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

**ROSIVAN DOS SANTOS DE ASSIS**

# Desenvolvimento de sistemas para determinação de cobalto e níquel usando colorimetria de imagem digital diretamente na fase sólida

**JEQUIÉ – BA**
**SETEMBRO DE 2020**

**ROSIVAN DOS SANTOS DE ASSIS**

# Desenvolvimento de sistemas para determinação de cobalto e níquel usando colorimetria de imagem digital diretamente na fase sólida

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. Cleber Galvão Novaes
Coorientador: Prof. Dr. Valfredo Azevedo Lemos

**JEQUIÉ – BA**
**SETEMBRO DE 2020**

A848d Assis, Rosivan dos Santos de.
Desenvolvimento de sistemas para determinação de cobalto e níquel usando colorimetria de imagem digital diretamente na fase sólida / Rosivan dos Santos de Assis.- Jequié, 2020.
73f.

(Dissertação de mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, sob orientação do Prof. Dr. Cleber Galvão Novaes e coorientação do Prof. Dr. Valfredo Azevedo Lemos)

1.Imagem digital 2.Extração em fase sólida 3.Níquel 4.Cobalto 5.Alimentos 6.Cigarro 7.Água I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia II.

CDD – 540

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

You created this PDF from an application that is not licensed to print to novaPDF printer (http://www.novapdf.com)

TERMO DE APROVAÇÃO

**ROSIVAN DOS SANTOS DE ASSIS**

Desenvolvimento de sistemas para determinação de cobalto e níquel usando colorimetria de imagem digital diretamente na fase sólida

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. Cleber Galvão Novaes
(UFBA, Salvador - BA, 2011)
(Orientador)

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

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

Profa. Dra. Alexilda Oliveira de Souza
(UNICAMP, Campinas - SP, 2001)

Dissertação aprovada pelo Colegiado do Curso de Pós-graduação em Química em 18 / 09 / 2020

You created this PDF from an application that is not licensed to print to novaPDF printer (http://www.novapdf.com)

*Dedico este trabalho a Deus, aos meus familiares,*
*especialmente minha esposa e minha filha, amigos e*
*a todos os professores que foram responsáveis pela minha formação.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela oportunidade de participar de um Programa de Pós-graduação e poder realizar este trabalho de mestrado em Química Analítica pela Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

À Dalane Paixão dos Santos, minha esposa, e Thainá Paixão dos Santos Assis, minha filha, que sempre estiveram ao meu lado me apoiando e incentivando a nunca desistir dos meus sonhos.

Aos meus familiares, em especial meus pais Reinaldo Britto de Assis e Antonieta Machado e minhas irmãs Leideane dos Santos de Assis e Rosiane dos Santos de Assis por todo apoio.

À minha sogra Marinalva Paixão e meu sogro Cristino Alves que tiveram muita influência ao longo do período de mestrado.

Ao professor Cleber Galvão Novaes e a Valfredo Azevedo Lemos pela amizade e também pela orientação tanto na pesquisa científica como no estágio supervisionado, sendo de fundamental importância na formação de um profissional de excelência.

A Jeferson Alves Barreto e Luana Bastos pela amizade e todas as contribuições significativas no desenvolvimento do trabalho.

A todos os professores que ministraram aula na pós-graduação, contribuindo para a minha formação de forma relevante.

A todos os colegas do Laboratório de Química Analítica (LQA), em especial: Leane Nunes, Rebeca Moraes e Márcio José.

Aos colegas e alunos do mestrado: Tiago Gomes, Tarcísio Melo, Erica Rúbio e os demais.

Aos alunos em que ministrei aulas durante o estágio supervisionado.

Aos amigos que sempre me ajudaram e motivaram a nunca desistir dos meus sonhos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pelo apoio financeiro através do financiamento de bolsa, Código 001, e à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia por proporcionar o ingresso no ensino superior.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Quimiometria e suas interações. .....18

Figura 2. Pontos experimentais para geração de planejamentos para ajuste de modelos quadráticos..... 21

Figura 3. Representação cartesiana de um modelo RGB.....25

Figura 4. Estrutura do reagente complexante TAC.....28

Figura 5. Suporte de acrílico responsável por apoiar o tubo de vidro recheado com sorvente de XAD-7/TAC. .....29

Figura 6. Sistema desenvolvido para realização da extração em fase sólida. .....29

Figura 7. Estudo do tempo de contato entre XAD-7 e o TAC .....33

Figura 8. Gráficos de Pareto obtidos a partir do planejamento fatorial .....35

Figura 9. Superfície de resposta e Superfície de contorno para pH × VA na aplicação do planejamento Doehlert para extração de íons Co(II). .....37

Figura 10. Valores preditos × valores observados para duas variáveis no processo de extração de íons Co(II). .....39

Figura 11. Planejamento Doehlert para extração de íons Ni(II) .....41

Figura 12. Valores preditos × valores observados para três variáveis no processo de extração de íons Ni(II). .....43

Figura 13. Imagens obtidas na construção da curva analítica de calibração para cobalto.. .....44

Figura 14. Imagens obtidas na construção da curva analítica de calibração para níquel. .....44

Figura 15. Curvas de calibração usando os canais R e G para íons Co(II).....46

Figura 16. Curvas de calibração usando os canais R e G para íons Ni(II).....46

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Matriz codificada para um planejamento hipotético $2^3$. .....19

Tabela 2. Domínios experimentais estabelecidos para os planejamentos. .....31

Tabela 3. Matriz e resultados para o planejamento fatorial fracionário $2^3$ na extração de Co(II) e Ni(II). .....34

Tabela 4. Matriz e resultados para o planejamento Doehlert na extração de Co(II)..37

Tabela 5. Valores críticos obtidos para a matriz Doehlert na extração de Co(II).....38

Tabela 6. Matriz e resultados para o planejamento Doehlert na extração de Ni(II)...40

Tabela 7. Valores críticos obtidos para a matriz Doehlert na extração de Ni(II). .....42

Tabela 8. Curva de calibração e resultados para Co(II) e Ni(II). .....45

Tabela 9. Estudo para íons concomitantes na extração de íons Co(II) e Ni(II). .....48

Tabela 10. Características analíticas dos métodos de extração de níquel e cobalto. .....51

Tabela 11. Resultados para determinação de íons Co(II) em amostras de alimentos e superalimentos .....52

Tabela 12. Resultados para determinação de íons Ni(II) em águas, café, cigarro e material certificado .....54

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---|---|
| AAS | Espectrometria de Absorção Atômica; (do inglês *atomic absorption spectrometry*) |
| Abs | Absorvância |
| ANOVA | Análise de Variância |
| CCD | Dispositivo de Carga Acoplada; (do inglês *charge-coupled device*) |
| DLLME | Microextração Líquido-Líquido Dispersiva; (do inglês: *dispersive liquid-liquid microextraction*) |
| DPR | Desvio Padrão Relativo |
| SPE | Extração em Fase Sólida; (do inglês: *solid phase extraction*) |
| LPE | Extração em fase Líquido; (do inglês: *liquid phase extraction*) |
| CPE | Extração em Ponto Nuvem; (do inglês: *cloud point extraction*) |
| CRM | Material de Referência Certificado (do inglês: *certified reference material*) |
| F AAS | Espectrometria de absorção atômica com chama; (do inglês: *flame atomic absorption spectrometry*) |
| FE | Fator de enriquecimento |
| GF AAS | Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite; (do inglês: *graphite furnace atomic absorption spectrometry*) |
| IC | Índice de consumo |
| ICP-MS | Espectrometria de Massa com Plasma Acoplado Indutivamente; (do inglês; *inductively coupled plasma mass spectrometry*) |
| ICP OES | Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente; (do inglês: *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*) |
| LD | Limite de Detecção |
| LED | Diodo Emissor de Luz; (do inglês: *light-emitting diode*) |
| LQ | Limite de Quantificação |
| MSR | Metodologia de Superfície de Resposta |
| ROI | Região de Interesse; (do inglês: *region of interest*) |
| TAC | 2-(2-tiazolilazo)-p-cresol |
| VA | Volume de amostra |
| Vaz. Am. | Volume de amostragem |

# Desenvolvimento de sistemas para determinação de cobalto e níquel usando colorimetria de imagem digital diretamente na fase sólida

Autor: Rosivan dos Santos de Assis
Orientador: Prof. Dr. Cleber Galvão Novaes
Coorientador: Prof. Dr. Valfredo Azevedo Lemos

**RESUMO:** Nesta dissertação é apresentado um estudo inovador e sensível utilizando o método de análise química com base na colorimetria de imagem digital com instrumentação construída a partir de materiais acessíveis e de baixo custo visando a quantificação de cobalto e níquel em concentrações traços. Os métodos consistem no desenvolvimento de um sistema em linha usando extração em fase sólida, constituído basicamente de uma microcoluna de vidro recheada com o sorvente poliestireno divilbenzeno impregnado com o reagente complexante 1-(2-tiazolilazo)-p-cresol (TAC) e um microscópio portátil multifunção, utilizado para a aquisição das imagens. A imagem do sorvente após extração de Co(II) e Ni(II) foi obtida e relacionada à concentração dos elementos em cada solução/amostra. As variáveis pH, vazão de amostragem e volume da amostra foram avaliadas utilizando ferramentas quimiométricas multivariadas para estabelecer os níveis ótimos das variáveis significativas. Os limites de quantificação do método foram 2,7 e 2,6 µg $L^{-1}$ e os fatores de enriquecimento foram 91 e 148 para Co(II) e Ni(II), respectivamente. A confirmação da exatidão do método para a extração de Co(II) foi realizada por comparação com um método de absorção atômica com forno de grafite e para a extração de Ni(II) foi feita analisando material de referência certificado (folhas de tomateiro NIST1573a e cabelo humano BCR397). Posteriormente, os métodos foram aplicados na determinação de íons Co(II) em amostras de camarão, sururu, siri e superalimentos e na determinação de íons Ni(II) em amostras de água de rio, café e cigarro. As novas metodologias analíticas desenvolvidas usando imagem digital se apresentaram como uma excelente alternativa para a determinação de cobalto e níquel em diversas amostras. Os métodos apresentaram simplicidade, baixo custo, eficiência, além de serem ecológicos.

**Palavras-chave***:* imagem digital, extração em fase sólida, níquel, cobalto, alimentos, cigarro, água.

# Desenvolvimento de sistemas para determinação de cobalto e níquel usando colorimetria de imagem digital diretamente na fase sólida

Author: Rosivan dos Santos de Assis
Advisor: Prof. Dr. Cleber Galvão Novaes
Co-Advisor: Prof. Dr. Valfredo Azevedo Lemos

**ABSTRACT:** This dissertation presents an innovative and sensitive study using the chemical analysis method based on digital image colorimetry with instrumentation built from accessible and low-cost materials aiming at the quantification of cobalt and nickel in trace concentrations. The methods consists in the development of a system with solid phase extraction, consisting basically of an extraction chamber filled with polystyrene divinylbenzene sorben impregnated with the complexing reagent 1-(2-thiazolylazo)-p-cresol (TAC) and a portable microscope multifunction, used for image acquisition. The image of the sorbent after extraction of Ni is obtained. This image is related to the concentration of the elements. The variables, pH, flow, and sample volume, were evaluated using a complete factorial design 23 for the screening and a Doehlert matrix to establish the optimal levels of the significant variables. The quantification limits were 2.7 and 2.6 μg $L^{-1}$ and enrichment factor 91 and 148 for Co (II) and Ni (II), respectively. Confirmation of accuracy of the method for the extraction of Co (II) was carried out by comparison with an atomic absorption method with graphite furnace and for the extraction of Ni (II) was using certified reference material of tomato leaves NIST1573a and human hair BCR397. Subsequently, the methods were applied in the determination of Co(II) ions in samples of shrimp, sururu, crab and superfoods and in the determination of Ni(II) ions in samples of river water, coffee and cigarettes. The new analytical methodologies developed using digital image were an excellent alternative for the determination of cobalt and nickel in several samples. The methods showed simplicity, low cost, efficiency, besides being ecological.

**Keywords**: digital image, solid phase extraction, nickel, cobalt, food, cigarette, water.

**SUMÁRIO**

1. INTRODUÇÃO ..... 12
1.1. O elemento níquel ..... 13
1.2. O elemento cobalto ..... 14
1.3. Técnicas analíticas de separação ..... 15
1.3.1 Extração em fase sólida ..... 16
1.4. Otimização de sistemas análiticos ..... 17
1.4.1. Análise multivariada: estratégias de otimização para métodos de pré-concentração ..... 17
1.4.1.1. Planejamento fatorial completo de dois níveis: triagem dos fatores ..... 19
1.4.1.2. Metodologia de superfície de resposta ..... 20
1.4.1.3. Otimização de variáveis usando o planejamento Doehlert ..... 20
1.5. Análise por imagem digital ..... 21
2. OBJETIVOS ..... 26
2.1. Objetivo geral ..... 26
2.2. Objetivos específicos ..... 26
3. PARTE EXPERIMENTAL ..... 27
3.1. Instrumentação ..... 27
3.2. Reagentes ..... 27
3.3. Soluções ..... 27
3.4. Preparo da mini-coluna recheada com o sorvente ..... 28
3.5. Procedimento para extração e separação dos analitos ..... 30
3.6. Aquisição e tratamento de dados do sistema RGB ..... 30
3.7. Estratégia de otimização ..... 30
3.8. Coleta e preparo de amostras ..... 31
3.9. Procedimento de validação dos métodos ..... 32
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO ..... 33
4.1. Avaliação do tempo de impregnação entre a Amberlite XAD-7 e TAC ..... 33
4.2. Otimização das variáveis ..... 33
4.2.1. Etapa de triagem ..... 33
4.2.2. Otimização usando matriz Doehlert ..... 36
4.3. Curva de calibração usando o modelo RGB ..... 43
4.4. Parâmetros analíticos ..... 47
4.4.1. Seletividade ..... 47
4.4.2. Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) ..... 48

4.4.3. Precisão.....49
4.4.4. Fator de enriquecimento.....50
4.4.5. Índice de consumo (IC).....50
4.4.6. Resumo das características analíticas do método proposto.....51
4.5. Validação e aplicação do método.....51
5. CONCLUSÃO.....56
6. REFERÊNCIAS.....57

## Apresentação

Esta Dissertação de Mestrado faz parte dos estudos desenvolvidos no âmbito do Projeto de Pesquisa denominado ***Avaliação de impactos causados por substâncias potencialmente tóxicas em águas e sedimentos da bacia hidrográfica do Rio de Contas***. Este projeto foi contemplado no edital para CHAMADA UNIVERSAL MCTI/CNPq Nº 01/2016 do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – Faixa A, Nº do Processo: 431491/2016-0.

O trabalho de dissertação foi desenvolvido no Laboratório de Química Analítica III da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Campus de Jequié. As análises utilizando a técnica de imagem digital foram realizadas no Laboratório de Química Analítica (UESB), em parceria com o Prof. Dr. Valfredo Azevedo Lemos, coorientador do estudo.

Este trabalho foi escrito seguindo o formato de ***Dissertação em texto corrido***, conforme as orientações constantes no ***Manual para Elaboração de Dissertações*** do Programa de Pós-Graduação em Química (PGQUI-UESB). A escrita da dissertação seguiu as instruções do periódico ***Química Nova***, para submissão após a realização das correções sugeridas pela banca examinadora.

# 1. INTRODUÇÃO

O interesse no desenvolvimento de metodologias alternativas e sensíveis para quantificar níveis traços de substâncias potencialmente tóxicas tem sido crescente nos últimos anos devido ao fato de que tais informações podem revelar muito sobre o grau de contaminação de diversos organismos, ambientes e matrizes. Adicionalmente, alguns elementos presentes no ambiente entram facilmente na cadeia alimentar podendo se tornar um risco para a saúde humana.

Elementos como cobalto e níquel podem estar presentes em diferentes compartimentos e materiais provenientes de ações antropogênicas oriundas de atividades industriais, mineração, agricultura e despejos de resíduos urbanos. O uso regular e muitas vezes inadequado de diversas substâncias que apresentam em sua composição elementos tóxicos oferece risco de contaminação da atmosfera, dos solos, das águas naturais e dos alimentos, podendo provocar efeitos irreversíveis em organismos aquáticos, terrestres e intoxicação humana pelo consumo de substâncias contaminados.

Tais problemáticas também estão presentes na região sudoeste da Bahia, que é caracterizada por grande produção de alimentos, tais como café, maracujá, melancia, cacau e manga. Boa parte da produção apresenta uso regular de agrotóxicos e praticamente não há o devido acompanhamento pelas agências de regulação, fiscalização e normatização. A região contempla ainda a Bacia do Médio Rio de Contas e está entre os cinco cursos de água de maior destaque do Estado. Essa região apresenta em andamento projetos de exploração de jazidas e depósitos, como é caso da exploração de metais como níquel, ferro, vanádio, cobre, urânio, entre outros, atividades que são realizadas próximas ao Rio de Contas. Companhias deste setor tendem a acumular grande volume de rejeitos e aumenta o risco de acidentes ambientais, o que provocaria danos significativos ao meio ambiente e, consequentemente, à população.

Portanto, o desenvolvimento de metodologias eficientes para atender a essas demandas se tornam uma atividade de extrema importância. Com base nessa preocupação, foram desenvolvidas novas estratégias analíticas utilizando instrumentos simples de aquisição de imagens e dispositivos portáteis de baixo custo para a quantificação de cobalto e níquel.

