

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA EM SISTEMA EM FLUXO PARA DETERMINAÇÃO DE CD USANDO ERVA MATE E CHÁ PRETO COMO ADSORVENTE E ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA EM CHAMA.

Renata Mior, Joyce Nunes Bianchin, Edmar Martendal e Eduardo Carasek

Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis 88040-900, SC, Brasil.

Abstract: In this study new methods for determination of cadmium in certified biological samples using mate (*Ilex paraguariensis*) and black tea (*Camellia sinensis*, L.) as biosorbents in an on-line preconcentration system coupled to flame atomic absorption spectrometry was developed. Flow and chemical variables of the proposed system were optimized through multivariate designs. Sample pH, buffer concentration, sample flow rate and biosorbents mass were the selected variables. The limit of detection for cadmium was $0.98 \mu\text{g L}^{-1}$ with a precision below 3.6% ($35 \mu\text{g L}^{-1}$, $n=6$) for mate biosorbent and $0.97 \mu\text{g L}^{-1}$ with a precision below 4.4% ($35 \mu\text{g L}^{-1}$, $n=7$) for black tea biosorbent. For both biosorbents the analytical curves were linear from 5 to $50 \mu\text{g L}^{-1}$, with a correlation coefficient of 0.9995. The developed methods were successfully applied to certified reference materials (pig kidney and human hair).

Keywords: biosorbents, F AAS; flow injection analysis; cadmium.

INTRODUÇÃO

Biossorção é um processo no qual um sólido de origem natural ou seus derivados (biossorventes), são usados para a retenção de materiais (compostos, íons metálicos, etc.) em soluções devido à altas “forças atrativas” presentes entre os dois ¹. Biossorventes são uma excelente alternativa para métodos de pré-concentração e separação de íons metálicos em baixas concentrações ². Quando comparado com sorventes convencionais, que geralmente são de alto custo, mostra-se de alta eficiência, baixo custo, boa seletividade, ampla aplicabilidade e forte capacidade de recuperação de íons metálicos ³.

A eficácia dos biossorventes depende, em grande parte, da sua composição bioquímica, principalmente dos grupos funcionais ⁴. Os principais componentes presentes em biossorventes são carboidratos e proteínas, nestes estão presentes diferentes grupos funcionais eficazes na biossorção, tais como grupos carboxílicos e grupos amina, o que torna um fator decisivo para a capacidade de adsorção de metais ⁵. Outros fatores importantes para a capacidade de adsorção de um analito de uma solução pelo biossorvente estão relacionados à área superficial disponível e a cinética do processo de adsorção ⁶.

Muitos estudos comprovam a capacidade de biossorção de uma grande variedade dos resíduos vegetais, tais como fibras de coco e de palma^{7,8}, fibras de mamão⁹, caroços de azeitonas¹⁰, casca de arroz¹¹, casca de maracujá amarelo¹², vermicomposto¹³ entre outros.

“Mate” ou erva-mate é uma bebida preparada como chá, na forma de infusão quente de folhas secas e ramos picados de *Ilex paraguariensi*. Uma planta natural da América do Sul, onde é amplamente consumida¹⁴, cafeína, ácidos fenólicos, fibras, proteínas, glicose, sacarose e flavonóides são as principais substâncias encontradas na erva mate¹⁵. O chá é a segunda bebida mais consumida no mundo, após a água. O chá preto é um dos mais comumente consumidos na Índia e nos países ocidentais, derivado da planta *Camellia sinensis*. Este é constituído principalmente de substâncias polifenólicas, carboidratos, proteínas e uma parte significativa de lignina, cinzas e aminoácidos¹⁶.

Devido aos principais sítios ativos, os grupos fenólicos e grupos carboxílicos (-OH e -COOH) presentes na composição da erva mate e do chá preto, ocorre a interação entre estes biossorventes e os metais. Estes grupos são os responsáveis por um processo mais eficiente de adsorção¹⁷. Esta técnica de adsorção é conhecida com extração em fase sólida (SPE)¹⁸. Esta, tem se tornado cada vez mais popular para a pré-concentração de íons metálicos antes de sua determinação. Em comparação com métodos tradicionais apresenta as seguintes vantagens: elevado

fator de pré-concentração, uma operação simples, a separação de fase é rápida, podem ser combinadas com diferentes técnicas de detecção e reduz tempo e custos^{19, 20}.

