

Universidade Federal de Minas Gerais

Instituto de Ciências Exatas

Departamento de Química

Frank Pereira de Andrade

Determinação de constituintes  
inorgânicos em tabacos por  
espectrometria de absorção atômica  
com chama e com forno tubular na  
chama e aerossol térmico

Belo Horizonte

2008

UFMG-ICEx 702<sup>a</sup>

D. 422<sup>a</sup>

FRANK PEREIRA DE ANDRADE\*

**DETERMINAÇÃO DE CONSTITUINTES INORGÂNICOS EM TABACOS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA E COM FORNO TUBULAR NA CHAMA E AEROSSOL TÉRMICO**

Dissertação apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química – Química Analítica.

**\* Bolsista CAPES**

Belo Horizonte

2008

A553d      Andrade, Frank Pereira de  
2008      Determinação de constituintes inorgânicos em  
D      tabacos por espectrometria de absorção atômica com  
chama e com forno tubular na chama e aerossol térmico  
/ Frank Pereira de Andrade. 2008.

x, 91 f. : il.

Orientadora: Letícia Malta Costa.

Co-Orientadora: Clésia Cristina Nascentes.

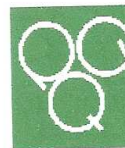
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Minas Gerais. Departamento de Química.

Inclui bibliografia.

1. Química analítica - Teses 2. Espectroscopia de  
absorção atômica - Teses 3. Fumo - Teses I. Costa,  
Letícia Malta, Orientadora II. Nascentes, Clésia  
Cristina, Co-Orientadora III. Título.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - ICEX  
31270-901 - BELO HORIZONTE - MG  
TEL.: 031 - 3499-5732  
FAX: 031 - 3499-5700  
E-MAIL: pgquimic@zeus.qui.ufmg.br




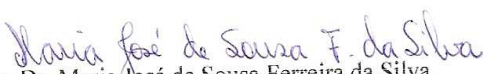
**"Determinação de Constituintes Inorgânicos em Tabacos por Espectrometria  
de Absorção Atômica com Chama e Forno Tubular na Chama e Aerossol  
Térmico"**

**Frank Pereira de Andrade**

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

  
Profa. Dr. Leticia Malta Costa - Orientadora  
UFMG

  
Profa. Dr. Clésia Cristina Nascentes - Co-Orientadora  
UFMG

  
Profa. Dr. Maria José de Sousa Ferreira da Silva  
UFMG

  
Profa. Dr. Simone de Fátima Barbosa Tófani  
UFMG

Belo Horizonte, 27 de fevereiro de 2008.

## AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Leticia Malta Costa por todo aprendizado, calma, amizade e, acima de tudo, muita paciência.

À Profa Dra Clésia Cristina Nascentes pelas palavras de consolo na hora certa, amizade, carinho e também, muita paciência.

Aos amigos do GEAPA, por toda conversa fiada nas horas vagas e todo aprendizado construído em grupo.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Química da UFMG.

Aos funcionários do departamento de química da UFMG, em especial às secretárias do Programa de Pós-Graduação em Química, pela paciência e colaboração. Abraços especiais à Paulete, Katita e Raquel que me aturaram bastante, e que com certeza irão me aturar se necessário...

À Capes pela bolsa concebida, meus mais sinceros agradecimentos, e por favor, continuem assim.

Aos meus pais e irmãos por me suportarem nas horas mais estressantes que os químicos quase nunca têm. Família com certeza é uma base bastante sólida.

A DEUS por toda graça dada e por me acompanhar em todos os momentos da minha vida.

E, mais uma vez ...

Leticia e Clésia, muito obrigado por tudo mesmo. Não tenho nem palavras para expressar tamanha gratidão. Tenho certeza que atitudes valem mais que mil palavras. Espero poder demonstrar pelo menos um pouco disso a vocês. Se não.... ainda terei mais quatro anos para isso, rsrsrs.

A todos que de uma forma ou de outra contribuíram para mais esta conquista...

**MUITO OBRIGADO!!!**

**"Se de longe enxerguei, é porque estive apoiado sobre ombros de gigantes".**

ISAAC NEWTON

## RESUMO

Neste trabalho foram avaliados procedimentos de pré-tratamento de amostras de tabacos para a determinação de Cd, Cu, Fe, Mn, Pb e Zn. Procedimentos de extração e digestão foram investigados como alternativa aos clássicos procedimentos de decomposição de amostras. Com o intuito de reduzir o tempo de pré-tratamento da amostra, a digestão e a extração assistidas por radiação microondas e a extração assistida por radiação ultra-sônica foram empregadas para a determinação de Cu, Fe, Mn e Zn em diferentes amostras de tabacos: fumos de rolo, cigarros de palha e cigarros comerciais. O teor total dos analitos foi determinado utilizando-se um procedimento de decomposição em mufla, combinando via seca e úmida. O teor total foi usado para avaliar a eficiência dos procedimentos propostos. A determinação dos elementos foi realizada por espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS). Os teores de Cu, Fe, Mn e Zn variaram com o tipo de tabaco, com o fumo de rolo apresentando os maiores valores. Quando comparado ao teor total, Zn foi o elemento menos extraível, com teores menores que 30%, sugerindo que este metal esteja mais fortemente ligado à matriz orgânica. Os percentuais de extração para os procedimentos assistidos por radiação ultra-sônica foram inferiores aos obtidos com os procedimentos assistidos por radiação microondas.

Para os elementos Cd e Pb, cujos teores se encontravam abaixo dos limites de detecção da técnica F AAS, foram avaliados procedimentos de pré-concentração e extração por ponto nuvem (EPN). As variáveis estudadas foram: tipo de complexante: PAR ou Br-PADAP, volume da solução  $10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> de complexante, pH e volume de solução 5% m/v de Triton X-114. As amostras de tabacos foram digeridas empregando-se o procedimento de decomposição por via seca e úmida e suas soluções foram submetidas ao procedimento de pré-concentração e extração por ponto nuvem. As determinações foram realizadas por espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS FF AAS), usando ar como carregador. O Br-PADAP foi o melhor agente complexante para os dois elementos e o pH foi ajustado para 9.

## ABSTRACT

It was evaluated sample pretreatment procedures for Cd, Cu, Fe, Mn, Pb, and Zn determination in tobacco samples. Extraction and digestion procedures were investigated as alternative to the classic decomposition sample pretreatment. With the goal to become faster the sample preparation procedures, in this work, the extraction and digestion assisted by microwave radiation and the extraction assisted by ultrasonic radiation were used for Cu, Fe, Mn and Zn determination in different tobacco samples: roll tobaccos, straw cigarettes and commercial cigarettes. Total teor was obtained after ash and wet decomposition applying muffle furnace. The efficiency of each investigated procedure was done comparing the values with the total teor. Elemental determination was realized by flame atomic absorption spectrometry (F AAS). Copper, Fe, Mn, and Zn concentration were dependent of tobacco type. The roll tobacco presented the highest values. When compared to the total teor, Zn was the element less extracted in all procedures, with values minor than 30%, suggesting that this metal is more strongly linked to the organic matrix. The efficiency of the procedures assisted by ultrasonic radiation was inferior when comparing to the procedures assisted by microwave radiation. For Cd and Pb, whose teor were below of the limits of detection of the F AAS technique, it was developed a pre-concentrated and cloud point extraction (CPE) procedure. The studied variables were: hydrophobic complexing agents type: PAR or Br-PADAP, volume of the solution  $10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> of complexing agents, pH and volume of solution 5% m/v of Triton X-114. The different tobacco samples were digested employing ash and wet procedure and the colourless solution was submitted to CPE procedure. The determinations were accomplished by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS), using air as carrier. The Br-PADAP was the best complexing agent for the both elements, and the pH was adjusted to 9.

**LISTA DE FIGURAS**

1. Crescimento de bolha e implosão num líquido irradiado com ultra-som	14
2. Estrutura molecular de um surfactante polar	17
3. Representação esquemática da formação do agregado micelar	18
4. Representação da formação e agregação das micelas	19
5. Representação esquemática do sistema TS FF AAS: <b>BP</b> – bomba peristáltica; <b>C</b> – carregador; <b>A</b> – amostra; <b>IC</b> – injetor/comutador; <b>AA</b> – alça de amostragem; <b>D</b> – descarte; <b>CC</b> – capilar cerâmico; <b>T</b> – tubo de níquel	39
6. Sistema TS FF AAS: (a) sistema completo e (b) tubo de Ni sobre a chama com capilar acoplado	39
7. Curvas de adição para o elemento Cu, obtidas por F AAS	43
8. Curvas de adição para o elemento Fe, obtidas por F AAS	44
9. Curvas de adição para o elemento Mn, obtidas por F AAS	45
10. Curvas de adição para o elemento Zn, obtidas por F AAS	45
11. Gráficos das variâncias versus a concentração padrão de cada ponto da curva, para os elementos Cu e Fe	48
12. Gráficos das variâncias versus a concentração padrão de cada ponto da curva, para os elementos Mn e Zn	48
13. Teores de Cu em diferentes amostras de tabaco obtidos por F AAS após procedimentos de calcinação	52
14. Teores de Fe em diferentes amostras de tabaco obtidos por F AAS após procedimentos de calcinação	52
15. Teores de Mn em diferentes amostras de tabaco obtidos por F AAS após procedimentos de calcinação	53
16. Teores de Zn em diferentes amostras de tabaco obtidos por F AAS após procedimentos de calcinação	54
17. Resultados do planejamento fatorial completo $2^3$ obtidos para Cu após utilização do software Excel <sup>®</sup> da Microsoft	59
18. Resultados do planejamento fatorial completo $2^3$ obtidos para Fe após utilização do software Excel <sup>®</sup> da Microsoft	59
19. Resultados do planejamento fatorial completo $2^3$ obtidos para Mn após utilização do software Excel <sup>®</sup> da Microsoft.	60



20. Resultados do planejamento fatorial completo $2^3$ obtidos para Zn após utilização do software Excel <sup>®</sup> da Microsoft	61
21. Superfície de resposta e curva de nível para Cu obtido pelo método de superfície de respostas Doehlert	62
22. Superfície de resposta e curva de nível para Fe obtido pelo método de superfície de respostas Doehlert	62
23. Superfície de resposta e curva de nível para Mn obtido pelo método de superfície de respostas Doehlert	63
24. Superfície de resposta e curva de nível para Zn obtido pelo método de superfície de respostas Doehlert	63
25. Percentuais de Extração de Cu obtidas após procedimentos assistidos por radiação ultra-sônica em diferentes amostras de tabacos	66
26. Percentuais de Extração de Fe obtidas após procedimentos assistidos por radiação ultra-sônica em diferentes amostras de tabacos	67
27. Percentuais de Extração de Mn obtidas após procedimentos assistidos por radiação ultra-sônica em diferentes amostras de tabacos	67
28. Percentuais de Extração de Zn obtidas após procedimentos assistidos por radiação ultra-sônica em diferentes amostras de tabacos	68
29. Percentuais de extração de Cu após procedimentos assistidos por radiação microondas e ultra-sônica	69
30. Percentuais de extração de Fe após procedimentos assistidos por radiação microondas e ultra-sônica	69
31. Percentuais de extração de Mn após procedimentos assistidos por radiação microondas e ultra-sônica	70
32. Percentuais de extração de Zn após procedimentos assistidos por radiação microondas e ultra-sônica	71
33. Estrutura do tensoativo Triton X-114	72
34. Superfícies de resposta para Cd e Pb, obtidas pelo Planejamento Doehlert com 3 variáveis	75

**LISTA DE TABELAS**

1. Composição da liga de Ni 200 (Catálogo Camacam Industrial Ltda.) utilizada na confecção do tubo atomizador do sistema TS FF AAS	28
2. Propriedades físicas da liga de Ni	28
3. Propriedades físicas do capilar cerâmico de Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> utilizado no sistema TS FF AAS	28
4. Parâmetros instrumentais recomendados pelo fabricante para a determinação de Cd, Cu, Fe, Mn, Pb e Zn por F AAS	29
5. Programa de aquecimento do forno de microondas	33
6. Planejamento fatorial completo 2 <sup>3</sup>	34
7. Método de superfície de respostas – Doehlert	35
8. Avaliação das variáveis complexante, volume de Triton X-114 e pH na eficiência de pré-concentração por ponto nuvem	37
9. Mariz de planejamento Doehlert com 3 variáveis	38
10. Parâmetros instrumentais utilizados para a determinação de Cd e Pb por TS FF AAS	40
11. Parâmetros das curvas em meio ácido, branco de reagentes e dos digeridos para o elemento Cu, obtidas por F AAS	44
12. Parâmetros das curvas em meio ácido, branco de reagentes e dos digeridos para o elemento Fe, obtidas por F AAS	44
13. Parâmetros das curvas em meio ácido, branco de reagentes e dos digeridos para o elemento Mn, obtidas por F AAS	45
14. Parâmetros das curvas em meio ácido, branco de reagentes e dos digeridos para o elemento Zn, obtidas por F AAS	46
15. Limites de Detecção e Quantificação para Cu, Fe, Mn e Zn obtidos segundo a IUPAC, e pelos métodos BLS e OLS	47
16. Teores de Cu, Fe, Mn e Zn em cigarros comerciais após procedimento de calcinação por via seca e úmida e determinação por F AAS (n=3)	49
17. Teores de Cu, Fe, Mn e Zn em cigarros de palha após procedimento de calcinação por via seca e úmida e determinação por F AAS (n=3)	50
18. Teores de Cu, Fe, Mn e Zn em fumos de rolo após procedimento de calcinação por via seca e úmida e determinação por F AAS (n=3)	51

19. Resultados para Cu, Fe, Mn e Zn no material de referência certificado após procedimento de calcinação por via seca e úmida (n = 2)	55
20. Percentuais de extração de Cu, Fe, Mn e Zn em tabacos após digestão assistida por radiação microondas, empregando HNO <sub>3</sub> concentrado e determinação por F AAS	56
21. Percentuais de extração de Cu, Fe, Mn e Zn em tabacos após digestão assistida por radiação microondas, empregando HNO <sub>3</sub> diluído e determinação por F AAS	57
22. Percentuais de extração de Cu, Fe, Mn e Zn para diferentes amostras de tabaco	65
23. Resultados obtidos, na triagem, por F AAS para Cd e Pb	73
24. Resultados obtidos por TS FF AAS para Cd e Pb	74
25. Valores críticos para Cd e Pb	75
26. Parâmetros de mérito do método otimizado para a quantificação de Cd e Pb	76
27. Concentrações de Cd e Pb em materiais certificados determinados por TS FF AAS, após pré-concentração por ponto nuvem. P = 0,05 e n = 4	77
28. Testes de adição e recuperação obtidos para Cd e Pb nas amostras de tabaco	77
29. Teores de Cd e Pb após pré-concentração por ponto nuvem e determinação por TS FF AAS	79

**ABREVIATURAS**

<b>F AAS</b>	Espectrometria de absorção atômica com chama
<b>TS FF AAS</b>	Espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico
<b>MW</b>	Microondas (do inglês, microwave)
<b>CPE ou EPN</b>	Extração por ponto nuvem (do inglês, cloud point extraction)
<b>CMC</b>	Concentração micelar crítica.
<b>Br-PADAP</b>	2-(5-bromo-2-piridilazo)-5-(dietilamino)-fenol
<b>PAR</b>	Sal monossódico de 4-(2-piridilazo)resorsinol
<b>PONPE 7.5</b>	Poli-oxietileno-nonil-fenil-éter
<b>Triton X-114</b>	Octilfenoxipolietoxietanol
<b>LD</b>	Limite de detecção
<b>LQ</b>	Limite de quantificação
<b>OLS</b>	Método dos mínimos quadrados ordinários
<b>RSD</b>	Desvio padrão relativo
<b>BLS</b>	Método dos mínimos quadrados bivariados
<b>ICP OES</b>	Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado
<b>ICP MS</b>	Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado
<b>GF AAS</b>	Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite
<b>CV AAS</b>	Espectrometria de absorção atômica com vapor frio
<b>ET AAS</b>	Espectrometria de atomização atômica com aquecimento eletrotérmico

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	01
1.1. Objetivo	05
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	06
2.1. Extração: uma metodologia rápida para o preparo de amostras	07
2.2. Princípio do aquecimento por radiação microondas	08
2.3. Preparo de amostras assistido por radiação microondas	09
2.4. Radiação Ultra-Sônica	12
2.5. Extração por ponto nuvem	16
2.6. Espectrometria de Absorção Atômica com Forno Tubular na Chama e Aerossol Térmico (TS FF AAS)	21
3. PARTE EXPERIMENTAL	25
3.1. Equipamentos e acessórios	26
3.2. Reagentes e Soluções	29
3.3. Amostras	31
3.4. Procedimento para tratamento da amostra	31
3.4.1. Procedimento de calcinação por via seca e úmida	31
3.4.2. Procedimento de decomposição e extração assistido por radiação microondas	32
3.4.3. Procedimentos de extração assistido por ultra-som	33
3.4.3.1. Planejamento fatorial	33
3.4.3.2. Otimização do procedimento de extração ácida assistida por radiação ultra-sônica	34
3.4.4. Extração por ponto nuvem	35
3.4.4.1. Otimização do método de extração por ponto nuvem de Cd e Pb	36
3.5. Avaliação do efeito de matriz	40
3.6. Limites de detecção e quantificação	41
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42

4.1. Estudo do efeito de matriz	43
4.2. Limites de detecção e quantificação	46
4.3. Procedimento de calcinação por via seca e úmida	49
4.4. Procedimento de digestão e extração assistido por radiação microondas	56
4.5. Extração assistida por radiação ultra-sônica	58
4.6. Comparação dos procedimentos assistidos por radiação microondas com os procedimentos por ultra-som	68
4.7. Extração por ponto nuvem	71
5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	81
5.1. Conclusões	82
5.2. Perspectivas	83
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84

# Capítulo 1

## INTRODUÇÃO

## 1. Introdução

O hábito de fumar ainda é muito freqüente na população mundial. O tabaco é uma substância estimulante que pode ser encontrado em diversas formas: charutos, cigarro, cachimbo, rapé e tabaco de mascar. O tabaco é principalmente fumado, mas pode também ser inalado ou mastigado. A planta *Nicotina tabacum* deve o seu nome ao médico Jean Nicot que popularizou o seu uso na Europa [1]. Os malefícios da utilização do tabaco são sabidamente conhecidos, com graves doenças associadas ao uso contínuo.

Nos países desenvolvidos, 30% das mortes relacionadas ao câncer possuem relação direta com uso de tabacos. Segundo a IARC (International Agency for Research on Cancer), 2004, a WHO (World Health Organization), 2002 e Mackay and Rriksen, 2002, em populações onde o hábito de fumar é comum por muitas décadas, 90% dos cânceres de pulmão e 15-20% de outros cânceres são atribuídos ao tabaco [2].

As principais classes de substâncias carcinogênicas presentes na fumaça dos cigarros são: hidrocarbonetos poliaromáticos, nitroaminas, aminas aromáticas, benzeno e metais pesados. Estas substâncias carcinogênicas são os principais iniciadores do câncer de pulmão nos seres humanos, podendo induzir a múltiplas mutações genéticas e não genéticas [2].

Características do solo, práticas de cultivo e outros fatores agrônômicos aliados às condições climáticas influenciam na acumulação de metais em folhas, como por exemplo, As, Be, Cd, Cr e Ni [3].

Algumas plantas, como os tabacos apresentam mecanismos que lhe conferem capacidade de acumular metais, sendo estas utilizadas para descontaminação de metais no solo. Devido a esta característica, o tabaco apresenta também malefícios à saúde, uma vez que alguns metais tóxicos como Al, Cd, Cr, Cu, Pb, Hg, Ni, Se, V, entre outros são encontrados tanto no próprio tabaco, como nos filtros dos cigarros [4]. Parte destes metais é transferido aos fumantes, podendo variar de 1% até 5%, dependendo do metal ou se o cigarro apresenta filtros ou não [5].



Existem poucos trabalhos na literatura [6-9] que tratam da determinação de metais em amostras de tabaco, sendo que, a grande maioria das determinações é realizada por técnicas caras, complexas e pouco acessíveis, tais como Análise por Ativação Neutrônica e Fluorescência de Raio-X com Energia Dispersa Polarizada.

Diante desse quadro, torna-se necessário o desenvolvimento de metodologias rápidas, precisas e exatas para a determinação de metais presentes em tabacos.

A etapa de preparo de amostras é de fundamental importância dentro da seqüência analítica. Toda vez que uma amostra for submetida a uma análise, o analista deve levar em consideração um conjunto de etapas denominado seqüência analítica, que o direcionam na obtenção dos resultados requeridos [10]. Estas etapas são: definição do problema, escolha do método, amostragem, pré-tratamento da amostra, medida, calibração, avaliação e ação a ser tomada a partir dos resultados obtidos.

Na decomposição de matrizes orgânicas, a etapa de pré-tratamento é responsável pela transformação do analito de interesse, que se encontra inicialmente ligado à matriz, em uma forma inorgânica mais simples e disponível, presente em uma solução homogênea com um mínimo de interferentes.

De toda a seqüência analítica, a etapa de pré-tratamento da amostra é a etapa mais crítica, onde, de modo geral, se cometem os maiores erros (cerca de 30% do valor total) e se consome mais tempo (61% do tempo total), aumentando os custos da análise. A maioria das amostras requer a conversão em uma solução representativa para a determinação dos constituintes inorgânicos por técnicas espectrométricas, evidenciando-se assim, uma crescente necessidade de desenvolvimento de procedimentos analíticos para o pré-tratamento de amostras. Estes procedimentos devem primar por sua eficiência, segurança, simplicidade, rapidez, baixo custo, minimização de perdas, contaminações e resíduos gerados [10].

Amostras de tabaco encontram-se geralmente na forma sólida, sendo necessária a secagem, moagem e dissolução dessas amostras antes de se proceder as análises por técnicas espectrométricas. Existem poucas técnicas que permitem a análise direta da amostra sem nenhuma preparação prévia, tais como análise por ativação neutrônica, termogravimetria, espectrometria de fluorescência de raios-X, ablação com laser, espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, dentre outras. Estas técnicas, porém, não se encontram tão disponíveis quanto à espectrometria de absorção atômica com chama na maioria dos laboratórios que empregam análises rotineiras, existindo casos em que elas não são apropriadas para todos os elementos e tipos de amostras [10].

A conversão de uma amostra sólida em uma solução representativa é vantajosa sob alguns aspectos, tais como [11]:

- as curvas analíticas podem ser feitas com soluções padrão de fácil preparação,
- as diluições são simples,
- os constituintes podem ser mais facilmente separados com ou sem etapas de pré-concentração.

Outras vantagens que podem ser consideradas quanto à dissolução de amostras são:

- a mineralização converte o analito em uma forma química mais simples, possibilitando a obtenção de uma resposta instrumental mais uniforme,
- possibilidade de destruição parcial ou total de compostos orgânicos que interferem durante as medidas de grande número de técnicas analíticas,
- solução final mais homogênea, o que nem sempre é observado em sólidos.

## 1.1 Objetivo

Este estudo teve como objetivo a avaliação de procedimentos de pré-tratamento para a determinação de Cd, Cu, Fe, Mn, Pb e Zn em diferentes amostras de tabaco: cigarros comerciais, de palha e fumos de rolo. Para a determinação de Cu, Fe, Mn e Zn foram desenvolvidos 3 diferentes procedimentos para o tratamento das amostras: calcinação, digestão assistida por radiação microondas em sistemas pressurizados e extração assistida por radiação ultra-sônica. A determinação desses elementos foi realizada por espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS). Para a determinação de Cd e Pb foi desenvolvido um procedimento de extração e pré-concentração por ponto nuvem, utilizando-se Br-PADAP como agente complexante e Triton X-114 como surfactante. A determinação de Cd e Pb foi realizada por espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS FF AAS).

## **Capítulo 2**

# **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

## **2. Revisão bibliográfica**

### **2.1. Extração: uma metodologia rápida para o preparo de amostras**

Os procedimentos de preparo de amostra devem ser escolhidos, dentre outros fatores, de acordo com a técnica de quantificação do analito de interesse [11]. Sendo assim, para a determinação de analitos inorgânicos em amostras biológicas, nem sempre é necessária a total destruição da matriz orgânica. Desde que o meio reacional seja compatível com a técnica de quantificação, basta que se disponibilize o analito de interesse para a solução.

Procedimentos de preparo de amostras que visam à disponibilização do analito de interesse por meio de reagentes diluídos sem a completa destruição da matriz são chamados de extração ou lixiviação. Estes procedimentos permitem a quantificação dos analitos em diversas matrizes, sendo que estas estão diretamente relacionadas com o tipo de extrator [12].