A análise por imagem é uma técnica bastante promissora, sendo possível determinar alguns elementos após formação de compostos coloridos por meio de uma reação colorimétrica. Esta técnica apresenta características desejáveis tais como relativa rapidez da análise, facilidade de operação, baixo custo, capacidade de automatização e boa seletividade. Outra grande vantagem do uso de imagens digitais é a não dependência de equipamentos de alto custo para realizar análises.

Os estudos realizados nesta pesquisa foram os primeiros que combinaram as vantagens da metodologia analítica da extração em fase sólida com o processamento computacional por análise de imagens para a quantificação de cobalto e níquel. Além disso, os novos métodos apresentam potencial para a amostragem e análise *in situ* sem a necessidade de transportar a amostra até o laboratório.

## 1.1. O elemento níquel

O níquel é o vigésimo segundo elemento mais abundante na natureza. Possui número atômico 28, massa 58,71 g/mol e densidade de 8,9 g/cm$^3$ [1]. O estado de oxidação mais conhecido é o Ni(II) e sua cor verde presente em soluções dos sais de níquel em água deve-se à presença de íons complexos $[Ni(H_2O)_6]^{2+}$. Por ser um metal de transição, forma complexos que em sua maioria são quadrado planares e octaédricos e, em alguns casos, tetraédricos, quando reagem com alguns ligante de campo fraco [2].

Este elemento é considerado um metal duro, de cor prata-esbranquiçada, que tem diversas aplicabilidades na indústria, podendo ser utilizado na produção de aço inoxidável e ligas de cobre para produzir moedas e na formação de baterias de níquel-cádmio, podendo ainda ser muito útil quando usado como catalisador na produção de gorduras hidrogenadas [3; 4].

O avanço da tecnologia tem proporcionado maior exploração e uso deste metal. Em contrapartida, o resultado do uso em grande escala de produtos contendo níquel tem causado um desequilíbrio no meio ambiente. Os compostos de níquel são liberados para o ambiente em todas as etapas de produção e utilização e seu acúmulo em compartimentos naturais pode acarretar um sério perigo para a saúde humana, pois os íons de níquel podem chegar a compor a natureza química de alimentos de origem vegetal e animal através dos processos naturais de absorção e alimentação.

O níquel apresenta elevado potencial de toxicidade e o contato com compostos de níquel pode causar uma variedade de efeitos adversos na saúde humana. Os efeitos críticos mais frequentes são alergia, fibrose pulmonar, doenças cardiovasculares e renais e câncer de pulmão e nariz. Existem evidências de que alguns compostos de Ni são cancerígenos para humanos [5; 6; 7].

### 1.2. O elemento cobalto

O cobalto é um elemento de transição que apresenta dureza acentuada, é quebradiço, caracterizado por sua cor prata-acinzentada e usado de forma associada ao ferro na formação de ligas metálicas. Este elemento possui número atômico 27 e massa atômica 58,93 g/mol, apresenta estados de oxidação Co(II) e Co(III) como mais abundantes e importantes [1]. É encontrado em associação com o sulfeto de cobre (II), cobaltita (CoAsS), esmaltita ($CoAs_2$), eritrita ($Co_3(AsO_4)_2 \cdot 8H_2O$) e lineíta ($Co_3S_4$) [1; 2].

Os compostos de cobalto tiveram forte influência no desenvolvimento da química de coordenação, principalmente pelos estudos realizados por Werner, o qual foi responsável por sintetizar os isômeros cis e trans do complexo tetraaminobisclorocobalto(III) $[Co(NH_3)_4Cl_2]^+$. Tal composto era um complexo opticamente ativo mesmo sem a presença de carbono e essa observação contribuiu de forma eficiente para o desenvolvimento dessa área da química, que posteriormente foi contemplada com a descoberta dos compostos de Co(III) e Co(II) em suas formas tetraédricas e octaédricas com variadas cores e aplicabilidade [8].

O cobalto tem grande aplicabilidade na indústria e cerca de um terço deste elemento é usado na produção de pigmentos para indústrias de cerâmica, tintas e vidro. Um quinto da produção é direcionado à obtenção de ligas metálicas e produção de ímãs muito mais poderosos que o de ferro [9; 10; 11]. Também pode ser usado para mascarar a cor amarela do ferro com a finalidade de obtenção da coloração branca. Além disso, por ter a capacidade de formar aços resistentes, podem ser usados como instrumentos cirúrgicos, brocas e ferramentas de tornos [10; 11].

Quanto à essencialidade, estima-se que no organismo a concentração encontra-se na faixa de 0,7 a 1,1 mg de Co, sendo que 4,4% (0,09 a 0,22 mg) estão na forma de vitamina B12, responsável por ajudar no combate da anemia [12]. Também é considerado um micronutriente essencial no processo de fertilização das plantas [13]. Por outro lado, em concentrações acima do permitido, o cobalto pode

apresentar certa toxicidade e alterar alguns processos biológicos tais como: i) afeta os processos metabólicos, órgãos e glândulas, incluindo a substituição do zinco pelo cobalto provocando carência de zinco; ii) influencia a captação do oxigênio e produção de energia; iii) inativa as enzimas oxido-redutivas podendo levar à depressão e iv) pode causar danos às células do epitélio dos túbulos proximais [14; 15].

A determinação direta de cobalto muitas vezes é difícil, pois a amostra apresenta concentrações baixas do elemento (μg $kg^{-1}$ a ng $kg^{-1}$) e algumas técnicas não apresentam limite de quantificação suficientemente baixo para determinação de quantidades-traço. Uma forma de resolver essa limitação é aplicando um procedimento de separação e pré-concentração antes do procedimento de detecção. A mesma consideração pode ser feita para a determinação de níquel.

### 1.3. Técnicas analíticas de separação

O conhecimento da composição da amostra em estudo permite avaliar seu valor econômico ou avaliar sua contaminação frente aos limites de concentração toleráveis. Para isso, várias estratégias consolidadas tais como extração em fase líquida (LPE), extração em ponto nuvem (CPE), coprecipitação, deposição eletroanalítica, troca iônica e extração em fase sólida (SPE) têm sido largamente utilizadas [16].

Uma técnica clássica para extrair metais é a extração líquido-líquido e mais recentemente tem se utilizado crescentemente a microextração em fase líquida (LPME). Nesse contexto, um método foi desenvolvido para a extração de cádmio, chumbo, níquel, cobalto e cobre em frutos do mar após realizar uma etapa de microextração liíquido-líquido dispersiva (DLLME) [17]. Essa técnica consiste na separação do analito da matriz entre dois líquidos (ou fases) imiscíveis. Outra forma útil de separação é a extração em ponto nuvem, que consiste no uso de surfactantes não-iônicos em soluções aquosas, onde haverá a isolamento de fases com o aumento da temperatura. A CPE tem sido considerada uma alternativa eficiente quando comparada com a LPE [18].

Outro método de extração e separação é a extração em fase sólida, uma técnica que está sendo utilizada há bastante tempo e em relação à LPE apresenta vantagens, pois diminui o tempo de extração, exposição a solventes orgânicos, além de apresentar baixo custo [19]. Diversos autores têm escolhido a SPE devido a simplicidade, apresenta alto fator de pré-concentração, possibilita a utilização no

campo, usa pouco solvente, quando necessário, e facilidade em adaptação para automação e análise por imagem.

### 1.3.1 Extração em fase sólida

A SPE foi introduzida em 1976 tendo como umas das principais finalidades suprir as desvantagens apresentadas pela LPE. Atualmente consiste em um dos métodos mais populares de preparo de amostra, sendo utilizado por grande parte dos cromatografistas em análises de rotina e também por analistas responsáveis em controle de metais tóxicos, possuindo um vasto campo de aplicação como análises de alimentos, fármacos, meio ambiente e nas áreas de bioquímica [16].

A extração e separação de metais traços em solução aquosa sempre foi alvo de estudos com variados tipos de fases sólidas. Um dos suportes que vem se destacando como fase de empacotamento é a resina não-iônica, tendo com destaque o poliestireno-divinilbenzeno (PS-DVB). Este material está disponível comercialmente como resinas Amberlite XAD [20]. O PS-DVB possui alta retenção de compostos polares devido à sua superfície hidrofóbica, que contém um número relativamente grande de sítios aromáticos ativos. Além disso, eles são amplamente utilizados no desenvolvimento de vários sorventes quelantes, devido às suas propriedades físicas, como porosidade, alta área de superfície, durabilidade e pureza. Atualmente entre as resinas mais usadas estão a XAD-2, XAD-4, XAD-8, XAD-16 e XAD-7 sendo as quatro primeiras não polares e a última com polaridade intermediária [20].

Estudos relatam os diversos usos da resina amberlite XAD, porém uma das mais citadas, devido a sua polaridade intermediária, é a amberlite XAD-7, que é uma resina polimérica acrílica, alifática, não iônica com ligação cruzada constituída de uma fase porosa e de elevada área superficial. Esta resina foi utilizada por Vicent *et al.* (2008), com a finalidade de extrair os metais La(III) e Bi(III) em urina, justificando a importância do bismuto ser usado na área medicinal e no tratamento de doenças gastrointestinal, e o lantânio estimula a formação de cálculo renal [21].

Na maioria dos trabalhos desenvolvidos, essas resinas têm sido modificadas química ou fisicamente com a adição de vários ligantes, tendo por finalidade prepararem novos materiais, podendo extrair e separar metais e eliminar impurezas. Santos *et al.* (2002) extrairam cobre, manganês e zinco em matriz salina modificando a resina de amberlite XAD-7 com vermelho de alizarina S [22]. Freitas (2007) extraiu cobre modificando a resina de amberlite XAD-7 com di-2-piridil cetona

saliciloilhidrazona (DPKSH) [20]. Geralmente, sistemas que envolvem pré-concentração precisam ser otimizados para encontrar condições apropriadas para sorção e dessorção do analito.

## 1.4 Otimização de sistemas analíticos

A etapa de otimização de sistemas analíticos é uma das etapas mais críticas no desenvolvimento de métodos ou procedimentos. Nesse contexto, existem duas metodologias usadas para otimizar os métodos em estudo: a univariada e a multivariada. A análise univariada é relativamente simples e de fácil interpretação e consiste em otimizar uma única variável por vez, fixando as condições das outras variáveis envolvidas no processo. Este método apresenta algumas limitações e desvantagens por demandar um maior gasto de reagentes, maior tempo de estudo e também não considera as interações que ocorrem entre as variáveis [23].

Por outro lado, a otimização multivariada permite avaliar as interações entre as variáveis estudadas, o tempo de otimização e o consumo de reagentes é reduzido, pois o número de experimentos é menor e uma maior robustez do processo é obtida [24]. A desvantagem dessa otimização está na maior dificuldade de interpretação dos dados gerados, porém o uso de softwares que possuem recursos estatísticos avançados facilita a interpretação. Tais softwares são fundamentados em conceitos matemáticos e estatísticos e têm auxiliado na aquisição de resultados satisfatórios, por mais que demandem um certo conhecimento por parte do operador [23].

### 1.4.1. Análise multivariada: estratégias de otimização para métodos de pré-concentração

A análise multivariada é uma técnica analítica que encontra padrões e relações entre diversas variáveis, permitindo prever mudanças e efeitos que uma variável terá sobre as demais. Esta técnica usa informações de várias fontes, simultaneamente, para obter melhores condições experimentais. Dentro da química, a necessidade de ferramentas novas e mais sofisticadas para tratar e extrair informações relevantes deu origem à Quimiometria, uma área especificamente destinada à análise de dados químicos de natureza multivariada [24].

O termo quimiometria foi introduzido pelo suíço Swede Svante Wold e pelo americano Bruce R. Kowalski [25]. Desde o seu desenvolvimento, a quimiometria tem

sido amplamente utilizada, principalmente na área da química analítica, sendo um tema bastante discutido em debates e congressos, devido a sua importância quando se necessita planejar e otimizar métodos. Em uma definição mais específica, a quimiometria é uma ciência que está relacionada à dados obtidos de sistemas químicos, e seus resultados é consequente da aplicações de métodos estatísticos e matemáticos [26]. A Figura 1 representa a interação que a quimiometria pode ter com outras ciências, bem como evidencia a importância do operador durante a aplicação do procedimento que na maioria das vezes precisa tomar decisões com base científica e “bom senso” para avaliar os dados obtidos [26].

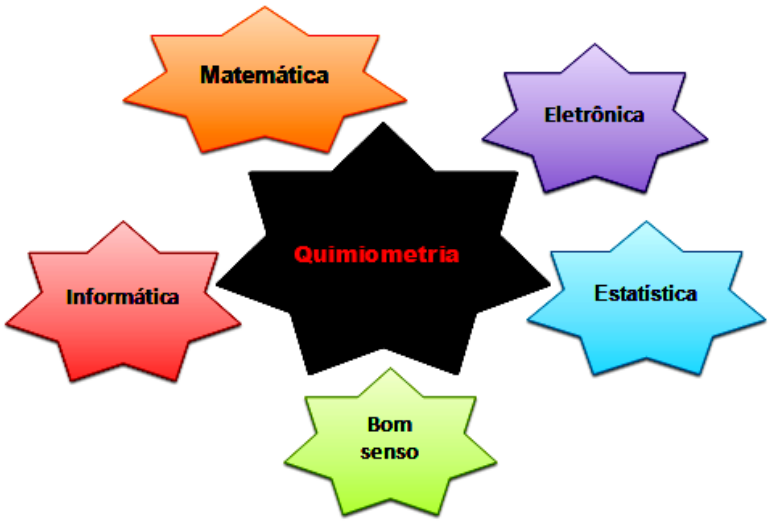


Figura 1- Quimiometria e suas interações. Adaptado de Ferreira (2015).

Em uma otimização multivariada, a realização das principais etapas no desenvolvimento de otimização está atrelada à seleção das variáveis envolvidas no processo, definição criteriosa do domínio experimental das variáveis, avaliação preliminar das variáveis, aplicação de metodologia de superfície de resposta (MSR) e validação do método. Nessa perspectiva, a MSR é muito aplicada, porém é necessário avaliar quais as variáveis de maior efeito usando, geralmente, o planejamento fatorial, sendo este considerado fundamental na etapa de triagem [27]. O delineamento Plackett-Burman também é utilizado em casos onde se tem muitas variáveis para avaliar na etapa de triagem.

### 1.4.1.1. Planejamento fatorial completo de dois níveis: triagem dos fatores

No planejamento fatorial as variáveis são consideradas fatores e tem como finalidade investigar e avaliar quais delas afetam um determinado sistema norteando sua significância. Este tipo de planejamento é muito utilizado na etapa de triagem, onde são investigadas as influências de todos os fatores experimentais de interesse e os efeitos de interação em uma ou mais respostas [28].

O número de experimentos que é determinado para o desenvolvimento de um planejamento fatorial completo de dois níveis é dado pela expresssão $n = 2^k$, em que n é o número de experimentos, o número 2 é expresso, justamente, porque o planejamento é em dois níveis (maior e menor) e k é o número de fatores. Um planejamento de três fatores e dois níveis ($2^3$) origina, assim, uma matriz com oito experimentos conforme mostrado na Tabela 1 [23].

Tabela 1. Matriz codificada para um planejamento hipotético $2^3$.

| Experimento | Variáveis | | |
|---|---|---|---|
| | X1 | X2 | X3 |
| 1 | - | - | - |
| 2 | - | - | + |
| 3 | - | + | - |
| 4 | - | + | + |
| 5 | + | - | - |
| 6 | + | - | + |
| 7 | + | + | - |
| 8 | + | + | + |

A Tabela 1 mostra valores codificados (-1, nível inferior e +1, nível superior). Para a avaliação do erro experimental insere-se na matriz experimentos contendo condições intermediárias entre os níveis estudados, chamados de pontos centrais. Outra forma de determinar o erro do planejamento experimental é duplicar a quantidade de ensaios em cada experimento [27].

As respostas encontradas nem sempre estão descritas eficientemente dentro do domínio experimental estudado. Assim, a avaliação do planejamento fatorial é feita através de analise de variância (ANOVA) que compara a variação devido ao tratamento utilizado com a variação aleatória referentes aos erros inerrentes às medições das respostas geradas. Os efeitos principais incluindo também as

interações entre as variáveis de um planejamento fatorial podem ser analisados pelo gráfico de Pareto, que é um recurso que explica os resultados de maneira mais objetiva e clara [24]. No gráfico de Pareto, os efeitos padronizados são exibidos na forma de barras e o efeito padronizado do fator é definido pela relação entre o efeito do fator e o erro padrão associado ao efeito [26].

#### 1.4.1.2. Metodologia de superfície de resposta

Os planejamentos fatoriais de dois níveis geram equações de primeira ordem que não fornecem valores ótimos das variáveis estudadas. Para se conhecer tais valores, utilizam-se relações matemáticas que possuem termos quadráticos e consequentemente se obtém equações de segunda ordem. A MSR teve seu desenvolvimento atrelado a Box e colaboradores nos anos 50 e é uma ferramenta bastante utilizada para otimizar métodos analíticos [29].

As principais etapas desenvolvidas ao usar um planejamento MSR são as seguintes: i) definições dos domínios experimentais das variáveis, que depende da etapa de triagem (planejamento fatorial); ii) realização dos experimentos, dependente do tipo de MSR escolhido; iii) determinação dos coeficientes do modelo; iv) determinação dos pontos críticos a partir do modelo obtido; iv) validação do modelo e vi) avaliação da robustez [29].