Dois processos de extração em fase sólida (SPE) utilizando cada um biossorvente como fase sólida, erva mate e chá preto, foram combinados com a espectrometria de absorção atômica em chama (F AAS). Otimização multivariada para a determinação de traços de Cd²⁺ em amostras certificadas foi utilizada.

PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Instrumentação

Neste trabalho foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica Varian SpectrAA 50 (Varian, Victória, Austrália), equipado com atomizador em chama, lâmpada de catodo oco de Cd(II) (Hitachi, HLA – 4S) e corretor de fundo (lâmpada de Deutério) para a determinação de Cd(II). As leituras de absorvância foram realizadas conforme as condições operacionais mostradas na Tabela 1. Uma bomba peristáltica da Ismatec - IPC, dotada de 8 canais e provida de tubos de Tygon® foi usada para bombear todas as soluções nas etapas de pré-concentração e eluição.

Tabela 1

Reagentes e soluções

As soluções utilizadas foram preparadas empregando-se água deionizada proveniente de um sistema de purificação de água Milli-Q® da Millipore® (Bedford, MA, USA). Todos os reagentes usados foram de grau analítico. A vidraria utilizada do laboratório foi lavada com detergente neutro 20% (v/v), mantida durante uma noite em solução de ácido nítrico 10% (v/v) e a seguir enxaguada com água deionizada.

A partir de diluições adequadas de uma solução estoque (grau absorção atômica, Merck) de Cd(II) 10 mg L⁻¹, soluções de trabalho foram preparadas.

A solução de ácido nítrico utilizada como eluente foi preparada pela diluição de ácido nítrico concentrado (Merck, Darmstadt, Alemanha) em água.

As soluções tampão foram preparadas a partir de amônia/cloreto de amônio (Merck, Darmstadt, Alemanha).

Os biossorventes erva mate e chá preto utilizados foram adquiridos em um supermercado local (Florianópolis, Brasil).

Sistema de Pré-concentração

A erva mate e chá preto foram aplicados no sistema de pré-concentração automatizado. A erva mate e o chá preto foram moídos manualmente com auxílio de graal e pistilo, secos em estufa (60 °C por 10 horas) e as partículas menores que 2 mm foram utilizadas como material sorvente. O sistema de análise é composto de uma bomba peristáltica, quatro válvulas solenóides de três vias e uma mini-coluna de TeflonP®, recheada com uma determinada massa do material adsorvente, que foi acoplada ao espectrômetro de absorção atômica em chama. A mini-coluna, com 100 mm de comprimento e 3 mm de diâmetro interno, foi preenchida em ambas extremidades com pequena quantidade de lã de vidro, para evitar perda do material sorvente. As quatro válvulas solenóides de três vias foram acionadas por um programa de computador escrito em Quick BASIC 4.5. As etapas de adsorção e dessorção dos analitos, no sistema de pré-concentração em linha, foram controladas por tempo. Esse sistema de pré-concentração em linha é o mesmo sistema utilizado em nossos trabalhos anteriores¹³.

O sistema de pré-concentração em linha foi otimizado pelo método multivariado, com a finalidade de determinar as condições químicas e de fluxo ótimas para o analito em estudo. As leituras dos sinais analíticos foram realizadas como área de pico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Otimização do sistema em fluxo

Alguns testes preliminares foram realizados para verificar o comportamento da adsorção do Cd(II) frente ao pH da amostra nos adsorventes erva mate e chá preto. Verificou-se que ocorre adsorção na faixa de pH de 7 a 9.

A otimização do sistema em linha foi feita pelo método multivariado usando planejamento fatorial completo ($N = 2^k + 3$, com $k = 4$, onde: N = número de experimentos e k = fatores). Os quatro fatores escolhidos foram o pH da amostra, concentração do tampão (fosfato para a faixa de 7 a 9 e amônia para a faixa de 8 a 9), vazão da amostra e massa de adsorvente. Na Tabela 2 estão dispostos os níveis mínimos e máximos utilizados para realizar os 19 experimentos.