A extração de um analito é afetada pela sua interação com a matriz da amostra e sua recuperação ocorrerá em função diversos fatores tais como a composição da amostra estudada, o solvente escolhido e sua concentração, o tempo de extração, a temperatura, dentre outros. É possível, em alguns casos, a recuperação quantitativa de determinados elementos por meio de procedimentos de extração, desde que estes estejam fracamente ligados à matriz.

A extração com ácidos diluídos é uma técnica simples, rápida, segura e de baixo custo, capaz de promover a dissolução quantitativa dos elementos de interesse, e que, dependendo da matriz, possibilita recuperações que podem ser maiores do que quando se usam ácidos concentrados. Os procedimentos de extração, quando comparados aos procedimentos de digestão por via úmida e via seca, além de estarem menos sujeitos a problemas com brancos analíticos, apresentam menores perdas de voláteis e menores riscos de manuseio, minimizam fatores de diluição, reduzem custos devido aos baixos volumes de reagentes e minimizam o tempo de preparo [13].

Wieteska et al. [13] determinaram Al, Ca, Cd, Cu, Fe, Mg, Pb e Zn por F AAS e ET AAS em amostras de vegetais após procedimentos de digestão e

extração. Neste trabalho foram propostos quatro métodos de extração ácida, todos utilizando cerca de 0,5 g de amostra. Nos métodos 1 e 2 foram adicionados, respectivamente, 5,0 mL de HCl concentrado e 5,0 mL de solução aquosa de HNO<sub>3</sub> (1:5), sendo então aquecidos por 50 minutos a 90 °C. Nos métodos 3 e 4 foram adicionados 2,0 mL de HF concentrado e aquecidos a 90 °C até a completa secagem da solução. Em seguida foram adicionados, respectivamente, 5,0 mL de HCl concentrado e 5,0 mL de solução aquosa de HNO<sub>3</sub> (1:5) sendo e aquecidos por 50 minutos na mesma temperatura. Os volumes dos filtrados foram elevados para 25,0 mL. Os resultados obtidos foram comparados com os do procedimento de calcinação com cerca de 0,5 g das amostras. O método 2 foi ineficiente quando comparado ao método 1, para os elementos Al e Fe. Para os outros elementos, os resultados foram similares, com percentuais de extrações próximos de 100%. Os valores obtidos para os procedimentos 3 e 4 foram similares para todos os elementos com percentuais de extração próximo de 100%.

## **2.2. Princípio do aquecimento por radiação microondas**

As microondas são radiações eletromagnéticas não ionizantes que provocam movimento das espécies em solução pela migração de íons e/ou rotações de dipolo, causadas pela elevada frequência com que o campo eletromagnético se alterna (cerca de  $4,9 \times 10^9$  vezes por segundo) [14].

Do ponto de vista clássico, o aquecimento de um material devido à irradiação microondas ocorre devido à interação da onda eletromagnética com o dipolo da molécula [15]. Assim, quando um campo é aplicado, as moléculas que apresentam um momento dipolo tendem a se alinhar, e quando este campo deixa de ser aplicado, estas moléculas voltam ao estado inicialmente desordenado, dissipando para o meio o excesso de energia na forma de calor. Tendo-se uma situação onde o campo se alterna, o aquecimento está diretamente relacionado com a orientação das moléculas que apresentam momento dipolo, assim, quanto maior o valor da constante dielétrica ( $\epsilon$ ) maior será a quantidade de energia que pode ser armazenada. Em um campo que alterna as fases, como uma onda eletromagnética, a orientação molecular ocorre ciclicamente, sendo que para irradiações na região das microondas leva

ao seu aquecimento. Porém, o tempo de relaxação requerido para os dipolos reduzirem o ordenamento depende do tamanho das partículas e da viscosidade do meio. Para que haja uma produção elevada de calor, é necessário que a amostra apresente uma frequência de relaxação próxima da frequência da onda eletromagnética [15].

A energia microondas é transferida para a amostra por dois mecanismos: condução iônica e rotação de dipolo. A condução iônica consiste na migração de íons quando um campo eletromagnético está sendo aplicado num dado meio. A condução iônica depende da mobilidade do íon, de sua carga e de sua concentração no meio reacional. A rotação de dipolo refere-se ao alinhamento, devido à interação do campo eletromagnético com moléculas que apresentam momento dipolo, e está intimamente relacionado com a temperatura e a viscosidade da amostra [16].

Um dos pontos que diferencia o aquecimento assistido por microondas do aquecimento condutivo é que as paredes dos recipientes reacionais específicos para trabalhos em fornos de microondas são transparentes a radiação, fazendo com que a mistura composta pela solução ácida e a amostra seja aquecida diretamente e de forma mais homogênea que no aquecimento condutivo, com aquecimento secundário do recipiente [16].

### **2.3. Preparo de amostras assistido por radiação microondas**

As técnicas de preparo de amostra assistido por microondas são amplamente usadas em laboratórios analíticos. Atualmente, existem dois tipos comerciais de fornos microondas: com cavidade, que trabalham a alta pressão e os com radiação focalizada, que trabalham a pressões atmosféricas [17].

Quando comparados aos procedimentos convencionais de preparo, o uso do forno de microondas apresenta diversas vantagens, como redução do volume de reagentes, tempo de preparo, contaminação e perda de analitos, além de promover um aumento na eficiência de decomposição da amostra.

Nos fornos de microondas com cavidade, os frascos fechados promovem um aumento no ponto de ebulição dos ácidos devido à elevada pressão gerada no recipiente. Isto potencializa o ataque do ácido utilizado,

umentando a eficiência no processo de decomposição com um tempo reduzido de preparo. Estes sistemas fechados possibilitam uma menor perda de analitos por volatilização e menor risco de contaminação.

O preparo de amostra assistido por radiação microondas à pressão atmosférica baseia-se na focalização da radiação no recipiente reacional através de um guia de ondas. Esta técnica apresenta algumas vantagens quando comparados aos sistemas pressurizados tais como a possibilidade de se acrescentar reagentes durante o processo, trabalho com maiores quantidades de amostras e a possibilidade de eliminação de excesso de reagentes. Como desvantagens, este sistema apresenta maiores riscos de contaminação e perda de analitos voláteis, tais como As, Hg, Se e Cd [17, 18].

Korn et al. [19] compararam quatro procedimentos de decomposição de pigmentos à base de  $\text{TiO}_2$  para a determinação de Al, Cd, Cr, Fe, P, Mn, Ni, Zn e Zr por ICP OES. Foram testadas as seguintes misturas ácidas:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HF}/\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{H}_3\text{PO}_4$  e  $\text{HCl}/\text{HNO}_3/\text{HF}$ , sendo a última empregada em forno de microondas com cavidade, enquanto as outras foram realizadas em chapa aquecedora. A mistura  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{SO}_4$  proporcionou uma completa decomposição da amostra, enquanto a mistura  $\text{HF}/\text{H}_2\text{SO}_4$  não se mostrou conveniente devido ao grande tempo de preparo requerido. Procedimentos com  $\text{H}_3\text{PO}_4$  necessitaram de grandes diluições devido a sua grande viscosidade, que poderia influenciou de forma negativa o processo nebulização da amostra no ICP OES. O procedimento de decomposição assistido por radiação microondas utilizando a mistura  $\text{HCl}/\text{HNO}_3/\text{HF}$  apresentou grandes vantagens sobre os demais, pois, além de promover uma completa decomposição das amostras, ainda possibilitou uma grande redução no tempo de preparo.

Sapkota et al. [20] determinaram Al, Ca, Fe, K, Li, Mg, Mn, Na, Sr, Ti e Zn por ICP OES em amostras de solos e plantas, após decomposição assistida por radiação microondas em forno com cavidade. O forno utilizado pelos autores possuía capacidade para digerir até 40 frascos. Os autores pesaram cerca de 200 mg de amostra diretamente nos frascos reacionais e adicionaram 3,0 mL  $\text{HNO}_3$  concentrado e 100,0  $\mu\text{L}$  de  $\text{HBF}_4$  concentrado. O programa de



aquecimento foi de 63 minutos, atingindo uma temperatura máxima de 240 °C e uma pressão máxima de 110 bar. Após o resfriamento da solução o volume final foi ajustado para 15,0 mL. O procedimento proposto possibilitou a completa dissolução da matriz silicatada. Araújo et al. [21] avaliaram a concentração ácida de HNO<sub>3</sub> em procedimento de decomposição assistido por radiação microondas em sistemas pressurizados para posterior determinação de Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, S e Zn em amostras de plantas por ICP OES. Neste estudo, para cada 250 mg de amostra foram usados 2,0 mL de solução de HNO<sub>3</sub> e 1,0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% v/v. As concentrações de HNO<sub>3</sub> avaliadas foram 2,0; 3,0; 5,0; 7,0 e 14,0 mol L<sup>-1</sup>. O tempo total de aquecimento foi de 19 minutos, com potência máxima de 750 W. Após o programa de aquecimento, o volume foi ajustado para 10,0 mL com água. Para a avaliação da eficiência de digestão, os autores determinaram o teor de carbono residual para cada concentração ácida avaliada, e encontraram teores de carbono residual de 6,9% com a utilização de HNO<sub>3</sub> concentrado e teores que variaram de 10,3 a 11,3% com a utilização das outras concentrações. Os autores utilizaram 2,0 mL de HNO<sub>3</sub> 2,0 mol L<sup>-1</sup> em amostras de materiais de referência e encontraram valores concordantes com os apresentados pelo certificado.

Seco-Gesto et al. [22] compararam dois procedimentos de digestão assistidos por radiação microondas para posterior determinação de Al, Ba, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb, Sn, V e Zn em amostras de mexilhão por ICP OES. O primeiro procedimento consistiu na digestão de cerca de 0,5 g de amostra, onde foram adicionados 8,0 mL de HNO<sub>3</sub> 69% m/m e submetidos a um programa de aquecimento de 23,5 minutos com uma potência máxima de 1000 W e temperatura de 200 °C. O volume final foi ajustado para 25,0 mL com água deionizada. O segundo procedimento consistiu na lixiviação com 15,0 mL de solução extratora para cada 0,5 g de amostra. A solução extratora consistiu da seguinte mistura: HNO<sub>3</sub> 2,5 mol L<sup>-1</sup>, HCl 3,0 mol L<sup>-1</sup> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,5% m/v. O programa de aquecimento utilizado consistiu numa irradiação a 600 W de potência por 3 minutos, atingindo uma temperatura máxima de 65 °C. A solução resultante foi centrifugada por 10 minutos a 3000 rpm e filtrada, sendo o volume final ajustado para 25,0 mL com água deionizada. Quando comparados com amostras de material certificado, os dois procedimentos

apresentaram valores concordantes, com exceção do Al que apresentou os melhores resultados com o procedimento de digestão. O procedimento de extração apresentou como vantagens o menor tempo de preparo das amostras, a possibilidade de se trabalhar sob condições mais brandas e a obtenção de menores desvios padrões relativo, cerca de 2%, contra 11% para o procedimento de digestão.

Baffi et al. [23] avaliaram duas misturas ácidas para determinação de Al, B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Ti, V e Zn em materiais de referência de mexilhão associando ICP OES, ICP MS e GF AAS, após procedimento de digestão assistido por radiação microondas em fornos com cavidade. A primeira mistura consistiu de 7,0 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado e 1,0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% m/v, e a segunda de 7,0 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado, 1,0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% m/v e 200,0 µL de HF concentrado. As massas utilizadas variaram de 100 a 200 mg de amostra e os volumes finais após os procedimentos de digestão foram ajustados para 50,0 mL. O tempo total de digestão foi de 19 minutos com uma potência máxima de 450 W. Para os elementos Al, Ba, Fe, Ti e V, os autores obtiveram valores menores que os apresentados no certificado com a mistura com HF. Para os outros elementos, as duas misturas se mostraram concordantes.

#### **2.4. Radiação Ultra-Sônica**

Ultra-sons são ondas mecânicas com frequências maiores que 16 KHz que se propagam em ciclos sucessivos de compressão e rarefação através de qualquer meio material, não podendo ser sentida pelo homem [24]. Sua descoberta ocorreu em 1880 por Madame Curie, quando estudava o efeito piezelétrico [25] e sua primeira aplicação comercial ocorreu em 1917, empregada para estimar a profundidade da água, sendo usada durante a I Guerra Mundial, pelo “Allied Submarine Detection Investigation Committee”, que se tornou conhecido como ASDIC. Depois, outros desenvolvimentos resultaram no sistema conhecido atualmente como SONAR (Sound Navigation and Ranging) [27, 28].

Somente a partir de 1945 é que ocorreu uma rápida expansão nas aplicações do ultra-som para processos químicos, devido ao aumento da

compreensão do fenômeno de cavitação, juntamente com desenvolvimentos significativos feitos na área dos circuitos eletrônicos e transdutores [28].

A ciência do ultra-som é dividida em duas partes que são identificadas em termos de sua faixa de frequência e de suas aplicações:

- Ultra-som de diagnóstico ou de alta frequência (2-10 MHz)
- Ultra-som de potência ou de baixa frequência (20-100 KHz)

Aplicações que envolvem diagnósticos fazem medidas relacionadas com a propagação, atenuação ou reflexão das ondas ultra-sônicas sendo que para este fim, as ondas devem apresentar frequências superiores a 1 MHz, ou seja, ultra-sons de alta frequência ou baixa potência [24].

O ultra-som utilizado na química é o de baixa frequência, ou alta potência, devido a sua capacidade de causar mudanças físico-químicas nos sistemas químicos. A Sonoquímica é a ciência responsável pelo estudo das interações das radiações ultra-sônicas em sistemas químicos. Essas interações são promovidas devido a um fenômeno chamado de cavitação acústica, que é um processo que ocorre quando, em certas condições, líquidos são expostos à radiação ultra-sônica. Este processo pode ser caracterizado pela formação, crescimento e colapso de bolhas de gás na solução [25, 29].

A origem da cavitação se deve ao fato de que, durante a expansão, os gases adsorvidos no líquido ao redor da cavidade ou na interface evaporam-se, resultando na expansão da cavidade. Durante a etapa de compressão estes gases ou vapores não retornam completamente ao líquido, resultando num aumento efetivo da cavidade. Ciclos periódicos de compressão e expansão causam aumento do tamanho da cavidade, que ao atingir um tamanho crítico implode, liberando grande quantidade de calor e pressão num curto período de tempo e em pontos localizados do líquido [25]. Estas etapas estão representadas na FIGURA 1.

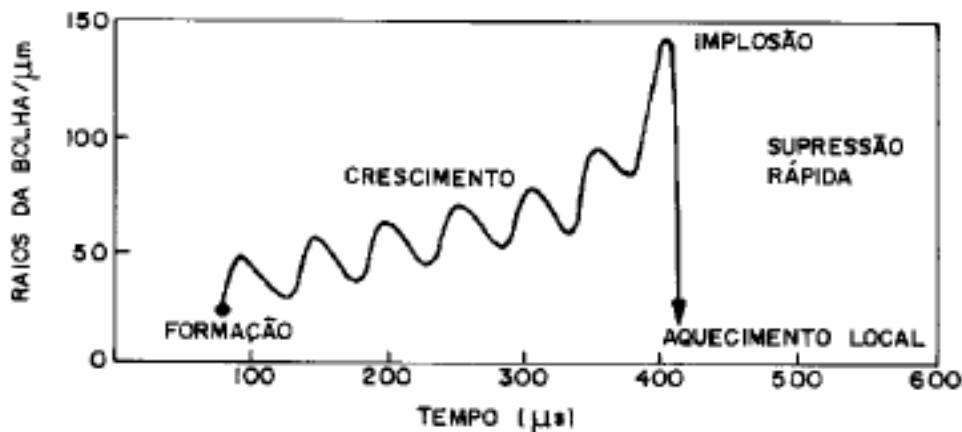


FIGURA 1: Crescimento de bolha e implosão em um líquido irradiado com ultra-som, adaptado de [25].

No momento da implosão, a temperatura no interior da bolha é próximo de 5500 °C, enquanto que ao redor da cavidade é cerca de 2100 °C, sendo que a pressão é estimada em torno de 500 atm . Estes elevados valores de temperatura e pressão alcançados em pontos localizados em curtos períodos de tempo durante a implosão da cavidade provocam um efeito não usual em reações químicas, levando a condução de radicais livres e outros compostos. Assim, a sonicação da água pura conduz a dissociação térmica do vapor de água em radicais  $H\cdot$  e  $\cdot OH$ , sendo que a recombinação destes tende a formar peróxido de hidrogênio. No momento da implosão são gerados micro-jatos de altíssimas velocidades (próximo de 400 Km/h), que quebram as partículas sólidas presentes no meio, aumentando assim suas superfícies de contato [25].

Para os estudos em química, os equipamentos mais comumente utilizados para produção de ultra-som são o banho de ultra-som e a sonda ultra-sônica [24, 29]. Os banhos são constituídos de bacias metálicas onde os transdutores piezoelétricos se encontram fixados no fundo. Já as sondas são fixadas na extremidade de um amplificador transdutor. Nos banhos ocorrem muita dispersão de energia ultra-sônica devido as múltiplas reflexões nas paredes metálicas [24].

A energia ultra-sônica tem sido apontada como um eficiente modo para melhorar o desempenho em diferentes aplicações da química analítica como extração de compostos orgânicos e inorgânicos, homogeneização, dispersão

de suspensões dentre outras aplicações. Desta forma, o uso da radiação ultra-sônica vem como uma alternativa para o pré-tratamento de amostras sólidas, uma vez que esta energia facilita e acelera algumas etapas como dissolução, fusão e lixiviação, entre outras. O uso da radiação ultra-sônica tem sido muito explorado para o tratamento de amostras biológicas, agrônômicas e ambientais [29].

Nascentes et al. [30] propuseram um método rápido de extração de Ca, Mg, Mn e Zn em amostras de vegetais usando banhos de ultra-som para posterior determinação por F AAS. Os autores otimizaram o método estudando as seguintes variáveis: concentração de  $\text{HNO}_3$  ( $0\text{-}14 \text{ mol L}^{-1}$ ), tempo de sonicação ( $0\text{-}30$  minutos) e tamanho das partículas ( $150\text{-}63 \mu\text{m}$ ). Nesse trabalho as melhores condições de extração foram obtidas com  $0,14 \text{ mol L}^{-1}$   $\text{HNO}_3$ , 10 minutos de sonicação e tamanhos de partículas com  $75 \mu\text{m}$ , alcançando recuperações de 96 a 102%. Os autores submeteram um material de referência ao procedimento otimizado e encontraram valores concordantes com os do certificado.

Ilander et al. [31] propuseram um procedimento de digestão assistido por radiação ultra-sônica para a determinação de As, Ba, Co, Cu, Ni, Pb, Sr, V e Zn por ICP OES, em amostras de cinzas. Para As, a solução extratora constituiu de 5,0 mL de água régia e 5,0 mL de água (procedimento 1) e, para os outros elementos, a solução extratora constituiu de 10,0 mL de água régia e 0,5 mL de HF concentrado (procedimento 2), sendo utilizado cerca de 250 mg de amostra em ambos os procedimentos. As soluções foram sonicadas por 18 minutos em um banho de ultra-som com 650 W de potência e frequência de 35 KHz. Amostras de referência certificadas de carvão foram submetidas aos mesmos procedimentos e comparados com um procedimento de digestão assistido por radiação microondas em forno com cavidade. O procedimento de digestão por microondas se mostrou ligeiramente melhor que o procedimento 2, apresentando percentuais de recuperações de 2-15% maiores, com exceção de As. O procedimento 2 se mostrou ideal para As.

Güngör et al. [32] compararam diferentes métodos de extração assistido por radiação ultra-sônica com procedimentos convencionais de digestão ácida

e digestão ácida em bombas em amostra de sedimentos para determinação de Cu, Mn, Ni, Pb e Zn por F AAS. Nos procedimentos empregando ultra-som foram avaliados: tempo de sonicação (10, 15, 25, 45 e 65 minutos), composição das soluções extratoras (HNO<sub>3</sub> conc., HCl conc. e as misturas HNO<sub>3</sub>-HCl 4:1 v/v e HNO<sub>3</sub>-HClO<sub>4</sub>-HF 2:1:1 v/v/v), quantidade de amostra para 25,0 mL de solvente (0,10; 0,25; 0,50; 1,0 e 2,0 g) e tamanho de partículas < 63 e > 212 µm. As melhores condições foram obtidas com 25 minutos de sonicação, massa de 0.50 g, partículas < 63 µm e a mistura HNO<sub>3</sub>-HClO<sub>4</sub>-HF 2:1:1 v/v/v. Todos os procedimentos se mostraram eficientes para a determinação dos analitos de interesse, quando comparados com material de referência certificado. Assim, o procedimento de extração por ultra-som foi escolhido por apresentar vantagens quando comparado aos demais, pois reduz o tempo de preparo e o volume de reagentes, além de minimizar perdas de voláteis.

## 2.5. Extração por ponto nuvem

A extração no ponto nuvem ocorre quando surfactantes não-iônicos, em solução aquosa e em quantidade acima da concentração micelar crítica, CMC, são aquecidos a uma determinada temperatura, conhecida como temperatura de ponto nuvem, na qual a solução torna-se turva. Esta turvação surge por haver um decréscimo da solubilidade do surfactante na água. Acima da temperatura de ponto nuvem, são formadas duas fases. A fase de menor volume, chamada de “fase rica”, contém o surfactante que se encontra complexado com o analito de interesse, e a fase aquosa, de maior volume, chamada de “fase pobre”, que contém uma pequena concentração de surfactante próxima à CMC [33, 34]

Tensoativos ou surfactantes são moléculas orgânicas que apresentam em sua estrutura uma longa cadeia anfipática com uma extremidade polar hidrofílica ou carregada, o que lhes confere a propriedade de solubilizar moléculas hidrofóbicas em água [33, 35, 36]. Um tensoativo simples possui a estrutura R-X, onde R é uma longa cadeia alquílica contendo de 8 a 18 átomos de carbono e X é o grupo de cabeça polar (ou iônico) (figura 2). A palavra surfactante é derivada do inglês “surface active agents”, o que significa que

essas substâncias possuem a propriedade de reduzir a tensão superficial de líquidos. A classificação dos tensoativos como não-iônicos, catiônicos, aniônicos ou anfóteros é dependente da natureza do grupo cabeça [33].



FIGURA 2: Estrutura molecular de um surfactante polar, adaptado de [33].

O grupo de cabeça de tensoativos aniônicos normalmente inclui sais de metais alcalinos e alcalinos terrosos de ácidos carboxílico, sulfúrico e fosfórico. São encontrados, dentro desta classificação, compostos como alquil benzeno sulfonato e os alquil sulfatos (derivados do petróleo), os quais apresentam grande utilização na indústria de sabões e detergentes. Os surfactantes catiônicos contêm grupos de cabeça com nitrogênio terciário ou quaternário, devido à estabilidade e a disponibilidade comercial, enquanto os tensoativos não-iônicos apresentam cadeias de polioxietileno ou polioxipropileno como grupo polar [33]. Nos surfactantes anfóteros existem tanto cargas negativas como positivas na molécula e, dependendo do pH da solução e da estrutura, pode prevalecer a espécie aniônica, catiônica ou neutra.

As micelas são definidas como agregados moleculares de dimensões coloidais, que possuem regiões estruturais hidrofílicas e hidrofóbicas. São formadas espontaneamente em soluções aquosas, a partir de uma determinada concentração, conhecida como concentração micelar crítica (CMC) onde acima desta concentração algumas propriedades da solução são modificadas. Abaixo da concentração micelar crítica, o tensoativo se encontra predominantemente na forma de monômeros e, em concentrações acima desta, há um equilíbrio dinâmico entre monômeros e micelas (FIGURA 3). As micelas são termodinamicamente estáveis e facilmente reproduzíveis, sendo destruídas pela diluição com água, quando a concentração dos tensoativos é menor que a concentração micelar crítica [33].

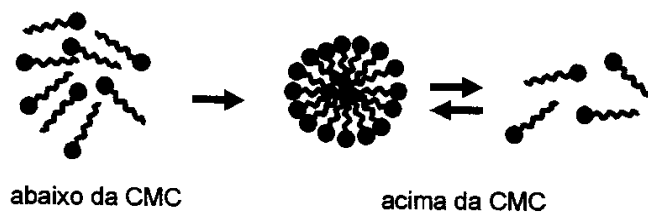


FIGURA 3: Representação esquemática da formação do agregado micelar, adaptado de [33]

Uma propriedade importante das micelas é a capacidade de solubilizar solutos de diferentes naturezas e características. Assim elas podem interagir com os solutos eletrostaticamente, hidrofobicamente ou pela combinação de ambos [34]. No caso dos íons metálicos, como não possuem afinidade com as micelas, eles precisam estar ligados aos reagentes complexantes, tais como 1-(2-piridilazo) 2 naftol (PAN) , O,O – dietil ditiofosfato de amônio (DDTP), Br-PADAP, entre outros, os quais podem ser solubilizados no interior das micelas de tensoativos não-iônicos, sendo possível após a separação física das fases a concentração e separação de metais em um pequeno volume, similar à extração líquido-líquido [33].