As principais superfícies de respostas podem ser obtidas a partir de planejamentos quadráticos tais como: matriz Doehlert, planejamento Box-Behnken, planejamento composto central e planejamento fatorial de três níveis [24; 29]. A aplicação dessas metodologias geralmente acontece após uma etapa preliminar com o uso de planejamento fatorial ou planejamento fatorial fracionário, conforme mencionado, que evidencia quais as variáveis mais significativas do sistema.

#### 1.4.1.3. Otimização de variáveis usando o planejamento Doehlert

A matriz Doehlert é uma ferramenta quimiométrica usada para estimar pontos críticos. Esta foi desenvolvida em 1970 quando proposta por David H. Doehlert. Desde a sua descoberta, a matriz Doehlert vem sendo usada como importante ferramenta de MSR, a fim de obter pontos ótimos em inúmeros procedimentos de pré-concentração usando a SPE, CPE, LPME, dentes outros procedimentos [30].

O planejamento Doehlert pode descrever vários tipos de domínios. A quantidade e forma desses domínios dependem do número de variáveis envolvidas no processo. Para duas variáveis, apresenta-se em formato circular, esférico para três e hiperesférico para mais de três variáveis, o que mostra a uniformidade no espaço envolvido. Quanto aos números de experimentos, é denotado de grande eficiência e pode ser determinado pela expressão $N = k^2 + k + pc$. Sendo *N* o número de experimentos necessários, *pc* é o número de réplicas do ponto central e *k* é o número de variáveis [27].

O planejamento Doehlert apresenta algumas vantagens em relação aos planejamentos citados anteriormente. Dentre estas vantagens, está o número reduzido de experimentos para sua aplicação, o qual está atrelado à quantidade de variáveis que se deseja estudar. A Figura 2a mostra que, para duas variáveis, a matriz Doehlet consiste de um ponto central e mais seis outros pontos formando um hexágono regular. A Figura 2b mostra uma matriz Doehlert envolvendo três fatores e, portanto, apresenta três diferentes possibilidades oriundas de um cubo octaedro, podendo ser uma projeção sobre uma face triangular, uma projeção sobre uma face quadrada e uma projeção sobre um vértice, possibilitando o estudo das variáveis em maior e menor significância [29; 30].

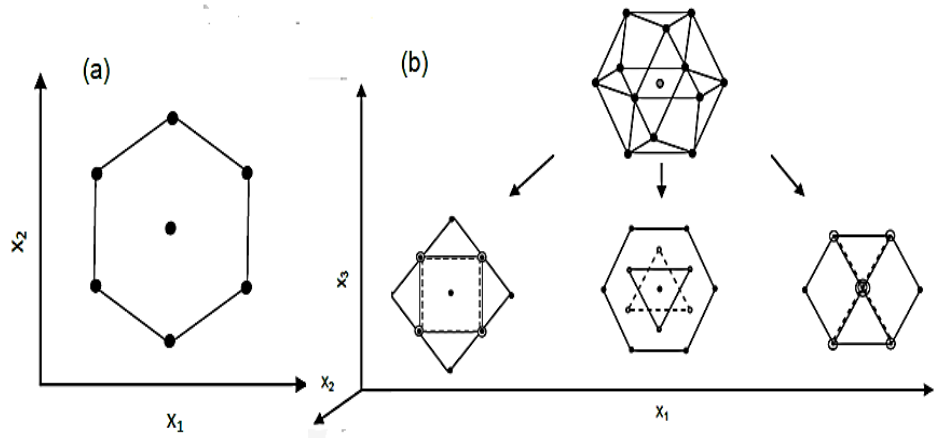


Figura 2. Pontos experimentais para geração de planejamentos para ajuste de modelos quadráticos: (a) planejamento Doehlert para otimização de duas variáveis e (b) planejamentos Doehlert para de três variáveis.

## 1.5. Análise por imagem digital

A quantidade de técnicas analíticas para a determinação de níquel e cobalto em amostras de águas, sedimentos, suplementos, alimentos e diversas outras matrizes é muito grande, podendo ser quantificados por métodos clássicos e

instrumentais, a depender da quantidade do analito presente na solução final. Entre os métodos clássicos podem ser citados aqueles nos quais os analitos podem ser identificados por gravimetria (medidas de massa) ou por volumetria (titulação). Estes métodos são relativamente simples de equipamentos, apresentam confiabilidade dos resultados e são mais indicados para macroanálises. No entanto, demandam mais recursos humanos e tempo nas análises, os limites de quantificação nem sempre são atendidos para análise de quantidades traços e os erros estão presentes em maiores proporções.

Por outro lado existem os métodos instrumentais, que exploram fenômenos distintos daqueles observados nos métodos clássicos. Propriedades como condutividade elétrica, absorção ou emissão de luz são utilizadas para detectar diferentes analitos inorgânicos, orgânicos e biológicos. Dentre as principais técnicas instrumentais para quantificação desses analitos, as mais aplicadas são: espectrofotometria UV-ViS [31], espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GF AAS) [32], espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS) [33], espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES) [34], espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) [35]. No entanto, tais técnicas requerem equipamentos de alto valor financeiro, alta demanda de manutenção e consumo de gases inertes. Existem ainda os métodos eletroanalíticos que são bastante sensíveis e relativamente baratos, mas exigem grau de conhecimentos mais avançado [36].

Uma técnica alternativa e bastante promissora é a análise por imagem, sendo possível quantificar elementos tais como níquel e cobalto após a formação de compostos coloridos por meio de uma reação colorimétrica. Características desejáveis como facilidade de operação, baixo custo, seletividade, relativa rapidez da análise e capacidade de automatização estão associadas à técnica [37].

Quanto à aplicação da colorimetria de imagem digital na química analítica, Monemi *et al*.(1999) foram um dos pioneiros nesta área e usaram uma câmera com dispositivos de carga acoplada (CCD) para determinar proteína de ligação ao retinol (RBP) por quimiluminescência capilar em imunoensaios [38]. Lampen *et al*. (2000) realizaram estudos com a finalidade de obter informações químicas e mineralógicas de solos e rochas a partir da análise de imagens digitais [39]. A partir do sucesso eminente, os trabalhos com imagens digitais voltaram-se para técnicas baseadas em fenômenos de emissão tais como ICP, fluorescência e quimiluminescência. Assim,

Yamanaka et al. (2001) utilizaram uma espectrocâmera CCD para delinear o perfil espacial e espectral da emissão atômica em torno da superfície de compósitos [40]. Estes estudos foram fundamentais para o desenvolvimento da química analítica em concordância com o uso de imagens digitais.

Vallvey *et al*. (2015) realizaram estudos sobre o crescente uso de sensores por imagens digitais em suas diferentes esferas acoplada à química analítica e concluiu que até 2015 foram mais de 587 trabalhos que fazem esta relação [41]. Os autores ainda afirmam que entre 2005 e 2015 houve um aumento de 87,5% em relação aos anos inicias [41]. Em trabalhos recentes, Soares *et al.* (2017) determinaram a concentração de iodo em biodiesel baseado em imagem digital explorando um smartphone [42]. Salcedo *et al.* (2018) quantificou vapor de mercúrio usando imagens baseadas em câmera do smartphone [43]. Portanto, a combinação de dispositivos de imagem com técnicas de processamento de cores vem possibilitando a obtenção de relevantes informações químicas sobre a matriz de interesse.

O avanço, sucesso e aceitação da colorimetria de imagem digital (DIC) são referentes à sua instrumentação simples, acessível, precisa e de baixo custo com aplicabilidade nas diversas áreas da química e ciências afins. Para realizar a captura das imagens, geralmente são usadas ferramentas computacionais tais como câmera digital [38], smartphone [42; 44] e webcam [40]. O tratamentos de dados geralmente é baseado no uso de softwares como ImageJ, Matlab e chemostat, que permite a análise e manipulação dos dados [42; 43; 44]. Normalmente, as imagens adquiridas com um sensor de imagem física e gerenciadas com hardware e software de computação efetuam o tratamento das imagens que tem uma variação na intensidade das cores quando os analitos estão em concentração diferente e conseguem transformar esses sinais em valores de absorbância.

O processamento de imagens digital emprega uma série de operações matemáticas, como diminuição de ruído, correção de nível de cinza e correção de desfoque, com a finalidade de aperfeiçoar a qualidade da imagem e extrair defeitos. A análise de imagem seleciona as regiões de interesse (ROI). Essa região pode ser definida usando a informação de variação de cor em função de uma reação química e esse parâmetro analítico é construído a partir de uma informação analítica qualitativa ou quantitativa. Tal informação pode ser extraída por meio da aplicação de um

processo de calibração e através do reconhecimento de padrões podem associar as diferentes cores a uma dada concentração do analito [40].

No processamento digital, uma imagem é formada por uma matriz de M linhas e N colunas que possui um número finito e inteiro de pontos, sendo definidos como pixels (picture elements) [45]. Cada pixel é caracterizado por duas propriedades fundamentais: a posição e a cor. Os valores p(x;y) inteiros positivos indica a intensidade de cor em cada posição (x,y) da imagem que descreve a propriedade física correspondente em uma região do espaço. Valores altos são apresentados na tela como pixels claros e valores baixos como pixels escuros. Quanto menor for o intervalo de amostragem para uma mesma região do espaço, maior será a resolução espacial da imagem, podendo assim, estar associado a uma maior sensibilidade do método proposto [46].

O princípio para o processamento da imagem digital é baseado no modelo de cores e dependendo da forma como a informação é organizada numericamente na matriz para formação dos pixel é usado um modelo de cores diferente. Um modelo de cores é uma representação tridimensional em que cada cor é representada por um ponto no sistema de coordenadas 3D [47]. Os modelos empregados para representar as cores são: CMY (cyan, magenta and yellow) e CMYK (variante do modelo CMY, onde k denota Black), HSI (hue, saturation, intensity), Lab (Luminosidade, a e b) e RGB (red, green and blue) [48].

O modelo RGB é o mais usado em imagens digitais, tendo como base as combinações das três cores primárias: vermelho, verde e azul que se encontram representados em um sistema de coordenadas cartesianas. Um modelo alternativo é o CMY que se baseia das combinações das cores primárias aditivas RGB, onde as cores base são: ciano, magenta e amarelo. A Figura 3 mostra como base o modelo RGB, em que três cores primárias estão em três eixos perpendiculares, e alternadamente as cores secundárias (ciano, magenta e amarelo) em outros três eixos [49].

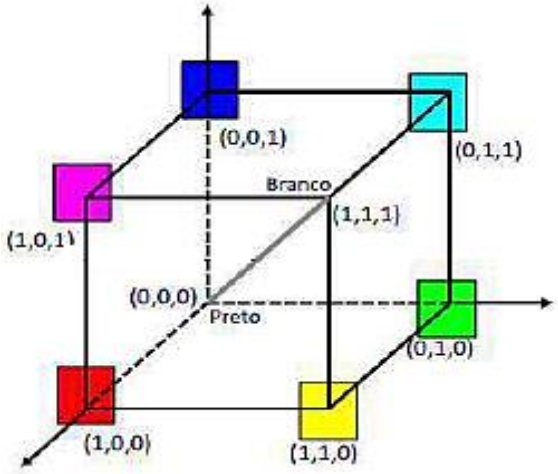


Figura 3. Representação cartesiana de um modelo RGB em que se observa as cores primárias como a base do modelo (vermelho, verde e azul) e a combinação dessas cores originando as cores secundárias. Modelo adaptado de Cardoso, 2014 [49].

A combinação das cores vermelha, verde e azul origina a cor branca (R+G+B = branco) enquanto que a combinação das cores ciano, amarelo e magenta dá origem a cor preta (C+M+Y = preto) [49]. No cubo da Figura 3 cada eixo representa a contribuição de uma cor primária com intensidades variando na faixa 0 – 255 (8 bits) na formação das demais cores, ou seja, com 256 níveis de intensidade totalizando 16,7 milhões de possibilidade de cores [45].

O modelo RGB é o mais usado e bem aceito na DIC. Alguns trabalhos foram desenvolvidos e publicados na literatura usando esse modelo. Zhang *et al*. (2018) usaram nanoplacas de prata triangulares para reduzir e quantificar Hg(II), com o auxílio de uma câmera digital para aquisição de dados usando um software fotoshop [50]. Manna *et al*. (2019) desenvolveram um novo quimiossensor óptico sensível e seletivo à base de hidrazida para a detecção de íons Ni(II). Neste estudo, a aplicação foi feita em imagens de células vivas e o monitoramento foi realizado com smartphones, atingindo limite de detecção de 1,8 µg $L^{-1}$ [51]. Zamora e*t al*. (2011) propuseram uma abordagem quantitativa de imagem digital para determinar o teor de níquel de meteoritos metálicos [52]. A abordagem utilizou imagem digital para quantificar o complexo formado de níquel-dimetilglioxima. Os resultados foram validados por comparação com o método espectrofotométrico.

# 2. OBJETIVOS

## 2.1. Objetivo geral

Desenvolver sistemas de extração em fase sólida acoplado com detecção por imagem digital para determinação de cobalto e níquel em amostras de alimentos, superalimentos, água e cigarro.

## 2.2. Objetivos específicos

- Desenvolver métodos simples e de baixo custo acoplando a colorimetria de imagem diretamente no sorvente;
- Desenvolver sistemas de extração em fase sólida usando a resina XAD-7 impregnada com 2-(2-tiazolilazo)-p-cresol (TAC) seletivo para os íons cobalto e níquel;
- Otimizar parâmetros físicos e químicos do sistema proposto através de planejamento de experimentos;
- Validar os métodos propostos usando material de referência certificado e/ou método comparativo;
- Utilizar a colorimetria de imagem digital associada a um sistema de extração em fase sólida para quantificar cobalto em alimentos e superalimentos e níquel em amostras de café, cigarro e água de rio.

# 3. PARTE EXPERIMENTAL

## 3.1. Instrumentação

Para quantificar os analitos, um sistema de colorimetria de imagem digital foi necessário. Para isto, usou-se um microscópio portátil multifunção Supereyes (Shenzhen, Guangdong, China) para obtenção das imagens, uma caixa branca isolada da luz externa e iluminada com luz branca proveniente da lâmpada de LED (6W). Para o recebimento das informações, foi necessário um microscópio conectado ao notebook via porta USB e um aplicativo AMCap, uma ferramenta responsável pela captura da imagem e transformar no formato JPG.

Na digestão das amostras foi usada bomba de digestão de aço inoxidável (Parr Instrument 4749, Moline, Illinois, EUA) aquecida em estufa Eurobras. A pesagem das massas das amostras e materiais foi feita em balança analítica (Shimadzu modelo AY220). A medição do pH foi realizada por um pHmetro (Quimis modelo G-400AS) e o processo de desionização de água foi feito usando um desionizador Quimis Q-180M com condutividade inferior a 20μS/cm².

## 3.2. Reagentes

- 2-(2-tiazolilazo)-p-cresol (TAC)
- Acetato de sódio (VETEC)
- Ácido acético glacial (VETEC)
- Ácido clorídrico (Sigma-Aldrich)
- Ácido nitríco (MERCK)
- Amberlite XAD-7 (Sigma-Aldrich)
- Borato de sódio (VETEC)
- Etanol (Sigma-Aldrich)
- Hidróxido de sódio (QUIMEX)

## 3.3. Soluções

O procedimento para descontaminação de vidrarias foi feito usando solução aquosa de ácido nítrico a 10 % (v/v). Para manter o pH das soluções estabilizado foi preparada solução-tampão de borato de sódio em que 38,13 g do soluto foi dissolvido

em 1000 mL de água deionizada, com faixa de trabalho de pH entre 7,0 e 9,0 ajustado com ácido clorídrico concentrado. Solução-tampão amoniacal (pH entre 9 e 11) e acetato de sódio (pH entre 5 e 6) também foram empregadas no estudo de pH no procedimento de otimização. Usou-se o ácido clorídrico concentrado e solução de hidróxido de sódio 6,0 mol $L^{-1}$ no processo de ajuste do pH.

O preparo das soluções aquosas foi realizado com água deionizada ultrapura. As soluções intermediárias de Ni(II) e Co(II), usadas nos procedimentos de otimização das variáveis e calibração do sistema, foram preparadas a partir de soluções padrões estoque com concentração de 1000 mg $L^{-1}$. A solução do complexante 2-(2-tiazolilazo)-p-cresol (TAC) (Figura 4) foi preparada pesando 0,015 g do reagente e solubilizando em 100 mL de etanol com a finalidade de obter-se uma solução com concentração de 0,015% (m/v).

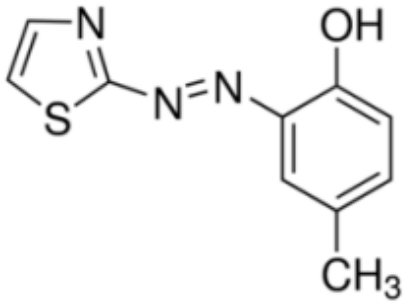


Figura 4. Estrutura do reagente complexante TAC

### 3.4. Preparo da mini-coluna recheada com o sorvente

Antes do empacotamento do material na mini-coluna, o Amberlite XAD-7 passou por um processo de impregnação com o agente complexante TAC 0,015% (m/v). Para esse procedimento, foi feito o estudo do tempo de contato entre a fase sólida (XAD-7) e o agente complexante TAC, em intervalos de 30, 60, 120 e 240 minutos.

