
Hg^{2+}	250	103
K^+	10000	100
Mo^{2+}	5000	90
Na^+	10000	104
Ni^{2+}	250	91
NO_3^-	10000	110
Pb^{2+}	250	95
PO_4^{3-}	10000	90
Se^{2+}	2500	109
Zn^{2+}	100	92

De acordo com a tabela 3, as espécies Co^{2+} e Zn^{2+} são aquelas que interferem em menores concentrações no sistema proposto. Entretanto, estas quantidades de íons interferentes são relativamente elevadas se comparado às quantidades apresentadas por muitas amostras de fitoterápicos. As outras espécies testadas, catiônicas ou aniônicas, não interferem em quantidades apreciáveis. Pelos parâmetros de validação avaliados, verifica-se que o método proposto apresenta sensibilidade, seletividade e precisão adequadas para ser empregado na determinação de manganês em fitoterápicos nas concentrações requeridas.

3.3 Características analíticas

Após realizada a otimização das variáveis que afetam o sistema proposto, as características analíticas do sistema foram calculadas. Uma curva analítica foi construída através da adição de soluções de quantidades variadas de manganês ao processo de pré-concentração. A equação da curva analítica correspondente foi utilizada para o cálculo de alguns parâmetros analíticos. Outra curva analítica foi construída através da medida direta de manganês no espectrômetro de absorção atômica com chama, sem a execução do processo de pré-concentração.

3.3.1 Linearidade

A linearidade de um procedimento analítico é a sua habilidade em fornecer resultados linearmente correlacionados às concentrações dentro de uma dada faixa de aplicação [42]. Essa relação matemática, muitas vezes, pode ser expressa como uma equação de reta chamada de curva analítica ou curva de calibração. De acordo as curvas analíticas construídas com e sem pré-concentração, o sistema de pré-concentração apresenta linearidade de 3,21 a 60 µg L^{-1}

3.3.2 Sensibilidade

A sensibilidade analítica é a mudança na resposta do instrumento que corresponde a uma mudança na quantidade medida [43]. O limite de detecção (LD) deve ser determinado dividindo o valor correspondente a 3,3 vezes o desvio padrão do sinal analítico do branco, obtido a partir de 10 medidas, pela inclinação da curva analítica. Para calcular o limite de quantificação (LQ), divide-se o valor correspondente a 10 vezes o desvio padrão do branco pela inclinação da curva analítica. Os limites de detecção e quantificação do método proposto foram calculados e são, respectivamente, 1,06 µg L^{-1} e 3,21 µg L^{-1} para um volume de amostra de 50,0 mL.

3.3.3 Fator de enriquecimento

O fator de enriquecimento (FE) mede o aumento no sinal analítico promovido pelo processo de pré-concentração. Uma das formas de calcular FE é comparando-se os sinais analíticos obtidos com a pré-concentração e a medida

direta no equipamento de detecção [44]. Assim, FE foi calculado pelo quociente entre os coeficientes angulares das curvas analíticas obtidas pela pré-concentração e com a medida direta, respectivamente. Dessa forma, o fator de enriquecimento encontrado para o método proposto foi 22.

3.3.4 índice de consumo (IC)

Este parâmetro define a eficiência da utilização da amostra . O IC pode ser definido como o volume de amostra, em mililitros, consumido para conseguir-se uma unidade do fator de enriquecimento [45]. O IC foi calculado através da equação IC = V(mL)/FE, onde V é o volume da amostra, em mililitros. No caso do trabalho em questão, o índice de consumo foi calculado e tem o valor 0,45mL.

3.3.5 Precisão

Normalmente determinada para circunstâncias específicas de medição e as três maneiras mais comuns de expressá-la são por meio da repetividade, precisão intermediária e da reprodutibilidade, sendo usualmente expressas pelo desvio padrão e coeficiente de variação [42]. O coeficiente de variação (CV, usualmente expresso em %), também conhecido como desvio padrão relativo (DPR), é calculado da seguinte forma CV = DPR = (DP / CMD) x 100 (17) Sendo: DP é o desvio padrão; CMD é a concentração média determinada. No procedimento de separação e pré-concentração de manganês, a precisão foi expressa como repetividade entre os sinais de absorvância de dez determinações em uma concentração padrão de manganês de 25 $\mu g\ L^{-1}$. De acordo os resultados obtidos, foi encontrado um desvio padrão relativo de 2,33%.