Tabela 2

A partir dos resultados obtidos e usando análise de variância (ANOVA) e probabilidade estatística ($p = 0.05$) foi construído o gráfico de Pareto para determinar a influência dos fatores e suas interações no sistema. As condições iniciais do sistema FIA-F AAS foram volume de amostra

de 10 mL (a ser pré-concentrada), concentração de Cd(II) de $50 \mu\text{g L}^{-1}$, o tampão usado foi o fosfato para pH 7 e 8 e amônia para pH 9. A resposta analítica foi a absorvância integrada.

Figura 1

Como pode ser visto no Gráfico de Pareto (Figura 1), várias interações entre as variáveis foram estatisticamente significativas. A vazão da amostra foi estatisticamente significativa com valor de efeito igual a -2.33, indicando que a vazão no nível mínimo avaliado leva a maiores respostas. Esse é um comportamento que indica que em uma vazão de 5.6 mL min^{-1} não é suficiente para que todo o analito seja quantitativamente retido pelo sorvente, ou seja, a vazão da amostra está diretamente ligada à cinética de adsorção. Quando a adsorção é rápida uma alta vazão da amostra pode ser empregada, melhorando a frequência analítica. A interação entre o pH da amostra e a concentração do tampão indicam que há um efeito sinérgico entre as variáveis, e nesse caso, as duas variáveis devem se deslocar para seus níveis superiores para que haja uma melhora na resposta analítica. Em outras palavras, uma melhor resposta é obtida com pH 9 e com concentração de tampão 80 mmol L^{-1} . O pH da amostra em um sistema de adsorção onde há troca iônica depende das características ácido-base tanto do adsorvente quanto do analito. Para maximizar a adsorção, a superfície do sorvente deve estar acima de seu ponto isoelétrico (pH no qual as cargas negativas e positivas sobre a superfície do material é igual) e o metal na forma positivamente carregada. Como essas duas condições dificilmente podem ser satisfeitas simultaneamente, uma condição compromisso deve ser encontrada. A massa de adsorvente influencia a quantidade total de sítios ativos disponíveis para que a adsorção ocorra. Nesse trabalho 100 mg de adsorvente mostrou-se mais efetivo do que 50 mg, como esperado.

Após a otimização do sistema utilizando erva mate como biossorvente, repetiu-se o planejamento fatorial completo para o chá preto, os fatores escolhidos foram os mesmos como mostra a tabela 2. Com os resultados obtidos no segundo planejamento fatorial completo e usando análise de variância (ANOVA) e probabilidade estatística ($p = 0,05$) foi construído o gráfico de Pareto (Figura 2) para determinar a influência dos fatores e suas interações no sistema usando chá preto como material adsorvente.

Figura 2

A análise do gráfico de Pareto indica que as melhores condições de extração são muito similares àquela obtida para o biosorvente erva mate, ou seja, 100 mg de adsorvente, pH da amostra igual a 9, concentração de tampão igual a 80 mmol L⁻¹, vazão da amostra de 4 mL min⁻¹. Em ambos os materiais observou-se uma retenção quantitativa do analito.

A partir dos resultados obtidos foi feita uma otimização final envolvendo o pH da amostra e massa de material biosorvente através de um planejamento composto central, esse gerou uma superfície de resposta para as condições ótimas de extração do Cd (II) utilizando erva mate, como mostra a Figura 3. A otimização para o biosorvente erva mate resultou em uma faixa de pH ótima de 8,0 a 10,0 e uma massa de sorvente de 90 a 150 mg.

Figura 3

Com o objetivo de comparar a capacidade de adsorção do analito dos dois biossorventes em estudo, o planejamento composto central foi repetido para o chá preto, gerando uma superfície de resposta com as condições ótimas para a extração de Cd(II), como mostra a Figura 4. O planejamento composto central demonstrou que as condições ótimas para um máximo de eficiência de sensibilidade, a partir da superfície resposta, foram faixa de pH 8,0 a 10,0 e a massa de boissorvente de 80 a 150 mg.