Estas propriedades fazem com que as micelas sejam empregadas em diversos campos da química analítica, visando a melhoria das características analíticas dos métodos já existentes e/ou o desenvolvimento de novos métodos, como os de extração/pré-concentração por meio do fenômeno do ponto nuvem.

Para a EPN de metais, adiciona-se à solução devidamente tamponada, um agente complexante para a formação de um quelato hidrofóbico para posterior adição de alguns poucos milímetros de solução concentrada de surfactantes. A solução resultante é aquecida até que o tensoativo atinja seu ponto nuvem, onde ocorre a separação de fases, que pode ser acelerada por centrifugação. Adiciona-se então um diluente à fase rica a fim de diminuir a viscosidade do meio. Estes diluentes, bem como suas concentrações, são escolhidos em função da técnica de quantificação do analito no meio micelar [33, 34]. A FIGURA 4 mostra um esquema de separação por ponto nuvem. Após o aquecimento da solução e obtenção da CMC, ocorre a separação em



duas fases: uma rica, contendo o analito de interesse e outra pobre, que não contém o analito e é posteriormente descartada.

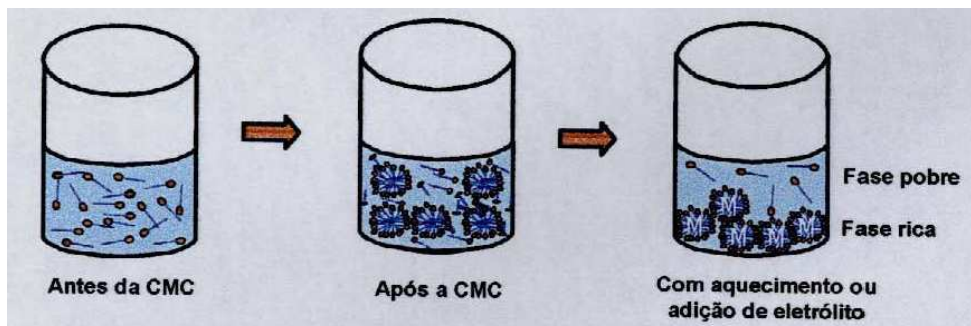


FIGURA 4: Representação da formação e agregação das micelas; M: metal complexado, adaptado de [36].

O fenômeno do ponto nuvem com tensoativos não-iônicos tem sido muito utilizado em eficientes métodos de extração para a separação, pré-concentração ou purificação de uma variedade de substâncias, incluindo íons metálicos [38 - 40] e vários compostos orgânicos.

As principais limitações da extração por ponto nuvem estão no baixo coeficiente de partição de muitas espécies neutras de quelatos metálicos, o que pode ser resolvido com o uso de ligantes altamente hidrofóbicos e na baixa solubilidade dos agentes complexantes em soluções aquosas, o que impõe um limite na quantidade de agentes complexantes que pode ser empregada neste sistema [33].

Desta forma, a crescente utilização dos tensoativos em química analítica é justificada, pois propicia uma maior sensibilidade e possibilita, muitas vezes, uma melhora na seletividade.

A primeira aplicação analítica para a separação de fases baseada no fenômeno do ponto nuvem foi descrita por Watanabe e Tanaka [33, 34] para a pré-concentração de Zn (II) usando PAN como ligante e PONPE 7.5 (poli-oxietileno-nonil-fenil-éter) como surfactante.

Liang et al. [38] determinaram Cd em água por F AAS após pré-concentração por ponto nuvem, usando 1-fenil-3-metil-4-benzil-5-piridilazo

(PMBP) como agente complexante na presença de micelas não iônicas (Triton X-100), obtendo limites de detecção de  $0,64 \text{ ng mL}^{-1}$ .

Manzoori et al. [39] determinaram Cd e Pb em amostras de cabelo humano por F AAS após procedimento de pré-concentração por ponto nuvem usando O,O-dietilditiofosfato como ligante hidrofóbico e Triton X-114 como surfactante não iônico. Eles obtiveram limites de detecção de  $0,62$  e  $2,86 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  para Cd e Pb, respectivamente.

Sussulini et al. [41] determinaram Cr (VI) em águas minerais com e sem gás e águas de bebedouros, por F AAS após EPN. Eles utilizaram solução  $0,05\%$  m/v de 1,5-difenilcarbazona (DFC), como agente complexante, em pH 2 e solução  $0,3\%$  m/v de Triton X-114 como surfactante. Os autores propuseram a utilização de solução  $10\%$  m/v de NaCl, para que o sistema não voltasse a ser monofásico após centrifugação e diminuição de temperatura. Os limites de detecção e quantificação encontrados foram de  $0,4$  e  $1,5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  respectivamente, e eficiência de extração que variou de 87 a 99,3%.

Chen et al. [42] propuseram um procedimento de determinação de Cd, Cu, Pb e Zn por F AAS em amostras de água após EPN. Estes autores utilizaram solução  $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de 1-(2 thialolylazo)-2-naphthol (TAN) como agente complexante e  $0,05\%$  de Triton X-114 como tensoativo. O pH utilizado foi de 8,6. Foram utilizados  $200 \text{ } \mu\text{L}$  de metanol em  $\text{HNO}_3$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  como diluente para diminuir a viscosidade da fase rica, onde eles obtiveram limites de detecção de  $0,099$ ,  $0,27$ ,  $1,1$  e  $0,095 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  para Cd, Cu, Pb e Zn, respectivamente.

Em trabalho recente, Manzoori et al. [43] propuseram a determinação de ultra-traços de Cd por CV AAS, em amostras de água após EPN, utilizando solução  $3,0\%$  de  $\text{NaBH}_4$  em  $1,0\%$  m/v de NaOH como agente redutor e solução  $0,06\%$  m/v de PONPE 7.5 como tensoativo e uma solução tampão de pH 8,0 e, para diminuição da viscosidade da fase rica, eles utilizaram solução  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  de HCl. Este método foi comparado com procedimento de determinação direta por CV AAS e os autores obtiveram limites de detecção de  $35,07$  e  $0,56 \text{ ng L}^{-1}$  em procedimentos sem EPN e com EPN, respectivamente.

Comparados com outros métodos de extração por solventes, este método apresenta como vantagens redução de volumes de reagentes, minimizando o manuseio de substâncias tóxicas, além de obter limites de detecção tão baixos ou menores que os métodos de extração em fase sólida com posterior determinação por F AAS [33].

## **2.6. Espectrometria de Absorção Atômica com Forno Tubular na Chama e Aerossol Térmico (TS FF AAS)**

Técnicas como a espectrometria de massa com plasma acoplado indutivamente (ICP MS) e a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) apresentam baixos limites de detecção e alta sensibilidade, enquanto que a utilização da F AAS caracteriza-se pelo baixo custo e simplicidade de manuseio, associada à alta seletividade. A sensibilidade analítica da F AAS pode ser melhorada pelo aumento na eficiência de geração/transporte do aerossol e no tempo de residência do analito em seu estado fundamental gasoso na célula de absorção [44]. Recentemente Gáspar e Berndt propuseram a espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS FF AAS) [45], onde o aumento de sensibilidade . Davies e Berndt [45, 46] complementaram os estudos, investigando diferentes capilares e materiais para construção dos tubos atomizadores, discutindo o aumento de sensibilidade promovido para alguns elementos.

O sistema TS FF AAS (FIGURAS 5 e 6) consiste num forno tubular sob chama onde o aerossol é gerado pelo calor absorvido em um capilar cerâmico aquecido pelo contato direto com um tubo de níquel ou outro material mais refratário, o qual se encontra posicionado sob a chama de um F AAS e que exerce a função de célula de atomização. Neste sistema, a solução com o analito é transportado até o capilar por um sistema em fluxo. Quando comparado ao F AAS, o sistema TS FF AAS apresenta uma maior sensibilidade devido ao aumento na eficiência do processo de nebulização e do maior tempo de residência da nuvem atômica no caminho ótico [44, 45].

Pereira-Filho et al. [47] investigaram o uso da TS FF AAS para a determinação de Cd, Cu e Pb em amostras de plantas e tecido animal pela

introdução das amostras na forma de suspensões. A introdução de suspensões possibilitou que maiores massas de amostra fossem introduzidas no atomizador. O tempo de vida do tubo de Ni foi de cerca de 400 h, com um total de 4000 determinações. Os autores propuseram a utilização da TS FF AAS como uma alternativa de baixo custo à espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica usando forno de grafite.

Nascentes et al. determinaram Cu e Zn em amostras de sucos de frutas e leite bovino [48] e Cu, Mn, Pb e Zn em amostras de cerveja [49] empregando TS FF AAS. As amostras de sucos foram diluídas em água, as de cerveja em ácido nítrico diluído e as de leite em uma solução comercial de aminas terciárias, sendo as suspensões introduzidas diretamente no atomizador. A diluição das amostras em água, ácido ou na solução alcalina permitiu um menor tempo de preparo da amostra além de contribuir para melhores limites de detecção para todos os elementos investigados empregando TS FF AAS, quando comparado aos valores obtidos por F AAS. Para as amostras de cerveja, as determinações foram realizadas empregando-se GF AAS e os resultados obtidos foram concordantes com aqueles alcançados pela TS FF AAS a um nível de confiança de 95%, aplicando-se teste *t* pareado.

Pereira et al. [50] determinaram Cd e Pb por TS FF AAS após pré-concentração usando fulereno. Todo o ciclo de análise, envolvendo a amostragem, pré-concentração e eluição, foi completado em 2,5 min. Cádmio e Pb foram determinados em baixa concentração nas amostras de material de referência certificado com boa exatidão, baixo consumo de amostra e detectabilidade comparável ao GF AAS, apresentando como vantagem uma maior frequência analítica e custo reduzido.

O TS FF AAS também pode ser utilizado como uma alternativa ao uso da chama óxido nitroso-acetileno em F AAS, cujo comburente apresenta um custo elevado frente ao ar comprimido. Lobo et al. [51] propuseram um procedimento analítico para determinação de estanho em soluções analíticas empregando TS FF AAS como uma alternativa ao uso de óxido nitroso-acetileno em F AAS. Neste trabalho, os autores realizaram a injeção de 50  $\mu\text{L}$  de amostra utilizando ar como carregador a uma vazão de 3,0  $\text{mL min}^{-1}$ . O

limite de detecção de Sn foi de  $1,7 \text{ mg L}^{-1}$  para TS FF AAS e de  $9,6 \text{ mg L}^{-1}$  para F AAS. O procedimento desenvolvido apresentou alta frequência analítica ( $120 \text{ h}^{-1}$ ) com elevado desempenho analítico. Figueiredo e Arruda [52] propuseram o acoplamento da TS FF AAS à geração de hidretos (HG FF AAS) para a determinação de Sb em amostras de medicamento. O método consistiu na geração de  $\text{SbH}_3$ , em linha, pela reação de uma solução contendo Sb(III) com  $\text{KBH}_4$  em meio ácido. O gás produzido seguiu para o separador gás/líquido onde foi arrastado por um fluxo contínuo de argônio até o capilar cerâmico do sistema TS FF AAS. O limite de detecção obtido foi de  $0,23 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  e os valores obtidos foram concordantes com os do material de referência certificado, a um nível de confiança de 95%.

A TS FF AAS tem sido aplicada para elementos de volatilidade relativamente alta (Ag, As, Au, Bi, Cd, Cu, Hg, In, K, Pb, Pd, Rb, Sb, Se, Te, Tl e Zn) [48 - 52], devido ao fato da menor temperatura no interior do tubo atomizador, cerca de  $900 \text{ }^\circ\text{C}$  [45], em relação a chama de ar/acetileno que alcança cerca de  $2250 \text{ }^\circ\text{C}$  [53]. Para a obtenção de resultados satisfatórios na determinação de elementos com baixa volatilidade (Co, Cr, Fe, Mo, Ni, V entre outros), pode-se reduzir a temperatura de volatilização dos metais por meio da formação de complexos mais voláteis.

Donati et al. [54] determinaram Co em amostras biológicas após extração ácida e pré-concentração por ponto nuvem. Para o procedimento de extração,  $10,0 \text{ mL}$  de  $\text{HCl } 1 \text{ mol L}^{-1}$  foi adicionado a  $0,25 \text{ g}$  de amostra, misturado e aquecido por  $15 \text{ min.}$  à  $65 \text{ }^\circ\text{C}$ . Em seguida, a solução foi agitada horizontalmente por  $30 \text{ min.}$  e centrifugada por  $30 \text{ min.}$  a  $4000 \text{ rpm}$  para posterior filtração e ajuste de pH para  $4,5$  utilizando solução concentrada de amônia. A solução resultante foi submetida a procedimentos de pré-concentração por ponto nuvem, onde foram adicionados a  $10,0 \text{ mL}$  desta solução,  $1,0 \text{ mL}$  de solução tampão pH  $4,5$ ;  $1,0 \text{ mL}$  de APDC  $0,6\% \text{ m/v}$  e  $1,0 \text{ mL}$  de Triton X-114  $5\% \text{ m/v}$ . Esta solução foi aquecida a  $45 \text{ }^\circ\text{C}$  por  $20 \text{ min.}$  Após a separação das fases, foi adicionado à fase rica  $200,0 \text{ } \mu\text{L}$  de etanol. O Co foi determinado por TS FF AAS utilizando ar como carregador com uma vazão de  $0,4 \text{ mL min}^{-1}$  e volume de amostra de  $150 \text{ } \mu\text{L}$ . Os autores obtiveram

LD = 7,0 mg L<sup>-1</sup>, RSD = 5,8% e valores concordantes com os dos materiais de referência certificado.

## **Capítulo 3**

# **PARTE EXPERIMENTAL**

### 3. Parte Experimental

#### 3.1. Equipamentos e acessórios

- Espectrômetro de Absorção Atômica Perkin-Elmer, modelo AAnalyst 200, equipado com sistema de correção de fundo por lâmpada de deutério (Norwalk, CT, EUA).
- Suporte em aço inoxidável posicionado sobre o queimador do espectrômetro de chama com 4 pinos cerâmicos para a adaptação do tubo metálico.
- Tubo de níquel com 10 cm de comprimento, 1 cm d.i., 1,2 cm d.e. e um orifício central de 2 mm de diâmetro para a introdução da amostra, 6 furos de 2 mm de diâmetro na parte inferior, perpendiculares com o orifício de introdução de amostra, para penetração da chama. As TABELAS 1 e 2 apresentam a composição e as propriedades físicas do material utilizado na confecção do tubo de Ni.
- Capilar de cerâmica não-porosa de  $Al_2O_3$  com 10 cm de comprimento, 0,5 mm d.i. e 2,0 d.e. (Friatec, Mannheim, Alemanha). As propriedades físicas do material utilizado na confecção do capilar são apresentadas na TABELA 3.
- Banho de ultra-som Neytech, modelo 28H, com sistema de aquecimento, frequência de 44-48 KHz (Yucaipa, CA, EUA).
- Bomba peristáltica com 6 canais e velocidade variável, marca Ismatec, modelo IPC (Glattburg, Suíça).
- Injetor comutador confeccionado em acrílico.
- Tubos de polietileno com diâmetro interno de 0,7 mm para confecção de reatores, linhas de transmissão e alças de amostragem do sistema de fluxo empregado.
- Tubos de Tygon de diversos diâmetros para o transporte dos reagentes e amostras.



- Lâmpadas de cátodo oco para Cu, Fe, Mn, Zn (Perkin-Elmer, Norwalk, CT, EUA).
- Lâmpadas de descarga sem eletrodo (EDL) para Cd e Pb (Perkin-Elmer, Norwalk, CT, EUA).
- Balança Analítica, marca Mettler, modelo AE 200 (Bradford, MA, EUA).
- Estufa marca QUIMIS (Diadema, SP, Brasil).
- Chapa Aquecedora (modelo Z 200<sup>a</sup> Labnet, Woodbridge, NJ, EUA).
- Forno de microondas com cavidade, modelo QWave 3000.
- Forno de microondas caseiro, marca Panasonic.
- Centrífuga da marca Nova Técnica (Piracicaba, Brasil) modelo NT 811.
- pHmetro Quimis, modelo pH 200, com eletrodo combinado de vidro.
- Pipetas volumétricas de 1,0 ( $\pm 0,006$ ); 2,0 ( $\pm 0,006$ ); 5,0 ( $\pm 0,01$ ); 10,0 ( $\pm 0,02$ ); 20,0 ( $\pm 0,03$ ) e 50,0 ( $\pm 0,05$ ) mL.
- Papel de filtro quantitativo faixa azul.
- Mufla (Quimis, Q318M, Diadema, SP, Brasil)

TABELA 1: Composição da liga de Ni 200 (Catálogo Camacam Industrial Ltda.), utilizada na confecção do tubo atomizador do sistema TS FF AAS.

Elemento	% m/m
Ni	99,653
Mn	0,160
Mg	0,065
Ti	0,050
Si	0,030
Fe	0,010
Co	< 0,010
Cu	< 0,010
C	0,009
S	0,002

TABELA 2: Propriedades físicas da liga de Ni.

Densidade ( $\text{g cm}^3$ )	8,9
Calor específico a 20 °C ( $\text{J Hg}^{-1} \text{K}^{-1}$ )	440
Condutividade Térmica a 100 °C ( $\text{W m}^{-1} \text{K}^{-1}$ )	70
Ponto de fusão (°C)	1435 – 1445

TABELA 3: Propriedades físicas do capilar cerâmico de  $\text{Al}_2\text{O}_3$  utilizado no sistema TS FF AAS.

Densidade ( $\text{g cm}^3$ )	3,70 – 3,95
Calor específico a 20 °C ( $\text{J Hg}^{-1} \text{K}^{-1}$ )	900
Condutividade Térmica a 100 °C ( $\text{W m}^{-1} \text{K}^{-1}$ )	30
Porosidade total (%)	0
Temperatura máxima de trabalho (°C)	1950

Os parâmetros instrumentais utilizados para a determinação dos elementos Cd, Cu, Fe, Mn, Pb e Zn por F AAS seguiram as recomendações do fabricante e são apresentados na TABELA 4.

TABELA 4: Parâmetros instrumentais recomendados pelo fabricante para a determinação de Cd, Cu, Fe, Mn, Pb e Zn por F AAS.

Parâmetro	Cd	Cu	Fe	Mn	Pb	Zn
Comprimento de onda (nm)	228,80	324,75	248,33	279,48	283,21	213,86
Resolução espectral (nm)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Vazão de ar (L min <sup>-1</sup> )	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Vazão de acetileno (L min <sup>-1</sup> )	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0

### 3.2. Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados no desenvolvimento deste trabalho foram de grau analítico.

- Ácido nítrico concentrado, HNO<sub>3</sub> 65% m/v, d = 1,40 g mL<sup>-1</sup>, MM = 63,01 g mol<sup>-1</sup> (Merck, Darmstadt, Alemanha)
- Ácido Clorídrico, HCl 37% m/v, d = 1,19 g mL<sup>-1</sup>, MM = 36,45 g mol<sup>-1</sup> (Merck, Darmstadt, Alemanha)
- Peróxido de hidrogênio, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% m/v, d = 1,11 g mL<sup>-1</sup>, e MM = 34,01 g mol<sup>-1</sup> (Merck, Darmstadt, Alemanha)
- Borato de Sódio, Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>.10H<sub>2</sub>O, MM = 381,37 g mol<sup>-1</sup>,
- Octilfenoxipolietoxietanol (Triton X-114) (Sigma, Saint Louis, EUA).
- 2-(5-bromo-2-piridilazo)-5-(dietilamina)-fenol (5-Br-PADAP): C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O, MM = 349,24 g mol<sup>-1</sup>, pureza de 67% (Merck, Darmstadt, Alemanha).
- Sal monossódico de 4-(2-piridilazo)resorsinol (PAR), C<sub>11</sub>H<sub>8</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>Na.H<sub>2</sub>O, MM = 237,20 g mol<sup>-1</sup> (Merck, Darmstadt, Alemanha)

- Álcool Etílico anidro absoluto,  $C_2H_6O$ ,  $MM = 46,07 \text{ g mol}^{-1}$  (JT Baker, México).
- Hidróxido de sódio,  $NaOH$ ,  $MM = 40 \text{ g mol}^{-1}$  (Merck, Rio de Janeiro, RJ, Brasil).
- Soluções estoque de  $Cd$ ,  $Cu$ ,  $Fe$ ,  $Mn$ ,  $Pb$  e  $Zn$  de  $1000 \text{ mg L}^{-1}$ .

Todas as soluções foram preparadas utilizando-se água deionizada e foram acondicionadas em frascos de polietileno. A relação das soluções empregadas neste trabalho encontra-se a seguir:

- Soluções de ácido nítrico de  $0,014 - 14,0 \text{ mol L}^{-1}$ .
- Soluções de ácido clorídrico  $0,012 - 12,0 \text{ mol L}^{-1}$ .
- Soluções de trabalho de  $Cd$  ( $1,0 - 100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ) em ácido nítrico  $0,014 \text{ mol L}^{-1}$ .
- Soluções de trabalho de  $Cu$  ( $0,1 - 1,5 \text{ mg L}^{-1}$ ) em ácido nítrico  $0,014 \text{ mol L}^{-1}$ .
- Soluções de trabalho de  $Fe$  ( $0,1 - 3,0 \text{ mg L}^{-1}$ ) em ácido nítrico  $0,014 \text{ mol L}^{-1}$ .
- Soluções de trabalho de  $Mn$  ( $0,1 - 0,7 \text{ mg L}^{-1}$ ) em ácido nítrico  $0,014 \text{ mol L}^{-1}$ .
- Soluções de trabalho de  $Pb$  ( $1,0 - 100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ ) em ácido nítrico  $0,014 \text{ mol L}^{-1}$ .
- Soluções de trabalho de  $Zn$  ( $0,1 - 0,7 \text{ mg L}^{-1}$ ) em ácido nítrico  $0,014 \text{ mol L}^{-1}$ .
- Solução de Triton X-114 ( $5,0 - 20,0$ ) % m/v.
- Solução de Br-PADAP  $10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  em Triton X-114 5,0% (m/v), preparada dissolvendo-se  $0,36004 \text{ g}$  em  $25,0 \text{ mL}$  de Triton X-114 20% m/v e completando-se o volume para  $100,0 \text{ mL}$  com água deionizada.

- Solução  $10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup> de PAR em Triton X-114 5,0% m/v, preparada dissolvendo-se 0,25521 g em 25,0 mL de Triton X-114 20% m/v e completando-se o volume para 100,0 mL com água deionizada.

### **3.3. Amostras**

No desenvolvimento deste trabalho foram utilizados 3 tipos de tabaco: cigarros comerciais, cigarros de palha e fumos de rolo, adquiridos em mercados locais. Para os cigarros comerciais e os de palha, o fumo foi separado manualmente dos papéis e filtros, enquanto que, para os fumos de rolo, as folhas foram abertas. Após a separação dos fumos, as amostras foram secas em estufa por 12 h a 90 °C.

Decorrido esse período, as amostras foram trituradas manualmente em grau com pistilo, para diminuição do tamanho de partículas, garantindo uma maior homogeneidade. Finalmente as amostras foram armazenadas em sacos plásticos e guardadas em dessecador.

Foram avaliados 4 tipos distintos de fumos de rolo, intitulados de FRF, FRM, FRFr e FRG, 10 tipos de cigarros comerciais, DV, DD, DP, DA, HV, HG, FE, PZ, TN e CT, e 6 tipos de cigarros de palha, CPP, CPA, CPC, CPVJ, CPPF e CPDP.

Para avaliação da exatidão dos métodos, foram utilizados 2 amostras de materiais de referência certificados: Peach leaves (GBW08501) e Tea leaves (GBW08505) do Research Center for Eco – Environmental Sciences (Beijing, China), ambos fornecidos pelo Centro de Desenvolvimento de Energia Nuclear (CDTN/CNEN).