O processo de empacotamento da mini-coluna (tubo de vidro) foi realizado utilizando uma coluna de vidro com 2,0 cm de comprimento e 0,3 cm de diâmetro interno. Uma massa de 0,040 g de Amberlite XAD-7 foi pesada com auxílio de uma balança analítica e inserida dentro da mini-coluna, após passar pelo processo de impregnação. Para favorecer a montagem do sistema, foram usados tubos de teflon nas extremidades da coluna de vidro facilitando a passagem da amostra. Posteriormente esta mini-coluna e seus aparatos foram ajustada em um suporte de acrílico, conforme mostra a Figura 5.

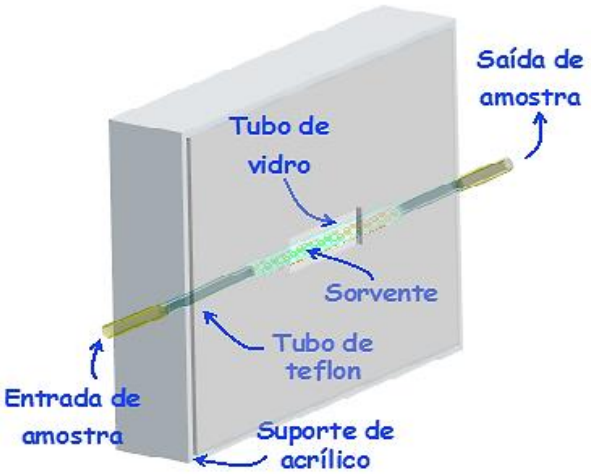


Figura 5. Suporte de acrílico responsável por apoiar o tubo de vidro recheado com sorvente de XAD-7/TAC.

O suporte de acrílico com a mini-coluna foi introduzido dentro de uma caixa de madeira (15 × 23 × 20 cm). A madeira usada para confeccionar a caixa era branca para evitar os efeitos dos reflexos e para realizar a iluminação usou-se uma lâmpada LED (6W), eliminando assim a necessidade de flash. Na captura da imagem, o posicionamento correto da lâmpada foi necessário para garantir a reprodutibilidade das imagens durante as medidas. Foi feito na caixa um pequeno orifício com a finalidade da penetração do microscópio que ficou preso a um suporte fixo e conectado ao notbook com auxílio de um cabo USB. O sistema responsável por realizar a extração em fase sólida é apresentado na Figura 6.

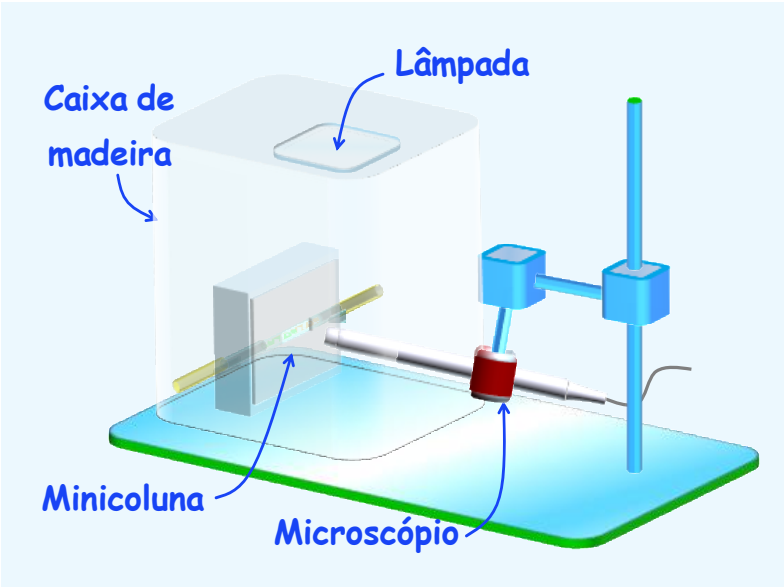


Figura 6. Sistema desenvolvido para realização da extração em fase sólida.

### 3.5. Procedimento para extração e separação dos analitos

O sistema de extração dos analitos foi conduzido pelo uso de uma bomba peristáltica multi-canais com tubos de silicone para propulsionar os líquidos através da mini-coluna. Essa etapa de extração e separação dos analitos da matriz foi realizada on-line utilizando um volume de solução contendo os íons do analito e a captura da imagem foi feita imediatamente após o processo com os íons ainda retido na mini-coluna. Após a realização da medida, foi promovida a eluição usando ácido clorídrico 0,1 $mol \cdot L^{-1}$ e assim o material ficou livre para reiniciar uma nova pré-concentração. Para a curva de calibração foram utilizadas soluções em concentrações de 0-40 $\mu g\ L^{-1}$ e 0-20 $\mu g\ L^{-1}$ para Co(II) e Ni(II), respectivamente. A análise das amostras foi realizada seguindo o mesmo procedimento, após passar pelo processo de digestão.

### 3.6. Aquisição e tratamento de dados do sistema RGB

As imagens foram registradas usando o software AMCap como dispositivo para obtenção das imagens no formato JPEG. A distância entre a lente do microscópio e a coluna foi fixada em 2,5 cm, ajustando também o zoom para melhorar a resolução da imagem. Uma região de interesse em forma quadrada foi definida em uma posição fixa e, com o auxílio de programa de computador, Chemostat, as imagens foram tratadas. Este programa permite a aquisição de dados do sistema RGB para todos os pixels na ROI. Esta informação é organizada em um histograma colorido e o valor médio de cada canal de cor, vermelho (R), verde (G) e azul (B) é calculado [47].

Os sinais gerados foram convertidos em absorvância, aplicando a lei de Lambert-Beer. A definição dos sinais analíticos com base no valor da cor e em conformidade com a lei de Beer foram definidos como $-\log (P / P_o)$, onde P é o valor de R, G e B da solução padrão ou amostra e $P_o$ é o valor de R, G e B para o branco analítico [53].

### 3.7. Estratégia de otimização

A otimização dos parâmetros para extração de níquel e cobalto usando extração em fase sólida foi feita usando técnicas de planejamento experimental. Em estudos preliminares, foi realizado um planejamento fatorial completo em dois níveis como etapa de triagem e nesse processo as variáveis estudadas foram pH, vazão da amostra e volume de amostra. Após essa etapa de triagem, utilizou a matriz Doehlert com apenas as variáveis que influenciaram significativamente no planejamento inicial

e assim obteve-se os valores críticos. A Tabela 2 demonstra o domínio experimental para os dois planejamentos e as matrizes completas estão apresentadas junto com os resultados. Nas etapas de otimizações foram utilizadas soluções teste contendo os analitos com concentração conhecida e os resultados foram avaliados usando o software STATISTICA 12. Os ensaios de ambos os planejamentos foram realizados de forma aleatória.

Tabela 2. Domínios experimentais estabelecidos para os planejamentos.

| **Variáveis** | **Níveis** | |
|---|---|---|
| | **Mínimo (-)** | **Máximo (+)** |
| *Planejamento fatorial $2^3$ para Co(II) e Ni(II)* | | |
| pH | - (4,0) | + (8,0) |
| Volume de amostra (mL) | - (25,0) | + (50,0) |
| Vazão de amostragem (mL $min^{-1}$) | - (3,0) | + (6,0) |
| *Matriz Doehlert para Co(II)* | | |
| pH | - (4,0) | + (8,0) |
| Volume de amostra (mL) | - (25,0) | + (50,0) |
| *Matriz Doehlert para Ni(II)* | | |
| pH | - (4,0) | + (8,0) |
| Volume de amostra (mL) | - (25,0) | + (50,0) |
| Vazão de amostragem (mL $min^{-1}$) | - (3,0) | + (6,0) |

### 3.8. Coleta e preparo de amostras

As amostras de água foram coletadas no Rio de Contas, localizado na cidade de Jequié, Bahia, Brasil. O Rio de contas é muito importante na atividade regional. Dente essas atividades pode-se destacar a pesca e consumo humano. Em contrapartida a atividade industrial e os despejos acentuados de efluentes tem causado contaminação a essas águas. As amostras foram filtradas e submetida ao procedimento de pré-concentração.

As amostras de camarão, sururu, siri foram adquiridas no comércio localizado na cidade de Salvador-BA e as amostras de superalimentos, café e cigarro foram obtidas em comércio na cidade de Jequié-BA, Brasil. As amostras sólidas de cigarro, café, camarão, siri, sururu e suplementos naturais (chlorella e spirulina) foram submetidas ao pré-tratamento de digestão ácida.

Na digestão das amostras sólidas, em torno de 0,1 g foi pesado em copos de teflon e em seguida for submetida ao procedimento de digestão ácida seguindo um procedimento descrito por Melo *et al*. (2008), em que 2,0 mL de ácido nítrico 65% PA e 0,5 mL de peróxido de hidrogênio PA foram adicionados à amostra [54]. A mistura foi colocada em bombas de aço e submetida à estufa em temperatura de 120 °C durante 4 horas. Após esse período, esperou-se o esfriamento das amostras, ajustou-se o pH com adição de solução de hidróxido de sódio 6 mol $L^{-1}$, adicionou-se 10 mL do tampão borato e avolumou-se com água ultrapura para um volume de solução final otimizado.

### 3.9. Procedimento para avaliar a exatidão dos métodos

Os métodos desenvolvidos foram avaliados através de figuras de mérito, conforme indicado na literatura. Para avaliar a exatidão do método de extração de Ni(II) usou-se material de referência certificado de cabelo humano (BCR 397 - NIST) e folha de tomate (SEM 1573a - NIST). A avaliação da exatidão do método para a extração do cobalto foi realizada por comparação com a espectrometria de absorção atômica em forno de grafite.

# 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 4.1. Avaliação do tempo de impregnação entre a Amberlite XAD-7 e TAC

Neste estudo foi desenvolvido um método para determinação de cobalto e outro para determinação de níquel. Ambos utilizaram a formação da fase sólida impregnada, com a finalidade de extrair os íons em estudo. Inicialmente foi necessário estudar o tempo para a formação da fase extratora impregnada entre a resina XAD-7 e o ligante TAC. Esse tempo de contato foi estudado em 30, 60, 120 e 240 minutos. Após os estudos, observou-se que o tempo ideal para a reação química acontecer eficientemente foi de 120 minutos. Em um tempo menor a formação da ligação química foi ineficiente, pois ao passar uma solução de 25,0 mL de Ni(II) 10 µg $L^{-1}$ a coloração da fase sólida estava distribuída de forma heterogênea. Além disso, no processo de eluição dos analitos a ligação entre XAD-7 e o TAC era desfeita. Por outro lado, em um tempo maior que 120 minutos, a complexação também era comprometida, pois um período longo de contato entre a XAD-7 e TAC acaba degradando a fase sólida. Dessa forma, em um tempo de 120 minutos foi observado a melhor consistência do compexo formado. Para a dessorção do complexo formado foi utilizado ácido clorídrico 0,1 mol·$L^{-1}$. A Figura 7 mostra a evolução do processo da reação referida.

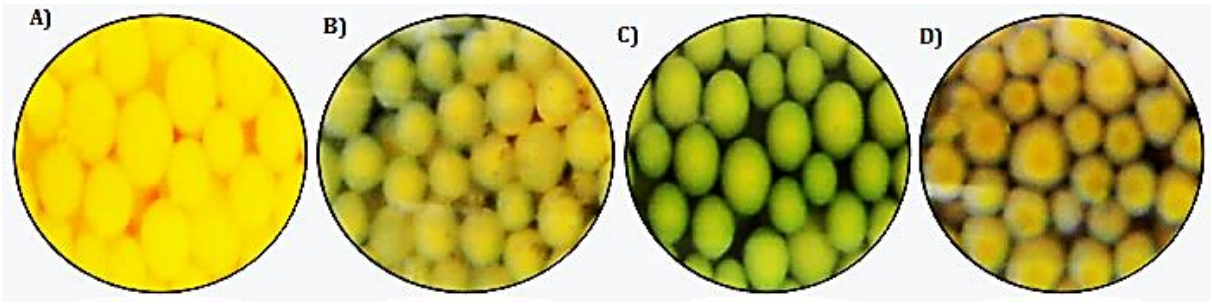


Figura 7. Estudo do tempo de contato entre a fase sólida (XAD-7) e o complexante (TAC) após eluição de íons Ni(II). A) Fase sólida modificada XAD-7/TAC; B) Fase sólida modificada (t<120 min); C) Fase sólida modificada (t=120 min); D) Fase sólida modificada (t>120 min).

## 4.2. Otimização das variáveis

### 4.2.1. Etapa de triagem

O planejamento fatorial completo pode ser utilizado de forma eficiente como etapa de triagem para a investigação dos fatores que influenciam num processo de extração. Antes da aplicação do planejamento, uma curva de calibração foi realizada

com a finalidade de avaliar qual canal do modelo RGB apresentaria melhor sensibilidade e maior correlação entre os resultados. As imagens obtidas foram processadas no programa *Chemostat*, a região quadrada de interesse (ROI) foi convertida em pixel e, em seguida, convertida em absorvância usando o Excel 2010.

O canal no modelo RGB escolhido foi o vermelho (R), pois apresentou melhor sensibilidade e correlação nos resultados. Após estabelecido o melhor canal, um planejamento fatorial completo $2^3$ foi executado para avaliação da influência de três variáveis no método proposto. A matriz experimental e os resultados, para íons Co(II) e Ni(II), estão apresentados na Tabela 3, contendo os valores codificados (+ e -) e os valores reais entre parênteses. Os ensaios foram realizados em duplicata e de forma aleatória para validar o modelo por meio da estimativa da variância experimental.

Tabela 3. Matriz e resultados para o planejamento fatorial fracionário $2^3$ na extração de Co(II) e Ni(II).

| **Experimento** | **VA (mL)** | **pH** | **Vaz. Am. (mL min$^{-1}$)** | **Abs** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | **Co(II)** | | **Ni(II)** | |
| 1 | + (50,0) | + (8,0) | + (6,0) | 0,266 | 0,295 | 0,272 | 0,325 |
| 2 | + (50,0) | + (8,0) | - (3,0) | 0,314 | 0,330 | 0,366 | 0,365 |
| 3 | + (50,0) | - (4,0) | + (6,0) | 0,014 | 0,016 | 0,060 | 0,061 |
| 4 | + (50,0) | - (4,0) | - (3,0) | 0,019 | 0,017 | 0,073 | 0,071 |
| 5 | - (25,0) | + (8,0) | + (6,0) | 0,148 | 0,171 | 0,178 | 0,180 |
| 6 | - (25,0) | + (8,0) | - (3,0) | 0,163 | 0,183 | 0,238 | 0,256 |
| 7 | - (25,0) | - (4,0) | + (6,0) | 0,009 | 0,011 | 0,042 | 0,045 |
| 8 | - (25,0) | - (4,0) | - (3,0) | 0,010 | 0,013 | 0,054 | 0,061 |

VA: Volume de amostra; Vaz. Am.: Vazão de amostragem.

Avaliando a Tabela 3 de forma preliminar, em uma análise qualitativa, observa-se que em pH maiores (8,0), tanto para a extração de Co(II) como para a extração de Ni(II), o sinal de absorvância tende a aumentar. No entanto, para as demais variáveis não é possível avaliar a significância das mesmas.

O experimento 2, destacado em verde, mostra a condição que demonstrou maior sensibilidade e o experimento 7, destacado em vermelho, a condição de menor sensibilidade. Os experimentos 2 e 7 apresentam condições extremas para as variáveis. Essas observações, ainda que demonstrem importância e indiquem uma

possível condição ideal, não mostra com clareza quais são os pontos precisos para a maior absorvância e não demonstra a significância da interação entre as variáveis estudadas. Nesse caso há necessidade de interpretação de forma multivariada, que pode ser obtida através do gráfico de Pareto, a um limite de confiança a 95%, para identificar as variáveis mais significativas e suas interações na extração de Co(II) e Ni(II). Os gráficos de Pareto referente a cada elemento estão apresentadas na Figura 8.

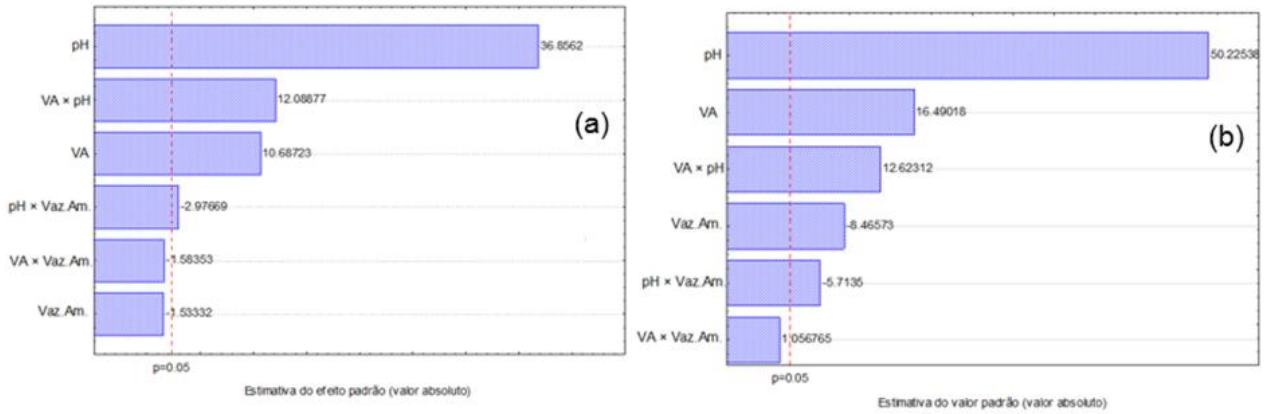


Figura 8. Gráficos de Pareto obtidos a partir do planejamento fatorial $2^3$ para (a) Co(II) e (b) Ni(II). VA: Volume de amostra; Vaz.Am.: Vazão de amostragem.