Figura 4

A partir das variáveis otimizadas foram obtidos os principais parâmetros analíticos de mérito para ambos biossorventes e os resultados estão dispostos da Tabela 3. O fator de pré-concentração obtido, calculado como a razão das sensibilidades das curvas com e sem pré-concentração, foi de 27 vezes. A fim de verificar a aplicabilidade e a precisão da metodologia proposta para determinação de cádmio, esta foi aplicada em duas amostras biológicas certificadas. A digestão das amostras foi feita misturando cerca de 500 mg de amostra com 1,00 mL de peróxido de hidrogênio 30% e 4,00 mL de ácido nítrico 65%. A mistura foi digerida em microondas Ethos Plus (Milestone, Sorisole, Itália), iniciando com aquecimento da temperatura ambiente até 180 °C a 15°C/min, e mantido nessa temperatura por 10 min. A seguir, resfriou-se à temperatura ambiente e prosseguiu-se com a análise.

Os resultados das duas amostras biológicas certificadas são mostrada na Tabela 4.

Tabela 3 e 4

Observa-se de acordo com a tabela 4 que os resultados não são estatisticamente diferentes dos valores certificados, demonstrando adequadas precisão e exatidão do método desenvolvido, e que estes dois novos materiais propostos podem ser aplicados com sucesso como sorvente para determinação de cádmio em tais amostras complexas. Além disto, as mesmas mini-colunas foram utilizadas em todo o trabalho, totalizando cerca de 150 ciclos de sorção/dessorção sem perda de eficiência.

CONCLUSÕES

Os dois biossorventes propostos nesse trabalho se mostraram muito eficientes na retenção de cádmio tanto de amostras de água quanto de dois materiais biológicos certificados digeridos. Ambos os materiais se mostraram estáveis durante a realização de todo trabalho. A aplicação de ferramentas quimiométricas mostrou-se adequada para otimização do sistema proposto e apresenta a vantagem de mostrar a interação simultânea entre as variáveis e menos experimentos são realizados quando comparado com a otimização univariada. O sistema em linha FI-FAAS foi simples, eficiente e apresentou boa exatidão e precisão para as amostras analisadas. Ambos sorventes propostos podem ser utilizados para retenção de outros íons metálicos em solução.

REFERÊNCIAS

- [1] U. Farooq, J. A. Kozinski, M. A. Khan, M. Athar, *Bioresource Technol.*, 101 (2010) 5043.
- [2] D. Mendil, M. Tuzen, M. Soylak, *J. Hazard. Mater.*, 152 (2008) 1171.
- [3] H. Yin, B. He, H. Peng, J. Ye, F. Yang, N. Zhang, *J. Hazard. Mater.*, 158 (2008) 568.
- [4] S. Schiewe, A. Balaria, *Chem. Eng. J.*, 146 (2009) 211.
- [5] B. Yuncu, F. D. Sanin, U. Yetis, *J. Hazard. Mater.*, 137 (2006) 990.
- [6] L. C. S. Ferreira, V. A. Lemos, R. E. Santelli, E. M. Ganzarolli, A. J. Curtius, *Microchem. J.*, 68 (2001) 41.
- [7] A. Espinola, R. Adamian, L. M. B. Gomes, *Waste Treat. Clean Technol. Proc.*, 3 (1999) 2057.
- [8] M. Iqbal, A. Saeed, *Environ. Technol.*, 23 (2002) 1091.
- [9] A. Saeed, M. W. Akhter, M. Iqbal- Sep. Purif. Technol., 45 (2005) 25.
- [10] A. Aziz, E. H. Elandaloussi, B. Belhalfaoui, M. S. Ouali, L. C. De Ménorval, *Colloid Surface B*, 73 (2009) 192.