### **3.4. Procedimentos para tratamento da amostra**

#### **3.4.1. Procedimento de calcinação por via seca e úmida**

No processo de decomposição de amostras por via seca, cerca de 0,5 g da amostra foi calcinada por 6 h a 450 °C. Após um breve resfriamento, adicionou-se 2,0 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado e aqueceu-se em chapa até a secura. O resíduo retornou à mufla por mais 30 min à 450 °C. Em seguida, após um breve resfriamento, foram adicionados um pouco de água e 1 mL de

HCl concentrado. Manteve-se sob aquecimento até que todo o resíduo fosse dissolvido. A solução foi transferida para frasco de centrífuga de 50 mL e o volume foi ajustado para 25,0 mL com água deionizada.

O mesmo procedimento foi realizado em duplicata para os materiais de referência certificado e para todos os tabacos os digeridos foram preparados em triplicata.

Os elementos Cu e Fe foram determinados diretamente na solução por F AAS, e para a determinação do Mn e Zn foi necessária uma diluição de 10 vezes.

#### **3.4.2. Procedimento de decomposição e de extração assistido por radiação microondas**

Foram avaliados 2 procedimentos: um de extração, utilizando ácido nítrico diluído e um de decomposição, utilizando ácido nítrico concentrado. Foram pesados cerca de 0,5 g de cada tipo de tabaco devidamente preparada diretamente nos frascos reacionais de PFA do microondas e adicionados cerca de 7,0 mL de reagente.

Para o procedimento de extração foram adicionados 4,0 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado, 2,0 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  deionizada e 1,0 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% m/v. Para o procedimento de decomposição foram adicionados 6,0 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado e 1,0 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% m/v. Após o aquecimento, as amostras foram resfriadas e o volume total foi aferido com água deionizada para 25,0 mL. O programa de aquecimento desenvolvido para os dois procedimentos está apresentado na TABELA 5. Neste programa, a temperatura inicial de trabalho foi de 25 °C e, por questões de segurança, a temperatura e pressão máximas foram, respectivamente, 200 °C e 200 psi. Os analitos (Cu, Fe, Mn e Zn) foram determinados diretamente no extrato por F AAS.

TABELA 5: Programa de aquecimento do forno de microondas.

<b>Etapa</b>	<b>Temperatura final</b>	<b>Potência watts</b>	<b>Tempo de Rampa (min)</b>	<b>Tempo de patamar (min)</b>
<b>1</b>	125	250	1:00	5:00
<b>2</b>	125	0	0:01	2:00
<b>3</b>	180	250	2:00	5:00
<b>4</b>	200	400	3:00	10:00
<b>5</b>	200	650	3:00	3:00

### **3.4.3. Procedimento de extração assistido por ultra-som:**

Para os procedimentos de extração assistidos por radiação ultra-sônica, foram pesados cerca de 0,5 g de tabaco comercial, DV, diretamente em frascos de centrífuga de 50,0 mL e adicionados 5,0 mL do extrator. Os tubos foram colocados (1 por vez) no centro do banho e sonicados nos diferentes tempos estudados, com e sem aquecimento. Após a sonicação, as amostras foram filtradas em papel de filtro quantitativo e o volume foi aferido com água deionizada para 30,0 mL. Os analitos (Cu, Fe, Mn e Zn) foram determinados no extrato por F AAS, cujos parâmetros instrumentais encontram-se na TABELA 4.

#### **3.4.3.1. Planejamento Fatorial**

Para avaliação das melhores condições de trabalho e obtenção de bons percentuais de extração, quando comparados aos valores obtidos pela calcinação, foi realizada um planejamento de experimentos no procedimento de extração assistido por ultra-som, onde as variáveis estudadas foram: tempo de sonicação, concentração de ácido nítrico e aquecimento ou não da água do banho. Para este estudo foi realizado um planejamento fatorial  $2^3$ , cuja matriz de planejamento com os níveis investigados é apresentada na TABELA 6.

TABELA 6: Planejamento fatorial completo  $2^3$ 

Variáveis	Níveis inferiores ( - )	Níveis Superiores ( + )
Tempo (min.)	10	30
Concentração (% v/v)	10	50
Aquecimento	Ligado	Desligado

#### 3.4.3.2. Otimização do procedimento de extração ácida assistido por radiação ultra-sônica

Foram realizados experimentos para a otimização da extração de Cu, Fe, Mn e Zn em diferentes amostras de tabaco. As variáveis estudadas foram selecionadas a partir dos resultados obtidos com o planejamento fatorial e foram: concentração de  $\text{HNO}_3$  (5 – 50% v/v), tempo de sonicação (15 – 45 min). Neste estudo, foi utilizado a matriz de Doehlert como método de superfície de respostas, cuja matriz de planejamento se encontra na TABELA 7. Todos os experimentos nesta etapa foram realizados com aquecimento.



TABELA 7: Método de superfície de respostas - Doehlert

Experimento	Tempo (min)	[HNO <sub>3</sub> ] (% v/v)
1	15 (1)	25% (0)
2	22 (0,5)	5% (0,87)
3	22 (-1)	50% (0)
4	37 (-0,5)	5% (-0,87)
5	37 (0,5)	50% (-0,87)
6	45 (-0,5)	25% (0,87)
7	30 (0)	25% (0)
8	30 (0)	25% (0)
9	30 (0)	25% (0)

Após o procedimento de otimização, as outras amostras de tabaco foram submetidas às seguintes condições experimentais: 20 min de sonicação com aquecimento e solução de HNO<sub>3</sub> 25% v/v.

#### 3.4.4. Extração por ponto nuvem

Todos os experimentos de pré-concentração por ponto nuvem foram realizados em frascos de centrífuga de 15,0 mL, onde foram adicionados 10,0 mL de solução de trabalho (50 µg/L de Cd e Pb) ou de amostra. Em seguida, foi adicionado 1,0 mL de tampão para posterior adição de solução 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> de complexante (Br-PADAP ou PAR) em Triton X-114 10% v/v. Após 20 minutos, foi adicionado solução de Triton X-114 5,0% v/v e o volume foi completado para 14,0 mL com água deionizada. As soluções resultantes foram aquecidas em banho-maria ou em forno de microondas caseiro por 6 min. a 10% de potência até alcançar o ponto nuvem.

Para acelerar a separação das fases, as soluções foram centrifugadas por 10 min. a 2500 rpm. Em seguida, as soluções foram estocadas em uma geladeira por aproximadamente 30 min. para facilitar a separação manual das fases. As fases ricas foram eluídas em uma solução de etanol 90% v/v em  $\text{HNO}_3$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , até o volume final de 1,0 mL.

#### **3.4.4.1. Otimização do método de extração por ponto nuvem de Cd e Pb**

A partir de relatos da literatura, [40] foram realizados experimentos para avaliação das variáveis: pH do meio reacional, tipo de agente complexante, concentração do agente complexante e concentração do tensoativo (TABELA 8). A partir dos resultados obtidos (TABELA 8), foi realizado um experimento de otimização, empregando matriz de Doehlert, para obtenção das condições ótimas de pré-concentração por ponto nuvem. Para a avaliação do pH, foram realizados estudos na faixa de 7 a 11. Foram avaliados dois tipos de complexante, Br-PADAP e PAR. Para estudar as concentrações dos agentes complexantes e do surfactante, variou-se os volumes de uma solução de trabalho de  $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em Triton X-114 5,0% v/v e Triton X-114 5,0% v/v. Inicialmente, Cd foi avaliado e para Pb, realizou-se o mesmo experimento de otimização. Para verificação das condições, foram realizados os experimentos apresentados na TABELA 8. Até o momento, o aquecimento para alcançar o ponto nuvem foi realizado em banho-maria e as determinações por F AAS.

TABELA 8: Avaliação das variáveis complexante, volume de Triton X-114 e pH na eficiência de pré-concentração por ponto nuvem

Experimento	Complexante	Vol. TX-114* ( $\mu\text{L}$ )	pH
1	PAR	1000	7
2	PAR	2000	7
3	Br-PADAP	1000	7
4	Br-PADAP	2000	7
5	PAR	1000	8
6	PAR	2000	8
7	Br-PADAP	1000	8
8	Br-PADAP	2000	8
9	PAR	1000	9
10	PAR	2000	9
11	Br-PADAP	1000	9
12	Br-PADAP	2000	9

\* Volume de Triton X-114

Após a escolha do melhor agente complexante e do melhor valor de pH para o Cd, em função da resposta obtida, foi realizado um planejamento Doehlert com 3 variáveis, como método de superfícies de respostas para obtenção das melhores condições de extração. O mesmo planejamento, que se encontra na TABELA 9, foi aplicado também para o Pb.

TABELA 9: Matriz de planejamento Doehlert com 3 variáveis:

<b>Ensaio</b>	<b>Vol. Complexante</b>	<b>pH</b>	<b>Vol. Triton</b>
1	450 (1)	9 (0)	550 (0)
2	350 (0,5)	8 (-0,5)	550 (0)
3	350 (0,5)	8 (-0,5)	1050 (0,817)
4	50 (-1)	10 (0,5)	550 (0)
5	150 (-0,5)	10 (0,5)	550 (0)
6	150 (-0,5)	7 (-1)	50 (-0,817)
7	350 (0,5)	9 (0)	550 (0)
8	350 (0,5)	9 (0)	50 (-0,817)
9	150 (-0,5)	9 (0)	550 (0)
10	250 (0)	11 (1)	50 (-0,817)
11	150 (-0,5)	8 (-0,5)	1050 (0,817)
12	250 (0)	8 (-0,5)	1050 (0,817)
13	250 (0)	10 (0,5)	550 (0)
14	250 (0)	10 (0,5)	550 (0)
15	250 (0)	9 (0)	550 (0)

Nos procedimentos de otimização, o aquecimento condutivo foi substituído pelo aquecimento em forno de microondas caseiro aplicando-se 10% de potência durante 6 min. [55]. A determinação dos analitos foi realizada diretamente no extrato por TS FF AAS, cujos parâmetros instrumentais encontram-se na TABELA 10. A representação esquemática do sistema de aerossol térmico com forno tubular na chama é mostrada na FIGURA 5, e na FIGURA 6 é apresentado o sistema montado em funcionamento (FIGURA 6a) e no detalhe, o tubo incandescente, localizado sobre a chama, com capilar de cerâmica acoplado (FIGURA 6b).

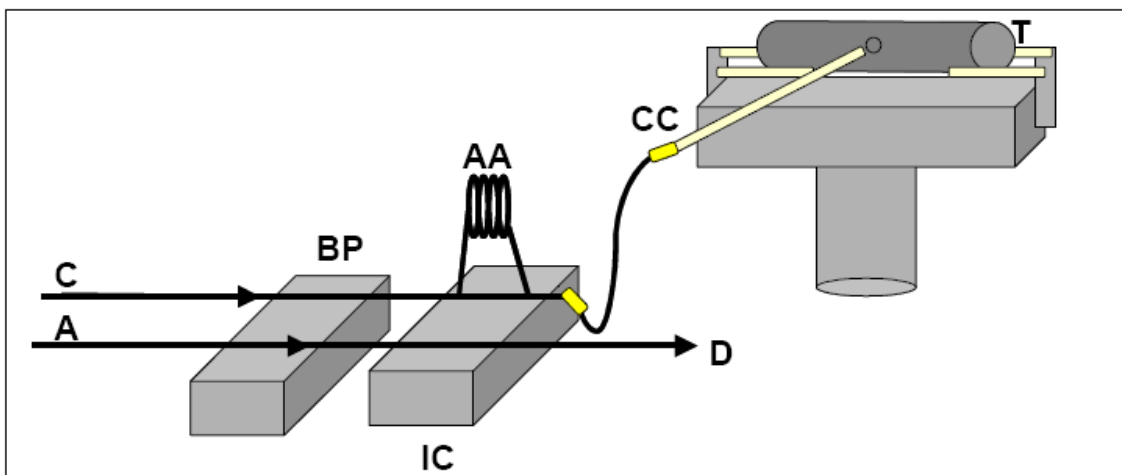


FIGURA 5: Representação esquemática do sistema TS FF AAS: **BP** – bomba peristáltica; **C** – carregador; **A** – amostra; **IC** – injetor/comutador; **AA** – alça de amostragem; **D** – descarte; **CC** – capilar cerâmico; **T** – tubo de níquel, adaptado de [56].

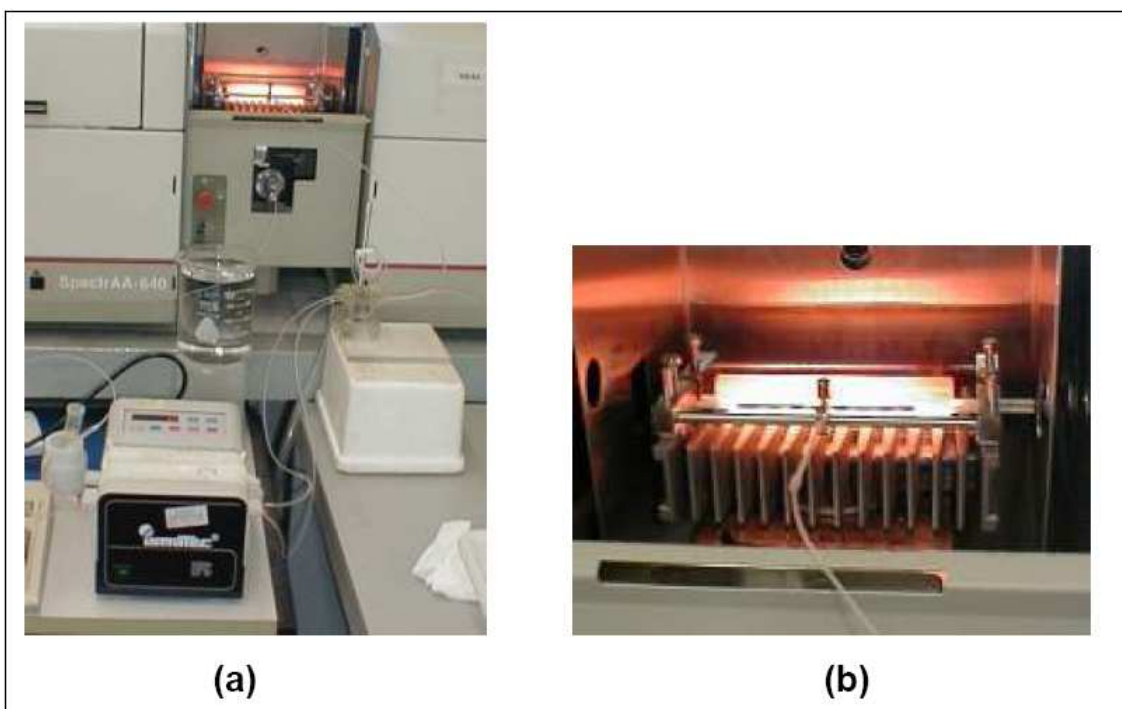


FIGURA 6: Sistema TS FF AAS: (a) sistema completo e (b) tubo de Ni sobre a chama com capilar acoplado, adaptado de [56].

TABELA 10: Parâmetros instrumentais utilizados para a determinação de Cd e Pb por TS FF AAS.

Carregador	ar
Vazão do carregador (mL min <sup>-1</sup> )	0,4
Altura do tubo atomizador (cm)	1,5
Volume da alça de amostragem (µL)	50
Tempo de retardo (s)	20
Tempo de medida (s)	10
Modo de aquisição de sinal	Área de pico

Para verificação da exatidão do método otimizado, amostras de materiais de referência certificado (Peach leaves e Tea leaves), foram submetidas aos procedimentos de calcinação descritos anteriormente (item 3.4.1) para posterior aplicação do procedimento de extração e pré-concentração no ponto nuvem. As curvas analíticas foram obtidas a partir da pré-concentração de cada ponto da curva, nas mesmas condições otimizadas.

Os fatores de pré-concentração reais foram calculados a partir da concentração inicial de Cd e Pb na solução e da concentração obtida na fase rica. As condições ótimas de pré-concentração foram selecionadas com base nos resultados obtidos na matriz de planejamento Doehlert.

### 3.5. Avaliação do efeito de matriz:

Para avaliação dos efeitos de matriz, foram construídas curvas de calibração em meio ao branco de reagentes, em meio ácido com HNO<sub>3</sub> 0,014 mol L<sup>-1</sup> e curvas com adição de soluções de amostras calcinadas, de modo que relação de volume adicionado e volume final fossem de 0,5%. Todas as curvas foram obtidas por diluição de soluções de trabalho de 100 mg L<sup>-1</sup>, sendo adicionado 1,0 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado para cada 10,0 mL de solução para as curvas ácidas e 500 µL de solução resultante dos procedimentos de calcinação para cada tipo de tabaco.

### **3.6. Limites de detecção e quantificação**

Foram comparados 3 métodos para cálculos de LD e LQ: de acordo com a IUPAC, com os métodos dos mínimos quadrados ordinários e com o método dos mínimos quadrados bivariados. Os brancos analíticos obtidos pelo procedimento por via seca e úmida foram utilizados para a avaliação dos LD's e LQ's. Para os cálculos segundo a IUPAC, dez brancos distintos foram lidos 10 vezes cada um. Para a avaliação dos outros métodos, foram realizados em 3 dias distintos, leituras em triplicata para verificação das incertezas estimadas para a repetitividade e reprodutividade.

## Capítulo 4

### Resultados e Discussão



## 4. Resultados e Discussão

### 4.1. Estudo do efeito de matriz

As FIGURAS 7 a 10 mostram as curvas obtidas em meio ao branco de reagentes, ácido e dos digeridos para os elementos Cu, Fe, Mn e Zn, respectivamente. As TABELAS 11 a 14 mostram os coeficientes R, inclinação e intercepto de cada curva para os elementos Cu, Fe, Mn e Zn, respectivamente. Percebe-se pelas TABELAS 11 a 14 e pelas FIGURAS 7 a 10 que as inclinações obtidas pelas curvas de adição são diferentes quando comparadas com as curvas aquosas e em meio ácido. Para Mn e Zn, esta diferença é muito pequena. Estas diferenças nas inclinações indicam um possível efeito de matriz, porém, as soluções obtidas apresentavam aspecto incolor e isentas de materiais particulados, indicando uma digestão completa, com total destruição da matéria orgânica. Assim, esta diferença nas inclinações não foi atribuída à possíveis efeitos de matriz. Durante os experimentos realizados, foi observado que a adição dos digeridos à curva dificultava bastante o processo de nebulização da solução, gerando respostas com grande variabilidade e com bastante dificuldade para calibração, assim, as diferenças nas inclinações foram atribuídas a estas dificuldades no sistema de nebulização.

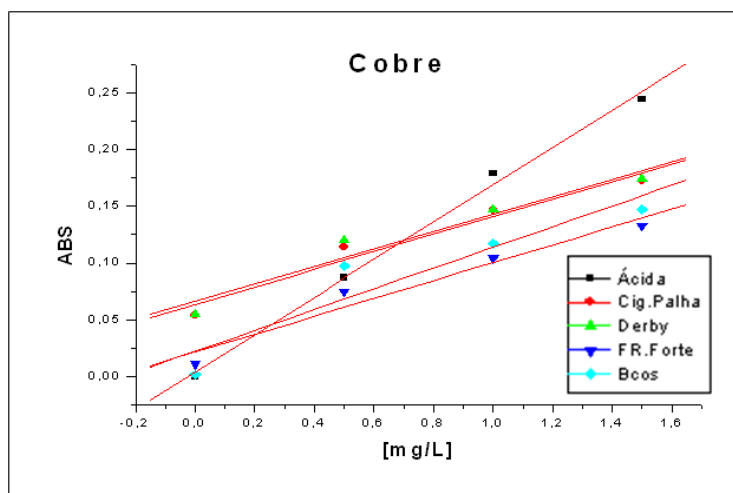


FIGURA 7: Curvas de adição para o elemento Cu, obtidas por F AAS.

TABELA 11: Parâmetros das curvas em meio ácido, branco de reagentes e dos digeridos para o elemento Cu, obtidas por F AAS.

Parâmetros	Ácida	Branco	Comercial	Palha	Fumo de Rolo
Coef. (R)	0,99759	0,93663	0,97288	0,97825	0,97694
Inclinação	0,16502	0,0914	0,07688	0,07748	0,07886
Intercepto	0,00387	0,02234	0,06648	0,06342	0,02145

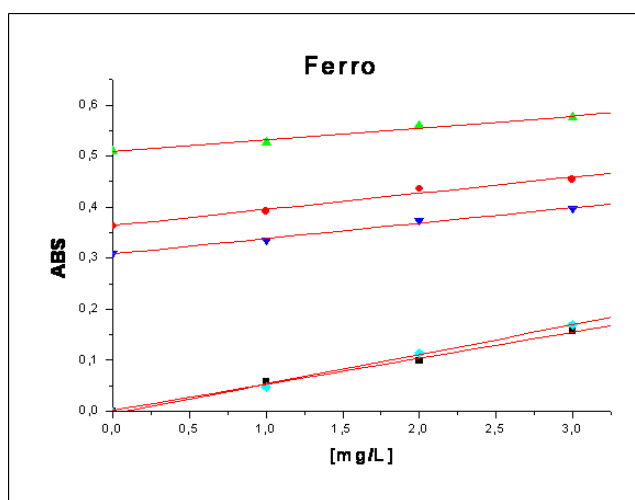


FIGURA 8: Curvas de adição para o elemento Fe, obtidas por F AAS.

TABELA 12: Parâmetros das curvas em meio ácido, branco de reagentes e dos digeridos para o elemento Fe, obtidas por F AAS.

Parâmetros	Ácida	Branco	Comercial	Palha	Fumo de Rolo
Coef. (R)	0,99795	0,99822	0,98931	0,98851	0,99564
Inclinação	0,05125	0,05792	0,02327	0,03171	0,03017
Intercepto	0,00156	-0,00446	0,50834	0,36381	0,30844

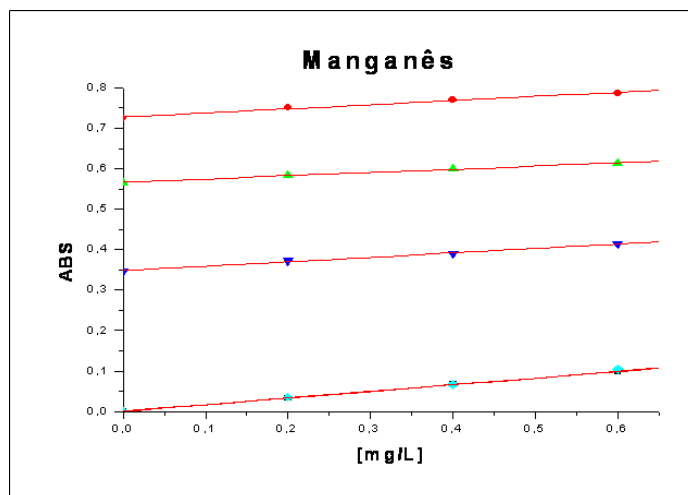


FIGURA 9: Curvas de adição para o elemento Mn, obtidas por F AAS.

TABELA 13: Parâmetros das curvas em meio ácido, branco de reagentes e dos digeridos para o elemento Mn, obtidas por F AAS.

Parâmetros	Ácida	Branco	Comercial	Palha	Fumo de Rolo
Coef. (R)	0,99993	0,9991	0,99686	0,99198	0,99839
Inclinação	0,16452	0,17265	0,0797	0,10168	0,10865
Intercepto	0,000335	-0,000431	0,56673	0,72771	0,34858

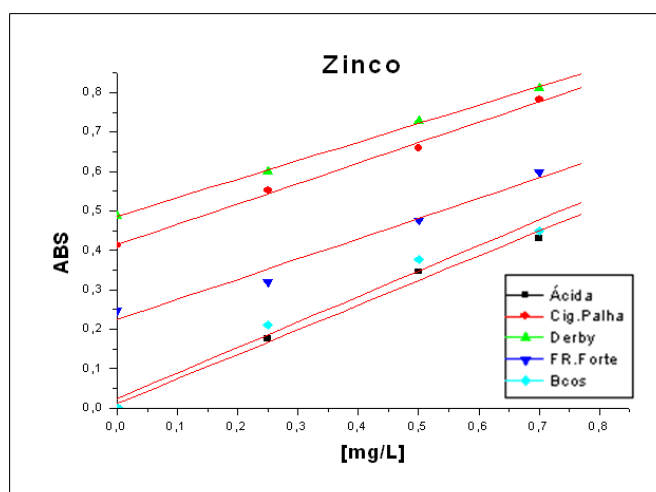


FIGURA 10: Curvas de adição para o elemento Zn, obtidas por F AAS.

TABELA 14: Parâmetros das curvas em meio ácido, branco de reagentes e dos digeridos para o elemento Zn, obtidas por F AAS.

