



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

---



**Estratégias analíticas empregando a microextração líquido-líquido com gota suspensa para determinação de Manganês e vanádio em amostras de águas, bebidas e alimentos.**

**LEANE SANTOS NUNES**

**Salvador**

**2019**

**Universidade Federal da Bahia  
Instituto de Química  
Programa de Pós-Graduação em Química**

**Leane Santos Nunes**

**Estratégias analíticas empregando a microextração líquido-líquido com gota suspensa para determinação de Manganês e vanádio em amostras de águas, bebidas e alimentos.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Bahia como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Química Analítica. Área de concentração: Química Analítica.

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria das Graças Andrade Korn**

**Co-orientador: Prof. Dr<sup>o</sup>. Valfredo Azevedo Lemos**

**Salvador**

**2019**

TERMO DE APROVAÇÃO

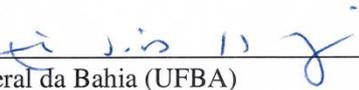
LEANE SANTOS NUNES

“Estratégias analíticas empregando a microextração líquido-líquido com gota suspensa para determinação de Manganês e vanádio em amostras de águas, bebidas e alimentos”

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Química, Universidade Federal da Bahia, pela seguinte banca examinadora:

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Maria das Graças Andrade Korn   
Doutorado em Química, Universidade de São Paulo (USP)  
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Valfredo Azevedo Lemos   
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)  
Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

Prof. Dr. Anibal de Freitas Santos Junior   
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)  
Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Cleber Galvão Novaes   
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)  
Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

Prof. Dr. Rodolfo de Melo Magalhães Santana   
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)  
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Walter Nei Lopes dos Santos   
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)  
Universidade do Estado da Bahia

Salvador, 17 de maio de 2019.

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Santos Nunes, Leane  
Estratégias analíticas empregando a microextração  
líquido-líquido com gota suspensa para determinação de  
Manganês e vanádio em amostras de águas, bebidas e  
alimentos. / Leane Santos Nunes. -- Salvador, 2019.  
140 f. : il

Orientador: Maria das Graças Andrade Korn.  
Coorientador: Valfredo Azevedo Lemos.  
Tese (Doutorado - Doutorado) -- Universidade  
Federal da Bahia, Instituto de Química, 2019.

1. Manganês. 2. Vanádio. 3. SDME. 4. Líquidos  
iônicos. 5. Análise de imagens. I. das Graças Andrade  
Korn, Maria. II. Azevedo Lemos, Valfredo. III. Título.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por mais uma etapa de muito aprendizado e crescimento e pelas grandes oportunidades de evolução.

Agradeço a minha orientadora Maria das Graças pela orientação e excelente acolhimento. Obrigada por ter me apoiado ao longo desses quatro anos. Serei eternamente grata!

Ao meu Orientador Valfredo Azevedo Lemos pela brilhante orientação, paciência, disponibilidade e entusiasmo durante a realização deste trabalho. Com você aprendi grandes ensinamentos sobre a vida. Obrigada por todas as oportunidades, incentivos e palavras amigas.

À minha mãe por todo amor incondicional. Agradeço por sempre acreditar em mim e torcer por completo pela minha felicidade. Te amo!

Ao meu pai, irmão e familiares pelo carinho e torcida. Também aos tios Geny, Edilzo e Sonete. Cada um com sua particularidade me ensinou a crescer e a lidar com as diversidades da vida.

À Vivi, obrigada pela partilha de preocupações, anseios e alegrias.

À Osvaldo por todo amor e companheirismo em todos os momentos dessa trajetória.

As grandes amigas, Deny, Laila, Nai, Thaís e Queila. É maravilhoso tê-las em minha vida! A ajuda de vocês foi imprescindível para o meu desenvolvimento pessoal e profissional.

À Tchelinho, pelo carinho e preocupação sempre demonstrados e pela grandiosidade do seu coração.

Um agradecimento especial aos colegas de laboratório da uesb e da ufba: Rebeca, Helan, Jeferson, Joaquim, Luana, Uneliton, Ivanilson e Márcio (LQA); Gabriel, Jhow e Jorginho (UFBA) e Ohana (UESB/UESC).

À CAPES pelo auxílio fornecido durante o desenvolvimento deste trabalho de doutorado.

Obrigada a todos que me apoiaram e torceram para essa realização.

*"É preciso que eu suporte duas ou três larvas  
se quiser conhecer as borboletas"*

*Antoine de Saint Exupéry*

## RESUMO

O presente trabalho reporta o desenvolvimento de três métodos analíticos para determinação de manganês e vanádio, empregando a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e a colorimetria, baseado em imagens digitais, respectivamente. O primeiro trabalho consistiu no desenvolvimento de duas abordagens de microextração em fase líquida (LPME): a microextração com gota suspensa (SDME) e a microextração com fluxo contínuo (CFME), empregando o reagente 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN) como agente complexante e o hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio [C<sub>4</sub>MIM] [PF<sub>6</sub>] como solvente extrator. As eficiências de extração foram comparadas, de modo que algumas variáveis, como volume da gota, tempo de extração, vazão da amostra e velocidade de agitação foram otimizadas utilizando-se o método univariado. O sistema SDME apresentou limite de detecção e de quantificação de 0,0039 e 0,0186 µg L<sup>-1</sup>, respectivamente, e fator de enriquecimento de 17,67. A precisão do método expressa como desvio padrão relativo (%RSD, n=10) foi de 6,15, usando uma solução de Mn (II) 1,0 µg L<sup>-1</sup>. A exatidão do método foi avaliada pela determinação de manganês em material de referência certificado de tecido de mexilhão (SEM 2976). As concentrações de manganês encontradas nas amostras certificadas variaram entre 4,16 e 4,85 µg g<sup>-1</sup>. O segundo trabalho envolveu o desenvolvimento de um sistema bastante versátil para extração de vanádio (V) em amostras de águas, empregando a SDME acoplado a colorimetria com imagens digitais. O analito de interesse foi extraído em uma gota do solvente hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metilimidazólio. As análises químicas foram realizadas em um programa ImajeJ que emprega um espaço de cores primárias RGB (vermelho-verde-azul) com valores variando de 0 a 255. As imagens digitais foram armazenadas em formato JPEG, e os dados RGB foram obtidos a partir de imagens digitais recortadas com formato retangular, com tamanhos uniformes para todas as imagens. Os dados obtidos pelo canal vermelho foram utilizados para construção da curva analítica, uma vez que apresentou uma maior sensibilidade. Sob condições otimizadas, o método apresentou fatores de enriquecimento de 50, o limite de detecção obtido foi de 0,59 µg L<sup>-1</sup> e um limite de quantificação foi 1,86 µg L<sup>-1</sup>. A exatidão do método foi avaliada através da análise de um material de referência certificado de BCR-414, *Plankton*. Os dois métodos apresentam parâmetros analíticos adequados para determinação de manganês em amostras de bebidas e pescados e vanádio em amostras águas.

**Palavras-chave:** manganês; vanádio; SDME; líquidos iônicos; análise de imagens

## ABSTRACT

The present work reports the development of three analytical methods for the determination of manganese and vanadium, using atomic absorption spectrometry with graphite furnace and colorimetry, based on digital images, respectively. The first work consisted in the development of two liquid phase microextraction approaches (LPME): suspended extraction microextraction (SDME) and continuous flow microextraction (CFME) using the reagent 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol (PAN) as complexing agent and 1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate [C<sub>4</sub>MIM][PF<sub>6</sub>] as the extracting solvent. The extraction efficiencies were compared, so some variables such as drop volume, extraction time, sample flow rate and stirring speed were optimized using the univariate method. The SDME system showed a limit of detection and quantification of 0.0039 and 0.0186 µg L<sup>-1</sup>, respectively, and enrichment factor of 17.67. The accuracy of the method expressed as relative standard deviation (% RSD, n = 10) was 6.15 using a 1.0 µg L<sup>-1</sup> Mn (II) solution. The accuracy of the method was evaluated by determination of manganese in certified reference material of mussel tissue (SEM 2976). The concentrations of manganese found in the certified samples ranged from 4.16 to 4.85 µg g<sup>-1</sup>. The second work involved the development of a very versatile system for extraction of vanadium (V) in water samples, using SDME coupled with colorimetry with digital images. The analyte of interest was extracted into 1 drop of solvent 1-hexyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate. The chemical analysis were performed using ImajeJ program that employs an RGB (red-green-blue) primary color space with values varying from 0 to 255. The digital images were stored in JPEG format, and the RGB data were obtained from digital images with a rectangular shape, with uniform sizes for all images. The data obtained by the red channel were used to construct the analytical curve, since it presented a higher sensitivity. Under optimized conditions, the method presented enrichment factors of 50, the detection limit obtained was 0.59 µg L<sup>-1</sup> and a limit of quantification was 1.86 µg L<sup>-1</sup>. The accuracy of the method was assessed through the analysis of a BCR-414 certified reference material, Plankton. Both methods present adequate analytical parameters for the determination of manganese in samples of beverages and fish and vanadium in water samples.

**Keywords:** manganese; vanadium; SDME; ionic liquids; GF AAS; image analysis

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Representação esquemática das categorias da SDME.....	23
<b>Figura 2.</b> Representação esquemática da técnica DI-SDME.....	24
<b>Figura 3.</b> Representação esquemática de um sistema de SDME-SIA-ETAAS para determinação de cromo (VI).....	25
<b>Figura 4.</b> Representação esquemática do sistema de CFME.....	27
<b>Figura 5.</b> Ilustração do esquema do sistema baseado na microextração em fluxo contínuo.....	28
<b>Figura 6.</b> Representação esquemática da técnica SFODME.....	29
<b>Figura 7.</b> Representação esquemática das etapas do sistema de extração mostrando a fase extratora solidificada e a fase líquida.....	30
<b>Figura 8.</b> Representação esquemática de um sistema de fluxo para determinação de cobre.....	31
<b>Figura 9.</b> Representação esquemática do sistema de microextração em HS-SDME.....	31
<b>Figura 10.</b> Representação do procedimento envolvendo CV-ILAH-SDME.....	32
<b>Figura 11.</b> Representação esquemática das diferentes etapas para a determinação de iodo por HS-SDME por espectrofotometria UV-Vis.....	33
<b>Figura 12.</b> Representação esquemática da HS-LPME.....	34
<b>Figura 13.</b> Representação esquemática de um sistema de LLLME para extração de prata.....	35
<b>Figura 14.</b> Representação esquemática do sistema empregando DDME para a determinação de dodecil sulfato de sódio.....	36
<b>Figura 15.</b> Principais cátions e ânions dos ILs.....	46
<b>Figura 16.</b> Etapas envolvidas no programa de aquecimento do GF AAS.....	53
<b>Figura 17.</b> Fórmula estrutural do 1-(2-piridilazo)-2-naftol.....	55
<b>Figura 18.</b> Representação do equilíbrio ácido base do reagente complexante PAN.....	56
<b>Figura 19.</b> Estrutura do quelato $Mn^{2+}$ + PAN.....	56
<b>Figura 20.</b> Representação esquemática do sistema para pré-concentração e determinação de Mn(II) por GF AAS.....	64
<b>Figura 21.</b> Fotos do sistema de microextração com gota suspensa para a determinação de Mn(II).....	64

<b>Figura 22.</b> Sistema de microextração em linha com fluxo contínuo para a determinação de manganês.....	65
<b>Figura 23.</b> Fotos do sistema de microextração em linha com fluxo contínuo para a determinação de Mn(II). .....	66
<b>Figura 24.</b> Estudo do efeito de pirolise e atomização para Mn <sup>2+</sup> .....	68
<b>Figura 25.</b> Influência do tempo de contato na pré-concentração e determinação de Mn(II) por SDME. ....	69
<b>Figura 26.</b> Influência do tempo de contato na pré-concentração e determinação de Mn(II) por CFME. ....	69
<b>Figura 27.</b> Influência do pH na pré-concentração e determinação de Mn(II) por SDME. ....	71
<b>Figura 28.</b> Influência da velocidade de agitação na pré-concentração e determinação de Mn(II) por SDME.....	72
<b>Figura 29.</b> Influência da vazão da amostra na pré-concentração e determinação de Mn(II) por CFME. ....	73
<b>Figura 30.</b> Influência da quantidade do solvente extrator na pré-concentração e de Mn(II) por SDME. ....	74
<b>Figura 31.</b> Influência da quantidade do solvente extrator na pré-concentração e de Mn(II) por CFME. ....	74
<b>Figura 32.</b> Influência da concentração do reagente complexante na pré-concentração e determinação de Mn(II) por SDME e GF AAS.....	75
<b>Figura 33.</b> Curva analítica correspondente ao sistema em batelada para pré-concentração e determinação de Mn(II) por SDME e GF AAS.....	78
<b>Figura 34.</b> Curva analítica correspondente ao sistema em fluxo para pré-concentração e determinação de Mn(II) por CFME e GF AAS.....	78
<b>Figura 35.</b> Curva analítica correspondente à determinação direta de Mn(II) por GF AAS. ....	79
<b>Figura 36.</b> Focalização da luz pela córnea e o cristalino. ....	93
<b>Figura 37.</b> Bastonetes e cones.....	94
<b>Figura 38.</b> Curvas de resposta dos cones. ....	94
<b>Figura 39.</b> Cores primárias aditivas: vermelho, verde e azul. ....	95
<b>Figura 40.</b> Representação do sistema de cores RGB.....	95
<b>Figura 41.</b> Representação geométrica do sistema RGB.....	96

<b>Figura 42.</b> Imagens JPEGs compactadas. ....	97
<b>Figura 43.</b> Componentes do software ImageJ. ....	98
<b>Figura 44.</b> Representação de uma imagem com 24 bits. ....	100
<b>Figura 45.</b> Histograma da microgota após o processo de pré-concentração. ....	100
<b>Figura 46.</b> Histograma do canal de cor R, G e B da microgota após o processo de pré-concentração. ....	100
<b>Figura 47.</b> Representação esquemática do procedimento analítico de extração headspace baseado em papel e análise de imagens digitais. ....	102
<b>Figura 48.</b> Representação esquemática do sistema de pré-concentração para determinação de V(V). ....	105
<b>Figura 49.</b> Sistema para captura da imagem acoplado com microscópio U500X Digital com câmara. ....	106
<b>Figura 50.</b> Esquema do circuito elétrico de instalação do LEDs. ....	106
<b>Figura 51.</b> Modelo de microscópio utilizado para captura das imagens. ....	106
<b>Figura 52.</b> Influência do tipo de solvente extrator sobre a pré-concentração de V(V) por SDME. ....	110
<b>Figura 53.</b> Influência do tipo de material para formação da gota extratora durante a pré-concentração de V(V) por SDME. ....	111
<b>Figura 54.</b> Estrutura do reagente orgânico 2-[5-bromo-2-piridilazo-5-(dietilamino) fenol (Br-PADAP) utilizado para a complexação da espécie V(V) no sistema de pré-concentração. ....	112
<b>Figura 55.</b> Influência do pH sobre a pré-concentração de V(V) por SDME. ....	113
<b>Figura 56.</b> Influência da concentração do agente quelante Br-PADAP durante a pré-concentração de V(V) por SDME. ....	114
<b>Figura 57.</b> Influência do tempo de extração durante a pré-concentração de V(V) por SDME. ....	115
<b>Figura 58.</b> Influência da velocidade de rotação sobre a pré-concentração de V(V) por SDME. ....	115
<b>Figura 59.</b> Influência da quantidade de solvente extrator sobre a pré-concentração de V(V) por SDME. ....	116
<b>Figura 60.</b> Área específica da gota correspondente a cada ponto da curva analítica. ....	118
<b>Figura 61.</b> Curvas de calibração usando os canais vermelho, verde e azul. ....	118
<b>Figura 62.</b> Curva analítica correspondente à determinação direta de V(V). ....	119

---

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1.</b> Trabalhos publicados envolvendo a microextração com gota suspensa para determinação de metais em diferentes amostras. ....	38
<b>Tabela 2.</b> Propriedades físico-químicas para os principais solventes de extração utilizados em SDME. ....	41
<b>Tabela 3.</b> Trabalhos empregando a IL-SDME para extração de metais em diversos tipos de matrizes. ....	45
<b>Tabela 4.</b> Propriedades físico-químicas dos líquidos iônicos mais utilizados em SDME. ....	48
<b>Tabela 5.</b> Características físico-químicas do manganês. ....	51
<b>Tabela 6.</b> Condições operacionais na determinação de Mn(II) por ET AAS. ....	58
<b>Tabela 7.</b> Programa de temperatura do GF AAS para o tratamento da plataforma do tubo de grafite com modificador permanente de tungstênio e irídio ( $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ ). ...	62
<b>Tabela 8.</b> Programa de aquecimento utilizado para a determinação de Mn (II). ....	63
<b>Tabela 9.</b> Resumo dos parâmetros otimizados. ....	76
<b>Tabela 10.</b> Estudo de alguns interferentes em SDME por GF AAS. ....	77
<b>Tabela 11.</b> Resumo dos parâmetros analíticos após o processo de pré-concentração em SDME e CFME por GF AAS. ....	82
<b>Tabela 12.</b> Resultados da determinação de manganês em amostras de bebidas e pescado utilizando a SDME. ....	83
<b>Tabela 13.</b> Propriedades físico-químicas do vanádio. ....	89
<b>Tabela 14.</b> Características da câmera digital para determinação de V(V). ....	107
<b>Tabela 15.</b> Condições do sistema SDME para pré-concentração e determinação de V (V). ....	117
<b>Tabela 16.</b> Quantidades toleráveis de outros íons na determinação de vanádio (V) pelo método de microextração proposto. ....	120
<b>Tabela 18.</b> Valores dos parâmetros analíticos encontrados após otimização do sistema de extração e pré-concentração para determinação de vanádio(V) em amostras de águas. ....	120
<b>Tabela 17.</b> Resultados da determinação de vanádio em amostras de águas utilizando o método proposto. ....	121
<b>Tabela 19.</b> Dados comparativos de alguns estudos sobre a pré-concentração de V(V). ....	124

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

<b>[C<sub>4</sub>MIM] [PF<sub>6</sub>]</b>	Hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio hexafluorofosfato
<b>[C<sub>6</sub>MIM] [PF<sub>6</sub>]</b>	Hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metilimidazólio
<b>[C<sub>8</sub>MIM] [PF<sub>6</sub>]</b>	Hexafluorofosfato de 1-octil-3-metilimidazólio
<b>AAS</b>	Espectrometria de Absorção Atômica ( <i>Do inglês Atomic Absorption Spectrometry</i> )
<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>APDC</b>	Pirrolidinoditiocarbamato de amônio
<b>BMP</b>	Mapa de bits
<b>Br-PADAP</b>	2-(5-bromo-2-piridilazo)-5-dietilaminofenol
<b>CETESB</b>	Companhia ambiental do estado de São Paulo
<b>CFME</b>	Microextração com fluxo contínuo ( <i>Do inglês: Continuous flow microextraction</i> )
<b>CG</b>	Cromatografia Gasosa
<b>CONAMA</b>	Conselho Nacional do Meio Ambiente
<b>cP</b>	Centipoise (Unidade para viscosidade)
<b>CRM</b>	Material de referência certificado ( <i>Do inglês: Certified Reference Material</i> )
<b>CTF</b>	Cloreto de tetradecilo (tri-hexil) fosfônio
<b>CV-ILAHS-SDME</b>	Microextração com gota única por headspace com líquido iônico e vapor frio
<b>CV-ILAHS-SDME</b>	microextração com gota única por headspace com líquido iônico e vapor frio
<b>CYPHOS</b>	Cloreto de tetradecil(trihexil)fosfônio
<b>DC-DLLME</b>	Microextração líquido-líquido dispersiva acoplada a colorimetria digital ( <i>Do inglês: Dispersive liquid-liquid microextraction coupled to digital colorimetry</i> )
<b>DDME</b>	Microextração com solvente gota-a-gota
<b>DDTC</b>	Dietilditiocarbamato de sódio
<b>DDTP</b>	Dietilditiofosfato
<b>DICOM</b>	Comunicação de imagens digitais em medicina ( <i>Do inglês:</i>

---

	<i>Digital Imaging and Communications in Medicine)</i>
<b>DI-SDME</b>	Microextração com gota suspensa e imersão direta ( <i>Microextraction with suspended drop and direct immersion</i> )
<b>DLLME</b>	Microextração líquido-líquido dispersiva ( <i>Do inglês: dispersive liquid-liquid microextraction</i> )
<b>DLLME-DC</b>	Microextração dispersiva líquido-líquido baseado na colorimetria digital ( <i>Do inglês: Liquid-liquid dispersive microextraction based on digital colorimetry</i> )
<b>DSDME</b>	Microextração com gota do solvente diretamente suspenso ( <i>Do inglês: Microextraction with solvent droplet directly suspended</i> )
<b>EPN</b>	Extração em ponto nuvem ( <i>Do inglês: Extraction cloud point</i> )
<b>ETAAS</b>	Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica ( <i>Do inglês: Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry</i> )
<b>F AAS</b>	Espectrometria de absorção atômica com chama ( <i>Do inglês: Flame atomic absorption spectrometer</i> )
<b>FI-TILDLME</b>	Sistema de injeção de fluxo com microextração dispersiva líquido baseado na temperatura líquido iônico ( <i>Do inglês: Flow injection system with liquid dispersion microextraction based on the ionic liquid temperature</i> )
<b>GF AAS</b>	Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite ( <i>Do inglês Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i> )
<b>GIF</b>	Formato para intercâmbio de gráficos ( <i>Do inglês: Graphics Interchange Format</i> )
<b>HF-LPME</b>	Microextração em fase líquida com fibra oca
<b>HPLC</b>	Cromatografia líquida de alto desempenho ( <i>Do inglês: High performance liquid chromatography</i> )
<b>HS-SDME</b>	Microextração com gota suspensa e headspace ( <i>Do inglês: hollow fiber-based liquid phase microextraction</i> )
<b>ICP OES</b>	Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado ( <i>Do inglês: Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i> )

---

---

<b>ICP-MS</b>	Espectrometria de massa com plasma com plasma indutivamente acoplado ( <i>Do inglês: Inductively coupled plasma mass spectrometry</i> )
<b>JPEG</b>	Grupo responsável pelo padrão JPEG ( <i>Do inglês: Joint Photographic Experts Group</i> )
<b>LD</b>	Limite de detecção
<b>LI</b>	Líquido iônico / IL- Líquido ionico ( <i>Do inglês: ionic liquid</i> )
<b>LPE</b>	Extração em fase líquida ( <i>Do inglês: Liquid phase extraction</i> )
<b>LLLME</b>	Microextração líquido-líquido-líquido ( <i>Do inglês: Liquid-liquid-liquid microextraction</i> )
<b>LPME</b>	Microextração em fase líquida ( <i>Do inglês: Liquid-phase microextraction</i> )
<b>LQ</b>	Limite de quantificação
<b>MDF</b>	Fibra de média densidade ( <i>Do inglês: Medium-Density Fiberboard</i> )
<b>MMT</b>	Metilciclopentadienil-manganês tricarbonil
<b>PAN</b>	1-(2-piridilazo)-naftol
<b>PMBP</b>	1-Fenil-3-metil-4-benzoil-5-pirazolona
<b>PTFE</b>	Politetrafluoretileno
<b>RGB</b>	Vermelho, verde, azul (Sistema de cores aditivas)
<b>RSD</b>	Desvio Padrão Relativo ( <i>Do inglês Relative Standard Deviation</i> )
<b>SDME</b>	Microextração com gota suspensa ( <i>Do inglês: single drop microextraction</i> )
<b>SDME-SIA</b>	Sistema em linha com injeção sequencial associado a microextração com gota suspensa
<b>SFODME</b>	microextração de gota orgânica flutuante solidificada ( <i>Do inglês: microextraction solidified floating organic droplet</i> )
<b>SPE</b>	Extração em fase sólida ( <i>Do inglês: solid phase extraction</i> )
<b>TIF</b>	Formato de Arquivo de Imagem com Tags ( <i>Do inglês: Tagged Image File Format</i> )
<b>UA</b>	Ácido undecanóico
<b>UV-Vis</b>	Espectroscopia no ultravioleta visível ( <i>Do inglês: visible ultraviolet spectroscopy</i> )

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>19</b>
<b>1.0 INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>20</b>
1.1 MICROEXTRAÇÃO EM GOTA SUSPensa (SDME).....	21
1.1.1 <i>Microextração em gota suspensa com imersão direta (DI-SDME)</i> .....	23
1.1.2 <i>Microextração em fluxo contínuo (CFME)</i> .....	26
1.1.3 <i>Microextração em fase líquida com gota orgânica flutuante solidificada (SFODME)</i> .....	28
1.1.4 <i>Microextração com gota suspensa headspace (HS-SDME)</i> .....	31
1.2.5 <i>Microextração líquido-líquido-líquido (LLLME)</i> .....	35
1.1.6 <i>Microextração gota a gota (DDME)</i> .....	36
1.2 PARÂMETROS QUE AFETAM A EFICIÊNCIA DE EXTRAÇÃO DA SDME .....	39
1.2.1 <i>Tempo de extração</i> .....	39
1.2.2 <i>Tipo de solvente extrator</i> .....	39
1.2.3 <i>Velocidade de agitação</i> .....	42
1.2.4 <i>Volume da fase extratora</i> .....	42
1.2.5 <i>Temperatura</i> .....	42
1.3 MICROEXTRAÇÃO EM GOTA SUSPensa COM LÍQUIDO IÔNICO.....	43
1.3.1 <i>Estrutura e propriedades dos líquidos iônicos</i> .....	46
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>49</b>
<b>2.0 OBJETIVOS .....</b>	<b>50</b>
2.0.1 <i>Geral</i> .....	50
2.0.2 <i>Específicos</i> .....	50
<b>2.1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>50</b>
2.1.1 <i>Aspectos gerais do elemento manganês</i> .....	50
2.1.1.1 <i>Fontes de manganês em alimentos</i> .....	51
2.1.2 <i>Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS)</i> .....	52
2.1.3 <i>O reagente 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN) e o 2-(5-bromo-piridilazo)-5-dietilaminofenol (Br-PADAP)</i> .....	55
2.2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	57
2.2.1 <i>Instrumentação</i> .....	57
2.2.2 <i>Reagentes e soluções</i> .....	58
2.2.3 <i>Pré-tratamento das amostras</i> .....	60
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	66
2.3.1 <i>Otimização das variáveis</i> .....	66
2.4 CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS .....	77
2.4.1 <i>Linearidade</i> .....	77

2.4.2 Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).....	79
2.4.3 Fator de enriquecimento (EF) .....	80
2.4.4 Índice de consumo (IC) .....	81
2.4.5 Precisão do método .....	81
2.4.6 Comparação da SDME e CFME .....	82
2.4.7 Exatidão e aplicação do método proposto .....	82
2.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	84
<b>CAPÍTULO III.....</b>	<b>85</b>
3.0 INTRODUÇÃO.....	86
3.1 OBJETIVOS.....	88
3.1.1 Geral .....	88
3.2.2 Específicos.....	88
3.2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....	89
3.2.1 Aspectos gerais do vanádio .....	89
3.2.2 Obtenção, abundância e toxicidade .....	90
3.2.3 Legislação envolvendo vanádio em água .....	91
3.3 IMAGENS DIGITAIS .....	92
3.3.1 Sistema visual humano .....	92
3.3.2 Sistema de cores primárias aditivas ou RGB.....	95
3.3.3 Software de ImageJ .....	98
3.3.4 Histogramas de cor e análises de dados .....	99
3.3.5 Métodos analíticos baseados em imagens digitais .....	101
3.4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL .....	103
3.4.1 Reagentes e soluções.....	103
3.4.5 Procedimento para SDME utilizando o software ImageJ .....	104
3.4.6 Sistema de aquisição de imagens.....	105
3.4.7 Sistema de detecção.....	106
3.4.8 Sistema de pré-concentração .....	108
3.5 COLETA E PRÉ-TRATAMENTO DA AMOSTRA .....	108
3.5.1 Coleta e tratamento das amostras .....	108
3.5.2 Digestão da amostra certificada .....	108
3.6 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	109
3.6.1 Variáveis relativas ao sistema de microextração .....	109
3.6.2 Características analíticas do método para determinação de vanádio em amostras de água .....	117
3.6.2.1 Precisão .....	117
3.6.2.2 Linearidade .....	117
3.6.3 Estudo de Interferências .....	119
3.6.4 Parâmetros analíticos .....	120

3.4.5 Aplicação do método em amostras de águas .....	121
3.6.6 Aplicação do método em amostra certificada.....	122
3.7 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	122
3.8 REFERÊNCIAS .....	125

---

---

**CAPÍTULO I**

---

---

## 1.0 INTRODUÇÃO GERAL

A determinação de elementos-traços em uma variedade de matrizes ambientais, alimentícias e biológicas é um desafio ao estudo da saúde dos seres humanos. Alguns elementos em baixas concentrações atuam como micronutrientes essenciais para o metabolismo humano, mas que podem ser tóxicos em concentrações elevadas. Assim, devido a alguns elementos apresentarem faixas estreitas entre a essencialidade e a toxicidade o desenvolvimento de técnicas analíticas tem se tornado cada vez mais interessante para quantificar espécies em baixas concentrações [1].

Apesar dos grandes avanços no desenvolvimento de métodos analíticos, altamente seletivos, sensíveis e com baixos limites de detecção, poucas permitem uma análise direta para determinação de quantidades-traço sem qualquer tratamento prévio da amostra [2]. Numerosos métodos analíticos são relatados na literatura para determinação de metais, metaloides e compostos orgânicos em meio aquoso. A espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) se destaca, uma vez que apresenta limites de detecção extremamente baixos (na ordem de  $\mu\text{g L}^{-1}$ ), possui elevada sensibilidade e permite análise direta de amostras sólidas para determinação de quantidades traço. Apesar das vantagens apresentadas, nem sempre a quantidade do analito disposto na matriz é capaz de ser determinado. Por isso, procedimentos de bancada envolvendo preparo de amostras são de grande valia com a finalidade de *clean up*, pré-concentração ou até mesmo para minimizar efeitos de matriz, reduzir possíveis interferências espectrais e até mesmo aumentar o fator de enriquecimento do analito de interesse.

Existem diferentes estratégias analíticas que podem ser empregadas para melhorar a sensibilidade, a quantificação, a separação e a pré-concentração do analito de interesse em uma determinada matriz. Na literatura são reportados alguns métodos, como a extração em fase sólida (SPE), extração líquido-líquido (LLE) e a extração em ponto nuvem (EPN). No entanto, estas técnicas de extração utilizam quantidades relativamente elevadas de solventes orgânicos, que podem acarretar excessiva geração de resíduos, causando um grande impacto ao meio ambiente. [3; 4; 5].

Neste sentido, o desenvolvimento de procedimentos miniaturizados associados a métodos mais limpos (ambientalmente e ecologicamente corretos) tem sido um desafio no âmbito da química analítica e vem ganhando destaque, tornando-se uma tendência, principalmente pela redução do uso de solventes. Os métodos miniaturizados oferecem algumas vantagens, a exemplo de baixo custo, redução de etapas no procedimento, quantidades mínimas de solventes orgânicos e amostras e a possibilidade de automação. A miniaturização da extração em fase líquida é implementada através de uma redução drástica do volume do solvente extrator, originando a microextração em fase líquida (LPME). [6; 7]. A LPME originou diferentes abordagens, que podem ser divididas em três categorias: a microextração em gota suspensa (SDME), microextração em fase líquida com fibra oca (HF-LPME) e a microextração dispersiva líquido-líquido (DLLME). Esses métodos apresentam o mesmo princípio de extração em fase líquida convencional, mas há uma considerável diminuição no consumo de solventes e amostras, muitas vezes em nível de microlitros.

Este trabalho apresenta algumas metodologias envolvendo a microextração com gota suspensa para determinação de Mn(II) e V(V), empregando a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite e a colorimetria, dando ênfase às características favoráveis das técnicas de microextração em fase líquida, assim como o uso de quantidades mínimas de solventes e os elevados fatores de enriquecimento obtidos.

### **1.1 MICROEXTRAÇÃO EM GOTA SUSPensa (SDME)**

A técnica de SDME baseia-se na formação de um volume muito pequeno (geralmente uma microgota) de uma fase aceptora imersa diretamente no meio de uma amostra líquida (fase doadora) e suspensa por uma seringa ou um tubo capilar. Após a formação e estabilidade da gota, ocorre a extração dos analitos provenientes da fase doadora para a fase aceptora [3; 5].

A primeira descrição da SDME foi apresentada em 1996 [8]. Neste trabalho, a extração foi realizada em uma microgota de solvente orgânico imisível em água (n-octano) acomodada na porção final de um dispositivo de politetrafluoretileno (PTFE), imerso na solução para extração de 4-

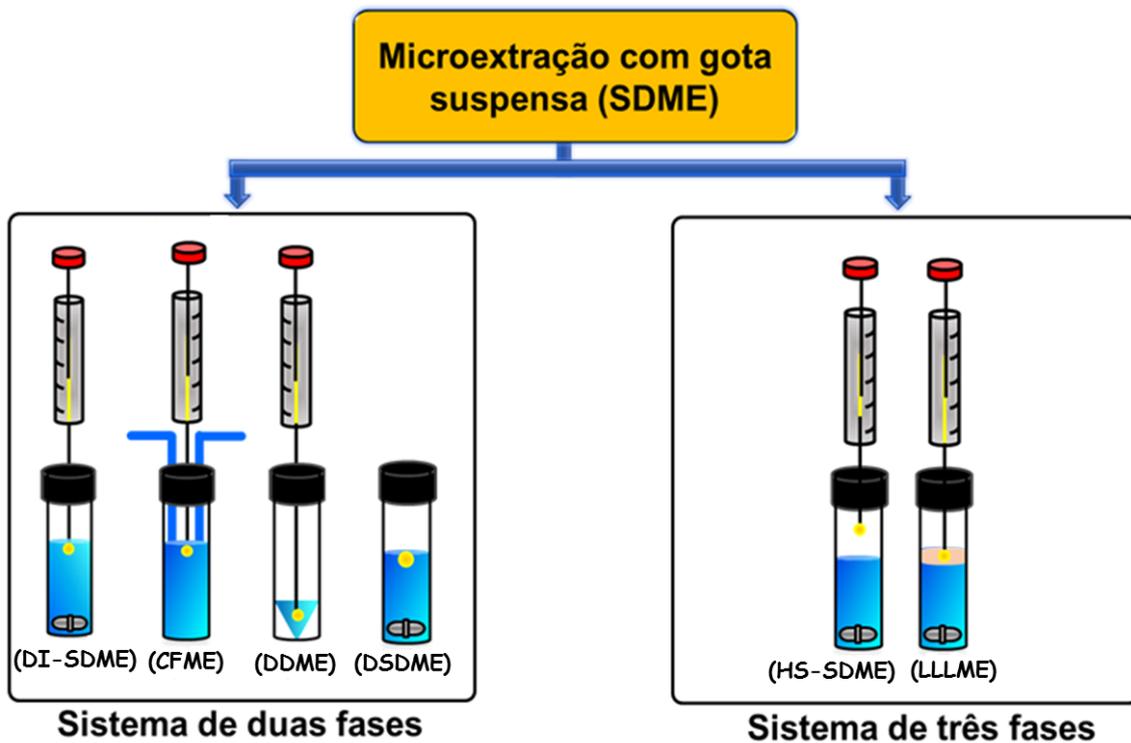
metilacetofenona em amostras de água. Após a extração sob agitação, o dispositivo foi retirado da amostra e a fase orgânica injetada em um cromatógrafo a gás.