A Tabela 4 apresenta um resumo dos parâmetros analíticos do método

Tabela 4. Estudo dos principais parâmetros analíticos do método proposto.

Parâmetro	Valor
Linearidade ($\mu g\ L^{-1}$)	3,21 a 60
Limite de detecção ($\mu g\ L^{-1}$)	1,06
Limite de quantificação ($\mu g\ L^{-1}$)	3,21
Fator de enriquecimento	22
Índice de consumo (mL)	0,45
Precisão (n=10), para Mn (II) 25 $\mu g\ L^{-1}$	2,33%

3.4 Exatidão e aplicação do método

Os processos utilizados para avaliação da exatidão do método são, entre outros, uso de materiais de referência certificados (MRC), participação em comparações interlaboratoriais, comparação com método de referência (ou método validado) ou por meio do método de adição e recuperação de analito na amostra[42]. Neste trabalho a exatidão foi avaliada através do método de adição e recuperação do analito em amostras de fitoterápicos (Amargo e multy amargo), como mostra a Tabela 5.

Tabela 5. Resultados da determinação de manganês em amostras de fitoterápicos utilizando-se o método proposto

Amostra	Quantidade de Manganês ($\mu g\ L^{-1}$)		Recuperação (%)
	Adicionada	Encontrada	
Amargo	0	44,40 ± 0,9	---
	5,0	49,86 ± 0,7	109
	10,0	52,47 ± 0,2	111
Multy amargo	0	58,95 ± 1,2	---
	5,0	63,65 ± 0,2	94
	10,0	68,2 ± 0,8	92

Os valores das recuperações encontradas confirmam a confiabilidade do método nas amostras analisadas. A Tabela 6 mostra os resultados obtidos para determinação de manganês em amostras de fitoterápicos após aplicação do sistema de digestão UV utilizando H_2O 70% com detecção por FAAS. As amostras analisadas de ambos os fitoterápicos encontram-se com níveis elevados de manganês, no entanto, devemos considerar que esse metal apresenta-se em elevadas concentrações em solos, então consequentemente espera-se que sejam detectados com altos teores nas plantas constituintes destes fitoterápicos.

4 Conclusão

Os métodos tradicionais para pré-tratamento de amostras ainda são os mais utilizados em laboratórios de pesquisa científica. Entretanto, a conscientização acerca da preservação ambiental e o amadurecimento do

conceito da Química Verde na última década, levaram ao desenvolvimento de metodologias alternativas que visam à redução do consumo de produtos químicos e da geração de rejeitos tóxicos. Nesse sentindo, a irradiação por UV representa um dos principais métodos empregados com este objetivo. O uso de fotorreatores em escala laboratorial é uma maneira fácil e eficaz para o tratamento foto-oxidativo de amostras. Além disso, a sua construção é simples e a sua manutenção requer, normalmente, apenas a troca das lâmpadas de UV, que apresentam baixo custo e são facilmente encontradas no mercado.

O procedimento de digestão da amostra proposto é bastante oportuno. A foto-oxidação UV foi útil na degradação dos componentes orgânicos presentes nas amostras selecionadas, eliminando possíveis interferências de matriz e assim possibilitando a determinação de manganês por FAAS. Os tubos de teflon enrolados a lâmpada UV permitiu um processo de irradiação mais eficiente, favorecendo a degradação dos compostos orgânicos. O método também ofereceu menor risco ao operador por se tratar de um sistema fechado e na ausência de reagentes corrosivos como o ácido nítrico.

É de grande importância destacar que por se tratar de um sistema de digestão completamente fechado, isso pode permitir a mineralização de amostras para a determinação de espécies voláteis como o mercúrio, que ainda é uma questão crítica para os químicos analíticos. O alto caráter oxidante do hidrogênio a 70% peróxido em combinação com a radiação UV, permitiu o desenvolvimento métodos melhorados ambientalmente, considerando as recomendações da química verde.