Parâmetros	Ácida	Branco	Comercial	Palha	Fumo de Rolo
Coef. (R)	0,99505	0,98849	0,99945	0,99791	0,98778
Inclinação	0,62399	0,6456	0,46922	0,51647	0,51355
Intercepto	0,012	0,02537	0,48673	0,41474	0,22441

Observa-se pela FIGURA 7 e TABELA 11 que o cobre apresentou um comportamento diferente dos demais elementos, onde a inclinação obtida pela curva em meio ácido foi muito diferente da inclinação obtida pela curva em meio ao branco de reagentes. Este fato pode estar associados a uma possível contaminação por parte dos reagentes ou do procedimento de calcinação. Para os elementos Fe, Mn e Zn (FIGURAS 8 a 10 E TABELAS 12 a 14), as inclinações obtidas nas curvas em meio ácido e em meio ao branco de reagentes apresentaram comportamento similar, assim, para continuidade dos estudos, as curvas foram construídas em meio ácido com concentração de HNO<sub>3</sub> final de 10 % v/v, a fim de se equiparar as concentrações dos digeridos e da curva analítica, para minimizar efeitos de nebulização, possibilitando ainda a diminuição do tempo de preparo e o consumo de reagentes.

#### 4.2. Limites de detecção e quantificação

A TABELA 15 apresenta os limites de detecção e quantificação para Cu, Fe, Mn e Zn, segundo a IUPAC [57] e pelos métodos dos mínimos quadrados bivariados (BLS) e ordinários (OLS).

TABELA 15: Limites de Detecção e Quantificação para Cu, Fe, Mn e Zn obtidos segundo a IUPAC, e pelos métodos BLS e OLS.

metal \ método	Cu		Fe		Mn		Zn	
	LD	LQ	LD	LQ	LD	LQ	LD	LQ
IUPAC	0,0146	0,0487	0,1310	0,4323	0,0093	0,0307	0,0249	0,0822
BLS <sup>1</sup>	0,0257	0,0511	0,0087	0,0174	0,0094	0,0186	0,0276	0,0544
OLS <sup>2</sup>	0,0291	0,0573	0,0424	0,0838	0,0215	0,0415	0,0375	0,0714

<sup>1</sup> Método dos mínimos quadrados bivariados; <sup>2</sup> Método dos mínimos quadrados ordinários.

Os cálculos para obtenção dos LD e LQ segundo a IUPAC foram realizados empregando as expressões abaixo:

$$LD = 3 \times \frac{s}{m} \quad \text{e} \quad LQ = 10 \times \frac{s}{m}$$

Onde: s = média dos desvios das 10 leituras de 10 brancos diferentes

m = inclinação da reta da curva de calibração

O método da IUPAC não leva em consideração as incertezas nos dois eixos das curvas, uma vez que só se trabalha com os desvios de leitura.

Para obtenção dos limites de detecção e quantificação levando-se em consideração às incertezas nos dois eixos, utilizaram-se os métodos OLS e BLS. O primeiro considera que a variância em cada ponto da curva permanece constante, enquanto que o BLS leva em consideração a incerteza de cada ponto.

A FIGURA 11 apresenta, respectivamente, os gráficos da variância versus a concentração padrão de cada ponto da curva, para os elementos Cu e Fe e a FIGURA 12 para os elementos Mn e Zn.

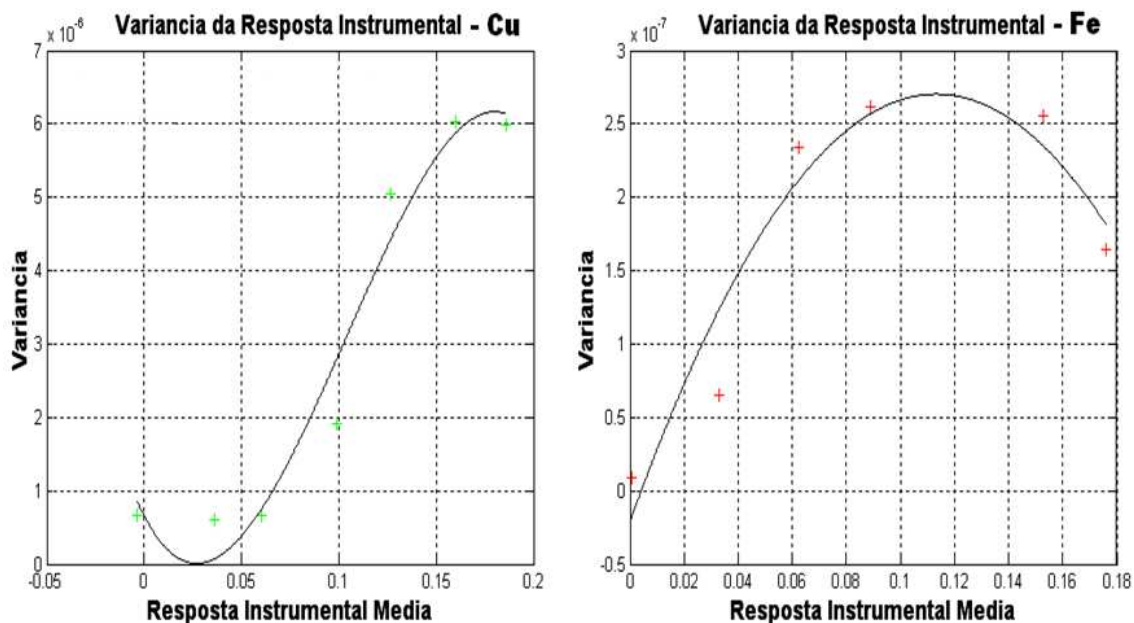


FIGURA 11: Gráficos das variâncias versus a concentração padrão de cada ponto da curva, para os elementos Cu e Fe.

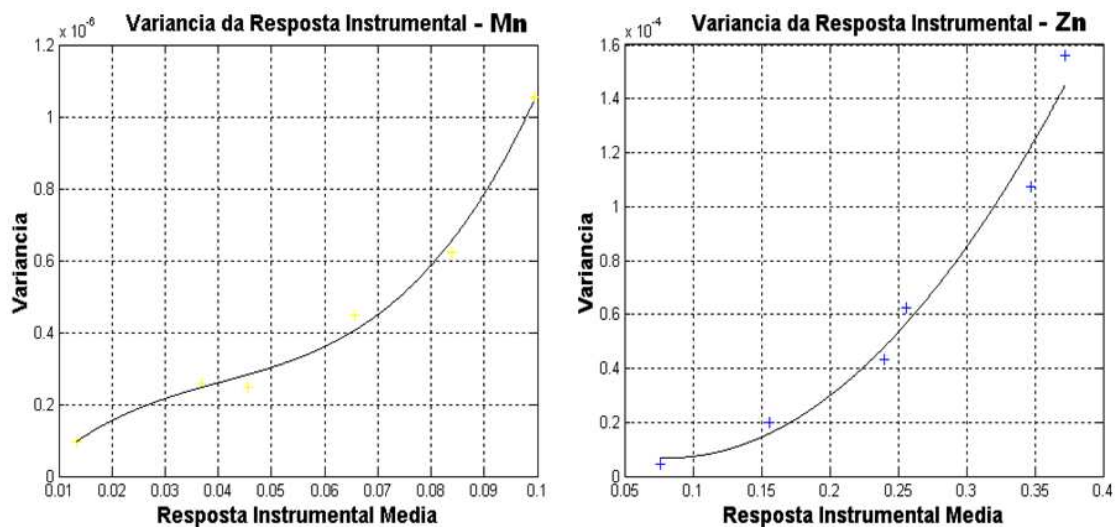


FIGURA 12: Gráficos das variâncias versus a concentração padrão de cada ponto da curva, para os elementos Mn e Zn.

Pode-se observar pelas FIGURAS 11 e 12 que as variâncias não apresentaram comportamento constante (comportamento heteroscedástico), devendo ser utilizado o cálculo pelo método BLS. A título de comparação, foi considerado também um comportamento com variância constante (comportamento homoscedástico) para o cálculo pelo método OLS.

Pode-se observar na TABELA 15 que a utilização do método BLS possibilita a obtenção de menores limites de detecção e quantificação quando comparados ao método OLS. Isto pode ser explicado pelo fato dos dados experimentais apresentarem comportamento heteroscedásticos (FIGURAS 11 e 12). Quando comparados com o método da IUPAC, os limites obtidos pelo método BLS para Cu e Zn foram superiores e para o Fe foi bastante inferior. Para o Mn não houve diferença entre os métodos.

#### 4.3. Procedimento de calcinação por via seca e úmida

As TABELAS 16 a 18 apresentam os teores obtidos para os elementos Cu, Fe, Mn e Zn nos diferentes tipos de tabaco com posterior determinação por F AAS.

TABELA 16: Teores de Cu, Fe, Mn e Zn em cigarros comerciais após procedimento de calcinação por via seca e úmida e determinação por F AAS (n=3).

Amostra	Cu ( $\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{S}$ )	Fe ( $\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{S}$ )	Mn ( $\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{S}$ )	Zn ( $\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{S}$ )
DV	16,83 $\pm$ 0,28	519,0 $\pm$ 0,78	330,6 $\pm$ 0,48	260,8 $\pm$ 0,40
DP	21,63 $\pm$ 1,64	457,1 $\pm$ 0,45	313,8 $\pm$ 0,66	272,6 $\pm$ 0,99
DA	15,66 $\pm$ 0,45	483,2 $\pm$ 0,83	284,7 $\pm$ 0,82	255,3 $\pm$ 0,74
HV	14,72 $\pm$ 1,98	404,9 $\pm$ 0,92	263,5 $\pm$ 0,51	232,7 $\pm$ 0,50
FE	14,37 $\pm$ 1,53	446,4 $\pm$ 0,86	321,9 $\pm$ 0,48	256,4 $\pm$ 1,43
PZ	11,58 $\pm$ 0,46	478,0 $\pm$ 0,85	311,2 $\pm$ 0,93	279,1 $\pm$ 0,042
TN	32,34 $\pm$ 0,79	179,0 $\pm$ 0,80	324,3 $\pm$ 0,39	251,7 $\pm$ 1,80
CT	32,34 $\pm$ 0,79	395,3 $\pm$ 0,93	292,3 $\pm$ 0,32	268,1 $\pm$ 1,77
HB	12,95 $\pm$ 1,34	386,8 $\pm$ 0,65	240,6 $\pm$ 0,57	254,3 $\pm$ 1,71

Nota-se pela TABELA 16 que os teores foram de 11,6 a 32,3  $\mu\text{g g}^{-1}$  para o Cu, de 179 a 519  $\mu\text{g g}^{-1}$  para o Fe, de 240 a 330  $\mu\text{g g}^{-1}$  para Mn e de 233 a 279  $\mu\text{g/g}$  para o Zn. Para os cigarros comerciais, as variações nos teores obtidos para os elementos Cu e Zn foram menores quando comparado com os elementos Fe e Mn.

TABELA 17: Teores de Cu, Fe, Mn e Zn em cigarros de palha após procedimento de calcinação por via seca e úmida e determinação por F AAS (n=3).

Amostra	Cu ( $\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{S}$ )	Fe ( $\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{S}$ )	Mn ( $\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{S}$ )	Zn ( $\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{S}$ )
CPP	15,32 $\pm$ 0,86	353,2 $\pm$ 0,62	486,3 $\pm$ 0,90	230,8 $\pm$ 0,62
CPA	33,19 $\pm$ 0,26	674,6 $\pm$ 0,76	773,7 $\pm$ 0,87	453,7 $\pm$ 0,33
CPC	14,88 $\pm$ 0,70	282,47 $\pm$ 4,80	226,7 $\pm$ 3,10	31,07 $\pm$ 0,80
CPVJ	24,85 $\pm$ 1,10	656,0 $\pm$ 3,10	287,0 $\pm$ 3,90	52,96 $\pm$ 1,2
CPPF	24,43 $\pm$ 0,78	758,9 $\pm$ 5,00	129,0 $\pm$ 1,1	79,32 $\pm$ 1,1
CPD	11,32 $\pm$ 0,40	389,5 $\pm$ 3,90	293,0 $\pm$ 4,8	28,28 $\pm$ 1,1

Pela TABELA 17 nota-se que os teores foram de 15,3 a 33,2  $\mu\text{g g}^{-1}$  para o Cu, de 353 a 674  $\mu\text{g g}^{-1}$  para o Fe, de 129 a 486  $\mu\text{g g}^{-1}$  para Mn e de 231 a 453  $\mu\text{g g}^{-1}$  para o Zn. Não houve muitas variações nos teores obtidos para o elemento Cu, diferente do que ocorre para os demais elementos, onde as variações foram acentuadas dentro deste grupo de amostras.



TABELA 18: Teores de Cu, Fe, Mn e Zn em fumos de rolo após procedimento de calcinação por via seca e úmida e determinação por F AAS (n=3).

Amostra	Cu ( $\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{S}$ )	Fe ( $\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{S}$ )	Mn ( $\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{S}$ )	Zn ( $\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{S}$ )
FRF	4,13 $\pm$ 0,42	309,2 $\pm$ 0,82	174,9 $\pm$ 0,7	103,9 $\pm$ 0,2
FRM	49,44 $\pm$ 1,17	2191,5 $\pm$ 12,4	178,6 $\pm$ 4,9	37,89 $\pm$ 1,04
FRFr	35,37 $\pm$ 1,44	405,1 $\pm$ 2,97	306,4 $\pm$ 3,4	42,95 $\pm$ 1,89
FRG	35,37 $\pm$ 1,15	483,5 $\pm$ 0,3	300,0 $\pm$ 0,3	568,9 $\pm$ 0,4

Nota-se pela TABELA 18 que os teores foram de 4,1 a 35,4  $\mu\text{g g}^{-1}$  para o Cu, de 309 a 483  $\mu\text{g g}^{-1}$  para o Fe, de 175 a 306  $\mu\text{g g}^{-1}$  para Mn e de 104 a 569  $\mu\text{g g}^{-1}$  para o Zn. Os fumos de rolo FRFr e FRG apresentaram teores similares de Cu e Mn, com uma pequena variação para o Fe. As amostras de fumo de rolo FRF e FRM apresentaram teores similares de Mn. Um comportamento diferenciado ocorreu para amostras de Zn, onde houve uma grande variação nos teores obtidos.

As FIGURAS 13 a 16 apresentam os teores de Cu, Fe, Mn e Zn para os diferentes tipos de tabaco.

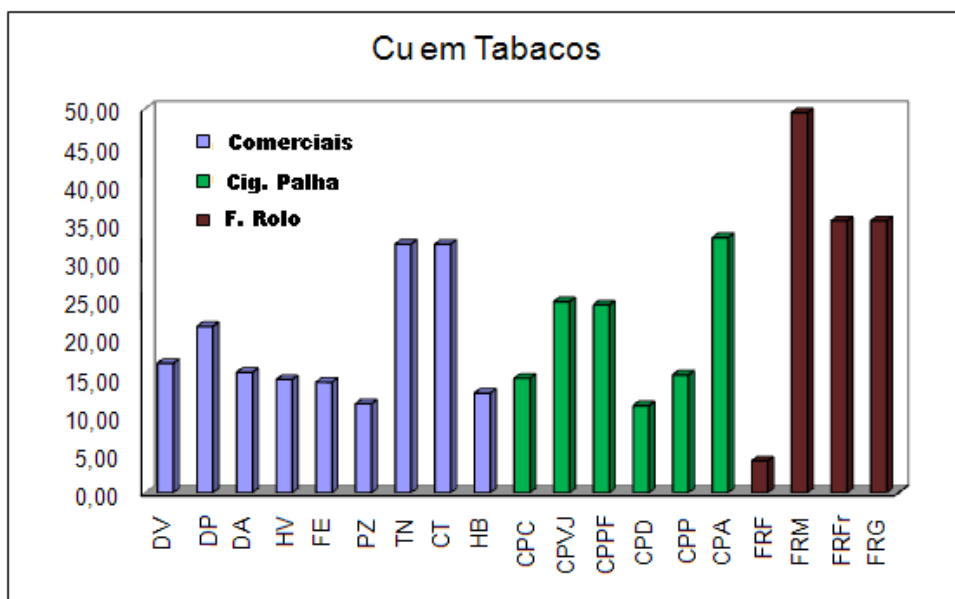


FIGURA 13: Teores de Cu em diferentes amostras de tabaco obtidos por F AAS após procedimentos de calcinação.

Na FIGURA 13 pode-se perceber que os valores de Cu variaram bastante para cada tipo de tabaco. Os cigarros comerciais TN e CT apresentaram os maiores teores de Cu, enquanto que o fumo de rolo FRF apresentou o menor valor. No geral, os teores de Cu nos fumos de rolo foram superiores aos outros dois tipos de tabaco.

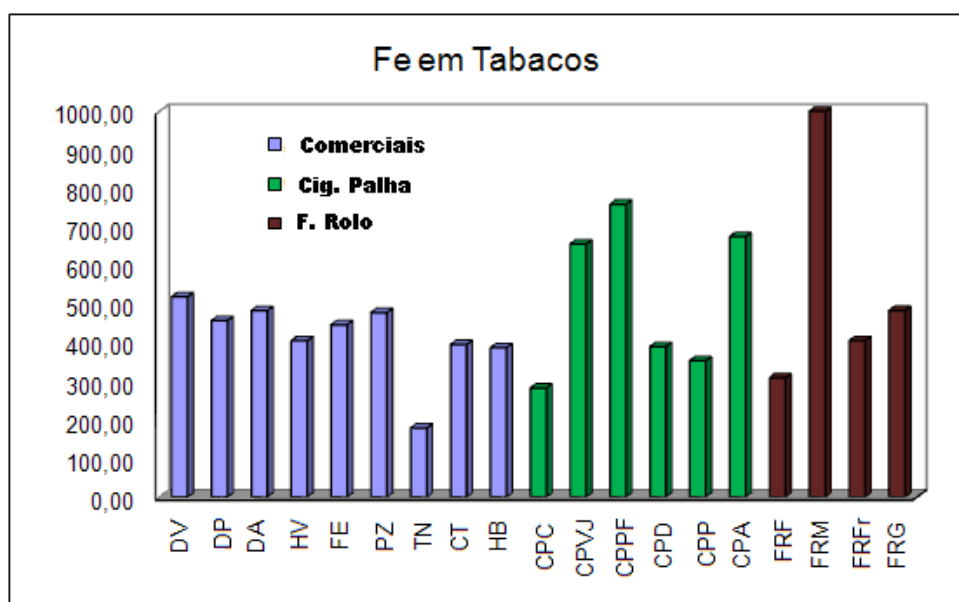


FIGURA 14: Teores de Fe em diferentes amostras de tabaco obtidos por F AAS após procedimentos de calcinação.

Na FIGURA 14 pode-se perceber que os teores de Fe também variaram bastante para cada tipo de tabaco. Nos cigarros comerciais, os teores apresentam-se uniformemente distribuídos, com exceção do cigarro TN. Nas amostras de cigarro de palha e de fumo de rolo, os teores variaram mais.

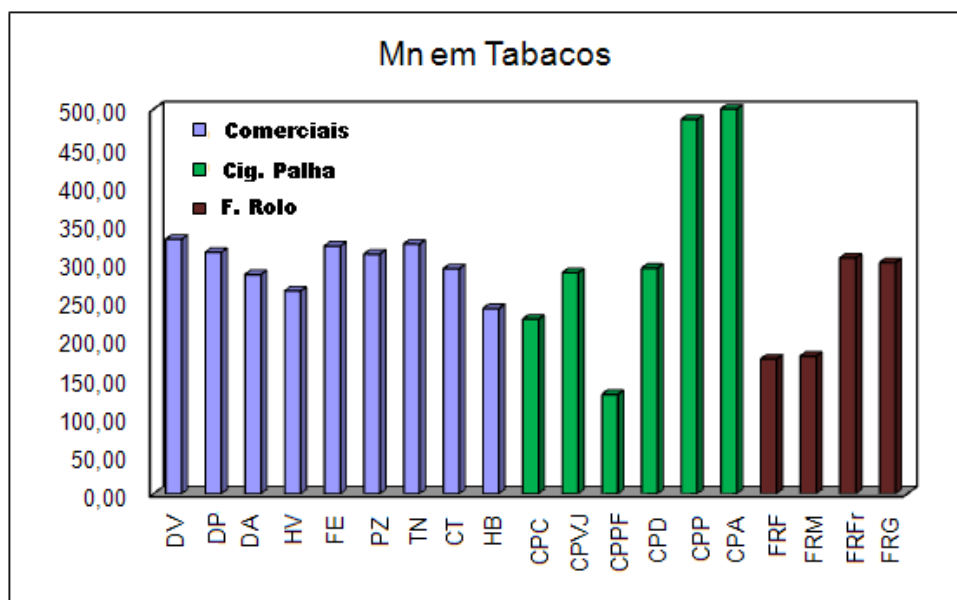


FIGURA 15: Teores de Mn em diferentes amostras de tabaco obtidos por F AAS após procedimentos de calcinação.

Na FIGURA 15 nota-se que os teores de Mn variaram para cada tipo de tabaco, porém os teores no grupo dos cigarros comerciais foram mais uniformes, quando comparados aos cigarros de palha e fumo de rolo.

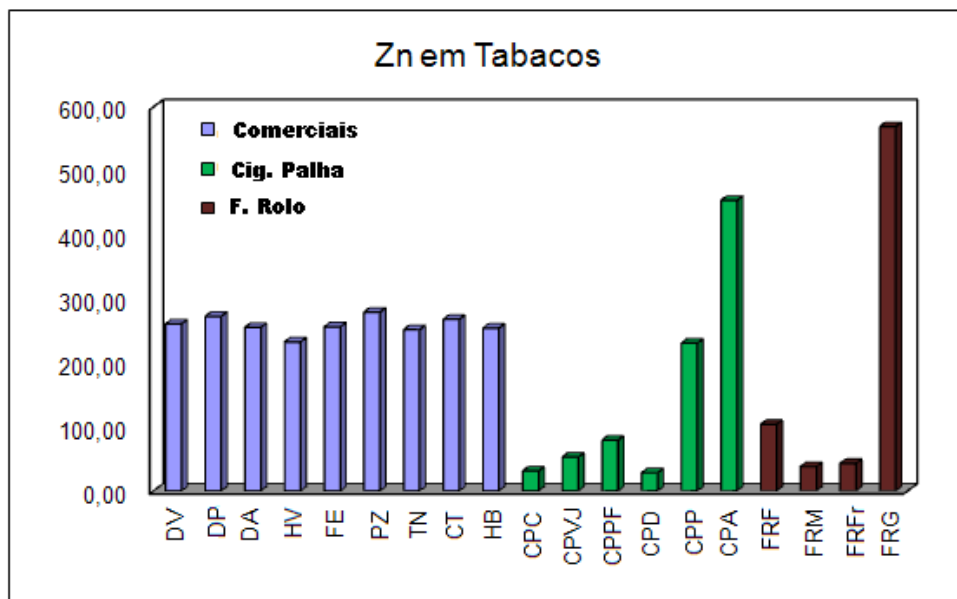


FIGURA 16: Teores de Zn em diferentes amostras de tabaco obtidos por F AAS após procedimentos de calcinação.

Na FIGURA 16 nota-se que os teores de Zn variaram bastante para os diferentes tipos de tabaco, sendo que a variação dentro do grupo de cigarros comerciais foi menos significativa quando comparada aos cigarros de palha e fumos de rolo.

Quando comparados aos valores apresentados na literatura [3-7], os resultados encontrados neste trabalho são distintos. Isso porque a concentração de metais em tabaco depende de diversos fatores, como características do solo, práticas de cultivo e outros fatores agrônômicos aliados às condições climáticas, que influenciam bastante na acumulação de metais nas folhas [4]

Para avaliar a exatidão do método desenvolvido, 2 materiais de referência certificado (folha de chá e folha de pêsego) foram submetidos ao procedimento proposto. Os valores encontrados são apresentados na TABELA 19.

TABELA 19: Resultados para Cu, Fe, Mn e Zn no material de referência certificado após procedimento de calcinação por via seca e úmida (n = 2).

	Valores certificados ( $\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{S}$ )				Valores Obtidos ( $\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{S}$ )			
	Cu	Fe	Mn	Zn	Cu	Fe	Mn	Zn
Tea	16,2	373	766	38,7	15,20	266	764,1	39,2
leaves	$\pm 1,9$	$\pm 23$	$\pm 28$	$\pm 3,9$	$\pm 0,7$	$\pm 2$	$\pm 0,2$	$\pm 3,8$
Peach	10,4	431	75,4	22,8	9,0	252	75,4	22,5
leaves	$\pm 1,6$	$\pm 29$	$\pm 5,4$	$\pm 2,5$	$\pm 0,2$	$\pm 15$	$\pm 0,2$	$\pm 0,2$

Na TABELA 19, nota-se que os resultados obtidos para os materiais de referência certificado estão de acordo com os resultados encontrados para Cu, Mn e Zn, a um nível de confiança de 95%, aplicando-se o teste *t* de student. Para o Fe, os valores obtidos não se encontram de acordo com os valores do material certificado, aplicando o mesmo teste com o mesmo nível de confiança.