Uma modificação na técnica foi descrita em um trabalho posterior [9], passando-se a utilizar uma microseringa como suporte, onde a fase orgânica era suspensa na ponta da agulha. A amostra foi inserida em um frasco com a tampa de polipropileno com septo de silicone e 1,0 µL do solvente extrator foi aspirado para o lúmen de uma microseringa. Após a formação da gota, iniciou-se o processo de extração colocando-a em contato com a fase doadora. A gota foi succionada pelo movimento do êmbolo da seringa e inserida diretamente em um cromatógrafo a gás.

A SDME tem atraído atenção considerável nos últimos anos para a extração das espécies orgânicas e inorgânicas devido ao seu baixo custo, simplicidade, baixo impacto ambiental, compatibilidade com cromatografia a gás (GC), cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) e técnicas espectroanalíticas, bem como sua aplicabilidade a diferentes matrizes, pois existe uma variedade de solventes que podem ser usados [10; 11].

Apesar das vantagens obtidas durante o processo de extração, a SDME apresenta algumas limitações como a variação do volume da gota devido à evaporação do solvente, a baixa estabilidade da fase extratora quando submetida a elevadas velocidades de agitação (ou taxas de fluxo). Além destes, a temperatura do sistema e o tempo de extração são alguns parâmetros que devem ser controlados. A SDME não é adequada para amostras com partículas em suspensão, pois podem causar um desprendimento da gota, uma vez que as partículas em suspensão perturbam o sistema, afetando a microgota, conseqüentemente, o seu desprendimento [12].

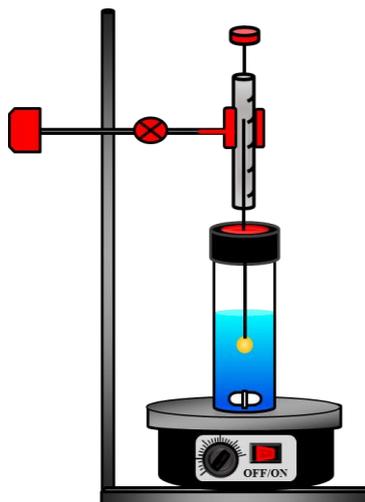
Atualmente, existem seis modos diferentes de SDME que podem ser classificadas em: bifásicas (micro-extração com fluxo contínuo, CFME; micro-extração gota-a-gota, DDME; micro-extração com gota diretamente suspensa, DSDME; micro-extração por imersão direta, DI-SDME) ou trifásica (micro-extração por headspace, HS-SDME; micro-extração líquida-líquida-líquida [6]. A Figura 1 apresenta um esquema das categorias da SDME.

**Figura 1.** Representação esquemática das categorias da SDME.

Fonte: Próprio autor.

### 1.1.1 Microextração em gota suspensa com imersão direta (DI-SDME)

A microextração em gota suspensa com imersão direta (DI-SDME) é uma técnica de extração onde uma microgota de um solvente orgânico é formada na ponta da seringa e imersa diretamente na fase doadora aquosa, permanecendo estática durante a extração [11]. A Figura 2 apresenta uma representação esquemática da técnica (DI-SDME).

**Figura 2.** Representação esquemática da técnica DI-SDME.

Fonte: Próprio autor.

Numerosos pesquisadores têm utilizado a DI-SDME para extração de espécies inorgânicas em diversos tipos de matrizes, como água, frutos do mar e bebidas [5]. Um fator crítico nessa técnica é o volume reduzido de solvente orgânico utilizado para determinação. Nesse caso, a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) é bastante eficaz, pois utilizam pequenos volumes na detecção. Após o processo de extração, a gota pode ser inserida diretamente no forno de grafite. A cada extração, apenas uma injeção direta da gota é possível, portanto é necessário um operador especializado para realizar o procedimento de análise, a fim de garantir resultados precisos.

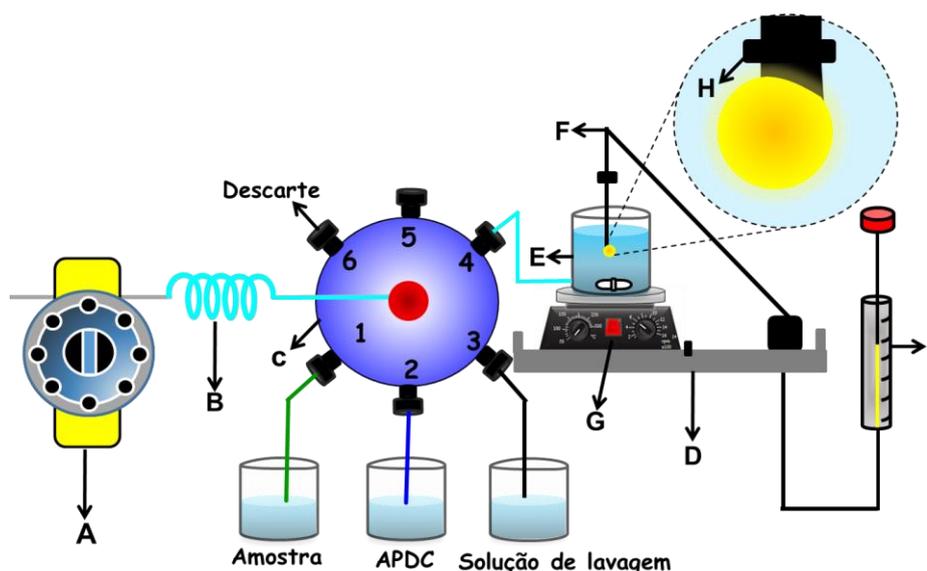
Um sistema empregando DI-SDME e clorofórmio como fase extratora foi desenvolvido para extração de Mn(II) [5]. Os autores acoplaram uma haste de politetrafluoroetileno (PTFE) na ponta da agulha para evitar possíveis contaminações e aumentar a superfície de contato para formação da gota, utilizando um volume de 15,0  $\mu\text{L}$  do solvente extrator.

Um método simples e sensível foi proposto para a extração de cádmio em óleos vegetais utilizando a microextração por gota única em fase reversa assistida por ultrassom (reverse-SDME). A detecção foi realizada utilizando a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica e fonte contínua de alta resolução (HR-CS ET AAS) [13]. A extração foi realizada em

uma gota de  $\text{HNO}_3$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  imersa diretamente na amostra. O procedimento de microextração foi empregado com uso do ultrassom para aumentar a eficiência de extração, e as gotas foram diretamente injetadas no GF AAS.

Alguns pesquisadores têm adaptado a DI-SDME a sistemas em fluxo com injeção sequencial (SIA). Um novo sistema automatizado de microextração com gota suspensa e injeção sequencial foi proposto para determinação de cromo (VI) em águas naturais por GF AAS (Figura 3) [14]. Nesse trabalho, os autores utilizaram uma microgota do tolueno como fase extratora suspensa diretamente na ponta de um tubo capilar acoplado diretamente ao amostrador automático do GF AAS. A quantidade do solvente extrator foi aferida com uma microseringa conectada ao amostrador. A versatilidade do amostrador automático na injeção da fase extratora melhorou significativamente a precisão do método, sendo uma grande vantagem em relação aos procedimentos em batelada, pois elimina a etapa de injeção manual, diminuindo os possíveis erros do operador, e conseqüentemente aumentando a precisão das medidas.

**Figura 3.** Representação esquemática de um sistema de SDME-SIA-ETAAS para determinação de cromo (VI).



(A) bomba peristáltica, (B) alça de contenção, (C) válvula de seis posições, (D) amostrador automático, (E) frasco da microextração, (F) braço do amostrador automático, (G) agitador magnético, (H) tubo capilar, (I) microseringa.

Fonte: Adaptado de [14].

Um sistema de pré-concentração envolvendo a DI-SDME foi aplicado para a análise de Cu(II) por espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS). Os íons cobre (II) foram complexados com 1-fenil-1,2propandi-1-oximatossemicarbazona (PPDOT). Após a formação do complexo, o analito foi extraído pelo solvente extrator 1-octanol. A fase enriquecida foi diluída com uma mistura de etanol e HNO<sub>3</sub> e foi aspirada para detecção [15].

De maneira semelhante, uma nova abordagem empregando a DSDME foi proposta para determinação de ferro e cobre em amostras de águas, frutas e vegetais, utilizando a espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS). Um volume de 210 µL do solvente extrator metil-isobutil-cetona (MIBK) foi introduzido na solução aquosa. Após extração dos íons ferro e cobre, a gota foi diluída com etanol. Apesar da necessidade de solubilização da fase extratora com etanol, o método possibilitou um grande aumento de sensibilidade [16].

A SDME foi aplicada para determinação espectrofotométrica de cádmio em amostras de arroz e água. Tetraclorometano foi utilizado como solvente extrator. Os autores adaptaram um tubo de PTFE na ponta da agulha, a fim de obter um volume maior da gota melhorando a superfície de contato na extração. Após a extração, a fase enriquecida foi diluída com 3,0 mL de acetona, devido ao volume de amostragem requerido pelo espectrofotômetro. O artigo destaca que houve uma melhora no processo de extração com o aumento da fase rica, como consequência, o sistema apresentou uma excelente precisão [17].

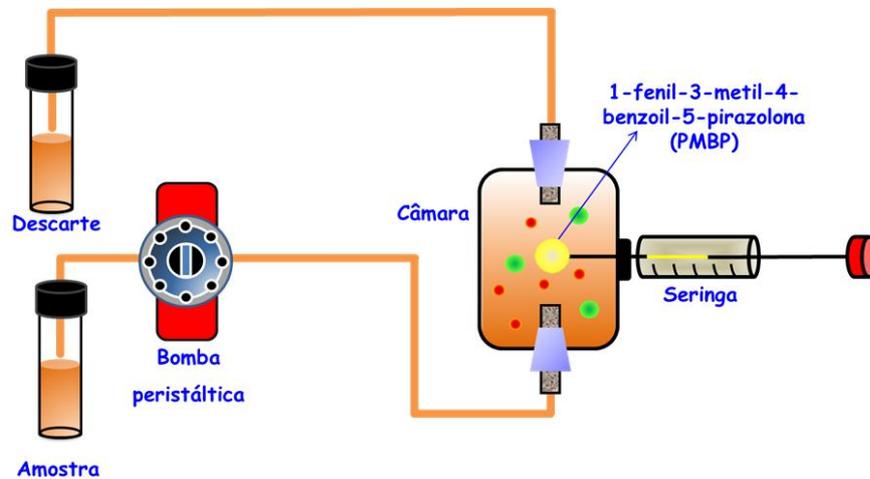
### **1.1.2 Microextração em fluxo contínuo (CFME)**

A microextração em fluxo contínuo baseia-se na formação de uma gota do solvente de extração injetada em uma câmara através de uma microseringa cromatográfica. Nesse sistema, a câmara é preenchida com um fluxo vertical da amostra aquosa através de tubo de PTFE, seguindo diretamente para o descarte, enquanto a gota do solvente está continuamente em contato com a solução [18].

Um sistema empregando a microextração em fluxo contínuo (CFME) GF AAS foi desenvolvido para determinação de chumbo em amostras de água [19]. Os autores empregaram como meio extrator uma gota de 1-fenil-3-metil-4-benzoil-

5-pirazolona (PMBP) imersa em uma amostra sob fluxo contínuo. Após o enriquecimento, a microgota é retraída e injetada no forno de grafite. Uma representação esquemática deste sistema está apresentada na Figura 4.

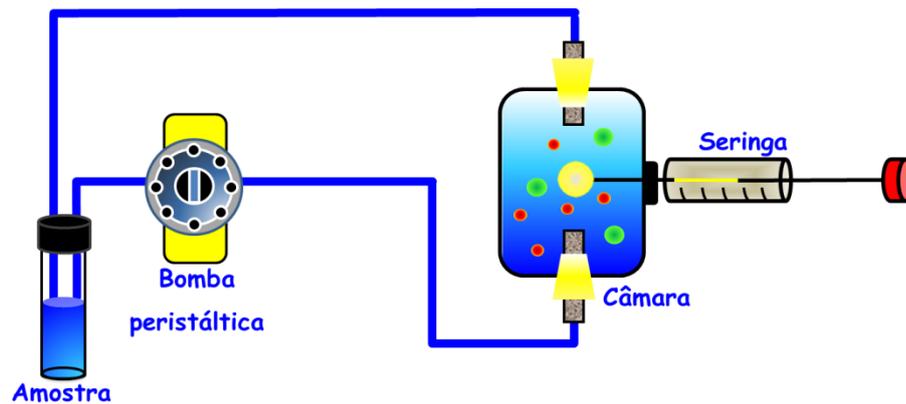
**Figura 4.** Representação esquemática do sistema de CFME.



Fonte: Adaptado de [19].

Outra abordagem da microextração em fluxo contínuo (CFME) pode ser representada por um novo sistema bastante similar ao anterior. Neste sistema, a câmara de extração é preenchida com a solução aquosa e em seguida a solução retorna para o reservatório de origem [20]. Então, uma gota do solvente extrator é injetada no fluxo da amostra. Após a extração, a gota é recolhida e transferida diretamente para o equipamento de detecção. A representação esquemática é apresentada na Figura 5. Uma grande vantagem frente ao método desenvolvido pelos pesquisadores anteriores é o retorno da amostra da câmara de extração para o reservatório de origem, permitindo diversas extrações repetidas. A recirculação permite o uso de quantidades muito reduzidas do volume da amostra (1,0 - 2,0 mL) e evita a secagem acidental do reservatório.

**Figura 5.** Ilustração do esquema do sistema baseado na microextração em fluxo contínuo.



Fonte: Adaptado de [20]

### 1.1.3 Microextração em fase líquida com gota orgânica flutuante solidificada (SFODME)

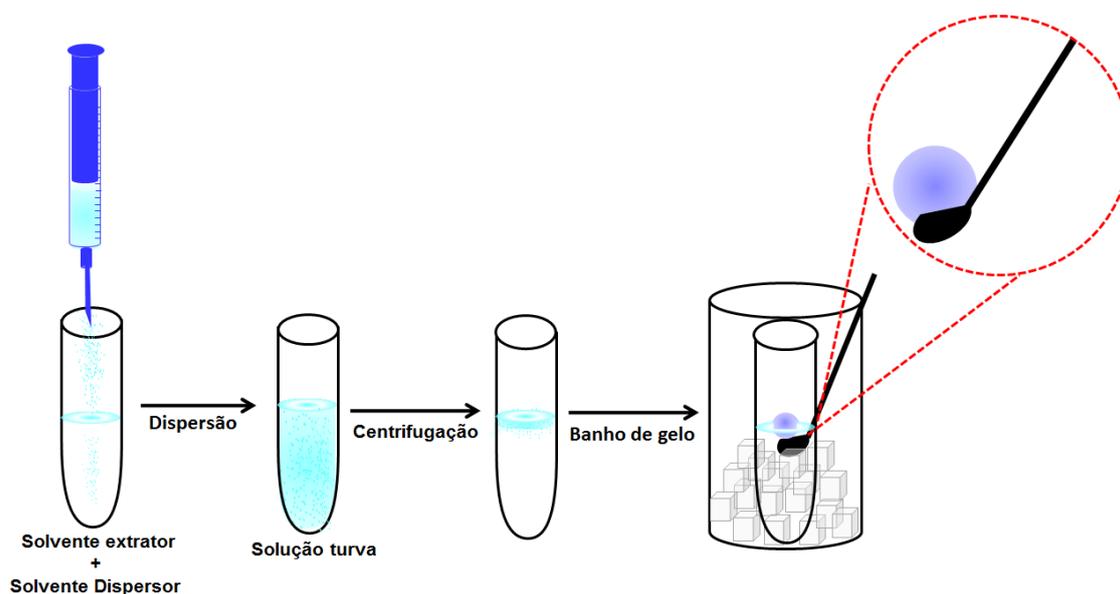
A SFODME utiliza um solvente dispersor e um solvente extrator com baixa densidade e ponto de fusão próximo à temperatura ambiente (10 – 30 °C), tendo a possibilidade de se solidificar em baixas temperaturas. Nessa técnica, o contato entre as fases pode ser realizado por agitação ou dispersão do solvente extrator na fase doadora. A grande vantagem da SFODME é a solidificação da gota orgânica flutuante, que pode ser removida facilmente com uma espátula, diferente dos outros métodos oriundos da SDME, que necessita de uma microsseringa para equilibrar a microgota na solução. O procedimento baseia-se na injeção rápida de uma mistura de solvente extrator e solvente dispersor em uma solução aquosa, formando uma solução turva. Posteriormente, a mistura é centrifugada e o frasco que contém a amostra e a microgota é imerso em um banho de gelo até que o solvente seja solidificado. A microgota solidificada é removida com uma espátula e transferida para um pequeno recipiente. Após fundir-se à temperatura ambiente, a fase enriquecida é acomodada em um frasco e posteriormente conduzida para detecção [21].

Comparado a outros métodos de extração como a SDME, HS-LPME e DDME, a SFODME é bastante versátil na escolha de alguns parâmetros operacionais, principalmente na quantidade de solvente e na velocidade de

rotação. Nessa técnica, é possível utilizar maiores volumes de solvente extrator, pois a gota não fica suspensa na ponta da microsseringa, no entanto, no âmbito da química verde, pode-se entender como uma desvantagem. Nesse método o número de solventes extratores com baixo ponto de fusão é limitado. Os solventes mais utilizados são: 1-dodecanol, 1-undecanol e ácido undecanóico [21].

Para seleção do solvente dispersor, a principal característica é a sua miscibilidade com o solvente extrator e com a fase aquosa. Este solvente ajuda na dispersão das pequenas gotículas do solvente extrator na solução. Diante do que é relatado, poucos solventes dispersores podem ser utilizados. Os mais comuns são acetona, metanol e acetonitrila. A Figura 6 apresenta um esquema da técnica SFODME.

**Figura 6.** Representação esquemática da técnica SFODME.

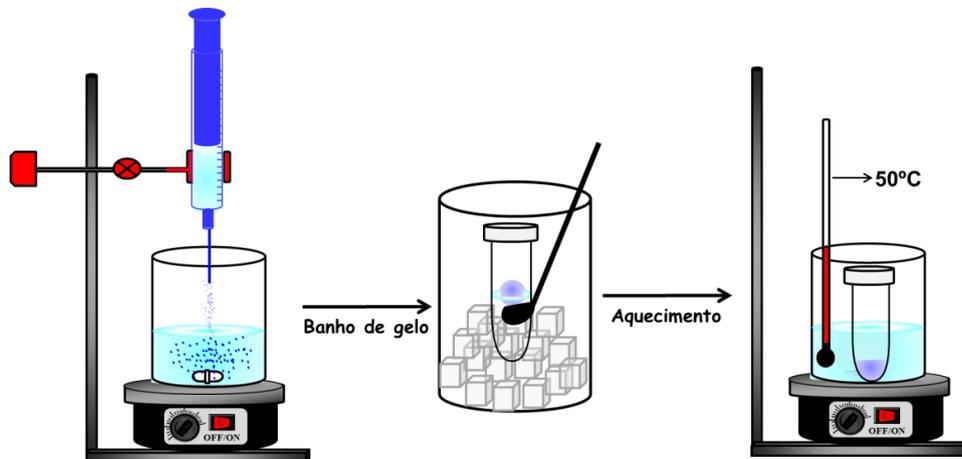


Fonte: Próprio Autor

Um grupo de pesquisadores desenvolveu um método para a extração de mercúrio em amostras de água por microextração em fase líquida com gota solidificada. Um volume de 50,0  $\mu\text{L}$  de ácido undecanóico (UA) pré-aquecido foi rapidamente adicionado a 25,0 mL da amostra aquosa. A mistura foi aquecida a uma temperatura de 50  $^{\circ}\text{C}$  e a velocidade de agitação foi elevada para que ocorresse a fragmentação da gota de UA. Após essa etapa, o frasco com a

mistura é imersa em um banho de gelo até ocorrer a solidificação da gota. Assim, a gota é removida com uma espátula e transferida para um microtubo. Então, a fase extratora enriquecida é aquecida e injetada em um ET AAS [22]. A Figura 7 esquematiza a representação do sistema de extração.

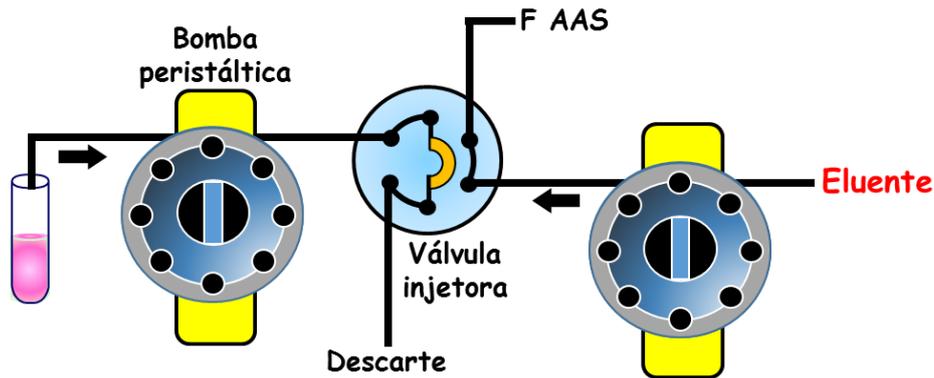
**Figura 7.** Representação esquemática das etapas do sistema de extração mostrando a fase extratora solidificada e a fase líquida.



Fonte: Adaptado de [22]

Um sistema de injeção em fluxo foi empregado para determinação de cobre por espectrometria de absorção atômica com chama. O sistema inclui duas bombas peristálticas, uma válvula de duas posições e seis vias e uma alça de amostragem. Uma gota de 1-undecanol foi adicionado na amostra aquosa contendo o reagente complexante 1,5-difenilcarbazida (DPC) sob agitação constante. Posteriormente a amostra foi imersa em banho de gelo, onde o solvente orgânico foi solidificado. Em seguida, o microextrato solidificado foi transferido para um frasco cônico, onde ocorre imediatamente a fusão. O solvente extrator foi diluído em etanol, a solução resultante foi inserida no sistema em fluxo, a válvula foi acionada para posição de injeção e a fase orgânica foi inserida para o nebulizador do F AAS (Figura 8) [23].

**Figura 8.** Representação esquemática de um sistema de fluxo para determinação de cobre.

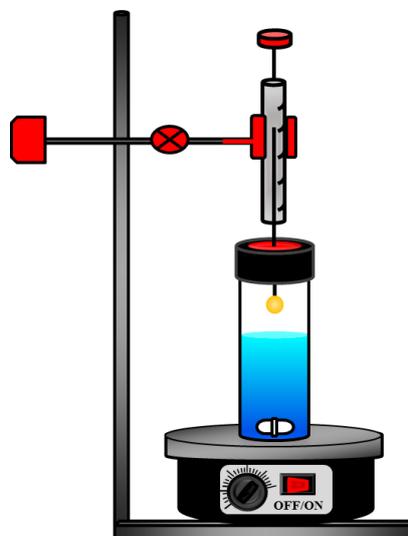


Fonte: Adaptado de [23]

#### 1.1.4 Microextração com gota suspensa headspace (HS-SDME)

A microextração com gota suspensa em headspace consiste em um sistema de três fases: fase aquosa, a fase vapor e a fase extratora (gota). Em um sistema fechado, a gota extratora é suspensa na ponta da microseringa inserida no espaço superior acima da amostra, sob agitação constante para extrair os analitos voláteis e semi-voláteis, conforme apresentado na Figura 9 [24; 25].

**Figura 9.** Representação esquemática do sistema de microextração em HS-SDME.

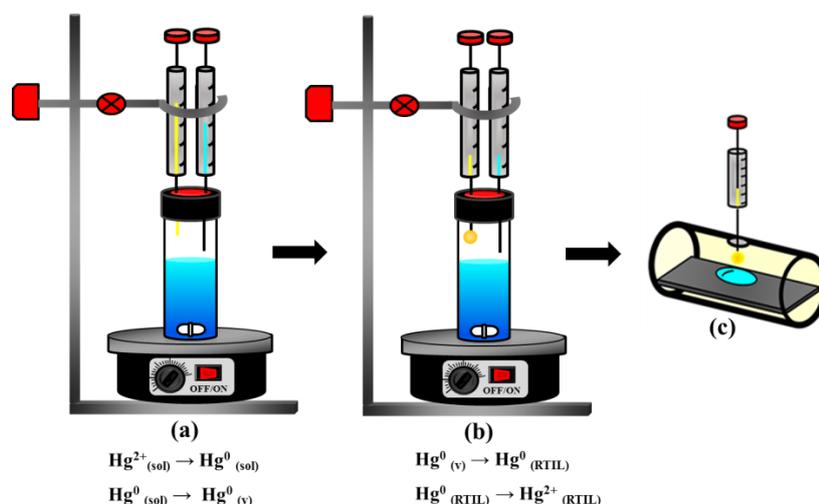


Fonte: Próprio Autor.

A HS-SDME oferece algumas vantagens em relação à SDME: permite uma maior agitação da amostra, minimizando o risco de desprendimento da gota e deixando-a mais estável; as interferências da matriz diminuem, pois não existe o contato direto entre a gota e a fase aquosa; permite o aquecimento da fase aquosa para acelerar o processo de transferência dos analitos da amostra aquosa para a fase vapor [26].

Uma metodologia derivada da SDME, empregou a microextração com gota única por *headspace* com líquido iônico e vapor frio (CV-ILAHS-SDME), para extração de mercúrio em amostras de água do mar, tecidos de peixe, cabelo e vinho [27]. Uma ilustração do procedimento utilizado nesse trabalho está apresentada na Figura 10. O procedimento analítico com a geração de vapor frio (CV) *in situ* utilizou o cloreto estanoso ( $\text{SnCl}_2$ ) para reduzir  $\text{Hg}^{2+}$  a  $\text{Hg}^0$  volátil e oxidação dos organomercúrios. O vapor de  $\text{Hg}^0$  foi extraído para uma gota do líquido iônico (cloreto de tetradecil(trihexil)fosfônio). Posteriormente, a fase rica foi injetada em um ET AAS. Os autores apresentam a CV-ILAHS-SDME como uma alternativa conveniente a outras técnicas de extração, pois integra extração, pré-concentração e introdução de amostra em um único passo, sem a necessidade de solventes orgânicos comuns.

**Figura 10.** Representação do procedimento envolvendo CV-ILAHS-SDME.

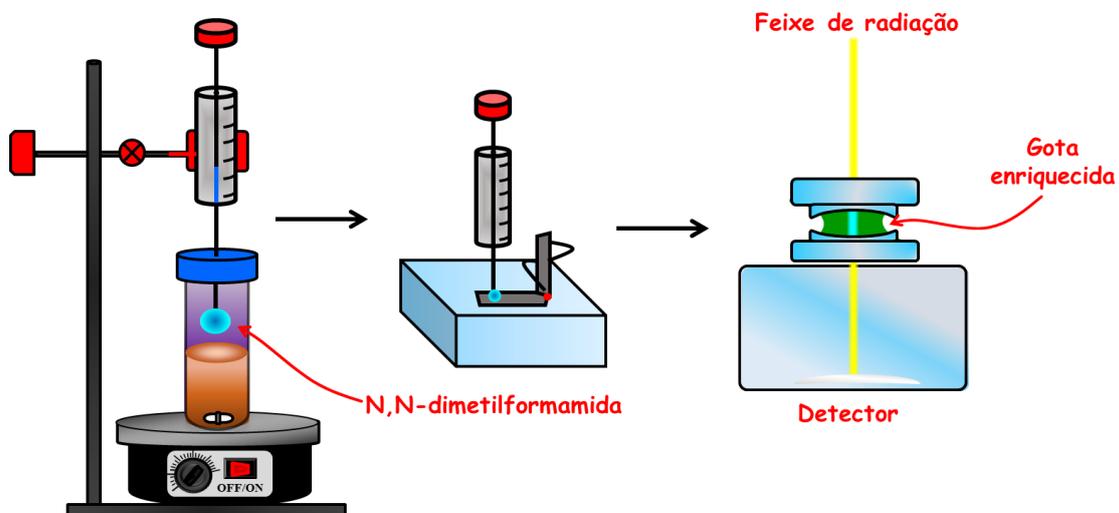


Geração de vapor (a); Etapa de extração do vapor de mercúrio (b); Introdução da microgota de LI enriquecida com mercúrio em tubo de grafite para posterior análise em ETAAS (c).

Fonte: Adaptado de [27]

A metodologia *headspace* também foi utilizada para a determinação de iodo em amostras de água, produtos farmacêuticos e alimentos, utilizando espectrofotometria UV-Vis. O meio extrator foi uma gota de N,N-dimetilformamida. Após a extração, a gota foi inserida no sistema de medida do espectrofotômetro, como mostra a Figura 11 [28]. Os autores destacam que o volume da fase enriquecida foi adaptado a capacidade máxima do espectrofotômetro. Uma grande desvantagem em relação ao método anteriormente descrito é a elevada quantidade do solvente extrator utilizado.

**Figura 11.** Representação esquemática das diferentes etapas para a determinação de iodo por HS-SDME por espectrofotometria UV-Vis.

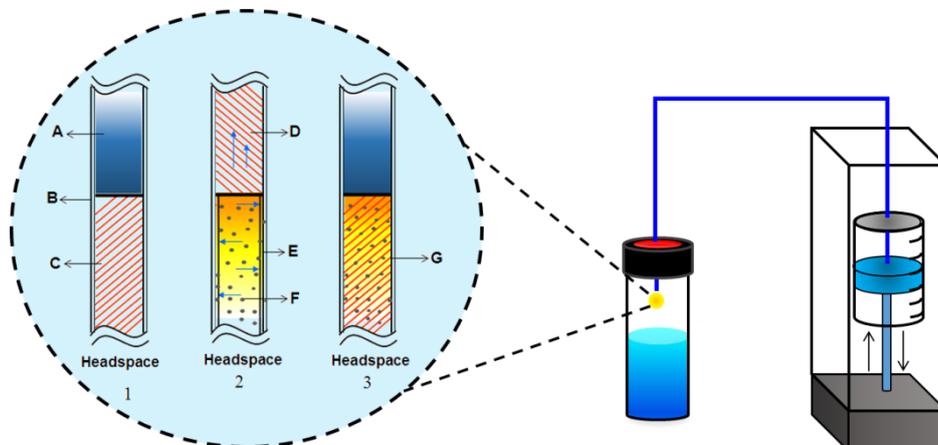


Fonte: Adaptado de [28].

Outro sistema empregando a HS-SDME foi aplicado para extração de selênio inorgânico total e selênio (IV) em amostras de águas. A irradiação UV promoveu a redução de Se (VI) em Se (IV), facilitando a determinação de selênio total. Então, a amostra foi inserida no frasco de microextração e as espécies de  $H_2Se$  foram geradas através da adição de 0,1 mL de  $NaBH_4$  a 1% ( $m v^{-1}$ ). Os autores utilizaram como meio extrator uma mistura de 30  $mg L^{-1}$  de  $Pd(NO_3)_2$  e 1,5% ( $m v^{-1}$ ) de  $HNO_3$ . As espécies de selênio sob a forma de vapor foram extraídas, e a gota, retraída e injetada em ET AAS [29].

Um novo sistema utilizando a HS-SDME foi desenvolvido para extração de clorobenzeno em amostras de solos [30]. A representação esquemática é apresentada na Figura 12. Nesse sistema, o solvente de extração é mantido na seringa. O corpo da seringa foi adaptado em uma câmara de vidro para a captura da espécie volátil. A extração ocorre através do movimento do êmbolo. Os autores destacam que o contato entre os analitos gasosos e o filme do solvente de extração presentes no lúmen da microsseringa reduziu significativamente a perda do analito durante a extração, pois a fase extratora permanecia dentro do lúmen da microsseringa, evitando o desprendimento do solvente de extração, o que geralmente acontece no procedimento convencional quando a solução é agitada.

**Figura 12.** Representação esquemática da HS-LPME.



(1) Antes do movimento do êmbolo para cima (ponto inicial do ciclo de extração), (2) retirada da amostra, (3) estado de pausa após a imersão da amostra (ponto final do ciclo de extração). (A) Êmbolo da seringa, (B) Êmbolo da seringa, (C) solvente orgânico, (D) solvente orgânico, (E) Filme do solvente orgânico, (F) Amostra gasosa e (G) solvente orgânico enriquecido com clorobenzeno.

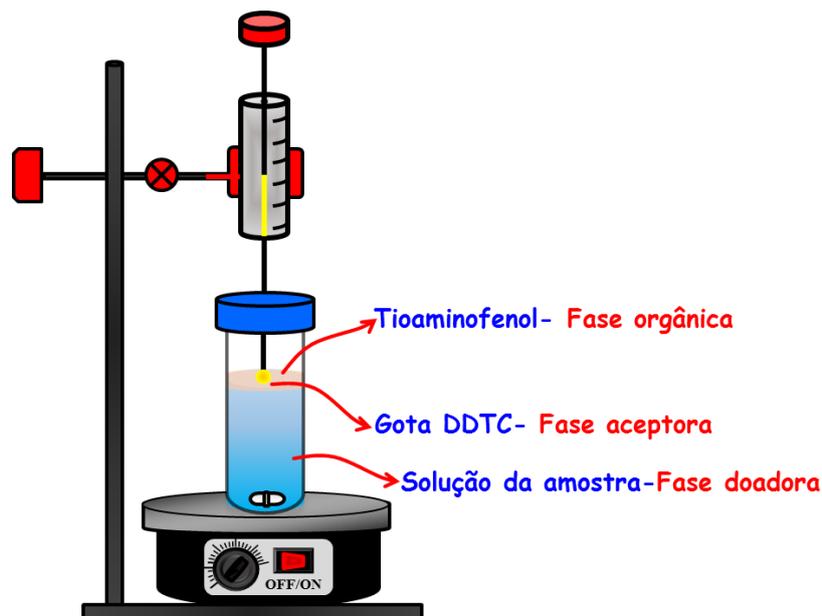
Fonte: Adaptado de [30].

### 1.2.5 Microextração líquido-líquido-líquido (LLLME)

A LLLME é constituída de três fases: fase doadora, fase aceptora e fase orgânica. No sistema, os analitos são extraídos da fase doadora para a fase orgânica e, simultaneamente, da fase orgânica para fase aceptora (gota). A gota é introduzida na fase orgânica com auxílio de uma microsseringa. Após o enriquecimento da fase aceptora, a gota é retraída e inserida no instrumento de detecção.

Um método utilizando a LLLME foi proposto para a determinação de prata. Os autores empregaram como meio extrator uma gota de dietilditio-carbamato de sódio (DDTC) [31]. A prata presente na solução aquosa (fase doadora) foi extraída pelo tioaminofenol, que se encontrava acima da fase doadora, e depois para o DDTC (gota). Após a extração, a gota é retraída e injetada no ETAAS. Uma representação esquemática deste sistema é mostrada na Figura 13.

**Figura 13.** Representação esquemática de um sistema de LLLME para extração de prata.



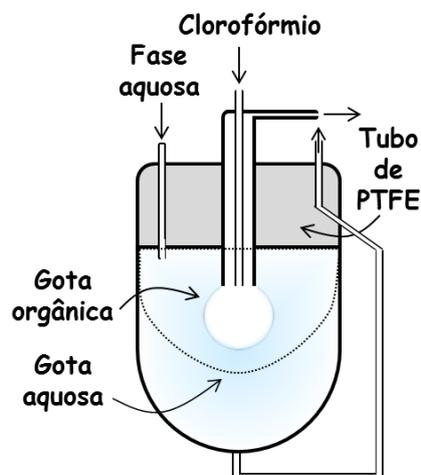
Fonte: Adaptado de [31]

### 1.1.6 Microextração gota a gota (DDME)

A DDME é uma técnica analítica em que se utiliza uma quantidade muito reduzida (micro) da amostra, sendo frequentemente usada para compostos de análise em que a disponibilidade da amostra é mínima. As vantagens são: rapidez, facilidade de operação, simplicidade do dispositivo e redução no consumo de solvente e amostra [32]. No entanto, o uso de um volume muito pequeno de amostra torna a operação mais difícil de ser controlada. No método, a microgota orgânica é imersa em uma gota maior de uma fase aquosa.