A fase sólida mostrou uma boa estabilidade e durabilidade, comprovado pelas diversas medidas realizadas com apenas uma coluna. Parâmetros analíticos adequados foram obtidos para ambos os métodos durante o processo de validação, assegurando a confiabilidade dos resultados analíticos, o que por sua vez é imprescindível na análise de medicamentos.

5 Perspectivas

Como perspectivas de atividades de pesquisa provenientes deste trabalho, podem ser citadas:

Aplicação do procedimento de abertura e do sistema na determinação e pré-concentração em linha de outros metais tóxicos em outras amostras e outros sistemas de detecção

Automatização do sistema com a utilização de válvulas solenóides, visando diminuir a probabilidade de contaminação, de erros relacionados à manipulação da amostra e simplificar a operação.

Desenvolvimento de sistemas que possibilitem o estudo das espécies de mercúrio presente em diversas amostras.

Permitir o tratamento de um número maior de amostra em simultâneo (conseguem-se digerir simultaneamente 02 amostras), o que conduziria uma maior rapidez de processamento.

6 Referências

[1] OLIVEIRA, E. R,; MENINI NETO, L. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais utilizadas pelos morados do povoado de Manejo, Lima Duarte- MG. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais** 14 (2): 311-320,2012.

[2] CAMARGO JR., K.R. O campo das plantas medicinais do Brasil: Lições de uma história. **Hist. Cienc. Saúde- Manguinhos**. 13 (1), Rio de Janeiro, Jan-Mar. 2006.

[3] CUNHA, A.P. **Aspectos históricos sobre plantas medicinais, seus constituintes activos e fitoterapia**. Diponível em: http://www.antoniopcunha.com.sapo.pt/, acesso em 29/03/2019.

[4] QUEIROZ, M.S. O itinerário rumo às medicinais integrativas: Uma análise em representação sociais de profissionais da saúde. **Caderno de Saúde Pública** 16:363-75, 2000.

[5] **Chá amargo serve para que? Benefícios e propriedades.** Disponível em <https://poderdoschas.com/cha-amargo-natural-ervas/>. (Acessado em 27/03/2019)

[6] KHAN, S.A,; KHAN L,; HUSSAIN, I,; MARWAT, K.B,; AKHTAR N. Profile of heavy metals in selected medicinal plants ak. **Journal of Research in Weed Science.** Res. 14(1-2): 101-110, 2008

[7] **Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenci, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, andi Zinc,** 2001. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books. Acesso em 26/03/2019

[8] LEMOS, V.A; VIEIRA, U. S. Single-drop microextraction for the determination of manganese in seafood and water samples. **Mikrochimica Acta** (1966. Print), v. 180, p. 501-507, 2013.

[9] CARVALHO, C. F. **Efeitos neuropsicológicos da exposição ao manganês em crianças**. Dissertação de Mestrado, Instituto de Psicologia. Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2013.

[10] NASCIMENTO, T.F.V,; GONZALEZII F.G. Impactos do manganês na saúde pública. **Revinter**, v. 11, n. 03, p. 32-53, out. 2018. ISSN 1984-3577

[11] LEMOS, V.A; DAVID, G. T. An on-line cloud point extraction system for flame atomic absorption spectrometric determination of trace manganese in food samples. **Microchemical Journal** (Print), v. 94, p. 42-47, 2010.

[12] ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia Brasileira**, volume 1. 5ª Ed. Brasília, 2010.

[13] SKOOG, D. A. **Fundamentos de química analítica.** São Paulo: Thomson, 2006.

[14] OLIVEIRA, E. Sample preparation for atomic spectroscopy: evolution and future trends. **J. Braz. Chem. Soc.** v. 14, n. 2, p. 174-182, 2003.

[15] ARRUDA, M. A. Z.; SANTELLI, R. E. Mecanização no preparo de amostras por microondas: o estado da arte. **Quim. Nova**, v. 20, n. 6, p. 638-643, 1997.