Vale ressaltar que as amostras de materiais certificados de referência foram de suma importância para avaliação do procedimento de calcinação das amostras, porém, mesmo que estes materiais sejam folhas, a matriz é diferente de tabaco, podendo haver uma diferença nas interações dos analitos avaliados com a matriz orgânica. Assim, pode-se concluir que o procedimento de calcinação se mostra exato a um nível de confiança de 95%, aplicando o teste *t* de student, para os elementos Cu, Mn e Zn, não havendo perda destes na forma de voláteis ou possíveis contaminações. O mesmo não pode ser dito para o elemento Fe.

Os valores apresentados nas tabelas 12 a 14 foram considerados como valores de referência para comparação dos posteriores métodos de digestão e extração propostos.

#### 4.4. Procedimento de digestão e extração assistido por radiação microondas

Nas TABELAS 20 e 21 encontram-se os percentuais de extração obtidos para os procedimentos realizados com aquecimento assistido por radiação microondas, utilizando-se ácido nítrico concentrado e diluído, respectivamente.

TABELA 20: Percentuais de extração de Cu, Fe, Mn e Zn em tabacos após digestão assistida por radiação microondas, empregando HNO<sub>3</sub> concentrado e determinação por F AAS.

Amostra	Cu (%)	Fe (%)	Mn (%)	Zn (%)
Cigarro comercial - DV	96,4	107	104	13,8
Cig. Palha - CPP	90,7	108	95,8	24,0
Fumo de Rolo - FRF	85,7	94,4	84,7	21,3

Na TABELA 20 nota-se que a eficiência de extração com ácido concentrado foi em torno de 86% para os elementos Cu e Mn nas amostras de fumo de rolo. Para o Fe, os teores foram próximos de 100% em todas as amostras. Zinco foi o elemento menos extraível, com percentuais de extração menores que 24%. Os resultados encontrados indicam uma boa concordância com os valores obtidos após a calcinação, porém o procedimento assistido por radiação microondas apresentou como vantagem uma significativa redução no tempo de preparo, gastando cerca de 90 min. até obtenção da solução final, enquanto que aproximadamente 8 horas de preparo foram gastas no procedimento de calcinação.

TABELA 21: Percentuais de extração de Cu, Fe, Mn e Zn em tabacos após digestão assistida por radiação microondas, empregando HNO<sub>3</sub> diluído e determinação por F AAS.

Amostra	Cu (%)	Fe (%)	Mn (%)	Zn (%)
Cigarro comercial - DV	81,1	111	99,3	14,5
Cig. Palha - CPP	111	110	102	29,8
Fumo de Rolo - FRF	71,4	62,3	92,0	23,4

Na TABELA 21 pode-se perceber que as menores extrações ocorreram nas amostras de fumo de rolo para os elementos Cu, Fe e Zn. Porém, quando comparado aos resultados obtidos com o ácido concentrado, a amostra de fumo de rolo também apresentou os menores teores extraíveis para Cu e Zn.

Os valores de extração encontrados nas amostras de cigarro de palha e comercial foram similares para todos os elementos. Os menores percentuais de extração na amostra de fumo de rolo podem estar associados à complexidade da matriz, uma vez que esse tipo de tabaco é mais viscoso que os cigarros comerciais e de palha. Isto ocorre porque durante a fabricação dos cigarros comerciais e de palha, após a colheita, as folhas são secas em estufa por pelo menos 3 dias para posterior fabricação dos cigarros propriamente ditos. Já para a produção dos fumos de rolo e charutos, após a colheita, as folhas ficam dependuradas em galpões ou ranchos por 15 dias, para a murcha acentuada. Após este período, ocorre a separação das nervuras centrais para formar a corda. O enrolamento exige de quatro a oito folhas, conforme a grossura desejada. À medida que se forma, a corda é enrolada em um sarilho. Durante um mês, o fumo é curado ao sol, passando de um sarilho para outro, enquanto se torce a corda, para escoar a água e as substâncias gomosas que formam o “mel”. [58].

Assim, pode-se concluir pelos resultados apresentados que a utilização de ácido diluído foi tão eficiente na extração dos elementos quanto o emprego do HNO<sub>3</sub> concentrado. Segundo Araújo et al. a utilização de ácidos diluídos é

vantajosa pois, além de reduzir os valores dos brancos analíticos, ocorre também a redução de custos, geração de resíduos e digeridos que precisam de menores fatores de diluição para introdução em técnicas com nebulização pneumática.

O Zn foi o elemento menos extraível, independente da concentração de  $\text{HNO}_3$  do meio reacional, com teores inferiores a 30% (TABELA 20 e 21), sendo que nas amostras de cigarro de palha, os teores foram ligeiramente maiores. Estes baixos percentuais de extração sugerem que este elemento esteja mais fortemente ligado à matriz orgânica.

Como os teores de Cu, Fe e Mn obtidos nos procedimentos de digestão e de extração foram elevados, sugere-se trabalhar com ácidos mais diluídos em procedimentos assistidos por radiação microondas para amostras de tabacos.

#### **4.5. Extração assistida por radiação ultra-sônica**

Os resultados obtidos no planejamento fatorial completo  $2^3$  com os dados da TABELA 6 (item 3.4.3.1) são apresentados nas FIGURAS 17 a 20. Estas figuras foram obtidas utilizando-se o software Excel<sup>®</sup> da Microsoft disponível na web site do Laboratório de Quimiometria Teórica e Aplicada do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) [59].



UNICAMP		L&TA						
Identificação: Cobre								
Ensaios	Nº Rep.	Médias	Variâncias	Efeitos	Erros	t (8)	p	
1	2	10,815	0,08405	SG	Média 10,2745 ±	0,24034	42,74988	9,88E-11
2	2	8,411	0,26645	SG	1 -1,481 ±	0,48068	3,081054	0,015093
3	2	11,085	0,61605		2 0,327 ±	0,48068	0,680287	0,515524
4	2	9,484	0,727218		3 0,65 ±	0,48068	1,352252	0,213276
5	2	11,075	0,70805		12 0,187 ±	0,48068	0,389032	0,707402
6	2	10,145	1,028178		13 0,52 ±	0,48068	1,081801	0,310869
7	2	11,086	2,10125		23 -0,346 ±	0,48068	0,719814	0,49213
8	2	10,097	1,86245		123 -0,216 ±	0,48068	0,449364	0,665094
Variância das observações individuais →				0,924212	Nível de significância α			0,05
Variância dos efeitos →				0,231053				
Erro dos efeitos →				0,48068				

FIGURA 17: Resultados do planejamento fatorial completo  $2^3$  obtidos para Cu após utilização do software Excel<sup>®</sup> da Microsoft.

Nota-se na FIGURA 17 que para a Cu somente a variável 1 (aquecimento) foi significativa e com efeito negativo, indicando que as próximas extrações ocorram sob aquecimento.

UNICAMP		L&TA						
Identificação: Ferro								
Ensaios	Nº Rep.	Médias	Variâncias	Efeitos	Erros	t (8)	p	
1	2	58,025	4,259645	SG	Média 63,88313 ±	2,254702	28,33329	2,6E-09
2	2	47,35	2,45		1 -9,92875 ±	4,509404	2,201788	0,05883
3	2	82,755	2,628125	SG	2 13,05625 ±	4,509404	2,895339	0,020034
4	2	59,465	4,890605		3 3,96875 ±	4,509404	0,880105	0,404464
5	2	58,345	6,532245		12 -8,26875 ±	4,509404	1,833668	0,104051
6	2	65,7	3,130002		13 7,05375 ±	4,509404	1,564231	0,156393
7	2	76,265	2,028845		23 -5,36625 ±	4,509404	1,190013	0,268155
8	2	63,16	1,098162		123 -1,96125 ±	4,509404	0,434924	0,675111
Variância das observações individuais →				8,133888	Nível de significância α			0,05
Variância dos efeitos →				2,033472				
Erro dos efeitos →				0,45094				

FIGURA 18: Resultados do planejamento fatorial completo  $2^3$  obtidos para Fe após utilização do software Excel<sup>®</sup> da Microsoft.

Na FIGURA 18 pode-se perceber que para o ferro, somente a variável 2 (tempo de sonicação) foi significativa e positiva, indicando que as próximas extrações sejam realizadas com maiores tempos de sonicação. Pode-se perceber também que, apesar de não ser significativa, a variável 1 (aquecimento) apresentou um alto valor, em módulo, e negativo, indicando uma tendência de melhores extrações quando realizadas sob aquecimento.

UNICAMP		L&TA						
Identificação: Manganês								
Ensaios	Nº Rep.	Médias	Variâncias	Efeitos	Erros	t(8)	p	
1	2	5,473	0,003872	SG	Média 5,6815 ±	0,262618	21,63411	2,2E-08
2	2	3,5015	0,226465	SG	1 -3,83225 ±	0,525235	7,296254	8,42E-05
3	2	5,049	0,72	SG	2 2,74925 ±	0,525235	5,234321	0,000789
4	2	3,693	1,104098	SG	3 2,50475 ±	0,525235	4,768815	0,001411
5	2	4,0385	0,907204	SG	12 -2,9345 ±	0,525235	5,58702	0,000518
6	2	4,2145	1,818325	SG	13 -2,1685 ±	0,525235	4,128626	0,003305
7	2	15,83	3,7538	SG	23 2,8655 ±	0,525235	5,45565	0,000605
8	2	3,6525	0,294145	SG	123 -3,24225 ±	0,525235	6,172948	0,000267
Variância das observações individuais →			1,103489	Nível de significância $\alpha$		0,05		
Variância dos efeitos →			0,275872					
Erro dos efeitos →			0,525235					

FIGURA 19: Resultados do planejamento fatorial completo  $2^3$  obtidos para Mn após utilização do software Excel<sup>®</sup> da Microsoft.

Na FIGURA 19 pode-se perceber que para o manganês todas as variáveis se mostraram significativas, sendo que as variáveis 2 e 3 (concentração ácida e tempo de sonicação, respectivamente) foram positivas, indicando que futuras etapas devam ser realizadas sob maiores tempos de sonicação e com ácidos mais concentrados. A variável 1 (aquecimento) apresentou efeito negativo, indicando que as próximas extrações ocorram sob aquecimento.



## Planejamento Fatorial Completo 2<sup>3</sup>



Identificação:

Zn - US

Data:

12/9/2007

Ensaios	Nº Rep.	Respostas das repetições				Médias	Variâncias	Efeitos	Erros	t (8)	p	
1	2	32,27	19,65			<b>25,957</b>	<b>79,61516</b>	<b>SG</b> Média	19,12 ±	<b>0,901</b>	<b>21,2194</b>	3E-08
2	2	15,87	13,77			<b>14,821</b>	<b>2,217265</b>	1	-2,09 ±	<b>1,802</b>	<b>1,160024</b>	0,2795
3	2	20,47	19,62			<b>20,045</b>	<b>0,360293</b>	2	-1,081 ±	<b>1,802</b>	<b>0,599769</b>	0,5653
4	2	19,49	18,32			<b>18,905</b>	<b>0,690987</b>	3	-1,629 ±	<b>1,802</b>	<b>0,904055</b>	0,3924
5	2	17,55	14,98			<b>16,268</b>	<b>3,301793</b>	12	0,819 ±	<b>1,802</b>	<b>0,454499</b>	0,6615
6	2	24,35	18,83			<b>21,586</b>	<b>15,2332</b>	13	4,048 ±	<b>1,802</b>	<b>2,246475</b>	0,0549
7	2	17,93	18,83			<b>18,38</b>	<b>0,404614</b>	23	-0,167 ±	<b>1,802</b>	<b>0,092851</b>	0,9283
8	2	18	15,96			<b>16,978</b>	<b>2,074863</b>	<b>SG</b> 123	-4,179 ±	<b>1,802</b>	<b>2,319372</b>	0,049
Variância das observações individuais →						<b>12,98727</b>	Nível de significância α <b>0,05</b>					
Variância dos efeitos →						<b>3,246818</b>						
Erro dos efeitos →						<b>1,801893</b>						

FIGURA 20: Resultados do planejamento fatorial completo 2<sup>3</sup> obtidos para Zn após utilização do software Excel<sup>®</sup> da Microsoft.

Para o zinco, (FIGURA 20) somente as interações das três variáveis foi significativa, mas pode-se perceber que em módulo, a variável 1 (aquecimento) foi o maior valor da tabela, seguido da variável 3, ambas com efeitos negativos. Isso pode indicar que as próximas extrações ocorram sob aquecimento, utilizando ácidos diluídos.

Como o interesse não foi o de propor um método de extração para cada elemento e sim um método único para os quatro elementos estudados, foi proposto um novo planejamento Doehlert com 2 variáveis (TABELA 7, item 3.4.3.2. para otimização das condições de extração. Todos os experimentos foram realizados sob aquecimento. Como pontos centrais foram escolhidos 30 min de sonicação e concentração ácida de 25% v/v.

Nas FIGURAS 21 a 24 são apresentadas as superfícies de respostas bem como as curvas de níveis para Cu, Fe, Mn e Zn, obtidos pelo planejamento Doehlert com 2 variáveis.

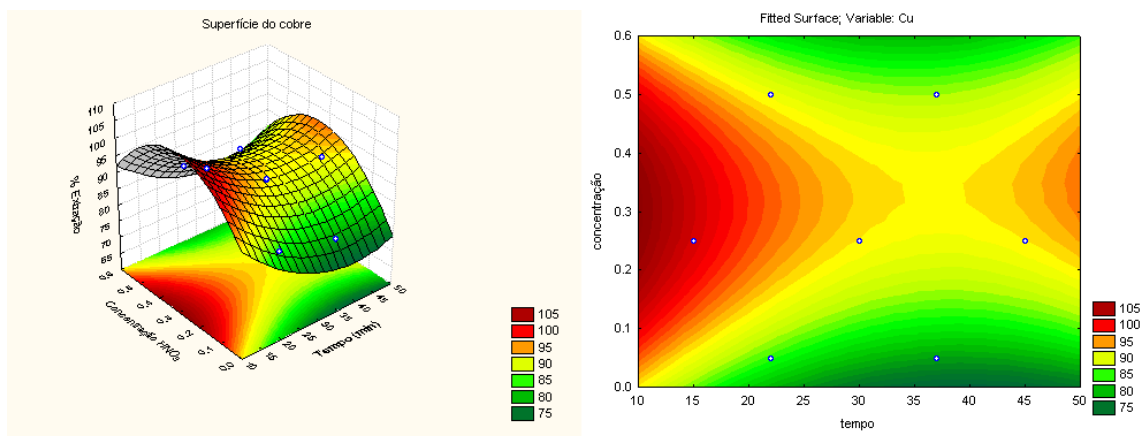


FIGURA 21: Superfície de resposta e curva de nível para Cu obtido pelo método de superfície de respostas Doehlert.

De acordo com a FIGURA 21, foi possível extrair 100% de Cu ao se trabalhar com concentrações de ácido nítrico próximas a 30% v/v e tempos de sonicação entre 10 e 20 minutos. Nota-se pelas figuras que não foi possível obter um ponto máximo, mas ainda sim, os percentuais de extração foram em torno de 100% de Cu, nas condições estudadas.

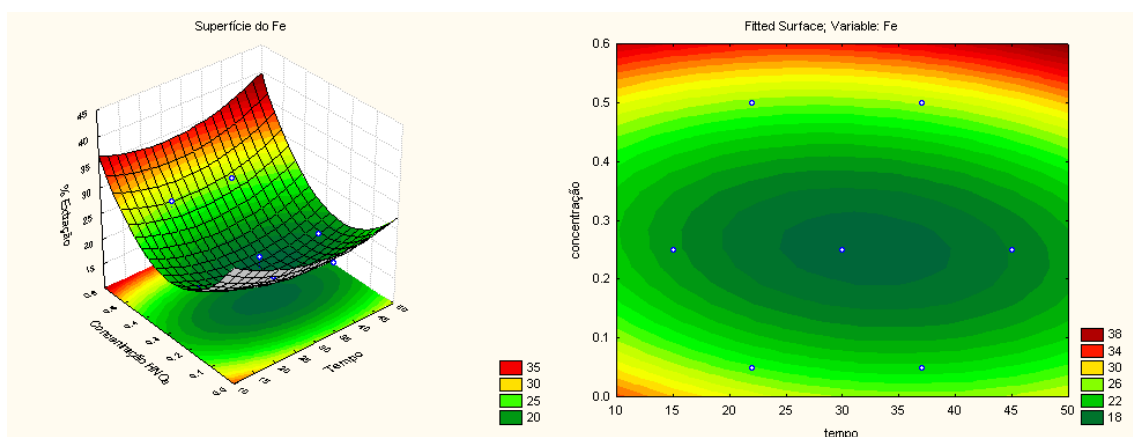


FIGURA 22: Superfície de resposta e curva de nível para Fe obtido pelo método de superfície de respostas Doehlert.

Na FIGURA 22 observa-se um ponto de mínimo na curva de nível. O tempo não foi um fator determinante para se obter as melhores condições de extração de Fe. Os melhores percentuais de extração foram obtidos ao se trabalhar com condições ácidas mais elevadas, o que não justificaria uma expansão do planejamento, uma vez que o objetivo da extração é o de se

trabalhar em condições mais brandas. Este elemento foi o segundo menos extraível, com percentuais de extração próximos de 35%.

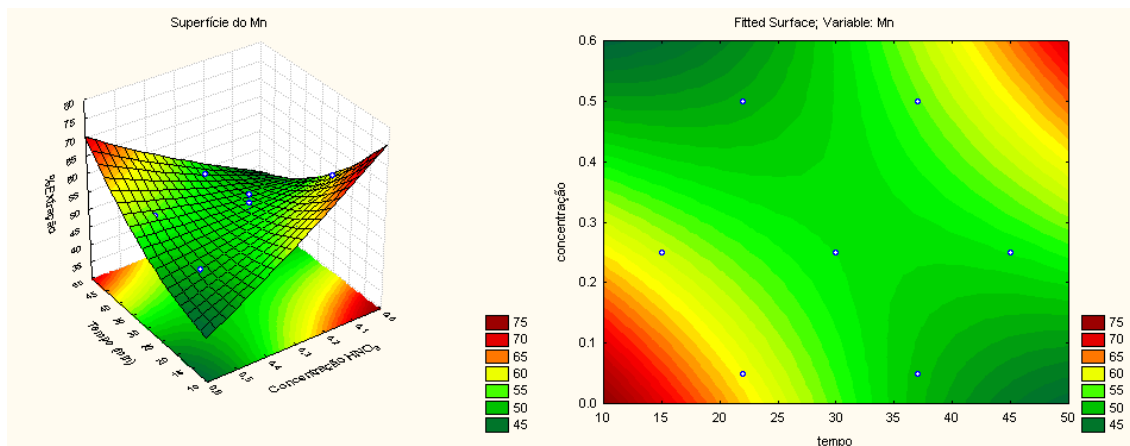


FIGURA 23: Superfície de resposta e curva de nível para Mn obtido pelo método de superfície de respostas Doehlert.

Percebe-se pela FIGURA 23 que para a extração de Mn houve 2 pontos de máximo, um quando se trabalha com menores tempos de sonicação e concentração ácida, e outro quando se trabalha com maiores tempos de sonicação e concentração. Nas condições mais brandas, isto é, tempos em torno de 10 min e concentração ácida de 10% v/v foi possível obter percentuais de extração de até 75%.

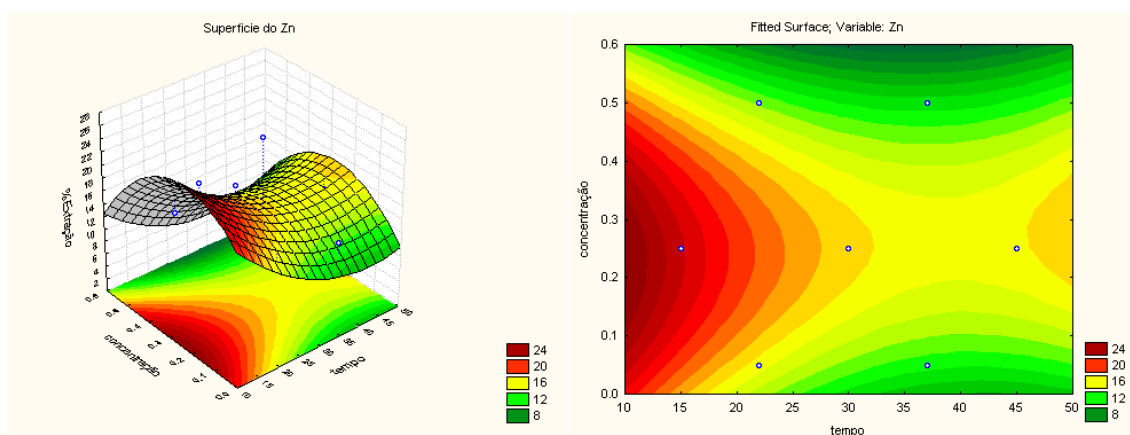


FIGURA 24: Superfície de resposta e curva de nível para Zn obtido pelo método de superfície de respostas Doehlert.

Para o Zn (FIGURA 24), assim como para o Cu, obteve-se duas regiões de máximo, uma trabalhando com menores tempos de sonicação e

concentração ácida, em torno de 15 min e 30% v/v, respectivamente, e outra região com maiores tempos de sonicação e concentrações mais elevadas. Os percentuais de extração para o Zn foram os menores, confirmando os resultados encontrados no procedimento de extração assistidos por radiação microondas.

Assim, para extração de Cu, Fe, Mn e Zn nas outras amostras de tabacos comerciais, bem como nos cigarros de palha e fumos de rolo, a mesma massa de amostra com solução de  $\text{HNO}_3$  25% v/v foi sonicada por 20 min. A TABELA 22 apresenta os percentuais de extração para os diferentes tipos de tabacos.

TABELA 22: Percentuais de extração de Cu, Fe, Mn e Zn para diferentes amostras de tabaco.

<b>Tabaco</b>	<b>Cu (%)</b>	<b>Fe (%)</b>	<b>Mn (%)</b>	<b>Zn (%)</b>
DV	61,8	6,96	16,2	13,4
DA	86,1	18,6	52,5	18,8
DP	52,9	15,2	43,0	11,1
CT	109	18,0	48,5	11,2
TN	20,5	35,3	61,9	13,4
HV	55,8	18,5	48,9	15,2
FE	95,1	17,7	52,8	14,4
HB	96,2	22,2	57,2	15,9
CPP	37,5	15,3	19,1	11,5
CPVJ	72,0	121	94,9	103
CPA	51,4	26,2	55,1	27,9
CPPF	88,3	11,6	82,0	112
CPC	74,1	26,8	82,1	107
CPD	70,5	24,3	93,3	99,6
FRF	157	12,6	26,1	27,1
FRM	101	8,07	84,4	98,9
FRFr	81,4	18,7	97,3	247
FRG	83,7	23,5	35,4	15,5

Pode-se observar pela TABELA 22 que o Cu foi o elemento mais facilmente extraível, com percentuais de extração maiores que 51%, exceto

para o cigarro comercial TN e cigarro de palha CPP, cujos percentuais foram, respectivamente, de 20,5 e 37,5%.

As FIGURAS 25 a 28 apresentam os percentuais de extração para o Cu, Fe, Mn e Zn, após procedimentos assistidos por radiação ultra-sônica.