O gráfico de Pareto é uma alternativa para avaliar a significância de cada variável e suas interações. A linha vertical pontilhada, em vermelho, é conhecida como linha de referência e representa o significado estatístico para p = 0,05, ou seja, no nível de confiança de 95% [26].

Comparando o comportamento dos dois gráficos apresentados na Figura 8, é possível perceber que ambos evidenciam características experimentais muito similares, tais como: i) As variáveis pH e VA são as mais significantes; ii) As interações VA × pH e pH × Vaz.Am são significantes; iii) A interação VA × Vaz.Am não é significante e iv) Todos os sinais de significância (positivo ou negativo) são equivalentes. A única variável que apresentou comportamente diferente foi Vaz.Am., que não apresentou significância para a extração de cobalto mas foi significante para a extração de níquel.

Para o processo de extração de Co(II) (Figura 8(a)), as variáveis pH e volume de amostra (VA) e a interação entre elas mostrou-se significativa, apresentando valor positivo de significância. Neste caso, o sinal positivo indica que a resposta medida é mais sensível e maior quando se utiliza a variável no seu nível máximo. A interação pH × Vaz. Am. apresentou pouca significância negativa.

Já no processo de extração dos íons níquel, o gráfico 8(b) mostra que no processo de extração as variáveis que se revelaram mais significativas (efeitos que excedem a linha vermelha e pontilhada) e positivas foram o pH e volume de amostra (VA), bem como a interação entre elas. Por outro lado, a vazão de amostragem (Vaz.Am.) apresentou valor negativo, mas com significância menor e a interação pH × Vaz.Am. apresentou pouca significância negativa.

Em ambos os procedimentos, de extração de Co(II) e Ni(II), o pH foi a variável mais importante. De certo, o pH da fase aquosa é um fator crucial em procedimentos de pré-concentração, principalmente quando as reações envolvem agentes complexantes de metais. Um pH ideal contribui para que a extração do metal de interesse seja quantitativa, além de separar diferentes espécies da matriz devido às diferenças de estabilidades dos complexos, aumentando a seletividade e sensibilidade do método [55].

Outro parâmetro importante foi o volume de amostra. Este de certa forma dimensiona a quantidade de matéria do analito na solução. Pelos resultados, quanto maior a quantidade de matéria no meio mais favorável foi a extração, pois aumenta a probabilidade de complexação na mini-coluna visto que tem maior quantidade de um dos reagentes, conforme prevê Le Chetelier [56].

### 4.2.2. Otimização usando matriz Doehlert

De posse das informações obtidas pela aplicação do planejamento fatorial completo $2^3$ e através do gráfico de Pareto foi possível estabelecer as variáveis e interações que apresentam os maiores efeitos na extração dos íons. Ademais, a triagem permitiu ter uma ideia da região próxima aos valores críticos, porém uma análise mais criteriosa e precisa é necessário usando uma matriz quadrática com metodologia de superfície de resposta. Então foi escolhido a matriz Doehlert que permite estudar sistemas com duas ou três variáveis, ideal para a situação observada nos estudos preliminares.

*Extração de íons Co(II)*

O planejamento Doehlert aplicado na extração do íons Co(II) foi realizado executando-se sete experimentos para estudar duas variáveis, seguindo a expressão $N = k^2 + k + pc$. O gráfico de Pareto demonstrou que apenas pH e volume de amostra foram significativos, assim a matriz Doehlert consiste em um ponto central e mais seis

outros pontos formando um hexágono regular [24]. Os estudos anteriores mostraram que o pH comporta-se como a variável mais crítica do processo de extração, portanto esta variável foi estudada em cinco níveis. O volume de amostra que passa na mini-coluna foi uma variável menos crítica do que o pH e por isso foi estudada em três níveis. A vazão de amostragem foi fixada em 3,0 mL $min^{-1}$ e os experimentos também foram realizados de forma aleatória. A Tabela 4 apresenta a matriz experimental do planejamento Doehlert e as respostas.

Tabela 4. Matriz e resultados para o planejamento Doehlert na extração de Co(II).

| Experimento | Variáveis | | Abs | |
|---|---|---|---|---|
| | pH | VA (mL) | | |
| 1 | 6,0 | 50,0 | 0,020 | 0,028 |
| 2 | 7,0 | 30,0 | 0,237 | 0,232 |
| 3 | 7,0 | 70,0 | 0,268 | 0,261 |
| 4(PC) | 8,0 | 50,0 | 0,368 | 0,351 |
| 5 | 9,0 | 30,0 | 0,250 | 0,263 |
| 6 | 9,0 | 70,0 | 0,277 | 0,282 |
| 7 | 10,0 | 50,0 | 0,257 | 0,263 |

PC: Ponto Central; VA: Volume de amostra; ABS: absorvância.
Destacado em vermelho: menor sinal; destacado em verde: maior sinal.

Os dados foram tratados no programa Statística e gerou a superfície de resposta e superfície de contorno apresentadas na Figura 9.

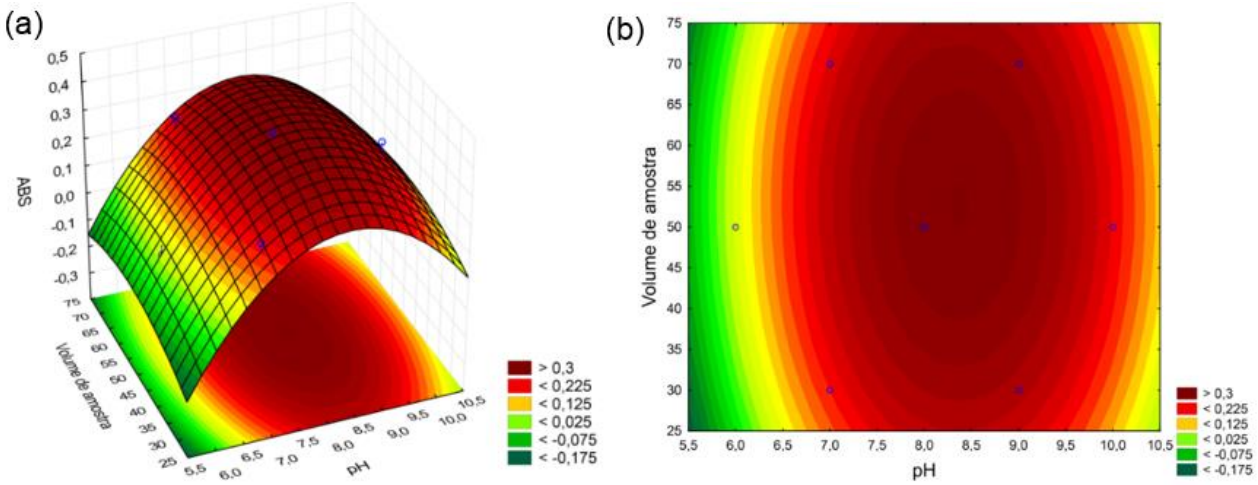


Figura 9. (a) Superfície de resposta e (b) Superfície de contorno para pH × VA na aplicação do planejamento Doehlert para extração de íons Co(II).

Através das duas superfícies obtidas é possível observar uma região de máximo, que tende ao valor crítico, representada pela região de cor vermelha intensa na superfície em pH entre 8,3-8,7. Ao mesmo tempo, uma região de máxima intensidade também aparece para volume de amostra em torno de 50-55 mL. Os resultados demonstram que a condição intermediária do domínio experimental estudado foi a que apresentou maior sensibilidade e é a região que apresenta uma maior robustez do sistema. A robustez é definida como indicação da capacidade de um método analítico em resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos [24].

Com a matriz Doehlert também é possível obter os valores críticos, que representam pontos ótimos para obter uma maior extração dos íons Co(II), gerados pelo programa (Tabela 5).

Tabela 5. Valores críticos obtidos para a matriz Doehlert na extração de Co(II).

| **Variáveis** | **(-)** | **(+)** | **Valor crítico** | **Valor usado** |
|---|---|---|---|---|
| pH | 6,00 | 10,00 | 8,39 | 9,0 |
| VA (mL) | 30,00 | 70,00 | 52,71 | 50,0 |

VA: Volume de amostra.

Os valores críticos obtidos estão compreendidos dentro do domínio experimental estudado, o que indica que os experimentos tendem a uma região de máximo. No entanto, muitas vezes é difícil utilizar nos experimentos exatamente os valores críticos devido à impossibilidade física de algumas medidas, como volumes fracionários, por exemplo, por isso foi usado o volume de amostra em 50,0 mL. O valor de pH aplicado foi maior do que o crítico (8,39), porque em pH 8,0 ocorre interferência dos íons Ni(II) na extração de íons Co(II). Em pH 9,0 ocorre a extração de Co(II) com menor influência dos íons níquel e sem ter perda referente ao sinal do Co(II). Algumas vezes o analista precisa tomar decisões com base científica e “bom senso” para avaliar os dados obtidos [26].

O ponto crítico da superfície de resposta é caracterizado através da aplicação do critério de Lagrange, que se baseia no determinante Hessiano. Se a superfície de resposta apresentar um ponto crítico (máximo, mínimo ou sela) suas coordenadas são encontradas pela resolução do sistema de equações formado pela primeira derivada em relação a cada variável [57].

A qualidade do ajuste do modelo referente aos dados da matriz Doehlert foi avaliada. Os valores observados proporcionam uma boa correspondência quando comparados com os valores preditos (Figura 10). Também foi realizada a avaliação do modelo pela análise de variância (ANOVA) e o modelo empregado mostrou-se bem ajustado e, portanto, os valores críticos encontrados são confiáveis.

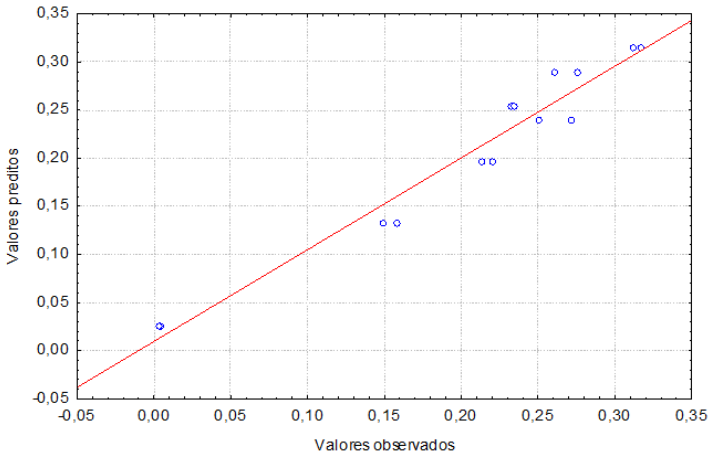


Figura 10. Valores preditos × valores observados para duas variáveis no processo de extração de íons Co(II).

*Extração de íons Ni(II)*

A interpretação dos resultados obtidos com o planejamento fatorial aplicado à extração de Ni(II) mostrou que as três variáveis são significativas no processo. Assim, uma matriz Doehlert com projeção sobre uma face quadrada foi usada para obtenção dos valores críticos [27]. A variável pH se mostrou a mais crítica na etapa de triagem e foi estudada em cinco níveis. O volume de amostra que passa pela mini-coluna também foi estudado em cinco níveis e a vazão de amostragem, por ser a variável menos crítica, foi estudada em três níveis. A Tabela 6 apresenta a matriz experimental do planejamento e a resposta.

Tabela 6. Matriz e resultados para o planejamento Doehlert na extração de Ni(II).

| Experimento | Variáveis | | | Absorvância |
|---|---|---|---|---|
| | pH | VA (mL) | Vaz. Am. (mL· min$^{-1}$) | |
| 1 | 10,0 | 50,0 | 3,0 | 0,150 |
| 2 | 9,0 | 40,0 | 2,0 | 0,221 |
| 3 | 9,0 | 40,0 | 4,0 | 0,145 |
| 4 | 9,0 | 60,0 | 2,0 | 0,305 |
| 5 | 9,0 | 60,0 | 4,0 | 0,187 |
| 6 | 8,0 | 30,0 | 3,0 | 0,191 |
| 7 | 8,0 | 50,0 | 3,0 | *0,295 / 0,298 / 0,286 |
| 8 | 8,0 | 70,0 | 3,0 | 0,421 |
| 9 | 7,0 | 40,0 | 2,0 | 0,197 |
| 10 | 7,0 | 40,0 | 4,0 | 0,125 |
| 11 | 7,0 | 60,0 | 3,0 | 0,245 |
| 12 | 7,0 | 60,0 | 4,0 | 0,186 |
| 13 | 6,0 | 50,0 | 3,0 | 0,021 |

*Triplicata do ponto central. VA: Volume de amostra; Vaz. Am.: Vazão de amostragem.
Destacado em vermelho: menor sinal; destacado em verde: maior sinal.

Os dados foram tratados no programa Statística e geraram as superfícies de resposta e superfícies de contorno apresentadas na Figura 11. Como foram estudadas três variáveis e uma das dimensões da superfície de resposta é usada para apresentar a absorvância, é possível visualizar apenas a relação de duas variáveis em cada gráfico. Dessa forma, três gráficos de superfícies de resposta são obtidos com duas variáveis em estudo e mantendo-se a terceira variável em seu nível central. Cabe lembrar que uma verdadeira superfície de resposta é uma composição dessas três superfícies.

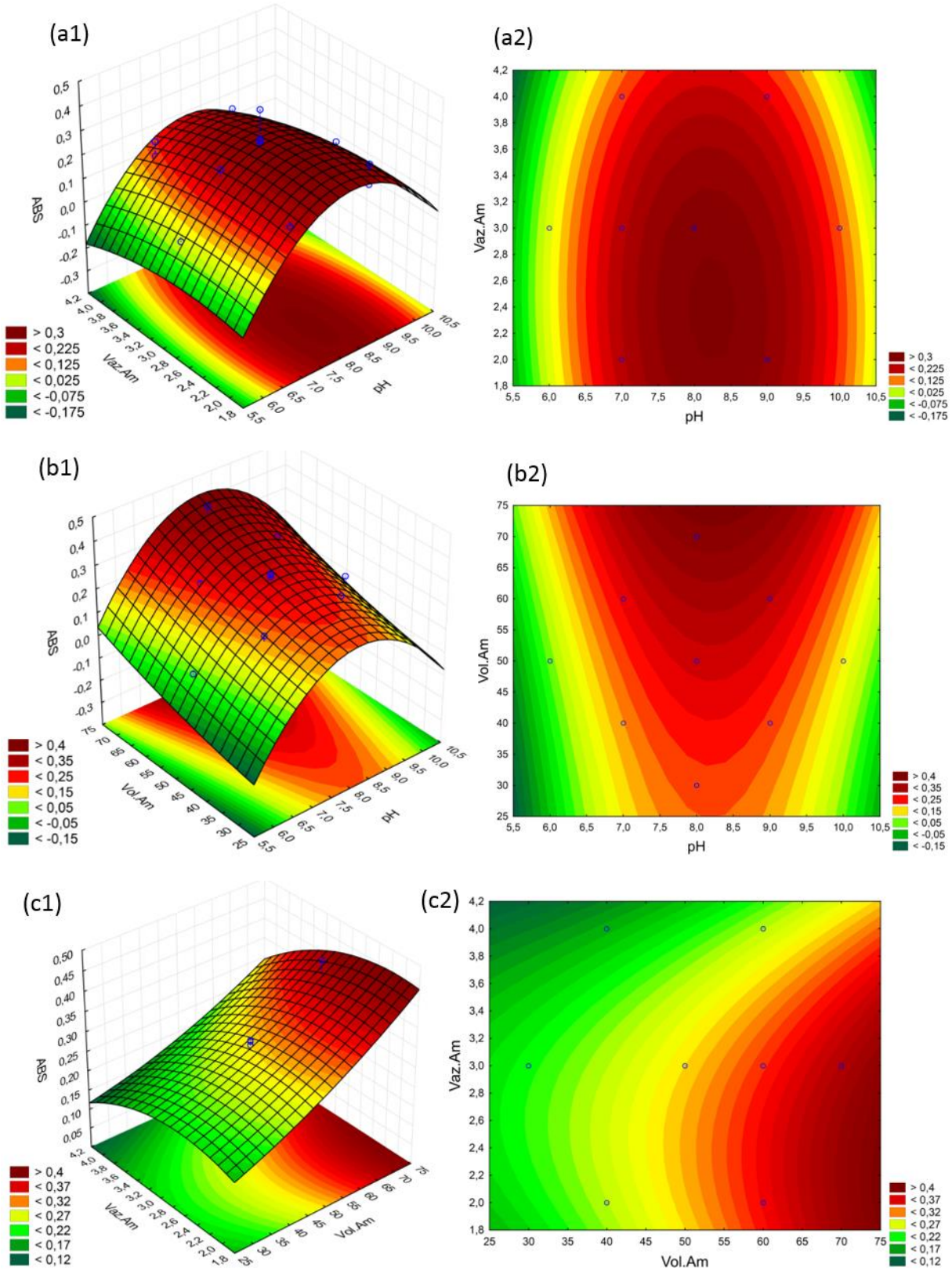


Figura 11. Planejamento Doehlert para extração de íons Ni(II). (a1) Superfície de resposta para pH × vazão de amostragem; (a2) Superfície de contorno para pH × vazão de amostragem; (b1) Superfície de resposta para pH × volume de amostra; (b2) Superfície de contorno para pH × volume de amostra; (c1) Superfície de resposta para vazão de amostragem × volume de amostra; (c2) Superfície de contorno para vazão de amostragem × volume de amostra.