Liu e Dasgupta empregaram a microextração gota-a-gota em linha para determinação espectrofotométrica de dodecil sulfato de sódio. O clorofórmio foi utilizado como solvente extrator imerso dentro de uma gota aquosa maior [33]. Uma representação esquemática do sistema está apresentada na Figura 14. O procedimento de extração é baseado na intensidade de cor da gota. O artigo destaca a grande vantagem do sistema de detecção *in situ* na própria gota, utiliza um diodo emissor de luz (LED) e fibras óptica. Assim, não foi necessário o transporte da fase rica para um sistema de detecção.

**Figura 14.** Representação esquemática do sistema empregando DDME para a determinação de dodecil sulfato de sódio.



Fonte: Adaptado de [33].

Diversos pesquisadores têm utilizado a SDME para extração de vários analitos, por apresentar bons limites de detecção, elevados fatores de enriquecimento, compatível com várias técnicas de detecção, além da redução no consumo de reagentes, o que propicia menor custo nas análises. A Tabela 1 apresenta alguns trabalhos sobre a microextração em gota suspensa e análise por ETAAS, FAAS e UV-Vis publicados desde 2008 até 2017.

**Tabela 1.** Trabalhos publicados envolvendo a microextração com gota suspensa para determinação de metais em diferentes amostras.

Técnica de microextração	Elemento	Técnica de detecção	Solvente extrator		Amostra		LD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	EF	Referência
			Tipo	Volume ( $\mu\text{L}$ )	Tipo	Volume (mL)			
SDME	Chumbo	ETAAS	(PMBP)-benzeno	3,0	Águas, cabelo, farinha de arroz	1,0	0,025	16	[12]
DI-SDME	Cromo(VI)	ETAAS	Tolueno	3,0	Água	2,5	0,02	70	[14]
HS-SDME	Iodo	UV-Vis	N,N-dimetilformamida	2,5	Água, produtos farmacêuticos e alimentos	10,0	0,69	623	[34]
SDME	Mercúrio	ETAAS	m-Xileno	10	Água de rio	15,0	0,01	970	[35]
SFODME	Cobre	FAAS	1-undecanol	300	Águas	100,0	0,0004	324	[23]
SDME	Cádmio	UV-Vis	Tetraclorometano	25	Água e arroz	5,0	0,0005	128	[17]
HS-SDME	Mercúrio	ETAAS	Tiouréia e APDC	4,0	Água e peixe	10,0	0,005	35	[25]
SDSME	Cobre	FAAS	1-octanol	150	Águas	60,0	3,0	52,6	[36]
CF-SDME	Cádmio	ETAAS	Dissulfeto de carbono	50	Água e maçã	5,0	0,0075	123	[18]

## 1.2 PARÂMETROS QUE AFETAM A EFICIÊNCIA DE EXTRAÇÃO DA SDME

Alguns parâmetros são importantes para otimização de procedimentos envolvendo microextrações líquido-líquido. Portanto, foi realizado um levantamento prévio na literatura sobre os principais parâmetros que podem influenciar nas concentrações durante a extração do analito de interesse. Entre os principais fatores experimentais que afetam a eficiência de extração, encontram-se: tempo de extração, tipo do solvente extrator, velocidade de agitação ou fluxo da amostra, temperatura e volume da gota. Esses parâmetros supracitados foram minuciosamente avaliados e estudados com o intuito de se convergir para os melhores resultados ao final do desenvolvimento do método.

### 1.2.1 Tempo de extração

A eficiência do tempo de extração em SDME depende da transferência de massa do analito da fase aquosa para o solvente extrator. A extração dos analitos é alcançada quando o sistema atinge o equilíbrio entre a fase aquosa e a fase orgânica, ou seja, a distribuição entre as fases permanece constante. No entanto, algumas vezes o equilíbrio não é alcançado inicialmente, sendo necessário a utilização de um tempo elevado em torno de 30 minutos. Porém, um tempo de extração prolongado, pode acarretar desprendimento da gota para amostra. Na técnica HS-SDME, o equilíbrio é alcançado mais rapidamente quando comparado com as outras categorias da SDME, pois os coeficientes de difusão em fases gasosas são geralmente  $10^4$  vezes maiores que em fase líquida. Além disso, a fase extratora fica suspensa na ponta de uma microseringa na parte superior da fase aquosa, permitindo velocidades de agitação mais rápidas, ou até mesmo o aquecimento da amostra [37].

### 1.2.2 Tipo de solvente extrator

A escolha do solvente de extração é o parâmetro mais importante da SDME. Alguns critérios são necessários para escolha do solvente orgânico. Esse solvente deve ser imiscível na água, portanto o uso de solventes apolares

ou fracamente polares são mais adequados. Outros critérios que devem ser levados em consideração são a baixa volatilidade para evitar a perda do solvente durante a extração, principalmente quando se utiliza velocidades de agitação rápidas e prolongadas; e possuir um elevado coeficiente de distribuição. Este pode ser definido como a relação das concentrações da substâncias na fase orgânica pela fase aquosa, ou seja quanto maior o coeficiente de distribuição, maior será a separação das fases durante a extração [6].

Geralmente o solvente de extração em procedimentos que envolvem a DI-SDME possui uma elevada volatilidade. Numerosos solventes têm sido utilizados como fase extratora na SDME: clorofórmio, diclorometano, tetracloreto de carbono, tricloroetileno, tolueno entre outros [5]. Esses solventes convencionais apresentam uma baixa viscosidade e uma elevada pressão de vapor, afetando a estabilidade da gota. Os líquidos iônicos têm sido utilizados para o enriquecimento de separação dos analitos moderadamente polares ou apolares, voláteis e semi-voláteis em diversos tipos de matrizes, como águas naturais, águas subterrâneas e água de mar. A elevada viscosidade dos líquidos iônicos pode ser considerada uma vantagem para DI-SDME, pois proporciona um formato mais esférico da gota, diminuindo as perdas durante o processo de extração.

Na extração por DI-SDME, um dos fatores importantes é a interação entre o analito e a fase extratora, pois quanto mais apolar o solvente, maior o fator de pré-concentração. Outro fator importante é o ponto de ebulição, na maioria das vezes utiliza-se solventes com ponto de ebulição elevado para não ocorrer a evaporação do solvente durante a extração. Na HS-SDME, o solvente extrator pode ser hidrofílico, visto que a fase aquosa não está em contato direto com o solvente de extração. No entanto, o solvente extrator deve possuir uma pressão de vapor relativamente baixa, para evitar a evaporação do solvente de extração durante o procedimento. [11; 38]. Na Tabela 2 são apresentadas as propriedades físico-químicas dos principais solventes de extração utilizados em SDME.

**Tabela 2.** Propriedades físico-químicas para os principais solventes de extração utilizados em SDME.

CETESB: Companhia ambiental do estado de São Paulo

<b>Solvente extrator</b>	<b>Peso molecular (g mol<sup>-1</sup>)</b>	<b>Densidade líquido-vapor (g mL<sup>-1</sup>)</b>	<b>Ponto de ebulição (° C)</b>	<b>Ponto de fusão (° C)</b>	<b>Pressão de vapor (mm Hg)</b>	<b>Viscosidade (cP)</b>	<b>Solubilidade em H<sub>2</sub>O (g L<sup>-1</sup>)</b>
Tetracloroeto de carbono	153,83	1,59 - 5,3	76,5	-22,6	100	0,95	0,08
Tricloroetileno	131,39	1,46 - 4,5	87	-73	60	0,58	0,11
Clorofórmio	119,39	1,49 - 4,1	61,2	-63,5	200	0,55	0,8
Iso- octano	114,2	0,703 - 3,9	125,6	- 56,5	20	0,54	0,002
m-Xileno	106,16	0,880 – não pertinente	144,4	-25,2	5	0,77	Insolúvel
Tolueno	92,14	0,867 - não pertinente	110,6	-95	40	0,58	0,05
Hexano	86,17	0,659 - 3,0	68,7	-94	200	0,32	Insolúvel
Diclorometano	84,93	1,322 - 2,9	39,8	-97	400	0,45	1,38
Dissulfeto de carbono	76,14	1,26 - 2,6	46,3	-111,6	400	0,36	Insolúvel

### 1.2.3 Velocidade de agitação

A velocidade de agitação é extremamente importante na SDME, pois está diretamente relacionada à transferência de massa do analito para o solvente de extração. Em geral, o processo de extração é realizado sob agitação da solução, podendo ser, por exemplo, por meio de agitadores magnéticos. A utilização de velocidades elevadas proporciona uma redução no tempo de equilíbrio entre a fase aquosa e a gota extratora. No entanto, velocidades elevadas podem provocar o aparecimento de bolhas de ar na superfície da gota afetando diretamente a sua estabilidade. Em sistemas que envolvem a HS-SDME é possível utilizar velocidades de agitação bastante rápidas da amostra, sem desprendimento da gota. Isso ocorre pois a gota do solvente é mantida acima da solução aquosa, diminuindo o tempo de extração, sendo esta uma vantagem frente à outros sistema de microextração [6].

### 1.2.4 Volume da fase extratora

O volume da fase extratora é um parâmetro relativamente difícil de ser controlado em procedimentos que envolvem a SDME. Geralmente os modos de operação da SDME utilizam pequenos volumes da fase da extratora. Os volumes mais utilizados variam na faixa de 1,0-20  $\mu\text{L}$ , dependendo das propriedades físico-químicas do solvente utilizado. Volumes maiores da gota são difíceis de manipular, pois diminuem a sua estabilidade, tornando difícil mantê-la fixada na ponta da microsseringa, o que afeta significativamente a velocidade de agitação e o tempo de extração. Muitos pesquisadores utilizam adaptadores de PTFE acoplados na ponta da microsseringa para conseguir maiores volumes da fase extratora [39].

### 1.2.5 Temperatura

Em SDME, a temperatura afeta significativamente o equilíbrio entre a fase aquosa e a fase extratora, acelerando o processo de transferência de massa. Apesar do equilíbrio entre as fases ser atingido rapidamente, o aumento da temperatura provoca a dissolução da gota na fase aquosa e na formação de

bolhas, diminuindo a precisão do método. A maioria dos métodos utilizam SDME à temperatura ambiente. Em HS-SDME o aumento da temperatura acelera a cinética da reação durante a extração, pois o solvente extrator não fica imerso na solução aquosa, o que possibilita o aquecimento desta fase. O aquecimento aumenta a transferência de massa da fase aquosa para fase orgânica, induzindo o processo de convecção. Outro modo de operação em que a temperatura pode ser elevada é a microextração em fase líquida com gota orgânica flutuante solidificada (SFODME), pois é necessária a fusão da gota solidificada antes de ser inserida no equipamento de detecção [26].

### 1.3 MICROEXTRAÇÃO EM GOTA SUSPensa COM LÍQUIDO IÔNICO

O desenvolvimento de métodos para preparo de amostras que utilizam solventes sustentáveis apresentou um avanço significativo nos últimos anos. A utilização de líquidos iônicos (ILs) tem recebido destaque como alternativa aos solventes clorados, devido às diversas vantagens apresentadas: elevada viscosidade, permitindo o aumento da gota e proporcionando uma maior aderência desta à ponta da seringa; baixa pressão de vapor e alta estabilidade térmica, evitando a evaporação do solvente; miscibilidade em diversos solventes. Outra vantagem dos ILs é que eles podem ser facilmente sintetizados em laboratório [40; 41].

Diversos pesquisadores utilizam os ILs em diferentes tipos de microextração devido às suas características intrínsecas. Vários tipos de líquidos iônicos têm sido utilizados em SDME, tais como: hexafluorofosfato de 1-octil-3-metilimidazólio ( $[C_8MIM][PF_6]$ ), hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metilimidazólio ( $[C_6MIM][PF_6]$ ) e hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio ( $[C_4MIM][PF_6]$ ) [42]. A Tabela 2 apresenta alguns trabalhos empregando a IL-SDME e suas principais características analíticas.

Um sistema empregando IL-DI-SDME foi desenvolvido para a extração de manganês em amostras de água. O líquido iônico  $[C_6MIM][PF_6]$  foi utilizado como solvente extrator. Os autores destacam que, antes de cada extração, a ponta da microsseringa foi lavada com etanol para evitar a formação de bolhas de ar na superfície da gota [43].

Um sistema empregando IL-HS-SDME foi aplicado para extração de metilciclopentadienil-manganês-tricarbonil (MMT) em amostras de água e gasolina [44]. Os autores utilizaram o hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio como fase extratora. Neste trabalho, durante o processo de extração, o contato entre as fases foi realizado pela agitação e aquecimento da fase aquosa para acelerar o processo de transferência de massa. Após término do processo de extração, a fase rica foi injetada diretamente no forno de grafite. A vantagem é o aquecimento da fase aquosa, que proporciona uma redução no tempo para atingir o equilíbrio entre as fases. A tabela 3 apresenta alguns trabalhos publicados empregando a IL-SDME.

**Tabela 3.** Trabalhos empregando a IL-SDME para extração de metais em diversos tipos de matrizes.

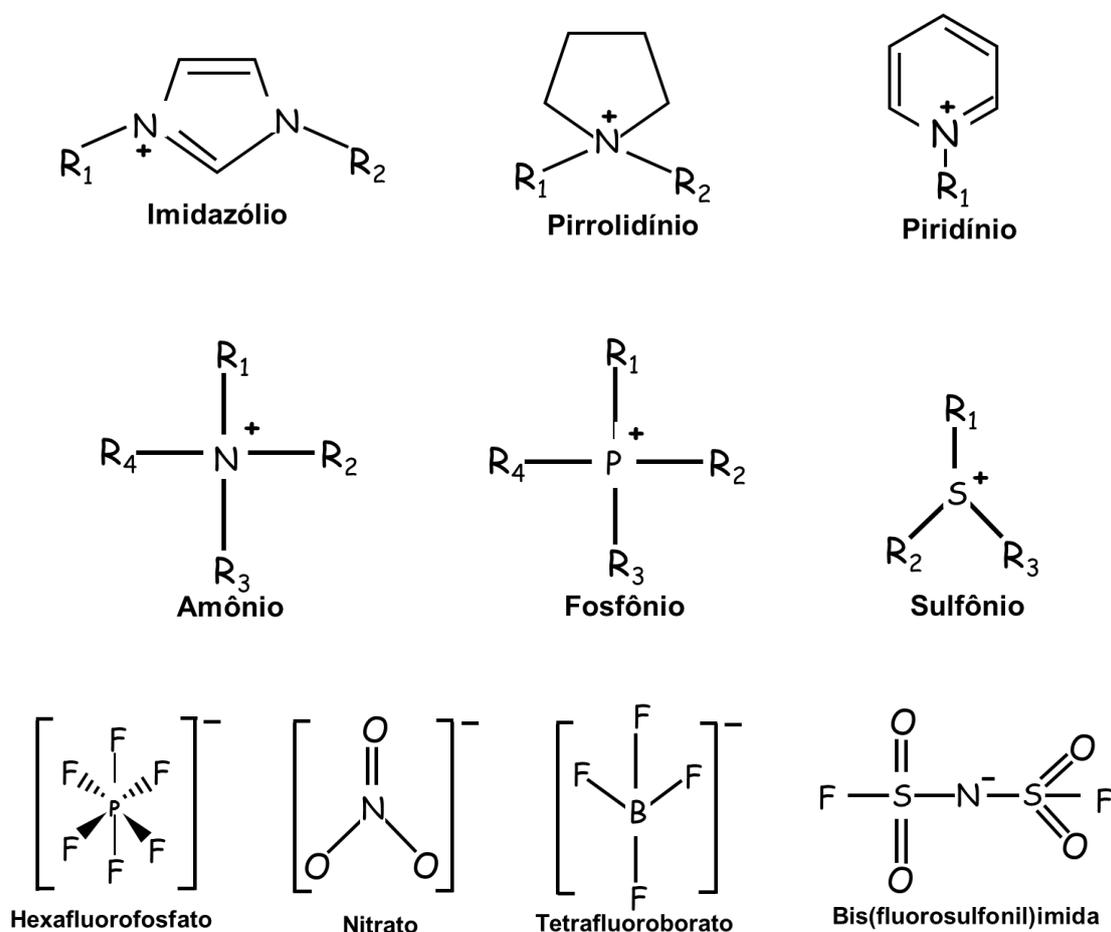
CTF: cloreto de tetradecilo (tri-hexil) fosfonio; MMT: Metilciclopentadienil-manganês tricarbonil; ESP: espectrometria

Técnica de microextração	Elemento	Técnica de detecção	Solvente extrator		Amostra		LD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	EF	Referência
			Tipo	Volume ( $\mu\text{L}$ )	Tipo	Volume (mL)			
IL-SDME	Pb	ETAAS	[C <sub>4</sub> MIM][PF <sub>6</sub> ]	7,0	Água e leite	1,75	0,015	76	[45]
IL-SDME	Mn	ETAAS	[C <sub>6</sub> MIM][PF <sub>6</sub> ]	4,0	Água	1,8	0,024	30,3	[43]
IL-SDME	Co	ETAAS	[C <sub>6</sub> MIM][PF <sub>6</sub> ]	9,0	Água	1,70	0,04	120	[46]
CVILAHS-SDME	Hg	ETAAS	CTF	6,0	Água, peixe, cabelo e vinho	10,0	0,01	75	[27]
IL-SDME	Pb	ETAAS	[C <sub>4</sub> MIM][PF <sub>6</sub> ]	4,0	Águas naturais	1,50	0,0032	32	[47]
IL-HS-SDME	MMT	ETAAS	[C <sub>4</sub> Min][PF <sub>6</sub> ]	2,5	Água e gasolina	11,0	0,01	124	[44]
IL-SDME	Cu	ESP	[C <sub>4</sub> Min][PF <sub>6</sub> ]	20	Água e alimentos	10,0	0,15	33	[48]
IL-SDME	Cd	ETAAS	[C <sub>4</sub> MIM][PF <sub>6</sub> ]	20,0	Água e arroz	10,0	0,015	42	[49]

### 1.3.1 Estrutura e propriedades dos líquidos iônicos

Os líquidos iônicos podem ser definidos como sais orgânicos que apresentam ponto de fusão inferior a 100 °C. Geralmente os ILs são formados através da combinação de cátions orgânicos grandes e assimétricos com ânions orgânicos ou inorgânicos relativamente pequenos. Os principais cátions utilizados são fosfônio, amônio, sulfônio, piridínio, imidazólio, entre outros. Os principais ânions, por sua vez são haletos, nitratos, tetrafluorofosfato, entre outros. As Figuras 15 apresentam as principais estruturas dos cátions e ânions utilizados nos ILs [40].

**Figura 15.** Principais cátions e ânions dos ILs.



Os principais fatores que influenciam o ponto de fusão dos ILs são a simetria dos íons, as distribuições das cargas nos íons, as forças de Van der Waals e a capacidade de formar ligações de hidrogênio. Ânions que possuem maiores simetrias apresentam elevados pontos de fusão e vice-versa. A simetria do cátion também influencia no ponto de fusão. Quanto menor a simetria do cátion, menor o ponto de fusão, pois ocorre um desvio no empacotamento dos íons no retículo cristalino do sólido, diminuindo a energia de ligação. Os pontos de fusão dos ILS tendem a aumentar com a redução da cadeia alquílica. Entretanto, compostos que apresentam cadeia carbônica com 8-10 átomos de carbono, tendem a aumentar os pontos de fusão, devido às forças de Van de Waals [50].

A viscosidade dos líquidos iônicos é determinada pela sua forte tendência em formar ligações de hidrogênio e pela força das suas interações de Van de Waals. Os líquidos iônicos possuem uma elevada viscosidade, propriedade físico-química que é uma grande vantagem em procedimentos que envolve a SDME, pois proporciona maiores volumes da fase extratora e uma maior aderência do extrato na ponta da microseringa. Em alguns casos, a viscosidade do ILs pode ser reduzida através do aumento da temperatura. A Tabela 4 apresenta as propriedades físico-químicas dos principais ILs utilizados em SDME [51; 52].

**Tabela 4.** Propriedades físico-químicas dos líquidos iônicos mais utilizados em SDME.

Líquido iônico	Fórmula molecular (g mol <sup>-1</sup> )	Densidade a 25 °C (g cm <sup>-3</sup> )	Massa molar (g mol <sup>-1</sup> )	Ponto de Fusão (°C)	Tensão superficial (mN m <sup>-1</sup> )	Viscosidade (cP)	Solubilidade em H <sub>2</sub> O (g L <sup>-1</sup> )
[C <sub>4</sub> MIM][PF <sub>6</sub> ]	C <sub>8</sub> H <sub>15</sub> F <sub>6</sub> N <sub>2</sub> P	1,31-1,36	284,1	4-10	-48,8	207-450	18
[C <sub>6</sub> MIM][PF <sub>6</sub> ]	C <sub>10</sub> H <sub>19</sub> F <sub>6</sub> N <sub>2</sub> P	1,30	312,24	-61	43,4	560-586	7,5
[C <sub>8</sub> MIM][PF <sub>6</sub> ]	C <sub>12</sub> H <sub>23</sub> F <sub>6</sub> N <sub>2</sub> P	1,24-1,27	340,29	-82 a -40	37,7	682-982	2

[C<sub>4</sub>MIM][PF<sub>6</sub>]: hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio; [C<sub>6</sub>MIM][PF<sub>6</sub>]: hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metilimidazólio; [C<sub>8</sub>MIM][PF<sub>6</sub>]: hexafluorofosfato de 1-octil-3-metilimidazólio

---

---

**CAPÍTULO II**

---

---

**MÉTODOS ENVOLVENDO A MICROEXTRAÇÃO COM GOTA SUSPensa  
PARA DETERMINAÇÃO DE MANGANÊS EM AMOSTRAS DE BEBIDAS E  
PESCADOS**

## 2.0 OBJETIVOS

### 2.0.1 Geral

Desenvolver sistemas utilizando a SDME e a CFME para pré-concentração de manganês em amostras de bebidas e pescados com determinação por espectrometria de absorção com forno de grafite.

### 2.0.2 Específicos

- Otimizar e validar os sistemas de microextração com gota suspensa com detecção por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite;
- Investigar o uso do irídio e tungstênio como modificador permanente;
- Comparar a eficiência de extração e pré-concentração dos métodos de microextração desenvolvidos;
- Aplicar o método proposto em amostras de bebidas e pescados para determinar o teor de manganês.

## 2.1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1.1 Aspectos gerais do elemento manganês

O elemento manganês (Mn) é localizado no grupo 7 da tabela periódica, apresentando número atômico 25 e massa atômica  $55 \text{ g mol}^{-1}$ . Apresenta cinco diferentes estados de oxidação: Mn(+2); Mn(+3); Mn(+4); Mn(+6); Mn(+7), embora apenas os que variam de -3 a +7 tenham sido observados. Dentre estes, o estado de oxidação (+2) caracteriza-se como o mais estável. O manganês é um metal de aspecto cinza-prateado, dúctil, quebradiço, difícil de fundir, podendo ser facilmente oxidado. A Tabela 5 mostra algumas de suas características físico-químicas [53].

**Tabela 5.** Características físico-químicas do manganês.

Grandeza	Valor	Unidade
Entalpia de fusão	12,41	KJ mol <sup>-1</sup>
Entalpia de vaporização	221	Kj mol <sup>-1</sup>
Configuração eletrônica	[Ar] 4s <sup>2</sup> d <sup>5</sup>	-
Condutividade térmica	7,82	W/(m°C)
Densidade	7,47	g cm <sup>-3</sup>
Estados de oxidação	+7, +6, +4, +3, +2, 0, -3	-
Ponto de ebulição	2120	°C
Ponto de fusão	1250	°C

O Mn<sup>2+</sup> é um elemento essencial para o metabolismo humano e desempenha diversas funções no organismo. É fundamental na formação dos ossos e tecidos, possui funções reprodutivas, atua na ativação de muitas enzimas ligadas aos processos metabólicos vitais, e a deficiência desse nutriente no organismo pode influenciar no crescimento, provocar anormalidades esqueléticas, e ainda, a desmineralização óssea [43].

#### 2.1.1.1 Fontes de manganês em alimentos

Atualmente, a demanda por alimentos saudáveis exige um controle rigoroso de qualidade sendo de grande importância observar a composição elementar desses produtos. Nesse contexto, o manganês é um elemento traço essencial aos seres humanos, com concentrações que variam acentuadamente. Sua necessidade diária não passa de poucos miligramas, sendo recomendada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), uma concentração de 2-8 mg/dia de Mn(II) para uma dieta a ser consumida por um adulto [54].

Em corpos de água doce e superficiais, o Mn(II) pode ser encontrado na forma solúvel e também na forma suspensa. Nos oceanos, é encontrado na forma de dióxido de manganês (MnO<sub>2</sub>), produzido a partir da ação de bactérias sobre os sais do metal. Estudos revelam que o transporte do Mn(II) é

favorecido, principalmente, pelas variações de pH. Em meio ácido, as formas insolúveis de Mn apresentam mobilidade na forma livre e tendem a atingir águas subterrâneas e precipitar [55].

Existem diversas agências regulamentadoras e governos que estabelecem um controle rigoroso da concentração de Mn(II) em sistemas aquáticos naturais, através de normas e limites de tolerância. O Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA), através da resolução Nº 357 de 2005, estabelece como limite máximo de Mn em águas salinas a concentração de  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  [89]. Já o grupo de estudo da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) sugeriu limites ocupacionais de manganês de  $30 \mu\text{g L}^{-1}$  para águas naturais [90].

## **2.1.2 Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS)**

### **2.2.1.1 Princípios e funcionamento**

A elevada sensibilidade da espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) faz dela uma técnica de detecção para determinar diversos elementos em concentrações 1000 vezes mais baixas do que a espectrometria de absorção com chama (F AAS). O princípio da técnica consiste em gerar uma nuvem de átomos densa e em condições controladas. Esta nuvem proporciona uma maior sensibilidade, e as condições controladas minimizam as interferências através do programa de aquecimento, possibilitando um ambiente isotérmico [56].

A GF AAS é considerada uma excelente estratégia analítica de introdução de amostras em determinações espectrométricas, uma vez que permite a separação do analito da matriz, aumentando a eficiência de transporte do analito por meio de um programa adequado de temperatura, diminuindo as possíveis perdas do analito durante o processo de atomização [56], sendo esta a principal diferença entre a GF AAS e a F AAS. As etapas do programa de temperaturas envolvidas são: secagem, pirólise, atomização e limpeza [56].

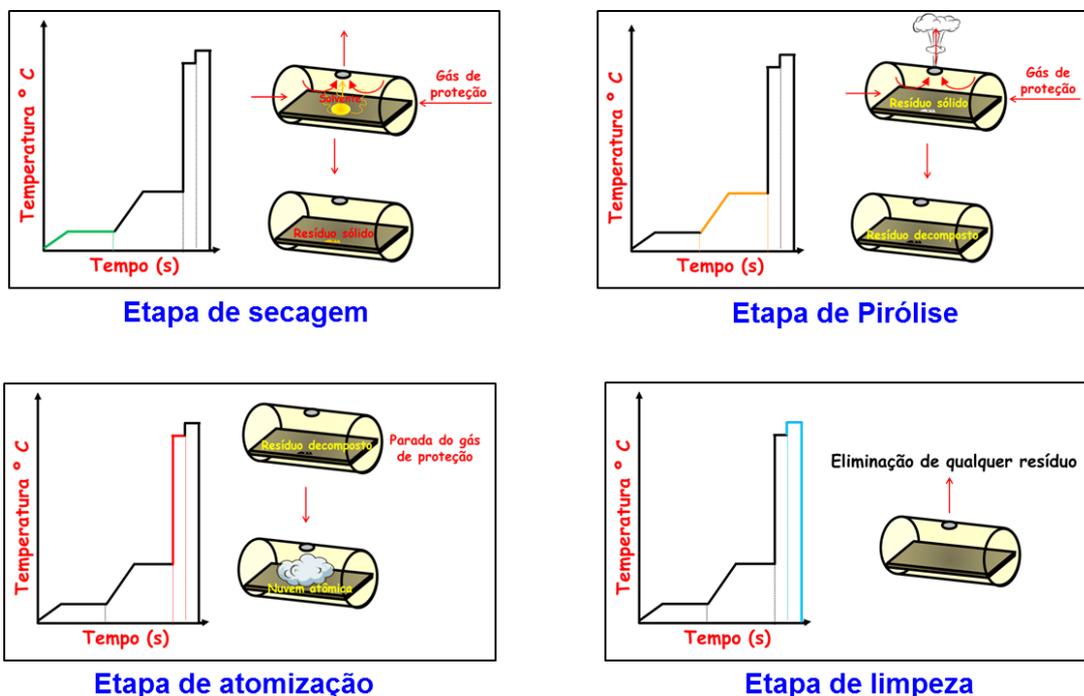
**1. Etapa de secagem:** consiste na evaporação do solvente da solução da amostra a uma dada temperatura (~110 °C). Essa etapa é um pouco lenta, para que não ocorra projeção da amostra.

**2. Etapa de pirólise:** etapa onde ocorre a destruição da matriz, com decorrente eliminação seletiva de seus componentes inorgânicos e orgânicos, deixando-a “menos complexa” para análise. Nessa etapa ocorre elevação da temperatura (~300-1200 °C), sendo uma fase lenta, para que não ocorra a volatilização do analito.

**3. Etapa de atomização:** ocorre com a formação da nuvem atômica do analito e com a detecção do sinal de absorvância. O fluxo de gás é interrompido durante a atomização para evitar que o analito seja expulso para fora do forno. Essa etapa ocorre a uma temperatura entre 2000-3000 °C em poucos milissegundos a segundo, sendo rápida, para que o analito seja volatilizado de forma simultânea. Dependendo do tipo de matriz, torna-se necessário uma etapa de pré-pirólise.

**4. Etapa de limpeza:** consiste na eliminação de todo e qualquer resíduo da amostra no tubo de grafite. A faixa de temperatura varia entre 2200-3000 °C, sendo uma etapa muito rápida. A Figura 16 apresenta as etapas envolvidas durante o programa de aquecimento.

**Figura 16.** Etapas envolvidas no programa de aquecimento do GF AAS.



Apesar do adequado programa de temperatura, a técnica GF AAS tem mostrado uma susceptibilidade à interferências de matriz, as quais podem causar severas reduções ou aumentos no sinal analítico. A presença de interferências químicas pode ser causada pela reação entre a espécie de interesse e as paredes quentes do forno de grafite formando carbetos refratários e a formação de moléculas gasosas estáveis que são perdidos antes de serem decompostas em átomos. Então, a utilização de estratégias como modificação química passou a ser empregada nas análises por GF AAS. O uso de modificadores químicos foi proposto Richard D. Ediger, em 1974 e, possuem a função de diminuir a produção de compostos térmicos dos íons interferentes e/ou dificultar a volatilização do analito [57].

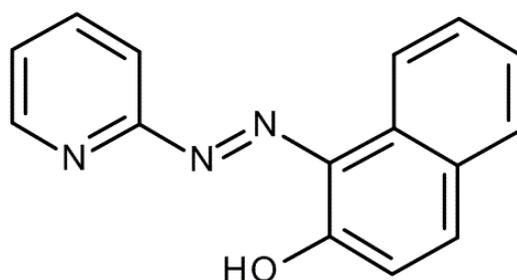
O modificador químico pode atuar de duas formas: combinando-se com o analito e aumentando sua estabilidade térmica, ou combinando-se com a matriz, aumentando sua volatilidade. Existem dois tipos de modificações químicas: os modificadores convencionais e permanentes. O convencional está presente em solução e é adicionado antes, depois ou conjuntamente com a amostra, e a modificação química permanente consiste na introdução de várias alíquotas de solução de modificador químico na superfície da plataforma de grafite, seguido por etapas de secagem-pirólise, obtendo uma camada do modificador químico termicamente depositada na superfície do tubo de grafite [58]

Os principais elementos usados como modificadores convencionais são o Cu, Ni, Pd/Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> e ácido cítrico. Já os modificadores permanentes são geralmente metais nobres de alto ponto de fusão, como os do grupo da platina (Ir, Pd, Pt, Rh, Ru) e os elementos que formam carbetos (Mo, Nb, Re, Ta, Ti, V, W, Zr, Hf, B, Si), podendo ser empregados individualmente ou combinados [58].

### 2.1.3 O reagente 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN) e o 2-(5-bromo-piridilazo)-5-dietilaminofenol (Br-PADAP)

O reagente PAN é um pulverizado cristalino de coloração laranja-avermelhada de massa molecular  $249,27 \text{ g mol}^{-1}$ , e possui ponto de fusão entre  $140$  e  $142^\circ \text{ C}$ . É bastante estável no estado sólido e praticamente insolúvel em água, sendo solúvel em soluções ácidas, soluções fortemente alcalinas e vários solventes orgânicos. Na Figura 17 é mostrada a estrutura do reagente [59].

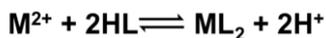
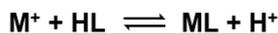
**Figura 17.** Fórmula estrutural do 1-(2- piridilazo)-2-naftol.



Os compostos azo possuem a estrutura básica  $\text{Ar-N=N-Ar}_1$ , onde Ar e  $\text{Ar}_1$  representam grupos aromáticos quaisquer. Essas substâncias apresentam coloração intensa devido a presença da ligação azo ( $-\text{N}=\text{N}-$ ), que provoca a conjugação de dois anéis aromáticos. Essa conjugação forma um extenso sistema de elétrons  $\pi$  deslocalizados e possibilita a absorção da luz na região do visível que confere cor brilhante a estes compostos [60].

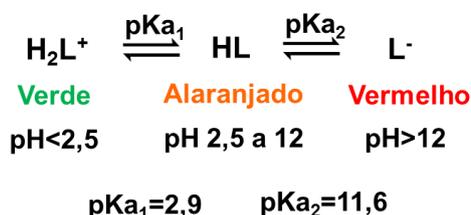
Os reagentes da classe dos piridilazo, na qual o PAN está incluído, comportam-se como ligantes tridentados e formam quelatos com íons metálicos através do átomo de oxigênio do grupo orto-hidroxila, átomo de nitrogênio da piridina e um dos átomos de nitrogênio do grupo azo. A razão molar metal pode ser representada de duas formas: 1:1 e 1:2 [61].

Uma representação da reação de complexação envolvendo as duas razões molares é apresentada, onde M é o metal e HL é a forma neutra do PAN.



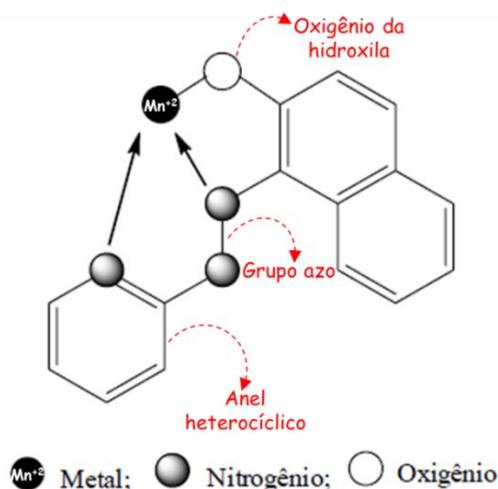
O PAN reage com vários íons metálicos, formando diversos complexos coloridos. A reação que ocorre entre o reagente complexante e os íons metálicos depende da variação da concentração hidrogeniônica do meio reacional, isso se deve a protonação em meio ácido do átomo de nitrogênio do grupo piridina e da ionização do hidrogênio do grupo hidroxila em meio básico. A mudança de cor varia de acordo com o pH do meio reacional. Na Figura 18, são apresentadas as três formas químicas ácido-base do PAN. [62].