- [11] T.G. Chuah, A. Jumariah, I. Azni, S. Katayon, S.Y. T. Choong, *Desalination*, 175 (2005) 305.
- [12] R. A. Jacques, E. C. Lima, S. L. P. Dias, A. C. Mazzocato, F. A. Pavan, *Sep. Purif. Technol.*, 57 (2007) 193.
- [13] J. N. Bianchin, E. Martendal, R. Mior, V. N. Alves, C. S. T. Araújo, N. M. M. Coelho, E. Carasek, *Talanta*, 78 (2009) 333.
- [14] L. Bravo, L. Goya, E. Lecumberri, *Food Res. Int.*, 40 (2007) 393.
- [15] C. M. Pagliosa, M. A. Vieira, R. Podestá, M. Maraschin, A. L. B. Zeni, E. R. Amante, R. D. de M. C. Amboni, *Food Chem.*, 122 (2010) 173.
- [16] N. Turkmen, Y. S. Velioglu, *J. Sci. Food Agricult.*, 87 (2007) 1408.
- [17] F. Durmaz, H. Kara, *Desalination*, 256 (2010) 1.
- [18] E. Martendal, H. F. Maltez, E. Carasek, *J. Hazard. Mater.*, 161 (2009) 450.
- [19] G. Xiang, Y. Zhang, X. Jiang, L. He, L. Fan, W. Zhao, *J. Hazard. Mater.*, 179 (2010) 521.
- [20] M. H. Dindar, S. A. M. Fathi, M. R. Yaftian, N. Noushiranzadeh, *J. Hazard. Mater.*, 179 (2010) 289.

Tabela 1: Parâmetros operacionais do espectrômetro de absorção atômicas em chama para Cd (II):

<i>Parâmetro</i>	
Comprimento de onda (nm)	228,8
Corrente da lâmpada (mA)	4,0
Altura do queimador (mm)	17,0
Vazão de acetileno (L min ⁻¹)	1,0
Vazão de ar (L min ⁻¹)	10,0
Taxa de aspiração (mL min ⁻¹)	5,0

Tabela 2. Fatores e níveis usados no planejamento fatorial para o sorvente erva mate e chá preto.

<i>Fator</i>	<i>Mínimo (-)</i>	<i>Ponto central (PC)</i>	<i>Máximo (+)</i>
pH	7	8	9
Massa de adsorvente (mg)	50	75	100
Vazão da amostra (mL min ⁻¹)	3,0	4,3	5,6
Concentração do tampão (mol L ⁻¹)	0,010	0,045	0,080

Tabela 3. Parâmetros analíticos de mérito para a determinação de cádmio para ambos biossorventes.

Parâmetros	Erva Mate	Chá preto
Faixa linear (µg L ⁻¹)	3 – 50 µg L ⁻¹	3 – 50 µg L ⁻¹
Coefficiente de correlação (<i>R</i>)	0.9995	0.9994
RSD% (35 µg L ⁻¹ , <i>n</i> = 6)	3.5	4.4
Limite de detecção (µg L ⁻¹)	0.9 µg L ⁻¹	0.9 µg L ⁻¹
Limite de quantificação (µg L ⁻¹)	3.0 µg L ⁻¹	3.0 µg L ⁻¹

Tabela 4: Resultados (µg g⁻¹) obtidos para a determinação de Cd em amostra biológica por F AAS (*n* = 4; 95% nível de confiança), utilizando erva mate como biossorvente.

Amostra	Certificada	Encontrado*
Human Hair (BCR-397)	0.521 ± 0.024	0.544 ± 0.039
Pig Kidney (BCR-186)	2.71 ± 0.15	2.82 ± 0.52

* Média do valor para *n* = 4 ± confidence interval at 95%.