[16] DUTRA, M. J. A.; SANTOS, D. M.; COELHO, N. M. M. Comparação de procedimentos analíticos para preparo de amostras para determinação de cálcio e magnésio em leite. **Rev. Analytica**, n. 12, p. 36-40, 2004.

[17] MAGALHÃES, C. E. C.; ARRUDA, M. A. Z. Slurry sampling: The technique employment in the direct sample analysis. **Quim. Nova**, v. 21, n. 4, p. 459-466, 1998.

[18] CAVICCHIOLI, A.; GUTZ, I. G. R. O. Uso de radiação ultravioleta para o pré tratamento de amostras em análise inorgânica. **Quim. Nova***,* v. 26, n. 6, p. 913-921, 2003.

[19] KORN, M. G. A.; MORTE, E. S. B.; SANTOS, D. C. M. B.; CASTRO, J. T.; BARBOSA, J. T. P.; TEIXEIRA, A. P.; FERNANDES, A. P.; WELZ, B.; SANTOS, W. P. C.; SANTOS, E. B. G. N. KORN, M. Sample preparation for the determination of metals in food samples using spectroanalytical methods - **A Review, Appl. Spectrosc.** Rev. v. 43, p. 67-92, 2008.

[20] BULDINI, P. L.; RICCI, L.; SHARMA, J. L. Recent applications of sample preparation techniques in food analysis, **J. Chromatogr. A**, v. 975, p. 47–70, 2002.

[21] GOLIMOWSKI, J.; GOLIMOWSKA, K. UV-photo-oxidation as pretreatment step in inorganic analysis of enviromental samples. **Anal. Chim. Acta**, v. 325, p. 111-133, 1996.

[22] CARVALHO, L. M.; SPENGLER, C.; GARMATZ, J. C.; NASCIMENTO, P. C.; BOHRER, D.; DEL-FABRO, L.; RADIS, G.; BOLLI, A. A.; GARCIA, S. C.; MORO, A. M.; ROSA, M. B. Determinação voltamétrica de metais em águas e fluidos

biológicos empregando mineralização de amostras com radiação ultravioleta, **Quim. Nova**, v. 31, n. 6, p. 1336-1342, 2008.

[23] CAPELO-MARTINEZ, J.L.; XIMENEZ-EMBUN, P.; MADRID,Y.; CAMARA, C.; Advanced oxidation processes for sample treatment in atomic spectrometry, **Trends in Analytical Chemistry** 23 (4) (2004) 331–340.

[24] TROJANOWICZ. M.; BOBROWSKI. K.; SZOSTEK. B; BOJANOWSKA-CZAJKA.A;, SZREDER T.; BARTOSZEWICZ. I; KULISA. K. A survey of analytical methods employed for monitoring of advanced oxidation/reduction processes for decomposition of selected perfluorinated environmental pollutants, **Talanta** 177 (2018) 122–141.

[25] YANEZ. J; SANDOVAL,C.; MANSILLA, H.D.; AMARASIRIWARDENA, D.; New approach for understanding the fundamental chemistry of the oxidative sample digestion in spectrochemical analysis, Appl. **Spectrosc.** Rev. 51 (10) (2016) 791–798.

[26] ALMEIDA,C.M.; TERESA,M.; VASCONCELOS,S.D.; Advantages and limitations of the semi-quantitative operation mode of an inductively coupled plasma-mass spectrometer for multi-element analysis of wines, **Anal. Chim. Acta** 463 (2) (2002) 165–175.

[27] CRUZ JUNIOR, R.A. ; CHAGAS, A.V.B. ; FELIX, C.S.A. ; SOUZA, R.C. ; SILVA, L.A. ; LEMOS, V.A. ; Ferreira, Sergio L.C. . A closed inline system for sample digestion using 70% hydrogen peroxide and UV radiation. Determination of lead in wine employing ETAAS. **TALANTA**, v. 191, p. 479-484, 2019.

[28] KRUG, F. J. (Ed.). Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. **Piracicaba**, 2008. 340 p.