**Figura 18.** Representação do equilíbrio ácido base do reagente complexante PAN.



Os compostos piridilazo são derivados da 2-aminopiridina, sendo que a síntese dos seus reagentes envolve o acoplamento do piridildiazotato, (geralmente realizado com alguma dificuldade) com uma substância fenólica em atmosfera de dióxido de carbono. A estrutura do quelato metálico  $Mn^{2+}$ +PAN é mostrada na Figura 19 [63].

**Figura 19.** Estrutura do quelato  $Mn^{2+}$ +PAN.



Outro reagente largamente utilizado como reagente espectrofotométrico para determinação de íons metálicos, principalmente os cátions dos metais de transição é o 2-(5-bromo-piridilazo)-5-dietilaminofenol, conhecido como Br-PADAP. Esse reagente possui ponto de fusão na faixa de 151 a 152 °C, sendo muito solúvel em diversos solventes orgânicos e apresenta uma baixa solubilidade em água. É bastante estável e forma complexos coloridos, como ligante tridentado. O complexo metal e reagente é formado a partir do acoplamento do m-dietilaminofenol com 2-amino-5-bromo-piridilazo em solução etanólica [64].

## 2.2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

### 2.2.1 Instrumentação

Todas as determinações de Mn(II) e o estudo dos parâmetros da SDME foram realizadas utilizando um espectrômetro de absorção atômica modelo AAnalyst 400 e um forno de grafite modelo HGA 900, ambos adquiridos pela Perkin Elmer (Shelton, EUA). A correção do sinal de fundo foi realizada com uma lâmpada de deutério. A fonte de radiação utilizada foi uma lâmpada de cátodo oco de manganês (Perkin Elmer), usando a linha espectral principal em 279,48 nm. Tubos de grafite piroliticamente revestidos e plataforma integrada foram utilizados com módulo de aquecimento transversal. O gás argônio com alta pureza 99,99% v/v, White Martins, Salvador, BA, Brasil foi utilizado como gás purga e de proteção durante todas as fases de aquecimento, exceto durante a etapa de atomização. Para as medições, 5,0 µL do solvente extrator foram injetados através de uma seringa cromatográfica diretamente no tubo de grafite. O sinal de absorvância foi obtido pela integração da área de pico. Os parâmetros instrumentais utilizados seguiram as recomendações do fabricante e são apresentados na Tabela 6:

**Tabela 6.** Condições operacionais na determinação de Mn(II) por ET AAS.

<b>Parâmetros</b>	<b>Valores</b>
Comprimento de onda (nm)	279,48
Corrente da lâmpada (mA)	20
Banda espectral (nm)	0,5
Corretor de radiação de fundo	Lâmpada de deutério
Fluxo do gás de purga (mL min <sup>-1</sup> )	250 (Argônio)

Foram utilizados, em todos os estudos para a formação da gota suspensa, uma microseringa de vidro com capacidade interna de 10 µL com uma ponta e um embolo de aço inoxidável (modelo Hamilton); tubos capilares de teflon de 3,0 mm de diâmetro interno e 0,5 cm de comprimento foram inseridos na ponta da agulha. Depois da realização dos experimentos, os capilares de teflon foram lavados com álcool e, em seguida, com água desionizada. Nenhum efeito oxidativo foi observado na ponta da microseringa durante o trabalho. Um agitador magnético, modelo Fisatom 754, foi utilizado para promover a transferência de massa no momento da extração do PAN-Mn(II). O pHmetro, (Quimis - modelo Q400AS) foi utilizado para ajustar o pH no preparo das soluções tampão.

### 2.2.2 Reagentes e soluções

Todos as soluções aquosas foram preparadas a partir de reagentes com grau de pureza analítica e água desionizada ultrapura, obtida de um purificador ELGA (Modelo Classic UF MK2) com resistividade maior que 18,2 mΩ. cm. As vidrarias e frascos utilizados no preparo das soluções foram previamente colocados em banho ácido contendo solução de HNO<sub>3</sub> 10% (v v<sup>-1</sup>), por no mínimo 24h e, posteriormente, lavados com água ultrapura antes do uso. Abaixo estão listados todos os reagentes/marca durante o desenvolvimento do trabalho.

- Solução padrão de Mn 1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (Fluka, São Paulo, Brasil)
- Ácido nítrico a 65% (m/v) (MERCK); Ácido clorídrico a 37% (m/v) (MERCK); Acetona (MERCK);
- Etanol a 99% (v/v) (MERCK);
- Cloreto de amônio P. A. (VETEC);
- Hidróxido de amônio P. A. (MERCK);
- Hidróxido de sódio (MERCK);
- Borato de sódio (SYNTH);
- Acetato de sódio anidro (SYNTH);
- Ácido acético glacial (MERCK);
- Ácido acético (MERCK);
- Líquido iônico: Hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio  $[\text{C}_4\text{MIN}][\text{PF}_6]$  (SIGMA);
- 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN).

A partir dos reagentes listados acima as soluções foram conduzidas seguindo os procedimentos abaixo:

#### **Solução de manganês 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$**

As soluções foram preparadas através da diluição de uma solução estoque de manganês 1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (padrão para absorção atômica, Sigma-Aldrich) com água ultra pura.

#### **Soluções de ácido nítrico**

As soluções foram preparadas medindo-se quantidades apropriadas do ácido e diluindo-se com água ultra pura.

#### **Solução de hidróxido de sódio**

As soluções de hidróxido de sódio foram preparadas pesando-se quantidades apropriadas do reagente e diluindo-se com água ultra pura.

#### **Solução de PAN a 0,05 % m v<sup>-1</sup>**

A solução do reagente 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN) foi preparada pesando-se 0,05 g do composto sólido e diluindo-se com álcool etílico absoluto para um balão volumétrico de 100,0 mL.

#### **Solução de cloreto de potássio (pH 2,0 -3,0)**

Foi pesado 0,37 g de cloreto de potássio, dissolveu em 42,50 mL de ácido clorídrico 0,20 mol L<sup>-1</sup> e diluiu em 100 mL de água ultrapura.

**Solução tampão acetato de sódio (pH 4,0-5,5)**

Foi pesado 82,00g de acetato de sódio anidro, dissolveu em 1000 mL de água ultrapura e ajustou o pH com ácido acético glacial.

**Solução tampão fosfato (pH 6,5-7,5)**

Foi pesado 28,39 g de fosfato ácido de sódio, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, e 23,99 g de fosfato diácido de sódio, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, e dissolveu em 100 mL de água ultrapura.

**Solução tampão borato de sódio (pH 8,0-8,5)**

Foi pesado 38,13 g de tetraborato de sódio, dissolveu em 1000 mL de água ultrapura e ajustou o pH com solução de ácido clorídrico.

**Solução tampão amoniacal (pH 9,0 e 10)**

Foi pesado 53,50 g de cloreto de amônio, dissolveu em 1000 mL de água ultrapura e ajustou o pH com hidróxido de amônio.

## 2.2.3 Pré-tratamento das amostras

### 2.2.3.1 Digestão ácida das amostras reais

As amostras de bebidas alcoólicas foram coletadas na cidade de Jequié, estado da Bahia, Brasil. Foram utilizadas amostras de jurubeba (Leão do Norte), Catuaba (açai, mel e tropical) e conhaque de alcatrão. Um volume de 5,0 mL das amostras de bebidas foram introduzidas em um tubo de ensaio apropriado para o bloco digestor, adicionados 2,0 mL de ácido nítrico concentrado e 2,0 mL de peróxido de hidrogênio 30% (v/v). A mistura foi aquecida em um bloco digestor a 120°C durante 5,0 horas. Após o resfriamento à temperatura ambiente, o pH da solução residual foi ajustado para 7,0 com hidróxido de sódio. Finalmente, a amostra foi transferida para um balão volumétrico de 10,0 mL, e o volume completado com água ultrapura. Em seguida, o procedimento proposto de microextração foi aplicado para as amostras digeridas, analisadas em triplicata.

As amostras de peixe: robalo (*Centropomus undecimalis*) e tainha (*Mugil brasiliensis*) e do molusco: sururu (*Mytella guyanensis*) foram coletadas no município de São Francisco do Conde, Bahia, Brasil. Uma massa de

aproximadamente 0,100 g das amostras foi pesada em recipiente de PTFE. Em seguida, foram adicionados 0,5 mL de peróxido de hidrogênio e 1,5 mL de ácido nítrico concentrado. O sistema fechado foi mantido em uma estufa a 110°C durante 6,0 h. Após o arrefecimento até à temperatura ambiente, o pH do digerido foi ajustado para 8,0 com solução diluída de NaOH. e adicionado ao balão volumétrico de 25,0 mL contendo solução tampão adequada e o volume final aferido com água ultrapura. Brancos de reagentes também foram preparados. Desta forma, as soluções de amostras e os brancos dos reagentes foram submetidas ao procedimento de microextração com gota suspensa.

### **2.2.3.2 Digestão do material de referência certificado**

Aproximadamente 0,1 g de amostra foi pesada em um recipiente de PTFE. Em seguida, foram adicionados 1,5 mL de ácido nítrico a 65% (m/m) e 1,0 mL de peróxido de hidrogênio a 30% (v/v), tendo a mistura sido depositada em uma bomba de digestão ácida. O sistema foi mantido por 4 horas a uma temperatura de 110 °C em estufa. Após resfriamento à temperatura ambiente, o pH do digerido foi ajustado para 7,0 com solução de hidróxido de sódio. Finalmente, a amostra foi transferida para um balão volumétrico de 50,0 mL, adicionou-se tampão borato pH 8,0 na solução e o volume completado com água ultrapura.

### **2.2.3.3 Procedimento de modificação permanente do tubo de grafite**

Antes das análises para determinação de Mn(II) por GF AAS, tubos de grafite com plataforma integrada foram revestidos com 250 µg dos modificadores permanentes tungstênio e irídio. O procedimento realizado foi baseado nos estudos de Cassella et al. (2011), em que 5 injeções de 50µL da mistura de uma solução contendo 1000 mg L<sup>-1</sup> de W e 1000 mg L<sup>-1</sup> de Ir foram depositadas na superfície da plataforma com auxílio de uma micropipeta. A cada injeção o tubo era submetido às etapas do programa de temperatura, mostrado na Tabela 7:

**Tabela 7.** Programa de temperatura do GF AAS para o tratamento da plataforma do tubo de grafite com modificador permanente de tungstênio e irídio ( $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ ).

<b>Etapa</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Rampa(s)</b>	<b>Patamar (s)</b>	<b>Fluxo de gás (mL min<sup>-1</sup>)</b>
Secagem 1	90	5	30	250
Secagem 2	140	5	30	250
Pirólise 1	1000	10	10	250
Atomização	2000	0	5	0
Limpeza	2600	1	10	250

Fonte: Próprio autor.

#### **2.2.3.4 Estudo do comportamento eletrotérmico: temperaturas de pirólise e atomização utilizando tungstênio e irídio como modificador permanente**

As temperaturas de pirólise e atomização foram otimizadas em várias etapas distintas, através do programa de aquecimento. O argônio foi utilizado como gás de purga e a sua vazão foi fixada em  $250 \text{ mL min}^{-1}$  nas etapas de secagem, pirólise e limpeza, sendo interrompido durante a etapa de atomização. As condições operacionais do equipamento utilizado para a determinação de manganês são mostradas na Tabela 8.

**Tabela 8.** Programa de aquecimento utilizado para a determinação de Mn (II).

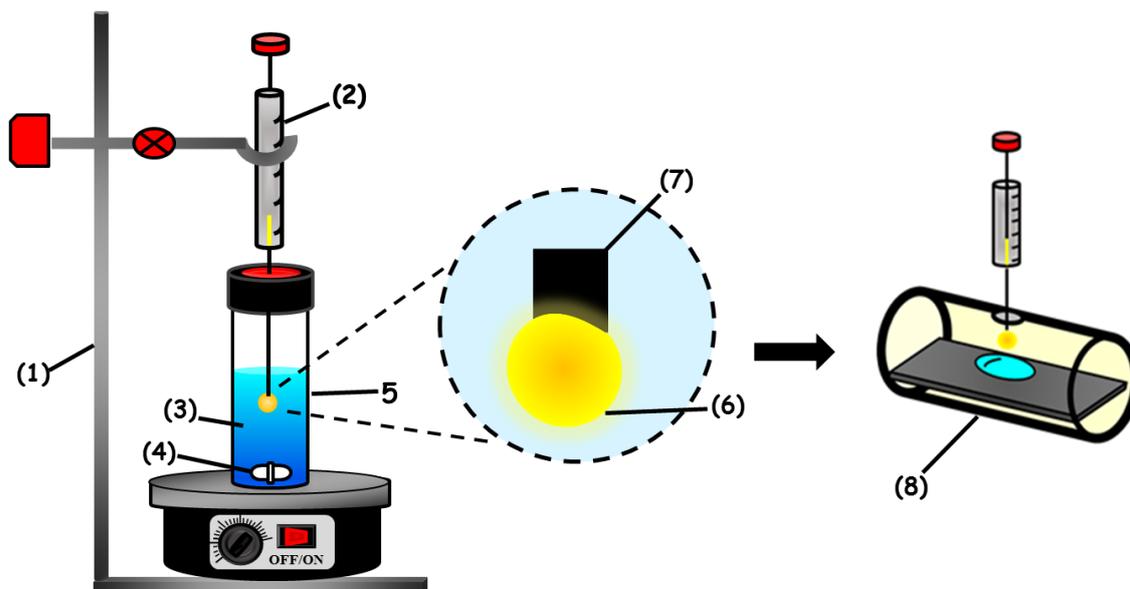
<b>Etapa</b>	<b>Temperatura (° C)</b>	<b>Rampa (s)</b>	<b>Patamar (s)</b>	<b>Fluxo de gás (mL min<sup>-1</sup>)</b>
<b>Secagem 1</b>	120	20	10	250
<b>Pirólise 1</b>	1000	5	40	250
<b>Pirólise 2</b>	1000	1	3	250
<b>Atomização</b>	2300	0	4	0
<b>Limpeza</b>	3000	2	2	250

Fonte: Próprio autor.

#### **2.2.3.5 Procedimento de pré-concentração e determinação de Mn(II) envolvendo a microextração com gota suspensa por imersão direta.**

Soluções contendo 1,5 mL de Mn(II) com concentração de 1,0 µg.L<sup>-1</sup> foram transferidas para frascos de vidro com capacidade de 2 mL. Em seguida, foram adicionados 200 µL do tampão borato pH 8,0 e 10 µL do agente quelante PAN 0,05 % (m/v). Posteriormente, utilizou-se um suporte universal, juntamente com uma pinça para fixar a microseringa cromatográfica à solução aquosa de manganês. Então, uma quantidade de 5,0 µL do solvente extrator [C<sub>4</sub>MIM][PF<sub>6</sub>] foi aspirado por meio de uma microseringa, e a ponta da agulha acoplada com teflon, foi mantida em contato direto com a amostra da solução, formando-se uma microgota. O sistema foi acomodado sobre um agitador magnético com uma velocidade de agitação de 400 rpm durante 7 minutos sob temperatura ambiente. Após a extração, a microgota foi recolhida para dentro da microseringa e inserida diretamente no forno de grafite para a medida da absorvância. As Figuras 20 e 21 apresentam uma representação esquemática do sistema desenvolvido.

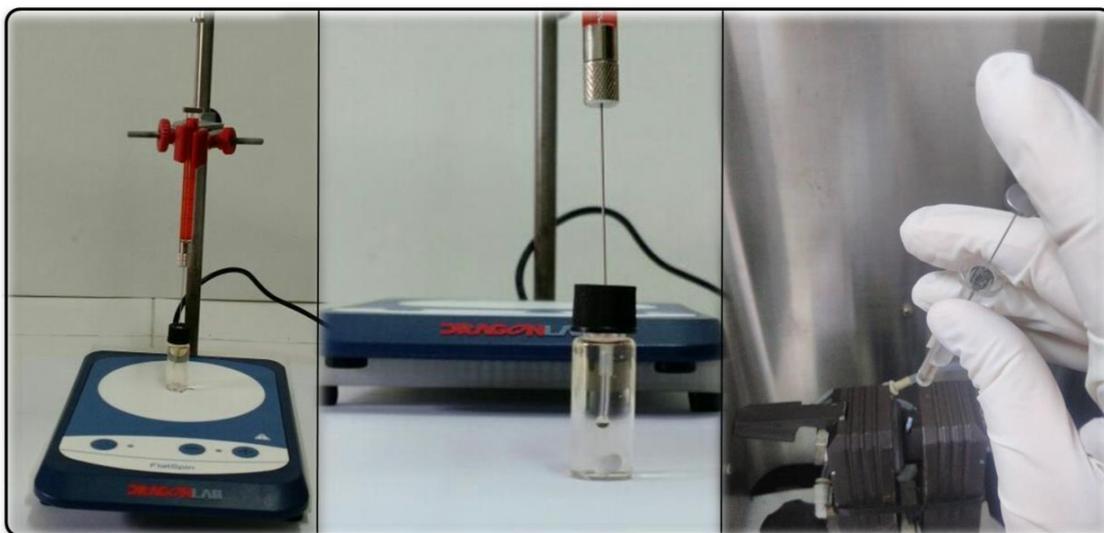
**Figura 20.** Representação esquemática do sistema para pré-concentração e determinação de Mn(II) por GF AAS.



(1) Suporte com pinça; (2) Microseringa; (3) Solução aquosa; (4) Barra magnética; (5) Frasco de amostra; (6) Líquido iônico, (7) Ponta da seringa acoplada com tubo de teflon e (8) Tubo de grafite.

Fonte: Próprio autor

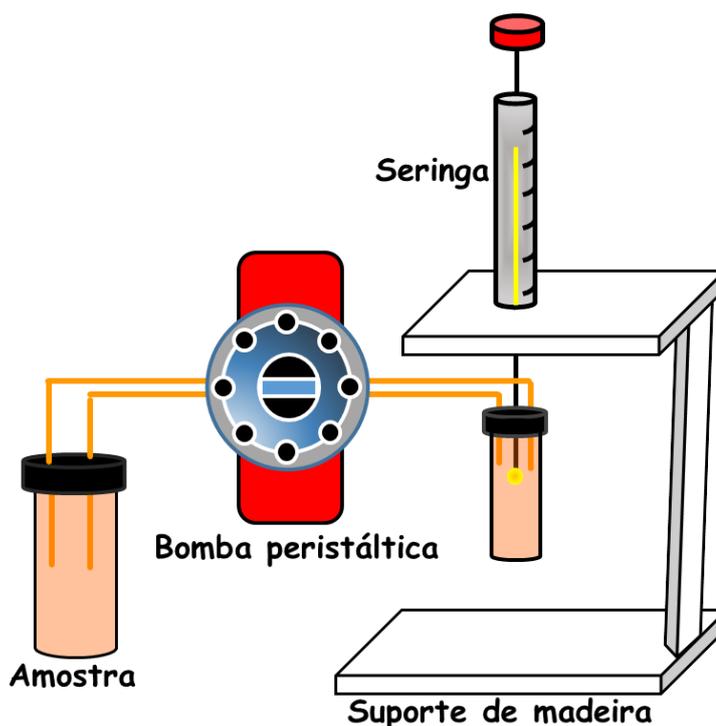
**Figura 21.** Fotos do sistema de microextração com gota suspensa para determinação de Mn(II).



### 2.2.3.6 Procedimento de pré-concentração e determinação de Mn(II) envolvendo a microextração com fluxo contínuo

Nesse trabalho foi desenvolvido um sistema com fluxo contínuo para pré-concentração Mn(II) e posterior detecção por GF AAS (Figura 22 e 23). Ele é constituído por uma bomba peristáltica de quatro vias com velocidade variável (Modelo BT100LC) e tubos capilares de PVC, sendo que a ponta desse tubo foi inserida no reservatório da amostra de origem. O procedimento experimental iniciou-se com o enchimento de toda a tubagem do sistema com uma solução de Mn (II), com o auxílio de uma bomba peristáltica ligada a uma vazão constante de  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ . A câmara de extração foi preenchida com 2,0mL da solução e, em seguida, 5,0  $\mu\text{L}$  do solvente extrator  $[\text{C}_4\text{MIM}][\text{PF}_6]$  foi injetado no fluxo da amostra para que a extração fosse promovida através da recirculação da solução aquosa que passava pela gota estática durante 20 minutos. Finalmente, a gota foi succionada e inserida diretamente no forno de grafite.

**Figura 22.** Sistema de microextração em linha com fluxo contínuo para a determinação de manganês.



Fonte: Próprio autor.

**Figura 23.** Fotos do sistema de microextração em linha com fluxo contínuo para a determinação de Mn(II).



## 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.3.1 Otimização das variáveis

As principais variáveis foram estudadas de forma univariada e uma solução de Mn(II)  $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$  foi utilizada para todos os estudos envolvidos. As otimizações foram conduzidas seguindo duas vertentes. A primeira, estudando os parâmetros da eficiência na quantificação durante as determinações de Mn por GF AAS, sendo os principais parâmetros: temperaturas de pirólise e atomização; a segunda, os principais fatores experimentais que afetam a eficiência de extração, na qual se encontram: tempo de extração, pH, velocidade de agitação ou vazão da amostra, volume da gota e concentração do agente quelante.

#### 2.3.1.1 Estudo das temperaturas de pirólise e atomização utilizando tungstênio e irídio como modificador permanente

Para investigar as condições térmicas ótimas para a determinação de Mn após o procedimento de microextração, um estudo da temperatura de pirólise e atomização foi realizado por meio da introdução direta de  $5,0 \mu\text{L}$  do solvente extrator  $[\text{C}_4\text{MIM}][\text{PF}_6]$  na plataforma integrada do forno de grafite. O tubo de grafite foi revestido com modificador químico permanente tungstênio

mais irídio na proporção de 1:1, devido às elevadas temperaturas empregadas na etapa de pirólise.

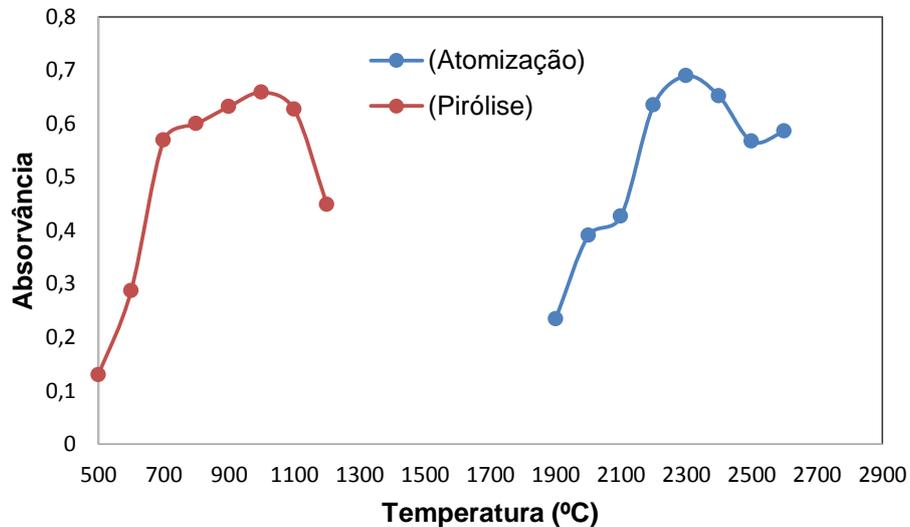
Para avaliar a influência da temperatura de pirólise sobre sinal analítico, variou-se a temperatura da etapa de pirólise na faixa de 500 a 1200 °C, mantendo constante a temperatura de atomização em 1900 °C. De acordo com a Figura 24, temperaturas de pirólise superiores a 1000 °C ocasionaram um decréscimo do sinal analítico. Observou-se também que, para temperaturas de pirólise inferiores, ocorre uma diminuição no sinal analítico, visto que não ocorreu a total eliminação dos componentes inorgânicos e orgânicos. Portanto, a temperatura de pirólise ótima foi de 1000 °C. Nessa condição, obtiveram sinais transientes mais definidos, com menores sinais de fundo. O baixo valor do sinal de background indicou a eliminação completa da matéria orgânica e ausência de resíduos no atomizador, diminuindo as interferências durante a etapa de atomização.

Para avaliar o efeito da temperatura de atomização sobre o sinal analítico, o procedimento realizado foi semelhante ao estudo da temperatura de pirólise, variando-se a temperatura de atomização na faixa de 1900 a 2600 °C e mantendo fixa a temperatura de pirólise em 500 °C. A etapa de atomização deve ser suficientemente elevada para gerar uma nuvem atômica, no menor tempo possível. Por outro lado, não pode ser exageradamente elevada, para não deteriorar prematuramente o tubo de grafite. O forno foi purgado com argônio durante cada etapa, exceto na atomização, para remoção do material volátil. Durante a atomização, o fluxo de gás interno foi interrompido para maximizar o tempo de residência dos átomos no caminho óptico e manter a isotermicidade, evitando que o analito seja projetado para fora do forno, e também para não interferir no sinal analítico.

A Figura 24 mostra, também o efeito da temperatura de atomização no sinal analítico para Mn(II). Observando-se a curva de atomização, verifica-se que temperaturas abaixo de 2300 °C, proporcionam uma diminuição do sinal analítico, visto que o analito não foi atomizado de forma satisfatória. Entretanto, para temperaturas superiores ao valor ótimo, observam-se maiores valores de background, indicando a possível presença de resíduo carbonáceo, oriundo da matéria orgânica da fase rica, que ficou acumulado no tubo de grafite,

originando maiores valores de background, interferindo na determinação de manganês. Portanto, a temperatura de atomização selecionada para o Mn(II) foi de 2300 °C.

**Figura 24.** Estudo do efeito de pirólise e atomização para Mn<sup>2+</sup>.

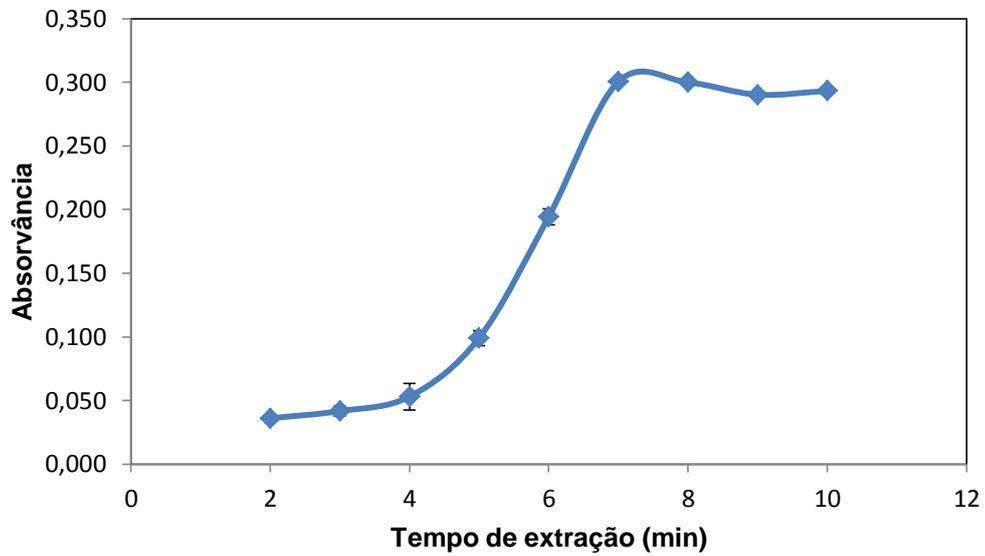


### 2.3.1.2 Tempo de extração

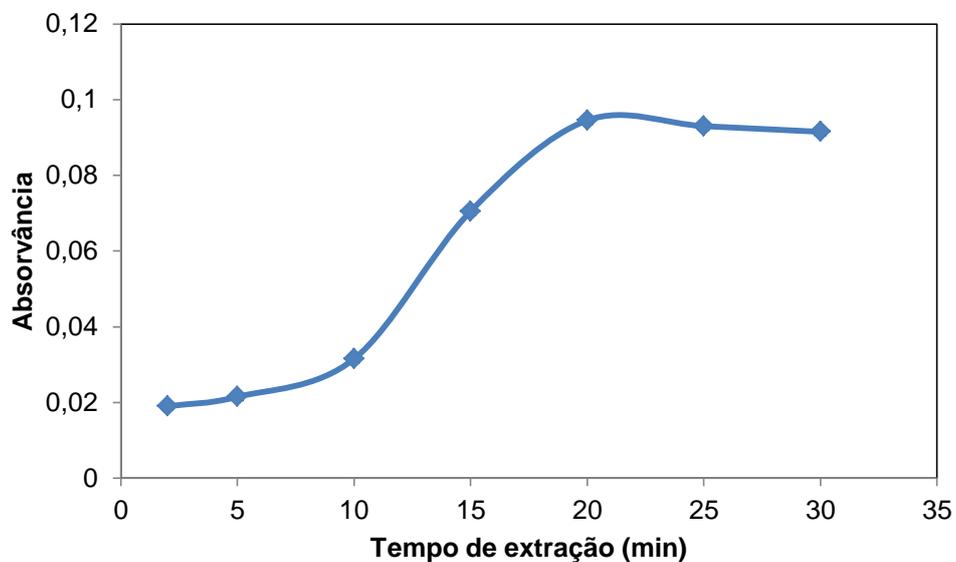
Em procedimentos que envolvem a SDME, o tempo de extração está relacionado com o equilíbrio que ocorre entre a fase doadora e a fase receptora [43]. Esta variável determina a quantidade de massa da espécie que ficará retida na gota extratora. A influência do tempo de extração foi estudada, variando-se o tempo de pré-concentração de 2,0 a 10 minutos para o sistema SDME e períodos entre 2,0 a 30 minutos para sistema em linha CFME. De acordo com Figura 25 e 26, foi possível observar uma linearidade entre o tempo de pré-concentração e a absorvância até o valor de 7 minutos para o sistema SDME e 20 minutos para o sistema CFME. A transferência do analito da fase doadora (amostra) para a fase receptora (gota) ocorre rapidamente, pois a área superficial entre o solvente extrator e a fase aquosa é muito elevada, fazendo com que o equilíbrio entre as fases seja alcançado rapidamente. Maiores intervalos de pré-concentração não afetam significativamente o sinal analítico, pois o equilíbrio entre as fases foi

alcançado. Nos experimentos posteriores, foi utilizado um tempo de 7,0 e 20 minutos para o sistema SDME e para sistema CFME, respectivamente.

**Figura 25.** Influência do tempo de contato na pré-concentração e determinação de Mn(II) por SDME.



**Figura 26.** Influência do tempo de contato na pré-concentração e determinação de Mn(II) por CFME.



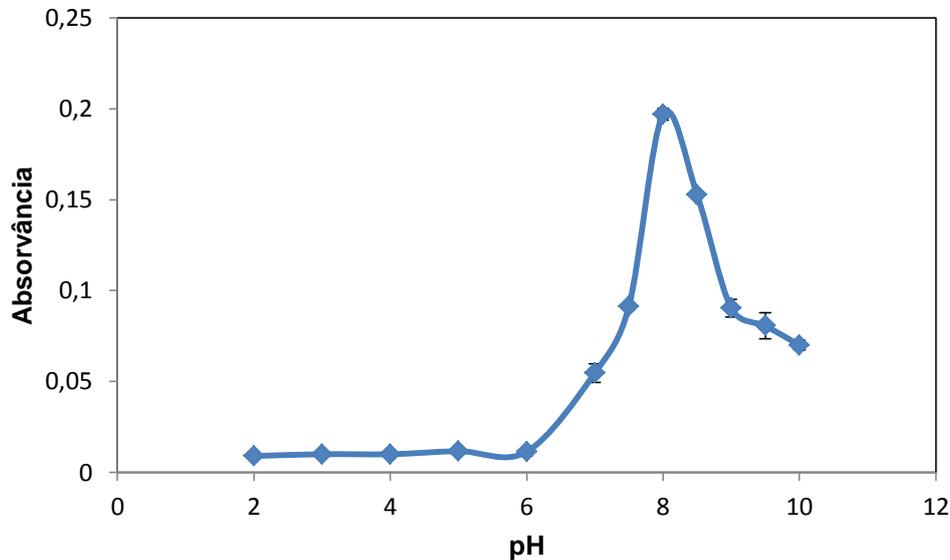
### 2.3.1.3 Estudo do tipo de solvente extrator e influência do pH

A escolha do solvente extrator foi baseada nas propriedades físicas e químicas, como densidade, viscosidade, solubilidade e pressão de vapor. A densidade deve ser maior que a da água, para permitir a formação da fase aceptora; a solubilidade e a pressão de vapor devem ser rigorosamente baixas, para evitar a perda da fase aceptora durante a extração. Os solventes extratores estudados foram clorofórmio, tricloroetileno, hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio [C<sub>4</sub>MIN][PF<sub>6</sub>] e hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metilimidazólio 1-HMIM [PF<sub>6</sub>]. Entre eles, o [C<sub>4</sub>MIN][PF<sub>6</sub>] obteve uma maior eficiência de extração, pois o 1-HMIM [PF<sub>6</sub>] apresentou uma elevada viscosidade devido à presença da cadeia longa do grupo 1-alquila, dificultando o processo de extração, pois parte do IL ficava retida nas paredes do tubo de grafite. Apesar do tricloroetileno possuir uma pressão de vapor menor que a do clorofórmio, este não teve uma boa afinidade com o complexo formado e, além disso, o formato esférico da gota foi comprometido, ficando partes do solvente nas paredes da seringa. Portanto, hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio [C<sub>4</sub>MIN][PF<sub>6</sub>] foi o solvente extrator utilizado em todos os estudos posteriores.

O estudo do pH de complexação é muito importante para formação do quelato Mn-PAN. Por isso, faz-se necessário realizar um estudo para estabelecer as melhores condições de pH. O pH das soluções de Mn(II) foi variado na faixa de 2,0 a 10,0, utilizando soluções-tampão acetato (4,0 - 6,0), borato (7,0 - 8,5) e amoniacal (9,0 - 10,0). De acordo com a Figura 27, o maior sinal analítico de Mn(II) apresentado foi em pH 8,0. Em meio ácido, a extração dos analitos praticamente não foi observada, pois a quantidade de PAN desprotonada para formação do complexo Mn-PAN não foi suficiente para a sua extração. Valores de pH acima de 8,0 o sinal decresce. Nessas condições, há um excesso de íons hidróxido precipitando na forma do respectivo hidróxido, diminuindo a formação do complexo Mn-PAN. Com base nos resultados obtidos, o pH 8,0 foi utilizado em todos os experimentos posteriores, pois viabilizou a maior formação do complexo. A influência da quantidade de tampão também foi avaliada, variando o volume entre 30, 50, 80, 100, 150 e 200 µL. Os resultados mostraram que a adição de 200 µL de tampão borato 0,1

mol L<sup>-1</sup> nas soluções aquosas das amostras foi suficiente para manter constante o pH.