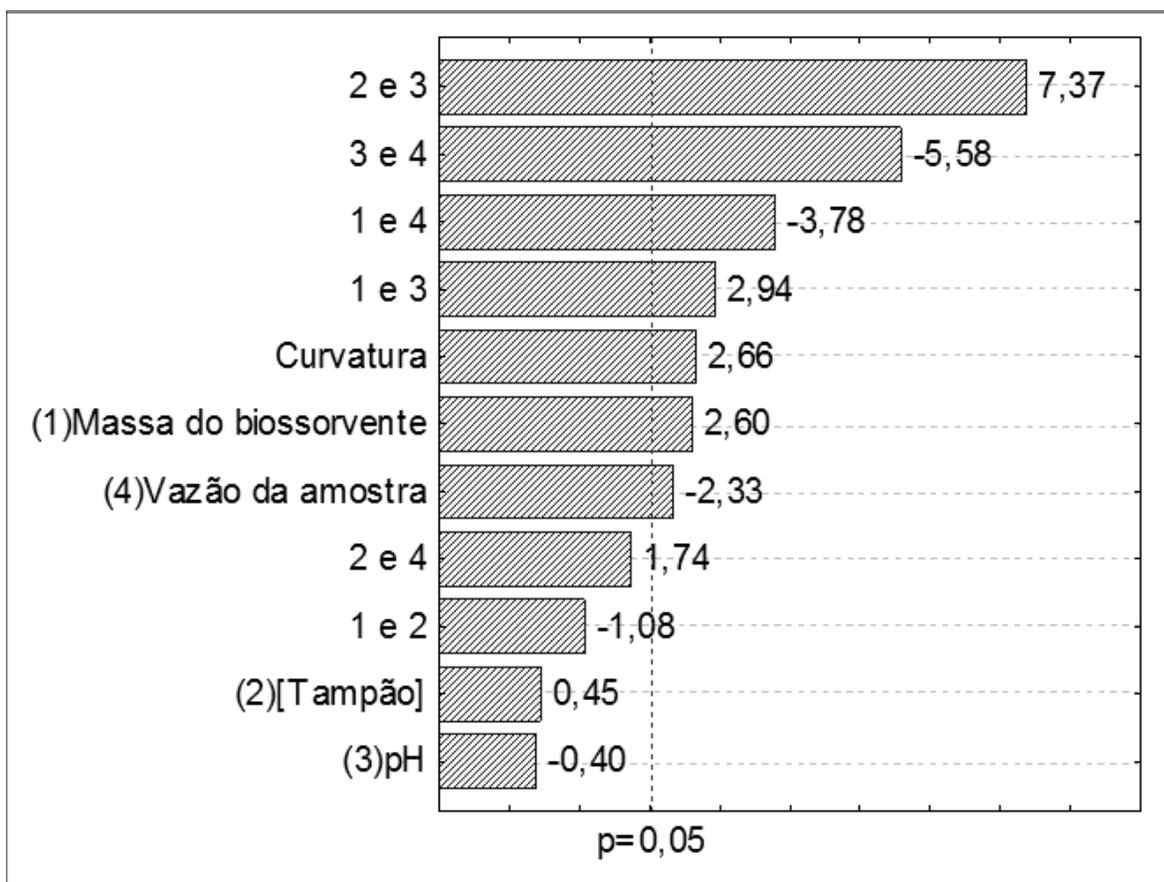


Figura 1. Gráfico de Pareto obtido do estudo de otimização das variáveis e suas significâncias para a pré-concentração de Cd(II) utilizando SPE com coluna preenchida com erva mate e detecção por F AAS.