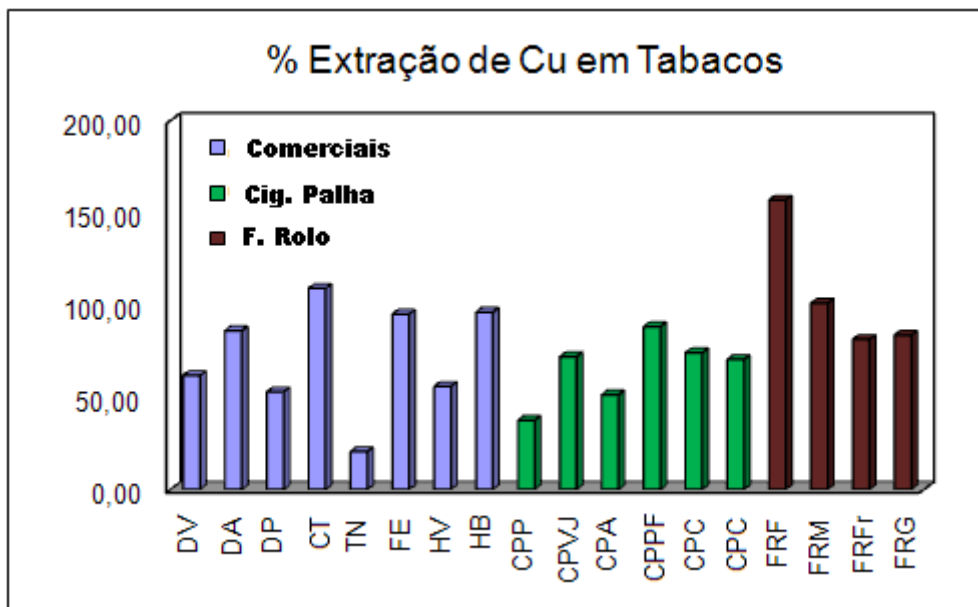


FIGURA 25: Percentuais de Extração de Cu obtidas após procedimentos assistidos por radiação ultra-sônica em diferentes amostras de tabacos.

Na FIGURA 25 pode-se observar que os procedimentos de extração de Cu foram mais eficientes para amostras de fumo de rolo, cujas percentagens de extração foram superiores a 80%.



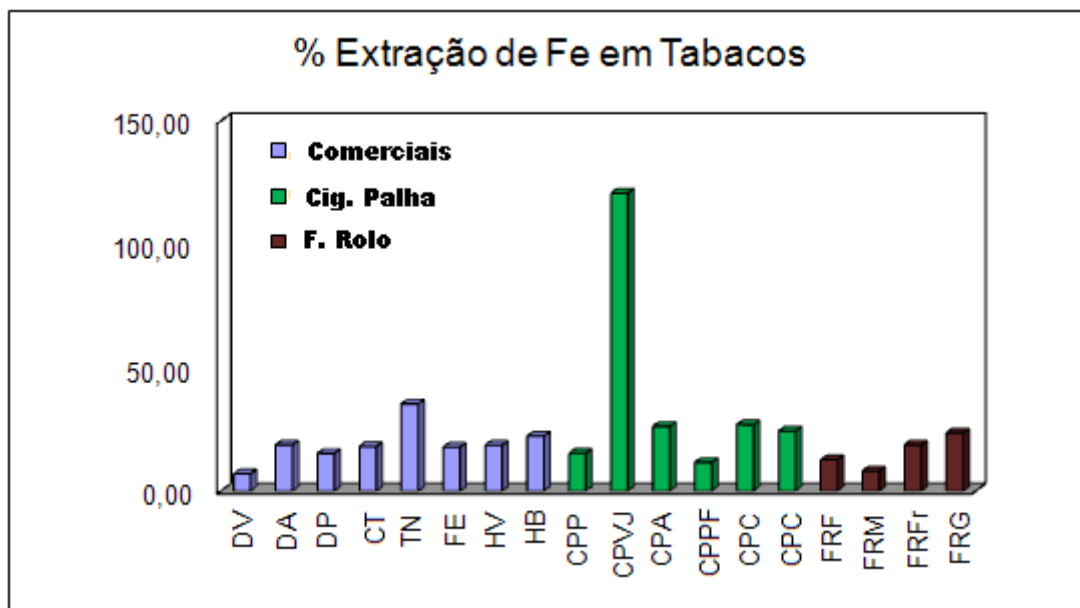


FIGURA 26: Percentuais de Extração de Fe obtidas após procedimentos assistidos por radiação ultra-sônica em diferentes amostras de tabacos.

Na FIGURA 26 pode-se observar que em todos os tipos de tabaco, as percentagens de extração foram inferiores a 50% para o Fe, com exceção do cigarro de palha CPVJ, com percentagens de extração próximas de 120%.

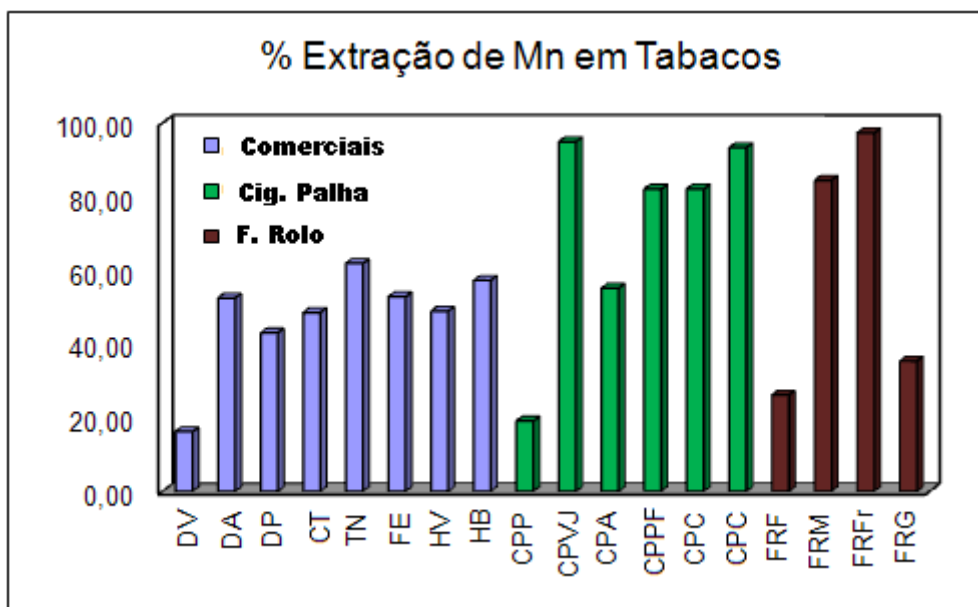


FIGURA 27: Percentuais de Extração de Mn obtidas após procedimentos assistidos por radiação ultra-sônica em diferentes amostras de tabacos.

Pode-se observar através da FIGURA 27 que para o elemento Mn, o procedimento de extração otimizado foi mais eficiente para as amostras de cigarros de palha, cujas percentagens de extração foram superiores a 80%, com exceção dos cigarros de palha CPA e CPP, que apresentaram percentagens de extração de 55,1 e 19,1%, respectivamente.

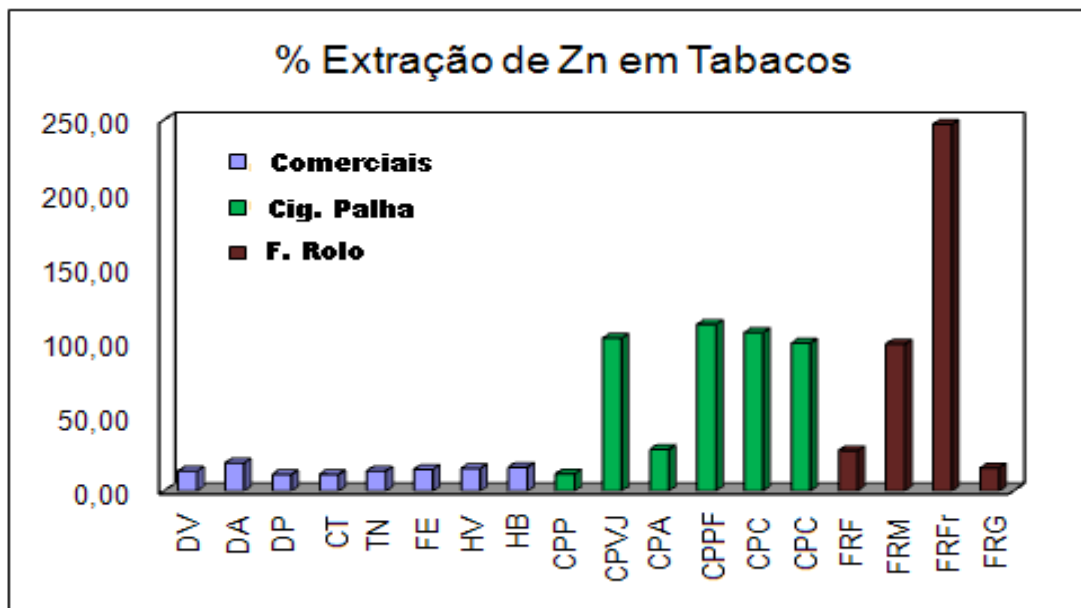


FIGURA 28: Percentuais de Extração de Zn obtidas após procedimentos assistidos por radiação ultra-sônica em diferentes amostras de tabacos.

Na FIGURA 28, pode-se perceber que os procedimentos de extração otimizados para o Zn foram pouco eficientes para todos os cigarros comerciais, cujas percentagens de extração foram inferiores a 20%.

#### 4.6. Comparação dos procedimentos assistidos por radiação microondas com os procedimentos por ultra-som

As FIGURAS 29 a 32 apresentam os percentuais de extração de Cu, Fe, Mn e Zn, pelos procedimentos assistidos por microondas e radiação ultra-sônica.

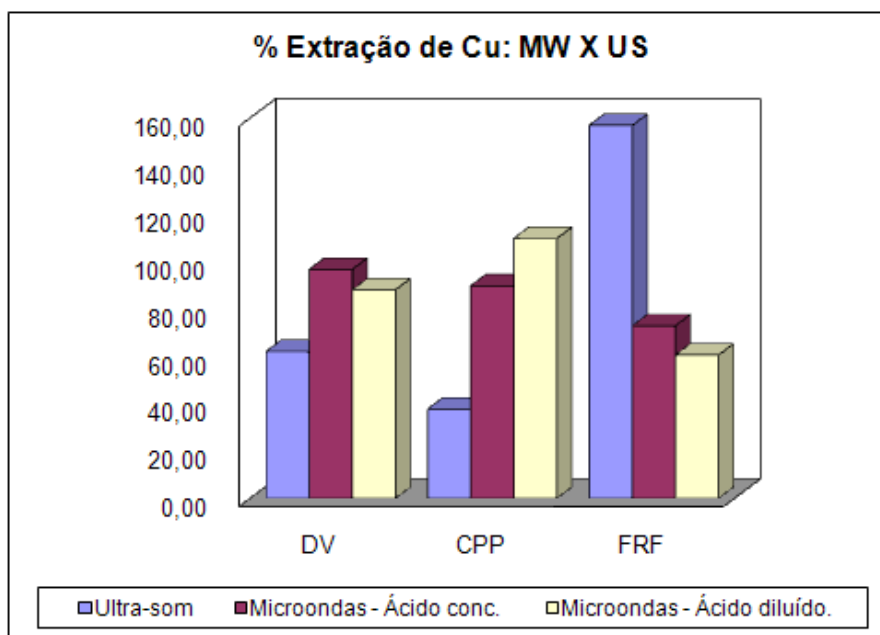


FIGURA 29: Percentuais de extração de Cu após procedimentos assistidos por radiação microondas e ultra-sônica.

Percebe-se pela FIGURA 29 que os procedimentos assistidos por radiação microondas se mostraram superiores para extração de Cu em amostras de cigarros comerciais e de palha. Para a amostra de fumo de rolo, a radiação ultra-sônica foi a mais eficiente.

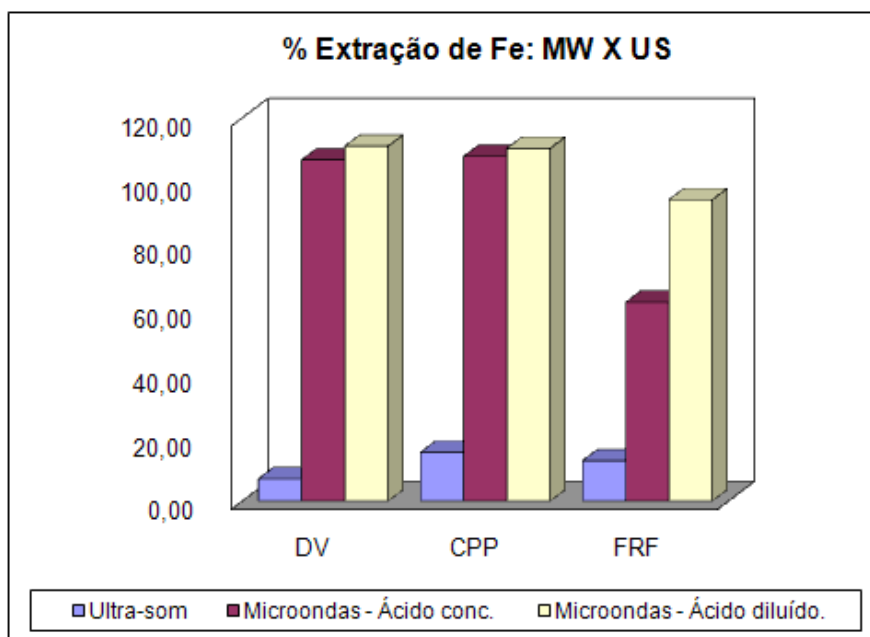


FIGURA 30: Percentuais de extração de Fe após procedimentos assistidos por radiação microondas e ultra-sônica.

Na FIGURA 30, pode-se perceber que os procedimentos assistidos por radiação microondas mostraram-se superiores para extração de Fe em todos os tipos de tabaco, quando comparados aos procedimentos assistidos por radiação ultra-sônica.

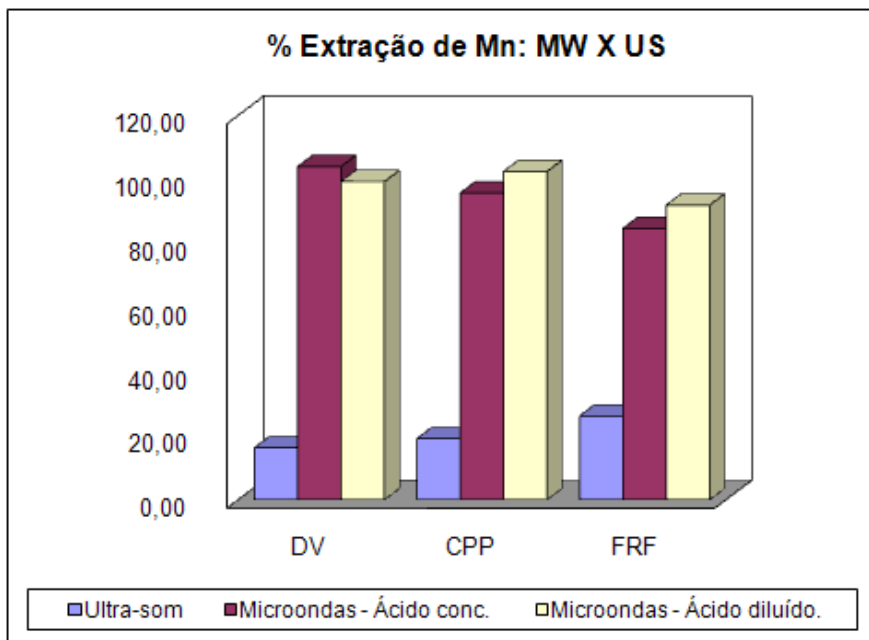


FIGURA 31: Percentuais de extração de Mn após procedimentos assistidos por radiação microondas e ultra-sônica.

Na FIGURA 31, assim como para o Fe, percebe-se que os procedimentos assistidos por radiação microondas mostraram-se superiores para extração de Mn em todos os tipos de tabaco, quando comparados aos procedimentos assistidos por radiação ultra-sônica.

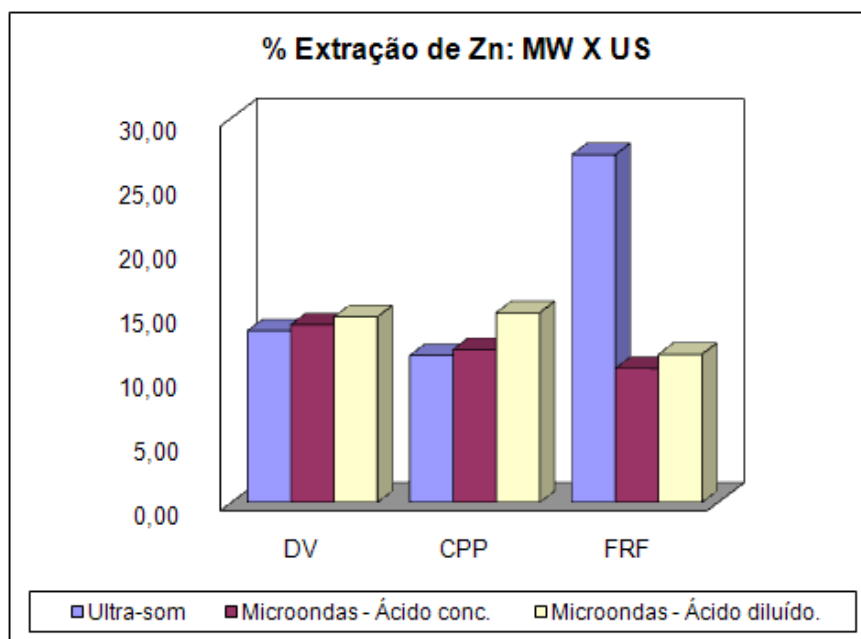


FIGURA 32: Percentuais de extração de Zn após procedimentos assistidos por radiação microondas e ultra-sônica.

Na FIGURA 32 pode-se perceber um comportamento diferente para o Zn quando comparado aos demais elementos, pois em todas as amostras de tabaco, os percentuais de extrações foram inferiores a 15%, com exceção para o fumo de rolo no procedimento por ultra-som. A utilização de  $\text{HNO}_3$  diluído levou a resultados ligeiramente superiores.

As maiores eficiências de extração proporcionadas pelo procedimento de extração assistido por radiação microondas de Cu, Fe, Mn e Zn nos diferentes tipos de tabaco, podem ser fruto das elevadas pressões geradas durante os procedimentos. As elevadas temperaturas proporcionaram uma maior disponibilização do analito para a solução, devido a uma maior eficiência de decomposição da matéria orgânica.

#### 4.7. Extração por ponto nuvem

Na metodologia de extração e pré-concentração por ponto nuvem, alguns fatores influenciam na eficiência da extração da espécie de interesse, como o pH no qual a formação do complexo é conduzida, bem como a concentração do agente complexante e do tensoativo.

Sabendo que o PAR pertence à mesma classe do Br-PADAP [27] e que a eficiência de extração de Cd complexado com Br-PADAP é próxima a 100% em pH 9, optou-se por fazer um estudo inicial, mantendo este pH, para escolha da concentração de Triton X-114 e do tipo de agente complexante. Para se avaliar o efeito da concentração do tensoativo foram testados volumes de 250 e 500  $\mu\text{L}$  da solução de trabalho de Triton X-114 e para os complexantes, foram estudados PAR e Br-PADAP. Nesta etapa, foram utilizados 200  $\mu\text{L}$  da solução de trabalho de agente complexante.

A FIGURA 33 apresenta a estrutura do tensoativo Triton X-114 utilizado nos procedimentos de EPN.

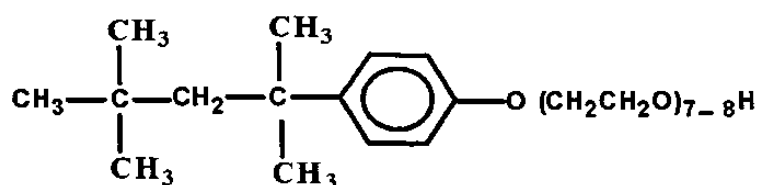


FIGURA 33: Estrutura do tensoativo Triton X-114, adaptado de [36].

Neste estudo observou-se que a separação de fases ocorreu para os dois complexantes estudados, porém, os volumes obtidos para as fases ricas foram muito pequenos, principalmente quando se utilizou 250  $\mu\text{L}$  da solução de trabalho de tensoativo. Desta forma, a introdução da fase rica no equipamento foi inviabilizada. Assim, optou-se por trabalhar com maiores volumes de tensoativos. Para isso, foi realizado um planejamento onde foram testados os volumes de 1000 e 2000  $\mu\text{L}$  de tensoativo. As determinações foram realizadas por F AAS.

A TABELA 23 apresenta as condições e resultados obtidos neste planejamento.

TABELA 23: Resultados obtidos, na triagem, por F AAS para Cd e Pb.

Experimento	Complexante	Vol. TX-114* - $\mu\text{L}$	pH	Abs
1	PAR	1000	7	0,079
2	PAR	2000	7	0,057
3	Br-PADAP	1000	7	0,081
4	Br-PADAP	2000	7	0,070
5	PAR	1000	8	0,138
6	PAR	2000	8	0,142
7	Br-PADAP	1000	8	0,211
8	Br-PADAP	2000	8	0,121
9	PAR	1000	9	0,066
10	PAR	2000	9	0,057
11	Br-PADAP	1000	9	0,437
12	Br-PADAP	2000	9	0,232

\* TX-114: Triton X-114 5,0 % m/v.

Nota-se na TABELA 23 que somente os experimentos 5 a 8, 11 e 12 apresentaram melhores sinais de absorção, superiores a 0,120 sendo que para os outros, os valores obtidos foram bem inferiores a 0,100. Estes experimentos foram realizados novamente e a fase rica foi analisada por TS FF AAS. As absorbâncias integradas obtidas neste estudo podem ser visualizadas na TABELA 24

TABELA 24: Resultados obtidos por TS FF AAS para Cd e Pb.

<b>Experimento</b>	<b>Absorbância Integrada Média*</b>	<b>Desvio*</b>
5	0,927	0,006
6	1,097	0,262
7	1,986	0,361
8	0,534	0,358
11	6,037	0,856
12	2,425	0,626

\* n = 4

Percebe-se na TABELA 24, que as melhores condições de pré-concentração foram obtidas para o experimento 11, que utiliza o Br-PADAP como agente complexante, em pH 9 e 1000  $\mu\text{L}$  de solução de trabalho de surfactante. Optou-se em trabalhar com o Br-PADAP como agente complexante, em meio alcalino e utilizando menores volumes de tensoativos. Para isso foi realizado um planejamento Doehlert com 3 variáveis (TABELA 9 – Item 3.4.4.1), mantendo o pH 9 como ponto central, sendo estudado em cinco níveis, para abranger uma maior faixa de pH em meio básico. Como a concentração do complexante permaneceu fixa em 200  $\mu\text{L}$  durante o estudo inicial, neste estudo a variável “volume do complexante” foi avaliada em cinco níveis. Como inicialmente o volume de 500  $\mu\text{L}$  de surfactante indicava uma tendência em se trabalhar com maiores volumes, e o estudo anterior indicou menores volumes do mesmo, optou-se por trabalhar com volume de 550  $\mu\text{L}$  de tensoativo como ponto central, variando em 3 níveis. Vale lembrar que neste estudo o volume de complexante também está sendo avaliado e como o Br-PADAP foi preparado em Triton X-114, a concentração final do tensoativo em cada experimento será diferente.

Bezerra et. al. [55] propuseram um procedimento de pré-concentração de Cd, Cr, Cu, Mn, Ni e Pb em amostras de óleo refinado usando Br-PADAP como agente complexante e Triton X-114 como tensoativo. Neste procedimento a separação de fases foi acelerada por radiação microondas em forno caseiro com 10 % de potência, Os autores obtiveram condições de pré-concentração semelhantes para os elementos Cd e Pb. Devido a isso, optou-se por avaliar o



mesmo planejamento (TABELA 9) para o Pb. O aquecimento condutivo foi substituído pelo aquecimento assistido em forno de microondas caseiro, por 6 min. aplicando 10 % de potência.

Os dados obtidos nos dois planejamentos foram tratados utilizando-se o programa Statistic 6.0, que forneceu os valores críticos, que referem-se às melhores condições de trabalho para extração dos metais. As superfícies de resposta obtidas são apresentadas na FIGURA 34 e os valores críticos para Cd e Pb são apresentados na TABELA 25.