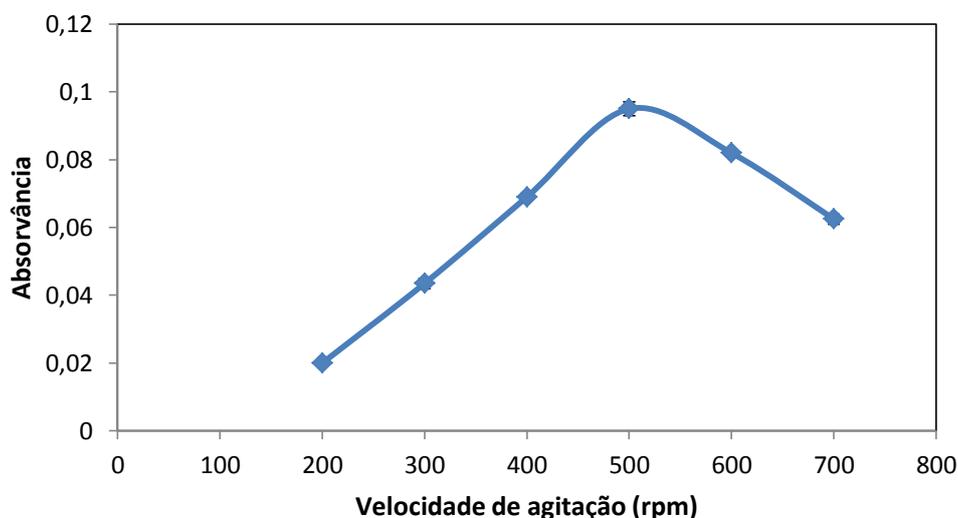
**Figura 27.** Influência do pH na pré-concentração e determinação de Mn(II) por SDME.



#### 2.3.1.4 Efeito da velocidade de agitação para SDME e vazão da amostra para CFME

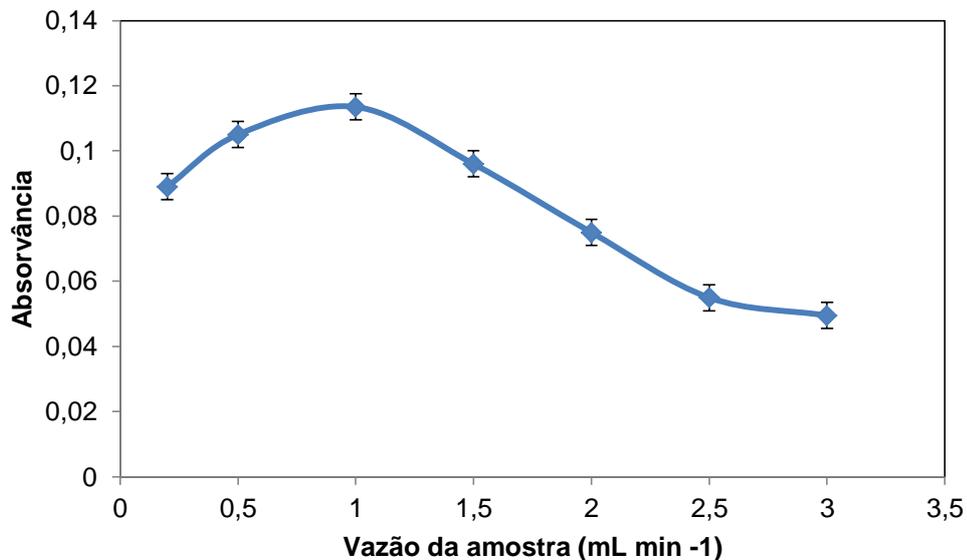
O estudo foi conduzido, variando-se a velocidade de agitação do sistema. O efeito da velocidade de agitação para SDME afeta significativamente a transferência de massa do analito para o solvente de extração. Um aumento na velocidade de agitação acelera a cinética de extração, facilitando a difusão entre a fase aquosa e a fase aceptora [42]. A velocidade de agitação variou entre 200 a 700 rotações por minuto. Observou-se que, em baixas velocidades de agitação, não ocorrem uma transferência efetiva do analito para a gota extratora, mostrando que a cinética da reação foi relativamente lenta. Quando foram utilizadas velocidades elevadas, observa-se, também, uma diminuição no sinal analítico, pois ocorre uma redução no tamanho ou a perda total da gota. Nos experimentos posteriores foi empregado um valor de velocidade de 500 rpm (Figura 28).

**Figura 28.** Influência da velocidade de agitação na pré-concentração e determinação de Mn(II) por SDME.



Para o sistema CFME, a influência da vazão da solução do complexo Mn-PAN no sinal analítico também foi avaliada. A vazão da solução variou na faixa de valores entre 0,2 e 3,0 mL min<sup>-1</sup>. Valores elevados de vazão provocaram uma diminuição significativa no sinal analítico, pois a velocidade de passagem da solução de Mn(II) foi tão elevada que o fluxo da amostra provocou uma pressão no sistema, empurrando uma parte da gota do solvente para o interior do tubo capilar na ponta da seringa. Isso acarretou um contato insuficiente entre as fases, diminuindo a quantidade de manganês extraída. Menores valores de vazão possibilitaram a obtenção de maiores sinais analíticos, pois existe uma transferência eficiente dos analitos para o solvente de extração [18; 19]. Com base nos resultados, foi empregado um valor de vazão de 1,0 mL min<sup>-1</sup> (Figura 29).

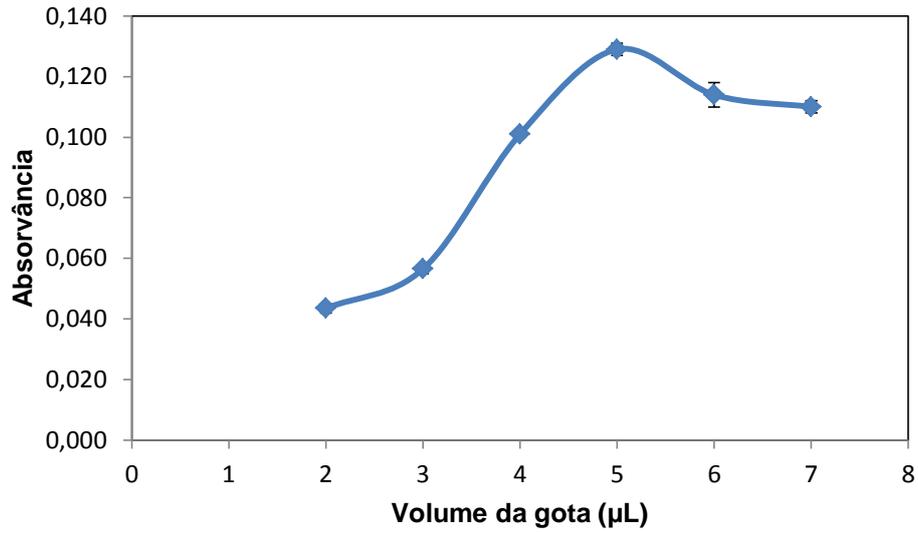
**Figura 29.** Influência da vazão da amostra na pré-concentração e determinação de Mn(II) por CFME.



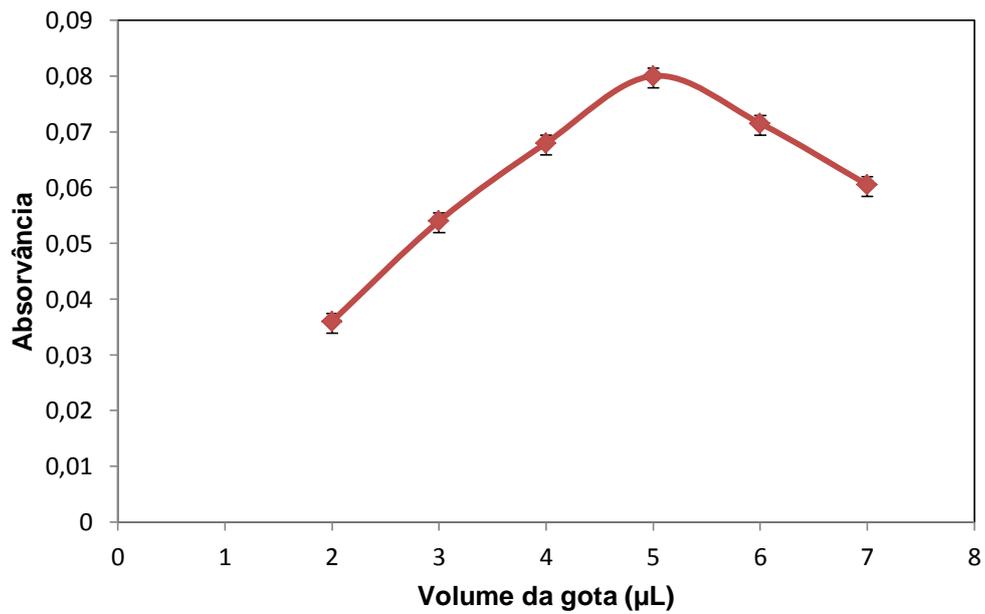
### 2.3.1.5 Influência do volume da gota

A quantidade da fase extratora imersa na solução é diretamente proporcional à quantidade de analito extraído da solução. Portanto, quanto maior a área da gota extratora, maior será a superfície de contato com a solução e, conseqüentemente, maior será a quantidade de Mn(II) extraído. O efeito do volume da gota foi avaliado variando-se o volume de IL entre 2,0 e 10,0  $\mu\text{L}$  para SDME e CFME. A estabilidade da gota depende basicamente da gravidade e das forças de adesão. Como a densidade da fase extratora é maior do que a da fase doadora, o balanço entre a gravidade e a força de adesão determina a estabilidade da gota na ponta da agulha [41]. Com a finalidade de aumentar a força de adesão da gota, uma haste de teflon foi inserida na ponta da agulha da microseringa para melhorar a estabilidade e reduzir as possíveis contaminações. Nas Figuras 30 e 31, observa-se um aumento no sinal analítico com o aumento do volume da gota, pois ocorre um aumento na área superficial, resultando em uma maior transferência de massa entre as fases. No entanto, volumes maiores que 5,0  $\mu\text{L}$  provocam a instabilidade da gota, notando-se uma dificuldade em mantê-la presa na ponta da microseringa [19]. Nesse sentido, um volume de 5,0  $\mu\text{L}$  foi fixado para os estudos posteriores.

**Figura 30.** Influência da quantidade do solvente extrator na pré-concentração e de Mn(II) por SDME.



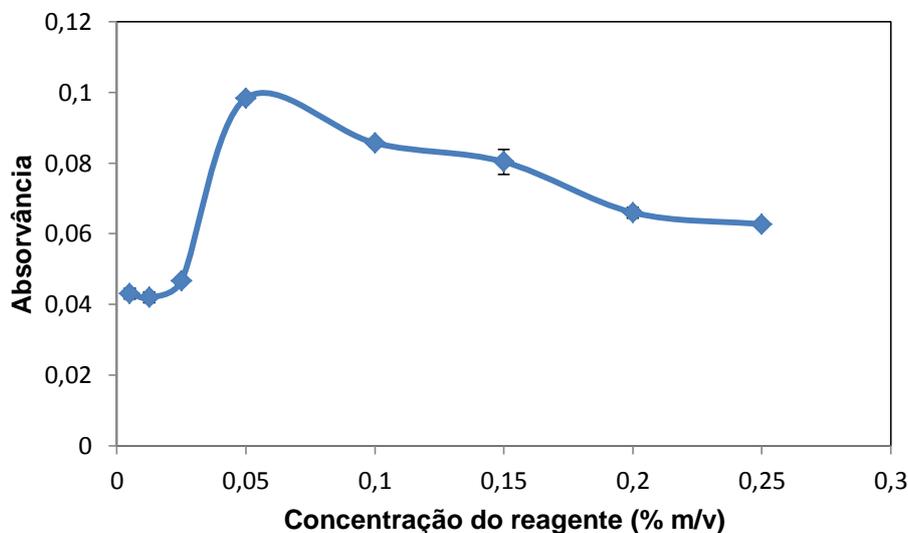
**Figura 31.** Influência da quantidade do solvente extrator na pré-concentração e de Mn(II) por CFME.



### 2.3.1.6 Influência da concentração do reagente complexante PAN

O estudo da quantidade de reagente quelante 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN) foi realizado variando-se a concentração na faixa de 0,0025 a 0,25% m v<sup>-1</sup>. Os resultados apresentados na Figura 32 permitiram observar uma tendência crescente do sinal analítico, até uma concentração de PAN de 0,05% foi utilizada. Valores superiores a 0,05% resultaram em um decréscimo no sinal analítico, devido à presença de uma grande quantidade de matéria orgânica presente na fase aquosa, diminuindo a eficiência de extração. Para os demais estudos foi fixada uma concentração de PAN de 0,05% m v<sup>-1</sup>.

**Figura 32.** Influência da concentração do reagente complexante na pré-concentração e determinação de Mn(II) por SDME e GF AAS.



Após a otimização dos parâmetros da extração usando SDME e CFME, segue na Tabela 9 o resumo das condições otimizadas por GF AAS.

**Tabela 9.** Resumo dos parâmetros otimizados.

<b>Parâmetro</b>	<b>Condições otimizadas</b>
Tipo de solvente	[C <sub>4</sub> MIM] [PF <sub>6</sub> ]
Tempo de extração (SDME)	7,0 minutos
Tempo de extração (CFME)	20,0 minutos
pH	8,0
Solução-tampão	Borato
Vazão da amostra	1,0 mL min <sup>-1</sup>
Volume da gota	5,0 µL
Concentração do reagente	0,05% m v <sup>-1</sup>
Velocidade de agitação	500 rpm

Fonte: Próprio autor.

### 2.3.1.7 Seletividade de alguns íons

Para avaliar a seletividade do sistema de pré-concentração de Mn(II), foi realizado um estudo sobre a influência de alguns íons no sinal analítico. Diferentes quantidades de íons foram adicionados em uma solução de manganês 1,0 µg L<sup>-1</sup> e, em seguida, aplicou-se no procedimento proposto. Foi considerado como interferência quando o sinal em presença do íon correspondente resultou em uma diferença maior que 5% no valor da absorvância. A Tabela 10 mostra as quantidades toleráveis das espécies testadas.

**Tabela 10.** Estudo de alguns interferentes em SDME por GF AAS.

<b>Espécie</b>	<b>Concentração máxima (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>Recuperação (%)</b>
$\text{Na}^+$	10 000	94
$\text{K}^+$	10 000	91
$\text{Ca}^{2+}$	10 000	99
$\text{NO}_3^-$	10 000	96
$\text{Cl}^-$	10 000	112
$\text{PO}_4^{3-}$	10 000	107
$\text{SO}_4^{2-}$	10 000	92
$\text{CO}_3^{2-}$	5000	90
$\text{F}^-$	5000	95
$\text{Al}^{3+}$	1000	117
$\text{Pb}^{2+}$	1000	117
$\text{Cr}^{3+}$	1000	105
$\text{Fe}^{3+}$	1000	99
$\text{Zn}^{2+}$	1000	92
$\text{Ni}^{2+}$	400	107
$\text{Co}^{2+}$	400	103
$\text{Cu}^{2+}$	400	101

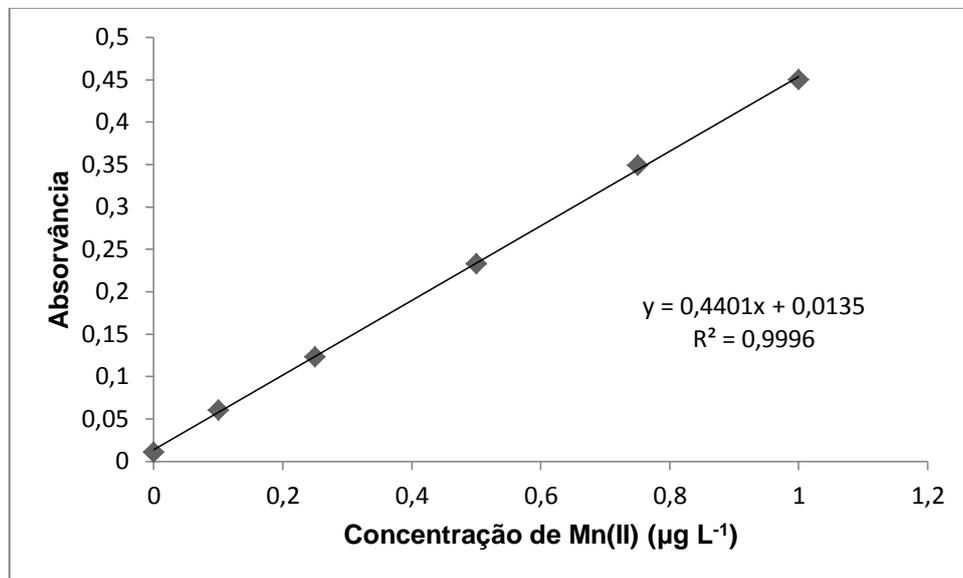
## 2.4 CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS

### 2.4.1 Linearidade

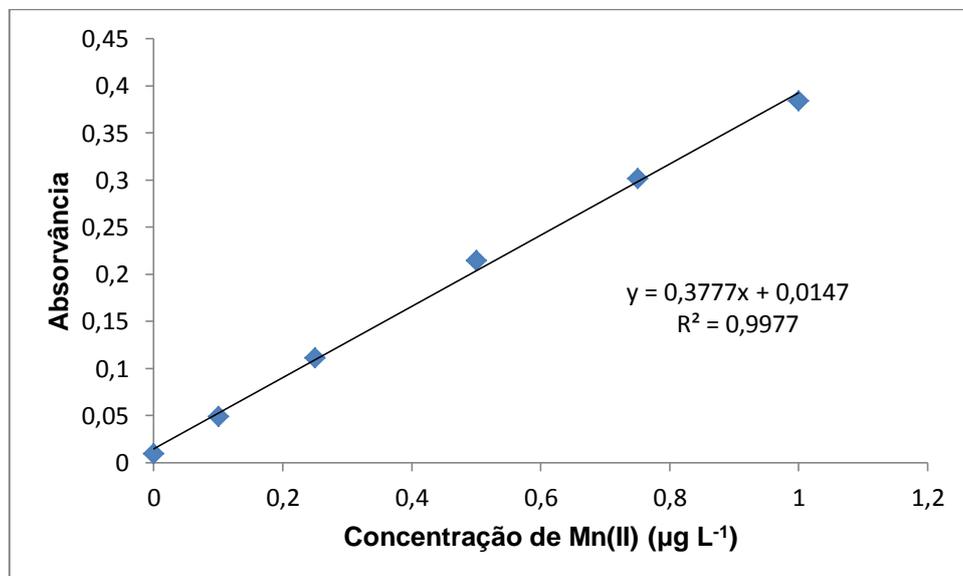
A linearidade de um método corresponde a capacidade que este tem em responder linearmente às concentrações das espécies em uma determinada faixa de aplicação. Com o objetivo de avaliar o desempenho do método para microextração usando a metodologia SDME, foram propostas três curvas analíticas. Uma foi construída através da submissão de soluções de quantidades variadas de manganês ao processo de pré-concentração para o sistema SDME e CFME (Figura 33, e 34); a outra, construída através da

medida direta de Mn(II) no espectrômetro de absorção atômica com atomização eletrotérmica, sem a execução do processo de pré-concentração (Figura 35).

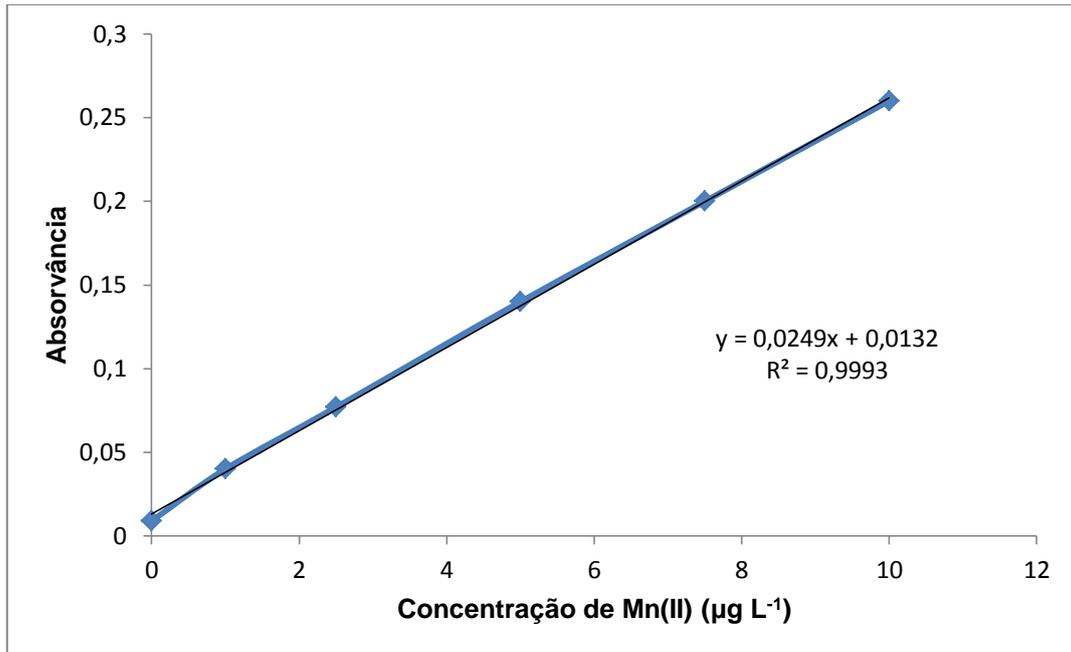
**Figura 33.** Curva analítica correspondente ao sistema em batelada para pré-concentração e determinação de Mn(II) por SDME e GF AAS.



**Figura 34.** Curva analítica correspondente ao sistema em fluxo para pré-concentração e determinação de Mn(II) por CFME e GF AAS.



**Figura 35.** Curva analítica correspondente à determinação direta de Mn(II) por GF AAS.



A curva sem pré-concentração foi avaliada com o intuito de comparar os sinais analíticos e verificar o aumento de sinal na determinação de Mn(II) com o da pré-concentração. A regressão da curva sem pré-concentrar foi:  $Y = 0,0249x + 0,0132$  e um coeficiente de correlação de 0,9993. A curva pré-concentrada para o sistema em batelada obteve uma regressão linear de  $Y = 0,4401x + 0,0135$  e um coeficiente de correlação de 0,9996, enquanto a do sistema em fluxo foi de:  $Y = 0,3777x + 0,0147$ , com coeficiente de correlação de 0,9977.

#### 2.4.2 Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

O limite de detecção para um procedimento analítico representa a menor concentração que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada. A IUPAC recomenda expressá-lo matematicamente como três vezes o desvio padrão do valor do sinal analítico correspondente ao branco ( $S_{br}$ ), dividido pela inclinação da curva analítica ( $b$ ) [65]. A Equação 1 foi utilizada para o cálculo do limite de detecção:

$$LD = \frac{3S_{br}}{b} \quad (\text{Equação 1})$$

A menor concentração do analito que pode ser medida, com determinado grau de confiança é o seu limite de quantificação. O LQ foi calculado de forma semelhante ao LD, sendo utilizado dez vezes o desvio padrão do valor do sinal analítico correspondente ao branco ( $S_{Br}$ ), dividido pela inclinação da curva analítica. O limite de quantificação foi calculado utilizando-se a Equação 2:

$$LQ = \frac{10S_{br}}{b} \quad (\text{Equação 2})$$

O limite de detecção calculado para o método proposto foi de  $0,0039 \mu\text{g L}^{-1}$ , e o limite de quantificação foi de  $0,026 \mu\text{g L}^{-1}$

#### 2.4.3 Fator de enriquecimento (EF)

O fator de enriquecimento é um critério utilizado para avaliar o desempenho de sistemas de pré-concentração. Ele é calculado pela razão entre os coeficientes angulares das curvas analíticas com pré-concentração (0,4401) e sem pré-concentração (0,0249). Seu resultado é baseado no aumento da resposta e não no aumento real da concentração. Com base nas equações obtidas para as curvas com e sem pré-concentração, o fator de enriquecimento (FE) disposto na Equação 3 foi igual a 17,67.

$$FE = \frac{b_a}{b_b} \quad (\text{Equação 3})$$

#### 2.4.4 Índice de consumo (IC)

O IC indica o volume de amostra, em mililitros, consumido para obtenção de uma unidade do fator de enriquecimento (FE). O cálculo é baseado na razão entre o volume, em mililitros de amostra, que foi consumida no procedimento experimental, e o fator de enriquecimento.. O índice de consumo calculado para os sistemas SDME e CFME desenvolvidos neste trabalho foram de 0,10 e 0,20 mL, respectivamente. O IC foi calculado através da Equação 4:

$$IC = \frac{V(mL)}{FE} \quad \text{(Equação 4)}$$

#### 2.4.5 Precisão do método

A precisão de um método pode ser expressa pelo desvio padrão relativo, RSD% (ou coeficiente de variação), o qual é calculado pela razão entre o desvio padrão de várias medidas em uma determinada concentração ( $S_c$ ) e a média dessas medidas ( $X_c$ ), geralmente em percentagem.

$$RSD\% = \left( \frac{S_c}{X_c} \right) \cdot 100$$

No procedimento proposto para determinação de Mn(II) complexado com PAN, tendo o hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio [C<sub>4</sub>MIM] [PF<sub>6</sub>] como solvente de extração, a precisão do método foi avaliada pela repetibilidade nos resultados, ou seja, concordância dos resultados individuais obtidos pelo mesmo método, sob as mesmas condições (operador, equipamento, laboratório) em um curto período de tempo, avaliando os sinais de absorvância de 10 determinações para uma concentração de 1,0 µg L<sup>-1</sup> de manganês. O desvio padrão relativo encontrado através da equação foram de 6,15% e 6,90% para SDME e CFME, respectivamente.

### 2.4.6 Comparação da SDME e CFME

A eficiência de extração do método SDME para a determinação de Mn(II) foi comparada com a CFME. A Tabela 11 apresenta um resumo dos parâmetros analíticos após otimização do sistema de pré-concentração para SDME e CFME.

**Tabela 11.** Resumo dos parâmetros analíticos após o processo de pré-concentração em SDME e CFME por GF AAS.

Parâmetros	SDME	CFME
Fator de enriquecimento	17,67	15,17
Índice de consumo (mL)	0,10	0,20
Precisão (n=10) (RSD %)	6,15	6,90
Volume de amostra (mL)	1,71	3,00
Limite de detecção ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,0039	0,0079
Limite de quantificação ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,0186	0,0195
Coeficiente angular da curva pré-concentrada	0,4401	0,3777
Coeficiente angular da curva direta	0,0249	0,0249

Como mostrado na tabela 11, os valores de fator de enriquecimento para SDME e CFME são 17,67 e 15,17, respectivamente. A SDME apresentou uma maior eficiência de extração em comparação com a CFME. O limite de detecção ( $0,0039 \mu\text{g L}^{-1}$ ) para SDME foi menor do que para o CFME ( $0,0079 \mu\text{g L}^{-1}$ ), sugerindo que o SDME possui uma melhor sensibilidade. Outros parâmetros, como a precisão, expressos como RSD, coeficientes de correlação, índice de consumo, e volume da amostra foram um pouco melhores para os SDME do que para CFME.

### 2.4.7 Exatidão e aplicação do método proposto

A exatidão do método representa o grau de concordância entre os resultados encontrados e um valor aceito como referência. Para avaliar a exatidão do método proposto, o teor de Mn(II) foi analisado em material de referência certificado. O material analisado foi o SEM 2976, tecido de mexilhão do *Institute National of Standards and Technology*. O resultado obtido na amostra de referência foi  $4,81 \pm 0,03 \mu\text{g g}^{-1}$  e está em concordância com o valor certificado ( $4,88 \pm 0,24 \mu\text{g g}^{-1}$ ).

A exatidão também foi avaliada através do teste de adição e recuperação realizadas em amostras de jurubeba (Leão do Norte), Catuaba (açai, mel, e tropical), conhaque de alcatrão e em amostras de pescado (robalo, sururu e tainha). O teste T foi utilizado para avaliar estatisticamente a significância entre os resultados. As recuperações encontradas para as cinco amostras de bebidas foram de 92 a 106% e para as amostras de pescado foram de 98 a 112%. A Tabela 12 mostra os resultados obtidos para determinação de manganês após aplicação do sistema de SDME com detecção por GF AAS.

**Tabela 12.** Resultados da determinação de manganês em amostras de bebidas e pescado utilizando a SDME..

Amostra	Quantidade de manganês ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )		Recuperação (%)
	Adicionada	Encontrada	
Conhaque de alcatrão	0	<LQ	---
	0,25	$0,23 \pm 0,007$	92
	0,5	$0,53 \pm 0,004$	106
Jurubeba	0	<LQ	---
	0,25	$0,26 \pm 0,03$	104
	0,5	$0,50 \pm 0,003$	100
Catuaba (Tropical)	0	<LQ	---
	0,25	$0,24 \pm 0,01$	96
	0,5	$0,47 \pm 0,03$	94
Catuaba (Mel)	0	<LQ	---
	0,25	$0,23 \pm 0,004$	92
	0,5	$0,46 \pm 0,005$	92
Catuaba (Açai)	0	<LQ	---
	0,25	$0,24 \pm 0,005$	96
	0,5	$0,52 \pm 0,003$	104
Robalo	0	<LQ	---
	0,5	$0,49 \pm 0,004$	98
Tainha	0	<LQ	---
	0,5	$0,52 \pm 0,01$	104
Sururu	0	<LQ	---
	0,5	$0,56 \pm 0,004$	112

## 2.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O trabalho ratificou que a microextração com gota suspensa (SDME) oferece diversas vantagens associadas às análises espectrométricas atômicas, pois utiliza microlitros de solventes orgânicos e pequenos volumes de amostras, as extrações são rápidas e a instrumentação é relativamente simples, o que proporciona um menor custo por análise.

A utilização dos líquidos iônicos como solvente de extração proporcionou um avanço no desenvolvimento de métodos e sistemas que apresentem menor impacto ambiental. Os pequenos volumes de amostra e reagentes utilizados também foram algumas das características vantajosas neste trabalho.

A análise de material de referência certificado foi utilizada para validar o método desenvolvido e os resultados obtidos concordaram com os valores certificados, evidenciando que a SDME mostrou-se seletiva para extração de manganês. As concentrações de manganês encontradas nas amostras de bebidas e alimentos encontram-se abaixo do limite máximo permitido pela legislação.

O procedimento avaliado apresentou boa precisão e exatidão, evidenciadas por bons percentuais de recuperação e pelo desvio padrão relativo sempre inferior a 10%. Somando a isso, foram alcançados excelentes limite de detecção e quantificação, e coeficientes de correlação adequados. Estes resultados indicam a viabilidade da aplicação do procedimento na determinação de manganês em amostras de bebidas e pescados.

As temperaturas ótimas de pirólise e atomização obtidas com o modificador permanente de irídio e tungstênio mostraram-se adequadas, apresentando sempre maior sensibilidade, bem como a redução de sinais relativos ao fundo. Isso pode ser atribuído à eficiência da modificação permanente, na volatilização do manganês.

---

---

**CAPÍTULO III**

---

---

**DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA COLORIMÉTRICO POR IMAGENS  
DIGITAIS UTILIZANDO A MICROEXTRAÇÃO COM GOTA SUSPensa  
PARA DETERMINAÇÃO DE VANÁDIO EM AMOSTRAS DE ÁGUAS.**

### 3.0 INTRODUÇÃO

O monitoramento de vanádio em águas é de suma importância para qualidade de vida dos seres humanos, em virtude da sua potencialidade terapêutica. Este elemento apresenta diversos benefícios para pessoas que possuem diabetes, pois auxilia no controle dos níveis de açúcar no sangue, além de inibir a síntese de colesterol, evitando a deposição de gorduras nas paredes das artérias[66]. No entanto, quando os níveis encontram-se acima do limite máximo estabelecido, pode ocasionar efeitos tóxicos para saúde, sendo então a sua contaminação no meio ambiente uma preocupação de escala global [67; 68].

A microrregião de Maracás, no estado da Bahia, possui uma empresa extratora de minério de vanádio com o grau mais elevado do mundo. As principais atividades econômicas da mineradora são usadas para produção de aços resistentes a corrosão para produção de ferramentas manuais e materiais cirúrgicos, na indústria aeroespacial, e como catalisador nas indústrias de petróleo e gás. Apesar das diversas aplicabilidades, existe um grande interesse em gerenciar algumas espécies metálicas, com características contaminantes próximas dos recursos hídricos da região.

A importância de gerenciar a presença de alguns metais reside no fato de que as mineradoras são instaladas em regiões estratégicas próximas aos recursos hídricos trazendo consigo seus derivados como matéria-prima, possibilitando o desenvolvimento econômico e social da região, porém pode provocar uma contaminação desses recursos hídricos locais. Portanto, o monitoramento é importante para verificar a qualidade destas águas, em função das substâncias dissolvidas de origem natural ou antrópica. [69; 70].

Entre as atividades antropogênicas que liberam vanádio no ambiente aquático, as que mais se destacam são a mineração e a fundição de metais não-ferrosos. Diante do exposto, verifica-se o interesse em desenvolver métodos sensíveis, simples e rápidos para monitorar rigorosamente as concentrações de vanádio, a níveis de traço e ultra-traço, em amostras de águas naturais.

A análise colorimétrica baseada em mudanças de cor registradas por câmeras digitais tem sido muito utilizada como uma alternativa para

determinações simples em química analítica, isso se deve às vantagens significativas, como a simplicidade de manipulação, baixo custo, análises *in situ* em um tempo curto e rapidez nas análises[71; 72].

Em geral, o vanádio é encontrado em quantidades-traço em matrizes como alimentos, águas naturais e fluidos biológicos[73]. Esses tipos de amostras geralmente apresentam problemas de seletividade e sensibilidade na detecção. Por isso muitos trabalhos vêm propondo a combinação de diferentes estratégias analíticas, como a SDME, para alcançar excelentes sensibilidades que atendam aos baixos limites estabelecidos para níveis de vanádio por agências regulamentadoras.

Apesar das vantagens proporcionadas pela SDME, a utilização de solventes orgânicos acarreta na geração de resíduos e um alto risco de exposição, sendo pertinente a redução do uso destes solventes. Nesse contexto, surgem os líquidos iônicos (IL) que apresentam diversas vantagens em relação aos solventes convencionais. Dentre estas, a baixa pressão de vapor, possibilidade de modulação de acordo com a combinação adequada do cátion e do ânion, conferindo uma nova substância com propriedades adequadas, como viscosidade, densidade, entre outras [67; 74; 75]. Devido às suas propriedades peculiares, os ILs vem substituindo de forma eficiente os solventes orgânicos, gerando benefícios analíticos para o sistema.

Neste trabalho, foi desenvolvido um sistema versátil envolvendo a microextração com gota suspensa com detecção colorimétrica por imagens digitais para determinação de vanádio em amostras de águas.

### **3.1 OBJETIVOS**

#### **3.1.1 Geral**

Desenvolver um sistema simples e de baixo custo para determinações colorimétricas, obtidas através de um microscópio com câmara digital incorporada a microextração em gota suspensa para determinação de V(V) em amostras de águas naturais.

#### **3.2.2 Específicos**

- Desenvolver um sistema simples, versátil e de baixo custo para captura das imagens digitais;
- Aplicar o sistema desenvolvido de imagens digitais para determinar o teor de V(V) em águas naturais e água de mar;
- Verificar o uso da microextração com gota suspensa, utilizando dispositivos com imagens digitais;
- Reduzir custos operacionais e aumentar a produtividade do laboratório, garantindo a qualidade e eficiência dos métodos já existentes;

## 3.2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 3.2.1 Aspectos gerais do vanádio

O vanádio é um metal de transição representado pelo símbolo (V). No estado puro, é um metal de aspecto prateado, maleável, dúctil, metálico, sendo bastante resistente à corrosão. Apresenta ponto de fusão mais elevado dentre os elementos da primeira série de metais de transição, devido à participação máxima de elétrons d na ligação metálica [69]. Algumas propriedades físico-químicas do vanádio são apresentadas na Tabela 13.

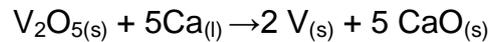
Tabela 13. Propriedades físico-químicas do vanádio.