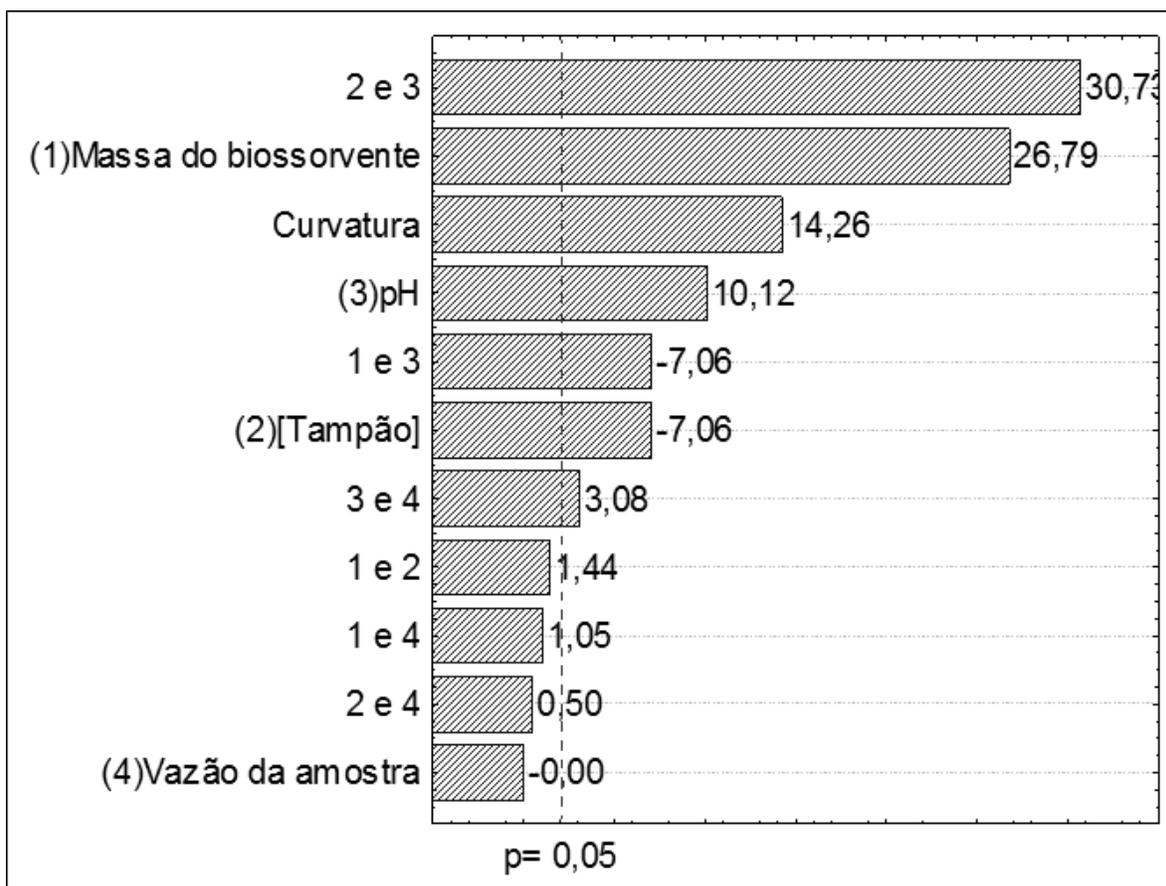


Figura 2. Gráfico de Pareto obtido do estudo de otimização das variáveis e suas significâncias para a pré-concentração de Cd(II) utilizando SPE com coluna preenchida com chá preto e detecção por F AAS.