[29] Margui, E., Van Grieken, R., Fontas, C., Hidalgo, M., Queralt, I. Preconcentration Methods for the Analysis of Liquid Samples by X-Ray Fluorescence Techniques. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 45, p. 179-205, 2010

[30] Bezerra, M.D., Arruda, M.A.Z., Ferreira, S.L.C. Cloud point extraction as a procedure of separation and pre-concentration for metal determination using spectroanalytical techniques: **A review. Applied Spectroscopy Reviews**, v. 40, p. 269-299, 2005

[31]LEMOS, V. A.; SANTOS, Luana Novaes ; BEZERRA, Marcos Almeida. Determination of cobalt and manganese in food seasonings by flame atomic absorption after preconcentration with 2-hydroxyacetophenone-functionalized polyurethane foam. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, p. 277-281, 2010.

[32] Simpson, N.J.K. **Solid-Phase Extraction: Principles, Strategies and Applications**, Marcel Dekker, New York, USA, 2000.

[33] Antonio, P.; Iha, K.; Suaréz-Iha, M.E.V. (2007) Kinetic modeling of adsorption of di-2- pyridylketone salicyloylhydrazone on silica gel. **Journal of Colloid and Interface Science**, 307.

[34] NUNES, L.S. LEMOS, V.A. Ultrasound-Assisted Emulsi cation Microextraction in an Online System for Determination of Cadmium in Water and Tea Samples. **Journal of aoac international**, 2018.

[35] OLIVEIRA, R.V. **Desenvolvimento de um sistema em linha automatizado empregando microextração líquido-líquido dispersiva para a pré-concentração e determinação espectrométrica de cobalto em amostras de águas.** Tese (Doutorado), Universidade Federal da Bahia, 2017.

[36] LIN O.W.; NETO.J.T.X.B; Agentes complexantes: podante, coronante e criptante classificação e nomenclatura. **Quim nova** v.21, n.5, 1998, ISSN 1678-7064.

[37] QUEIROZ, Z.F.; ROCHA, F.R.P.; Flow system with inline separation/preconcentatio coupled to grafite furnace atomic absorption spectrometry with W-Rh permanente modifier for copper determination in seawater, **Analytica Chimica Acta**, 463, p.275-282, 2002.

[38] LEMOS, V. A. et al. Thiazolylazo dyes and their application in analytical methods. Microchimica Acta, v. 158, n. 3, p. 189-204, 2007/05/01 2007. ISSN 1436-5073.

[39] OMAR, M.M.; MOHAMED, G.G. **Potentiometric, spectroscopic and thermal studies on the metal chelates of 1-(2-thiazolylazo)-2-naphthalenol,** Spectrochimica Acta Part **A, 61, p. 929-936,2005.**

[40] LEMOS, V. A. **Sistema em linha para pré-concentração e determinação de cádmio e chumbo por espectrometria de absorção atômica com chama utilizando minicoluna de espuma de poliuretano impregnada com 2-(2'-benzotiazolilazo)-p-cresol**. Tese (Doutorado), Universidade Federal da Bahia, 2001.

[41] BEZERRA, M.D **Aplicação de matriz de Doehlert na otimização de um sistema de pré-concentração em linha para determinação de cobre usando espectrometria de absorção atômica com chama.** Dissertação (Mestrado em Físco-Química), Universidade Federal da Bahia, 2003.

[42] COORDENAÇÃO GERAL DE ACREDITAÇÃO. **Orientação sobre validação de métodos analíticos**: documento de caráter orientativo: DOQ-CGCRE-008. p.1-28, 2018.

[43] EURACHEM Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – **A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics.** Magnusson, B. and U. Örnemark (Ed.), 2014.

[44] MENDES, A. S. R. **Implementação e validação de métodos analíticos.** Disponível em http://www3.uma.pt/valimed/livro%202004/artigo6-AR.pdf (Acessado em 07 de julho de 2019.)

[45] DOS SANTOS, LIZ O. **Um novo método para pré-concentração e determinação de mercúrio em amostras de saliva humana, peixes e mariscos por espectrometria de absorção atômica com geração de vapor.** Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, (2015).