Grandeza	Valor
Massa atômica (g.mol <sup>-1</sup> )	50,94
Número atômico	23
Calor específico J/(Kg°C)	489
Entalpia de fusão (KJ/mol)	21,5
Entalpia de vaporização (KJ/mol)	459
Configuração eletrônica	[Ar] 4s <sup>2</sup> d <sup>3</sup>
Condutividade térmica W/(m°C)	30,7
Densidade (g cm <sup>-3</sup> )	5,96
Estados de oxidação	+5, +4, +3, +2, +1, 0, -1
Ponto de ebulição (°C)	3680
Ponto de fusão (°C)	2183

O vanádio apresenta diversos estados de oxidação, variando de -1 (d<sup>6</sup>) a +5 (d<sup>0</sup>). No entanto, as espécies +3, +4 e +5 são os mais comuns. A diferença entre essas duas espécies V(V) e V(IV) está relacionada com a sua toxicidade, sendo o íon V(V) mais tóxico do que o íon V(IV) [68; 71]. O íon vanádio atua como redutor nos estados II e III, sendo estável no estado IV e moderadamente oxidante no estado V. Os estados de oxidação inferiores se tornam cada vez menos estáveis.

### 3.2.2 Obtenção, abundância e toxicidade

O método mais comum para obtenção de vanádio é através da reação de redução do óxido. O óxido de vanádio pode ser reduzido pelo cálcio, representada na reação abaixo:



O óxido de vanádio,  $\text{V}_2\text{O}_5$ , conhecido como pentóxido de vanádio é o composto mais importante de vanádio. O  $\text{V}_2\text{O}_5$  é muito utilizado como catalisador na conversão de  $\text{SO}_2$  a  $\text{SO}_3$ , no processo de contato utilizado na fabricação de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , na fabricação de aços que são resistentes para automóveis e para molas de caminhões [76]. Este metal vem substituindo a platina nos catalisadores, devido ao menor custo, e por ser menos susceptível ao envenenamento por impurezas como arsênio.

O vanádio é um elemento amplamente distribuído na natureza em baixas concentrações. Em níveis baixos é considerado um micronutriente essencial para o crescimento normal das células e também atua no funcionamento adequado do metabolismo, sendo um co-fator para as enzimas como haloperoxidase e nitrogenase [73]. Porém, a exposição a níveis excessivos pode resultar em uma série de efeitos adversos à saúde, provocando opressão dos vasos, degeneração do fígado, hemorragia nos pulmões e diarreia com perda de sangue.

A toxicidade do vanádio está relacionada com o estado físico-químico, especialmente o estado de oxidação. Geralmente as espécies inorgânicas são mais tóxicas do que as espécies orgânicas. Dentre aquelas, o vanadato (V) apresenta maior toxicidade que o íon vanádio IV, devido ao seu maior estado de oxidação, o que implica em elevado nível de toxicidade [77]. Por esse motivo, é necessário conhecer a concentração dos elementos e suas espécies químicas presentes no ambiente aquático, com o intuito de avaliar o nível de toxicidade que pode estar associado a este elemento e que pode comprometer a qualidade de vida humana e a biota.

### 3.2.3 Legislação envolvendo vanádio em água

A água é uma substância fundamental para a existência da vida na terra, e a sua qualidade pode estar associada à qualidade de vida de seres humanos e animais. O desenvolvimento e o crescimento das cidades trazem como malefícios o despejo de resíduos industriais e domésticos nos corpos hídricos. Neste processo de mudança, a coleta de informações a respeito da situação da água é importante para a posterior análise da situação vivenciada e para servir de base para novos estudos que anseiem pela recuperação de corpos hídricos.

As águas de fontes naturais têm recebido uma atenção especial com relação ao teor de espécies contaminantes, dentre elas os elementos-traço. Algumas espécies metálicas, como o V(V), são frequentemente encontradas nessas amostras como resultado de resíduos industriais ou áreas vulcânicas, de fundição e poluição doméstica[69]. A exposição prolongada ou a absorção em grandes quantidades de seus compostos pode provocar sérios problemas para saúde humana, causando mal-estar, dor de cabeça e dores no corpo [77]. Portanto monitorar os níveis de contaminação em ambientes aquáticos, mesmo quando presentes em quantidades-traço é importante, pois este elemento pode ser tóxico quando presentes em concentração que exceda os níveis estabelecidos.

Por conta de tudo que foi mencionado, agências regulamentadoras e governos estabelecem um controle rigoroso da concentração de vanádio em sistemas aquáticos naturais, através de normas e limites de tolerância. O Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), por meio da resolução N° 396 de 03 de abril de 2008, estabelece limites máximos para vanádio em águas com o intuito de melhorar a sua qualidade. O CONAMA estabeleceu uma concentração de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  do elemento em água para consumo humano e  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  para recreação e irrigação de pastos [91].

### 3.3 IMAGENS DIGITAIS

Uma imagem digital é formada por uma matriz de x linhas e y colunas que contém diversos pontos minúsculos, denominados pixels. O número de bits determina a quantidade de pixels que existem em uma imagem. Para cada um desses pixels é designada uma cor, através das coordenadas X e Y. Quanto maior o número de pixels, maior a definição e qualidade de uma imagem. Estas podem ser produzidas por diversos equipamentos, como câmeras digitais, *scanners*, microscópios eletrônicos, aparelhos de ultrassom, radares, *webcams* e telefones celulares [78].

A profundidade de uma cor é usada para descrever a quantidade de bits utilizada para representar a cor de um único pixel em uma imagem. O número de tons que uma imagem pode apresentar depende diretamente da profundidade da cor, descrita na Equação 5.

$$2^n = \text{número de tons} \quad (\text{Equação 5})$$

A letra n representa a profundidade da cor, logo, quanto maior a sua profundidade, maior o número de tons de uma determinada imagem.

Em geral, uma imagem RGB possui 8 bits para cada cor e de acordo com a Equação 5. Assim, cada componente da imagem possui 256 tons diferentes ( $2^8$ ) e a imagem RGB possui 16.777.216 cores ( $2^{24}$ ) [79].

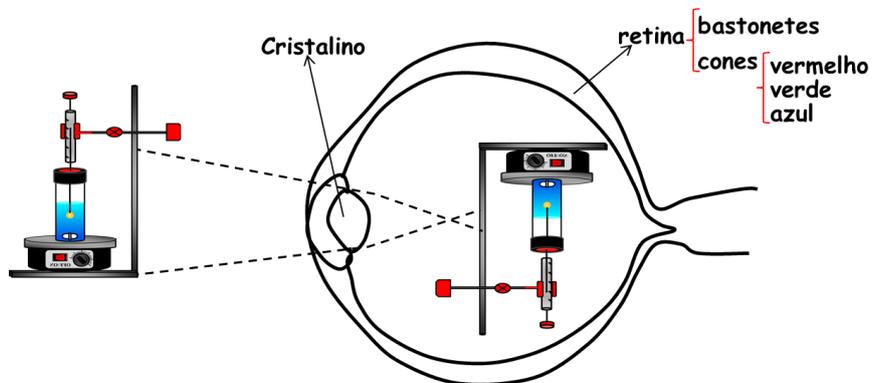
#### 3.3.1 Sistema visual humano

O olho humano é formado por um sistema óptico capaz de distinguir aproximadamente 10 mil cores. Ao incidir a luz, os olhos convertem em impulsos elétricos que são enviados diretamente para o cérebro, onde são processados para criar a imagem. A focalização da luz de uma imagem é realizada através da córnea, parte transparente do olho responsável pela transmissão de luz, refração e proteção do sistema óptico. O cristalino realiza a focalização da imagem secundária através do auxílio de pequenos músculos localizados ao redor dela [80].

A formação da imagem no olho humano se inicia através da luz que atravessa a córnea e chega até a íris, onde a pupila controla a intensidade de luz a ser recebida pelo olho. Quanto maior a abertura da pupila, maior é a

quantidade de luz que entra nos olhos. Então, a imagem chega ao cristalino, estrutura flexível que acomoda e focaliza a imagem na retina. No cristalino a imagem sofre refração, portanto forma-se uma imagem invertida na retina [80]. É no cérebro que ocorre o posicionamento correto. da imagem (Figura 36).

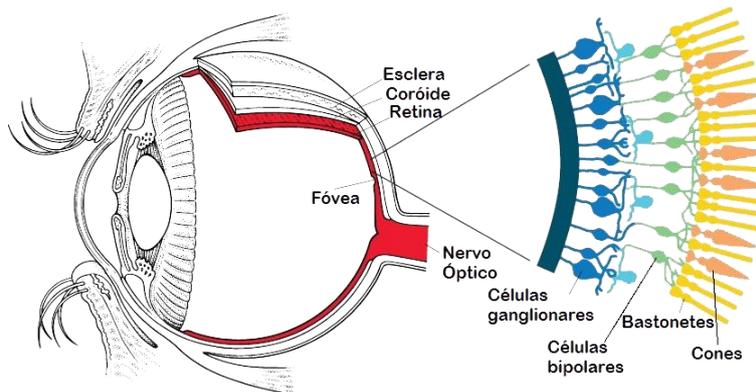
**Figura 36.** Focalização da luz pela córnea e o cristalino.



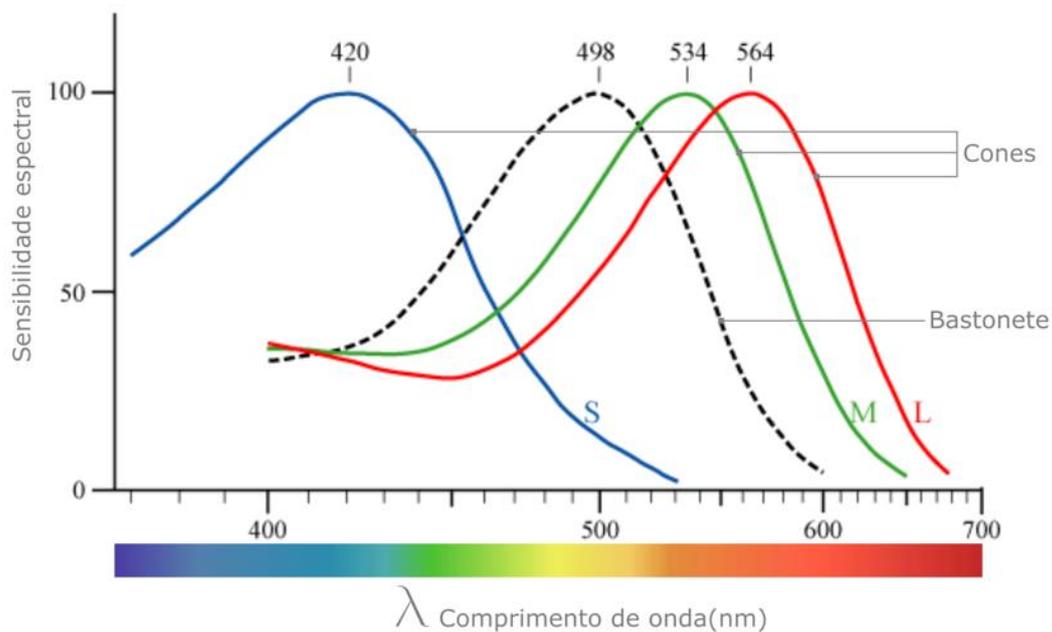
Fonte: Próprio autor.

A retina é a parte mais sensível do olho e sua superfície possui milhões de fotorreceptores e terminações nervosas, que através de uma reação química convertem as ondas luminosas em impulsos elétricos que enviam sinais pelo nervo óptico até o cérebro, onde são processados para criar uma imagem. Existem dois tipos de células fotorreceptoras chamadas de cones e bastonetes [81].

A retina humana possui aproximadamente 120 milhões de bastonetes e 6 milhões de cones. Os bastonetes fornecem informações monocromáticas do preto ao branco, sendo bastante utilizados para detectar movimentos, visualizar os objetos e atuar em condições de baixa luminosidade, sendo sensíveis a todos os comprimentos de onda, porém, são incapazes de distinguir a cor, apenas detectam a intensidade da luz. Já os cones, componentes minoritários, situam-se na parte central da retina e atuam em condições de alta luminosidade, codificando a diferença de cores e detalhes do objeto. A Figura 37 apresenta os cones e os bastonetes da retina do olho humano [81].

**Figura 37. Bastonetes e cones.**

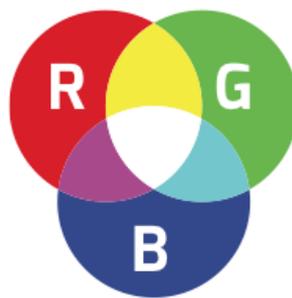
Através da identificação dos tipos de cones presentes na retina, no século XIX foi desenvolvido o modelo tricromático de percepção das cores. Segundo esse modelo, a mistura das três cores em diferentes combinações pode representar as diferentes cores do espectro eletromagnético na região do visível [79]. A Figura 38 apresenta a sensibilidade relativa dos tipos de cones para todo o espectro da luz visível.

**Figura 38. Curvas de resposta dos cones.**

### 3.3.2 Sistema de cores primárias aditivas ou RGB

O RGB é também conhecido como sistema de Cor Luz, e baseia-se nas mesmas propriedades fundamentais da luz que ocorrem na natureza. Existem três cores predominantes na luz branca, o vermelho (*Red*), verde (*Green*) e o azul (*Blue*). Essas cores formam o padrão de cor RGB, também chamada de síntese aditiva, em virtude da superposição das três cores primárias da luz, originando a cor branca, conforme o diagrama mostrado na Figura 39 [82].

**Figura 39.** Cores primárias aditivas: vermelho, verde e azul.



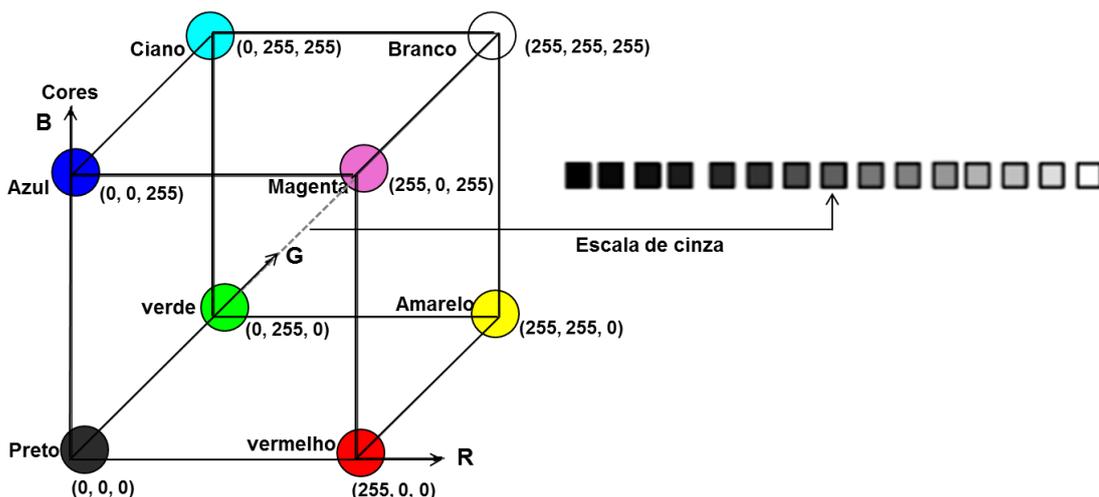
O sistema RGB possui 24 bits, 8 deles são determinados para cada componente vermelho, verde e azul [83]. A intensidade de cada uma das cores obtidas está enquadrada em uma escala que varia de zero a 255. O valor zero refere-se a nenhuma contribuição dessa cor (RGB: 0,0,0), o resultado é a cor preta; e o valor 255 refere-se à intensidade máxima das cores (RGB: 255, 255, 255), que resulta na cor branca (Figura 40)

**Figura 40.** Representação do sistema de cores RGB.



O espaço de cores RGB fornece um espaço vetorial ortogonal em R3 (espaço RGB) [84]. A representação geométrica desse sistema de cores em um espaço tridimensional gera um sólido conhecido como cubo de cor, em que apresenta os três principais eixos com as cores primárias (vermelho, verde e azul). Neste cubo, cada eixo representa a contribuição de uma cor primária com intensidades variando na faixa 0 – 255 (8 bits) na formação das demais cores com 256 níveis de intensidade de cor, totalizando 16,7 milhões de cores. Nos vértices dos planos formados pelo eixo de duas cores primárias é gerado um plano em que são representadas as cores secundárias (ciano, magenta e amarelo). A diagonal principal deste cubo representa a escala dos valores de cinza, na qual as três cores primárias apresentam a mesma contribuição ( $R = G = B$ ). A interseção dos três planos é formada a cor preta, a qual não recebe nenhuma contribuição das cores primárias e na extremidade oposta, está localizada a cor branca, a qual recebe contribuição das três cores primárias com a intensidade máxima (Figura 41) [85].

**Figura 41.** Representação geométrica do sistema RGB.



Existe um grande número de formatos de arquivo utilizados para o processamento de imagens incluindo TIFF, GIF, JPEG, BMP e DICOM. O formato JPEG é um esquema de compactação muito utilizado em fotografias digitalizadas, pois oferece taxas de compactação muito melhores do que outros formatos. Durante o processo de compactação, algumas informações são perdidas, mas normalmente a perda de qualidade da imagem é pouco perceptível ao olho humano [71]. Apesar das diversas combinações de cores,

este padrão não é utilizado para mídias impressas, como cartões de visitas, panfletos, folders ou revistas, uma vez que os arquivos são convertidos, alterando sua configuração original.

A Figura 42 mostra três imagens JPEGs compactadas. A primeira, com elevada qualidade, com 686 Kb. Na sequência, duas cópias da mesma imagem em JPEG, porém, a segunda imagem possui média qualidade e tamanho de 238 Kb, e a terceira imagem possui qualidade inferior, com apenas 14 Kb. É possível observar que, à medida que aumenta o nível de compactação da imagem, elas tendem a desfocar os limites das cores, pois o formato JPEG cria blocos de pixels cada vez maiores, prejudicando a nitidez da imagem. Já uma taxa de compactação menor produz uma imagem com limites nítidos nas cores, isso significa que a imagem é formada por diversos pontos minúsculos (pixels).

**Figura 42.** Imagens JPEGs compactadas.



Fonte: Próprio autor.

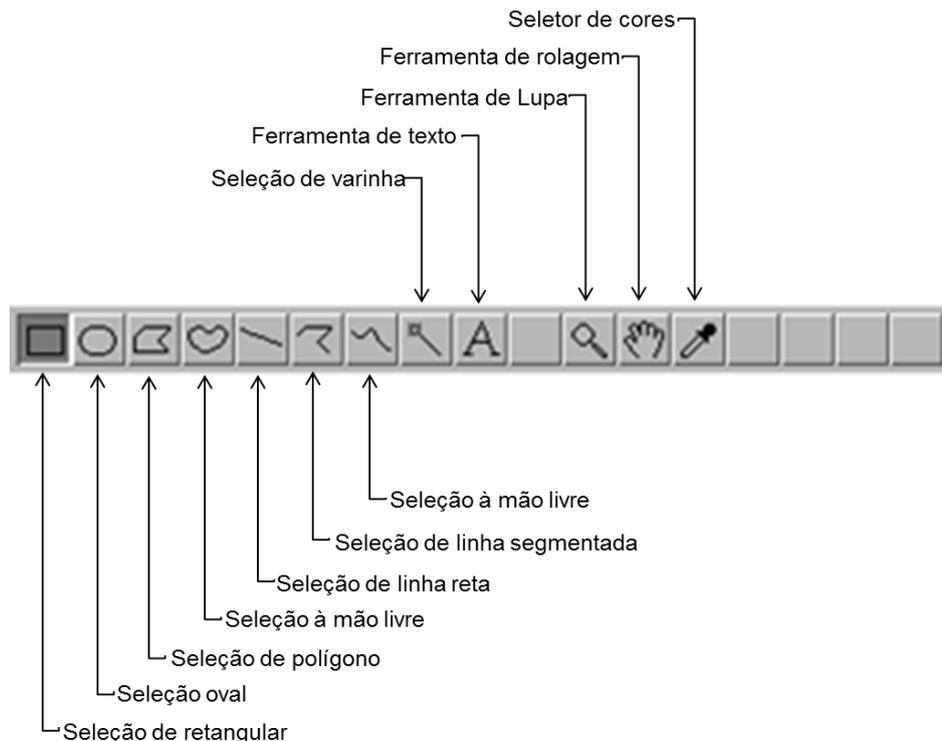
A imagem digital pode ser capturada por diversos dispositivos, como *scanners*, câmeras digitais ou câmeras analógicas ligadas ao computador através de placas digitalizadoras [84]. Neste trabalho foi utilizado um microscópio com câmera digital, dispositivo que possui sensores capazes de converter uma imagem em sinal eletrônico, gerando uma corrente elétrica que é proporcional à intensidade incidente da radiação óptica. Este sinal eletrônico é convertido a um código digital que caracteriza o correspondente em coordenadas de cor: vermelho (R), verde (G) e azul (B).

### 3.3.3 Software de ImageJ

O ImageJ consiste em um software de processamento de imagens Java, desenvolvido por Wayne Rasband no National Institutes of Health, com o objetivo de processar imagens digitais e extrair informações colorimétricas, selecionando as áreas de interesse de uma imagem (ROIs). O baixo custo e a viabilidade de usar uma aplicação simples e versátil destes dispositivos vêm sendo uma alternativa aos espectrofotômetros convencionais.

Ao trabalhar com o software ImageJ, alguns passos são adotados. Ao iniciar o software, surge uma janela principal contendo uma barra de menu, uma barra de ferramentas, uma barra de status e uma barra de progresso. A Figura 43 apresenta uma descrição dos componentes existentes no software ImageJ:

**Figura 43.** Componentes do software ImageJ.



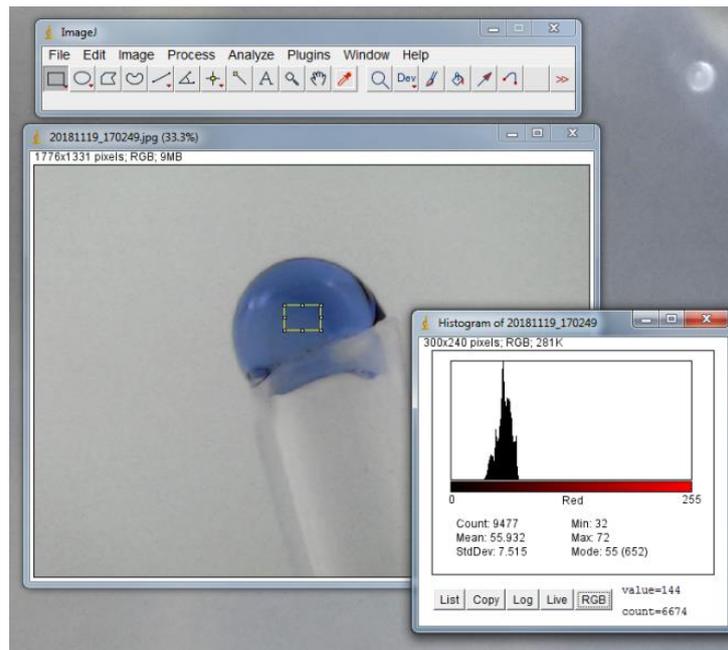
O software contém os comandos para fazer as seleções, como zoom, operações de rolagem e alteração das cores da imagem. Ao clicar em um comando específico, este exibe a descrição na barra de status.

### 3.3.4 Histogramas de cor e análises de dados

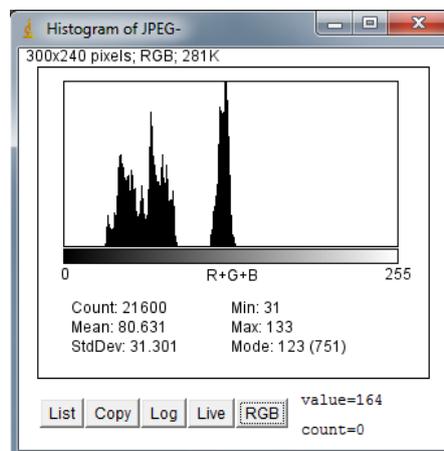
Os histogramas são representações gráficas com distribuição de frequências que permitem mostrar o número total de pixels com cada valor diferente dentro da imagem como uma série de barras verticais, apresentando a distribuição dos níveis de cinza na imagem. Para o tratamento dos dados é definida uma área quadrada de 1000 x 1000 pixels a partir do centro de cada imagem. Utilizando apenas a região selecionada das imagens, são gerados histogramas empregando o vermelho, azul, verde, matriz, saturação, brilho e tons de cinza. Os histogramas médios são obtidos pelo próprio programa, a partir de três fotos para cada amostra. A informação analítica dos histogramas é utilizada para construção da curva de calibração.

As Figuras 44, 45 e 46 apresentam algumas informações, como o tamanho da imagem em pixels, a resolução da imagem (24-bits) e o histograma da microgota após o processo de pré-concentração. É possível observar a distribuição dos níveis de cinza da imagem. No eixo horizontal, encontram-se os variados níveis de cinzas, e no eixo vertical, estão representado o número de pixels referente a cada nível de cinza no eixo horizontal. A imagem do histograma possui 24 bits. Algumas informações, como o tamanho da imagem em pixels, a quantidade de pixels (Count), a média (Mean) correspondente a distribuição de 0 a 255, o desvio padrão (StdDev), o valor mínimo, o valor máximo, a moda e o número de pixels que contem essa moda (Mode).

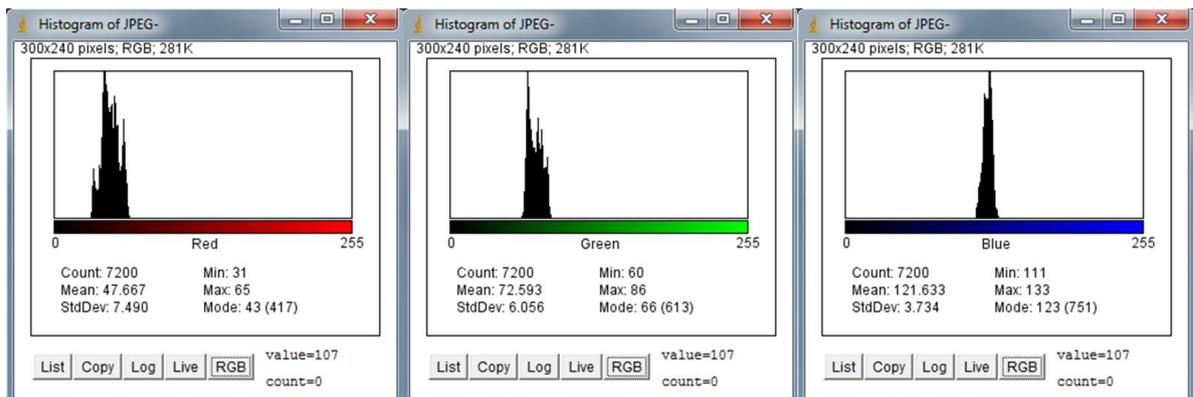
**Figura 44.** Representação de uma imagem com 24 bits.



**Figura 45.** Histograma da microgota após o processo de pré-concentração.



**Figura 46.** Histograma do canal de cor R, G e B da microgota após o processo de pré-concentração.



### 3.3.5 Métodos analíticos baseados em imagens digitais

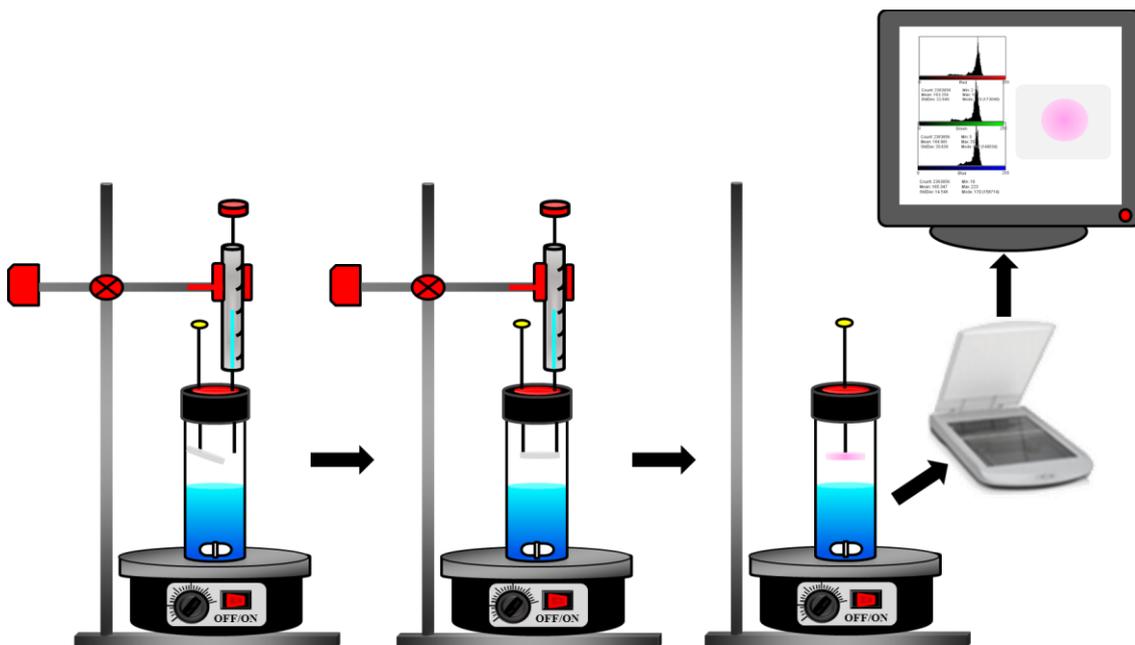
A utilização do modelo de cores RGB, como resposta analítica, fundamenta-se no fato de que os valores das matrizes R, G e B variam de acordo com a intensidade da cor desenvolvida em uma reação colorimétrica. Tal efeito pode ser empregado para estabelecer uma relação entre os componentes da cor e a concentração do analito de interesse. É com base neste princípio que as análises quantitativas empregando imagens digitais são realizadas.

Um sistema simples e de baixo custo baseado em imagens digitais (do inglês *Digital Image Based*) acoplado a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME) foi desenvolvido para determinar a quantidade de ferro total em amostras de águas e alimentos. O procedimento consiste na rápida injeção de uma mistura de solvente extrator (clorofórmio) e solvente dispersor (metanol) em uma solução aquosa contendo ferro (II). Os autores utilizaram uma solução de cloridrato de hidroxilamina para redução do  $\text{Fe}^{3+}$  para  $\text{Fe}^{2+}$ . As espécies de  $\text{Fe}^{2+}$  foram extraídas a partir de finas gotículas de clorofórmio formadas na solução aquosa. Após centrifugação, a fase aquosa foi removida com auxílio de uma seringa, e a fase enriquecida, inserida em uma placa de vidro. Os autores utilizaram um *scanner* de mesa para a aquisição das imagens, e o programa imageJ, para realização das análises químicas. O artigo relata que o uso desses dispositivos com câmara digital oferece uma alternativa economicamente viável para analisar o teor de ferro [72].

Uma técnica denominada microextração líquido-líquido dispersiva acoplada a colorimetria digital (DC-DLLME) foi utilizada para pré-concentração de vanádio. O procedimento consiste na injeção de etanol (dispersivo) e clorofórmio (extrator) em uma solução aquosa contendo vanádio(V) e o agente complexante N-benzoil-N-fenil-hidroxilamina, em um meio ácido, fazendo com que a interação do vanádio com a N-benzoil-N-fenil-hidroxilamina resultasse em um complexo com coloração vermelho arroxeado. Após o processo de extração, a fase enriquecida foi adicionada em uma placa de vidro de sílica gel e, em seguida, fotografada por uma câmera digital e obtidos os histogramas para cada canal de cores (RGB), que foram tratados matematicamente [70].

Um sistema simples, econômico e versátil foi desenvolvido como uma nova alternativa à determinação de compostos voláteis. Trata-se de um sistema que emprega a extração via headspace, baseada em papel e análise de imagens digitais para a quantificação de cianeto em amostras de água e efluentes. O método baseou-se na reação do ácido cloramina-T / piridina-barbitúrico. Durante a reação, o cianeto foi convertido em cloreto de cianogênio, que foi extraído e coletado em um papel impregnado com ácido piridina-barbitúrico. A espécie volátil foi extraída em um pedaço de papel e, durante o processo de extração, adquiriu uma cor vermelho-azulada. Em seguida, o mesmo papel foi removido, coberto por um fita transparente e digitalizado. Após a digitalização, as imagens foram salvas como arquivos JPEG e processadas, usando o software ImageJ. A representação esquemática do procedimento analítico é mostrada na (Figura 47) [86].

**Figura 47.** Representação esquemática do procedimento analítico de extração headspace baseado em papel e análise de imagens digitais.



Poucos trabalhos relatados na literatura envolvem o método de microextração acoplada a colorimetria digital. A maioria dos trabalhos publicados envolve a microextração em fase líquida dispersiva, não sendo encontrado nenhum trabalho que envolve a microextração com gota suspensa acoplada a colorimetria digital. Neste trabalho, foi proposto o desenvolvimento

de um sistema de pré-concentração acoplado à captura de imagens. A concentração do analito de interesse foi relacionada com a coloração da gota extratora. Uma grande vantagem deste sistema foi a detecção *in situ* na própria gota, empregando um diodo emissor de luz (LED) na cor branca e um microscópio digital. Assim, não foi necessária a diluição da fase rica, e esta foi inserida diretamente para um sistema fechado para captura da imagem.

### 3.4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

#### 3.4.1 Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados para preparar as soluções nos experimentos foram de grau analítico, utilizando água deionizada por um sistema de purificação de água Milli-Q.

- Solução padrão de Vanádio  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$  (Fluka, São Paulo, Brasil)
- Ácido nítrico a 65% (m/v) (MERCK);
- Ácido clorídrico a 37% (m/v) (MERCK);
- Cloreto de amônio P. A. (VETEC);
- Hidróxido de amônio P. A. (MERCK);
- Hidróxido de sódio (MERCK);
- Borato de sódio (SYNTH);
- Acetato de sódio anidro (SYNTH);
- Ácido acético glacial (MERCK);
- 2-[5-bromo-2-piridilazo-5-(dietilamino) fenol – Br-PADAP (solução alcoólica 0,06% m/v) (SYNTH);
- Ácido acético (MERCK);
- Acetona (SIGMA);
- Etanol (SIGMA);
- Líquido iônico: Hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metilimidazólio (1-Hmim [PF6]) (SIGMA)

A partir dos reagentes listados acima todas as soluções foram conduzidas seguindo os procedimentos:

### 3.4.2 Preparo das soluções tampão

Foram preparadas diferentes soluções tampão, com diferentes valores de pH. Os tampões acetato de sódio/ácido acético (pH 4,0 a 5,0), borato (pH 6,0 a 7,0) foram preparados com água ultrapura, todos com a concentração final de 1,0 mol/L. A solução KCl/HCl (pH 1,0 a 3,0) foi preparada com a concentração final de 0,2 mol/L.