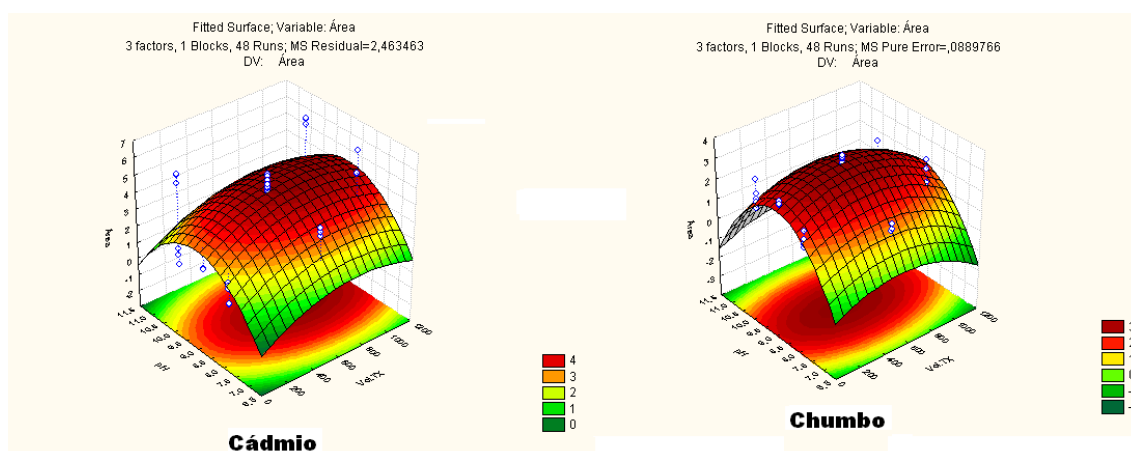


FIGURA 34: Superfícies de resposta para Cd e Pb, obtidas pelo Planejamento Doehlert com 3 variáveis.

TABELA 25: Valores críticos para Cd e Pb.

Elemento	Volume Complex. ( $\mu\text{L}$ )	Volume TX-114 ( $\mu\text{L}$ )	pH
Cd	246	763	8,82
Pb	294	577	8,94

<sup>1</sup> Triton X-114 5% m/v

Estes volumes correspondem às concentrações de  $1,75 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  e  $2,1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  de agente complexante para Cd e Pb, respectivamente. E para o tensoativo, deve ser levado em consideração que o agente complexante está diluído em solução com surfactante, devendo este ser levado em

consideração também. Assim, a concentração de Triton X-114 equivale a 0,36 e 0,31 % m/v

A fim de se verificar a viabilidade do procedimento proposto, alguns parâmetros de mérito foram determinados nas condições otimizadas, os quais podem ser visualizados na TABELA 26. Para se preparar somente uma solução tampão, optou-se em trabalhar com pH 9 para os dois metais.

TABELA 26 - Parâmetros de mérito do método otimizado para a quantificação de Cd e Pb

Parâmetros	Cd	Pb
Faixa Linear ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	1 – 25	1 – 250
% R.S.D. (25 $\mu\text{g L}^{-1}$ )	3,1	0,7
Inclinação	$1,8158 \pm 0,006$	$0,2514 \pm 0,0002$
Coefficiente de correlação (r)	0,9985	0,9979
LD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,0848	0,2468
LQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	0,2828	0,8228
LD – F AAS ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	5,286	406,5
Ganho em sensibilidade	62	158

Pode-se perceber pela TABELA 26 que, aliando a técnica de determinação pelo sistema TS FF AAS após a pré-concentração por ponto nuvem, o ganho em sensibilidade foi de 62 vezes para o Cd e 158 vezes para o Pb, com baixos desvios padrões relativos (%R.S.D) e limites de detecção.

Para se avaliar a exatidão do método, materiais certificados de referência foram digeridos e submetidos ao método otimizado. Os resultados obtidos encontram-se na TABELA 27.

TABELA 27: Concentrações de Cd e Pb em materiais certificados determinados por TS FF AAS, após pré-concentração por ponto nuvem. P = 0,05 e n = 4

Amostra	Valores certificados ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )		Valores encontrados ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	
	Cd	Pb	Cd	Pb
Tea	$0,032 \pm 0,005$	$1,06 \pm 0,10$	$0,026 \pm 0,017$	$1,45 \pm 0,22^*$
Peach Leaves	$0,018 \pm 0,008$	$0,99 \pm 0,08$	$0,019 \pm 0,05$	$1,23 \pm 0,39$

\* p = 0,01 e n = 4

Pode-se perceber na TABELA 27 que os valores encontrados são concordantes com os dos materiais certificados. Como estes materiais não são de tabaco, foram realizados também testes de adição e recuperação, apresentados na TABELA 28.

TABELA 28: Testes de adição e recuperação obtidos para Cd e Pb nas amostras de tabaco.

Tabaco	Cd			Pb		
	Adicionado $\mu\text{g l}^{-1}$	Obtido $\mu\text{g l}^{-1}$	Recuperação (%)	Adicionado $\mu\text{g l}^{-1}$	Obtido $\mu\text{g l}^{-1}$	Recuperação (%)
Comercial	2,5	10,6	98,2	2,5	5,10	94,6
Comercial	5,0	12,9	94,2	5,0	7,40	93,1
C.Palha	2,5	15,1	102	2,5	22,7	92,5
C.Palha	5,0	17,6	101	5,0	25,2	96,5
F. Rolo	2,5	16,0	95,6	2,5	30,3	105
F. Rolo	5,0	18,3	93,2	5,0	32,9	107

Percebe-se na TABELA 28 que o método apresentou para os dois analitos, boas recuperações para os três tipos de tabaco. Para amostras de cigarros comerciais as recuperações foram de 94 a 98 % e de 93 a 94 % para Cd e Pb, respectivamente. Nas amostras de cigarros de palha, estas recuperações foram em torno de 102 % para Cd e de 92 a 96 % para Pb e nas amostras de fumo de rolo, foram obtidas recuperações em torno de 95 % e 105 % para Cd e Pb respectivamente.

Assim, como os resultados obtidos para os materiais de referência estão concordantes com os resultados certificados, e como foram obtidas boas recuperações, o procedimento foi utilizado nas amostras de tabaco, após procedimento de calcinação (item 3.4.1) e posterior ajuste de pH. Os teores obtidos encontram-se na TABELA 29.

TABELA 29: Teores de Cd e Pb após pré-concentração por ponto nuvem e determinação por TS FF AAS.

<b>Tabacos</b>	<b>Cd (<math>\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{S}</math>)</b>	<b>Pb (<math>\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{S}</math>)</b>
DV	0,227 $\pm$ 0,060	0,740 $\pm$ 0,077
DD	0,313 $\pm$ 0,097	2,995 $\pm$ 0,036
HV	0,148 $\pm$ 0,036	2,996 $\pm$ 0,016
CT	0,228 $\pm$ 0,012	3,073 $\pm$ 0,048
TN	0,213 $\pm$ 0,028	2,992 $\pm$ 0,037
CPP	0,349 $\pm$ 0,005	0,568 $\pm$ 0,040
CPC	0,345 $\pm$ 0,069	3,513 $\pm$ 0,029
CPVJ	0,221 $\pm$ 0,009	3,109 $\pm$ 0,048
CPD	0,242 $\pm$ 0,063	3,078 $\pm$ 0,050
FRF	0,380 $\pm$ 0,020	0,769 $\pm$ 0,040
FRM	0,213 $\pm$ 0,032	3,058 $\pm$ 0,139
FRFr	0,235 $\pm$ 0,027	3,141 $\pm$ 0,051
FRG	0,189 $\pm$ 0,022	2,944 $\pm$ 0,052
N = 4		

Pode-se perceber através da TABELA 29 que os teores de Cd variaram de 0,15 a 0,38  $\mu\text{g g}^{-1}$  e de 0,568 a 3,513  $\mu\text{g g}^{-1}$  para Pb. Pode-se perceber também que para o Pb os teores variaram menos entre os diferentes tabacos e

em cada grupo de tabaco, exceto para as amostras de DV, CPP e FRF. O mesmo não pôde ser observado para o Cd, cujos teores variaram muito em função de cada tipo de tabaco e dentro de cada grupo.

Não foi possível comparar os valores obtidos com os valores encontrados na literatura [8, 9]. Isso porque a concentração de metais em tabaco depende de diversos fatores tais como o solo de cultivo e condições climáticas [4].

## **Capitulo 5**

# **CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS**

## 5.1. CONCLUSÕES

Pelos estudos realizados, pode-se concluir que diferentes tipos de tabacos apresentaram diferentes teores de Cd, Cu, Fe, Mn, e Zn, não sendo encontrado muitas variações nos teores de Pb, nos tabacos analisados. A variação da concentração destes metais nas amostras de cigarros comerciais foi menos acentuada, apresentando uma distribuição mais uniforme.

Procedimentos de extração pode ser uma alternativa para a determinação de metais em amostras de tabaco para posterior determinação por espectrometria de absorção atômica. Estes procedimentos propiciaram um aumento na frequência analítica e requerem menores volumes de reagentes.

Foi possível observar que o emprego de ácidos diluídos levou a percentuais de extração para Cu, Fe, Mn e Zn compatíveis com os valores obtidos empregando ácido concentrado. O emprego de ácidos diluídos é apresentado na literatura como uma estratégia viável e de fácil implementação. Quando o emprego do ácido diluído é associado ao uso da radiação microondas, as vantagens são potencializadas, levando a um menor consumo de reagentes, baixos valores de brancos analíticos, redução de perda de voláteis, aumento da frequência analítica, etc.

Para os metais avaliados não houve interferências de matriz. O Zn foi o elemento menos extraível em todos os procedimentos propostos, sugerindo que este elemento esteja mais fortemente ligado à matriz orgânica. Já o Cu foi o elemento mais extraível, independente do procedimento avaliado. Na verificação dos efeitos de matriz este elemento foi quem apresentou comportamento diferente devido ao aumento de sensibilidade causada em meio ácido. O aumento de sensibilidade pode ser decorrente de possíveis contaminantes.

Os procedimentos envolvendo extração e pré-concentração por ponto nuvem se mostraram bastantes eficientes para determinação de Cd e Pb em amostras de tabacos. Em todos os tabacos analisados, a concentração de Pb, de modo geral, encontra-se mais elevado que os teores de Cd. Ao contrário do Pb, os teores de Cd variaram bastante entre os três tipos de tabaco e dentro de cada grupo.



O procedimento otimizado não apresentou problemas no sistema de nebulização pneumática do F ASS e tampouco para o TS FF AAS, sendo possível a utilização de extração e pré-concentração por ponto nuvem destes metais em amostras biológicas, como uma alternativa aos procedimentos convencionais de extração sólido-líquido.

Para alcançar limites de detecção ainda menores, pode-se após procedimentos de pré-concentração por ponto nuvem, realizar as quantificações por TS FF AAS, onde há um ganho significativo em sensibilidade, 62 e 158 vezes para Cd e Pb, respectivamente, devido à maior quantidade de amostras que está no caminho ótico, além de proporcionar meios de quantificação de traços de elementos menos voláteis.

O uso de ferramentas quimiométricas como planejamentos e metodologias de superfície de respostas foi importante para avaliação das variáveis, bem como suas interações, e ainda minimizou o número de experimentos, reduzindo tempo, custos e geração de resíduos.

## **5.2. Perspectivas**

Sugere-se um estudo para verificação de algumas variáveis em procedimentos de preparo assistidos por radiação microondas, tais como potência aplicada, temperatura, quantidade de amostra e reagentes, dentre outras. Além deste estudo, a partir de condições otimizadas para as extrações assistidas por radiação microondas, pode-se estudar melhor o comportamento do Zn nas amostras de tabaco, uma vez que os percentuais de extração obtidos foram baixos.

Outro estudo que poderia ser realizado é o da classificação de amostras de tabacos, empregando-se a quimiometria, uma vez que cada tipo de tabaco apresentou um teor diferente para cada metal.

E finalmente, propor procedimentos de especiação de elementos essenciais/tóxicos. A forma que o elemento se encontra presente na matriz é uma informação relevante para o entendimento de sua disponibilidade para o ambiente.

## **Capitulo 6**

# **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## 6. Referências Bibliográficas:

1. [www.psicologia.com.pt/instrumentos/drogas/](http://www.psicologia.com.pt/instrumentos/drogas/), acessada em 02/01/2008
2. T.G. Kazi, A.R. Memon, H.I. Afridi, M.K. Jamali, M.B. Arain, N. Jalbani e R.A. Sarfraz. **Determination of cadmium in whole blood and scalp hair samples of Pakistani male lung cancer patients by electrothermal atomic absorption spectrometer.** *Science of the Total Environment* **389** (2008) 270 - 276
3. C. J. Smith, S.D. Livingston, e D.J. Doolittle. **An International Survey of “IARC Group I Carcinogens” Reported in Mainstream Cigarette Smoke.** *Food and Chem. Toxic.* **35 (10-11)** (1997) 1107-1130.
4. D. Bernhard, A. Rossmann e G. Wick. **Metals in cigarette smoke.** *IUBMB Life* **57** (2005) 805-809
5. A. N. Shaikh, B. S. Negi e S. Sadasivan. **Characterization of Indian cigarette tobacco and its smoke aerosol by nuclear and allied techniques.** *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* **253 (2)** (2002) 231–234
6. W. E. Stephens e A. Calder. **Source and Health Implications of High Toxic Metal Concentrations in Illicit Tobacco Products.** *Environmental Science & Technology* **39 (2)** (2005) 479-488
7. S. Landsberger e D. Wu. **The impact of metals from environmental tobacco smoke on indoor air quality as determined by Compton suppression neutron activation analysis.** *The Science of the Total Environment* **173/174** (1995) 323-337
8. M. B. Arain, T. G. Kazi, M. K. Jamali, N. Jalbani, H. I. Afridi, G. A. Kandhro, R. Ansari e R. A. Sarfraz. **Hazardous impact of toxic metals on tobacco leaves grown in contaminated soil by ultrasonic assisted pseudo-digestion: *Multivariate study.*** *Journal of Hazardous Materials* (2008).
9. N. Lugon-Moulin, F. Martin, M. R. Krauss, P. B. Ramey e L. Rossi. **Cadmium concentration in tobacco (*Nicotina tabacum* L.) from different countries and its relationship with other elements.** *Chemosphere* **63** (2006) 1074–1086

10. F. J. Krug; **“Workshop sobre preparo de amostras”**, 3., São Carlos, 2000. 149p.
11. F. J. Krug, **“Workshop sobre métodos de decomposição de amostras”**, CENA, USP, 1998.
12. J. S. Kane. **Leach data vs total: which is relevant for SRMs?** *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* **352 (1-2)** (1995) 209 – 213
13. E. Wieteska, A. Zióek e A. Drzewinska. **Extraction as a method for preparation of vegetable samples for the determination of trace metals by atomic absorption spectrometry.** *Analytica Chimica Acta* **330** (1996) 251-257
14. M. A. Z. Arruda e R. E. Santelli. **Mecanização no Preparo de Amostras por Microondas: O Estado da Arte.** *Química Nova* **20 (6)** (1997) 638 – 643
15. A. C. R. N. Barbosa, C. V. M. S. Cruz, M. B. Graziani, M. C. F. Lorenzetti e E. Sabadini. **Aquecimento em Forno de Microondas / Desenvolvimento de Alguns Conceitos Fundamentais.** *Química Nova* **24 (6)** (2001) 901 – 904
16. H. M. S. Kingston e S. J. Haswell, **“Microwave-Enhanced Chemistry. Fundamentals, Sample Preparation and Applications”**, *American Chemical Society*, Washington (1997).
17. F. A. Bressani, H. O. Silva, J. A. Nóbrega, L. M. Costa e A. R. A. Nogueira. **Digestão de Óleo Lubrificante Encapsulado em Forno de Microondas com Radiação Focalizada por Adição de Amostra ao Reagente Pré-aquecido.** *Química Nova* **29 (6)** (2006) 1210 – 1214
18. J. A. Nóbrega, L. C. Trevizan, G. C. L. Araújo e A. R. A. Nogueira. **Focused-microwave-assisted strategies for sample preparation.** *Spectrochimica Acta Part B* **57** (2002) 1855 - 1876
19. M. G. A. Korn, A. C. Ferreira, A. C. S. Costa, J. A. Nóbrega e C. R. Silva. **Comparison of decomposition procedures for analysis of titanium dioxide using inductively coupled plasma optical emission spectrometry.** *Microchemical Journal* **71**(2002) 41 – 48

20. A. Sapkota, M. Krachler, C. Scholz, A. K. Cheburkin e W. Shotyk. **Analytical procedures for the determination of selected major (Al, Ca, Fe, K, Mg, Na, and Ti) and trace (Li, Mn, Sr, and Zn) elements in peat and plant samples using inductively coupled plasma-optical emission spectrometry.** *Analytica Chimica Acta* **540** (2005) 247–256
21. G. C. L. Araújo, M. H. Gonzalez, A. G. Ferreira, A. R. A. Nogueira e J. A. Nóbrega. **Effect of acid concentration on closed-vessel microwave-assisted digestion of plant materials.** *Spectrochimica Acta Part B* **57** (2002) 2121 – 2132
22. E. M. Seco-Gesto, A. Moreda-Piñeiro, A. Bermejo-Barrera e P. Bermejo-Barrera. **Multi-element determination in raft mussels by fast microwave- assisted acid leaching and inductively coupled plasma-optical emission spectrometry.** *Talanta* **72** (2007) 1178 – 1185
23. C. Baffi, M. Bettinelli, G. M. Beone e S. Spezia. **Comparison of different analytical procedures in the determination of trace elements in lichens.** *Chemosphere* **48** (2002) 299 – 306
24. M. Korn, M. V. A. S. Andrade e S. S. Borges. **Procedimentos analíticos assistidos por ultra-som.** *Analytica* **3** (2003) 34 – 39
25. M. A. U. Martines, M. R. Davolos e M. J. Júnior. **O efeito do ultra-som em reações químicas.** *Química Nova* **23 (2)** (2000) 251 - 256
26. T. J. Mason, **“Chemistry With Ultrasound”**, *Critical Reports Chemistry*, Vol 28, Elsevier Applied, Londres, 1990
27. T. J. Mason, **“Sonochemistry: The Uses of Ultrasound in Chemistry”**, *Royal Society of Chemistry*, Cambridge, 1990
28. T. J. Mason e L. P. Lorimer, **“Sonochemistry: Theory, Applications and Uses of Ultrasound in Chemistry”**, *John Wiley & Sons*, Chinchester, 1988

29. C. C. Nascentes, M. Korn, C. S. Sousa e M. A. Z. Arruda. **Use of Ultrasonic Baths for Analytical Applications: A New Approach for Optimisation Conditions.** *Journal of the Brazilian Chemical Society* **12 (1)** (2001) 57 – 63
30. C. C. Nascentes, M. Korn e M. A. A. Arruda. **A fast ultrasound-assisted extraction of Ca, Mg, Mn and Zn from vegetables.** *Microchemical Journal* **69** (2001) 37 – 43
31. A. Ilander e A. Vaisanen. **An ultrasound-assisted digestion method for the determination of toxic element concentrations in ash samples by inductively coupled plasma optical emission spectrometry.** *Analytica Chimica Acta* **602** (2007) 195 – 201
32. H. Güngör e A. Elik. **Comparison of ultrasound-assisted leaching with conventional and acid bomb digestion for determination of metals in sediment samples.** *Microchemical Journal* **86** (2007) 65 – 70
33. M. A. Bezzerra e S. C. Ferreira; **“Extração em ponto nuvem: Princípios e aplicações em química analítica”**, ed. UESB, 2006
34. A. M. Faria, M. E. L. R. Queiroz e A. A. Nevez. **Extração por ponto nuvem: Técnica alternativa para a extração de resíduos de agrotóxicos.** *Pesticidas: r. ecotoxicol. e meio ambiente* **15** (2005) 29 - 42
35. E. Pelizzetti e E. Pramauro; **Analytical applications of organized molecular assemblies.** *Analytica Chimica Acta* **169** (1985) 1 - 29.
36. M. J. Rosen; **“Surfactantes and Interfacial Phenomena”**, Wiley Interscience, New York, 1987.
37. G. L. Donati. **Aplicação do ponto nuvem para a extração e pré-concentração de cádmio e determinação por espectrometria de absorção atômica com chama.** *Tese de doutorado da Universidade Estadual de Campinas - SP* (2005).

38. P. Liang, J. Li e X. Yang. **Cloud Point Extraction Preconcentration of Trace Cadmium as 1-Phenyl-3-methyl-4-benzoyl-5-pyrazolone Complex and Determination by Flame Atomic Absorption Spectrometry.** *Microchimica Acta* **152** (2005) 47 – 51
39. J. L. Manzoori e G. Karim-Nezhad. **Development of a cloud point extraction and preconcentration method for Cd and Ni prior to flame atomic absorption spectrometric determination.** *Analytica Chimica Acta* **521** (2004) 173 – 177
40. L. M. Coelho e M. A. Z. Arruda. **Preconcentration procedure using cloud point extraction in the presence of electrolyte for cadmium determination by flame atomic absorption spectrometry.** *Spectrochimica Acta Part B* **60** (2005) 743 – 748
41. A. Sussulini e M. A. Z. Arruda. **Determinação de cromo (VI) por espectrometria de absorção atômica com chama após a extração e pré-concentração no ponto nuvem.** *Ecl. Quím.* **31 (1)** (2006) 73 - 80
42. J. Chen e K. C. Teo. **Determination of cadmium, Cooper, lead and zinc in water samples by flame atomic absorption spectrometry after cloud point extraction.** *Analytica Chimica Acta* **450** (2001) 215 – 222
43. J. L. Manzoori, H. Abdolmohammad-Zadeh e M. Amjadi. **Ultratrace determination of cadmium by cold vapor atomic absorption spectrometry after preconcentration with a simplified cloud point extraction methodology.** *Talanta* **71** (2007) 582 – 587
44. A. Gáspar e É. Széles, H. Berndt. **Analysis of submicroliter samples using micro thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry.** *Anal. Bioanal. Chem.* **372** (2002) 136
45. A. Gáspar e H. Berndt. **Thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) – a simple method for trace**

- element determination with microsamples in the  $\mu\text{g/l}$  concentration range. *Spectrochimica Acta Part B* **55** (2000) 587 – 597
46. J. Davies e H. Berndt. **Improvements in thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry.** *Analytica Chimica Acta* **479** (2003) 215 – 223
47. E. R. Pereira-Filho, H. Berndt e M. A. Z. Arruda. **Simultaneous sample digestion and determination of Cd, Cu and Pb in biological sample using thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) with slurry sample introduction.** *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **17** (2002) 1308 – 1315
48. C. C. Nascentes, M. A. Z. Arruda, A. R. A. Nogueira e J. A. Nóbrega. **Direct determination of Cu and Zn in fruit juices and bovine Milk by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry.** *Talanta* **64** (2004) 912 – 917
49. C. C. Nascentes, M. Y. Kamogawa, K. G. Fernandes, M. A. Z. Arruda, A. R. A. Nogueira e J. A. Nóbrega. **Direct determination of Cu, Mn, Pb and Zn in beer by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry.** *Spectrochimica Acta Part B* **60** (2005) 749 – 753
50. M. G. Pereira, E. R. Pereira-Filho, H. Berndt e M. A. Z. Arruda. **Determination of cadmium and lead at low levels by using preconcentration at fullerene coupled to thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry.** *Spectrochimica Acta Part B* **59** (2004) 515 – 521
51. F. A. Lobo, A. C. Villafranca, A. P. de Oliveira e M. de Moraes. **Sistema TS-FF-AAS com chama acetileno-ar como alternativa em relação à chama acetileno-óxido nitroso em F AAS na determinação de estanho.** *Ecl. Quím.* **30 (2)** (2005) 61 – 68
52. E. C. Figueiredo e M. A. Z. Arruda; **“Acomplamento de atomizador em tubo de Ni à geração de hidretos (HG-FF-AAS)”** Anais do 13º



- Encontro de Química Analítica (13° ENQA). Niteroi – RJ. CD-ROM, H038, p. 5
53. B. Welz e M. Sperling; “**Atomic Absorption Spectrometry**” 3ª ed. Weinheim, Wiley-VCH, 1999, p. 941
54. G. L. Donati, C. C. Nascentes, A. R. A. Nogueira, M. A. Z. Arruda e J. A. Nóbrega. **Acid extraction and cloud point preconcentration as sample preparation strategies for cobalt determination in biological materials by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry.** *Microchemical Journal* **82** (2006) 189 – 195
55. M. A. Bezerra, R. E. Bruns, S. L.C. Ferreira. **Statistical design-principal component analysis optimization of a multiple response procedure using cloud point extraction and simultaneous determination of metals by ICP OES.** *Analytica Chimica Acta* **580** (2006) 251–257
56. G. L. Donati. **Avaliação da viabilidade da determinação de Cobalto e cromo em alimentos por espectrometria de absorção atômica com forno tubular na chama e aerossol térmico (TS-FF-AAS).** *Dissertação de mestrado da Universidade Federal de São Carlos - SP* (2006).
57. [www.iupac.org](http://www.iupac.org), acessada em setembro de 2006
58. [www.tabacariamoi.com.br/moi/tiposfumo](http://www.tabacariamoi.com.br/moi/tiposfumo), acessada em novembro de 2007
59. <http://lqta.iqm.unicamp.br>, acessada em Setembro 2006