As superfícies 11(a1) e 11(a2) apresentaram um perfil de máximo, indicando que para a avaliação dessas duas variáveis ocorre uma maior sensibilidade na extração em condições intermediárias do domínio experimental. Por outro lado, para as demais superfícies da Figura 11 é possível observar que ocorre uma tendência de maior sensibilidade na extração em condições fora do domínio experimental estudado.

A partir das superfícies são obtidas as coordenadas do valor crítico (ponto de máximo neste caso) aplicando um sistema de equações com a primeira derivada da função sendo igualada a zero, conforme apresentado na Tabela 7.

Tabela 7. Valores críticos obtidos para a matriz Doehlert na extração de Ni(II).

| **Variáveis** | **(-)** | **(+)** | **Valor crítico** | **Valor usado** |
|---|---|---|---|---|
| pH | 5,00 | 10,00 | 8,16 | 8,0 |
| VA (mL) | 30,00 | 70,00 | 54,2 | 50 |
| Vaz.Am. | 2,0 | 4,0 | 3,0 | 3,0 |

VA: Volume de amostra; Vaz. Am.: Vazão de amostragem.

Algumas superfícies o valor crítico obtido é caracterizado como uma região de sela. O ponto de sela representa o ponto de inflexão entre o máximo relativo a um fator e o mínimo relativo a outro fator. Isso quer dizer que é possível ter condições de extração mais sensíveis alterando o nível estudado de algumas variáveis, principalmente volume de amostra (VA) para este caso. No entanto, condições extremas e fora de certos domínios experimentais nem sempre é viável em sistemas químicos, podendo gerar maior quantidade de resíduos e alterar condições favoráveis de pré-concentração. Portanto, como a intenção é obter uma resposta máxima, as coordenadas do ponto de sela precisa ser avaliada com critério pois alguns valores críticos não servem como valores ótimos experimentais. Esta situação ocorreu neste estudo e foi necessário definir um valor diferente para VA. O valor ideal foi definido com base na observação visual das superfícies da Figura 11.

Assim como no processo de extração de íons Co(II), o modelo foi analisado através do gráfico dos valores preditos versus valores observados (Figura 12), no qual a reta é a representação dos valores preditos pelo modelo e os valores observados são representados pelos pontos em azul. O modelo quadrático demonstrou que os dados estão bem ajustados e não apresenta resíduos significativos. A avaliação do modelo também foi feita pela ANOVA e, apesar de apresentar falta de ajuste

significatica, o modelo foi muito útil na coompreensão do processo de extração de íons Co(II) e permitiu obter um sistema bem mais sensível.

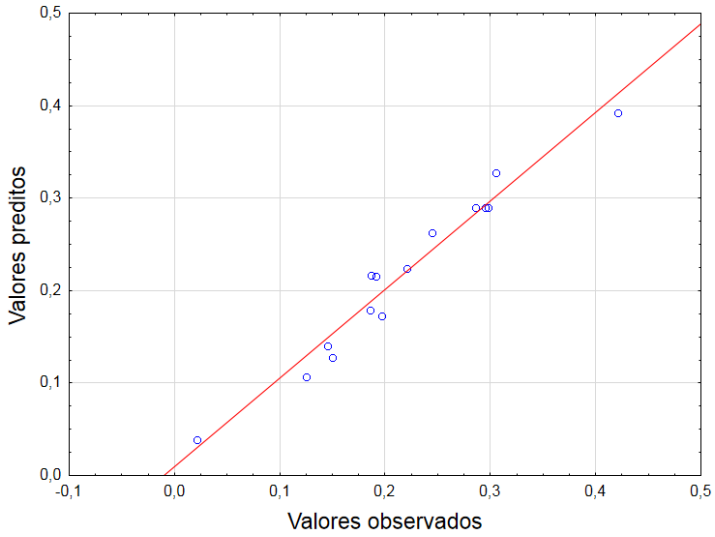


Figura 12. Valores preditos × valores observados para três variáveis no processo de extração de íons Ni(II).

### 4.3. Curva de calibração usando o modelo RGB

Usando as condições otimizadas com o planejamento fatorial completo e matriz Doehlert a curva de calibração foi construída e as imagens foram registradas usando o software AMCap, armazenadas no formato JPEG. Em seguida, o processamento das imagens foi feito mediante a aplicação uma série de operações matemáticas em que a análise da imagem é realizada na região de interesse. Essa região pode ser definida a partir da informação de variação de cor em função de uma reação química e esse parâmetro analítico é constituido de informação analítica qualitativa ou quantitativa que é extraída através do reconhecimento de padrões podendo associar as diferentes cores a uma dada concentração do analito [53].

As curvas de calibração foram construídas usando nove soluções de concentrações crescentes dos íons Co(II) e Ni(II) em uma faixa de concentração de 2,5 a 40 µg $L^{-1}$. Cinco imagens da curva estão ilustradas através das Figuras 13 e 14. A região de interrese da imagem digital foi processada com auxílio do software Chemostat para obtenção das melhores respostas analíticas. Este programa permite a aquisição de dados do sistema RGB para todos os pixels na região quadrada de interesse. Esta informação é armazenada em um histograma colorido e o valor médio

de cada canal de cor é obtido para o vermelho (R), verde (G) e azul (B). Após, os respectivos valores de pixels podem ser calculados [53].

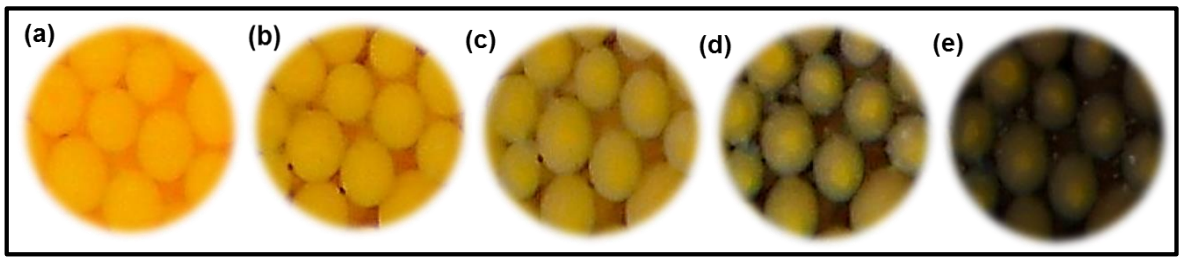


Figura 13. . Imagens obtidas na construção da curva analítica de calibração para cobalto. a: 0,0 µg L-1; b: 2,5 µg L-1; c: 10,0 µg L-1; d: 20,0 µg L-1; e: 30,0 µg L-1.

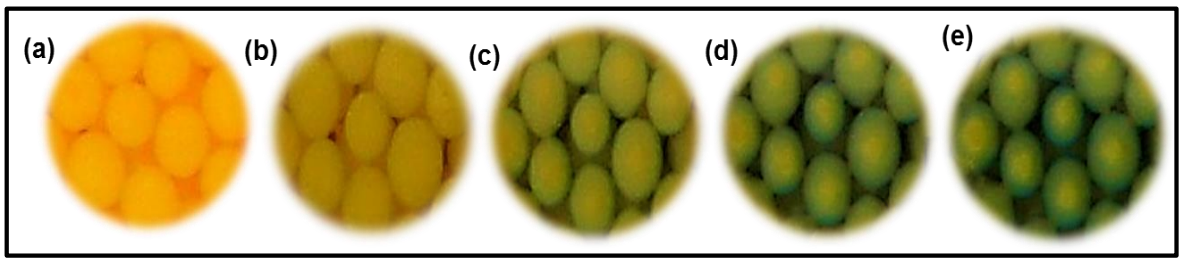


Figura 14. Imagens obtidas na construção da curva analítica de calibração para níquel. a: 0,0 µg L-1; b: 2,5 µg L-1; c: 5,0 µg L-1; d: 10,0 µg L-1; e: 20,0 µg L-1.

Nas imagens observa-se a coloração amarela referente ao branco e, após, a coloração começa a ficar mais intensa devido à complexação do ligante com o metal. Quanto mais intensa a coloração, maior a concentração do analito no material contido na fase sólida.

As imagens obtidas contendo as diferentes concentrações do analito estão associadas com as propriedades de absorção e reflexão da luz incidente, a qual apresenta diferentes frequências e comprimentos de onda. Nesse caso, a lei de Beer pode ser usada para transformar os sinais analíticos baseados em valor de pixels em absorvância. Para essa transformação é necessário usar a relação matemática descrita na Equação (1), onde P é o valor de R, G e B (média ou modo) da solução padrão ou amostra e $P_o$ é o valor de R, G e B para o branco analítico [47; 53]. A Tabela 8 mostra os valores de pixels usando o canal R e G e suas respectivas absorvâncias. As Figuras 15 e 16 mostram as curvas e equações de calibração obtidas com os dados dos canais R e G.

$$\text{Equação (1)} \qquad A = log\frac{Po}{P}$$

Tabela 8. Curva de calibração e resultados para Co(II) e Ni(II).

| Exp. | Conc. (μg $L^{-1}$) | Co(II) | | | | Ni(II) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Canal R | Abs | Canal G | Abs | Canal R | Abs | Canal G | Abs |
| 1 | 0 | 170,8 | 0,000 | 120,2 | 0,000 | 185,43 | 0,000 | 159,795 | 0,000 |
| 2 | 2,5 | 149,6 | 0,057 | 117,6 | 0,009 | 139,28 | 0,124 | 136,297 | 0,069 |
| 3 | 5,0 | 132,9 | 0,109 | 107,1 | 0,050 | 124,34 | 0,174 | 128,845 | 0,093 |
| 4 | 7,5 | 123,8 | 0,139 | 105,3 | 0,057 | --- | --- | --- | --- |
| 5 | 10,0 | 111,9 | 0,183 | 102,8 | 0,068 | 94,117 | 0,294 | 112,971 | 0,151 |
| 6 | 15,0 | 95,51 | 0,252 | 96,41 | 0,095 | --- | --- | --- | --- |
| 7 | 20,0 | 75,41 | 0,303 | 89,68 | 0,127 | 56,34 | 0,516 | 94,525 | 0,228 |
| 8 | 25,0 | 61,36 | 0,445 | 81,54 | 0,168 | --- | --- | --- | --- |
| 9 | 30,0 | 48,04 | 0,551 | 76,44 | 0,196 | --- | --- | --- | --- |
| 10 | 40,0 | 35,04 | 0,688 | 65,68 | 0,262 | --- | --- | --- | --- |

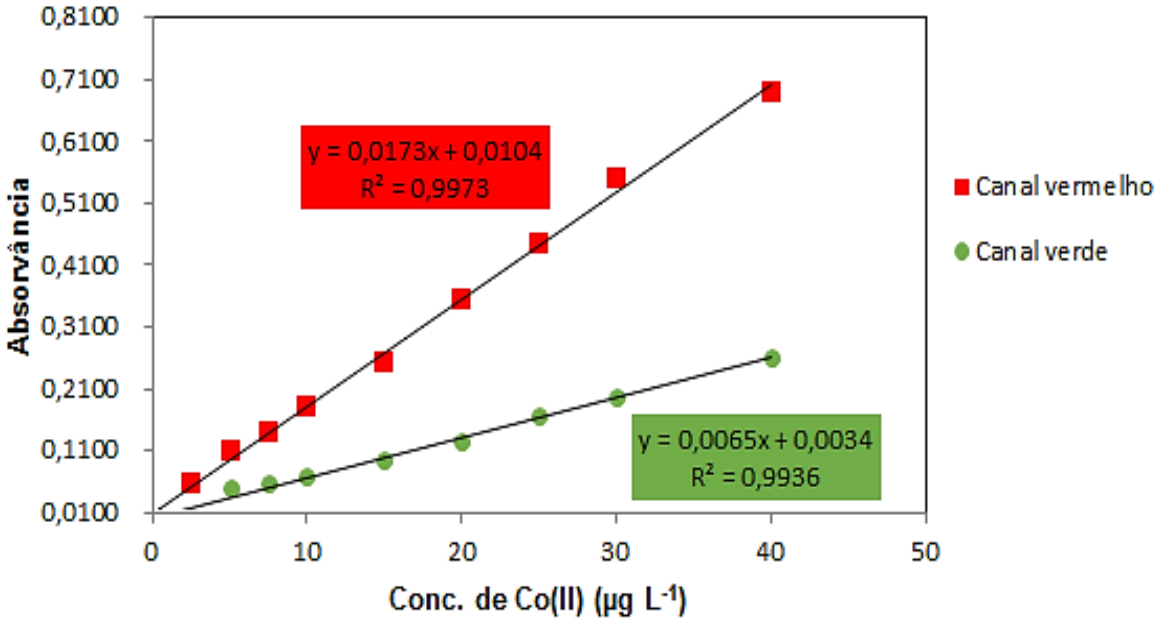


Figura 15. Curvas de calibração usando os canais vermelho e verde para íons Co(II).

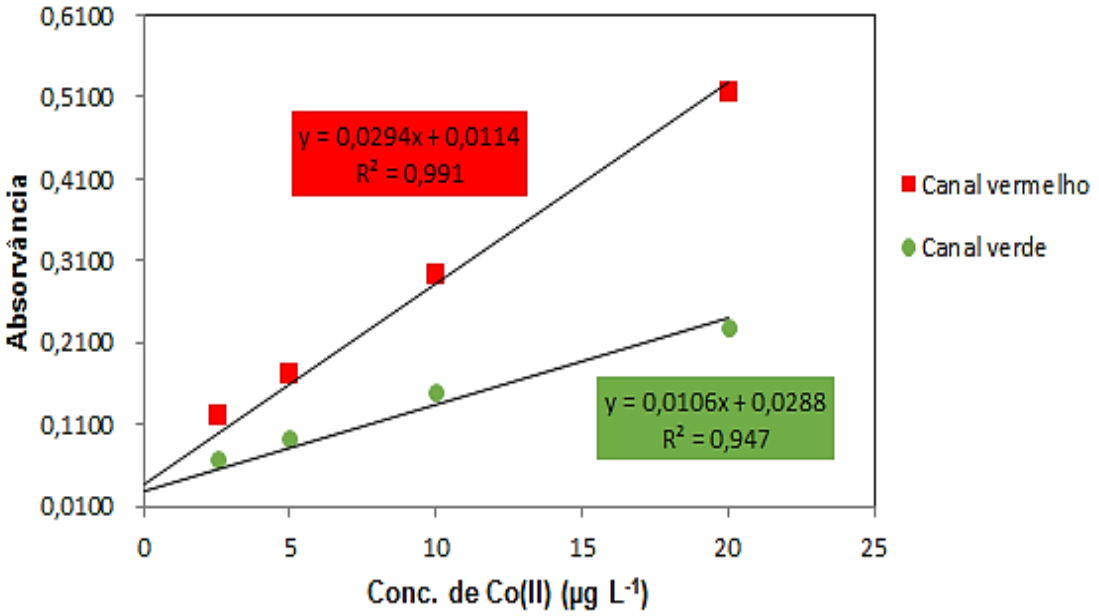


Figura 16. Curvas de calibração usando os canais vermelho e verde para íons Ni(II).

Ao avaliar os dados da Tabela 8 e a Figura 15 para extração de Co(II), observa-se que, tanto usando o canal R quanto o G, os valores apresentam boa linearidade. No entanto, o canal R (vermelho) apresenta maior sensibilidade, que pode ser conferida pelo maior ângulo de inclinação da curva. Essa observação foi primordial para a escolha deste canal nos próximos experimentos. Por outro lado, o canal B

(azul) não foi representado nos gráficos, pois apresentou valores muito dispersos e sem nenhuma linearidade. As mesmas observações foram feitas para a curva de calibração com os íons Ni(II) (Figura 16). A curva de calibração foi obtida pelo método de regressão linear.

Outro parâmetro que pode ser avaliado para a escolha do canal apropriado é o coeficiente de determinação ($R^2$), que está associado à linearidade do método. Tal característica corresponde à capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração da substância de interesse [58]. O coeficiente de determinação, tanto para a extração do Co(II) quanto para extração de Ni(II), apresentou valor acima de 0,99 usando o canal R. No entanto, para o canal G esse coeficiente apresentou-se menor que 0,99 na extração do Ni(II) (Figura 15), o que permite concluir que o canal R apresenta resultados mais confiáveis e promissores no desenvolvimento do processo, corroborando com a escolha do canal R para os estudos posteriores.

### 4.4. Parâmetros analíticos

As figuras de mérito são parâmetros que têm por finalidade validar os procedimentos analíticos. Dentre elas destacam-se: linearidade, seletividade, limite de detecção, limite de quantificação e exatidão.