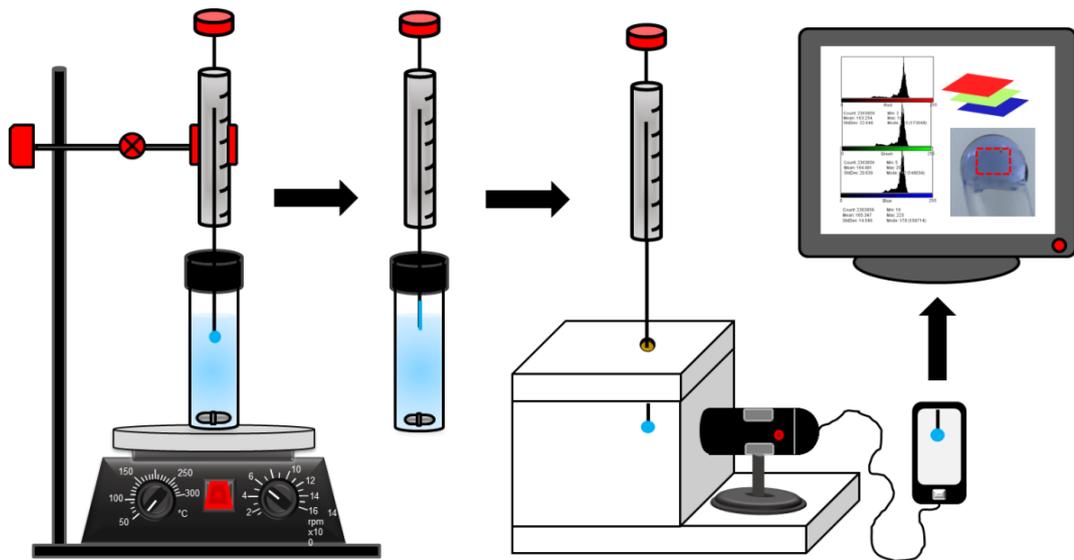
### 3.4.3 Preparo da solução Br-PADAP 0,06% (m/v)

Em uma balança analítica pesou-se 0,06 g do reagente orgânico 2-[5-bromo-2-piridilazo-5-(dietilaminofenol)]. Posteriormente, a massa foi transferida para um balão volumétrico de 100,0 mL, onde todo o reagente foi solubilizado com álcool etílico absoluto.

### 3.4.5 Procedimento para SDME utilizando o software ImageJ

Um volume de 3,43 mL de uma solução de V(V) na concentração de  $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$  foi adicionado em um frasco selado de 5,0 mL, juntamente com uma barra magnética. Em seguida, um volume de 8,0  $\mu\text{L}$  do solvente extrator foi inserido lentamente no seio da solução com o auxílio de uma seringa cromatográfica, acoplada com um capilar de vidro sob agitação constante durante 9,0 minutos. Após o processo de extração, a gota do solvente extrator apresentou uma coloração azulada. Posteriormente, a gota foi recolhida para dentro da seringa e fixada na caixa de MDF para que a gota fosse inserida na direção da câmara digital, onde foram capturadas as imagens. Após a captura da imagem da gota, estas foram salvas como arquivo JPEG e processadas, usando o software ImageJ. Para calcular a intensidade da cor, a superfície total da gota foi selecionada por meio da ferramenta “retangular selection” do software ImageJ. Finalmente, o software forneceu a média dos valores em escala cinza e os valores individuais R, G e B. A conversão logarítmica do valor RGB foi realizada através de uma planilha do Microsoft Excel, aplicando a fórmula da Lei Lambert-Beer. A Figura 48 apresenta uma representação esquemática do sistema de pré-concentração para determinação de vanádio.

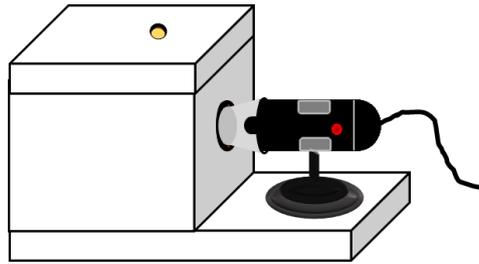
**Figura 48.** Representação esquemática do sistema de pré-concentração para determinação de V(V).



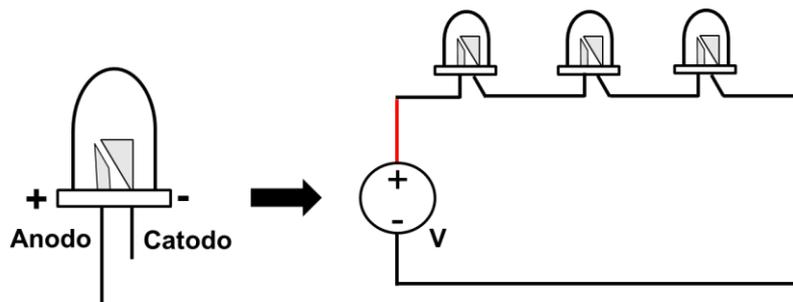
### 3.4.6 Sistema de aquisição de imagens

A câmara de aquisição de imagens digitais (Figura 50) foi constituída em MDF (*do inglês Medium-Density Fiberboard*), revestida com chapa branca e totalmente fechada para minimizar a interferência da luz ambiente. As dimensões do compartimento foram de 17 cm de largura x 9,5 cm de comprimento e 14,5 cm de altura, com uma abertura na parte lateral para entrada da câmara e outra abertura na parte superior para entrada da seringa. O compartimento interno foi forrado com MDF branco e a fonte de iluminação foi realizada introduzindo lâmpadas LED na cor branca, posicionadas na parte superior da caixa, no intuito de uniformizar a incidência de luz sobre a gota contida na microseringa. O circuito de alimentação dos LEDs foi composto por uma fonte de 12 V conectada à rede elétrica e aos LEDs ligados em série. O polo positivo da fonte foi conectado ao anodo do primeiro LED, e o polo negativo, ao catodo do último LED (Figura 49).

**Figura 49.** Sistema para captura da imagem acoplado com microscópio U500X Digital com câmara.



**Figura 50.** Esquema do circuito elétrico de instalação dos LEDs.



### 3.4.7 Sistema de detecção

O sistema de detecção utilizado para capturar as imagens foi um microscópio U500X Digital com câmara. As imagens foram transferidas por meio de um cabo USB do celular para o computador. O microscópio utilizado está apresentado na Figura 51. O microscópio ficou posicionado a uma distância de 15,0 mm da imagem. Foi utilizada uma resolução de 640 x 480 megapixels para a captura da gota. A Tabela 14 mostra as características da câmara digital.

**Figura 51.** Modelo de microscópio utilizado para captura das imagens.



**Tabela 14.** Características da câmera digital para determinação de V(V).

Câmera digital	Microscópio U500X Digital com imagem
Resolução máxima da câmera	640x480 Mpx
Distância de ampliação da lente	50X ~ 500X (manualmente)
Sensor de imagem	1.3 Mpx
Zoom digital	5x
<b>Condições para tirar fotos</b>	
Modo de exposição	Auto
Comprimento focal	40 mm
Balanço do branco	Auto
Formato de imagem	JPEG
Representação de cores	RGB (24 bits)
<b>Softwares para computação de imagem</b>	
Transferir imagem para o computador	porta USB 5v DC
Medição de cor RGB	Imaje J
Processamento de dados de imagem	Excel 2007
Sistema Operacional	Windows 2000 / XP / Vista / 7 / MacOSD

As imagens foram capturadas com auxílio de um microscópio U500X Digital com câmara conectado ao celular. Posteriormente, foram transferidas para o computador e armazenadas em formato JPEG (*do inglês: Joint Photographic Experts Group*) no padrão de cores RGB (24-bit) com uma dimensão de 1776 x 1331 pixels de resolução espacial. Três imagens sequencias foram registradas para cada amostra. Os valores médios das cores R, G e B foram analisados por meio do programa ImageJ (*National Institutes Health, Bethesda, MD, EUA*). Para cada imagem foi selecionada uma região quadrada específica, com tamanho uniforme para todas as imagens, mantendo fixa ao longo das análises. Esta informação é organizada em um histograma colorido que fornece o valor de cada canal de cor, vermelho (R), verde (G) e azul (B). Os valores de RGB foram importados para uma planilha em Excel e o

sinal analítico foi obtido através da fórmula da lei de Lambert-Beer:  $-\log (P / P_0)$ , em que P é o valor R, G e B (média ou modo) da solução padrão ou amostra, e  $P_0$  é o valor R, G e B para o branco analítico.

### **3.4.8 Sistema de pré-concentração**

O sistema de pré-concentração é constituído por uma seringa modelo Hamilton 810 RN de 10  $\mu$ L para cromatografia. Capilares de vidro foram utilizados para acomodar o solvente extrator. O agitador magnético, modelo Firsatom 752, Brasil foi utilizado para promover a transferência de massa no momento da extração do Br-PADAP-V para a gota do solvente extrator.

## **3.5 COLETA E PRÉ-TRATAMENTO DA AMOSTRA**

### **3.5.1 Coleta e tratamento das amostras**

As amostras de água foram obtidas na região marítima da Ilha de Tinharé e de Boipeba, ambas pertencentes ao município de Cairu (Bahia, Brasil); as amostras de água mineral, na região de Salvador (Bahia, Brasil); e amostras de água subterrâneas, coletadas em uma área de mineração de vanádio (Maracás, Bahia, Brasil). Após a coleta, as amostras foram filtradas e transferidas diretamente para um balão de 25,0 mL contendo 2,5 mL da solução KCl/HCl pH 3,0. Em seguida, o procedimento de SDME foi aplicado.

### **3.5.2 Digestão da amostra certificada**

Amostra certificada de BCR-414, Plankton, proveniente do *Institute for Reference Materials and Measurements* (IRMM, Geel, Belgium), foi digerida a partir da metodologia de abertura de amostra por via úmida. Aproximadamente 0,1000 g de amostra foram pesados e transferidos para o copo de PTFE de uma bomba metálica para digestão ácida. Então, foram adicionados 1,0 mL de ácido nítrico concentrado e 2,0 mL de água ultrapura. A mistura foi submetida a aquecimento em estufa por um período de 6 horas à 110°C. Após digestão, o pH do digerido foi ajustado para 3,0 com soluções concentradas e diluídas de

NaOH. Finalmente, adicionou-se uma solução de KCl/HCl pH 3,0 na solução e adicionou-se água até o volume final de 25,0mL.

### **3.6 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.6.1 Variáveis relativas ao sistema de microextração**

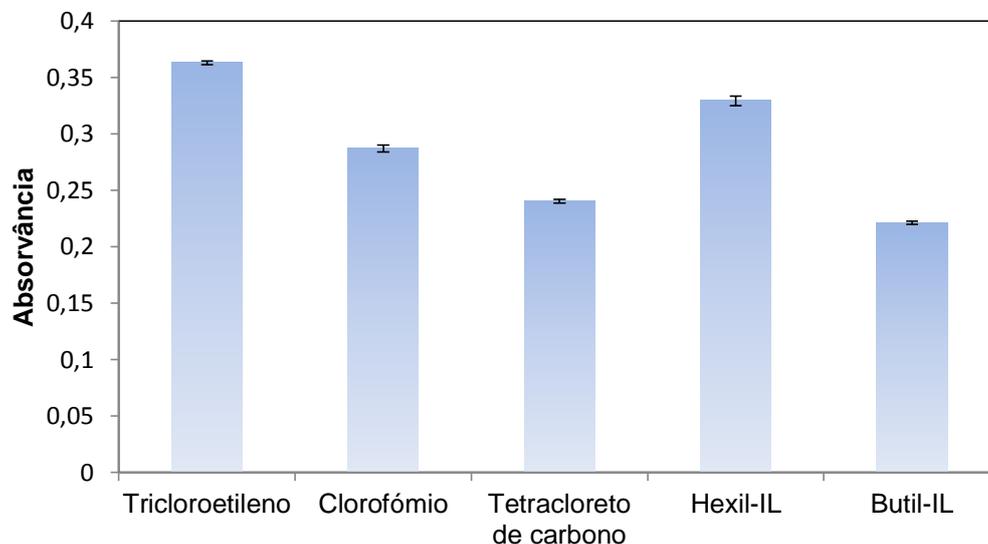
As técnicas de microextração envolvendo a SDME dependem de alguns princípios físico-químicos, portanto existe uma necessidade de realizar uma otimização dos parâmetros que possam influenciar na transferência de massa durante o processo de extração. Os experimentos foram realizados de forma univariada. Para todos os estudos, a concentração de V(V) utilizada foi fixada em 50,0 µg L<sup>-1</sup>.

##### **3.6.1.1 Tipo de solvente extrator**

Para o processo de extração de vanádio em águas naturais, diferentes solventes de extração foram avaliados. Algumas propriedades físico-químicas foram consideradas para escolha do tipo de solvente extrator, dentre elas: o solvente deve possuir uma densidade maior do que a água, para permitir a formação da gota; pressão de vapor relativamente baixa e temperatura de ebulição relativamente alta, para evitar perdas significativas da fase aceptora (gota) durante o processo de extração; baixa solubilidade em água, permitindo a separação adequada entre as fases e prevenindo a dissolução da gota na fase aquosa. Neste estudo, tricloroetileno, clorofórmio, tetracloroeto de carbono, hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazólio [C<sub>4</sub>MIN][PF<sub>6</sub>], hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metilimidazólio [C<sub>6</sub>MIM][PF<sub>6</sub>] foram testados como solventes extratores. Analisando os resultados obtidos, pode-se verificar que o uso do tricloroetileno como solvente extrator proporcionou os maiores sinais analíticos. No entanto, esse solvente é extremamente tóxico, gera resíduos de difícil descarte e apresenta elevada volatilidade, ocasionando a perda de simetria no formato da gota e dificultando a reprodutibilidade das análises. O clorofórmio não foi eficaz na extração, devido a sua elevada pressão de vapor, tornando as intensidades das forças intermoleculares mais fracas, e consequentemente

evapora com muita facilidade. Com o uso do tetracloreto de carbono, não foi obtido bons resultados, pois a gota era direcionada para a parte interna do capilar, comprometendo a extração. Neste trabalho foi utilizado como solvente de extração o líquido iônico, devido à menor toxicidade, menor grau de evaporação e dissolução da gota. A viscosidade dos líquidos iônicos é uma vantagem para formação da gota. Assim, o Hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metilimidazólio foi selecionado como solvente de extração (Figura 52). O  $[C_6MIM][PF_6]$  possui uma cadeia carbônica maior quando comparada com os outros solventes. Quanto maior a cadeia carbônica em uma determinada substância, maior a probabilidade de essas moléculas entrelaçarem umas com as outras, ocorrendo um aumento na viscosidade.

**Figura 52.** Influência do tipo de solvente extrator sobre a pré-concentração de V(V) por SDME.



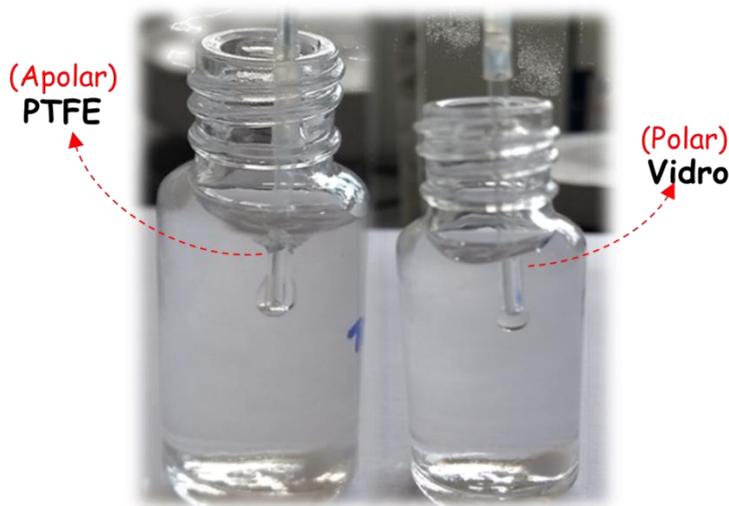
### 3.6.1.2 Tipo de material do capilar e formato da gota extratora

Na etapa do sistema de pré-concentração foi necessário realizar um estudo sobre o tipo de material utilizado para formação da gota extratora. A escolha do material foi baseada na polaridade, uma vez que solventes poucos polares terão maior afinidade por revestimentos apolares, enquanto solventes apolares, por sua vez, por revestimentos polares. Em vista disso, foram realizados estudos para comparação entre dois materiais diferentes: capilares de vidro e capilares de teflon.

Uma propriedade que influencia diretamente no formato esférico da gota e depende das forças intermoleculares é a tensão superficial. Esta propriedade resulta das forças de coesão e adesão. A força de coesão é a interação entre as moléculas do próprio líquido, e a força de adesão está relacionada com a afinidade entre líquido e a superfície de um sólido quando em contato.

No experimento, quando uma pequena quantidade do solvente apolar foi acomodado sobre a superfície de um capilar de teflon (apolar), parte do solvente se espalhou sobre a área do capilar. Nessa situação, as forças adesivas são mais fortes do que as forças coesivas, permitindo que a gota extratora interagisse com o material de plástico, ficando parte do solvente nas paredes do capilar. Quando se utilizou o capilar de vidro (polar), as forças coesivas foram mais intensas do que as forças adesivas, ou seja, praticamente não houve interação entre o solvente e as extremidades da superfície do vidro, como consequência, todas as moléculas do corpo da gota foram atraídas da superfície para o centro, proporcionando uma configuração esférica para gota, resultando em um sistema mais estável. Nos experimentos posteriores, foi utilizado o material de vidro para formação da fase extratora, pois as moléculas presentes no vidro são polares, o que favorece a formação da gota. A Figura 53 apresenta os tipos de materiais utilizados para formação da gota extratora e o seu respectivo formato.

**Figura 53.** Influência do tipo de material para formação da gota extratora durante a pré-concentração de V(V) por SDME.



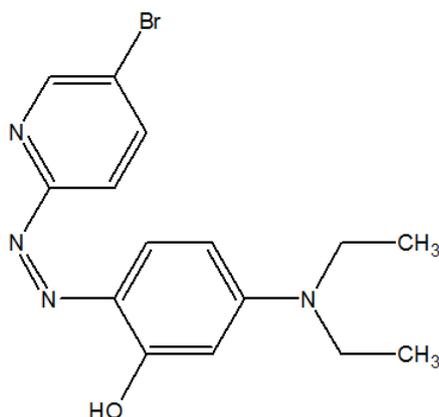
### 3.6.1.3 Influência do pH

Muitos íons metálicos, especialmente os metais de transição comportam-se como ácidos de Lewis, receptores de pares de elétrons de um ligante doador de elétrons, que são bases de Lewis para que ocorra a formação do complexo, conforme a reação a seguir:



As microextrações para compostos inorgânicos são dependentes do pH, uma vez que determina a espécie que existe em solução e influencia diretamente a sensibilidade da reação. Em um meio ácido, a interação do vanádio com o Br-PADAP resultou em quelatos de coloração azulada. A estrutura do reagente Br-PADAP utilizado para a formação do complexo com os íons de vanádio em solução aquosa é apresentada na (Figura 54).

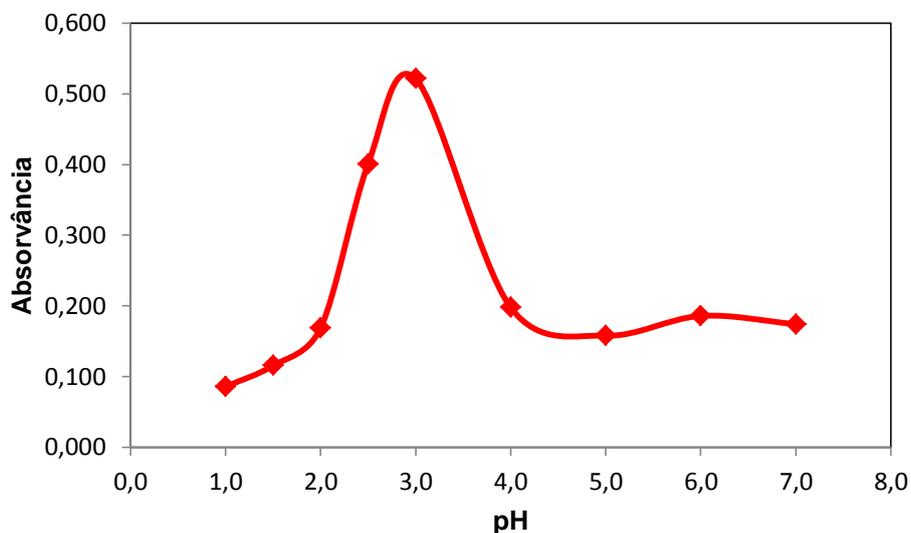
**Figura 54.** Estrutura do reagente orgânico 2-[5-bromo-2-piridilazo-5-(dietilamino) fenol (Br-PADAP) utilizado para a complexação da espécie V(V) no sistema de pré-concentração.



O efeito da concentração de hidrogênio foi variado numa faixa entre 1,0 a 7,0 utilizando soluções de cloreto de potássio/ácido clorídrico (1,0 - 3,0), acetato (4,0 - 6,0) e borato (7,0). De acordo com os resultados apresentados na Figura 55, quando valores de pH entre 4,0 e 7,0 foram utilizados, a extração foi comprometida, resultando no decréscimo do sinal analítico. Os resultados obtidos evidenciam que o máximo de extração foi obtida em pH 3,0, indicando

a formação do complexo entre o Br-PADAP e  $V^{5+}$  e, conseqüentemente, uma grande extração da espécie de interesse em elevada acidez. Nos experimentos posteriores, uma solução de KCl/HCl 3,0 foi utilizada para ajustar o pH das amostras.

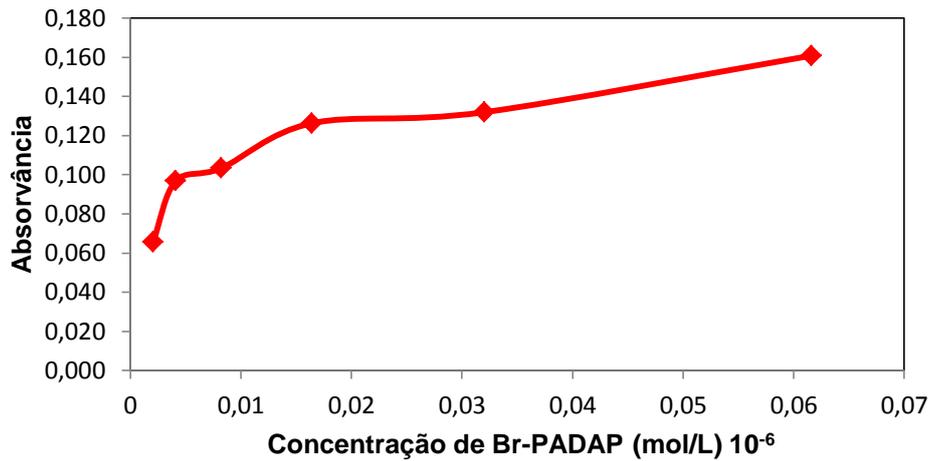
**Figura 55.** Influência do pH sobre a pré-concentração de V(V) por SDME.



#### 3.6.1.4 Efeito da concentração do Br-PADAP

O efeito da concentração do agente quelante Br-PADAP na microextração de vanádio foi avaliada na faixa entre 0,01 e 0,06 % (m/v). A Figura 56 mostra uma tendência crescente do sinal analítico à medida que aumenta a concentração do Br-PADAP. Essa tendência é muito favorável para a intensidade da coloração da gota e, conseqüentemente, para a obtenção de maiores sinais analíticos. Com o intuito de intensificar a cor da gota, a concentração do reagente complexante Br-PADAP utilizado na extração de vanádio foi fixado em 0,06% (m/v). A concentrações abaixo de 0,06 % (m/v), a quantidade de agente quelante não é suficiente para deslocar o equilíbrio da complexação no sentido de formação do complexo V(V)-Br-PADAP, o que diminui a quantidade do metal extraída.

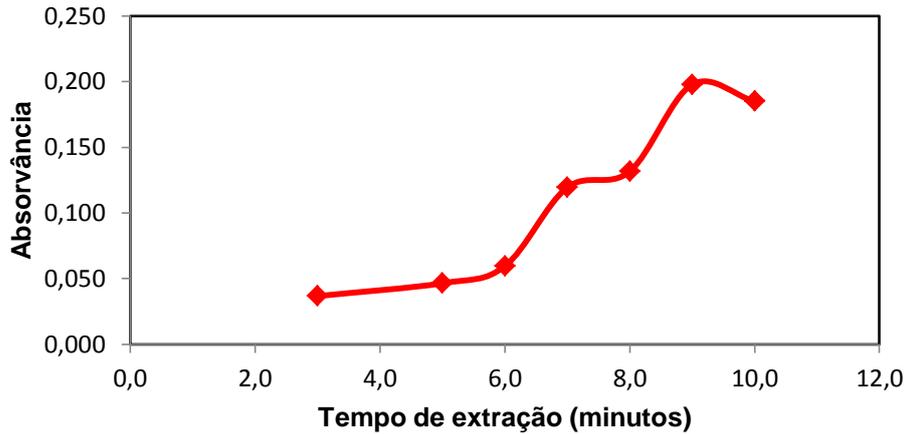
**Figura 56.** Influência da concentração do agente quelante Br-PADAP durante a pré-concentração de V(V) por SDME.



### 3.6.1.5 Tempo de extração

O tempo de contato entre a fase aquosa e a fase orgânica está diretamente relacionado com o fator de enriquecimento, que informa o grau de concentração do analito que ocorreu durante a extração. A transferência de massa da amostra para o solvente extrator depende do tempo para que a gota atinja a coloração desejada e fique com aspecto uniforme. Neste trabalho, a influência do tempo na extração de vanádio foi estudada na faixa de 3,0 a 10,0 minutos. Observando a Figura 57, nota-se que o sinal de absorvância segue uma tendência, aumentando o sinal analítico até 9,0 minutos e, posteriormente, o sinal começa a decrescer, devido às perdas de massa da gota extratora para a solução. Então, em todos os estudos posteriores, foi empregado um tempo de 9,0 minutos.

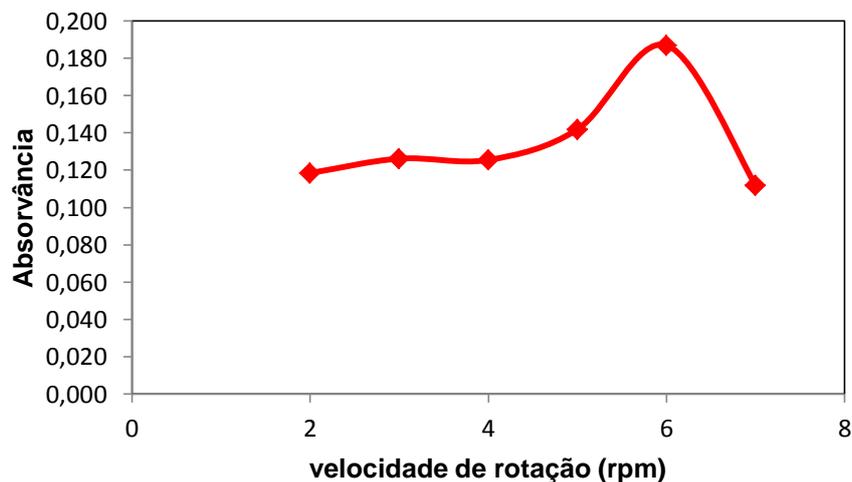
**Figura 57.** Influência do tempo de extração durante a pré-concentração de V(V) por SDME.



### 3.6.1.6 Efeito da agitação magnética

Neste trabalho, a velocidade de agitação é determinada pela rotação do agitador magnético. O estudo da velocidade de agitação foi feito de 200 a 700 rpm. Na Figura 58, observa-se que quando se utilizam velocidades de agitação baixas, a transferência de massa não é significativa. Velocidades elevadas aceleram a cinética de extração, deixando a gota com uma coloração homogênea. A velocidade de agitação foi fixada em 600 rpm. Não foi possível utilizar uma velocidade acima de 600, pois afetava a estabilidade da gota.

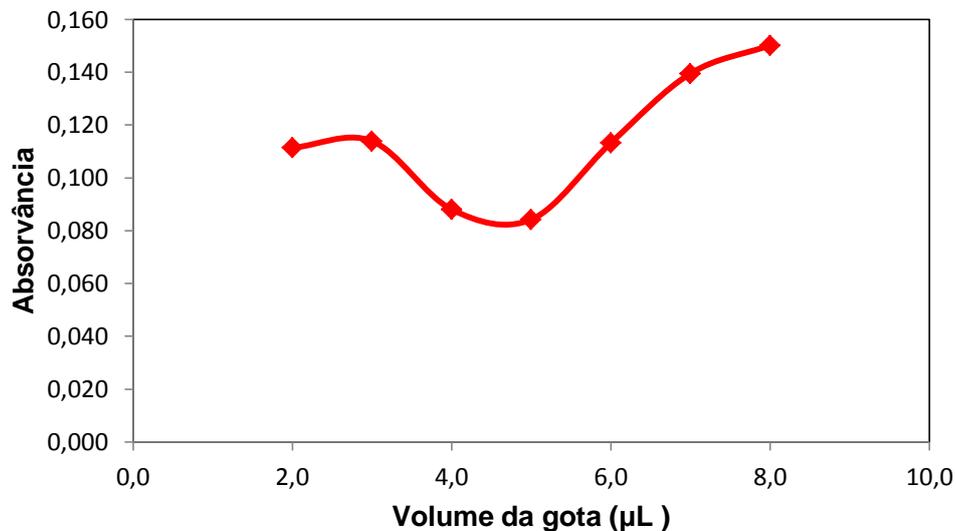
**Figura 58.** Influência da velocidade de rotação sobre a pré-concentração de V(V) por SDME.



### 3.6.1.7 Efeito do volume de líquido iônico

A quantidade de solvente extrator é um critério rigoroso a ser considerado em procedimentos que envolvem a SDME, uma vez que é difícil controlar a estabilidade da gota na superfície do capilar de vidro. Como pode ser observado na figura 59, um volume maior da fase extratora proporcionou uma maior extração, pois quanto maior a área da gota, maior será a superfície de contato com a fase doadora, resultando em uma transferência de massa mais eficiente. Então, um volume de 8,0  $\mu\text{L}$  foi selecionado para promover a extração dos analitos.

**Figura 59.** Influência da quantidade de solvente extrator sobre a pré-concentração de V(V) por SDME.



Após a otimização dos parâmetros da extração usando SDME, a Tabela 15 apresenta o resumo das condições otimizadas.

**Tabela 15.** Condições do sistema SDME para pré-concentração e determinação de V (V).

Tipo de solvente extrator	1-Hmim [PF6]
Tipo do capilar	Vidro
Volume de amostra	3,43 mL
Volume da gota	8,0 $\mu$ L
pH da solução	3,0
Concentração de Br-PADAP	0,06 % m v <sup>-1</sup>
Tempo de extração	9,0 minutos
Agitação magnética	600 rpm

### 3.6.2 Características analíticas do método para determinação de vanádio em amostras de água

#### 3.6.2.1 Precisão

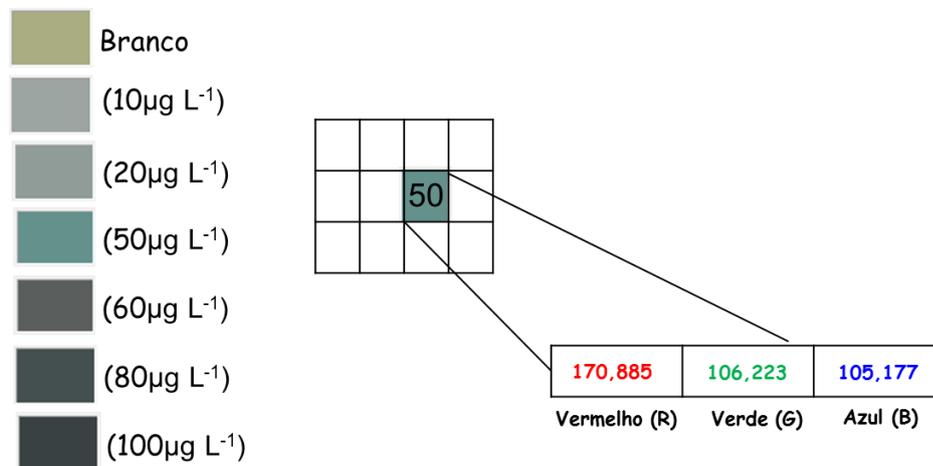
A precisão do método proposto foi avaliada através da análise de replicação de captura de imagem e cálculo de RGB da mesma amostra. O desvio padrão relativo (RSD) foi calculado como sendo 4,8%, mostrando uma boa repetibilidade do método proposto.

#### 3.6.2.2 Linearidade

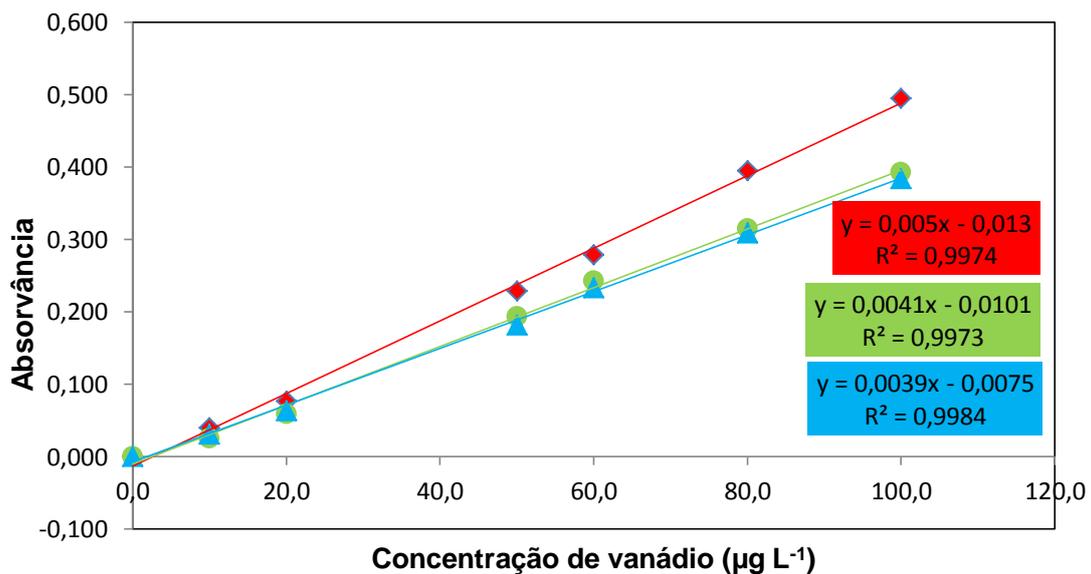
A avaliação da linearidade de um método demonstra a capacidade em produzir resultados proporcionais entre a resposta instrumental e a concentração do analito. As curvas de calibração foram construídas para determinação de V(V) usando sete soluções padrão do elemento em uma faixa de concentração de 10 a 100  $\mu$ g L<sup>-1</sup>. Os dados da imagem digital foram processados e os valores, obtidos nos três canais RGB. A Figura 60 mostra a área específica da gota correspondente a cada ponto da curva analítica e a figura 61 apresenta as curvas de calibração com as equações obtidas a partir dos dados dos três canais RGB. A melhor sensibilidade para vanádio usando a

determinação de regressão linear simples foi obtida na cor vermelha, e a menor sensibilidade para o vanádio foi na cor azul, provavelmente devido à menor intensidade da cor resultante do complexo V(V) – Br-PADAP.