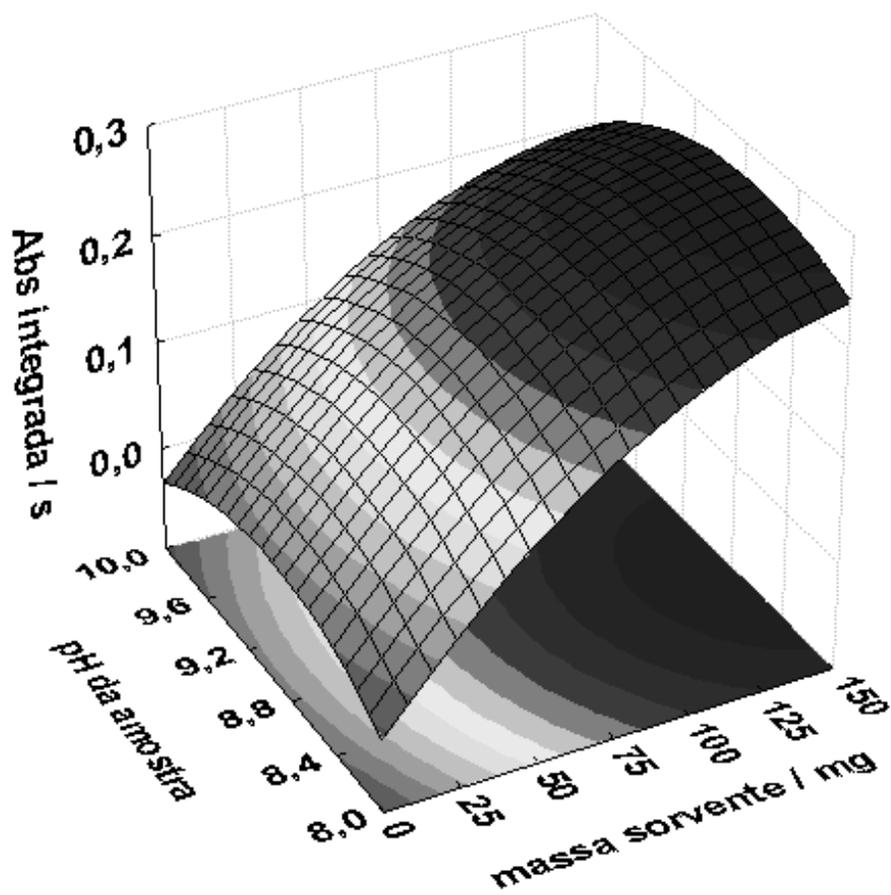


Figura 3. Superfície de resposta obtida a partir do gráfico de Pareto pH versus massa de biossorvente erva mate. Concentração de tampão 80 mmol L^{-1} . Vazão da amostra: 4 mL min^{-1} e concentração de cádmio na amostra: $50 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.

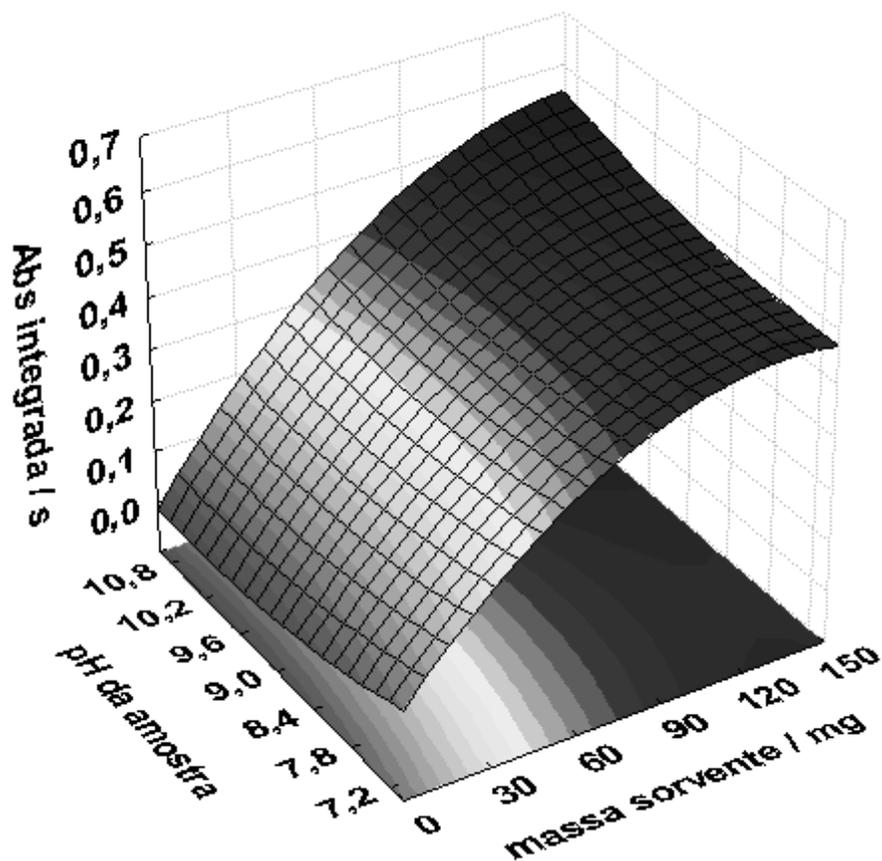


Figura 4. Superfície de resposta obtida a partir do planejamento composto central, pH versus massa de biossorvente chá preto. Concentração de tampão 80 mmol L^{-1} . Vazão da amostra: 4 mL min^{-1} e concentração de cádmio na amostra: $50 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$.