#### 4.4.1. Seletividade

As possíveis interferências podem influenciar na confiabilidade do método desenvolvido. Geralmente estes estudos são realizados porque o sorvente é impregnado usando um reagente, neste caso o TAC, que não é específico na extração de um determinado íon. O estudo de interferência de alguns íons no processo de pré-concentração foi avaliado usando uma solução de 10,0 μg $L^{-1}$ de íons Co(II) ou de Ni(II). Cada espécie (possível interferente) foi adicionada à solução e o sinal analítico foi comparado com o sinal correspondente ao da solução contendo apenas o analito. Considerou-se que a interferência de uma espécie só seria significativa quando o sinal analítico na presença do concomitante variasse ± 10% em relação ao sinal analítico obtido apenas com o analito. Os resultados para este estudo estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Estudo para íons concomitantes na extração de íons Co(II) e Ni(II).

| Espécie | Proporção limite Co(II):Espécie | Proporção limite Ni(II):Espécie |
|---|---|---|
| $K^+$, $NO_3^-$, $Na^+$, $Cl^-$ | Acima de 1:100 | Acima de 1:100 |
| $Al^{3+}$, $Ca^{2+}$, $Mg^{2+}$, $Fe^{2+}$ | 1:50 | 1:50 |
| $Co^{2+}$ | --- | 1:2 |
| $Ni^{2+}$ | 1:3 | --- |
| $Pb^{2+}$, $Mn^{2+}$ | 1:20 | 1:25 |
| $Hg^{2+}$ | 1:20 | 1:25 |
| $Cd^{2+}$ | 1:5 | 1:5 |
| $Cu^{2+}$ | 1:10 | 1:15 |

### 4.4.2. Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

O limite de detecção equivale à menor concentração da substância de interesse que pode ser detectada, sendo este um dos fatores mais críticos em um método para análise de traços. Para calcular o limite de detecção é necessário realizar medidas de dez valores da solução em branco. A partir dessas medidas, serão obtidos valores de absorbâncias que posteriormente serão submetidas ao cálculo do LD, conforme a Equação (2), onde *s* é o desvio padrão das dez medidas e *S* é o coeficiente angular da curva de calibração [55].

$$LD = \frac{3{,}3 \times s}{S} \qquad \text{Equação 2}$$

Os valores encontrados de LD no presente estudo foram 0,9 μg $L^{-1}$ para cobalto e 0,8 μg $L^{-1}$ para níquel. Quanto ao LQ, pode ser definido como a menor concentração da substância de interesse que pode ser quantificada com determinada precisão e exatidão. Os parâmetros LD e LQ são críticos em sistemas que envolvem pré-concentração, pois eles definem qual a sensibilidade do método para quantificar elementos-traço [59]. A relação matemática para determinar o LQ é dada pela Equação (3).

$$LQ = \frac{s10}{S} \qquad \text{Equação 3}$$

Os valores encontrados para o LQ no método desenvolvido foram 2,7 μg $L^{-1}$ para cobalto e 2,6 μg $L^{-1}$ para níquel. Os baixos valores de LD e LQ demonstram que o presente estudo pode ser aplicado na extração de íons Co(II) e Ni(II) em níveis de traço.

Quando comparado com a literatura, um estudo baseado em microextração liquido-liquido dispersiva acoplado a colorimetria de imagem digital foi realizado para detecção de cobalto em vitamina B12 e água. O estudo apresentou um limite de detecção de 0,9 μg $L^{-1}$ [37]. O presente estudo também apresenta valor igual a 0,9 μg $L^{-1}$ observando que nesse contexto o método pode ser aplicado eficientemente.

Um sistema de extração em fase sólida foi desenvolvido usando sílica modificada com óxido de molibdênio (VI) e detecção foi realizada por F AAS com objetivo de quantificar cobalto e níquel em amostras de águas naturais. Os valores de LD foram 10,82 e 8,86 μg $L^{-1}$ para cobalto e níquel, respectivamente [60]. Estes valores são mais elevados que os do presente estudo (0,9 μg $L^{-1}$ para cobalto e 0,8 μg $L^{-1}$ para níquel), evidenciando que a extração em fase sólida acoplada a um sistema de colorimetria de imagem digital é mais sensível e apresenta melhores limites de detecção.

### 4.4.3. Precisão

A precisão é uma medida da concordância entre os resultados, ou seja, mede o grau de incerteza de um método analítico em que é possível ocorrer dispersão das respostas instrumentais e da execução dos procedimentos. A precisão foi expressa em termo de desvio padrão relativo (DPR), calculado pela razão entre o desvio padrão de várias medidas em uma determinada concentração *(s)* e a média das medidas dessa concentração *(x)*. Foram realizadas oito medidas e o resultado é expresso geralmente em percentagem e os cálculos foram realizados conforme a Equação (4) [55].

$$DPR = \frac{s100}{x} \qquad \text{Equação (4)}$$

No presente trabalho foram realizadas oito medidas das soluções contendo 10 μg $L^{-1}$ de Co(II) e Ni(II), obtendo DPR de 3,8% e 3,4% respectivamente.

### 4.4.4. Fator de enriquecimento

O fator de enriquecimento (FE) é um critério frequentemente usado para avaliar sistemas de pré-concentração em que é diretamente proporcional ao aumento do sinal analítico [61]. O FE é calculado pela razão entre os coeficientes angulares das curvas analíticas com pré-concentração e sem pré-concentração. Para a obtenção do coeficiente angular da curva sem pre-concentração foram preparadas curvas analíticas para medição direta usando os sistemas propostos. Os sistemas espectrofotométricos envolvendo o reagente TAC e os analitos foram preparados separadamente. As medições foram realizadas diretamente em uma cubeta com a obtenção das imagens das soluções correspondentes que posteriormente foram tratadas e transformadas em valores de absorvância. A Equação (5) mostra a forma de calcular o fator de enriquecimento.

$$FE = \frac{\text{Coeficiente angular da curva analítica com pré-concentração}}{\text{Coeficiente angular da curva analítica sem pré-concentração}} \qquad \text{Equação (5)}$$

O FE obtido foi de 148 para o Ni(II) e 91 para o Co(II). Estes valores comparados com outros estudos mostram-se bem significativos. Barreto *et al.* (2020) desenvolveu um sistema de DLLME em seringa por diferença de pressão em que quantificou cobalto em amostras de alimentos usando a colorimetria de imagem digital com FE de 65 [62]. Jamali *et al.* desenvolveu um procedimento de microextração em fase sólida para quantificar cobalto em alimentos e o FE obtido foi 50 [63].

### 4.4.5. Índice de consumo (IC)

O conceito de IC está associado com a eficiência de um sistema de pré-concentração e é definido como o volume de amostra ($V_a$), em mililitros, consumido para conseguir uma unidade de fator de enriquecimento, calculado através da Equação (6) [61].

$$IC = V_a / FE \qquad \text{Equação (6)}$$

Os valores referentes ao índice de consumo calculado para o sistema de pré-concentração proposto foi de 0,55 e 0,33 mL para íons Co(II) e Ni(II), respectivamente. A partir desse valor podemos observar que a cada 0,55 e 0,33 mL das amostras de cobalto e de níquel, respectivamente, aumenta-se uma unidade no fator de enriquecimento, podemos assim concluir que conquanto o sistema utilize grande

quantidade de amostra, apresenta bons índice de consumo devido aos altos fatores de enriquecimento.

### 4.4.6. Resumo das características analíticas do método proposto

As figuras de mérito estudadas apresentaram resultados compatíveis aos objetivos do método, visto que atendem aos limites necessários para quantificar o teor dos analitos contidos nessas amostras. O resumo das figuras analíticas de mérito está apresentado na Tabela 10.

Tabela 10. Características analíticas dos métodos de extração de níquel e cobalto.

| **Parâmetro** | **Ni** | **Co** |
|---|---|---|
| Equação de calibração | $A = 2{,}94 \times 10^{-2} C + 1{,}14 \times 10^{-2}$ | $A = 1{,}73 \times 10^{-2} C + 1{,}04 \times 10^{-2}$ |
| Equação de calibração para medição direta | $A = 1{,}97 \times 10^{-4} C + 2{,}10 \times 10^{-5}$ | $A = 1{,}91 \times 10^{-4} C + 2{,}91 \times 10^{-5}$ |
| Faixa linear (μg $L^{-1}$) | 2,5 – 20,0 | 2,5 – 40,0 |
| Limite de detecção (μg $L^{-1}$) | 0,8 | 0,9 |
| Limite de quantificação (μg $L^{-1}$) | 2,6 | 2,7 |
| Precisão (RSD,%, 10,0 (μg $L^{-1}$) | 3,4 | 3,8 |
| Fator de enriquecimento | 148 | 91 |
| Índice de consumo (mL) | 0,40 | 0,55 |

A: absorvância; C: concentração.

## 4.5. Validação e aplicação do método

A validação do método para a extração de íons Co(II) foi realizada por comparação com um método validado usando absorção atômica com forno de grafite. Neste caso, as amostras foram analisadas por GF AAS seguindo o mesmo procedimento de preparo que no método desenvolvido, no entanto as amostras não passaram pela etapa prévia de pré-concentração. A aplicação do teste t de student mostrou que para as amostras de spirulina (superalimento) e sururu o t calculado foram 1,09 e 0,90, respectivamente, e o t crítico bi-caudal tabelado foi 4,3, mostrando que não houve diferença significativa ao limite de confiança de 95%. Para as demais

amostras, o teor de cobalto não foi quantificado, pois estava abaixo do limite de quantificação do método.

Após a otimização e validação, o método proposto foi aplicado na determinação de íons cobalto em diferentes amostras de alimentos e superalimentos (Tabela 11).

Tabela 11. Resultados para determinação de íons Co(II) em amostras de alimentos e superalimentos (n = 3)

| **Amostra** | **Concentração de cobalto (μg $L^{-1}$)** | | **Recuperação (%)** |
|---|---|---|---|
| | **Adicionada** | **Encontrada** | |
| Sururu | 0,0 | 3,05 ± 0,05 | --- |
| | 10,0 | 12,4 ± 0,3 | 94 |
| Siri | 0,0 | < LQ | --- |
| | 10,0 | 10,8 ± 0,1 | 108 |
| Camarão | 0,0 | < LQ | --- |
| | 10,0 | 10,1 ± 0,2 | 101 |
| Spirulina | 0,0 | 3,10 ± 0,08 | --- |
| | 10,0 | 12,4 ± 0,1 | 93 |
| Chlorella | 0,0 | < LQ | --- |
| | 10,0 | 9,50 ± 0,1 | 95 |
| Amostra | Concentração de cobalto (μg $L^{-1}$) | | Erro (%) |
| | Este método | GF AAS | |
| Sururu | 3,05 ± 0,05 | 2,92 ± 0,09 | 3,06 |
| Siri | < LQ | 1,99 ± 0,03 | --- |
| Camarão | < LQ | 0,920± 0,08-- | |
| Spirulina | 3,09 ± 0,09 | 2,98 ± 0,1 | 3,56 |
| Chlorella | < LQ | < LQ | --- |

As amostras de superalimento (spirulina e chlorella), sururu, siri e camarão geralmente apresentam altos teores de vitaminas e sais minerais. Neste sentido, podem apresentar teores de cobalto tanto em sua forma inorgânica como na forma de vitamina B12, que é conhecida como cianocobalamina. Ao avaliar as amostras de superalimentos, a spirulina apresentou concentração de cobalto total de 3,09 μg $L^{-1}$ (0,77 μg $g^{-1}$). Esse valor está menor do que aquele quantificado por Bartosiak *et al*., que quantificou cobalto total em spirulina de 2,63 μg $g^{-1}$ da biomassa por ICP OES [65]. Ainda sobre os superalimentos, Chen *et al.* analisou chlorella por CE-ICP-MS e

o valor de cobalto encontrado foi de 0,386 μg $g^{-1}$ da biomassa [66], valor inferior ao limite de quantificação obtido no presente estudo. Cabe salientar que ICP-MS é uma técnica espectrométrica muito sensível e geralmente consegue limites menores.

Quanto à quantificação de cobalto em alimentos, Yebra-biurrun *et al.* determinou cobalto por F AAS, após pré-concentração, em uma diversidade de frutos do mar. Para a amostra de camarão foi encontrado o valor de 0,48 μg $g^{-1}$ e em diversos tipos de mexilhão os valores de concentração estavam na faixa de 0,8 μg $g^{-1}$ [64]. Neste trabalho, a concentração de cobalto nas amostras de camarão estavam abaixo do limite de quantificação, assim como nas amostras de siri. Em contrapartida, o sururu, que possui características similares ao mexilhão, apresentou concentração de 3,05 μg $L^{-1}$ (0,76 μg $g^{-1}$), bem próximo aos valores quantificados por Yebra-biurrun em relação às amostras de mexilhão.

A exatidão do método desenvolvido foi avaliada por comparação com o método de absorção atômica com forno de grafite apresentando erro de 3,06 e 3,56%. Outra forma de avaliar se o método desenvolvido sofreu algum efeito de matriz é através de testes de adição e recuperação. Para os dados da Tabela 11, os valores de recuperação obtidos variaram de 93 a 108%, demonstrando que o método proposto não sofre efeito de matriz e tem boa aplicabilidade.

Para a validação do método de extração de íons Ni(II) foi usado material de referência certificado de folhas de tomateiro (NIST1573a) e cabelo humano (BCR397), conforme mostrado na Tabela 12. O erro foi calculado e variou de 1,89 a 4,83%, o que não comprometeu a confiabilidade do método. Portanto, é possível assumir que as diferenças entre os valores é devido a erros aleatórios e não estão relacionadas a erros sistemáticos no método.

Tabela 12. Resultados para determinação de íons Ni(II) em águas, café, cigarro e material certificado (n = 3).

| Amostra | Concentração de níquel (μg $L^{-1}$) | | Recuperação (%) |
|---|---|---|---|
| | Adicionada | Encontrada | |
| Café A | 0,0 | < LQ | --- |
| | 10,0 | 9,8 ± 0,3 | 98 |
| Café B | 0,0 | < LQ | --- |
| | 10,0 | 9,7 ± 0,1 | 97 |
| Café C | 0,0 | < LQ | --- |
| | 10,0 | 9,6 ± 0,2 | 96 |
| Café D | 0,0 | < LQ | --- |
| | 10,0 | 9,7 ± 0,1 | 97 |
| Água de rio 1 | 0,0 | 3,2 ± 0,4 | --- |
| Água de rio 2 | 0,0 | 6,5 ± 0,1 | --- |
| Cigarro 1* | 0,0 | 2,9 ± 0,3 | --- |
| Cigarro 2* | 0,0 | 2,2 ± 0,4 | --- |
| CRM | Concentração (μg $g^{-1}$) | | Erro (%) |
| | Certificada | Encontrada | |
| Folha de tomate SRM1573a | 1,59 ± 0,07 | 1,56 ± 0,08 | 1,89 |
| Cabelo humano BCR397 | 46,0 ± 1,4 | 43,8 ± 1,8 | 4,83 |

*μg $g^{-1}$

Conforme mostrado na Tabela 12, nas amostras de café a concentração de níquel está abaixo do limite de quantificação. Şaylan *et al.* propuseram um sistema com tubo de quartzo com fenda acoplado a espectrometria de absorção atômica com chama (SQT-FAAS) para quantificar níquel em café e também encontraram valores abaixo do limite de quantificação [65].

Para as amostras de cigarro é observado certa quantidade do analito. As amostras 1 e 2 apresentaram concentrações de 2,9 e 2,2 μg $g^{-1}$ de níquel (11,6 e 8,8 μg $L^{-1}$), respectivamente. Talio *et al.* determinou níquel em amostras de cigarro por fluorescência molecular e os valores estavam próximos a 10 μg $L^{-1}$ [66], bem próximos ao quantificado no presente estudo.

As amostras de água apresentaram concentrações de 3,2 e 6,5 μg $L^{-1}$ para as amostras 1 e 2, respectivamente. Tais amostras foram coletadas no rio de contas

próximo a cidade de Jequié e faz parte de um rio muito importante para a região, sendo bastante utilizado para pesca e consumo. Em contrapartida, há despejos industriais regulares e outras atividades próximas que podem ter influenciado para o aumento da carga de metais no leito deste rio e em consequência pode ter aumentado a quantidade de níquel. A Resolução Nº 430/2011 do CONAMA prevê os limites máximos aceitáveis de alguns metais considerados potencialmente tóxicos e avaliam que a concentração máxima permitida de níquel em águas naturais é de 25 μg $L^{-1}$ [67]. Neste sentido, pode-se concluir que a quantidade de níquel presente na água está abaixo do nível máximo estabelecido.

O método também foi avaliado através de testes de adição e recuperação. Para os dados da Tabela 12, os valores de recuperação obtidos variaram de 96 a 98% demonstrando que o método proposto para íons níquel também não sofre efeito de matriz e tem boa aplicabilidade.

## 5. CONCLUSÃO

Neste trabalho, foi demonstrada a aplicabilidade de novas metodologias analíticas usando imagem digital para quantificação de cobalto e níquel em diversas amostras. A combinação da análise diretamente na fase sólida com o processamento computacional de imagens resultou em métodos que se apresentam como uma excelente alternativa para a determinação de elementos traços.

O uso da resina Amberlite XAD-7 impregnada com o reagente TAC proporcionou um sistema com estabilidade, durabilidade e alta seletividade para pré-concentração de cobalto e níquel. Adicionalmente, as ferramentas multivariadas utilizadas permitiram um estudo descritivo e rápido das variáveis, seus efeitos e interações mais importantes no sistema. Esses estudos foram importantes para direcionar as etapas seguintes na otimização do método. Adicionalmente, os dois métodos apresentaram parâmetros analíticos adequados para determinação de cobalto e níquel em diversas amostras.

Os métodos apresentaram simplicidade, baixo custo e eficiência, além de serem ecológicos, de acordo com os princípios da Química Verde. Os componentes do sistemas são de fácil aquisição e não exigem conhecimento técnico aprofundado do analista.

Os estudos desenvolvidos nessa dissertação destacam-se pela inovação e sensibilidade. Os métodos apresentam potencial para análise das amostras diretamente no local da coleta sem a necessidade de transportar a amostra até o laboratório. A abordagem deste trabalho pode ser explorada para outros tipos de sistemas, analitos, fases sólidas, complexantes, bem como para extrair e quantificar substâncias orgânicas e farmacêuticas.