**Figura 60.** Área específica da gota correspondente a cada ponto da curva analítica.



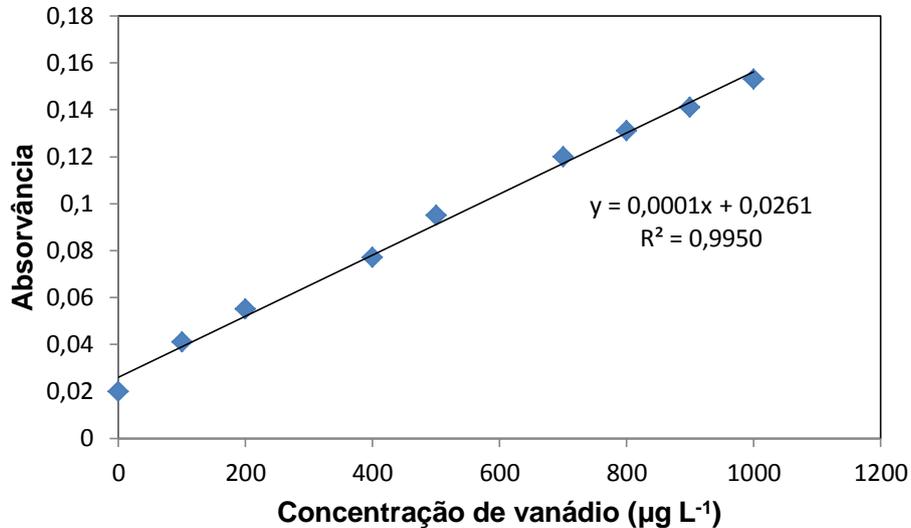
**Figura 61.** Curvas de calibração usando os canais vermelho, verde e azul.



Com o intuito de comparar os sinais analíticos e verificar o aumento destes sinais na determinação de V(V) proporcionado pelo sistema desenvolvido, foi construída uma curva analítica relativa à medida direta do elemento por análise colorimétrica de imagens digitais. Foram preparadas soluções de V(V), de concentrações variando entre 100 e 1000 µg L<sup>-1</sup>. A

equação da reta relativa a esta curva analítica é:  $y = 0,0001x + 0,0261$ . O coeficiente de correlação correspondente é igual a 0,995. A curva analítica relativa à medida direta de V (V) é apresentada na Figura 62.

**Figura 62.** Curva analítica correspondente à determinação direta de V(V).



### 3.6.3 Estudo de Interferências

Estudos foram realizados para avaliar o efeito de espécies químicas presentes em águas naturais, rio e de mar, empregando a microextração com gota suspensa. O estudo de interferência foi realizado utilizando as condições otimizadas usando o sinal relativo em porcentagem. O estudo experimental consistiu em adicionar, individualmente, quantidades de vários íons concomitantes em diferentes concentrações a uma solução de vanádio de  $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$ . As soluções foram submetidas à metodologia desenvolvida, e os sinais analíticos obtidos foram comparados com os obtidos por análise de uma solução de vanádio (V) de concentração  $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$ , na ausência de concomitantes. Uma variação de  $\pm 5,0\%$  no sinal analítico foi o critério de interferência de cada espécie. Foram estudadas várias espécies consideradas como principais componentes de uma amostra de água. A Tabela 16 indica que as espécies  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$ , são aquelas que interferem em menores concentrações no sistema de microextração com gota suspensa, provavelmente porque esses cátions competem com o vanádio na complexação com Br-PADAP. Para os estudos envolvendo os ânions  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,

$\text{NO}_3^-$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  e  $\text{PO}_4^{3-}$  uma diminuição no sinal analítico de vanádio(V) foi observada quando estão em concentrações elevadas ( $1000\text{-}2000 \mu\text{g L}^{-1}$ ).

**Tabela 16.** Quantidades toleráveis de outros íons na determinação de vanádio (V) pelo método de microextração proposto.

Cátion	Tolerância	Ânion	Tolerância
$\text{Cu}^{2+}$	1: 500	$\text{Cl}^-$	1: 500
$\text{Zn}^{2+}$	1: 500	$\text{CO}_3^{2-}$	1: 2000
$\text{Al}^{3+}$	1: 500	$\text{NO}_3^-$	1: 2000
$\text{Ni}^{2+}$	1: 1000	$\text{F}^-$	1: 500
$\text{Co}^{2+}$	1: 1000	$\text{SO}_4^{2-}$	1: 1000
$\text{Pb}^{2+}$	1: 100	$\text{PO}_4^{3-}$	1: 1000
$\text{Mn}^{2+}$	1: 500		
$\text{Fe}^{3+}$	1: 100		

### 3.6.4 Parâmetros analíticos

A Tabela 17 apresenta um resumo dos parâmetros analíticos após otimização do sistema de pré-concentração proposto.

**Tabela 17.** Valores dos parâmetros analíticos encontrados após otimização do sistema de extração e pré-concentração para determinação de vanádio(V) em amostras de águas.

<b>Fator de enriquecimento</b>	50
<b>Volume de amostra (mL)</b>	3,43
<b>Índice de consumo (mL)</b>	0,07
<b>Limite de detecção</b>	0,59
<b>Limite de quantificação</b>	1,86
<b>Equação da curva analítica com pré-concentração</b>	$Y=0,005x + 0,013$
<b>Equação da curva analítica para medida direta</b>	$Y = 0,0001x + 0,0261$

### 3.4.5 Aplicação do método em amostras de águas

O método foi aplicado na determinação de vanádio em amostras de água de rio, mineral e mar, sendo estas amostras submetidas à filtração, ajuste de pH e posteriormente feita a análise usando o sistema de pré-concentração proposto. Para avaliar a recuperação do sistema, as amostras foram analisadas com a adição de quantidades conhecidas de vanádio. Os valores de recuperação obtidos ficaram no intervalo entre 91 e 103 %, confirmando a validade e a aplicabilidade do método. O resultado das análises das amostras e da recuperação está apresentado na Tabela 18.

**Tabela 18.** Resultados da determinação de vanádio em amostras de águas utilizando o método proposto.

Amostra	Município	Quantidade de vanádio ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )		Recuperação (%)
		Adicionada	Encontrada	
Água mineral	Salvador (Ilha de Itaparica)	0	<LOD	---
		50,0	$48,3 \pm 0,16$	96
Água de rio	Maracás (Mineradora vanádio)	0	<LOD	---
		50,0	$49,8 \pm 0,16$	103
Água de mar	Cairu (Ilha de Tinharé)	0	<LOD	---
		50,0	$50,1 \pm 0,30$	100
Água de mar	Cairu (Ilha de Boipeba)	0	<LOD	---
		50,0	$45,5 \pm 0,094$	91
Água de rio	Cairu	0	<LOD	---
		50,0	$50,4 \pm 0,33$	101

Algumas amostras de água de rio foram coletadas em pontos próximo da empresa de mineração, para verificar se a presença das multinacionais, extratoras de minérios, instaladas na região, favoreceu a contaminação dos afluentes e rios da região. Observou-se que as concentrações de vanádio

encontradas nas amostras de água foram muito baixas. Portanto, não foi encontrado indícios de contaminação.

As concentrações de vanádio obtidas nas amostras de água estão abaixo dos limites aceitáveis pela legislação brasileira, como a Resolução CONAMA 396, que estabelece o limite de 50  $\mu\text{g L}^{-1}$  de vanádio em água para consumo humano, 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  para irrigação e recreação.

A recuperação para algumas amostras não foram satisfatória e não puderam ser quantificados, devido principalmente às concentrações estarem abaixo dos limites de quantificação do método.

### 3.6.6 Aplicação do método em amostra certificada

Para o método proposto foi realizado a validação usando material de referência certificado. O material utilizado foi BCR-414, Planta aquática. O resultado obtido na amostra certificada, foi de  $7,95 \pm 0,17 \text{ mg kg}^{-1}$ , e se encontra de acordo com o valor certificado de  $8,10 \pm 0,18 \text{ mg kg}^{-1}$ . Para comparar os valores obtidos com os valores certificados foi realizado um teste estatístico conhecido como teste  $t$  de Student. Esse teste é realizado para comparar uma média experimental com um valor conhecido. A comparação foi feita calculando um valor de  $t$  e comparando com um valor de  $t$  tabelado, no nível de confiança de 95 %. E como o  $t$  calculado foi menor que o  $t$  tabelado, não houve diferença significativa entre os resultados. O valor de  $t$  calculado foi obtido através da equação (6).

$$t = (\bar{x} - \mu) \sqrt{n} / s \quad (\text{Equação 6})$$

## 3.7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho, foi proposto pela primeira vez um sistema usando a microextração com gota suspensa e imagens digitais para determinação espectrofotométrica de V (V) em amostras de águas. O sistema proposto mostrou-se adequado e eficiente, sendo uma excelente alternativa economicamente viável frente aos espectrofotômetros convencionais. Além

disso, esses dispositivos dispensa o uso de seletores de radiação, o que possibilita a redução no custo da manutenção da instrumentação.

A utilização do líquido iônico, substituindo reagentes orgânicos, extremamente tóxicos, como tricloroetileno, clorofórmio e tetracloreto de carbono, proporcionou um avanço no desenvolvimento de métodos e sistemas que apresentem menor impacto ambiental.

O acoplamento do sistema baseado em imagens digitais com a microextração com gota suspensa foi uma estratégia interessante, pois permitiu o menor consumo de amostras e reagentes, excelente exatidão, limite de detecção e quantificação, evidenciando uma satisfatória aplicação em amostras de águas naturais, mar e rio.

Os parâmetros estudados, como tempo de extração, pH, concentração do reagente complexante, volume da gota e velocidade de agitação foram otimizados de forma eficiente, pois foi possível obter uma melhora na resposta analítica da metodologia proposta. Como pode ser observado na Tabela 19, o método proposto é comparável, ou até superior, a outros métodos de pré-concentração de vanádio descrito na literatura, com uma grande vantagem adicional de oferecerem menor custo, serem de fácil manipulação e utilizarem pequenos volumes de amostras e reagentes.

**Tabela 19.** Dados comparativos de alguns estudos sobre a pré-concentração de V(V).

Método	Reagente	Técnica de detecção	LD	VOLUME de amostra (mL)	Referência
DLLME-DC	DCDHNAQ	Colorimetria digital	0,87 $\mu\text{g L}^{-1}$	5,00	[70]
SFODME	8-hidroxiquinolina	ET AAS	0,97 $\mu\text{g L}^{-1}$	50,0	[87]
FI-TILDLME	Br-PADAP	ET AAS	4,8 ng $\text{L}^{-1}$	5,00	[88]
CPE	TAN + $\text{H}_2\text{O}_2$	Espectrofotometria	1,4 ng $\text{L}^{-1}$	100	[76]
SDME	Br-PADAP	Colorimetria digital	0,59 $\mu\text{g L}^{-1}$	3,43	Presente trabalho

DLLME-DC: microextração dispersiva líquido-líquido baseado na colorimetria digital; FI-TILDLME: sistema de injeção de fluxo com microextração dispersiva líquido baseado na temperatura líquido iônico.

### 3.8 REFERÊNCIAS

- [1] JIANG, H. M.; HU, B. Determination of trace Cd and Pb in natural waters by direct single drop microextraction combined with electrothermal atomic absorption spectrometry. **Microchimica Acta**, v. 161, n. 1-2, p. 101-107, Apr 2008. ISSN 0026-3672. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000255742400008 >.
- [2] BEZERRA, M. D. A.; FERREIRA, S. L. C. **Extração em ponto nuvem: princípios e aplicações em Química Analítica**. UESB. 2006.
- [3] KOKOSA, J. M. Recent trends in using single-drop microextraction and related techniques in green analytical methods. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 194-204, Sep 2015. ISSN 0165-9936. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000361777300029 >.
- [4] ZHANG, A. L.; ZHA, Y. Single-drop liquid phase microextraction accelerated by surface acoustic wave. **Journal of Separation Science**, v. 36, n. 6, p. 1085-1089, Mar 2013. ISSN 1615-9306. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000319864900013 >.
- [5] LEMOS, V. A.; VIEIRA, U. S. Single-drop microextraction for the determination of manganese in seafood and water samples. **Microchimica Acta**, v. 180, n. 5-6, p. 501-507, 2013. ISSN 0026-3672.
- [6] JAIN, A.; VERMA, K. K. Recent advances in applications of single-drop microextraction: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 706, n. 1, p. 37-65, 11/7/2011. ISSN 0003-2670. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267011011214> >.
- [7] EFECINAR, M.; CAKIR, P.; SATIROGLU, N. Determination of Trace Amounts of Lead with ETAAS After Single Drop Microextraction and Dispersive Liquid Liquid Microextraction Methods. In: PIRRONE, N. (Ed.). **Proceedings of**

the 16th International Conference on Heavy Metals in the Environment, v.1, 2013. (E3S Web of Conferences). ISBN 2267-1242.

[8] CANTWELL, M. A. J. A. F. F. Solvent Microextraction into a Single Drop. **Analytical Chemistry**, v. 68, n. 23, p. 2236-2240, 1996.

[9] HE, Y.; LEE, H. K. Liquid phase microextraction in a single drop of organic solvent by using a conventional microsyringe **Analytical chemistry** v. 69, n. 22, p. 4634 -4640, 1997.

[10] DE LA CALLE, I.; PENA-PEREIRA, F.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Liquid-phase microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 936, p. 12-39, 9/14/ 2016. ISSN 0003-2670. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267016308091> >.

[11] JEANNOT, M. A.; PRZYJAZNY, A.; KOKOSA, J. M. Single drop microextraction—Development, applications and future trends. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2326-2336, 4/16/ 2010. ISSN 0021-9673. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967309016379> >.

[12] LIANG, P.; LIU, R.; CAO, J. Single drop microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry for determination of lead in biological samples. **Microchimica Acta**, v. 160, n. 1-2, p. 135-139, Jan 2008. ISSN 0026-3672. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000252484600010 >.

[13] ALMEIDA, J. S.; ANUNCIACAO, T. A.; BRANDAO, G. C.; DANTAS, A. F.; LEMOS, V. A.; TEIXEIRA, L. S. G. Ultrasound-assisted single-drop microextraction for the determination of cadmium in vegetable oils using high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, v. 107, p. 159-163, May 2015. ISSN 0584-8547. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000354155100021 >.

[14] PENA, F.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Immersed single-drop microextraction interfaced with sequential injection analysis for determination of Cr(VI) in natural waters by electrothermal-atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, v. 63, n. 4, p. 498-503, Apr 2008. ISSN 0584-8547. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000255817200007 >.

[15] GOUDARZI, N.; CHAMJANGALI, M. A.; VATANKHAHAN, E.; AMIN, A. H. Suspended Droplet Solvent MicroextractionFlame Atomic Absorption Spectrometry (SDSME–FAAS) Determination of Trace Amounts of Copper in River and Sea Water Samples. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 69, n. 11, p. 1061–1065, 2014.

[16] HASSANPOOR, S.; KHAYATIAN, G. Combination of Directly Suspended Droplet Microextraction and Flame Atomic Absorption Spectrometry for Determination of Trace Amounts of Iron and Copper. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 25, n. 4, p. 734-742, 2014.

[17] XIAODONG WEN, Q. D., JIE GUO, SHENGCHUN YANG. Ultra-sensitive determination of cadmium in rice and water by UV–vis spectrophotometry after single drop microextraction. **Spectrochimica Acta Part A** v. 79, p. 508–512, 2011.

[18] MOINFAR, S.; KHAYATIAN, G. Continuous sample drop flow-based microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry for determination of cadmium. **Microchemical Journal**, v. 132, p. 293-298, 5// 2017. ISSN 0026-265X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X16302946> >.

[19] CAO, J.; LIANG, P.; LIU, R. Determination of trace lead in water samples by continuous flow microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Journal of Hazardous Materials**, v. 152, n. 3, p. 910-

914, 4/15/ 2008. ISSN 0304-3894. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389407010916>>.

[20] SARAFRAZ-YAZDI, A.; AMIRI, A. Liquid-phase microextraction. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 29, n. 1, p. 1-14, 1// 2010. ISSN 0165-9936. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016599360900226X>>.

[21] KHALILI ZANJANI, M. R.; YAMINI, Y.; SHARIATI, S.; JÖNSSON, J. Å. A new liquid-phase microextraction method based on solidification of floating organic drop. **Analytica Chimica Acta**, v. 585, n. 2, p. 286-293, 3/7/ 2007. ISSN 0003-2670. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267007000037>>.

[22] LÓPEZ-GARCÍA, I.; RIVAS, R. E.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Liquid-phase microextraction with solidification of the organic floating drop for the preconcentration and determination of mercury traces by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 396, n. 8, p. 3097-3102, 2010.

[23] ŞAHİN, Ç. A.; TOKGÖZ, İ. A novel solidified floating organic drop microextraction method for preconcentration and determination of copper ions by flow injection flame atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 667, n. 1–2, p. 83-87, 5/14/ 2010. ISSN 0003-2670. Disponível em: <  
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267010004149>>.

[24] MITANI, C.; KOTZAMANIDOU, A.; ANTHEMIDIS, A. N. Automated headspace single-drop microextraction via a lab-in-syringe platform for mercury electrothermal atomic absorption spectrometric determination after in situ vapor generation. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 29, n. 8, p. 1491-1498, Aug 2014. ISSN 0267-9477. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000339536600020 >.

[25] SARICA, D. Y.; TURKER, A. R. Speciation and Determination of Inorganic Mercury and Methylmercury by Headspace Single Drop Microextraction and Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry in Water and Fish. **Clean-Soil Air Water**, v. 40, n. 5, p. 523-530, May 2012. ISSN 1863-0650. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000303797400011 >.

[26] JAHAN, S.; ZHANG, Q.; PRATUSH, A.; XIE, H.; XIAO, H.; FAN, L.; CAO, C. In-Vial Temperature Gradient Headspace Single Drop Microextraction Designed by Multiphysics Simulation. **Analytical Chemistry**, v. 88, n. 21, p. 10490-10498, Nov 1 2016. ISSN 0003-2700. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000386991200024 >.

[27] MARTINIS, E. M.; WUILLOUD, R. G. Cold vapor ionic liquid-assisted headspace single-drop microextraction: A novel preconcentration technique for mercury species determination in complex matrix samples. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 25, n. 9, p. 1432-1439, 2010. ISSN 0267-9477. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000281109600010 >.

[28] PENA-PEREIRA, F.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Headspace single-drop microextraction coupled to microvolume UV–vis spectrophotometry for iodine determination. **Analytica Chimica Acta**, v. 631, n. 2, p. 223-228, 1/12/ 2009. ISSN 0003-2670. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267008018254> >.

[29] FRAGUEIRO, S.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Hydride generation-headspace single-drop microextraction-electrothermal atomic absorption spectrometry method for determination of selenium in waters after photoassisted prereduction. **Talanta**, v. 68, n. 4, p. 1096-1101, 2/15/ 2006. ISSN 0039-9140. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914005004285> >.

[30] SHEN, G.; LEE, H. K. Headspace Liquid-Phase Microextraction of Chlorobenzenes in Soil with Gas Chromatography-Electron Capture Detection. **Analytical Chemistry**, v. 75, n. 1, p. 98-103, 2003.

- [31] CHAMSAZ, M.; ARBAB-ZAVAR, M. H.; AKHONDZADEH, J. Triple-phase single-drop microextraction of silver and its determination using graphite-furnace atomic-absorption spectrometry. **Analytical Sciences**, v. 24, n. 6, p. 799-801, Jun 2008. ISSN 0910-6340. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000256719900020 >.
- [32] ZHANG, M. S.; HUANG, J. R.; ZHENG, X. H.; WU, L. J. Ultrasonic-Assisted Drop-to-Drop Solvent Microextraction in a Capillary Tube for Analyzing Trace Benzene, Toluene, Xylene in One Drop of a Water Sample. **Chromatographia**, v. 72, n. 11-12, p. 1163-1168, Dec 2010. ISSN 0009-5893. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000285099500020 >.
- [33] LIU, H.; DASGUPTA, P. K. Analytical chemistry in a drop. Solvent extraction in a microdrop. **Analytical Chemistry**, v. 68, n. 11, p. 1817-1821, 1996. ISSN 0003-2700.
- [34] FRANCISCO PENA-PEREIRA, I. L., CARLOS BENDICHO\*. Headspace single-drop microextraction coupled to microvolume UV–vis spectrophotometry for iodine determination. **Analytica Chimica Acta**, n. 631, p. 223–228, 2009.
- [35] BAGHERI, H.; NADERI, M. Immersed single-drop microextraction-electrothermal vaporization atomic absorption spectroscopy for the trace determination of mercury in water samples. **Journal of Hazardous Materials**, v. 165, n. 1-3, p. 353-358, Jun 2009. ISSN 0304-3894. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000266121700046 >.
- [36] GOUDARZI, N.; CHAMJANGALI, M. A.; VATANKHAHAN, E.; AMIN, A. H. Suspended Droplet Solvent MicroextractionFlame Atomic Absorption Spectrometry (SDSME–FAAS) Determination of Trace Amounts of Copper in River and Sea Water Samples1. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 69, n. 11, p. 1061–1065, 2014.

[37] AARON L. THEIS, A. J. W., SUSAN M. HANSEN, AND MICHAEL A. JEANNOT. Headspace Solvent Microextraction. **Analytical Chemistry**, v. 73, n. 23, p. 5651-5654, 2001.

[38] GUO, L.; NAWI, N. B.; LEE, H. K. Fully Automated Headspace Bubble-in-Drop Microextraction. **Analytical Chemistry**, v. 88, n. 17, p. 8409-8414, Sep 6 2016. ISSN 0003-2700. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000382805900013 >.

[39] KAILASA, S. K.; WU, H. F. Single-drop microextraction for bioanalysis: present and future. **Bioanalysis**, v. 5, n. 21, p. 2593-2596, Nov 2013. ISSN 1757-6180. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000326449000001 >.

[40] AGUILERA-HERRADOR, E.; LUCENA, R.; CÁRDENAS, S.; VALCÁRCEL, M. The roles of ionic liquids in sorptive microextraction techniques. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 29, n. 7, p. 602–616, 2010.

[41] MARCINKOWSKI, L.; PENA-PEREIRA, F.; KLOSKOWSKI, A.; NAMIESNIK, J. Opportunities and shortcomings of ionic liquids in single-drop microextraction. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v. 72, p. 153-168, Oct 2015. ISSN 0165-9936. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000363819900023 >.

[42] STANISZ, E.; WERNER, J.; ZGOŁA-GRZEŚKOWIAK, A. Liquid-phase microextraction techniques based on ionic liquids for preconcentration and determination of metals. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 61, p. 54-66, 10// 2014. ISSN 0165-9936. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993614001393> >.

[43] MANZOORI, J. L.; AMJADI, M.; ABULHASSANI, J. Ionic liquid-based single drop microextraction combined with electrothermal atomic absorption spectrometry for the determination of manganese in water samples. **Talanta**, v. 77, n. 4, p. 1539-1544, Feb 2009. ISSN 0039-9140. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000262761500044 >.

[44] RAHMANI, M.; KAYKHAI, M. Determination of methylcyclopentadienyl-manganese tricarbonyl in gasoline and water via ionic-liquid headspace single drop microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry. **Microchimica Acta**, v. 174, n. 3-4, p. 413-419, Sep 2011. ISSN 0026-3672. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000293964400028 >.

[45] MANZOORI, J. L.; AMJADI, M.; ABULHASSANI, J. Ultra-trace determination of lead in water and food samples by using ionic liquid-based single drop microextraction-electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 644, n. 1-2, p. 48-52, Jun 2009. ISSN 0003-2670. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000266684000008 >.

[46] AMJADI, M.; MANZOORI, J. L.; ABULHASSANI, J. Ionic Liquid-Based, Single-Drop Microextraction for Preconcentration of Cobalt Before Its Determination by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry. **Journal of Aoac International**, v. 93, n. 3, p. 985-991, May-Jun 2010. ISSN 1060-3271. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000279140000035 >.

[47] ESTEFANÍA M. MARTINIS A, P. B., JORGELINA C. ALTAMIRANO, B, ULLASTIINA HAKALAC,; WUILLOUD, R. G. Tetradecyl(trihexyl)phosphonium chloride ionic liquid single-drop microextraction for electrothermal atomic absorption spectrometric determination of lead in water samples. **Talanta**, v. 80, p. 2034–2040, 2010.

[48] XIAODONG WEN, Q. D., JIE GUO. Ionic liquid-based single drop microextraction of ultra-trace copper in food and water samples before spectrophotometric determination. **Spectrochimica Acta Part A**, v. 79, p. 1941–1945, 2011.

[49] WEN, X. D.; DENG, Q. W.; WANG, J. W.; YANG, S. C.; ZHAO, X. A new coupling of ionic liquid based-single drop microextraction with tungsten coil electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part a-**

**Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 105, p. 320-325, Mar 2013. ISSN 1386-1425. Disponível em: < <Go to ISI>:/WOS:000317545400045 >.

[50] HO, T. D.; ZHANG, C.; HANTAO, L. W.; ANDERSON, J. L. Ionic Liquids in Analytical Chemistry: Fundamentals, Advances, and Perspectives. **Analytical Chemistry**, v. 86, n. 1, p. 262-285, 2014.

[51] L. RUIZ-ACEITUNO, M. L. S., L. RAMOS Use of ionic liquids in analytical sample preparation of organic compounds from food and environmental samples. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 43, p. 121–145, 2013.

[52] JIAHENG ZHANG; LIANG, Z.; GUO, H.; GAO, P.; LU, R.; ZHOU, W.; ZHANG, S.; GAO, H. Ionic liquid-based totally organic solvent-free emulsification microextraction coupled with high performance liquid chromatography for the determination of three acaricides in fruit juice. **Talanta**, v. 115, p. 556–562, 2015.

[53] LEE, J. D. Química inorgânica não tão concisa., 1999.

[54] LIMA, D. M. C., F. A. B.; PADOVANI, R. M.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; SALAY, E; GALEAZZI, M. A. M. . Tabela brasileira de composição de alimentos. Versão II. . 2. ed. -- **Campinas, SP: NEPA-UNICAMP**, p. 113, 2006.

[55] LEMOS, V. A. A. U. S. V. "Single-drop microextraction for the determination of manganese in seafood and water samples." **Microchimica Acta**, v. 180, n. (5-6), p. 501-507.,

[56] FROES, R. E. F. W., C. C.; SILVA, J. B. B. Emprego da modificação química permanente para a determinação de metais em matrizes diversas por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. . **Analytica** p. 32-43, 2006.

[57] CORREIA, P. R. M. N., C. S. E OLIVEIRA, P. V. Espectrometria de Absorção Atômica Multielementar: Desafios e Perspectivas. . **Analytica**, n. 05, 2003.

[58] LIMA, E. C.; BARBOSA, F.; KRUG, F. J. The use of tungsten-rhodium permanent chemical modifier for cadmium determination in decomposed samples of biological materials and sediments by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 409, n. 1-2, p. 267-274, Mar 2000. ISSN 0003-2670. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000085995900031 >.

[59] SAFARI, Z. G., M.B.; HOSSEINZADEH, L. . Spectrophotometric study of complex formations between 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol (PAN) and some metal ions in organic solvents and the determination of thermodynamic parameters. . **Spectrochimica Acta Part A**, v. 78, p. 1606–1610, 2011.

[60] PYTLAKOWSKA, K. K., V.; DABIOCH, M. "Complex-forming organic ligands in cloud-point extraction of metal ions: A review .". **Talanta**, v. 110, p. 202-228., 2013.

[61] PONCE, L. D. P. C. Determinação de Cádmio, Zinco e Cobalto em Amostras Ambientais por Espectrometria de Absorção Atômica de Chama, após Procedimento de Extração Líquido-Sólido Utilizando Naftaleno Modificado com PAN. . **Tese (Doutorado em Química Analítica)**, 1995.

[62] PYTLAKOWSKA, K. K., V.; DABIOCH, M. . Complex-forming organic ligands in cloud-point extraction of metal ions: A review. . **Talanta**., v. 110, p. 202-228, 2013.

[63] ANDERSON, R. G.; NICKLESS, G. HETEROCYCLIC AZO DYESTUFFS IN ANALYTICAL CHEMISTRY - A REVIEW. **Analyst**, v. 92, n. 1093, p. 207-&, 1967. ISSN 0003-2654. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A19679218400001 >.

- [64] YUN, C. X. A. K. Spectrophotometric Determination of Vanadium in Carbonaceous Shales (Stone Coal Ores) Using 2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-diethylaminophenol. **GEOSTANDARDS and RESEARCH GEOANALYTICAL**, v. 31, p. 353-359 2007.
- [65] SKOOG, D. A., HOLLER, J. F., NIEMAN, T. A. *Princípios de Análise Instrumental*. 2002.
- [66] SANTOS, A. P.; LEMOS, V. A. Determination of Vanadium Levels in Seafood Using Dispersive Liquid-Liquid Microextraction and Optical Sensors. **Water Air and Soil Pollution**, v. 226, n. 3, Mar 2015. ISSN 0049-6979. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000351102400041 >.
- [67] BERTON, P.; MARTINIS, E. M.; MARTINEZC, L. D.; WUILLOUD, R. G. Room temperature ionic liquid-based microextraction for vanadium species separation and determination in water samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 640, n. 1-2, p. 40-46, Apr 2009. ISSN 0003-2670. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000265763500005 >.
- [68] ZEEB, M.; MIRZA, B.; ZARE-DORABEI, R.; FARAHANI, H. Ionic Liquid-based Ultrasound-Assisted In Situ Solvent Formation Microextraction Combined with Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry as a Practical Method for Preconcentration and Trace Determination of Vanadium in Water and Food Samples. **Food Analytical Methods**, v. 7, n. 9, p. 1783-1790, Oct 2014. ISSN 1936-9751. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000342417700008 >.
- [69] LEE, J. D. **Química inorgânica não tão concisa**. 1999.
- [70] DING, Z. Q.; ZHANG, Q. Y.; LIU, G. D. Determination of Vanadium in Environmental Water Samples by Dispersive Liquid-liquid Microextraction Coupled with Digital Colorimetry. **Acta Chimica Sinica**, v. 67, n. 17, p. 1962-

1966, Sep 2009. ISSN 0567-7351. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000270209800004 >.

[71] FERMIN CAPITAN-VALLVEY, L. L.-R., NURIA; MARTINEZ-OLMOS, ANTONIO. Recent developments in computer vision-based analytical chemistry:

A tutorial review. **Analytica Chimica Acta**, v. 899, p. 23-56 2015.

[72] PENG, B.; CHEN, G. R.; LI, K.; ZHOU, M.; ZHANG, J.; ZHAO, S. G. Dispersive liquid-liquid microextraction coupled with digital image colorimetric analysis for detection of total iron in water and food samples. **Food Chemistry**, v. 230, p. 667-672, Sep 2017. ISSN 0308-8146. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000400533200081 >.

[73] SOUZA, V. S.; TEIXEIRA, L. S. G.; BEZERRA, M. A. Application of multivariate designs in the development of a method for vanadium determination in natural waters by HR-CS GF AAS after cloud-point extraction. **Microchemical Journal**, v. 129, p. 318-324, Nov 2016. ISSN 0026-265X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000382595300045 >.

[74] HAN, D., TANG, B., LEE, Y. R., ROW, K. H. Application of ionic liquid in liquid phase microextraction technology. *Journal of Separation Science*. **Journal of Separation Science**, v. 35, p. 2949-2961, 2012.

[75] AGUILERA-HERRADOR, E., LUCENA, R., CARDENAS, S., VALCARCEL, M. The roles of ionic liquids in sorptive microextraction techniques. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*. **Trac-Trends in Analytical Chemistry**, v. 29, p. 602-616, 2010.

[76] STEFANOVA-BAHCHEVANSKA, T.; MILCHEVA, N.; ZARUBA, S.; ANDRUCH, V.; DELCHEV, V.; SIMITCHIEV, K.; GAVAZOV, K. A green cloud-point extraction-chromogenic system for vanadium determination. **Journal of**

**Molecular Liquids**, v. 248, p. 135-142, Dec 2017. ISSN 0167-7322. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000418314400019 >.

[77] B.J.-S. LAGERKVIST, A., B. FOWLER, G. NORDBERG, M. NORDBERG, L. . Oskarsson Vanadium, Handbook on the Toxicology of Metals. **book chapter**, p. 905-923, 2007.

[78] NETO, J. H. S., I. S. A. PORTO, M. P. SCHNEIDER, A. M. P. DOS SANTOS, A. A. GOMES AND S. L. C. FERREIRA. "Speciation analysis based on digital image colorimetry: Iron (II/III) in white wine.". **Talanta**, n. 194, p. 86-89, 2019.

[79] FIRDAUS, M. L.; ALWI, W.; TRINOVELDI, F.; RAHAYU, I.; RAHMIDAR, L.; WARSITO, K. Determination of Chromium and Iron Using Digital Image-based Colorimetry. In: UTAMA, N. A.;MCLELLAN, B.;HAMZAH, S.;TRIHARTONO, A.;SURYATMOJO, H.;WIDODO, S.;WIJAYA, M. E.;HIMMI, S. K.;ESTEBAN, M.;FARZANEH, H.;PRILANDITA, N.;SUSAN, N.;HUBOYO, H.;NURUDIN, M. e PRIHATMAJI, Y. (Ed.). **4th International Conference on Sustainable Future for Human Security Sustain 2013**, v.20, 2014. p.298-304. (Procedia Environmental Sciences). ISBN 1878-0296.

[80] RETONDO, C. G. E. F., P. . Química das Sensações. . **Campinas: Editora Átomo**, , 2006.

[81] B., D. G. Digital Imaging. . **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, , v. 39, p. 667-666, 2009.

[82] FERMIN CAPITAN-VALLVEY, L. L.-R., NURIA; MARTINEZ-OLMOS, ANTONIO. "Recent developments in computer vision-based analytical chemistry: A tutorial review.". **Analytica Chimica Acta** v. 899, p. 23-56 2015.

[83] M. LUTFI FIRDAUS, W. A., FERLI TRINOVELDI, IMAN RAHAYU, LENA RAHMIDAR, KANCONO WARSITO. Determination of Chromium and Iron

Using Digital Image-based Colorimetry. **Procedia Environmental Sciences**, v. 20, p. 298 – 304, 2014.

[84] NETO, J. H. S.; PORTO, I. S. A.; SCHNEIDER, M. P.; DOS SANTOS, A. M. P.; GOMES, A. A.; FERREIRA, S. L. C. Speciation analysis based on digital image colorimetry: Iron (II/III) in white wine. **Talanta**, v. 194, p. 86-89, Mar 2019. ISSN 0039-9140. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000456899700012 >.

[85] FIRDAUS, M. L., W. ALWI, F. TRINOVELDI, I. RAHAYU, L. RAHMIDAR AND K. WARSITO. Determination of Chromium and Iron Using Digital Image-based Colorimetry. **4th International Conference on Sustainable Future for Human Security Sustain**, v. 20, p. 298-304, 2014.

[86] MOHAMMAD SARAJI, N. B.: Paper-based headspace extraction combined with digital image analysis for trace determination of cyanide in water samples. **Sensors and Actuators B**, v. 270, p. 28-34, 2018.

[87] SHAYESSTEH DADFARNIA\*, A. M. H. S., AKRAM MIRSHAMSI. Solidified floating organic drop microextraction and spectrophotometric determination of vanadium in water samples. **Turkish Journal of Chemistry**, v. 35, n. 4, p. 625-636.12p, 2011. ISSN 1300-0527.

[88] BERTON, P.; MARTINIS, E. M.; WUILLOUD, R. G. Development of an on-line temperature-assisted ionic liquid dispersive microextraction system for sensitive determination of vanadium in environmental and biological samples. **Journal of Hazardous Materials**, v. 176, n. 1-3, p. 721-728, Apr 2010. ISSN 0304-3894. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000274839700099 >.

[89] Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução Nº 357 de 2005. Disponível em <<http://www.mma.gov.br/port/conama/>>. Acesso em: 04 de abril de 2019.

[90] Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução Nº 33 de 13 de janeiro de 1998. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acessado em 10 de março de 2019.

[91] Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA). Resolução Nº396 de 3 de abril de 2008. Disponível em <<http://www.mma.gov.br/port/conama/>>. Acesso em: 04 de abril de 2019.