## 6. REFERÊNCIAS


[1] Lee, J. Química inorgânica-não tão concisa. 5º edição. **Editora: Edgard Blucher, São Paulo,** v. 544, 1999.

[2] Atkins, P.; Jones, L.; Laverman, L. **Princípios de Química-: Questionando a Vida Moderna e o Meio Ambiente**. Bookman Editora, 2018. ISBN 8582604629

[3] Fernández-Valdivielso, A.; López De Lacalle, L.; Urbikain, G.; Rodriguez, A. Detecting the key geometrical features and grades of carbide inserts for the turning of nickel-based alloys concerning surface integrity. **Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part C: Journal of Mechanical Engineering Science,** v. 230, n. 20, p. 3725-3742, 2016.

[4] Blanco-Pinzon, C.; Liu, Z.; Voisey, K.; Bonilla, F.; Skeldon, P.; Thompson, G.; Piekoszewski, J.; Chmielewski, A. Excimer laser surface alloying of titanium with nickel and palladium for increased corrosion resistance. **Corrosion science,** v. 47, n. 5, p. 1251-1269, 2005.

[5] Hall, S. K. **Chemical exposure and toxic responses**. CRC Press, 2020.

[6] Denkhaus, E.; Salnikow, K. Nickel essentiality, toxicity, and carcinogenicity. **Critical reviews in oncology/hematology,** v. 42, n. 1, p. 35-56, 2002.

[7] Schaumlöffel, D. Nickel species: analysis and toxic effects. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology,** v. 26, n. 1, p. 1-6, 2012.

[8] Suckert, S.; Germann, L. S.; Dinnebier, R. E.; Werner, J.; Näther, C. Synthesis, structures and properties of cobalt thiocyanate coordination compounds with 4-(hydroxymethyl) pyridine as Co-ligand. **Crystals,** v. 6, n. 4, p. 38, 2016.

[9] Barceloux, D. G.; Barceloux, D. Cobalt. **Journal of Toxicology: Clinical Toxicology,** v. 37, n. 2, p. 201-216, 1999.

[10] Davis, J. R. **Nickel, cobalt, and their alloys**. ASM international, 2000.

[11] Zucchiatti, A.; Bouquillon, A.; Katona, I.; D'alessandro, A. The 'Della Robbia blue': a case study for the use of cobalt pigments in ceramics during the Italian Renaissance. **Archaeometry,** v. 48, n. 1, p. 131-152, 2006.

[12] Lin, Y.-H.; Wu, J.-Y.; Shiau, S.-Y. Dietary cobalt can promote gastrointestinal bacterial production of vitamin B12 in sufficient amounts to supply growth requirements of grouper, *Epinephelus malabaricus*. **Aquaculture,** v. 302, n. 1-2, p. 89-93, 2010.

[13] Kandil, H. Effect of cobalt fertilizer on growth, yield and nutrients status of faba bean (*Vicia faba* L.) plants. **Journal of Applied Sciences Research,** v. 3, n. 9, p. 867-872, 2007.

[14] Bartacek, J.; Fermoso, F. G.; Baldó-Urrutia, A. M.; Van Hullebusch, E. D.; Lens, P. N. Cobalt toxicity in anaerobic granular sludge: influence of chemical speciation.

**Journal of industrial microbiology & biotechnology,** v. 35, n. 11, p. 1465-1474, 2008.

[15] Leyssens, L.; Vinck, B.; Van Der Straeten, C.; Wuyts, F.; Maes, L. Cobalt toxicity in humans - A review of the potential sources and systemic health effects. **Toxicology,** v. 387, p. 43-56, 2017.

[16] Fisher, A.; Kara, D. Determination of rare earth elements in natural water samples–A review of sample separation, preconcentration and direct methodologies. **Analytica Chimica Acta,** v. 935, p. 1-29, 2016.

[17] Lemos, V. A.; Dos Santos Vieira, E. V. Method for the determination of cadmium, lead, nickel, cobalt and copper in seafood after dispersive liquid–liquid micro-extraction. **Food Additives & Contaminants: Part A,** v. 31, n. 11, p. 1872-1878, 2014.

[18] Bezerra, M. D. A.; 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, n. 4, p. 269-299, 2005.

[19] Lanças, F. M. Extração em fase sólida (SPE). **Extração em fase sólida (SPE)**, São Carlos-SP, RiMa, p.93-93, 2004.

[20] Freitas, P. A. D. M. Estudos de adsorção de di-2-piridil cetona saliciloilhidrazona (DPKSH) em resinas Amberlite XAD-2 e XAD-7. Extração de íons cobre em fase sólida envolvendo a XAD-7 modificada com DPKSH. **Tese de Doutorado**, Universidade de São Paulo, 2007.

[21] Vicente, O.; Masi, A.; Martinez, L.; Olsina, R.; Marchevsky, E. On-line preconcentration system for lanthanum determination in urine using FI–ICP-AES. **Analytica chimica acta,** v. 366, n. 1-3, p. 201-207, 1998.

[22] Santos Júnior, A. D. F.; Korn, M. D. G. A.; Jaeger, H. V.; Silva, N. M. S.; Costa, A. C. S. Determinação de Mn, Cu e Zn em matrizes salinas após separação e pré-concentração usando Amberlite XAD-7 impregnada com vermelho de Alizarina S. **Química Nova,** v. 25, n. 6B, p. 1086-1090, 2002.

[23] Kowalski, C. H.; Augusto, F.; Godoy, H. T. Extração de bifenilas policloradas de amostras de leite materno: otimização univariada versus planejamento experimental. **Química Nova,** v. 36, n. 3, p. 468-473, 2013.

[24] Ferreira, S. L. C.; Caires, A. O.; Borges, T. D. S.; Lima, A. M.; Silva, L. O.; dos Santos, W. N. Robustness evaluation in analytical methods optimized using experimental designs. **Microchemical Journal,** v. 131, p. 163-169, 2017.

[25] Lavine, B.; Workman, J. Chemometrics. **Analytical chemistry,** v. 80, n. 12, p. 4519-4531, 2008.

[26] Ferreira, S. L. C. **Introdução às técnicas de planejamento de experimentos**. Editora Vento Leste: Salvador, 2015.

[27] Hair, J. F.; Black, W. C.; Babin, B. J.; Anderson, R. E.; Tatham, R. L. **Análise multivariada de dados**. Bookman editora, 2009.

[28] Novaes, C.; Yamaki, R.; Paula, V. D.; Nascimento Jr, B.; Barreto, J.; Valasques, G.; Bezerra, M. Otimização de métodos analíticos usando metodologia de superfícies de resposta-Parte I: variáveis de processo. **Revista Virtual de Química,** v. 9, n. 3, p. 1284-1215, 2017.

[29] Bezerra, M. A.; Santelli, R. E.; Oliveira, E. P.; Villar, L. S.; Escaleira, L. A. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta,** v. 76, n. 5, p. 965-977, 2008.

[30] Dos Santos, W. L.; Dos Santos, C. M.; Costa, J. L.; Andrade, H. M.; Ferreira, S. L. Multivariate optimization and validation studies in on-line pre-concentration system for lead determination in drinking water and saline waste from oil refinery. **Microchemical Journal,** v. 77, n. 2, p. 123-129, 2004.

[31] Safavi, A.; Abdollahi, H.; Nezhad, M. H.; Kamali, R. Cloud point extraction, preconcentration and simultaneous spectrophotometric determination of nickel and cobalt in water samples. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy,** v. 60, n. 12, p. 2897-2901, 2004.

[32] Dobrowolski, R.; Otto, M. Determination of nickel and cobalt in reference plant materials by carbon slurry sampling GFAAS technique after their simultaneous preconcentration onto modified activated carbon. **Journal of Food Composition and Analysis,** v. 26, n. 1-2, p. 58-65, 2012.

[33] Lemos, V. A.; Da França, R. S.; Moreira, B. O. Cloud point extraction for Co and Ni determination in water samples by flame atomic absorption spectrometry. **Separation and Purification Technology,** v. 54, n. 3, p. 349-354, 2007.

[34] Sadia, M.; Jan, M. R.; Shah, J.; Greenway, G. M. Simultaneous preconcentration and determination of nickel and cobalt using functionalised mesoporous silica spheres by ICP-OES. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry,** v. 93, n. 14, p. 1537-1556, 2013.

[35] Lidén, C.; Skare, L.; Lind, B.; Nise, G.; Vahter, M. Assessment of skin exposure to nickel, chromium and cobalt by acid wipe sampling and ICP-MS. **Contact Dermatitis,** v. 54, n. 5, p. 233-238, 2006.

[36] Morfobos, M.; Economou, A.; Voulgaropoulos, A. Simultaneous determination of nickel (II) and cobalt (II) by square wave adsorptive stripping voltammetry on a rotating-disc bismuth-film electrode. **Analytica Chimica Acta,** v. 519, n. 1, p. 57-64, 2004.

[37] Lemos, V. A.; Junior, I. V. S.; Santos, L. B.; Barreto, J. A.; Ferreira, S. L. C. A New Simple and Fast Method for Determination of Cobalt in Vitamin B12 and Water Samples Using Dispersive Liquid-Liquid Microextraction and Digital Image Analysis. **Water, Air, & Soil Pollution,** v. 231, n. 7, p. 1-8, 2020.

[38] Momeni, N.; Ramanathan, K.; Larsson, P.; Danielsson, B.; Bengmark, S.; Khayyami, M. CCD-camera based capillary chemiluminescent detection of retinol binding protein. **Analytica Chimica Acta,** v. 387, n. 1, p. 21-27, 1999.

[39] Lampen, P.; Trauthan, F.; Dummel, A.; Arnold, G.; Jaumann, R. Spectroscopic and photometric evaluation of images from the Mars Pathfinder camera. **Analytica Chimica Acta,** v. 420, n. 2, p. 229-237, 2000.

[40] Yamanaka, K.; Kubo, R.; Tsuge, S.; Kitagawa, K.; Arai, N. In-situ monitoring of degradation of C/C composites and coatings in an inductively coupled plasma by a spectroCCD camera. **Microchemical Journal,** v. 70, n. 3, p. 165-171, 2001.

[41] Capitán-Vallvey, L. F.; Lopez-Ruiz, N.; Martinez-Olmos, A.; Erenas, M. M.; Palma, A. J. Recent developments in computer vision-based analytical chemistry: A tutorial review. **Analytica Chimica Acta,** v. 899, p. 23-56, 2015.

[42] Soares, S.; Lima, M. J.; Rocha, F. R. A spot test for iodine value determination in biodiesel based on digital images exploiting a smartphone. **Microchemical Journal,** v. 133, p. 195-199, 2017.

[43] Salcedo, A. R. M.; Sevilla Iii, F. B. Colorimetric determination of mercury vapor using smartphone camera-based imaging. **Instrumentation Science & Technology,** v. 46, n. 4, p. 450-462, 2018.

[44] Mahato, K.; Chandra, P. Based miniaturized immunosensor for naked eye ALP detection based on digital image colorimetry integrated with smartphone. **Biosensors and Bioelectronics,** v. 128, p. 9-16, 2019.

[45] Lyra, W. D. S. Um método espectrométrico de emissão em chama baseado em imagens digitais para determinação indireta de fármacos e determinação simultânea de sódio e cálcio. **Tese de Doutorado**, Universidade da Paraíba, 2012.

[46] Rodrigues, B. U. Reconhecimento do tipo de cachaça utilizando visão computacional e reconhecimento de padrões. **Dissertação de Mestrado**, Universidade Federal de Goiás, 2015.

[47] Kelda, H. K.; Kaur, P. A review: Color models in image processing. **International Journal of Computer Technology and Applications,** v. 5, n. 2, p. 319-322, 2014.

[48] Leon, K.; Mery, D.; Pedreschi, F.; Leon, J. Color measurement in $L* a* b*$ units from RGB digital images. **Food Research International,** v. 39, n. 10, p. 1084-1091, 2006.

[49] Cardoso, D. E. B. F. Aplicação de Imagem Digital ao Controlo da Qualidade. **Mestrado em Química**, Universidade de Coimbra, 2014.

[50] Li, L.; Zhang, L.; Zhao, Y.; Chen, Z. Colorimetric detection of Hg (II) by measurement the color alterations from the “before” and “after” RGB images of etched triangular silver nanoplates. **Microchimica Acta,** v. 185, n. 4, p. 235, 2018.

[51] Manna, A. K.; Chowdhury, S.; Patra, G. K. A novel hydrazide-based selective and sensitive optical chemosensor for the detection of $Ni^{2+}$ ions: applications in live cell imaging, molecular logic gates and smart phone-based analysis. **Dalton Transactions,** v. 48, n. 32, p. 12336-12348, 2019.

[52] Zamora, L. L.; López, P. A.; Fos, G. A.; Algarra, R. M.; Romero, A. M.; Calatayud, J. M. Quantitative colorimetric-imaging analysis of nickel in iron meteorites. **Talanta,** v. 83, n. 5, p. 1575-1579, 2011.

[53] Neto, J. H. S.; Porto, I. S.; Schneider, M. P.; Dos Santos, A. M.; Gomes, A. A.; Ferreira, S. L. Speciation analysis based on digital image colorimetry: Iron (II/III) in white wine. **Talanta,** v. 194, p. 86-89, 2019.

[54] Melo, L. C. A.; Silva, C. A. Influência de métodos de digestão e massa de amostra na recuperação de nutrientes em resíduos orgânicos. **Química Nova,** v. 31, n. 3, p. 556-561, 2008.

[55] Skoog, D.; West, D.; Holler, F.; Crouch, S. Errors in chemical analysis. **Fundamentals of analytical chemistry,** 9th ed. Belmont: Thomson Brooks/Cole, p. 90-105, 2014.

[56] Harris, D. C. **Análise Química Quantitativa**, ed. Livros Técnicos e Científicos SA: Rio de Janeiro, 2005.

[57] Campaña, A. G.; Rodríguez, L. C.; González, A. L.; Barrero, F. A.; Ceba, M. R. Sequential response surface methodology for multioptimization in analytical chemistry with three-variable Doehlert designs. **Analytica Chimica Acta,** v. 348, n. 1-3, p. 237-246, 1997.

[58] Valderrama, P.; Braga, J. W.; Poppi, R. J. Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada. **Química Nova**, Vol. 32, No. 5, 1278-1287, 2009.

[59] Ribeiro, F. A. D. L.; Ferreira, M. M. C.; Morano, S. C.; Silva, L. R. D.; Schneider, R. P. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. **Química Nova,** v. 31, n. 1, p. 164-171, 2008.

[60] Sulejmanović, J.; Šabanović, E.; Begić, S.; Memić, M. Molybdenum (VI) oxide-modified silica gel as a novel sorbent for the simultaneous solid-phase extraction of eight metals with determination by flame atomic absorption spectrometry. **Analytical Letters,** v. 52, n. 4, p. 588-601, 2019.

[61] Fang, Z.; Dong, L.; Xu, S. Critical evaluation of the efficiency and synergistic effects of flow injection techniques for sensitivity enhancement in flame atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry,** v. 7, n. 2, p. 293-299, 1992.

[62] Barreto, J. A.; De Assis, R. D. S.; Santos, L. B.; Cassella, R. J.; Lemos, V. A. Pressure variation in-syringe dispersive liquid-liquid microextraction associated with digital image colorimetry: determination of cobalt in food samples. **Microchemical Journal**, p. 105064, 2020.

[63] Jamali, M. R.; Soleimani, B.; Rahnama, R. A novel separation/preconcentration procedure using in situ sorbent formation microextraction for the determination of cobalt (II) in water and food samples by flame atomic absorption spectrometry. **Arabian Journal of Chemistry,** v. 10, p. S3150-S3155, 2017.

[64] Yebra-Biurrun, M. C.; Cancela-Perez, S. Continuous approach for ultrasound-assisted acid extraction-minicolumn preconcentration of chromium and cobalt from seafood samples prior to flame atomic absorption spectrometry. **Analytical Sciences,** v. 23, n. 8, p. 993-996, 2007.

[65] Şaylan, M.; Zaman, B. T.; Bakırdere, E. G.; Bakırdere, S. Determination of trace nickel in chamomile tea and coffee samples by slotted quartz tube-flame atomic absorption spectrometry after preconcentration with dispersive liquid-liquid microextraction method using a Schiff base ligand. **Journal of Food Composition and Analysis,** v. 88, p. 103454, 2020.

[66] Talio, M. C.; Alesso, M.; Acosta, M.; Wills, V. S.; Fernández, L. P. Sequential determination of nickel and cadmium in tobacco, molasses and refill solutions for e-cigarettes samples by molecular fluorescence. **Talanta,** v. 174, p. 221-227, 2017.

[67] BRASIL. **Conselho Nacional do Meio Ambiente**. (2011) Resolução n.º 430, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução n.º 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. Diário Oficial da União, Brasília, n. 92. Disponível em: http://www2.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646. Acesso em: 15 mai. 2019.

## PRODUÇÃO CIENTÍFICA DURANTE O PERÍODO DO MESTRADO

Durante o período de Mestrado acadêmico participei como co-autor de algumas colaborações em outros trabalhos sob orientação dos professores Cleber Galvão Novaes e/ou Valfredo Azevedo Lemos que geraram publicações em artigos científicos Qualis A e B na Química e em capítulos de livros, conforme apresentado nas próximas páginas. Além disso, os resultados obtidos neste estudo serão submetidos para publicação em revista indexada e no XI Workshop de Quimiometria após as sugestões apresentadas pela banca examinadora.